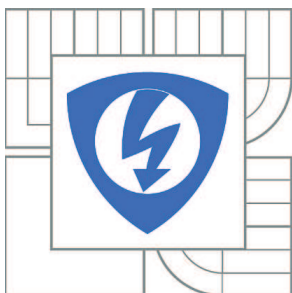


**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



**FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH  
TECHNOLOGIÍ**

**ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

## **EXPERIMENTÁLNÍ STANOVENÍ HLOUBKY OSTROSTI OPTICKÝCH SYSTÉMŮ**

EXPERIMENTAL DEPTH OF FIELD DETERMINATION OF OPTICAL IMAGING SYSTEMS

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

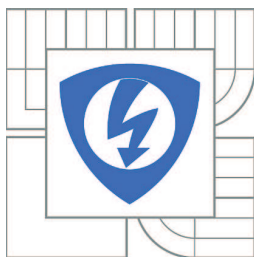
**Bc. SVATOPLUK KUBÁČEK**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**Ing. JAN ODSTRČILÍK**

BRNO 2013



VYSOKÉ UČENÍ  
TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky  
a komunikačních technologií

Ústav biomedicínského inženýrství

# Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor  
**Biomedicínské inženýrství a bioinformatika**

**Student:** Bc. Svatopluk Kubáček

**ID:** 70076

**Ročník:** 2

**Akademický rok:** 2012/2013

## NÁZEV TÉMATU:

**Experimentální stanovení hloubky ostrosti optických systémů**

## POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Seznamte se s principem snímání v oblasti optické mikroskopie a zaměřte se zejména na parametry procesu zobrazení. 2) Provedte literární rešerši vhodné literatury z oblasti měření těchto parametrů. 3) Navrhněte schéma pracoviště a metodiku měření pro experimentální stanovení hloubky ostrosti zobrazovacího systému. 4) Provedte měření na dostupných mikroskopech a optických systémech a pomocí vhodného programového vybavení vytvořte program pro analýzu měřených dat. 5) Provedte diskusi dosažených výsledků a jejich zhodnocení. 6) K měření sepište přehledný návod provádění experimentu a uzpůsobte jej tak, aby jej bylo možné využít v rámci výuky mikroskopie.

## DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] MERZ, J. Introduction to Optical Microscopy. Roberts and Company Publishers; 1st Edition edition, May 11, 2009, p. 413. ISBN-10: 0981519482.

[2] NIKON. Základní metody světelné mikroskopie. [online], p. 66, Brno, 2004.

**Termín zadání:** 11.2.2013

**Termín odevzdání:** 24.5.2013

**Vedoucí práce:** Ing. Jan Odstrčilík

**Konzultanti diplomové práce:**

**prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.**

*Předseda oborové rady*

## UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

# Abstrakt

Cílem této práce je seznámit se s principem snímáním v oblasti optické mikroskopie. Dále se práce zabývá problematikou parametrů procesu zobrazení, jejich vlivem na výsledky a měření těchto parametrů. Podrobně je rozebrána hloubka ostrosti u optického systému a jsou zde určeny možnosti jejího teoretického i experimentálního stanovení. Součástí této práce je realizace měřicího pracoviště a program stanovující experimentálně hloubku ostrosti na základě různých metod měření. Závěr práce je věnován praktické části, která má za úkol sledovat nastavení optických systémů a jejich vliv na hloubku ostrosti.

# Abstract

The aim of this work is to introduce the principle of scanning in optical microscopy. This thesis deals with problem of parameters of display process and their influence on the results and measurements of these parameters. In detail there is analyzed the depth of field of the optical system and there are established some possibilities of theoretical and experimental determination. Part of this thesis is the realization of the measurement work place and program providing experimental depth of field based on different measurement methods. The conclusion is devoted to the practical part, which has the task to monitor settings and optical systems and their impact on depth of field.

# Klíčová slova

Optická mikroskopie  
Parametry procesu zobrazení  
Rozlišovací schopnost  
Hloubka ostrosti

# Key words

Optical microscopy  
Parameters of display process  
Resolution  
Depth of field

KUBÁČEK, S. *Experimentální stanovení hloubky ostrosti optických systémů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2013. 68 s.  
Vedoucí diplomové práce Ing. Jan Odstrčilík.

# Prohlášení

Prohlašuji, že svůj semestrální projekt na téma Experimentální stanovení hloubky ostrosti optických systémů jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího semestrálního projektu a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedeného semestrálního projektu dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením tohoto projektu jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009Sb.

V Brně dne 24. května 2013

podpis autora

# Poděkování

Děkuji vedoucímu diplomové práce Ing. Janu Odstrčilíkovi za pomoc a odborné rady při vytváření diplomové práce. Děkuji také své rodině za potřebnou podporu během mého vysokoškolského studia.

V Brně dne 24. května 2013

podpis autora

# Obsah

<b>Obsah.....</b>	<b>4</b>
<b>Seznam obrázků .....</b>	<b>6</b>
<b>Úvod.....</b>	<b>8</b>
<b>1 Optická mikroskopie .....</b>	<b>9</b>
1.1 Základy a historie mikroskopie.....	9
1.2 Světlo.....	9
1.3 Lidské oko .....	10
1.4 Optika .....	11
1.4.1 Geometrická optika .....	12
1.4.2 Vlnová optika .....	14
1.5 Objektivy.....	15
1.5.1 Parametry objektivu .....	16
1.5.2 Zobrazovací vady objektivů .....	18
1.6 Okulár .....	19
1.7 Omezení optických soustav .....	20
<b>2 Získání obrazu.....</b>	<b>23</b>
2.2 Snímání a digitalizace obrazu .....	23
2.2.1 Snímání .....	23
2.2.2 Digitalizace.....	24
2.3 Parametry zobrazení .....	25
2.3.1 Kontrast .....	25
2.3.2 Ostrost .....	26
2.3.3 Rozlišení.....	26
2.3.4 Charakteristiky zobrazovacích soustav.....	27
2.3.5 Další parametry procesu zobrazení.....	31
2.4 Hodnocení kvality obrazu .....	31
<b>3 Hloubka ostrosti.....</b>	<b>33</b>
3.1 Definice hloubky ostrosti.....	33
3.2 Parametry ovlivňující hloubku ostrosti.....	33

3.2.1	Clona .....	34
3.2.2	Vzdálenost objektu a ohnisková vzdálenost.....	35
3.3	Stanovení hloubky ostrosti.....	35
3.3.1	Měřicí pomůcky .....	35
3.3.2	Návrh metody měření a schéma pracoviště.....	36
3.4	Metody stanovení hloubky ostrosti .....	38
3.4.1	Teoretické určení hloubky ostrosti.....	38
3.4.2	Praktické určení hloubky ostrosti .....	39
<b>4</b>	<b>Realizace experimentálního stanovení hloubky ostrosti .....</b>	<b>42</b>
4.1	Měřící fantom.....	42
4.2	Měřící pracoviště.....	43
4.3	Program pro analýzu a stanovení hloubky ostrosti.....	46
4.3.1	Základní popis programu Analyza_DOF .....	46
<b>5</b>	<b>Provedení měření a dosažené výsledky .....</b>	<b>56</b>
5.1	Měření pomocí kamery .....	56
5.1.1	Objektiv s ohniskovou vzdáleností 2,6 mm .....	56
5.1.2	Objektiv s nastavitelným ohniskem.....	58
5.1.3	Zhodnocení výsledků .....	59
5.2	Měření pomocí fotoaparátu .....	60
5.2.1	Zhodnocení výsledků .....	65
<b>6</b>	<b>Návod měření hloubky ostrosti optických systémů .....</b>	<b>66</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>67</b>
	<b>Seznam literatury .....</b>	<b>69</b>

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Zobrazení spojnou čočkou [2] .....	13
Obrázek 2: Zobrazení průchodu paprsků z nekonečna čočkou [2] .....	14
Obrázek 3: Funkce sinusoidy [3] .....	15
Obrázek 4: Průchod paprsků okulárem [2] .....	20
Obrázek 5: Nekomplementárnost pozorovaného objektu [13] .....	22
Obrázek 6: Kontrast [8].....	26
Obrázek 7: Rozlišení dvou čtverců pomocí CCD kamery [8].....	27
Obrázek 8: Matematické vztahy mezi charakteristikami optických soustav [26].....	28
Obrázek 9: Impulsová odezva zobrazovací soustavy [26] .....	29
Obrázek 10: Testovací obrázek pro určení MTF [19].....	30
Obrázek 11: Ilustrace vlivu MTF na kontrast obrazu na výstupu soustavy [26] .....	31
Obrázek 12: Hloubka ostrosti a otevřená clona [5].....	34
Obrázek 13: Hloubka ostrosti a uzavřená clona [5] .....	35
Obrázek 14: Vzorový fantom pro stanovení hloubky ostrosti [7].....	36
Obrázek 15: Měřicí schéma stanovení hloubky ostrosti pro kameru .....	37
Obrázek 16: Měřicí schéma pracoviště fotoaparátu pro stanovení hloubky ostrosti .....	37
Obrázek 17: Jasový profil hrany [28].....	40
Obrázek 18: První derivace hrany [28] .....	40
Obrázek 19: Druhá derivace hrany [28] .....	41
Obrázek 20: Realizovaný měřicí fantom.....	42
Obrázek 21: Měřicí papír pro fantom.....	43
Obrázek 22: Měřicí pracoviště pro kameru .....	44
Obrázek 23: Měřicí pracoviště pro fotoaparát.....	45
Obrázek 24: Uživatelské rozhraní programu Analyza_DOF .....	46
Obrázek 25: Panel základního rozhraní programu Analyza_DOF.....	47



Obrázek 26: Dialogové okno nastavení obrazu do horizontálního směru .....	47
Obrázek 27: Panel parametrů snímání .....	48
Obrázek 28: Funkce Teoreticky_vypocet_DOF.....	48
Obrázek 29: Ukázka části funkce Teoreticky_vypocet_DOF .....	49
Obrázek 30: Panel určení hloubky ostrosti .....	49
Obrázek 31: Kalibrace, určení 1mm, modrá čára v obraze .....	50
Obrázek 32: Ukázka části kódu tlačítka Kalibrace .....	50
Obrázek 33: Manuální určení hloubky ostrosti .....	51
Obrázek 34: Část kódu realizující hranovou detekci .....	52
Obrázek 35: Obraz, pro který je určen profil pomocí hranové detekce .....	53
Obrázek 36: Profil obrazu za pomoci hranové detekce, měřítko 1 čára na 1mm.....	53
Obrázek 37: Profil obrazu za pomoci hranové detekce, měřítko 5 čar na 1mm .....	54
Obrázek 38: Srovnání obrázku s jeho profilem.....	54
Obrázek 39: Panel Výsledky .....	55
Obrázek 40: Jasový profil prvního snímku, 1 čára na 1mm.....	57
Obrázek 41: Jasový profil druhého snímku, 1 čára na 1mm .....	57
Obrázek 42: Profil hranové detekce, 5 čar na 1mm, clona otevřena.....	58
Obrázek 43: Profil hranové detekce, 5 čar na 1mm, clona uzavřena .....	59
Obrázek 44: Clonové číslo $f/2,8$ , ohnisková vzdálenost 17mm.....	60
Obrázek 45: Clonové číslo 5, ohnisková vzdálenost 17mm .....	61
Obrázek 46: Clonové číslo 2,8, ohnisková vzdálenost 55mm .....	61
Obrázek 47: Clonové číslo 5, ohnisková vzdálenost 55mm .....	62
Obrázek 48: Clonové číslo 2.8, ohnisková vzdálenost 17mm .....	63
Obrázek 49: Clonové číslo 2.8, ohnisková vzdálenost 55.....	63
Obrázek 50: Clonové číslo 5, ohnisková vzdálenost 17.....	64
Obrázek 51: Clonové číslo 5, ohnisková vzdálenost 17.....	64

# Úvod

Optická mikroskopie slouží k pozorování mikroskopických objektů a struktur až do 1000 násobného zvětšení. Aplikace optické mikroskopie pokrývá velký rozsah oborů od biologie a medicínu, přes chemii, mikroelektroniku až nerůznějším jiným aplikacím.

Rozvoj v optické mikroskopii je v posledních letech úzce spojen s rozvojem mikroelektroniky a výpočetní techniky. Tento rozvoj umožňuje zkvalitňovat pozorování, jelikož dochází ke zlepšení kvality parametrů mající vliv na zobrazení.

Bez ohledu na pokrok, který přineslo minulé století, naráží zkoumání mikroskopických objektů metodami světelné mikroskopie na omezení plynoucí z konečné rozlišovací schopnosti mikroskopie. [4]

Lze konstatovat, že optická mikroskopie stále patří mezi rychle se vyvíjející obory přístrojové techniky. Tento vývoj je způsoben zdokonalováním optiky i konstrukcí optických systémů. Zásadní přínos pro tento rozvoj přineslo spojení s detektory CCD, které umožňují pohodlné pozorování obrazů na zobrazovacích přístrojích. Hlavní přínos těchto kamer spočívá v možnosti propojení s výpočetní technikou a z toho vyplývající možnost zpracování a analýzu obrazů.

Tato práce se zabývá především parametry, které souvisejí se snímáním a zobrazováním snímků pomocí optických soustav. Mezi tyto parametry neodmyslitelně patří rozlišovací schopnost, kontrast, ostrost a jiné. Stěžejní částí je potom rozbor hloubky ostrosti, která má nesmírný vliv na zobrazení a souvisí s technickými možnostmi optických soustav. Jsou zde uvedeny teoretické možnosti jejího stanovení a nastíněna je i možnost jejího experimentálního zjištění.

Dále je této práci popsána realizace měření spolu s popsáním vytvořeného programu. Součástí jsou také výsledky experimentů a stručný návod na měření.

# 1 Optická mikroskopie

## 1.1 Základy a historie mikroskopie

Podle definice lze považovat mikroskop za složitou optickou soustavu. Hlavní účel mikroskopů je pozorování malých či drobných předmětů a zkoumání detailů při určitém zvětšení. Zvětšený obraz pomocí mikroskopu lze pozorovat buď přímo okem a proto musí být tvořen viditelnou částí spektra záření nebo lze využít nejrůznějších detektorů záření, které převádí pro oko neviditelnou část spektra záření na viditelnou a nemusí být nutně využito viditelné záření.

Počáteční zmínky o prvních mikroskopech, které využívaly světlo a byly složeny z okuláru a objektivu, jsou datovány před 400 lety. Nicméně jako důležitá pomůcka pro badatele se stal mikroskop důležitým v 19. století. Za první poměrně dokonalý mikroskop lze považovat ten, co byl vyrobený J.J.Listerem v roce 1826, který opatřený achromatickým objektivem s korigovanou sférickou vadou. Další vývoj nastal v 80. letech, kdy spolupráce Carla Zeisse, Ernsta Abbeho a Otto Schotta dala vzniknout mikroskopům, jež dosáhli téměř hranic možností rozlišovací schopnosti zobrazení.

Jak bylo řečeno výše, optický mikroskop však má své teoretické hranice, jež jsou dány rozlišovací mezí a vlnovou délkou viditelného světla. Bylo tedy nutné přemýšlet jiným směrem a zkonstruovat mikroskop na odlišném principu, a hlavně využít jiný druh „osvětlení“ o kratší vlnové délce. Byl vyvinut elektronový mikroskop, který místo světelného paprsku využívá elektronový svazek a místo skleněné čočky je čočka magnetická. Mikroskopie na tomto principu se poprvé objevila v Německu v roce 1931. V 80. letech minulého století vznikla tzv. rastrovací sondová mikroskopie. Roku 1981 byl vytvořen první řádkovací tunelový mikroskop (STM) Gerdem Binnigem a Heinrichem Rohrerem. O pět let později, v roce 1986, spatřil světlo světa mikroskop atomárních sil (AFM). [20] [21]

## 1.2 Světlo

Viditelné světlo je elektromagnetické záření o vlnové délce 380 – 760nm. Tento rozsah je dán vnímáním lidského oka. Vlnové délky viditelného světla leží v oblasti mezi

ultrafialového a infračerveného záření. Hlavní vlastností světla je jeho dualistická povaha, která umožňuje chápání světla jako příčného spojitého vlnění elektromagnetické pole i jako proud fotonů. K základním charakteristikám světla patří rychlost světla ( $c$ ) ve vakuu, která má hodnotu  $3 \cdot 10^8 \text{ms}^{-1}$ . Tato hodnota klesá v hustších prostředích. Frekvence značená jako  $f$  je počet kmitů za jednotku času a nezávisí na rozdíl od rychlosti světla na prostředí [3]. Další parametrem je již zmíněná vlnová délka záření ( $\lambda$ ), která je dána vztahem

$$\lambda = c/f. \quad (1)$$

Mezi další charakteristiky patří amplituda ( $A$ ) udávající největší odchylku sinusoidy o nulové hladiny. S amplitudou světla souvisí intenzita záření. Jako poslední charakteristiku lze uvést fázi záření ( $\varphi$ ) označující jaká část vlny se nachází v daném časovém okamžiku.

Mezi základní vlastnosti světla patří chromatičnost. Tento výraz slouží ke kvantitativnímu vyjádření barvy na základě srovnání s absolutní teplotou černého zářiče. Proto tedy u záření nemluvíme o barvě, nýbrž o teplotě chromatičnosti, jelikož je termín barva fyzikálně nejednoznačný. Pokud je záření tvořené jednou vlnovou délkou, hovoříme o záření monochromatickém. U takového záření je vztah mezi chromatičností a vlnovou délkou jednoduchý. Chromatičnost záření, složeného z několika vlnových délek, se hodnotí obtížněji, přesně je popisují jeho trichromatické souřadnice. Takové hodnocení může být v mikroskopii součástí obrazové analýzy, prováděné počítačovým programem. U chromatičnosti je nutné rozlišovat, zda je detail sám zdrojem záření nebo zda jde o záření odražené [2].

Šíření světelného záření v prostoru je popsáno pomocí Huygensova principu. Tento princip nám poté říká, že světlo je tvořeno vlnoplochami, které se v prostoru stávají dalším zdrojem elementárního záření. V opticky homogenním prostředí se světelné paprsky šíří nezávisle na sobě přímočaře na rozdíl od nehomogenního prostředí, kde dochází k jevům, jako jsou odraz, lom, ohyb světla nebo případně absorpce světla [3].

### 1.3 Lidské oko

Oko jakožto příjemce obrazové informace je orgán reagující na světlo. Lidské oči jsou umístěny v přední části hlavy, a proto umožňují trojrozměrné binokulární vidění, kdy dochází ke skládání obrazové informace z obou očí do jednoho obrazu, který potom vnímáme. Výsledný vjem obrazu je složitý psychofyzilogický proces ovlivněný samotným člověkem. Proto při pozorování obrazu a jeho hodnocení je z velké části subjektivní.

