Roční zpráva

1. Roční zpráva o řešení projektu v programu Tandem ke dni 30. 6. 2008

2. Ev. č. projektu: FT-TA2/059

3. Název projektu: Systémy pro generaci nedifrakčních svazků a přenos mechanických účinků světla

4. Nositel projektu: Meopta – optika, a.s.

5. Řešitel projektu: RNDr. Zdeněk Lošťák, tel.: 581 243 333, fax: 581 242 222,
e-mail: lostak@meopta.com

6. Termín ukončení projektu: 6/2008

7. Plnění cílů a etap v roce 2008:

Ve smyslu dodatku č. 2/2007 ke smlouvě FT-TA2/059, ze dne 16.5.2005 bylo ukončení projektu posunuto z termínu 3/2008 na 6/2008.

Etapa	***činnost***	***Termín ukončení (dle smlouvy)***	***Plnění***
3.1	Návrh algoritmu pro počítačovou syntézu, experimentální ověření	30.6.2008	splněno
3.2	Výroba části laboratorního vzorku, experimentální měření v podmínkách různých aplikací	30.6.2008	splněno
3.3	Výroba funkčního vzorku, měření vzorku, programové zpracování	30.6.2008	splněno

8. Seznam dílčích výzkumných zpráv vypracovaných v průběhu roku 2008

8.1 Odborné časopisy

Z. Bouchal, R. Čelechovský, Optimal spatial localization of orbital angular momentum in focused vortex light beams, (připraveno k publikování).

O. Brzobohatý, T. Čižmár, P. Zemánek, High quality quasi-Bessel beam generated by round-tip axicon, Opt. Express (submitted).

T. Čižmár, V. Kollárová, X. Tsampoula, F. Gunn-Moore, W. Sibbett, Z. Bouchal, K. Dholakia, Generation of multiple Bessel beams for a Biophotonic workstation, Opt. Express (submitted).

V. Kollárová, T. Medřík, R. Čelechovský, V. Chlup, Z. Bouchal, A. Pochylý, M. Kalman, and T. Kubina, Optically adjustable light filaments generated by a compact laser conventor, Opt. Espress (submitted).

8.2 Sborníky z konferencí, postery

O. Brzobohatý, T. Čižmár, P. Zemánek: High quality quasi-Bessel beam generated by oblate-tip axicon. PIERS 2008, Hangzhou, (poster).

M. Šerý, A. Jonáš, Z. Lošťák, A. Pochylý, P. Zemánek: Compact solution for implementation of various laser based techniques into optical microscope. Nonlinear Microscopy and Optical Control, 19-20 Feb 2008, Muenster.

M. Šerý, A. Pochylý, Z. Lošťák, P. Zemánek: Convenient light microscopy adapters for optical trapping, cutting and excitation in biological experiments. 1St International Symposium Optical Tweezers in Life Sciences, 15 May 2008, Berlin, (poster).

8.3 Interní zprávy

Technické podmínky 31-392-1269-08 k přístroji LMA 1 (KOPOL).
Technické podmínky 31-392-1270-08 k přístroji LMA 2 (KOPLD).
Protokol zkušebny IF-M-08/19 Funkční vzorky LMA 1.
Zpráva k demonstrační jednotce generátor nedifrakčních svazků.
Zpráva k demonstrační jednotce světelná pinzeta s modulátorem světla.

9. Použití finančních prostředků (v tis. Kč) v roce 2008 dle smlouvy FT-TA2/059

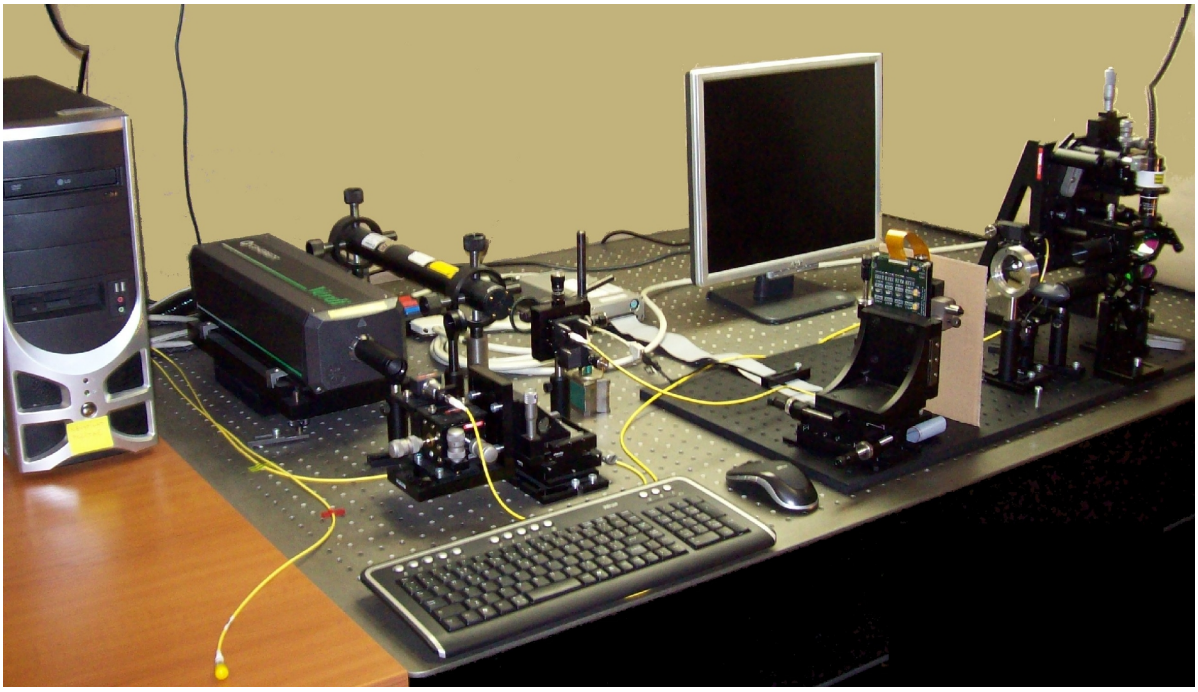
Finanční prostředky 1.1.2008-30.6.2008	***plánované uznatelné náklady na celý rok 2008***	***uznatelné náklady doložitelné účetním dokladem k 30.06.2008***			
		Meopta	UP Olomouc	ÚPT Brno	**celkem**
Celkové náklady na řešení	**1 975**	1 476	259	250	**1 985**
Vlastní zdroje	**1 175**	1 076	59	50	**1 185**
Jiné zdroje	**0**	0	0	0	**0**
Účelová podpora	**800**	400	200	200	**800**
Z toho investice	**0**	0	0	0	**0**

