

RECEPȚIONAT

Agenția Națională pentru Cercetare
și Dezvoltare _____

_____ 2021

AVIZAT

Secția AȘM _____

_____ 2021

Institutul de Fizică Aplicată

RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL

**privind implementarea Ofertei de soluții de cercetare-inovare privind
combaterea și atenuarea impactului pandemiei COVID-19**

**“Aplicarea biomedicală a microscopiei holografice digitale sensibilă la
polarizarea luminii”, 20.70086.16/COV(70105)**

Prioritatea Strategică **1. Sănătate și 5. Competitivitate economică și tehnologii inovative**

Conducătorul proiectului

dr. hab. Elena ACHIMOVA



Directorul organizației

dr. hab. Mihai MACOVEI



Consiliul științific/Senatul

dr. Ion COJOCARU



L.Ș.



Chișinău 2021

1. Scopul ofertei de soluții depuse la concurs

Scopul general cercetării este dezvoltarea unui sistem bazat pe microscopul holografic digital (MHD) sensibil la polarizarea luminii pentru investigarea prin împrăștierea luminii polarizate a probelor biologice. Schimbarea parametrilor iluminării și observare permite reconstrucția imaginilor 3D de rezoluție înaltă. Multe specimene biologice, cum ar fi celulele vii și componentele intracelulare, sunt în mare parte transparente. Investigarea unor astfel de probe la microscopul clasic oferă imagini cu contrast mic, iar pentru sporirea contrastului sunt aplicate proceduri speciale. MHD asigură reconstrucția hărții de fază a probelor în cazul țesuturilor vii necolorate.

2. Obiectivele ofertei de soluții

Obiectivele științifice urmează:

1. Modificarea DHM, inclusiv achiziționarea și prelucrarea în timp real a imaginilor digitale ale unor biosampluri transparente pentru măsurători cantitative ale caracteristicilor structurale ale acestora, cum ar fi anizotropia optică și morfologia fazelor.
2. Elaborarea algoritmilor pentru reconstrucția hologramelor digitale în fază, luând în considerare anizotropia pentru a obține arhitectura moleculară a probelor biologice.
3. Implementarea sarcinilor enumerate mai sus ne permite înțelegerea performanței tehnologiei DHM și potențialul acesteia în imagistica celulelor vii. În plus, putem estima posibilitățile și provocările de măsurare a structurii și procedeele biologice folosind MHD.

3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivele ofertei de soluții

1. Va fi elaborată configurarea optică și modelul experimental al MHD sensibil la polarizare.
2. Va fi elaborat Software-ul pentru microscopul holografic digital sensibil la polarizare.
3. Folosind tehnica dezvoltată a microscopiei digitale holografice, vor fi examinate diferite probe de țesut biologic, adică faza lor și proprietățile anizotrope. Pe baza rezultatelor obținute, vor fi evaluate capacitățile și limitările tehnologiei dezvoltate.

4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivele ofertei de soluții

1. Folosind un set de noi componente polarizante (polarizatoare, plăci cu jumătate de undă și sfert de undă), a fost dezvoltată o configurație optică „phase-shifting” a MHD sensibil la polarizare, și a fost asamblat un model experimental de MHD. Înregistrarea imaginilor în timp real a fost efectuată utilizând MHD dezvoltat pentru măsurarea cantitativă a caracteristicilor structurale ale obiectelor transparente, cum ar fi faza, morfologia și anizotropia optică.
2. Software-ul MHD modificat a fost dezvoltat folosind retarderului variabil cu cristale lichide (liquid crystal variable retarder-LCVR) utilizată pentru a controla schimbările de fază computerizate ale undelor de referință și obiectă. Folosind algoritmul dezvoltat, au fost calculate în timp real caracteristicile structurale - fază, morfologie, anizotropie optică - ale imaginilor, ale obiectelor transparente de diferite natură (organice și anorganice), obținute folosind MHD.
3. Au fost examinate probe din diferite țesuturi biologice: celulei vegetale de ceapă, celule de blastom, spori de celule de pollen, mușchi cardiaci. Pe baza rezultatelor obținute, s-au făcut estimări ale capacităților și limitărilor tehnologiei MHD dezvoltate. Toate obiectivele stabilite în proiect au fost finalizate

5. Rezultatele obținute

1. Configurația optică “phase-shifting” al MHD și înregistrarea hologramelor digitale ce dețin proprietăți de polarizare (hardware).