Lidské oko vnímá světlo jako elektromagnetické v rozsahu vlnových délek přibližně 380 až 760 nm [2]. Lidský zrak má proměnlivou citlivost vzhledem k vlnové délce záření. Pokud bereme v úvahu denní světlo, tak je oko nejvíce citlivé na žlutozelené záření s vlnovou délkou kolem 500nm. Lidské oko, pomocí kterého vnímáme obraz, rozlišuje detaily lišící se:

- a) velikostí
- b) tvarem
- c) jasem (kontrastem)
- d) chromatičností (barvou)
- e) hranovou ostrostí.

Při tvorbě obrazu objektivem se v ideálním případě zobrazuje bod stejně v předmětovém i obrazovém prostoru. Nicméně objekty jsou složeny z velkého množství bodů, tudíž obsahují větší či menší počet detailů. Tyto detaily nejsou v obraze vždy dokonalé a dochází k určitým chybám způsobující zkreslení. Proto obrazem bodu už není přesně bod jako v předmětovém prostoru, ale ploška, jejíž velikost závisí na dokonalosti optické soustavy. Jako příklad lze uvést zvětšení optické soustavy, které je omezené vlnovou délkou viditelného záření. U detailů s velikostí blíží se vlnové délce, nelze tyto detaily už vzájemně rozlišit.

Zavedeme zde ještě pojem konvenční pozorovací vzdálenost, která má hodnotu 25cm. Tato hodnota je dána pro zdravé oko, kdy předměty ležící ve vzdálenosti od 25cm do nekonečna vidí oko bez problému. Při hodnotách menších než 25cm se lidské oko musí přizpůsobit této vzdálenosti a dochází k zaostření na předmět. Tento je se nazývá akomodace oka. Další zavedenou veličinou je úhlová mez rozlišení, která udává velikost detailů, které je lidské oko schopno rozlišit. Pro konvenční vzdálenost je úhlová mez vzdálenost 1 – 2 úhlové minuty

## 1.4 Optika

Optika je věda, která studuje původ a zákonitosti světelných jevů, děje vzájemného působení světla a látky a zabývá se i detekcí světla. Jak bylo uvedeno výše tak pod pojmem světlo se rozumí elektromagnetické záření o vlnových délkách 360 – 780nm [3]. Optiku lze členit do následujících skupin:

- a) Geometrická optika – pracuje s čistě geometrickými představami a zanedbává vlnovou a kvantovou podstatu světla

- b) Vlnová optika – pracuje s elektromagnetickou povahou světla, kdy se světlo šíří pomocí elektromagnetických vln
- c) Kvantová optika – uvažuje kvantovou povahu světla, kdy se světlo je světlo vyzařováno po kvantech nebo-li fotonech.

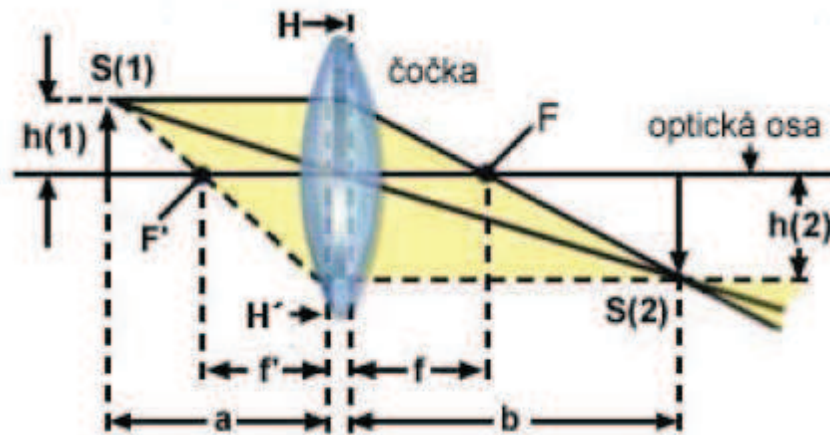
V další části budou rozebrány první dva druhy optiky, které nám pomáhají uvědomit si vznik a případné snímání obrazů u optických soustav. Dále z jejich definic platí určitá omezení týkající se vzniku obrazu, jeho snímání a zobrazení.

### 1.4.1 Geometrická optika

Nyní budou probrány základní fyzikální základy platící pro optické mikroskopy. K tomu je nutné definovat, že optické mikroskopy a případně další optické soustavy se skládají ze souboru čoček, proto lze čočku považovat za základní stavební kámen optických soustav. Platí zde Fermatův princip, který nám říká, že se světlo šíří podél přímek ze zdroje jako světelný paprsek a v opticky homogenním prostředí se šíří přímočaře tj. mezi dvěma body po nejkratší dráze [3][1].

Základní optické prvky optických mikroskopů jsou objektiv a okulár. Jedná se o centrované optické soustavy, jejichž vrcholy čoček leží na společné přímce a nazývá se optická osa. Na této ose leží středy dalších optických prvků mikroskopu, jakou jsou kondenzor, tubusová čočka a osvětlovací soustava.

Pro potřeby geometrické optiky nahradíme objektiv a okulár tenkými spojnými čočkami. Zavedeme pojem hlavní rovna čočky, která probíhá středem čočky a je kolmá na její optickou osu. Tato hlavní rovina  $H$  odděluje předmětový a obrazový prostor. Za kladný směr světelných paprsků se označuje chod paprsků z předmětového do obrazového prostoru. Pro rozlišení se veličiny předmětového prostoru označují apostrofem. Vzdálenost předmětu, který leží na optické ose od hlavní roviny předmětového prostoru, se označuje jako předmětová vzdálenost. S ní souvisí podobná veličina objektivu označená jako pracovní vzdálenost (Working Distance, zkratka WD), která určuje vzdálenost krycího skla pozorovaného objektu od objektivu. Pro případ, kdy je použita tlustá spojná čočka nebo soustava čoček (objektiv) dochází k rozšíření hlavních rovin a vznikají roviny zvlášť pro předmětový prostor  $H'$  a obrazový prostor  $H$  [2]. Pro názornost je na obrázku 1 zobrazeno spojení tenkou čočkou.

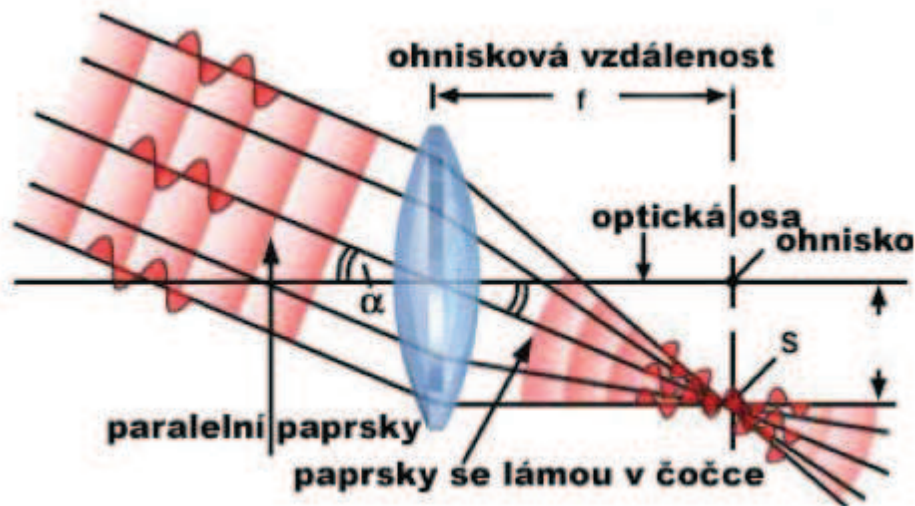


Obrázek 1: Zobrazení spojnou čočkou [2]

Veličiny vystupující na obrázku 1 jsou:

- a)  $F'$  ohnisko předmětového prostoru
- b)  $F$  ohnisko obrazového prostoru
- c)  $f'$  ohnisková vzdálenost předmětového prostoru od hlavní roviny
- d)  $f$  ohnisková vzdálenost obrazového prostoru od hlavní roviny
- e)  $a$  předmětová vzdálenost
- f)  $b$  obrazová vzdálenost
- g)  $h_1$  výška předmětu
- h)  $h_2$  výška obrazu
- i)  $H, H'$  hlavní roviny čočky
- j)  $S_1, S_2$  konjugované body.

Nyní si probereme případ, kdy světelné paprsky dopadají z nekonečna rovnoběžně na vstupní plochu čočky. Nekonečno v optice udává vzdálenost rovnající se přibližně desetinásobku ohniskové vzdálenosti objektivu mikroskopu. Paprsky z nekonečna procházejí optickou soustavou rovnoběžně s její optickou osou. Tyto paprsky se na hlavní rovině lámou a dopadají do jednoho bodu na optické ose v obrazovém prostoru a nazývá se ohnisko obrazového prostoru  $F$  (Obrázek 2). Při provedení kolmice na optickou osu získáváme bod označený jako ohnisková rovina  $\varphi$ . Vzdálenost ohniska od hlavní roviny je ohnisková vzdálenost  $f$ . Stejně definice platí pro předmětový prostor a dostáváme veličiny ohnisko  $F'$ , ohnisková vzdálenost  $\varphi'$  a ohnisková vzdálenost  $f'$ .



Obrázek 2: Zobrazení průchodu paprsků z nekonečna čočkou [2]

Další kritériem pro zobrazení obrazu pomocí čočky je vlastnost prostředí, ve kterém se čočka nachází. Veličina popisující vlastnost prostředí je index lomu  $n$  a udává poměr mezi rychlostí světla ve vakuu ( $c_{\text{vakuum}}$ ) a rychlostí světla v daném prostředí ( $c_{\text{prostředí}}$ ) [2][1]. Jedná se o bezrozměrnou veličinu a je dána vztahem:

$$n = c_{\text{vakuum}} / c_{\text{prostředí}} \quad (2)$$

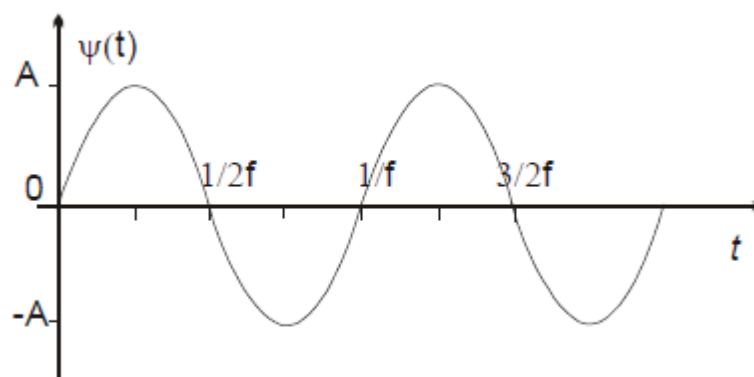
Index lomu určuje „optickou lámavost prostředí“. Ve světlené mikroskopii jsou důležité indexy lomu vzduchu ( $n_{\text{vzduch}} =$  přibližně 1,0), skla ( $n_{\text{sklo}} =$  podle druhu skla 1,4–1,8; průměrná hodnota je 1,5).

### 1.4.2 Vlnová optika

Jak bylo řečeno výše, světlo je elektromagnetické vlnění a jeho vlastnostmi se zabývá vlnová optika. Světelná vlna vzniká ve zdroji, ze kterého se šíří a dodává mu určitou energii. Bylo již zmíněno, že ve vakuu má vlnění rychlost  $c = 2,9979 \cdot 10^8 \text{ ms}^{-1}$  a šíří se v tomto prostředí všemi směry. V ostatních prostředích závisí rychlost na vlastnostech prostředí a rychlost je menší. Srovnávací kritérium těchto prostředí je dáno indexem lomu  $n$ , který byl definován v rovnici 2.

Fyzikální popis vlnění vychází u mechanického modelu, kde se vlna šíří z bodového zdroje všemi směry se stejnou rychlostí ve formě kulových vlnoploch[3]. Lze provést zjednodušení, kdy vybereme jeden směr a vlna se poté šíří přímočaře ve tvaru periodické funkce sinusoidy (Obrázek 3).





Obrázek 3: Funkce sinusoidy [3]

Oko jako receptor obrazové informace rozlišuje změny vlastností světla, které jsou základem pro zrakové vjemy. Změny nastávají průchodem světla opticky průhledným prostředím nebo odrazem od neprůhledného prostředí. Je nutné zavést pojem polarizace světla, kdy dochází k potlačení některých světelných vln kmitajících v různých rovinách kolmých na směr paprsku, jelikož je vlnění kmitá v prostředí ve všech rovinách. K polarizaci dochází průchodem některých opticky aktivních látek nebo odrazem od lesklých povrchů.

Další vlastností vlnění je jejich interference, což označuje skládání dvou či více vlnění a vznik nového vlnění. Tímto způsobem může dojít k zeslabení či zesílení vlnění případně k jeho vyrušení. Dále mohou nastat při průchodu opticky aktivní látkou nebo odrazem od lesklého povrchu změny amplitudy, frekvence nebo fáze. Rozeznáváme amplitudovou nebo frekvenční modulaci vznikající při změně amplitudy vlnění nebo jejího kmitočtu. Změny mohou nastat i ve fázi vlnění, ale pro lidský zrak je tato změna nepostřehnutelná. Na základě těchto změn vznikly v mikroskopii různé techniky pro snímání těchto změn.

## 1.5 Objektivy

Objektiv je čočka nebo soustava čoček používaná k soustředění světla na výstup případně na senzor k zobrazení pozorovaného objektu. Princip konstrukce objektivů je stejný pro fotoaparáty, kamery, mikroskopy či další optické zařízení, ale liší se svou konstrukcí. Pro konstrukci objektivů v mikroskopii je důležité prostředí, ve kterém je použito. Proto lze rozlišit suché objektivy pracující ve vzduchu a imerzní, kde prostředí je tvořeno imerzním olejem případně vodou [2]. Měřítkem pro jakost objektivů jsou

- a) numerická apertura

- b) rozlišovací schopnost
- c) korekce zbytkových vad
- d) jas a kontrast obrazu.

Velmi důležitými kritérii pro kvalitu obrazu jsou jas a kontrast, které souvisejí s konstrukcí objektivu. Jas obraz je přímo závislý na průměru vstupní čočky, jejíž účinný průměr může být omezen proměnou clonou nebo objímkami čoček. Byl zaveden pojem vstupní pupila  $D'$ , která určuje obraz nejmenší přírubby nebo clony promítnutý do čelní plochy objektivu při obráceném chodu paprsku. Světelnost objektivu, která udává jas obrazu, je dána právě vstupní pupilou a ohniskovou vzdáleností  $f'$ .

Kontrast lze definovat jako rozdíl logaritmů detailů s největším a nejmenším jasem. Z toho tvrzení lze vidět, že jas a kontrast spolu úzce souvisejí. Obecně platí, že kvalita obrazu se zvyšuje se stoupajícím kontrastem detailů až do určité hranice, kdy další zvyšování kontrastu má za následek zhoršení kvality obrazu. Další vlastností objektivu je množství procházejícího záření, jež je ovlivněn propustností objektivu závisící na vlnové délce záření. Pro tyto potřeby se vyrábějí různé speciální druhy skla pohlcující určitá záření.

### 1.5.1 Parametry objektivu

V této části práce budou probrány parametry, které ovlivňují kvalitu objektivů. Mezi tyto parametry patří světelný tok, jas, numerická apertura, rozlišovací schopnost a hloubka ostrosti.

První probranou veličinou je světelný tok, jenž určuje množství světla procházející optickou soustavou a označuje se  $\Phi$ . Z malé plochy  $\Delta S'$  v předmětovém prostoru světelná tok  $\Phi$  na vstupní čočku. Pokud bych průchodem optické soustavy nedocházelo ke ztrátě, byl by tok v obrazovém prostoru stejný jako v předmětovém. Nicméně při průchod světla soustavou dochází k pohlcení a také k odrazu na lámavých plochách. Tyto ztráty jsou vyjádřeny koeficientem  $T$ , který se nazývá propustnost optického systému. Pro vyjádřená rozdílů mezi obrazovým a předmětovým platí vztah

$$\Delta\Phi = T\Delta\Phi', \quad (3)$$

kde  $T$  je vždy menší než 1 a ostatní veličiny jsou popsány výše.

Pomocí světelného toku můžeme definovat jas  $L$ . Tato veličina umožňuje určit světelné vlastnosti předmětu  $L'$  i jas obrazu tvořeného optickou soustavou  $L$ . Jas je přímo úměrný světelnému toku, lze tuto skutečnost vyjádřit vztahem platící pro malou plochu  $\Delta S$

$$\Delta L = T \Delta L' \quad (4)$$

Z rovnice lze určit, že jas je dán světelným tokem  $\Phi$  dopadající na vstupní pupilu objektivu a propustností objektivu  $T$ .

Pro konstrukci objektivu je rozhodující plocha vstupní čočky, která určuje velikost světelného toku. Paprsky vycházející z plochy  $\Delta S'$  na optické ose svírají s průměrem vstupní pupily vrcholový úhel  $2\alpha$  a pro světelný tok vstupující do soustavy platí

$$\Delta \Phi' = \pi L' \Delta S' (n \cdot \sin \alpha)^2, \quad (5)$$

kde  $n$  je index lomu prostředí. Z této rovnice jsou určeny podmínky pro kvalitu objektivu. Pro co nejkvalitnější objektiv platí, že propustnost  $T$  se blíží co nejvíce 1, jas plochy v předmětovém prostoru musí být co největší a součin  $n \cdot \sin \alpha$  musí být také co největší. Tento součin se nazývá numerická apertura a závisí na indexu lomu  $n$  a vrcholovém úhlu  $2\alpha$ .

Numerická apertura označena jako N.A. případně  $n.a$  je jedním z nejvýznamnějších hledisek pro srovnání jakosti objektivů. Numerická apertura je dána následujícím vztahem:

$$n.a = n \cdot \sin 2\alpha, \quad (6)$$

kde  $n$  je index lomu prostředí mezi objektivem a pozorovaným objektem a úhlem  $2\alpha$  svírající paprsky vystupující z předmětu a ležící v optické ose, které dopadají na vnější obvod vstupní pupily. Pro objektivy platí, že čím je numerická apertura větší tím, je objektiv kvalitnější.

Dalším měřítkem pro hodnocení kvality objektivu je rozlišovací schopnost  $R$ , jenž je určená nejmenší vzdáleností mezi dvěma detaily objektu, kdy je lze stále rozlišit. Pokud je tato vzdálenost kratší, tak považujeme objektiv za kvalitnější. Pro rozlišovací schopnosti objektivu platí vztah:

$$R = 0,61 \left( \frac{\lambda}{n.a} \right), \quad (7)$$

kde 0,61 je optická konstanta,  $\lambda$  je vlnová délka monochromatické záření a  $n.a$  je numerická apertura objektivu. Na základě toho vztahu lze konstatovat, že rozlišovací schopnost  $R$  závisí na numerické apertuře i na vlnové délce světla. Pro úplnost je nutné dodat, že při pozorování závisí rozlišovací schopnost i na rozlišovací schopnosti lidského oka.