Čerpání finančních prostředků v roce 2008 je ve velmi dobré shodě s plánem. Uvedené výsledky jsou získány z účetních dokladů dosud neauditovaných.

10. Celková charakteristika plnění projektu v roce 2008

Etapa 3.1

V roce 2008 bylo na UP v Olomouci dokončeno řešení úkolů, které souvisí s etapou pracovně nazvanou „Návrh algoritmu pro počítačovou syntézu, experimentální ověření“. Tato etapa řešení projektu započala již v roce 2007 a jejím hlavním cílem bylo zpracování programového vybavení, které umožní uživatelsky přístupným způsobem ovládat činnost dynamické laserové pinzety.



Obr. 1 Experimentální uspořádání optické pinzety, která pracuje s laserovým svazkem tvarovaným pomocí prostorového modulátoru světla. Vpravo je opticko-mechanická část pinzety s mikroskopovým objektivem a osvětlovací soustavou, uprostřed je umístěn fázový prostorový modulátor světla, vlevo vedle počítače je laser Verdi 2 a vedle něho i alternativně připojitelný He-Ne laser k testování funkce software.

Tento systém pracuje se svazkem laseru Verdi 2, který je možno v reálném čase tvarovat pomocí fázového prostorového modulátoru BOULDER. Prostorově modulovaný svazek je opticko-mechanickým systémem zaveden do optické pinzety, kde vytváří pasti pro zachycení mechanických objektů. Živý obraz preparátu je snímán CCD kamerou a řídícím programem je přenesen do zobrazovacího okna na monitor počítače. Nezávisle na obsahu zobrazení se toto okno využívá k nastavení a rekonfiguraci optických pastí. Celý systém je umístěn na optickém stole (obr. 1). Návrh optického systému a funkce řídícího software jsou popsány v jednotlivých ročních zprávách a v dokumentaci k tomuto dílčímu úkolu.
V návaznosti na předchozí výsledky byly v roce 2008 řešeny následující úkoly:

- Funkce řízení dynamické pinzety byla rozšířena o možnost vytváření a přemísťování vícenásobných optických pastí.
- Byla zpracována dokumentace k vytvořenému software.
- Byla dokončena dokumentace dynamické laserové pinzety.
- Ve spolupráci s Meoptou byla realizována a testována demonstrační jednotka generátoru nedifrakčních svazků.

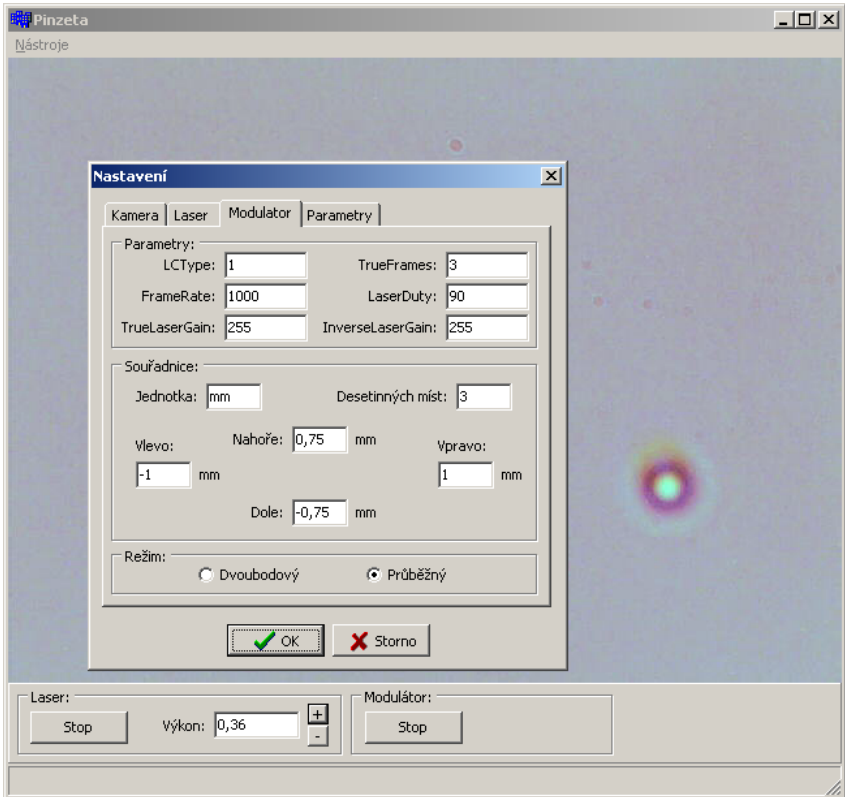
Funkce vytváření a ovládání vícenásobných optických pastí