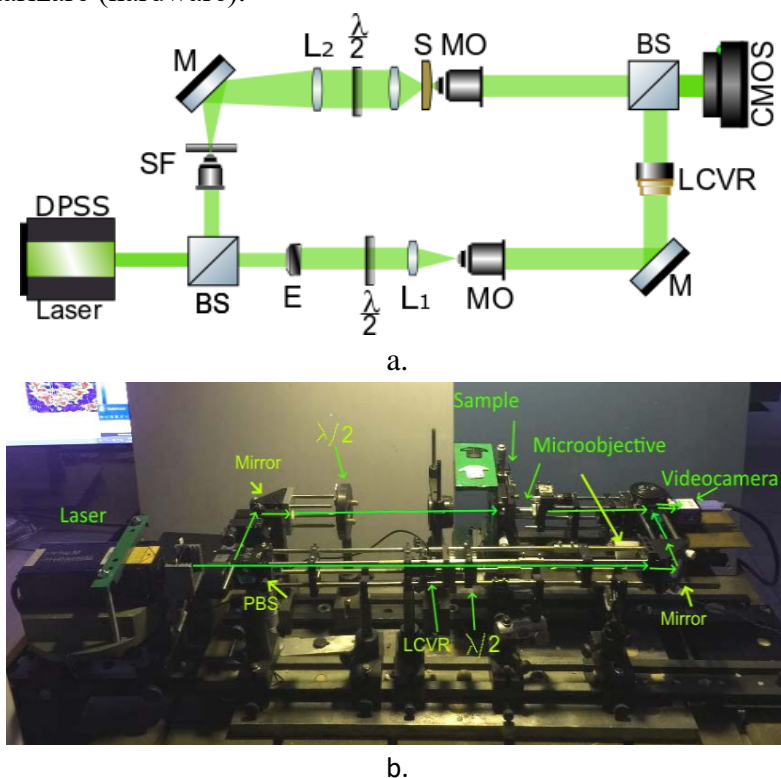


Fig. 1 Schema (a) și poza (b) al MHD: laser TEM₀₀ DPSS ($\lambda = 532\text{nm}$, 100 mW), BS-separator de fascicul polarizat, $\lambda / 2$ - plăci cu jumătate de undă, M-oglină, MO-obiectivul microscopului (cu magnificarea 20^x, NA = 0,40), S-specimenul studiat, L₁, L₂-lentile, camera digital-CMOS „DMK33UX264”, rezoluție 2.448 × 2.048 (5 MP), RVCL- retarder variabil cu cristale lichide fabricat de „Meadowlark optics”, SF-filtru spațial, E- expansor de fascicul.

Prima etapă a constat în asamblarea componentelor optice noi, ajustarea precum și modernizarea configurației MHD pentru înregistrarea hologramelor digitale. A fost aleasă configurația “phase-shifting” a MHD (din engleză schimbarea de fază).

2. Înregistrarea imaginilor în timp real pentru măsurarea cantitativă a caracteristicilor structurale ale obiectelor transparente, cum ar fi faza, morfologia și anizotropia optică, utilizând MHD dezvoltat (software).