Jako poslední veličinou mající význam pro kvalitu obrazu je hloubka ostrosti. Hloubka ostrosti leží v rovině předmětu a definuje obraz předmětu, který lze vidět jako ostrý. Pro hloubku ostrosti (označení DOF z anglické názvu Depth Of Field) platí následující vztah (8) a bude podrobněji rozebrána v dalších částech této práce.

$$DOF = \frac{\lambda}{(n.a)^2}, \quad (8)$$

kde  $\lambda$  je vlnová délka a  $n.a$  je numerická apertura objektivu.

## 1.5.2 Zobrazovací vady objektivů

Každá reálná optická soustava trpí řadou vad, které se snažíme eliminovat. Potlačení těchto vad vede ke zvýšení kvality objektivů. Tyto vady mohou být způsobeny hlavně závislostí indexu lomu na vlnové délce, vzdalování světelných paprsků od osy či nedokonalou výrobou čoček. V následující části budou popsány nejčastější vady zobrazení [2][15][16].

### *Sférická vada*

Tato vada je způsobena rozdílnou lámavostí paprsku na krajích čočky než ve středu čočky. To má za následek, že paprsky blíže středu čočky tzv. paraxiální paprsky zobrazí bod ve větší vzdálenosti než paprsky na krajích čočky. Důsledek této vady rozmazání obrazu a neostrost. Zmenšit vliv sférické vady lze provést zacloněním, čímž se zmenší průřez svazku paprsku. Dále lze tuto vadu zmírnit vhodným postavením čočky či volbou jejího tvaru.

### *Astigmatismus*

Astigmatismus způsobují šikmé paprsky, které se lámou jinak než paprsky kolmé. Při zobrazení se body mimo střed projevují jako elipsy nebo úsečky a dochází k jejich prodloužení směrem ke krajům. Při konstrukci objektivu se této vadě předchází vhodnou kombinací čoček. Lze využít i zaclonění, které astigmatismus zmírňuje.

### *Koma (asymetrická vada)*

Koma je tvořena velmi šikmými paprsky procházejícími blízko u okraje čočky, které se lámou značně nepravidelně. Jimi vytvořený obraz předmětu je jinak velký než který vytváří paprsky ze středu objektivu, čímž vzniká složitý útvar podobný kometě s chvostem ubíhajícím ke kraji. Při stavbě objektivu se vada odstraňuje vhodným umístěním roviny clony, jinak pak zacloněním.

### ***Zklenutí pole***

Body ležící v rovině kolmé k optické ose se nezobrazují v rovině kolmé k ose, ale vytváří obraz na zakřivené ploše. Získáváme tedy obraz, který není ostrý v celém rozsahu a lze zaostřit pouze na střed nebo okraj pole. Tato vada souvisí s astigmatismem a lze ji odstranit vhodnou vzájemnou polohou členů optické soustavy a roviny clony.

### ***Chromatická (barevná) vada***

Důsledkem chromatické vady je, že ohnisková vzdálenost čočky je závislá na indexu lomu. Index lomu se mění s barvou použitého světla tudíž s vlnovou délkou. Při použití bílého světla, které je polychromatické, tudíž je složeno z různých vlnových délek, se každá složka světla láme jinak a nastává při průchodu čočkou rozklad světla. Barevná vada se koriguje za pomoci optických členů vyrobených z různých druhů skel o různém indexu lomu.

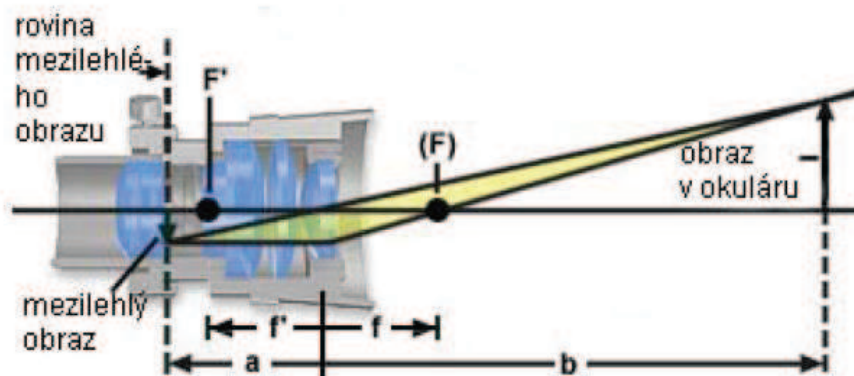
### ***Zkreslení***

Pro tuto vadu se používá termín zhroucení kresby. Různě vzdálené body od osy se zobrazují s různě velkým příčným zvětšením. Podle deformace rozlišujeme zkreslení soudkovité, poduškovité nebo vlnovité, které je kombinací prvních dvou zkreslení. Zkreslení se odstraňuje pomocí clony.

Výše zmíněné vady se při konstrukci objektivů korigují s větší či menší úspěšností. Pro korekci těchto se používají soustavy mnoha čoček různého tvaru z hotovených z různých materiálů. Objektivy jsou vždy korigovány pro určitou vzdálenost, kde pak vykazují lepší vlastnosti než ve zbylém zaostřeném pásmu. V některých případech se záměrně určité vady ponechávají.

## **1.6 Okulár**

V rámci optické mikroskopie je další důležitou optickou soustavou sloužící pro pozorování objektu vytvořeného pomocí objektivu okulár. Tato optická soustava pracuje na stejném principu jako lup, tudíž promítá lidskému oku zvětšený obraz vytvořený objektivem v ohniskové rovině okuláru. Na obrázku 4 je ukázán průchod světelných paprsků okulárem.



Obrázek 4: Průchod paprsků okulárem [2]

Veličiny vystupující na obrázku 4 jsou následující:

- a)  $F'$  – ohnisko předmětového prostoru
- b)  $F$  – ohnisko obrazového prostoru
- c)  $f'$  – ohnisková předmětová vzdálenost
- d)  $f$  – ohnisková obrazová vzdálenost
- e)  $a$  – předmětová vzdálenost
- f)  $b$  – obrazová vzdálenost.

Okuláry lze rozlišit na základě jejich konstrukce, zvětšení a velikosti pozorovaného úhlu. Důležitou vlastností okuláru je potlačení vad, které vznikají v objektivě, a nebyly kompenzovány. Jedná se především o vady chromatické, zklenutí obrazu a astigmatismus. Okuláry se schopností potlačit tyto vady se označují jako kompenzační. Některé okuláry jsou upraveny ke snímání za pomoci kamery. Takové okuláry se označují jako projektivy a jsou konstruovány tak, aby došlo k co největšímu potlačení zklenutí obrazu [2].

## 1.7 Omezení optických soustav

V této části práce dojde ke shrnutí výše nabitých poznatků, které mají vliv na omezení optických soustav. Tato omezení jsou dána z vlnové optiky vlnovou povahou světla, z geometrické optiky šířkou svazku paprsku, rozlišovací schopností snímacího zařízení a nekomplementárností pozorovaného objektu. Dochází tedy ke vzniku optických jevů při vzniku obrazu, který daný obraz znehodnocují.

Optické zobrazování by mělo být zprostředkováno vždy co nejširším svazkem paprsků. V ideálním případě by měl být vrcholový úhel světelného kužele kolem 180 stupňů.

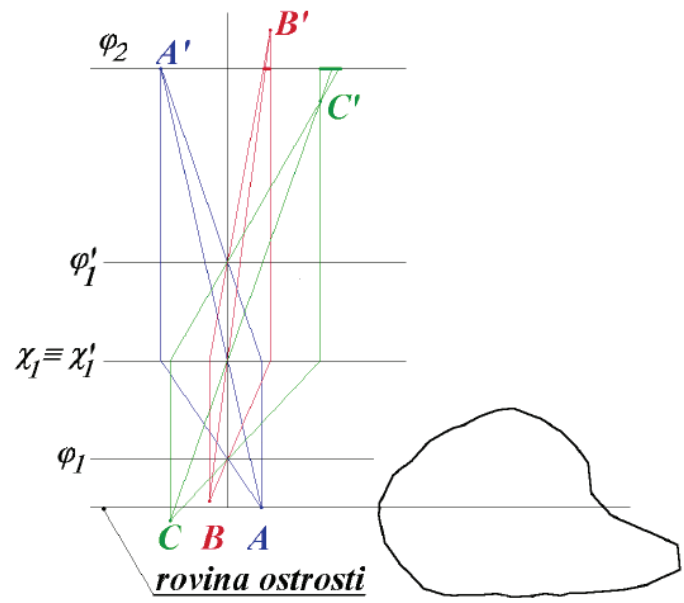
Ačkoliv je svazek paprsků vstupující do objektivů široký, u reálných soustav je podstatně nižší.

V geometrické optice byl zaveden předpoklad, že se světlo šíří přímočaře. Tento předpoklad platí pouze pro světlo v homogenním a izotropním prostředí. Ke splnění tohoto předpokladu je dále nutné, aby se světlo šířilo kolem překážek, které jsou mnohonásobně větší, než je vlnová délka použitého světla. Při reálném pozorování toto splněno není a dochází k ohybu světla na drobných překážkách. Samotná optická soustava způsobuje ohybové jevy, které vznikají především na vstupní pupile. Proto musíme vzít v potaz vlnovou povahu světla [13].

Prochází-li světelný paprsek kruhovým otvorem s velikostí srovnatelnou s vlnovou délkou světla, dochází ke vzniku ohybového jevu. Proto je zavedena u optických soustav rozlišovací schopnost, která je určena vzdáleností dvou bodů případně čar, které lze rozeznat. Rozlišovací schopnost lze vyjádřit pomocí Abbeho teorie: Pozorujeme-li mikroskopem drobnou překážku, dochází k ohybu světla a změně světelného paprsku o úhel  $\alpha$ . Označme  $2u$  maximální úhel paprsků, které projdou mikroskopem. Kdyby bylo  $\alpha < u$ , pozorovali bychom jen maximum 0. řádu, vytvořené jen paprsky procházejícími předmětovým nevlastním bodem. Protože chod těchto paprsků mřížka nezmění, pozorovali bychom stejnoměrně osvětlené pole. Přítomnost mřížky tedy pozorujeme díky paprskům, pro které je  $\alpha \geq u$ . Zkušenost ukazuje, že ještě rozlišitelné jsou body, jejichž nulté maximum se kryje s prvním minimem dalšího bodu. [13]

Kromě matematického vyjádření lze rozlišovací schopnost určit i experimentálně. Pro experimentální stanovení se používá lineární mřížka s postupně se zvětšujícím počtem čar na jednotku. Mřížku lze poté pozorovat optickou soustavou a měřit její kontrast. Za rozlišovací schopnost pak prohlásíme rozlišení mřížky, u které kontrast poklesl na předem stanovenou hodnotu  $\alpha$ , přičemž za jednotkový kontrast považujeme kontrast obrazu mřížky, jejíž vrypy lze mikroskopem bezpečně rozeznat[18].

Další omezení optických soustav souvisí s nekomplementárností pozorovaného objektu a s rovinou ostrosti. Optickou soustavu nelze zaostřit tak, aby se bod v předmětu zobrazil jako bod v obrazu. Pokud chceme předmět zobrazit ostře, musí se nacházet v rovině ostrosti, což je rovina, na kterou je soustava zaostřena (Obrázek 5). Pozorované předměty nejsou většinou rovinného charakteru a rovina ostrosti pak protne pozorované objekty ve vrstevnici. Body ve vrstevnici se poté zobrazí maximálně ostře, ale body nacházející se mimo tuto vrstevnici budou neostře a rozmazané.



Obrázek 5: Nekomplementárnost pozorovaného objektu [13]



## 2 Získání obrazu

V této kapitole budou rozebrány způsoby, jakým lze obraz snímat, jak lze tento obraz zpracovat a parametry mající vliv na zobrazení obrazu.

### 2.2 Snímání a digitalizace obrazu

Snímání a digitalizace obrazu patří mezi základní stavební kameny při získávání obrazu. Jedná se o získání obrazu z reálného světa a jeho převod do digitální formy vhodné pro uložení a další zpracování [9][11][12].

#### 2.2.1 Snímání

Snímáním obrazu se rozumí převod optické veličiny na elektrický signál, který je spojitý v čase i v úrovni. Při snímání obrazu je převeden reálný trojrozměrný objekt na dvojrozměrný za pomoci optické soustavy. Tento objekt je poté promítán na obrazový snímač, který převádí hodnotu jasu v objektu na hodnotu elektrického napětí. Na výsledný obraz na snímači má vliv celá řada faktorů jako jsou například ozáření a odrazivost povrchu objektu. Pro snímání obrazu se používají v dnešní době různé kamery s polovodičovými snímači. V dnešní době se nejčastěji používají následující snímače (detektory):

- a) Fotonásobiče PMT (Photo-Multiplier Tube)
- b) Lavinové fotodiody APD (Avalanche Photodiode)
- c) CCD (Charge Coupled Device) snímače (detektory)
- d) CMOS (Complementary Metal Oxid Semiconductor) snímače (detektory).

Pro tyto detektory platí celá řada vlastností a parametrů určující kvalitu těchto snímačů. V následujícím textu budou rozebrány nejdůležitější parametry detektorů.

#### *Spektrální citlivost*

Jedná se o schopnost detektoru detekovat příchozí foton o určité vlnové délce s dostatečnou účinností.

#### *Kvantová účinnost*

Měří se schopnost detektoru přeměnit určité procento dopadajícího světla na elektrický náboj. Tento náboj se liší pro různé vlnové délky dopadajícího světla.

### ***Prostorové rozlišení***

Je to parametr, který určuje schopnost snímače rozpoznat dva objekty s určitým kontrastem. Měří se pomocí modulační přenosové funkce MTF. Prostorové rozlišení je závislé na počtu detekčních elementů v mozaice a na velikosti jednoho elementu.

### ***Homogenita***

Nehomogenity způsobují variabilitu zesílení jednotlivých detekčních elementů. Při stejných podmínkách osvětlení by odezva jednotlivých detekčních elementů měla být stejná.

### ***Šum***

V oblasti šumu se měří parametry poměru signálu a šumu se zkratkou SNR. Tento parametr měří velikost užitečného signálu nad úroveň šumu. Existují různé druhy šumů, mezi základní šумы vyskytující se v detektorech patří kvantový, tepelný šum a šum čtecí elektroniky

### ***Ostatní parametry***

Mezi ostatní parametry patří dynamický rozsah, udávající rozsah mezi maximální úrovní detekovaného světla a úrovní šumu. Dále sem patří rychlost odezvy, která udává údaj o tom, jak rychle detektor přemění vstupní světelný tok na elektrický signál na výstupu. Poslední zde probraný parametr je linearita snímače, která poskytuje informaci o závislosti výstupní hodnoty pixelu v obraze na intenzitě vstupního světla.

Mezi nejčastěji používané snímače se používají detektory CCD. Tyto detektory jsou tvořeny mozaikovou strukturou. Mozaiková struktura snímače je složena ze světločivých prvků, které na základě počtu dopadajících fotonů generují určité množství elektrického náboje. Princip snímání u CCD detektorů je složen ze tří kroků. V prvním kroku dochází k expozici aktivní plochy snímače světlem. Po expozici dochází k akumulaci elektrického náboje v jednotlivých obrazových elementech. Ve druhém kroku se akumulovaný náboj přesouvá do registru. V posledním bodě se náboj převádí na elektrické napětí, které je zpracováno pomocí zesilovače a je odeslán na analogově-digitální převodník. Signál z A/D převodníku je poté dále zpracován.

## **2.2.2 Digitalizace**

Dalším krokem při zpracování obrazu je digitalizace. Jedná se převod analogového signálu na digitální pomocí analogově digitálního převodníku, který byl zmíněný výše.

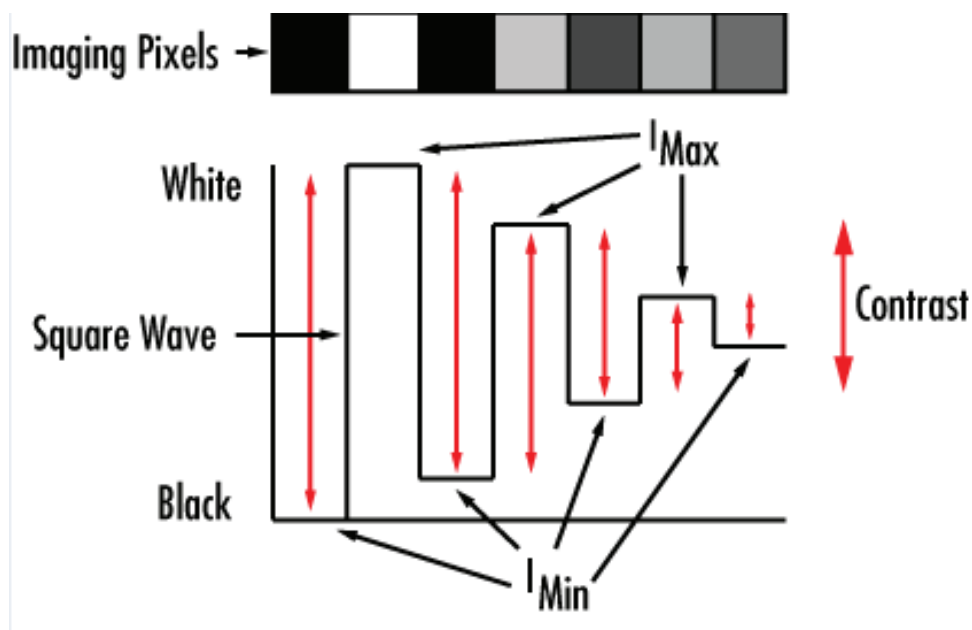
Digitální obraz úzce souvisí spojitou obrazovou funkcí  $f(i,j)$ , kde  $i$  a  $j$  jsou souřadnice ve dvojrozměrném prostoru. Digitální obraz se získává pomocí vzorkování vstupu a hraje významnou roli při digitalizaci. Podle Shanonovy věty musí platit, že nejmenší detail v digitálním obraze musí být minimálně dvojnásobek vzorkovací frekvence. Při volbě nízkého rozlišení dochází ke ztrátě informace o detailech v obraze [11]. Naopak příliš vysoké vzorkování má za následek velkou výpočetní náročnost a problematiku dalšího zpracování obrazu.

## **2.3 Parametry zobrazení**

Za parametry obrazu lze považovat všechny údaje, které neovlivňují základní obraz poskytovaný samotným senzorem, ale ovlivňují výhradně až výpočet výsledného obrazu z dat senzorem poskytnutých. V následující části budou rozebrány základní parametry procesu zobrazení, který výsledný obraz ovlivňují[2][14][16][17].