Pracovní funkce laserové pinzety ověřené v roce 2007 umožňují interaktivní vytváření jednoduchých optických pastí v pozicích vyznačených v živém obrazu preparátu a přemístění

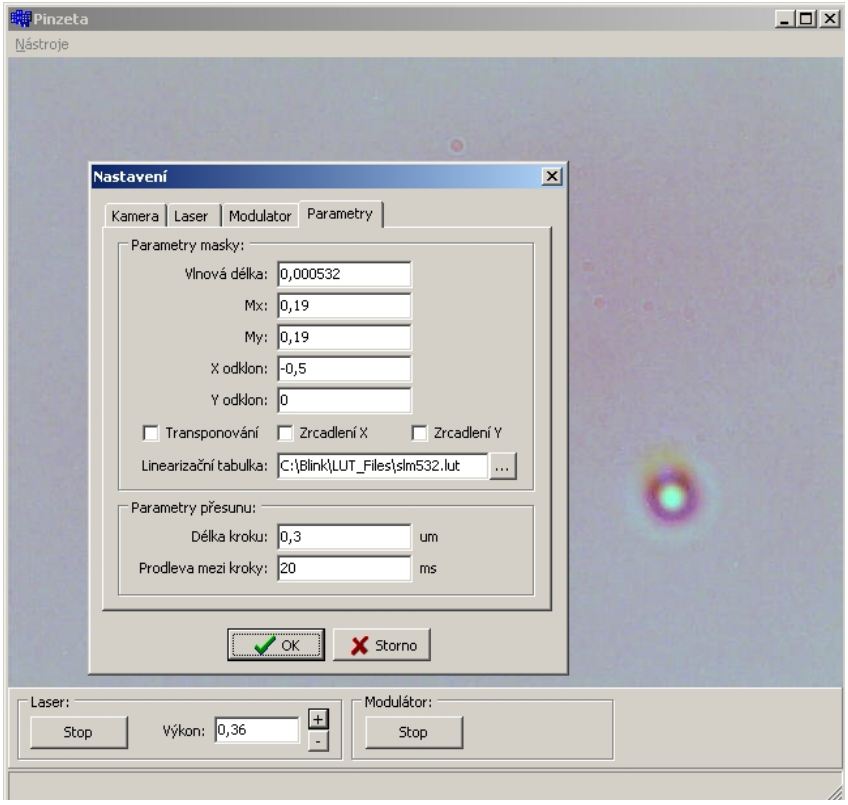
zachyceného objektu po předem definované trajektorii. V roce 2008 bylo uživatelské rozhraní rozšířeno o modul umožňující generaci vícenásobných optických pastí umístěných v požadovaných pozicích. Dále byl program rozšířen o funkce, které umožňují přemísťovat zachycené objekty v reálném čase pomocí myši nebo po předem připravené trajektorii a to jak v režimu jediné pasti, tak v módu vícenásobných pastí. Z pohledu uživatele výsledné rozhraní pracuje následovně. Po inicializaci kamery a spuštění modulátoru a laseru se v okně zobrazuje živý obraz preparátu v mikroskopu. Pomocí jednoduchého kliknutí myší uživatel vytvoří pod kurzorem optickou past, do které může být zachycen blízký objekt. Se zachycenou částicí může uživatel pohybovat dvěma způsoby. V „průběžném režimu“ uživatel táhnutím myši při přidrženém tlačítku vytvoří trajektorii, po které se v reálném čase zachycená částice přemísťuje. Okna s menu pro volbu režimu manipulace a nastavení parametrů trajektorie jsou zobrazena na obr. 2 a obr. 3.

V „dvoubodovém režimu“ uživatel zvolí pouze počáteční a koncové body, podle kterých program vypočte trajektorii a částici přemístí. V obou případech kvalita optické pasti závisí na výkonu laseru a vzdálenosti jednotlivých bodů, kterými je trajektorie definována. Všechny parametry lze nastavit v Menu programu. Pomocí vytvořeného software lze také generovat vícenásobné pasti. Přidržením klávesy Ctrl a současným kliknutím myší může uživatel vytvořit statické pasti, které zůstávají stále „zapnuté“. V tomto režimu lze zachytit více objektů v preparátu současně. Všechny optické pasti lze přemísťovat opět táhnutím myši při přidrženém levém tlačítku. Statické pasti lze rušit kliknutím do místa pasti při současném držení klávesy Alt.

Ověřené funkce dynamické laserové pinzety jen demonstrují její technické možnosti. Variabilita řešitelných úloh je velmi široká. Výběr rozšiřujících funkcí lze doplňovat na základě požadavků uživatelů systému.