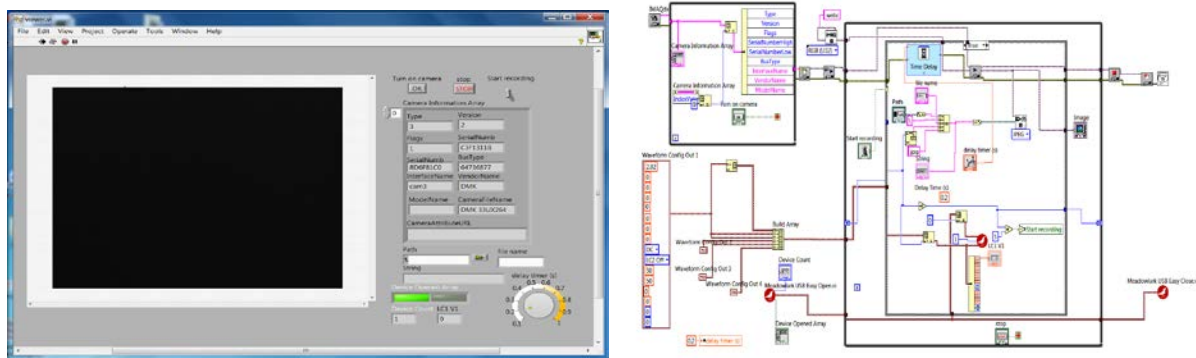


Fig. 2 Panoul de control frontal și diagrama - bloc a programului

Mai mult, a fost dezvoltat un algoritm pentru prelucrarea computațională a hologramelor digitale obținute în programul MATLAB.

În studiul probelor de celule de blastom la diferite mărimi, cele mai clare rezultate ale prezenței anizotropiei au fost obținute cu o mărire de $60\times$ (Fig. 3).

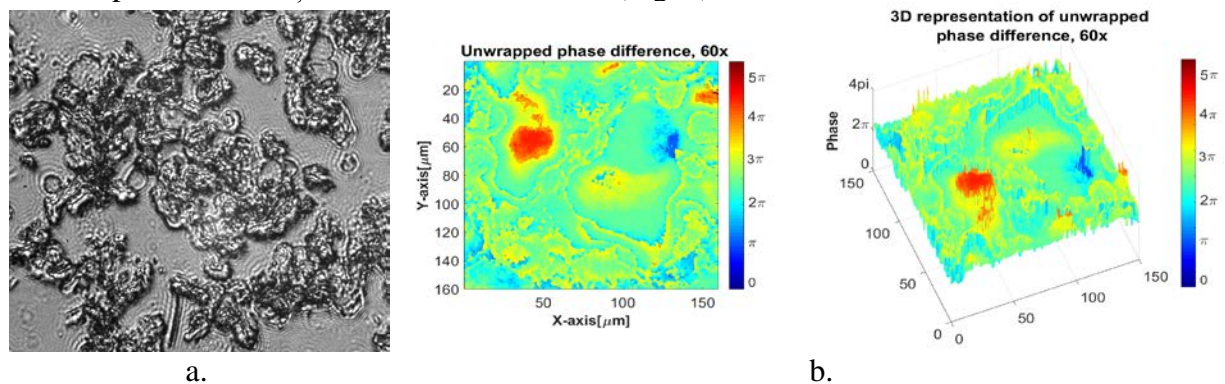


Fig. 3 a. Imagine în lumină albă de celule de blastom de mărire de $60\times$. b. Imagini cu diferență de fază înfășurată/codificată între polarizarea verticală și orizontală a sistemului de imagistică DHM, reprezentarea 2D și 3D respectiv.

6. Diseminarea rezultatelor obținute în formă de publicații

1. CAZAC, V. O.; ACHIMOVA, E. A.; ABASHKIN, V. G.; PRISAKAR, A. M.; LOSHMANSKII, C. S.; MESHALKIN, A. YU.; EGIAZARIAN K. Polarization holographic recording of vortex diffractive optical elements and 3D analysis via phase-shifting digital holographic microscopy. *J. Optics Express*, No.6, Vol. 29, 2021, 9217-9230.