### **2.3.1 Kontrast**

Kontrast je měření mezi nejsvětlejší a nejtmaší částí obrazu. Přesnější definice je, že kontrast je změna intenzity světla nebo jasů mezi různými body. Obraz má největší kontrast, když zobrazuje černou barvu jako opravdu černou a bílou barvu jako opravdu bílou bez odstínů šedé mezi nimi. Nicméně takového kontrastu nelze dosáhnout vzhledem k ovlivnění jiných parametrů obrazu a jejich znehodnocení. Při snížení kontrastu se rozdíl mezi černou a bílou barvou snižuje a objevují se odstíny šedé (Obrázek 6). Podrobné měření kontrastu je naznačeno zde [22].



Obrázek 6: Kontrast [8]

Kontrast lze vypočítat podle následujícího vztahu a pro určité účely může být vyjádřen v procentech.

$$Kontrast = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \quad (9)$$

kde  $I_{max}$  je maximální intenzita a  $I_{min}$  je minimální intenzita světla v obraze [18].

### 2.3.2 Ostrost

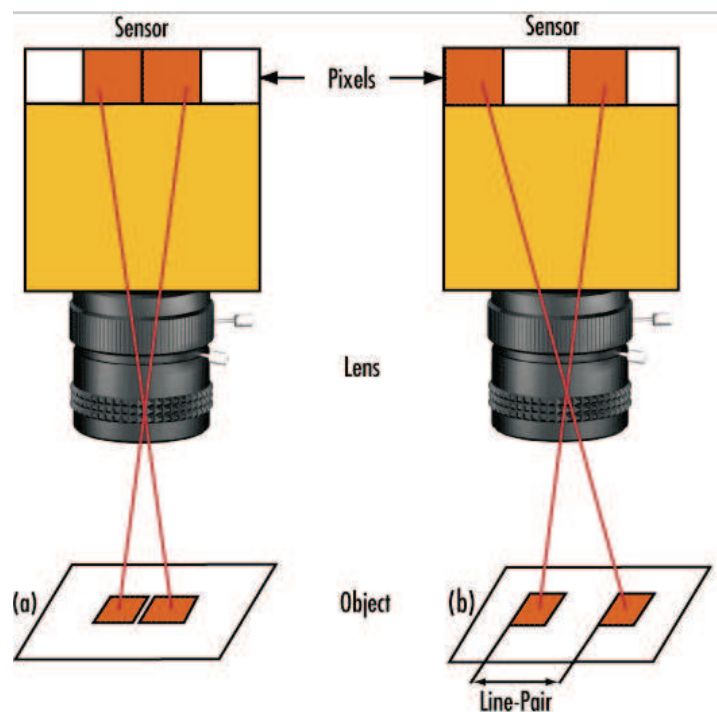
Ostrost vychází z definice ostrého a neostrého obrazu. Výstupem jakékoliv optické soustavy je dvourozměrný obraz objektu, který je ovšem při snímání trojrozměrného charakteru. Výsledek, který poté získáváme, proto obsahuje kromě ostrých částí objektu i rozmazané části vytvořené světlem přicházející k detektoru z oblasti nacházející se mimo zaostřenou rovinu. Tato rozostřená část obrazu může překrývat i části ostré a celkový obraz může být tvořen až z 90% neostrou částí. Tento jev je způsoben hloubkou ostrosti, jež je přímo úměrná vlnové délce a nepřímo úměrná numerickou aparaturou optické soustavy. Hloubce ostrosti bude dále věnována samostatná kapitola.

### 2.3.3 Rozlišení

Rozlišení bylo již rozebráno pro objektivy a nyní budou probrány jeho vlivy na zobrazení obrazu. Rozlišení je schopnost zobrazovacího systému rozlišit detaily v objektu.

Nízké rozlišení obrazu postrádá jemné detaily a je často rozostřené. Vysoké rozlišení zobrazuje obraz velmi podrobně a jasně [2].

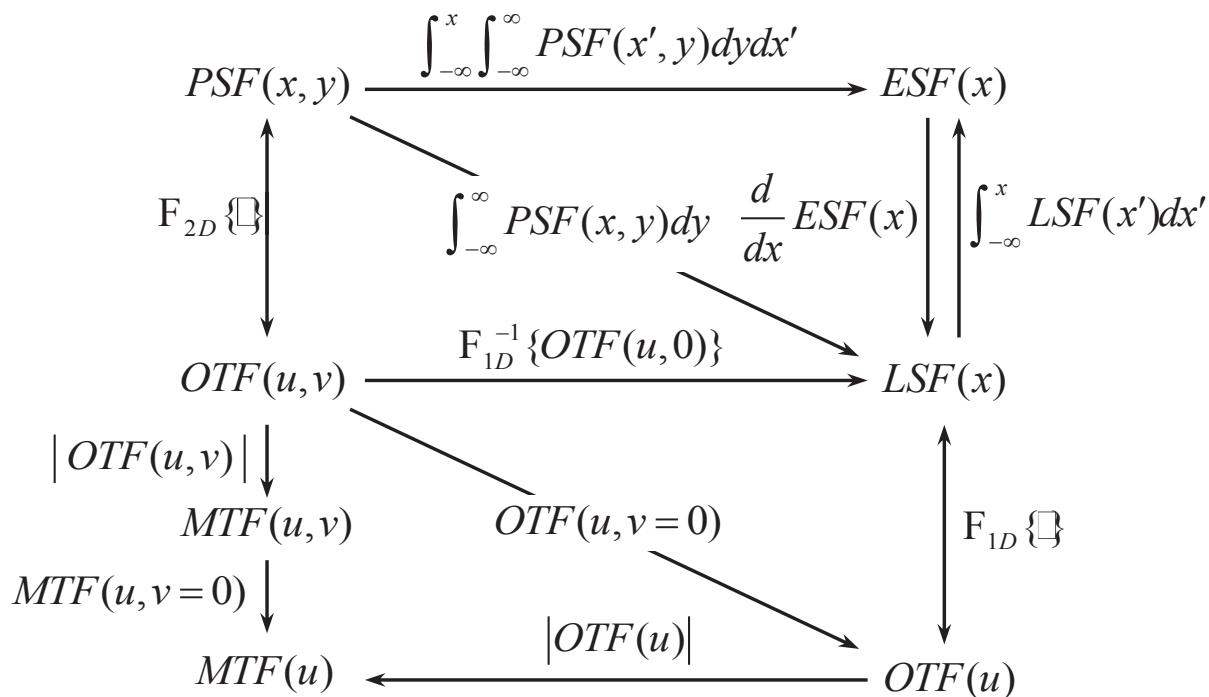
Pro ilustraci toho problému si můžeme představit dva čtverce, které jsou snímány pomocí CCD kamery na výstup do oblasti pixelů. V případě, kdy prostor mezi jednotlivými čtverci je příliš malý, tak kamera není schopna tuto mezeru rozlišit a výsledný obraz je poté obdélník složený ze dvou snímaných čtverců. Pokud ovšem je místo mezi čtverci větší nebo se výrazně barevně od nich liší, bude kamera schopna tento prostor rozlišit a na výstupu poté dostáváme dva samostatné čtverce [8]. Tyto situace jsou zobrazeny na obrázku 7. K určení rozlišovací schopnosti lze použít několik druhů měření. Metody měření jsou k nalezení zde [18]



Obrázek 7: Rozlišení dvou čtverců pomocí CCD kamery [8]

### 2.3.4 Charakteristiky zobrazovacích soustav

Mezi základní charakteristiky sloužící nám k určení hlavních vlastností zobrazovacích soustav či optických systémů patří bodová rozptylová funkce (Point Spread Function), čárová rozptylová funkce (Line Spread Function), hranová rozptylová funkce (Edge Spread Function) a optická přenosová funkce (Optical Transfer Function), ze které lze určit modulační přenosovou (Modulation Transfer Function) a fázovou přenosivou funkci (Phase Transfer Function). Na následujícím obrázku (Obrázek 8) jsou znázorněny matematické vztahy mezi jednotlivými charakteristikami.



Obrázek 8: Matematické vztahy mezi charakteristikami optických soustav [26]

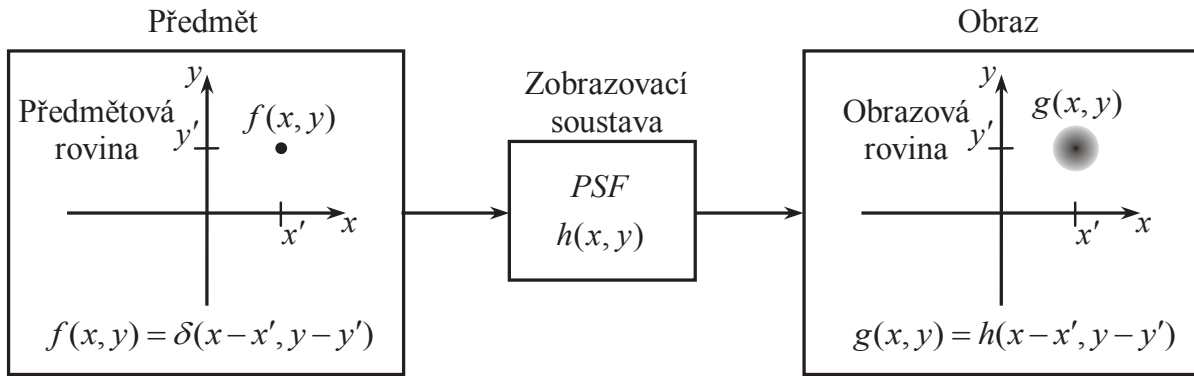
### Bodová rozptylová funkce (PSF)

Impulsová odezva, v optických systémech označovaná jako bodová rozptylová funkce, popisuje prostorové rozložení jasu v obrazové rovině soustavy v případě použití bodového zdroje v rovině předmětové. PSF je tedy odezvou zobrazovací soustavy na dvourozměrný Diracův impuls  $\delta(x,y)$ . [26]

Obrázek 9 znázorňuje zobrazovací soustavu, na jejímž vstupu je v předmětové rovině bodový zdroj  $f(x,y)$  a výstupem v rovině obrazové  $g(x,y)$  je impulsová odezva  $h(x,y)$ . Mezi předmětem vstupujícím do soustavy obrazem na výstupu platí vztah

$$g(x, y) = f(x, y) * h(x, y), \quad (10)$$

kde výsledné prostorové rozložení jasu v obrazové rovině  $g(x,y)$  je dáno konvolucí prostorového rozložení jasu v předmětové rovině  $f(x,y)$  a impulsové odezvy  $h(x,y)$ , označované jako PSF. Ta tedy popisuje prostorové rozložení jasu v obrazové rovině za předpokladu buzení bodovým zdrojem světla.



Obrázek 9: Impulsová odezva zobrazovací soustavy [26]

### Čárová rozptylová funkce (LSF)

Čárová rozptylová funkce LSF popisuje odezvu zobrazovací soustavy na liniový světelný zdroj v prostorové doméně. Na vstup soustavy zavedeme předmět  $f(x,y)$  s rozložením jasu ve směru osy  $x$  popsáním Diracovou funkcí, a ve směru osy  $y$  s konstantním jasnem. Potom obraz  $g(x,y)$  na výstupu optické soustavy právě odpovídá čárové rozptylové funkci. Vztah pro LSF tedy potom je

$$LSF(x) \equiv g(x, y) = f(x, y) * h(x, y) = \delta(x) * PSF(x, y), \quad (11)$$

kde  $\delta(x)$  je Diracova delta funkce a PSF je bodová rozptylová funkce [26].

Liniový světelný zdroj buzení si lze představit jako svislou řadu bodových zdrojů v předmětové rovině. Každý tento bod vyvolá svou vlastní odezvu PSF v obrazové rovině systému. Tyto ve svislém směru posunuté bodové rozptylové funkce se vzájemně překrývají a jejich součtem získáme funkci LSF [25].

### Optická přenosová funkce (OTF)

Pro určení optické přenosové funkce, která popisuje vlastnosti zobrazovacích soustav v kmitočtové oblasti, je nutné zavést konvoluční teorém převádějící výpočet konvoluce v prostorové oblasti právě do méně náročného násobení v oblasti kmitočtové. Aplikací Fourierovy transformace a s ohledem konvolučního teorému na rovnici 10 dostáváme vztah

$$G(u, v) = F(u, v)H(u, v), \quad (12)$$

kde  $F(u,v)$  je Fourierovým obrazem funkce  $f(x,y)$  a vyjadřuje spektrum předmětu na vstupu zobrazovací soustavy, funkce  $G(u,v)$  je Fourierovým obrazem funkce  $g(x,y)$  a vyjadřuje spektrum obrazu na výstupu soustavy,  $H(u,v)$  je přenosová funkce, která dává do vztahu tato

spektra. Proměnné  $u$ ,  $v$ , vyjadřují složky takzvaných prostorových kmitočtů ve směru souřadných os  $x$  a  $y$ .

Přenosová funkce  $H(u,v)$  se v zobrazovacích soustavách označuje jako optická přenosová funkce neboli OTF. Fourierovým obrazem impulsové odezvy  $h(x,y)$  je vyjma speciálních případů symetrie PSF, obecně komplexní funkce OTF

$$OTF \equiv H(u, v) = FT\{h(x, y)\} = H(u, v)e^{j\Phi(u,v)}. \quad (13)$$

Přenosová funkce je tedy komplexní a proto má modul a fázi. Modul OTF se označuje jako modulační přenosová funkce (MTF) a argument OTF se nazývá fázová přenosová funkce (PTF) [25][26].

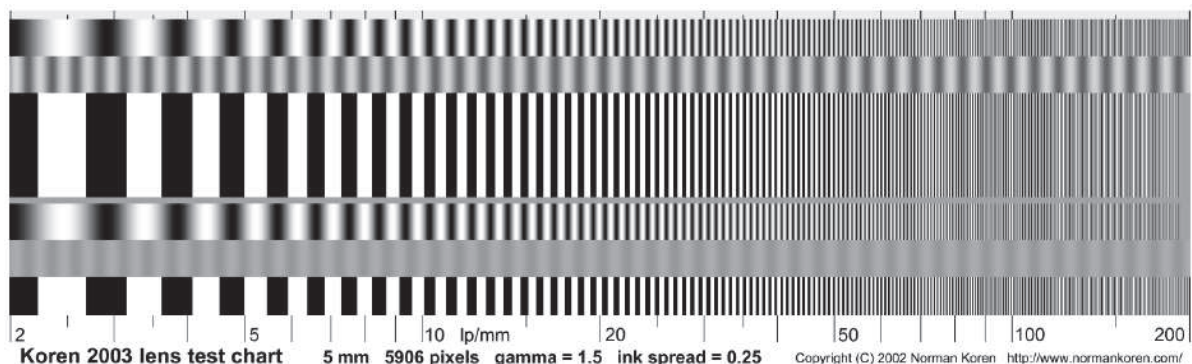
### ***Modulová přenosová charakteristika (MTF)***

Modulační přenosová funkce má mezi charakteristikami popisujícími přenosové vlastnosti zobrazovacích soustav výsadní postavení. Vedle definice MTF jako modulu OTF přenosové funkce podle vztahu

$$MTF \equiv |H(u, v)|, \quad (14)$$

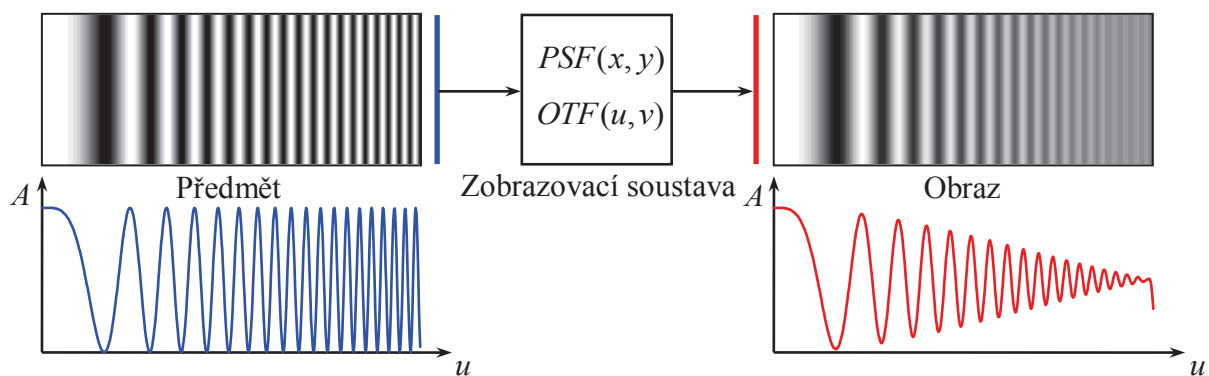
se běžně používá ekvivalentní definice MTF vycházející z názorné představy sledování kontrastu sinusového testovacího obrazce (Obrázek 10) s proměnným prostorovým kmitočtem na výstupu zobrazovacího systému. Toto přiblížení prakticky odpovídá sestavám používaným pro měření MTF u reálných zobrazovacích systémů. [ 25]

Modulační přenosová funkce MTF se pro prostorově invariantní zobrazovací soustavy definuje (rovnice 9) jako podíl kontrastu výstupního obrazu v obrazové rovině ke kontrastu vstupního předmětu v předmětové rovině zobrazovacího systému. [14][8]



**Obrázek 10: Testovací obrázek pro určení MTF [19]**





Obrázek 11: Ilustrace vlivu MTF na kontrast obrazu na výstupu soustavy [26]

### 2.3.5 Další parametry procesu zobrazení

Další uvedené parametry spadají spíše pod oblast fotografování, nicméně jsou důležité při procesu zobrazení u fotografií a souvisí především s barvami [10].

Jedním z těchto parametrů je vyvážení bíle. Tento parametr fotografií se stanovuje výpočtem až na základě získaných dat ze senzoru. Princip spočívá v barevném vyvážení předmětu snímání tak, aby se obraz co nejlépe shodoval s podáním barev, tak jak je vidí lidské oko.

Další parametr je barevný odstín. Nastavení tohoto parametru má pouze mírný vliv na obraz a je určeno k jemnému doladování barev. Barevný odstín posouvá barevné podání obvykle od žluté do purpurové barvy.

Posledním uvedeným parametrem je sytost barev, kterou lze v RGB reprezentaci v jednom pixelu definovat jako vzdálenost RGB kanálů od sebe. Pokud mají tyto kanály od sebe stejnou vzdálenost, pak je sytost pixelu nulová a RGB kanály kódují odstín šedé. Maximální sytostí barvy lze tedy dosáhnout při roztažení kanálů co nejvíce od sebe.