Obr. 2 Menu pro nastavení parametrů prostorového modulátoru světla a pro volbu režimu manipulace s mikroobjekty.



Obr. 3 Rozhraní pro sladění parametrů experimentu s parametry programu pro výpočet fázových masek pro prostorový modulátor světla a menu pro nastavení parametrů trajektorie přesouvaného objektu.

Popis a dokumentace vytvořeného software

Program pro ovládání pinzety je vytvořen jako uživatelsky orientovaná aplikace v programovacím jazyce C++ s využitím prostředí Borland C++ Builder, který je součástí Borland Developer Studia 2006. Způsob jeho ovládání je popsán v předchozím odstavci, proto zde bude popsán pouze princip jednotlivých činností.

Funkce programu je orientována v zásadě do následujících směrů:

- průběžné snímání živého obrazu preparátu v mikroskopu,
- komunikace s laserem – zapnutí/vypnutí, ovládání výkonu,
- komunikace s modulátorem – zapnutí/vypnutí, konfigurace modulátoru pro vytváření jedné optické pasti nebo souboru vícenásobných optických pastí,
- režimy posuvu pasti – dvoubodový a průběžný.

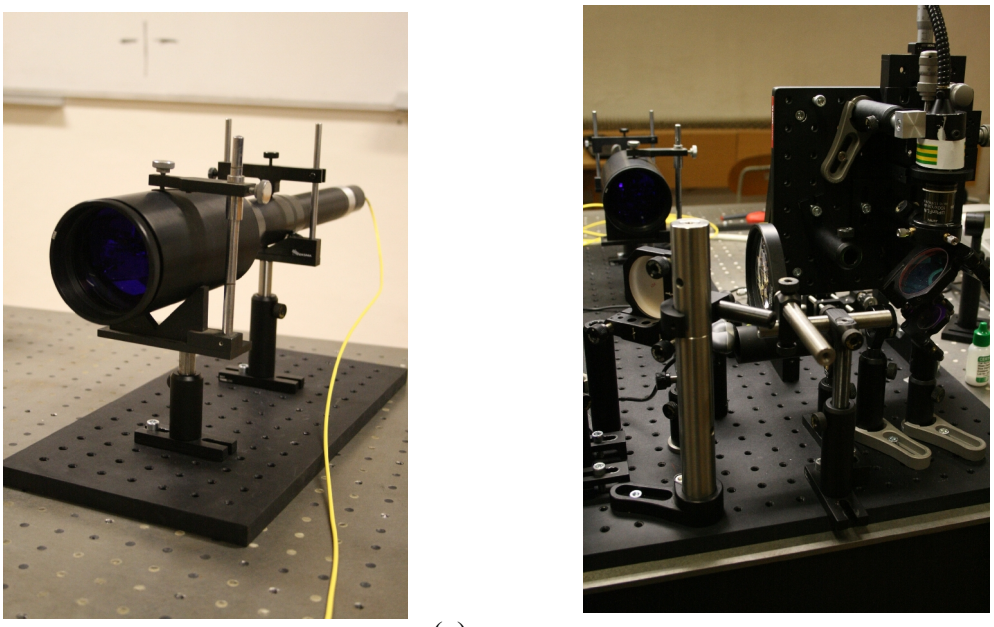
Pro snímání obrazu je použita Web kamera (Logitech Quick Cam, 640x480) s rozhraním USB. Přenos obrazu kamery je realizován s využitím technologie DirectShow, která je součástí systému. Obraz kamery je překryt transparentním oknem, do kterého je vykreslována trajektorie přesunu pasti. Toto překrytí obrazu kamery transparentním oknem zprostředkovává interface IVideoMixingRenderer9. Ovládání kamery v menu Nastavení -> Kamera obsahuje definici driveru, rozlišení kamery, definici souřadnic obrazu kamery a základních charakteristik transparentního okna. Komunikace uživatelského rozhraní s laserem probíhá pomocí standardní sériové linky. Tato komunikace pracuje v samostatném procesu, takže nebrzdí uživatelské rozhraní. Komunikace s laserem obsahuje zapínání/vypínání laseru a nastavení jeho výkonu. Rozhraní modulátoru

je řešeno prostřednictvím dodané knihovny BNS SDK. Pro příslušnou pozici pasti v obraze preparátu je vypočítána maska modulátoru, která je následně po načtení do modulátoru aktivována. Krok posunu pasti je nastavitelný. Parametry ovládání modulátoru se nastavují v okně Nastavení -> Modulátor.
Pro vlastní posuv pasti je možno využít jeden ze dvou vytvořených režimů. První z nich označený jako dvoubodový, spočívá v definici počátečního a koncového bodu, které tak určují lineární trajektorii. Pro jednotlivé body této trajektorie, definované nastavitelným krokem posunu pasti, se počítají masky, uloží se do modulátoru a teprve následně se provede jejich „animace“. Druhý režim, označený jako průběžný, sleduje pohyb kurzoru myši, masky v bodech trajektorie, jejichž rozteč je opět definována krokem posunu pasti, se vypočítávají průběžně a aktivují se ihned po vložení do modulátoru. Režim posunu pasti se volí v okně Nastavení -> Modulátor.
V okně Nastavení -> Parametry se volí parametry masky modulátoru a parametry kroku přesunu pasti.