2. MELNIKOVA, E.A.; TOLSTIK, A.L.; LOSMANSCHII, C.; MESHALKIN, A.; ACHIMOVA, E. Optical Vortices Generation with Azopolymer-Based Forked Gratings. *J. Nonlinear Phenomena in Complex Systems*, 2021, V.24, №1, P.104–111.

3. PORFIREV, A.; KHONINA, S.; MESHALKIN, A.; IVLIEV, N.; ACHIMOVA, E.; ABASHKIN, V.; PRISACAR, A.; PODLIPNOV V. Two-step maskless fabrication of compound fork-shaped gratings in nanomultilayer structures based on chalcogenide glasses. *J. Optics Letters*, Vol. 46, Is. 13, pp. 3037-3040 (2021).

7. Diseminarea rezultatelor obținute în formă de prezentări (comunicări, postere, teze/rezume/abstracte) la foruri științifice

1. MESHALKIN, A. YU.; LOSMANSCHII, C. S.; CAZAC, V. O.; ACHIMOVA, E. A.; PODLIPNOV, V. V. Analysis of diffraction efficiency of phase gratings in dependence of grooves number, ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И НАНОТЕХНОЛОГИИ (ИТНТ-2021) Сборник трудов по материалам VI Международной конференции и молодежной школы. В 4-х томах. Под редакцией С.В. Карпеева, 143-146, 2020.

2. ЛОШМАНСКИЙ, К.; АКИМОВА, Е.; МЕШАЛКИН, А.; АБАШКИН; В.; ПРИСАКАР, А. Сравнительные характеристики азополимеров: синтез, оптические и регистрирующие свойства, ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И НАНОТЕХНОЛОГИИ (ИТНТ-2021). Сборник трудов по материалам VI Международной конференции и молодежной школы. В 4-х томах. Под редакцией С.В. Карпеева, 461-466, 2020.

3. МЕЛЬНИКОВА, Е. А.; КАБАНОВА, О. С.; РУШНОВА, И. И.; ТОЛСТИК, А. Л.; АКИМОВА, Е.; ЛОШМАНСКИЙ, К.; МЕШАЛКИН, А.; АБАШКИН, В. Топологический дифракционный элемент на основе азополимера. Сборник трудов XII Международной конференции «Фундаментальные проблемы оптики –2020». Санкт-Петербург. 19-23 октября 2020г., p.185-187.

4. CAZAC, V.; АСЧИМОВА, Е.; КАТКОВНИК, V.; SHEVKUNOV, I.; EGIAZARIAN, K. Pixel-Wise Calibration of the Spatial Light Modulator. “OSA Frontiers in Optics and Laser Science APS/DLS” (JTU1B.31), Technical Conference & Virtual Exhibits: 14 – 17 September 2020, 2p.

5. Silver medal and Diploma of Excellence in the Salon of Invention "INVENTICA-2021", Iasi, Romania.

8. Protecția rezultatelor obținute în formă de obiecte de proprietate intelectuală

9. Materializarea rezultatelor obținute

Model laborator MHD cu asamblare componentelor optice noi în configurația “phase-shifting”, ajustarea acestuia prin includerea componentelor de polarizare, precum și modernizarea acestuia cu un dispozitiv RVCL.

10. Dificultățile în realizarea proiectului

11. Concluzii

Scopul general al proiectului este ingineria MHD sensibilă la polarizare pentru aplicații biomedicale în studiul structurii, proprietăților de polarizare și fazelor probelor biologice. Au fost dezvoltate următoarele **obiective**:

1. Modificarea MHD, inclusiv înregistrarea și prelucrarea imaginilor digitale în timp real pentru măsurători cantitative ale anizotropiei optice, morfologiei și fazei probelor biologice transparente.