## 2.4 Hodnocení kvality obrazu

Po zpracování obrazu dochází k hodnocení jeho kvality. Kvalitu obrazu můžeme hodnotit subjektivně, kdy se posuzuje celková kvalita obrazu nebo dochází ke srovnání kvality obrazu s kvalitou referenčního obrazu. Pro vyhodnocení se používá hodnotící stupnice. Dále lze hodnotit kvalitu obrazu objektivně za pomoci zavedení řady veličin sloužící k popisu kvality obrazu. Hodnoty veličin se získávají na základě měření na vhodných

modelech scény označeny jako fantomy [19][9]. Parametry pro hodnocení kvality jsou následující:

- a) Prostorové rozlišení
- b) Časové rozlišení
- c) Energetické rozlišení
- d) Linearita a nelinearita převodu zobrazovaného parametru
- e) Linearita a nelinearita převodu poziční souřadnice
- f) Homogenita procesu zobrazení

## 3 Hloubka ostrosti

Tato kapitola se bude zabývat pojmem hloubky ostrosti. Bude zde naznačena definice hloubky ostrosti, dále zde budou rozebrány faktory, které na ni mají vliv. Probrány zde budou metody, jak lze stanovit hloubku ostrosti. Dále zde budou uvedeny návrhy na měření hloubky ostrosti a spolu s návrhy na měřicí pracoviště.

### 3.1 Definice hloubky ostrosti

Obecně lze hloubku ostrosti definovat jako rozsah vzdáleností, uvnitř kterých jsou objekty přijatelně ostré. Vzdáleností se rozumí vzdálenost optické soustavy od pozorovaného objektu [5][2]. Dále lze hloubku ostrosti definovat jako vzdálenost mezi mezními rovinami, ve kterých je pozorovaný povrch ostře viditelný. Matematicky lze výpočet hloubky ostrosti definovat pomocí rovnice 8. Tuto rovnici lze dále rozšířit (rovnice 10) a dostáváme vztah pro výpočet hloubky ostrosti objektivu.

$$DOF = 0,61 \frac{\lambda}{(n.a)^2} n, \quad (15)$$

kde 0,61 je optická konstanta,  $\lambda$  je vlnová délka použitého světla,  $n.a$  je numerická apertura objektivu a  $n$  je index lomu prostředí. Z toho vztahu lze konstatovat, že hloubka ostrosti závisí na použité vlnové délce a na numerické apertuře objektivu. Dále hloubka ostrosti závisí na rozlišitelné vzdálenosti  $d_{\min}$  a na vstupním úhlu  $2\alpha$  použitého objektivu a je dána vztahem:

$$DOF = \frac{d_{\min}}{\operatorname{tg}\alpha}. \quad (16)$$

Z definice hloubky ostrosti vyplývá, že dokonalé ostré jsou objekty nacházející se v jedné vzdálenosti od filmu v tzv. rovině zaostření. Jakákoliv odchylka od této roviny způsobuje rozostření obrazu. Dále čím je objekt více či méně vzdálen od roviny zaostření, jeho rozostření stoupá.

### 3.2 Parametry ovlivňující hloubku ostrosti

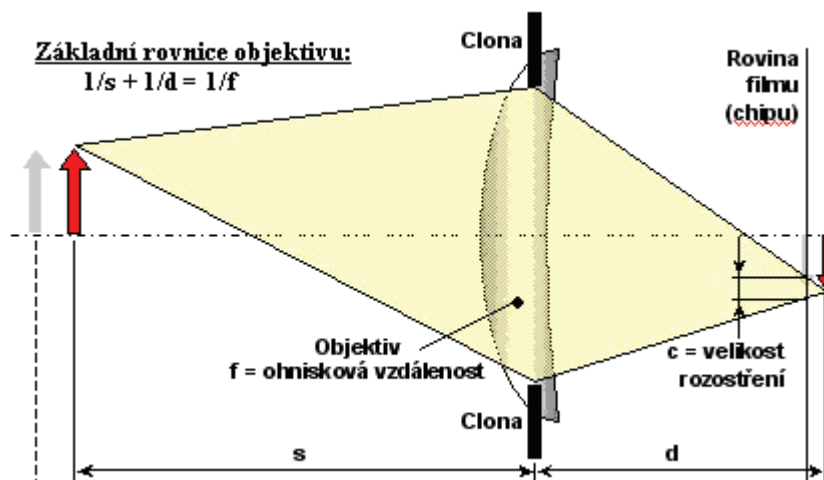
Při snímání obrazu optickou soustavou závisí hloubka ostrosti na třech základních faktorech, jež jsou clona, ohnisková vzdálenost (zvětšení) a vzdálenost soustavy od objektu [10][6].

### 3.2.1 Clona

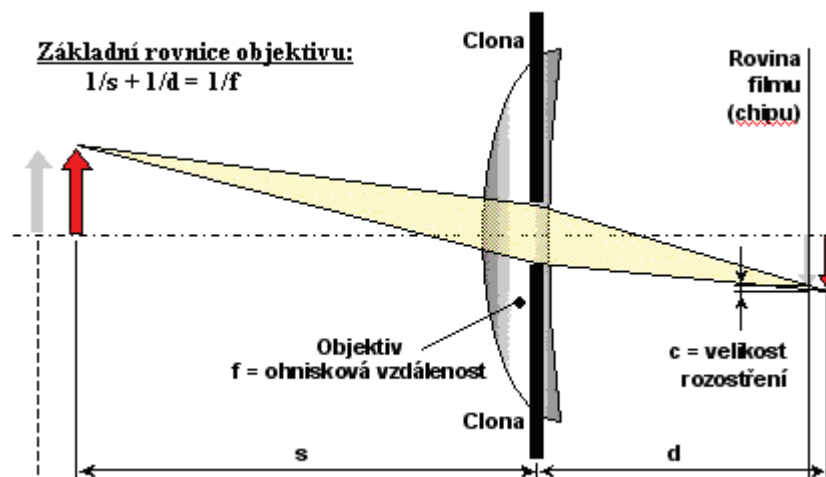
Clona je otvor v objektivu, jehož velikost se dá měnit, která reguluje množství světla procházející objektivem. Princip fungování je podobný jako lidská oční zornička. V praxi se používá výraz clonové číslo, které udává poměr ohniskové vzdálenosti objektivu a průměru otvoru clony. Jejich vzájemný vztah je dán rovnicí:

$$a = \frac{f}{d}, \quad (17)$$

kde  $a$  je clonové číslo,  $f$  je ohnisková vzdálenost objektivu a  $d$  je průměr otvoru clony. Snížení clonového čísla a tudíž otevření clony dochází ke snížení hloubky ostrosti, zatímco zvýšení clonového čísla a uzavření clony se hloubka ostrosti zvyšuje. Uzavření nebo otevření clony má vliv také na rozlišovací schopnost. Při otevření clony dopadají paprsky na snímač velmi rozevřeně, čímž dochází k rozostření i při malé odchylce v zaostření (Obrázek 9). Pokud je clona uzavřená, paprsky procházejí objektivem v úzkém svazku sbíhavě a proto odchylka při zaostřování nezpůsobuje na snímači tak velké rozostření (10) [5][23].



Obrázek 12: Hloubka ostrosti a otevřená clona [5]



Obrázek 13: Hloubka ostrosti a uzavřená clona [5]

### 3.2.2 Vzdálenost objektu a ohnisková vzdálenost

Hloubka ostrosti je větší, čím kratší je ohnisková vzdálenost nebo-li čím méně je objekt přiblížen zvětšením. Vzdálenost objektu od optické soustavy se projevuje tak, že čím pozorovaný objekt blíže, tím klesá hloubka ostrosti. Termín zvětšení lze definovat za pomoci ohniskové vzdálenosti a vzdálenosti objektu a dostaneme vztah:

$$M = \frac{f}{(s-f)} \quad (18)$$

kde  $f$  je skutečná ohnisková vzdálenost a  $s$  je vzdálenost objektu od objektivu. Při použití objektivů s velkými ohnisky se hloubka ostrosti značně snižuje a lze dosáhnout velmi nízkých hodnot[5] [24].

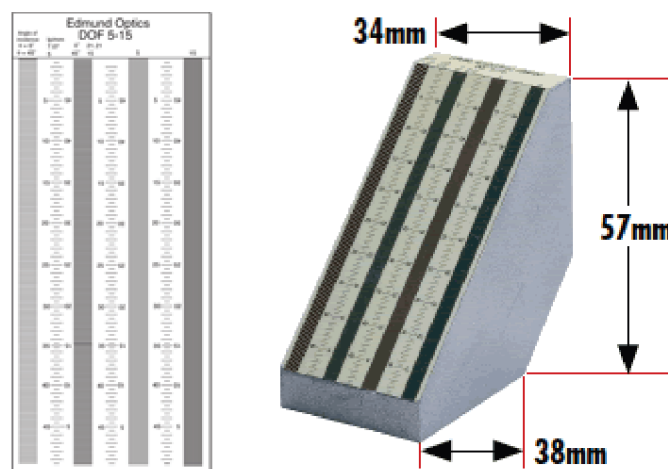
### 3.3 Stanovení hloubky ostrosti

Tato kapitola se zaměřuje na možnosti určení hloubky ostrosti. Budou zde rozebrány možnosti praktického i teoretického stanovení hloubky ostrosti.

#### 3.3.1 Měřící pomůcky

Hlavním tématem této práce je ovšem experimentální stanovení na základě měření hloubky ostrosti. Pro toto experimentální stanovení lze využít různých druhů pomůcek, které se nazývají fantomy. Těchto fantomů existuje několik druhů v závislosti na jejich využití.

Jako příklad měřícího fantomu je zde uvedena měřící pomůcka (), kterou vyrábí společnost Edmund Optics [http://www.edmundoptics.com]. Tento fantom nese označení DOF 5-15 Depth of Field Target a slouží právě k měření hloubky ostrosti u různých optických systémů. Ukázka této pomůcky je zobrazena na obrázku níže (Obrázek 14). Kromě základních parametrů je zde uveden také měřící papír, který se skládá ze dvou sad měřítek. Každý, při pohledu pod úhlem  $45^\circ$ , se skládá z horizontálních a vertikálních čar na frekvenci 5 až 15 párů čar na milimetr. Proto umožňuje měření optického systému v horizontální a vertikální poloze. Technické dokumentace je uvedena v příloze.



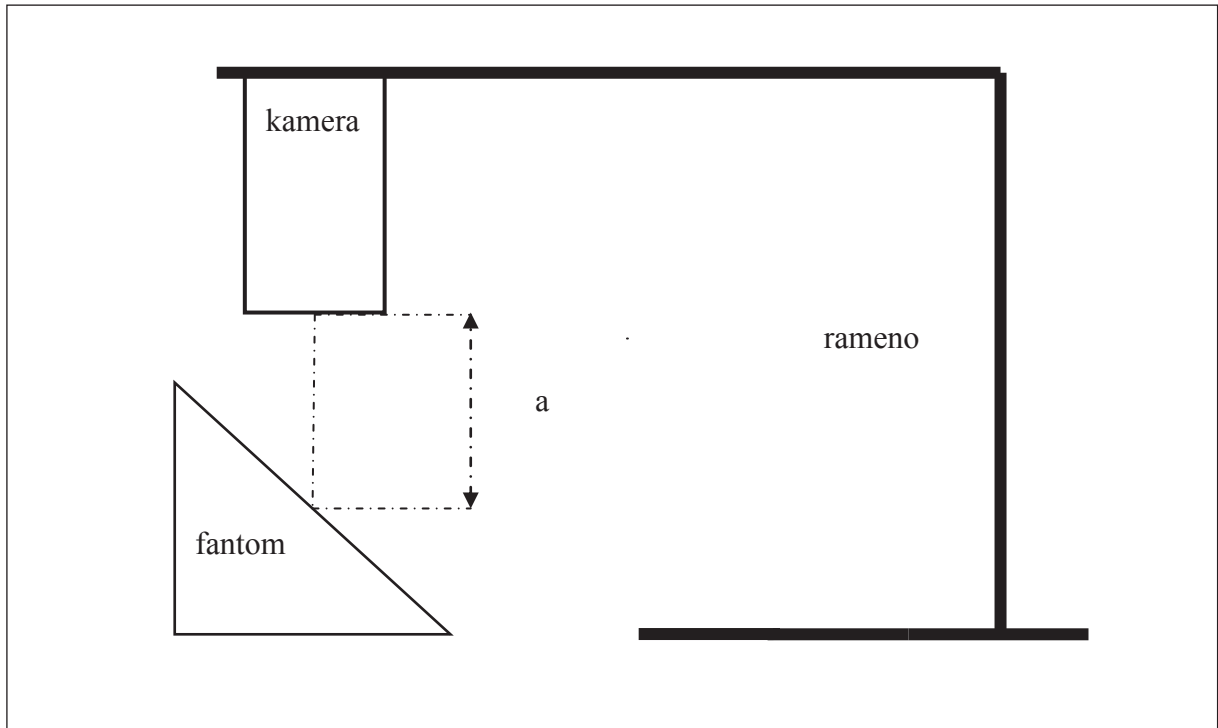
Obrázek 14: Vzorový fantom pro stanovení hloubky ostrosti [7]

### 3.3.2 Návrh metody měření a schéma pracoviště

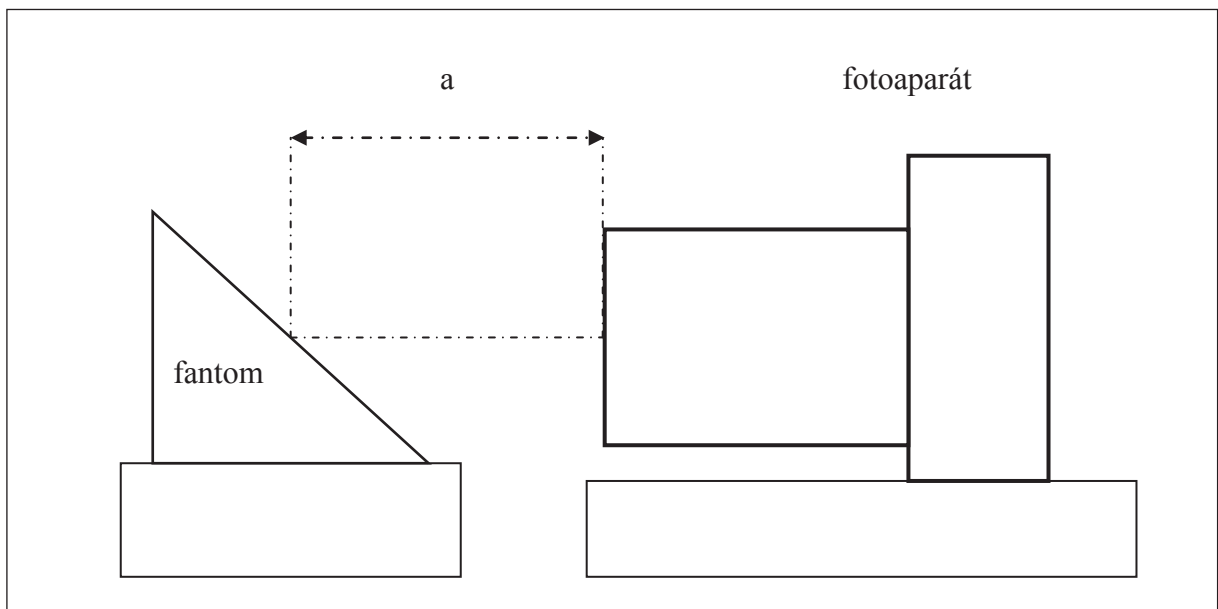
Hloubku ostrosti optického systému lze ověřit tím způsobem, že fantom s testovacím obrazcem umístíme do určité vzdálenosti a od objektivu, přičemž sklon fantomu je úhel  $\alpha = 45^\circ$ . Zaostřením na střed testu a pozorováním šikmo skloněné škály můžeme určit hloubku ostrosti. Hloubku ostrosti lze stanovit pro různé parametry. Nastavitelné parametry mohou být clonové číslo respektive otevření nebo zavření clony. Cloněním lze stanovit závislost hloubky ostrosti na clonovém čísle. Dále lze experimentálně získat tyto hodnoty pro různé objektivy s odlišnou hloubkou ostrosti a pozorovat jak se mění hloubka ostrosti v závislosti na ohniskové vzdálenosti objektivů. Poslední parametr, který lze ovlivnit je vzdálenost optického systému od fantomu, která úzce souvisí s ohniskovou vzdáleností objektivu.

Pro toto měření lze využít kameru nebo fotoaparát. Pro tyto optické soustavy lze vytvořit dvě schémata měřícího pracoviště, která jsou zobrazeny na Obrázek 15 a Obrázek 16.

Při použití kamery je součástí měřícího pracoviště rameno, které drží kameru a dokáže nastavit určitou vzdálenost objektivu od měřící plochy. Vzhledem k váze fotoaparátu, lze fotoaparát umístit na rovnou plochu v určité vzdálenosti od fantomu a provést měření.



Obrázek 15: Měřící schéma stanovení hloubky ostrosti pro kameru



Obrázek 16: Měřící schéma pracoviště fotoaparátu pro stanovení hloubky ostrosti

### 3.4 Metody stanovení hloubky ostrosti

V této kapitole budou probrány možnosti stanovení hloubky ostrosti u optických systémů.

#### 3.4.1 Teoretické určení hloubky ostrosti

Hloubku ostrosti optického systému lze stanovit na základě matematického výpočtu uvedených v rovnicích 8, 10 a 11. Nyní si uvedeme rovnici pro stanovení teoretické hodnoty hloubky ostrosti, která zohledňuje clonové číslo, vzdálenost předmětu od objektivu a ohniskovou vzdálenost, a má tvar:

$$DOF = 2c\delta\left(\frac{a}{f'}\right), \quad (19)$$

kde  $c$  je clonové číslo,  $\delta$  označuje průměr rozptylových kroužků,  $a$  je vzdálenost objektu od objektivu a  $f'$  je ohnisková vzdálenost.

Další matematické vyjádření hloubky ostrosti vychází z určení hyperfokální vzdálenosti. Hyperfokální vzdálenost se definuje jako vzdálenost, od které, když je objektiv zaostřen na nekonečno, je vše až do nekonečna ostré, čili přední hranice pásma ostrosti při zaostření na nekonečno. Tato vzdálenost závisí na ohniskové vzdálenosti objektivu, nastaveném clonovém čísle a v neposlední řadě také na tom, co ještě považujeme za ostré a co už ne [27]. Tuto veličinu lze stanovit podle vztahu

$$H = \frac{f^2}{Nc} + f, \quad (20)$$

kde  $f$  je ohnisková vzdálenost,  $N$  clonové číslo a  $c$  je kruh rozostření. Po stanovení hyperfokální vzdálenosti lze určit blízkou vzdálenost, kdy se obraz jeví jako ostrý a zadní vzdálenost s přijatelnou ostrostití. Rovnice pro tyto vzdálenosti jsou

$$D_n = \frac{s(H-f)}{H+s-2f}, \quad (21)$$

$$D_f = \frac{s(H-f)}{H-s}, \quad (22)$$

kde  $H$  je hyperfokální vzdálenost,  $s$  je vzdálenost od na kterou je zaostřeno a  $f$  je ohnisková vzdálenost. Poté výsledná hloubka ostrosti je dána rozdílem výše zmíněných vzdáleností a platí pro ni vztah

$$DOF = D_f - D_n. \quad (23)$$



### 3.4.2 Praktické určení hloubky ostrosti

Kromě výše zmíněné teoretické možnosti stanovení hloubky ostrosti lze její hodnotu určit i experimentálně. Vychází se z myšlenky, že hloubka ostrosti je rozsah vzdáleností, kde se předměty jeví ostře [27]. Proto při experimentálním měření můžeme využít předem známé vzdáleností objektů, které se nám jeví ostře a na základě odhadu lze určit tedy i hloubku ostrosti použitého optického systému.