Realizace a testování generátoru nedifrakčních svazků

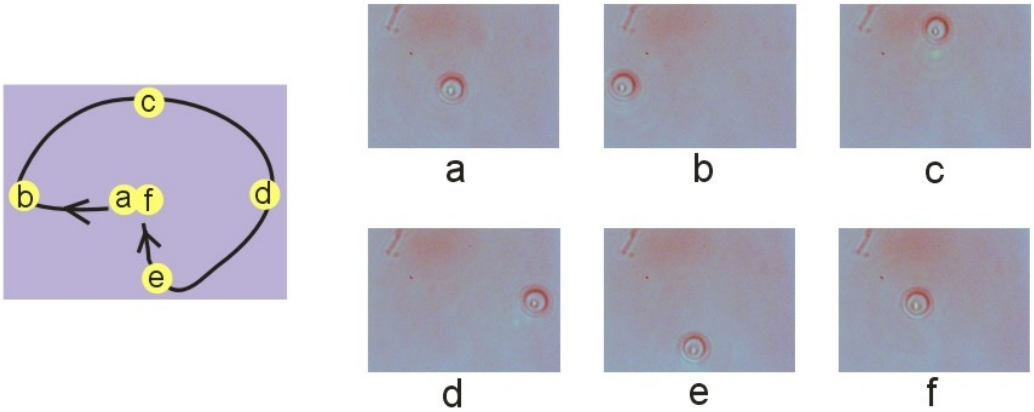
V průběhu roku 2008 pokračovala spolupráce UP Olomouc s Meoptou na realizaci generátoru nedifrakčních svazků (GNS). Tento úkol byl navržen až v průběhu řešení projektu a byl motivován praktickou využitelností GNS. Opticko-mechanický systém GNS umožňuje konverzi standardního gaussovského laserového svazku na svazek besselovského typu, který má specifické vlastnosti často využívané v optických manipulacích. Využitelnost GNS je zvýšena možností příčného nastavení stopy svazku, která je realizována prostorovou modulací spektra pomocí diasporametru. V roce 2007 byl proveden základní návrh adaptéru na UP v Olomouci, následně byl konstrukčně optimalizován a výkresově dokumentován v Meoptě. V roce 2008 byla v Meoptě dokončena justáž všech funkčních vzorků. Na UP v Olomouci byly vzorky proměřeny a testovány v podmínkách praktického využití. Výsledky jsou zpracovány ve společné publikaci a v dokumentaci k dílčímu úkolu.

Funkční vzorek GNS a jeho vřazení do systému laserové pinzety je uveden na obr. 4. Laserové záření je do adaptéru přivedeno buď optickým vláknem, nebo přímo ze speciálně konstruovaného osvětlovače s laserovou diodou. V případě využití optického vlákna musí být záření ještě upraveno kolimační čočkou. Před dopadem na axikon se apertura svazku může upravit jedním z navržených laserových rozšiřovačů. Za axikonem je teleskopická soustava s vestavěným diasporametrem. Besselovský svazek, který vystupuje z adaptéru má při průměru jádra 400 μm délku dosahu přibližně 14 m. Výměnou kolimační čočky je možné dosah svazku prodloužit až na 20 m. Stopa svazku může být v rovině kolmé ke směru šíření přesouvána v oblasti s rozměrem 2x2 mm^2. V praxi takový svazek může být využit k justáži a centrování optických komponent. Pro využití v optických manipulacích může být svazek rozměrově transformován a naveden do systému laserové pinzety pomocí dodatečné čočky a mikroskopového objektivu. Zúžený svazek má stopu o průměru 4 μm a bylo ověřeno, že může zachycovat částice s rozměrem 5 μm. Pomocí diasporametru je možné polohu stopy svazku plynule měnit a zachycenou částici přemísťovat v oblasti 40x40 μm^2. Stopa svazku se zachycenou 5 μm kuličkou v různých polohách vymezeného zorného pole je znázorněna v obr. 5.



(a) (b)

Obr. 4 (a) Fotografie funkčního vzorku GNS, který transformuje gaussovský laserový svazek na besselovský svazek s možností změny polohy stopy. (b) Fotografie GNS vřazeného do systému laserové pinzety.

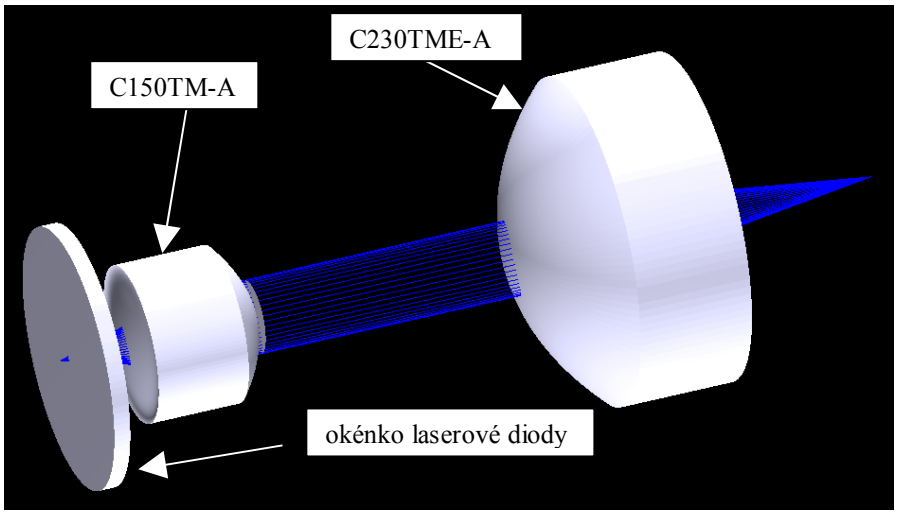


Obr. 5 Stopa svazku se zachycenou kuličkou v různých pozicích vymezeného zorného pole. Stopa má průměr přibližně 4 μm a její kvalita zůstává zachována při přemísťování v zorném poli 40x40 μm^2. Snímky (a)-(f) odpovídají jednotlivým pozicím na určené trajektorii.