2. Elaborarea algoritmilor pentru reconstrucția fazei din hologramelor digitale luând în considerare anisotropia în scopul reconstruirii arhitecturii moleculare a probelor biologice.

Pentru realizarea acestor obiective, au fost dezvoltate metodologiile originale și adaptate:

a) design-ul configurării optice a MHD sensibil la polarizarea luminii pentru studiul anizotropiei și fazei obiectelor transparente;

b) simularea și modelarea matematică a MHD sensibil la polarizarea luminii;

c) dezvoltarea algoritmilor de procesare digitală a imaginilor pentru reconstrucția hologramelor digitale luând în considerare polarizării;

d) integrarea procesării digitale a hologramelor în schema experimentală a microscopului pentru formarea unei tehnici unice de caracterizarea polarizării probelor biologice.

Rezultate obținute în cursul proiectului:

– MHD sensibil la polarizare pentru măsurarea cantitativă a fazei optice și distribuției polarizării în probe biologice transparente;

– Modelarea și analiza matematică hologramelor digitale care permite obținerea informații semnificative, inclusiv imaginea 3D a probelor;

– Evaluarea performanței și limitărilor MHD sensibil la polarizare dezvoltat pentru aplicații în biomedicină.

The overall aim of the project is engineering of polarized-sensitive digital holographic microscope (DHM) for its application in biomedicine to study the structure and polarization properties of phase bio samples.

The following **objectives** have to be under development:

1. To modify DHM including real-time optical and digital image acquisition and processing for quantitative measurements of the optical anisotropy and morphology of bio samples.
2. To elaborate the algorithms for reconstructing of phase digital holograms considering anisotropy to reveal molecular architecture of bio samples.

To carry out these objectives, it was developed original and adapted methodologies such as:

- a) the optical setup of polarized-sensitive DHM for study of anisotropy of transparent phase objects;
- b) the mathematical simulation and modeling of polarized-sensitive DHM;
- c) the digital image processing algorithms for reconstructing digital polarization holograms;
- d) the combine of the developed optical and digital image processing in one holographic microscopic technique suitable for studying the polarization of bio samples.

Results obtained in the course of the research project:

- The polarized-sensitive DHM for quantitative measuring of the optical phase and polarization distribution into transparent bio samples;
- The mathematical modeling and analysis of digital holograms with maximal meaningful information, including 3D image and anisotropy of samples;
- The assessment of potentialities and limitations of elaborated polarized-sensitive DHM technology for biomedical applications.

Conducătorul de proiect dr. hab. Elena ACHIMOVA

Data:

29.07.21



**Executarea devizului de cheltuieli, conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare
Cifrul proiectului: 20.70086.16/COV(70105)**

Cheltuieli, mii lei						
Denumirea	Cod		Anul de gestiune 2020-2021			
	Eco (k6)	Aprobat	Modificat	Precizat	Executat	Sold
Cheltuieli	2	444.7		444.7	444.7	
Alte cheltuieli	28	444.7		444.7	444.7	
Alte cheltuieli în bază de contract cu persoane fizice	281600	444.7		444.7	444.7	
Stocuri de materiale circulare	33	147.3		147.3	147.3	
Procurarea pieselor de schimb	332110	147.3		147.3	147.3	
Total		592.0		592.0	592.0	

Conducătorul organizației dr.hab.Mihai Macovei/

Contabil șef Larisa Mitrosenco/

Conducătorul de proiect dr.hab.Elena Achimova/

M. Macovei

L. Mitrosenco

E. Achimova

Data: 29.07.21



Componența echipei proiectului

Cifrul proiectului **20.70086.16/COV(70105)**

Echipa proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului) 2020						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Achimova Elena	1959	Dr. hab.	0.25	02.07.2020	31.12.2020
2.	Abașkin Vladimir	1948	Dr.	0.25	02.07.2020	31.12.2020
3.	Prisacar Alexandru	1969		0.25	02.07.2020	31.12.2020
4.	Meșalchin Alexei	1978		0	02.07.2020	31.12.2020
5.	Cazac Veronica	1994		0.25	02.07.2020	31.12.2020
6.	Loșmanschii Constantin	1990		0.25	02.07.2020	31.12.2020
7.	Slepnev Ivan	1949		1	02.07.2020	31.12.2020
8.	Triduh Ghenadii	1946		0.5	02.07.2020	31.12.2020
9.	Mitroșenco Larisa	1963		0.25	02.07.2020	31.12.2020