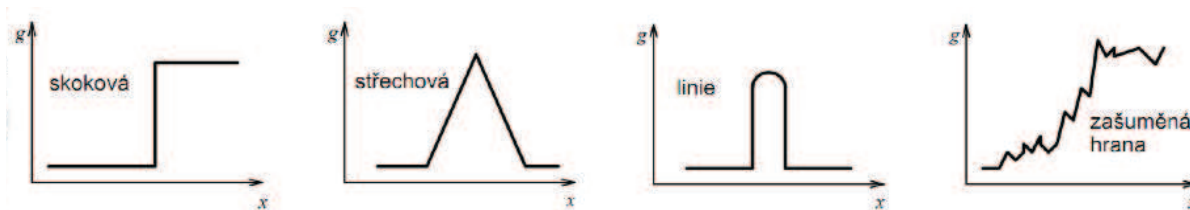
#### *Využití charakteristik zobrazovacích systémů*

Jak již bylo naznačeno v kapitole 4.2.1 lze využít pro experimentální stanovení hloubky ostrosti i měřících pomůcek zvané fantomy. Tyto fantomy obsahují různé sady měřítek pomocí, kterých lze tuto hloubku určit. Při snímání těchto měřítek je potom dalším úkolem tyto snímky analyzovat a stanovit z nich hloubku ostrosti. Při měření nás zajímají především rozdíly mezi ostrými a neostrými částmi měřícího rozsahu. Především nás zajímá přechod mezi čarami při měření, které se jeví jako ostré a neostré. Přechod mezi čarami v ostré oblasti snímku má jiné vlastnosti než přechod v oblasti neostré. Tyto vlastnosti snímku lze poté změřit a na základě jejich analýzy stanovit hloubku ostrosti. Tyto vlastnosti lze určit pomocí charakteristik uvedených v kapitole 2.3.4.

#### *Hranová detekce*

Hranu lze definovat jako hranici objektů něco rozhraní světla a stínu, které vytváří skokovou hranu. V našem případě je měřící papír tvořený velkým počtem čar, které generují dva přechody mezi světlým a tmavým místem, proto je čára tvoří dvě hrany a to na každé straně jednu.

Při detekci hran v obraze si hranu lze představit jako změnu hodnoty jasu (Obrázek 17) nebo také jako přechod z nízkofrekvenčního do vysokofrekvenčního pásma. Tento přechod mezi pásmy se nazývá strmost hrany a tato strmost určuje ostrost hrany. Pokud je v obraze hrana dobře čitelná, její ostrost je vyšší a naopak.



Obrázek 17: Jasový profil hrany [28]

Pro většinu hranových detektorů se používají dvě metody hranové detekce a to metoda první a druhé derivace. Při použití první derivace se určí hranová gradient, který je porovnán s prahovým koeficientem určující jednoznačnost hrany. V místě hrany je velká derivace jasové funkce (Obrázek 18). Při použití první derivace se určuje jako rozdíl okolních bodů a výpočet se provádí po řádcích a po sloupcích [28]. Výsledný gradient je dán vztahem

$$M(i, j) = \sqrt{M_R(i, j)^2 + M_S(i, j)^2}. \quad (24)$$

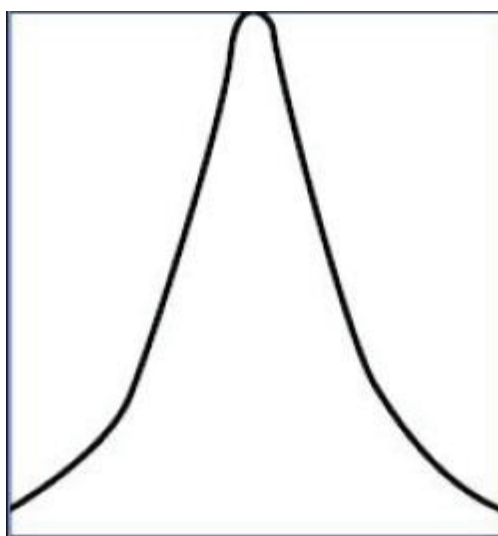
Tento gradient se aproximuje a poté má vzorec

$$M(i, j) = |M_R(i, j)| + |M_S(i, j)|. \quad (25)$$

Směr gradientu lze poté získat vztahem

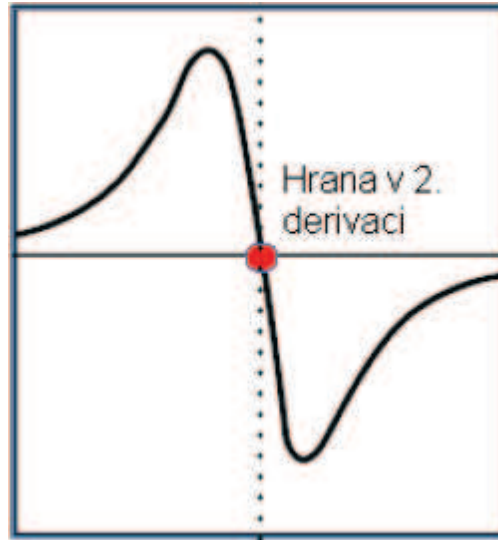
$$A(i, j) = \arctan \frac{M_S(i, j)}{M_R(i, j)}. \quad (26)$$

Výpočet gradientu za využití konvoluční masky můžeme aplikovat na celý obraz. Jelikož se konvoluční masky mohou lišit velikostí a různými vlastnostmi, proto se různé druhy detektorů liší těmito maskami. Výsledný gradientní obraz se získá konvolucí originálního obrazu a konvolučního jádra.



Obrázek 18: První derivace hrany [28]

Při metodě druhé derivace se detekuje hrana při průchodu nulou (Obrázek 19). Při detekci hrany funkce protne osu v nule a v tomto se detekuje hrana. Hrana je přesně definovaná a je označena pouze jedním pixelem. Výsledkem jsou velmi tenké linie hran. To je používáno, protože je snazší nalézt bod, kde se funkce protíná v nule, než nalézt extrém.



Obrázek 19: Druhá derivace hrany [28]

## 4 Realizace experimentálního stanovení hloubky ostrosti

### 4.1 Měřící fantom

V rámci této práce byl pro možnost experimentálního stanovení hloubky ostrosti vytvořen na základě teoretických znalostí uvedených v minulých kapitolách měřící fantom, dále realizováno měřící pracoviště a vytvořen program na stanovení hloubky ostrosti.

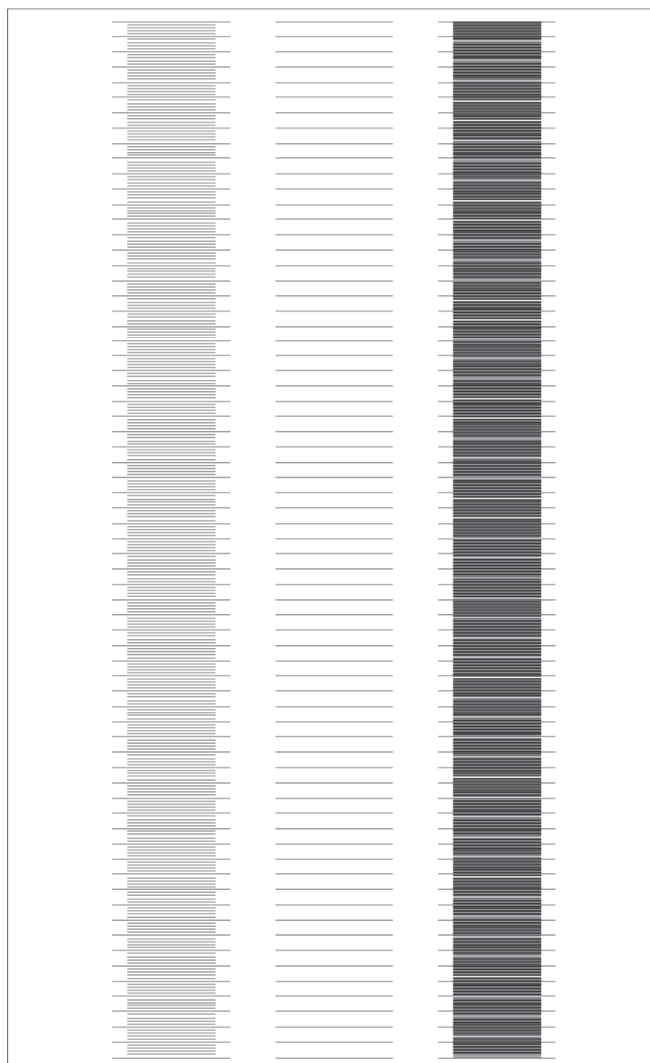
#### 4.1 Měřící fantom

V kapitole 3.3.1 byl uveden teoretický návrh na pomůcku pro měření hloubky ostrosti. Došlo k vytvoření dvou měřících pomůcek z různého materiálu a to dřeva a duralu za pomoci obráběcího stroje CNC. Obě pomůcky mají stejné rozměry, které jsou uvedeny v příloze této práce jako technická dokumentace. Realizace tohoto fantomu je zobrazena Obrázek 20.



Obrázek 20: Realizovaný měřící fantom

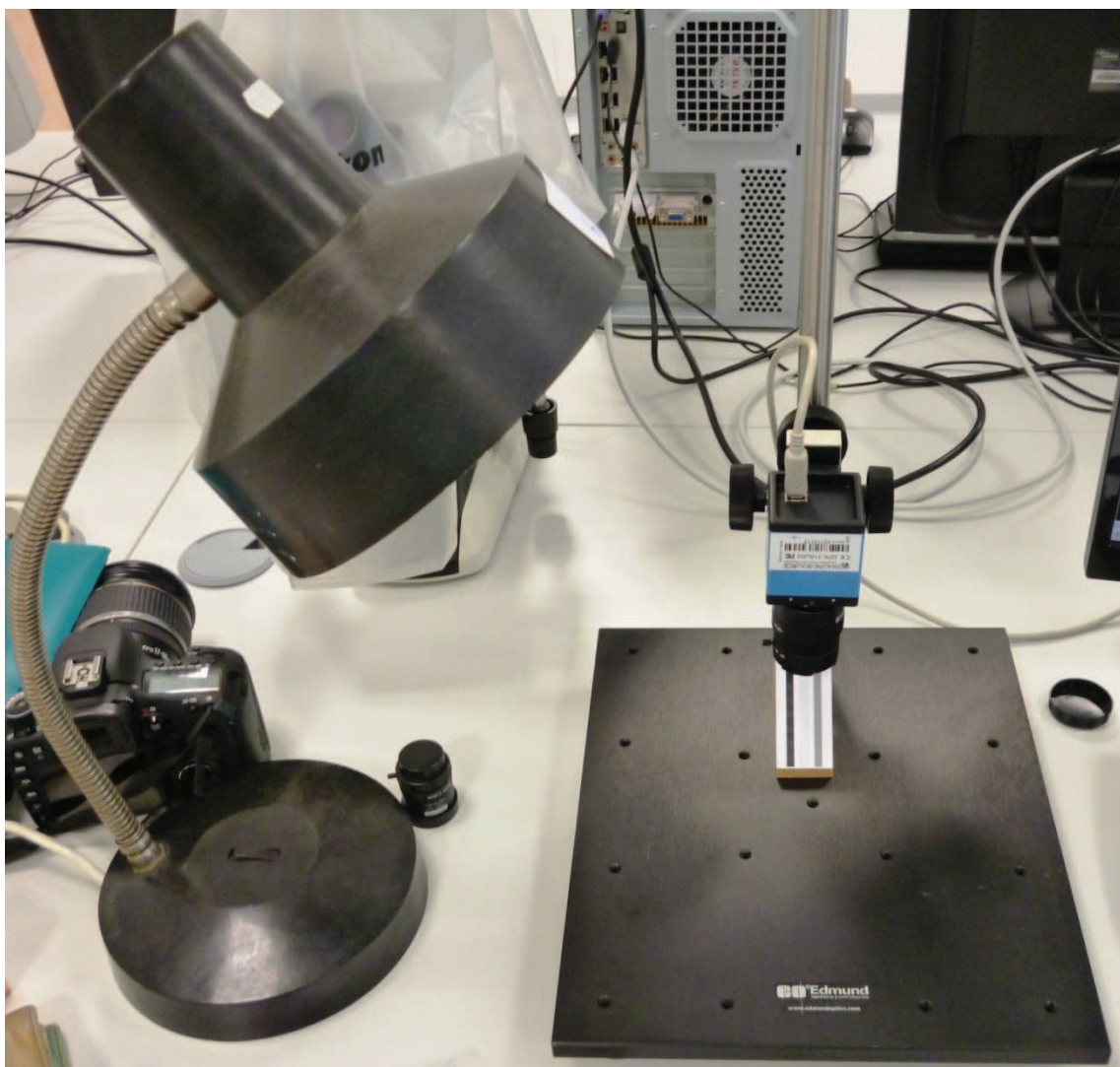
Dále byl na podkladech v kapitole Měřící pomůcky 3.3.1 vytvořen měřící papír. Tento měřící papír obsahuje tři různé rozsahy s měřícím se počtem čar. Jeden rozsah obsahuje 5 čar na milimetr, druhý 15 čar na mm a poslední je uskutečněn jednou čarou na milimetru. Měřící papír je uveden na Obrázek 21.



Obrázek 21: Měřicí papír pro fantom

## 4.2 Měřicí pracoviště

Pro potřeby měření bylo sestaveno měřicí pracoviště skládající se z měřícího fantomu, ramene pro uchopení optického systému a osvětlení. Dále k pracovišti patří počítač, na kterém dochází k analýze výsledků. V rámci praktické části této práce byly jako optické systémy použity kamera a fotoaparát. Tyto měřicí pracoviště jsou zobrazeny na obrázcích 19 a 20



Obrázek 22: Měřící pracoviště pro kameru



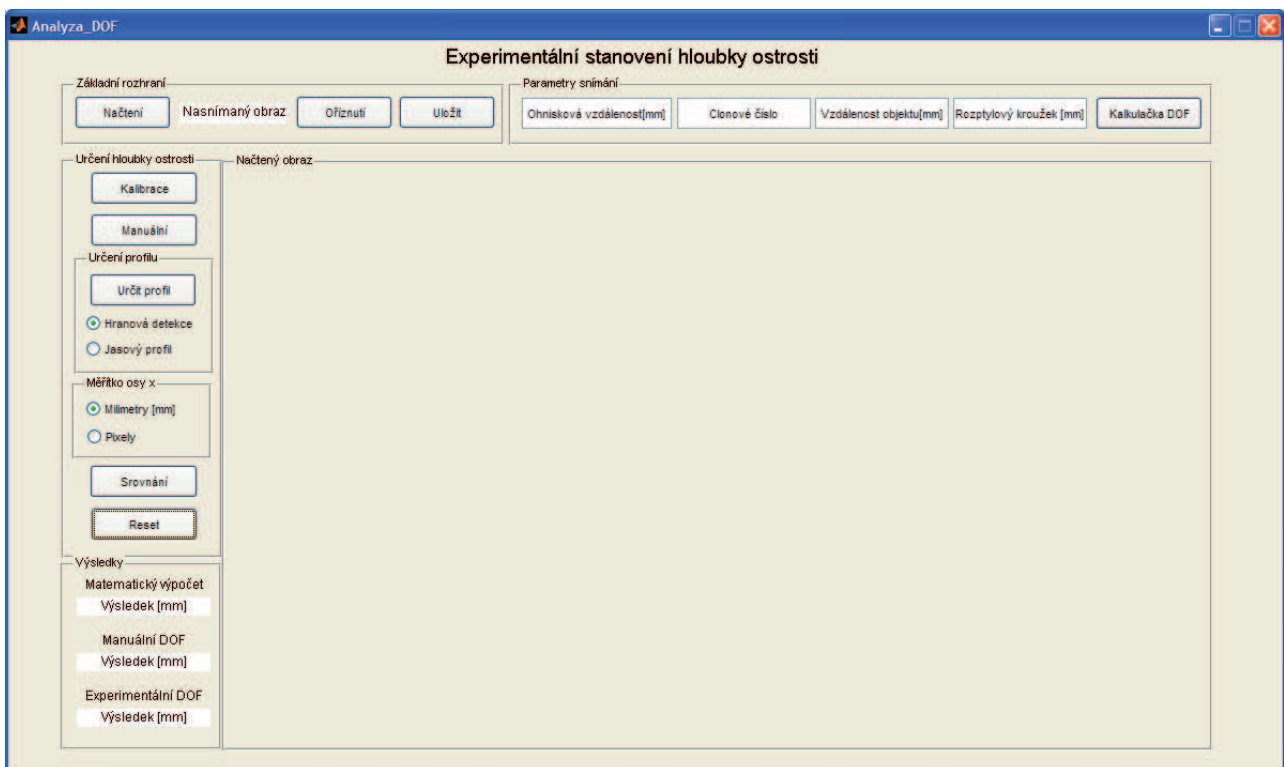
Obrázek 23: Měřicí pracoviště pro fotoaparát

## 4.3 Program pro analýzu a stanovení hloubky ostrosti

Jedním z výsledků této práce je program realizovaný v programovém prostředí Matlab verze R2009b s využitím grafického prostředí GUI (Graphical User Interface) sloužící k vytvoření uživatelského rozhraní. Název tohoto programu je Analyza\_DOF a skládá se z více částí, kde jako hlavní funkce je Analyza\_DOF.m, který program spouští a funkce Analyza\_DOF.fig obsahuje uživatelské rozhraní tohoto programu. Tento program umožňuje základní práci s obrazy jako načtení, ořezání a uložení obrazu. Dále obsahuje část pro teoretické, manuální a experimentální stanovení hloubky ostrosti. V následující části bude program popsán spolu s řešením jednotlivých částí.

### 4.3.1 Základní popis programu Analyza\_DOF

Základní uživatelské rozhraní programu je zobrazeno na obrázku. Celkem lze tento program rozdělit na pět částí, základní rozhraní, parametry snímání určené hloubky ostrosti, výsledky a část pro zobrazení snímků a výsledků.



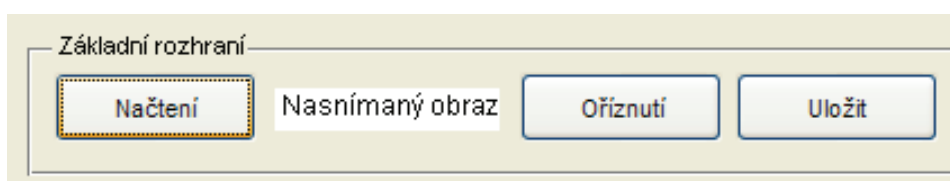
Obrázek 24: Uživatelské rozhraní programu Analyza\_DOF

V následující části budou popsány jednotlivé části tohoto programu.