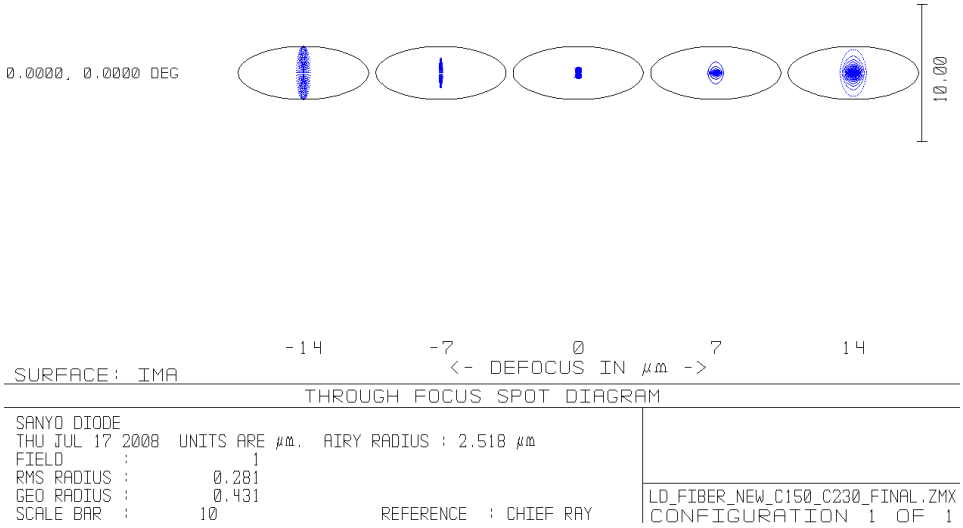
Etapa 3.2

V ÚPT pokračovalo testování modulů KOPOL a KOPLD a jejich modifikace v návaznosti na reakce uživatelů a požadavky aplikací. Ukázalo se, že modul KOPOL, který využívá laserový svazek přivedený externím optickým vláknem, je třeba doplnit zdrojem záření a nezbytnou elektronikou. ÚPT se po domluvě s Meoptou věnoval problematice vyvázání záření z laserové diody do optického vlákna. Byl zkonstruován nový typ vyvazovacího členu, který je použitelný pro různé vlnové délky. Optomechanický návrh byl zaměřen na maximální výstupní výkon

z optického vlákna a jeho maximální stabilitu. Při návrhu byly uvažovány jako zdroje záření laserové diody Sanyo DL-5146-152 λ=405 nm a Sanyo DL-8031-031a λ=808 nm, dále jednomodová optická vlákna Nufern S405 a Nufern 780HP. Optická soustava byla optimalizována v programu Zemax a pro kolimaci svazku byly vybrány čočky C150TM a C230TME s odpovídajícími antireflexními vrstvami (obr. 6 a obr. 7).