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2020-2021					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării
1	Achimova Elena	1959	Dr. hab.	0.75	04.01.2021
2	Abașkin Vladimir	1948	Dr.	0.75	04.01.2021
3	Cazac Veronica	1994		0.75	04.01.2021
4	Loșmanschii Constantin	1990		0.75	04.01.2021
5	Prisacar Alexandru	1969		0.75	04.01.2021
6	Meșalchin Alexei	1978		0.25	04.01.2021
7	Slepnirov Ivan	1950		1.00	04.01.2021

Conducătorul organizației dr.hab.Mihai Macovei/

Contabil șef Larisa Mitrosenco/

Conducătorul de proiect dr.hab.Elena Achimova/

M. Macovei
L. Mitrosenco
E. Achimova

Data: 29.07.21





Nr.11-142 din 29.07.2021

EXTRAS
din PROCESUL VERBAL nr. 9
al ședinței Consiliului Științific al Institutului de Fizică Aplicată
din 29 iulie 2021

PREZENȚI: 12 (din 17) **membri ai Consiliului Științific.**

ORDINEA ZILEI:

Audierea rapoartului de realizare a proiectului 20.70086.16/COV.

S-A AUDIAT:

Raportul **dr.hab. Elena Achimova** cu privire la realizarea în perioada 01.07.2020 – 30.06.2021 a proiectului din cadrul ofertei de soluții de cercetare-inovare privind combaterea și atenuarea impactului pandemiei COVID-19 **20.70086.16/COV - Aplicarea biomedicală a microscopiei holografice digitale sensibilă la polarizarea luminii - BIOHOLO – director de proiect dr.hab. E.Achimova.**

Rezultate principale: Au fost asamblate componente optice noi în microscopul holografic digital (MHD) în configurația “phase-shifting”, ajustarea acestuia fiind efectuată prin includerea componentelor de polarizare, precum și modernizarea cu un dispozitiv RVCL (hardware). Au fost înregistrate holograme digitale cu starea de polarizare a fasciculelor laser verticală. A fost dezvoltat un algoritm de prelucrare a hologramelor digitale sensibile la lumină cu includerea etapei de compensare a schimbului de fază și funcției PUMA de desfășurare a fazei. A fost efectuată automatizarea înregistrării hologramelor și schimbului de fază. MHD și algoritmul de procesare a hologramelor digitale a fost aplicat pentru studiul diferitor obiecte biologice.

Concluzii: Pe parcursul implementării proiectului au fost realizate toate obiectivele de cercetare stabilite. Resursele financiare alocate au fost valorificate în întregime.

Aprobarea rezultatelor lucrărilor la proiect a fost pusă la vot deschis.

Rezultatul votării: PRO - unanim.

S-A HOTĂRÂT:

A aproba rezultatele obținute în perioada 01.07.2020 – 30.06.2021 în cadrul proiectului din oferta de soluții de cercetare - inovare privind combaterea și atenuarea impactului pandemiei COVID-19 **20.70086.16/COV - Aplicarea biomedicală a microscopiei holografice digitale sensibilă la polarizarea luminii - BIOHOLO – director de proiect dr.hab. E.Achimova.**

Mihai Macovei, dr.hab.
Președintele Consiliului Științific IFA

Ion Cojocaru, dr.
Secretarul Consiliului Științific IFA



M. Macovei
I. Cojocaru