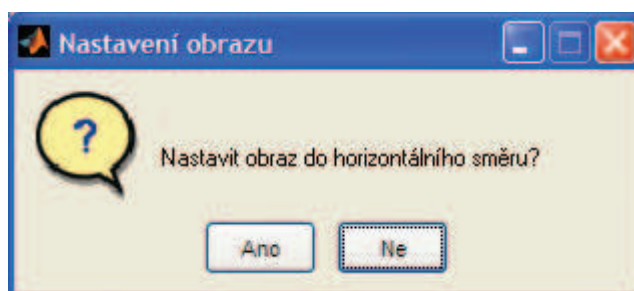


## ***Základní rozhraní***

Jak je naznačeno na obrázku, obsahuje tato část tři tlačítka pro načtení, ořezání a uložení obrazu (Obrázek 25). Tlačítko Načtení realizuje načtení obrazu do programu a tento obraz je znázorněn v panelu Načtený obraz. Načtení obrazu je realizováno funkcí uigetfile, která umožňuje výběr snímku ve výběrovém okně. Po výběru obrazu se aktivuje dialogové okno (Obrázek 26), jeho úkolem je načtený obraz otočit do horizontální polohy, aby byla dále možná správná analýza. Při zvolení tlačítka Ořezání se aktivuje funkce imcrop, která načtený obraz dokáže upravit za pomoci myši. Tlačítko Uložení tento ořezaný obrázek uloží v rámci ukládacího okna.



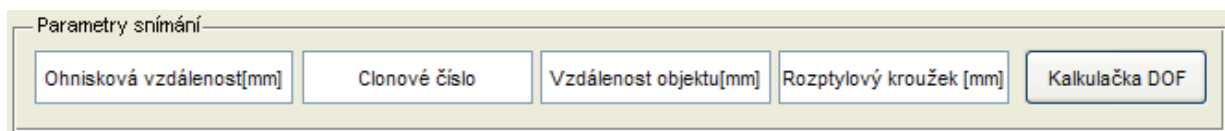
Obrázek 25: Panel základního rozhraní programu Analýza\_DOF



Obrázek 26: Dialogové okno nastavení obrazu do horizontálního směru

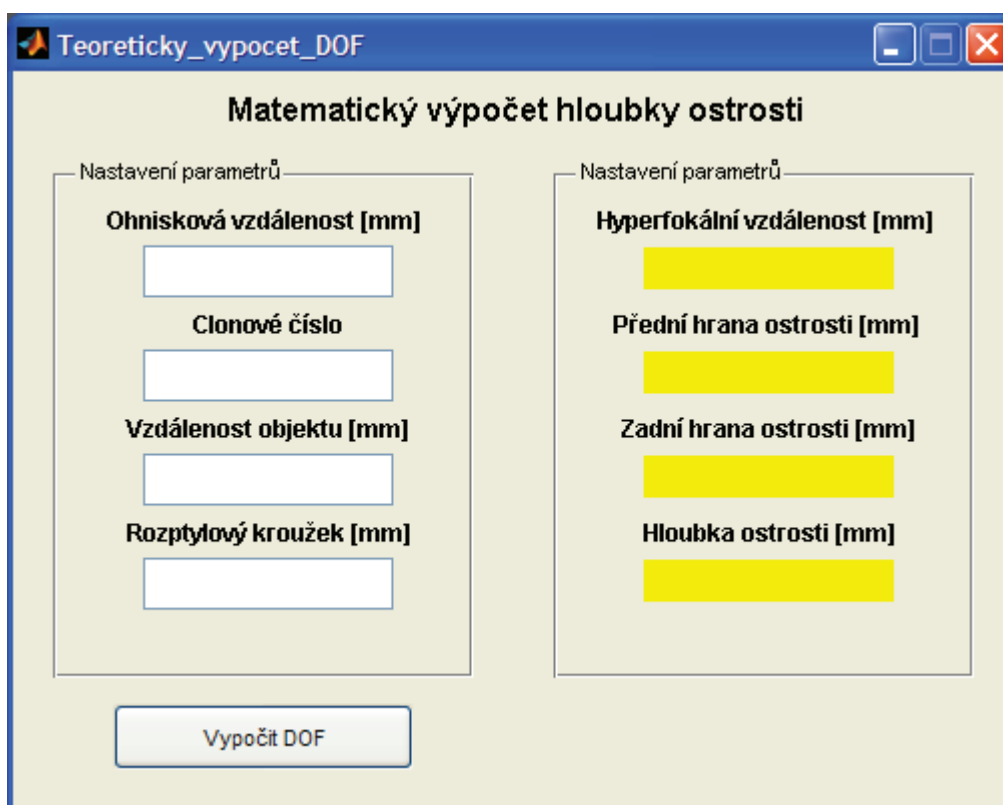
## ***Parametry snímání***

V tomto panelu lze vložit parametry, při kterých byl obraz snímán a tlačítko Kalkulačka DOF uskuteční přepnutí do nové funkce Teoreticky\_vypocet\_DOF, který reprezentuje matematický výpočet hloubky ostrosti (Obrázek 27). Obsahuje nastavení ohniskové vzdálenosti, clonového čísla, vzdálenosti mezi předmětem a objektivem a rozptylového kroužku pro daný optický systém. Výpočet teoretické hloubky ostrosti kromě samostatného výpočtu hloubky ostrosti dále vypočítá hyperfokální vzdálenost, přední a zadní hranu ostrosti.



Obrázek 27: Panel parametrů snímání

Funkce `Teoreticky_vypocet_DOF ()` obsahuje nastavení stejných parametrů, jak bylo uvedeno výše a může pracovat samostatně po jeho spustění nebo pracuje po zavolání z hlavního programu `Analyza_DOF`. Tato funkce obsahuje rovnice pro výpočet hyperfokální vzdálenosti, přední a zadní hrany ostrosti a hloubku ostrosti jak bylo uvedeno v kapitole 3.4.1. Řešení v programovém prostředí Matlab je uvedeno na Obrázek 29.



Obrázek 28: Funkce `Teoreticky_vypocet_DOF`

```

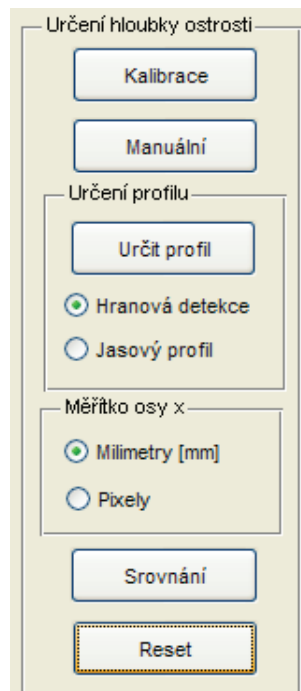
89 -
90 -     ohnisko = str2double(get(handles.ohnisko, 'String'));
91 -     clona = str2double(get(handles.clona, 'String'));
92 -     vzdalenost = str2double(get(handles.vzdalenost, 'String'));
93 -     rozptyl_k = str2double(get(handles.krouzek, 'String'));
94 -
95 -     hyperfocal = (ohnisko^2)/(clona*rozptyl_k)-ohnisko;
96 -     near_D = (vzdalenost*(hyperfocal - ohnisko))/(hyperfocal + vzdalenost - 2*ohnisko);
97 -     far_D = (vzdalenost*(hyperfocal - ohnisko))/(hyperfocal - vzdalenost+ohnisko);
98 -     teor_DOF = far_D - near_D;

```

Obrázek 29: Ukázka části funkce Teoreticky\_vypocet\_DOF

### Určení hloubky ostrosti

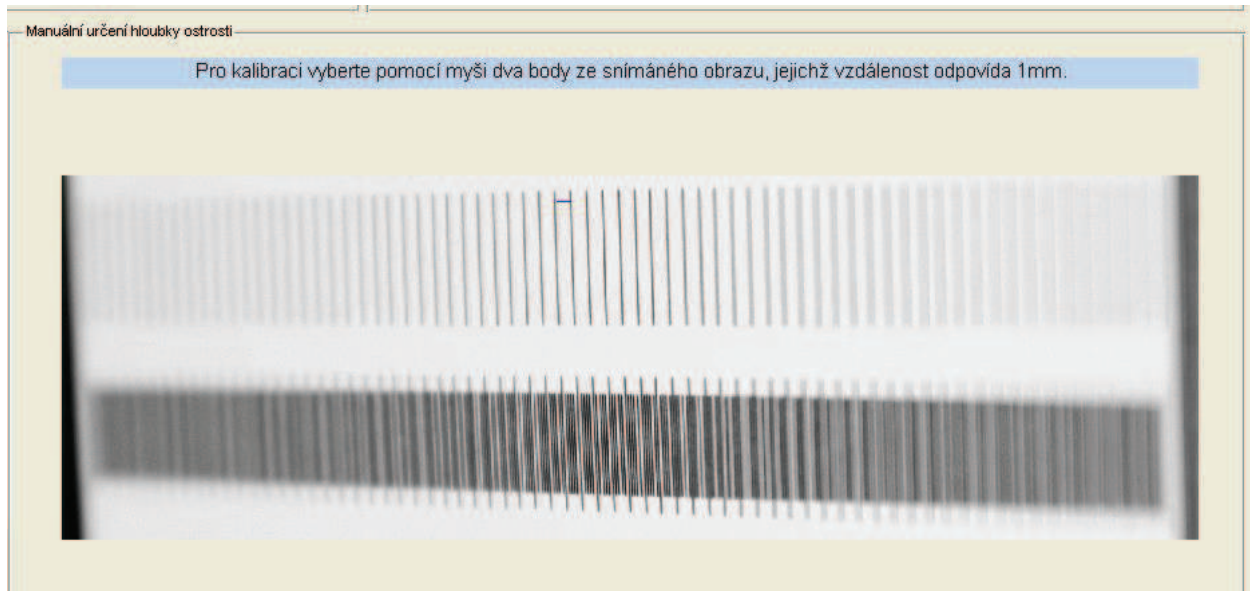
Tento stěžejní panel obsahuje nástroje k analýze obrazu a k experimentálnímu stanovení hloubky ostrosti (Obrázek 30). Obsahuje tlačítka ke kalibraci obrázku, k manuálnímu stanovení hloubky ostrosti, ke grafickému znázornění jasového profilu obrazu a hranové detekci. Dále umožňuje nastavení osy x při grafickém vyjádření profilů, srovnání nasnímaného obrazu a jeho profilu a v konečné řadě také obnovení základních parametrů programu.



Obrázek 30: Panel určení hloubky ostrosti

Tlačítko Kalibrace slouží k manuálnímu určení jednoho mm v obrázku. Je využito funkce ginput, kde se pomocí myši odhadne v obraze vzdálenost jeden mm, který odpovídá určitému počtu pixelů v obraze (Obrázek 32). Toto nastavení je důležité pro další funkci

programu a pro stanovení hloubky ostrosti. Ukázka toho nastavení je zobrazena na Obrázek 31.



Obrázek 31: Kalibrace, určení 1mm, modrá čára v obraze

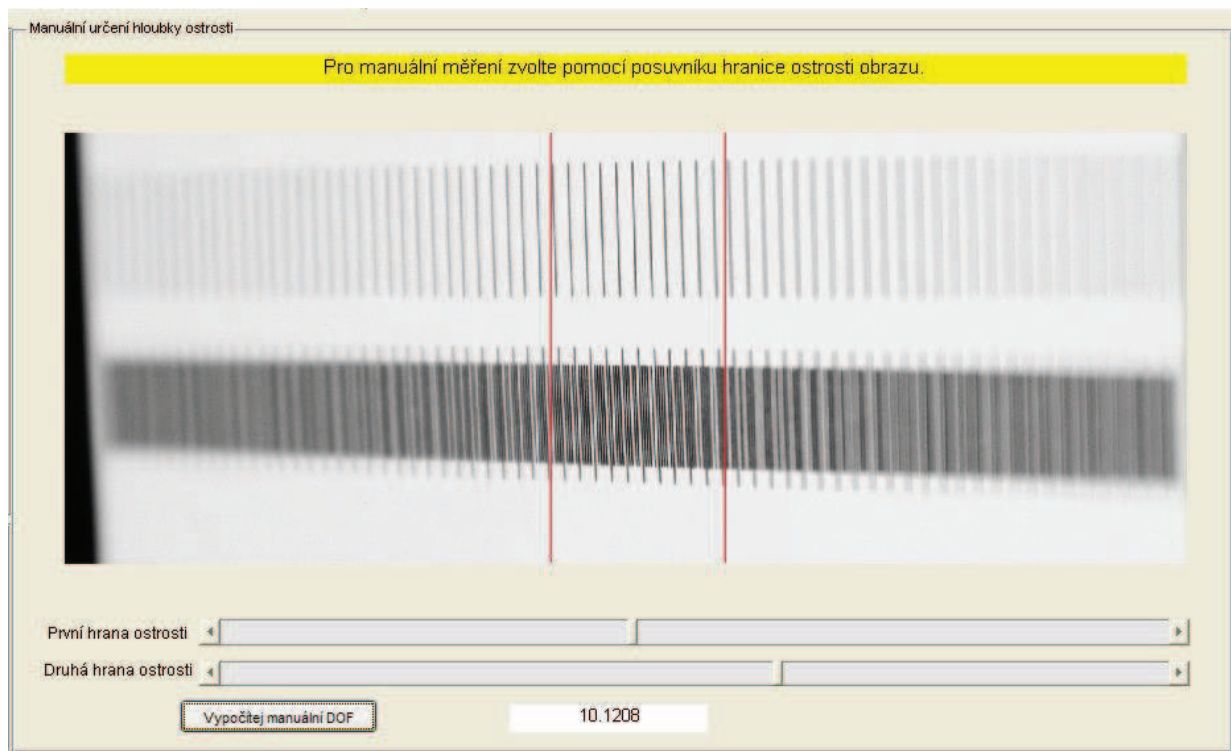
```

240 % Grafické zjištění počtu pixelů na 1 mm z nahraného obrazu
241 - [x,y] = ginput( 2 ); % Získání dvou souřadnic, ze kterých lze určit velikost 1mm
242 - line([x(1) x(2)], [y(1) y(1)], 'Color','b'); % Vykreslení čáry pro znázornění
243 - pocet_pixelu = x(2)-x(1); % Rozdíl dvou souřadnic
244 - jeden_mm = pocet_pixelu; % Počet pixelů reprezentující 1mm

```

Obrázek 32: Ukázka části kódu tlačítka Kalibrace

Tlačítko Manuální v panelu Určení hloubky ostrosti zobrazí obrázek, ze kterého chceme určit hloubku ostrosti, a pomocí posuvných oken lze tuto hodnotu určit. Po jeho stisknutí se v panelu určeném pro zobrazení obrazů objeví dříve vybraný obraz. Nyní lze nastavit posuvná okna přední a zadní strany ostrosti na místa, kde se pozorovateli zdá obraz ještě ostrý a po stisknutí tlačítka Vypočítej manuální DOF se zobrazí výsledek v okně pod obrazem (Obrázek 33).



**Obrázek 33: Manuální určení hloubky ostrosti**

Panel Určení profilu obsahuje tlačítko Určit profil a dále je zde možnost výběru profilu. Profil, který se zobrazí, může být buď základní jasový profil načteného obrazu, nebo profil, který byl upraven za pomoci hranové detekce. Při aplikaci tlačítka Určit profil je nutné vybrat linii podél, které se vybraný profil určí. Dále lze zvolit měřítko osy x, která může mít měřítko buď v milimetrech, nebo v pixelech.

Při výběru Jasový profil se zobrazí základní jasový profil obrazu kolem zvolené linie. Výstupem je graf toho profilu, kde osa y zobrazuje hodnotu jasu a osa x je zvolena v měřítku v milimetrech nebo pixelech. Jasový profil je určen pomocí funkce mean, která průměruje jasové hodnoty kolem zvolené linie a vynáší je poté do grafu. Dále je zde pro naše potřeby realizován filtr za pomoci funkce filter. Z toho jasového profilu lze stejně jako u manuálního určení hloubky ostrosti stanovit její hodnotu.