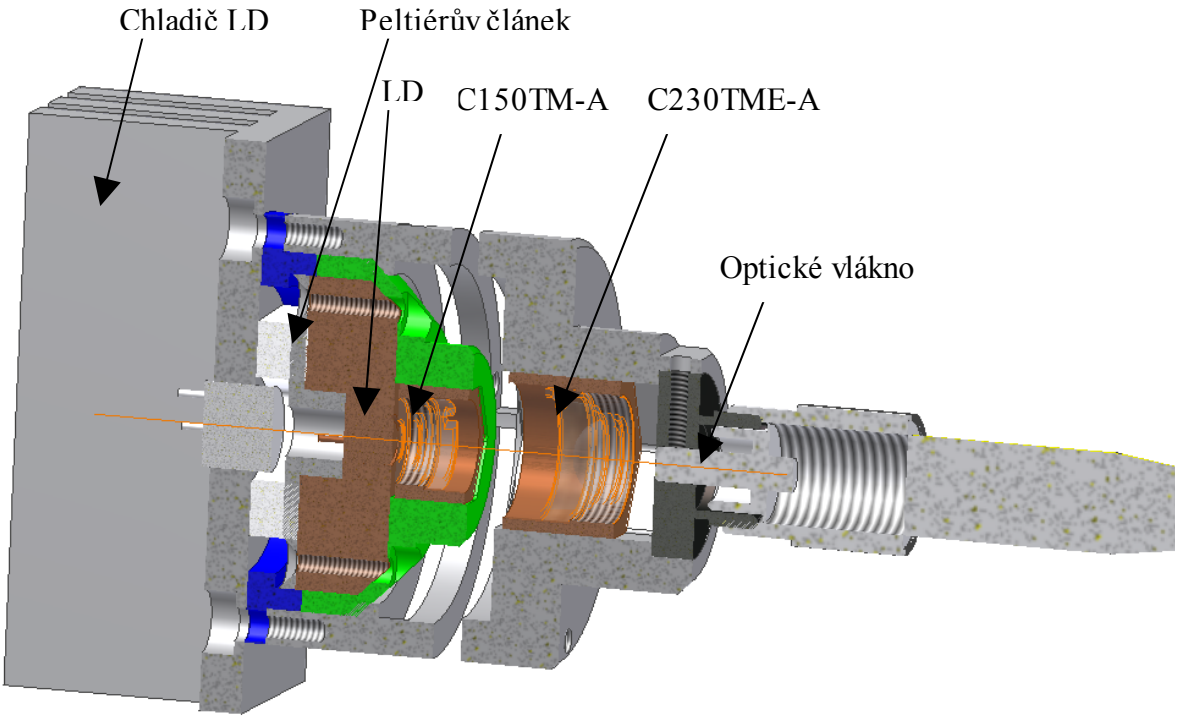


Obr. 6 Optická soustava pro vyvázání laserové diody o vlnové délce 405 nm do optického vlákna pro modul KOPOL.

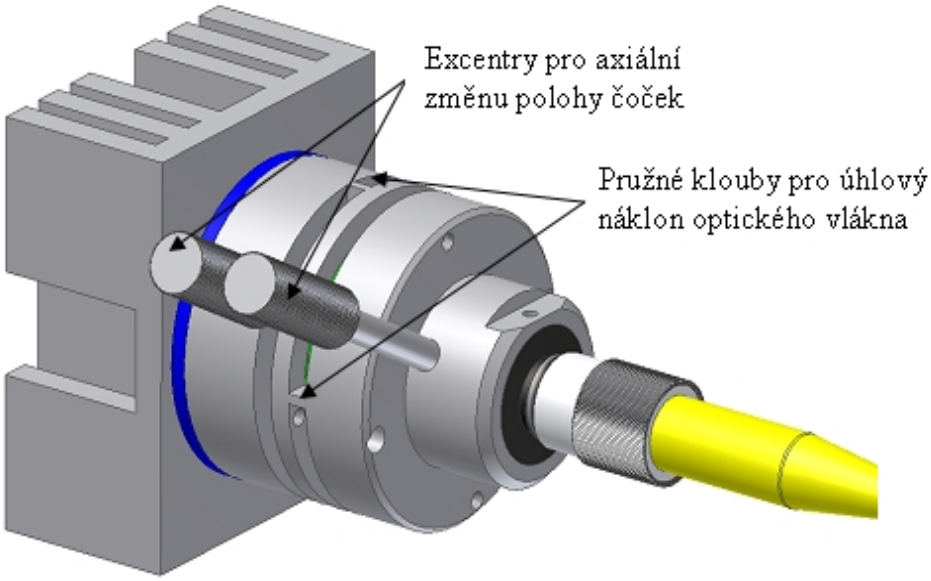


Obr. 7 Výstup z programu Zemax ukazující "spot diagram" v okolí výstupního ohniska svazku vyvazovacího členu. Je vidět, že stopa svazku do vzdálenosti 14 µm od ohniska je stále difrakčně limitovaná.

Kromě optického návrhu vyvazovacího členu byla řešena i jeho mechanická konstrukce, která zahrnuje axiální posuv obou čoček a úhlové naklápění optického vlákna (obr.8 a obr.9). Laserová dioda je elektricky izolovaná jako součást její ochrany před elektrostatickým poškozením. Návrh počítá i s její teplotní stabilizací Peltiérovým článkem.



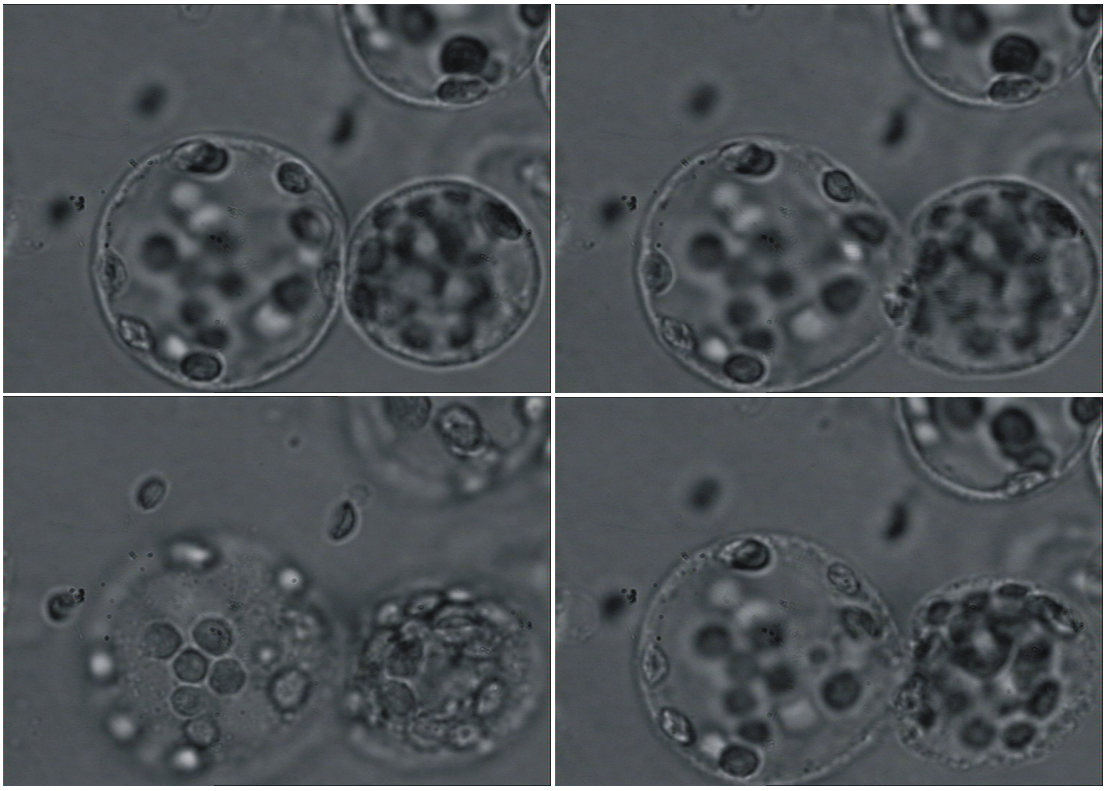
Obr. 8 Řez mechanickým uspořádáním vyvazovacího členu v programu Autodesk Inventor.



Obr. 9 Celkový pohled na vyvazovací člen v programu Autodesk Inventor.

Ve spolupráci s UP Olomouc proběhlo v ÚPT testování modulu KOPOL405 pro mikrodisekci protoplastů okurky. Dotýkající se membrány buněk byly ve styčném místě zasaženy jedním laserovým pulsem, který je perforoval. Po zásahu došlo k narušení membrán dvou sousedních buněk a jejich propojení (obr. 10). Byl použit pulsní laser Continuum, Minilite II,

pracující na vlnové délce 355 nm s délkou pulsu 6 ns. Modul KOPOL405 byl upevněn na mikroskopu Olympus IX-70 spolu s olejovým imersním objektivem Olympus UPLANFl 100x/1,25 Oil.



Obr. 10 Příklad využití modulu KOPOL405 k mikrodisekci protoplastů okurky.

V ÚPT byla dokončena studie týkající se vlivu zaoblení hrotu axikonu na prostorové rozložení vytvořeného nedifrakčního svazku. Experimentálně i teoreticky bylo prokázáno, že odchylka od ostrého tvaru hrotu v desítkách mikrometrů způsobí výrazné osové oscilace optické intenzity. Byl nalezen postup, jak tyto oscilace odstranit prostorovou filtrací svazku. Výsledky jsou shrnuty v publikaci zaslané do časopisu Optics Express.

Etapa 3.3

V Meoptě byla dokončena výroba všech zamýšlených funkčních vzorků a demonstračních jednotek:

- funkční vzorek KOPOL 808 nm (nově označovaný jako LMA 1 -808 nm),
- funkční vzorek KOPLD 808 nm (nově označovaný jako LMA 2 - 808 nm),
- funkční vzorek KOPOL 405 nm (nově označovaný jako LMA 1 - 405nm),
- demonstrační jednotka laserového generátoru nedifrakčních svazků (GNS) se samostanými členy:
  - achromatická teleskopická soustava 7x s diasporametrem 2x0,5˚ resp. 2x1,0˚,
  - axikon s distančním členem 40mm, 100mm, 200mm,
  - laserové rozšiřovače 1,4x, 1,6x, 1,8x, 2x,
  - osvětlovač pro GNS s laserovou diodou 805 nm.

V podnikové zkušebně byly analyzovány funkční vzorky přístroje KOPOL (LMA 1) a vydán příslušný protokol. Mimo zkoušky prováděné v rámci montáže a justáže byly demonstrační jednotky GNS proměřovány ve spolupráci s katedrou optiky na UP v Olomouci.

Rámcová technická dokumentace jednotlivých přístrojů byla uvedena v předchozí zprávě. Na základě teoretických předpokladů prověřených měřením byly navrženy technické podmínky pro přístroje LMA 1 a LMA 2.

V rámci marketingového průzkumu probíhala jednání s potenciálními odběrateli navržených přístrojů v oblasti výrobců mikroskopů. Zejména se jednalo o firmu Olympus, která v osobě ing. Lukeše aktivovala práce na úpravě adaptéru KOPOL tak, aby byl snadno využitelný v mikroskopové technice FRAP. Významné aktivity v oblasti marketingu provedli pracovníci ÚPT Brno prezentací výsledků měření a vzorků na řadě zahraničních míst. Meopta vedla vlastní jednání s firmou Zeiss. Vzhledem k malému počtu funkčních vzorků nemohl být dosud uspokojen zájem všech cizích pracovišť o získání funkčních vzorků a k vlastnímu odzkoušení. Pro období následující po ukončení tohoto úkolu plánuje Meopta vlastní průmyslový vývoj, který zajistí běžnou sériovou výrobu vzniklých přístrojů a návrhy a výrobu jejich dalších modifikací.

V Přerově dne 30. 7. 2008

Zpracovali: Prof. RNDr. Zdeněk Bouchal
RNDr. Zdeněk Lošťák, řešitel projektu
Doc. RNDr. Pavel Zemánek, Ph.D.