Při výběru Hranová detekce se vyobrazí jasový graf, na který byla aplikovaná detekce hran. Jak bylo zmíněno v kapitole 3.4.2 hranová detekce je možná dvěma způsoby. V tomto programu byla realizována detekce za pomoci první derivace. Jak již bylo uvedeno, detekce pomocí první derivace je dána konvolucí masky s originálním obrazem. Tato detekce je v tomto programu určena funkcí conv2, jeho vstupem je konvoluční operátor a obraz. Jako

konvoluční operátor byl zvolen operátor Prewittové pro detekci hran v ose x. Tento operátor má maticový zápis

$$H = \begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & -1 \end{pmatrix}. \quad (27)$$

Na **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** uveden část kódu realizující hranovou detekci první derivací. Dále je zde naznačena možnost hranové detekce pomocí druhé derivace při použití odlišného konvolučního operátoru.

```

453 % Určení hloubky ostrosti na základě stanovení hranové detekce. Hranová
454 % detekce je založena na první derivace za pomoci masky a funkce konvoluce..
455
456 -         maska1=[1 0 -1; 1 0 -1; 1 0 -1];           % 1. derivace
457 -         profil_hrana=conv2(image,maska1,'same');
458
459 %         maska2=[-1 2 -1;-1 2 -1;-1 2 -1];         % 2. derivace
460 %         profil_hrana2=conv2(image,maska2,'same');
461
462 -         y=round(y);
463 -         profil=profil_hrana(y,:);
464 %         profil=profil.^2;
465 -         nazev_grafu=('Profil obrazu za pomoci hranové detekce');

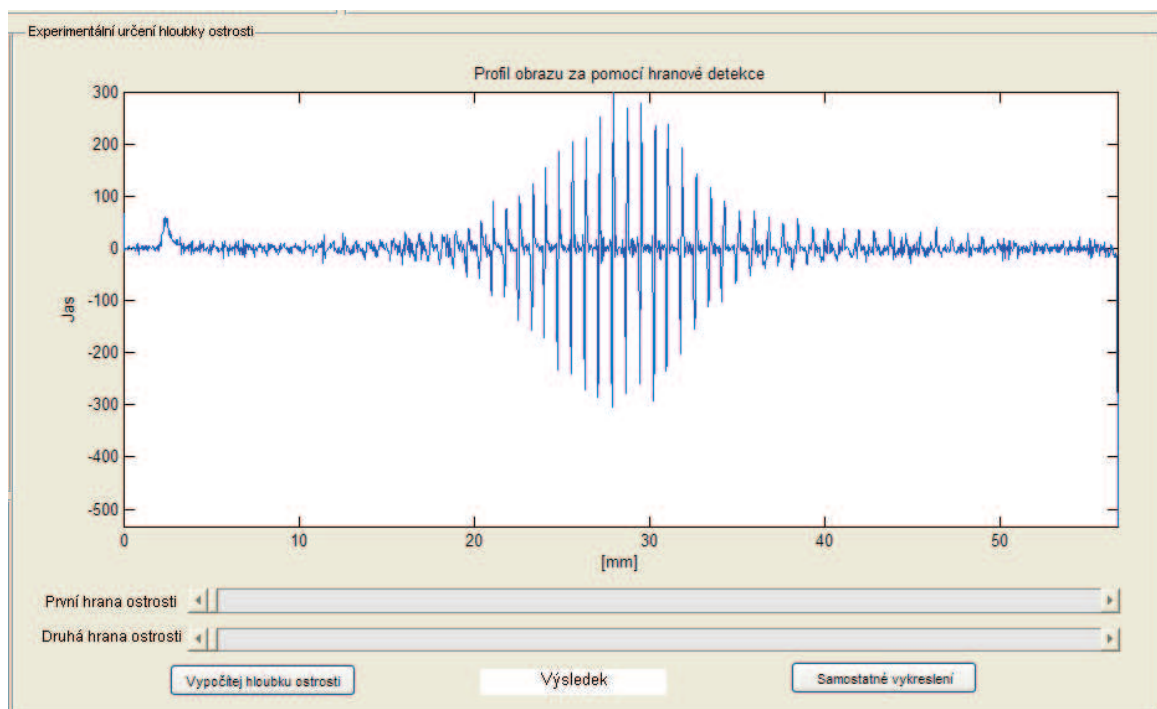
```

Obrázek 34: Část kódu realizující hranovou detekci

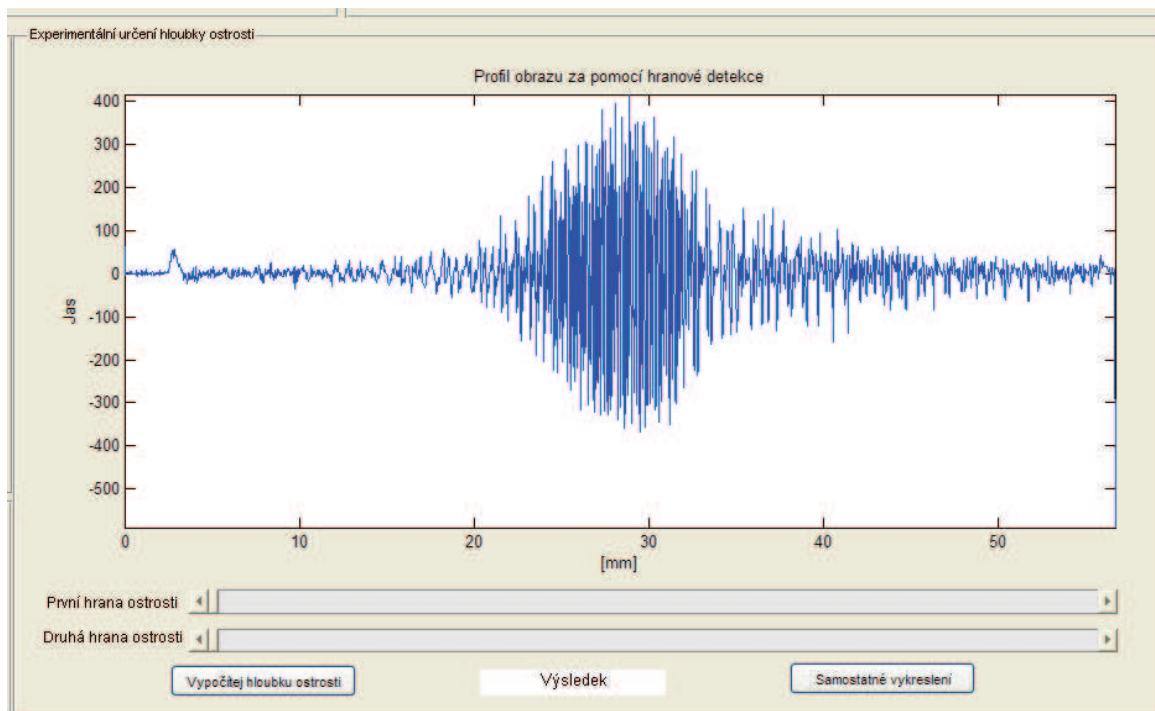
Při výběru hranové detekce a nastavení osy x na milimetry se po určení linie pro, kterou se vykreslí profil, zobrazí v panelu pro grafické znázornění (Obrázek 35, Obrázek 36, Obrázek 37). V tomto panelu je možné pomocí posuvných oken nastavit opět přední a zadní linii ostrosti a stanovit tak hloubku ostrosti. Dále je možné tento profil vykreslit do samostatného okna pro další zpracování.



Obrázek 35: Obraz, pro který je určen profil pomocí hranové detekce

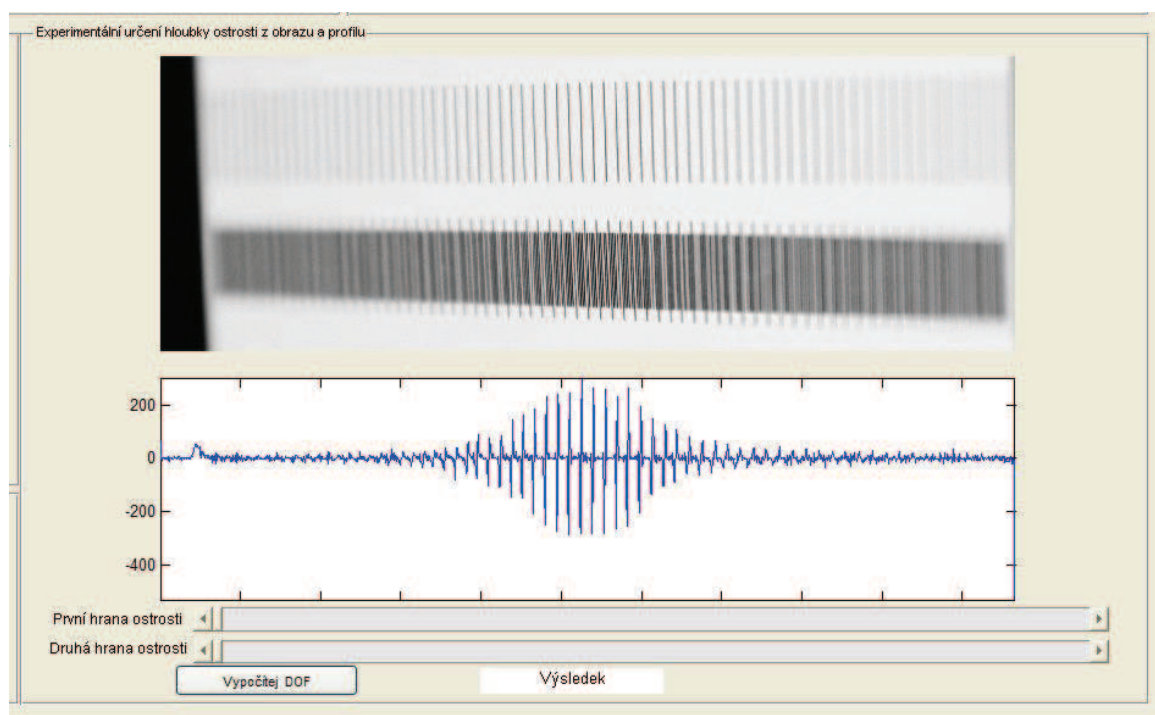


Obrázek 36: Profil obrazu za pomoci hranové detekce, měřítko 1 čára na 1mm



Obrázek 37: Profil obrazu za pomoci hranové detekce, měřítko 5 čar na 1mm

Tlačítko reset obnovuje základní nastavení a ponechává nahraný obrázek. Dále tlačítko Srovnání vyobrazí do jednoho panelu obrázek, pro který se stanovoval profil a zároveň vykreslí právě tento určený profil. V tomto okně jsou přítomny posuvná okna, kterými lze po nastavení určit hloubku ostroty na základě srovnání snímku s jeho profilem (Obrázek 38).



Obrázek 38: Srovnání obrázku s jeho profilem



## Výsledky

Účelem tohoto panelu je zobrazovat výsledky pomocí jednotlivých způsobu určení hloubky ostrosti. Jsou zde shromážděny výsledky vypočítané pomocí matematického vyjádření z kalkulačky hloubky ostrosti, dále je zde uveden výsledek při stanovení hloubky ostrosti na základě manuálního určení ostré a neostré částí obrazu a nakonec je se zde vypíše výsledek, který lze získat pomocí určení profilu načteného obrazu. Tyto výsledky se zde mohou porovnat a může být zavedena diskuze získání rozdílných výsledků.



Obrázek 39: Panel Výsledky

## 5 Provedení měření a dosažené výsledky

Měření, jehož úkolem bylo experimentálně stanovit hloubku ostrosti u optických systémů, bylo prováděno na dvou optických přístrojích, kameře a fotoaparátu.

První optický systém je kamera DFK 31AU03 od společnosti Imagesource. Jedná se o kameru s CCD snímačem, kterou lze připojit přes USB port k počítači k dalšímu zpracování snímků. Rozlišení této kamery je 1024x768 pixelů. Jako objektiv byl použit varifokální objektiv značky H3Z4512CS-IR. Základní parametry tohoto objektivu jsou manuálně nastavitelná ohnisková vzdálenost 4,5 – 12,5 mm a clonové číslo v rozsahu F1,6 - 16C. Další použitý objektiv měl jednotnou ohniskovou vzdálenost 2,6 mm a clonové číslo bylo v rozsahu F1 – 1,6. U těchto objektivů je nelze přesně nastavit hodnotu clony případně ohniskové vzdálenosti

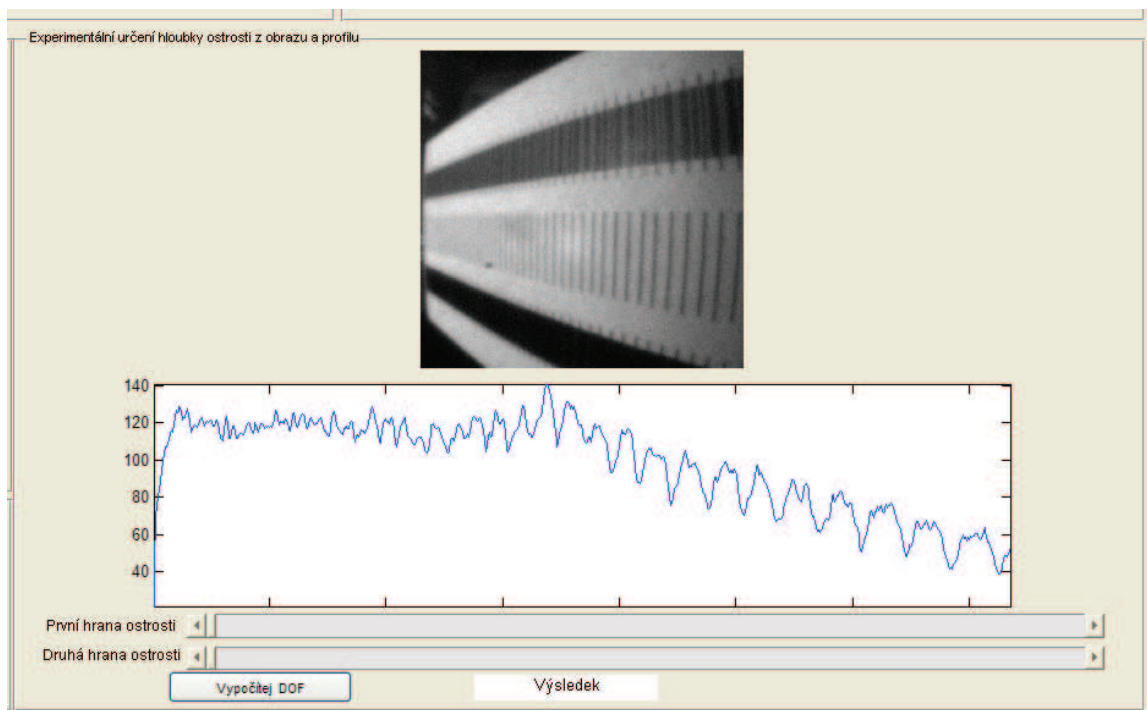
Druhým optickým systémem je fotoaparát Canon EOS 7D s objektivem Ultrasonic EFS 17 – 55mm. Mezi základní parametry fotoaparátu patří, že obrazový snímač je typu CMOS o velikosti 22,3 × 14,9 mm s efektivním rozlišením 18MPix což je 5184x3456 obrazových bodů []. Základní parametry objektivu jsou nastavení ohniskové vzdálenosti v rozsahu 17 – 55 mm, světelnost a minimální clonové číslo f/2.8 a maximální světelnost f/22.

### 5.1 Měření pomocí kamery

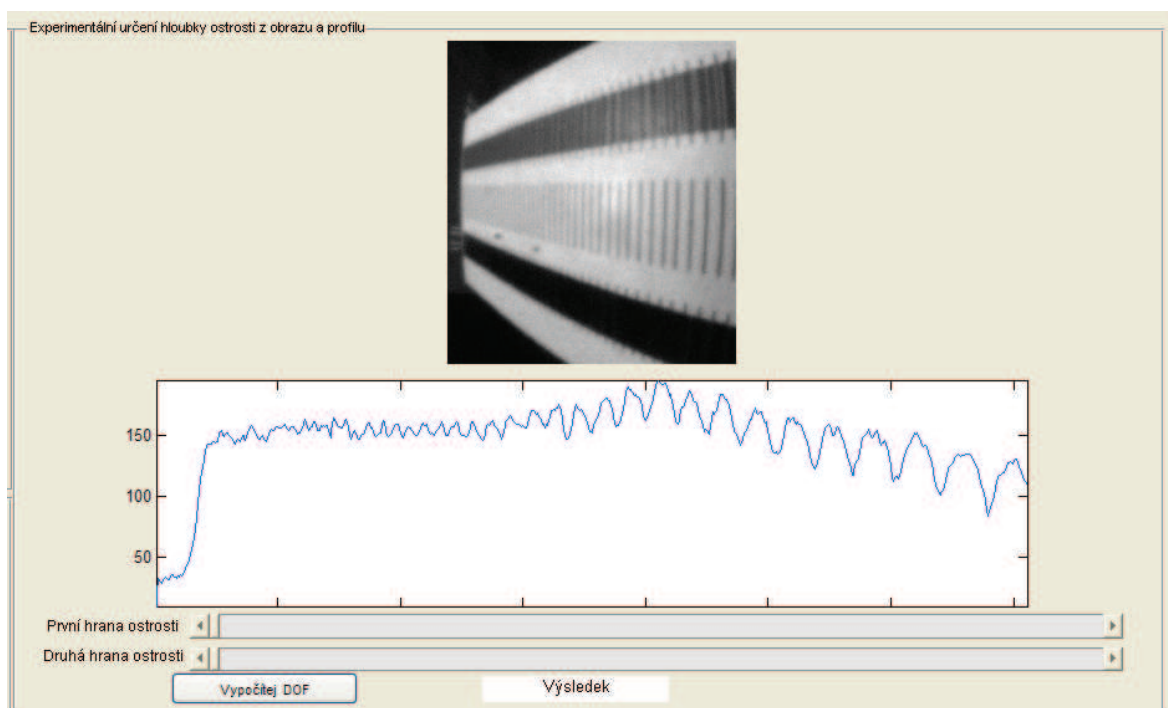
Zde budou uvedeny výsledky měření pomocí kamery a dvou různých objektivů.

#### 5.1.1 Objektiv s ohniskovou vzdáleností 2,6 mm

Pro tento objektiv byly pořízeny dva snímky, které se liší nastavením clony. Problémem toho objektivu je jeho nízká hodnota ohniskové vzdálenosti neumožňuje kvalitní zaostření na měřicí fantom. Na níže uvedených obrázcích je uveden zobrazený snímek společně s jasovým profilem, který byl zadán na prostředí měřicí škále odpovídající 1 čáře na 1mm.



Obrázek 40: Jasový profil prvního snímku, 1 čára na 1mm

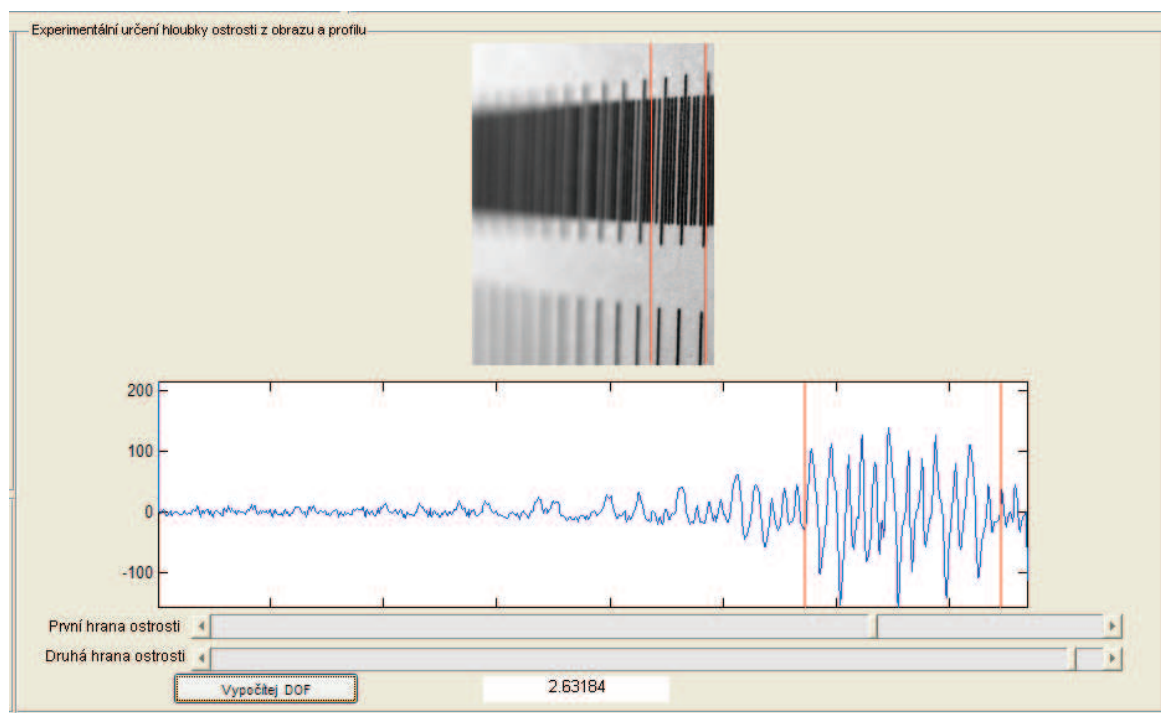


Obrázek 41: Jasový profil druhého snímku, 1 čára na 1mm

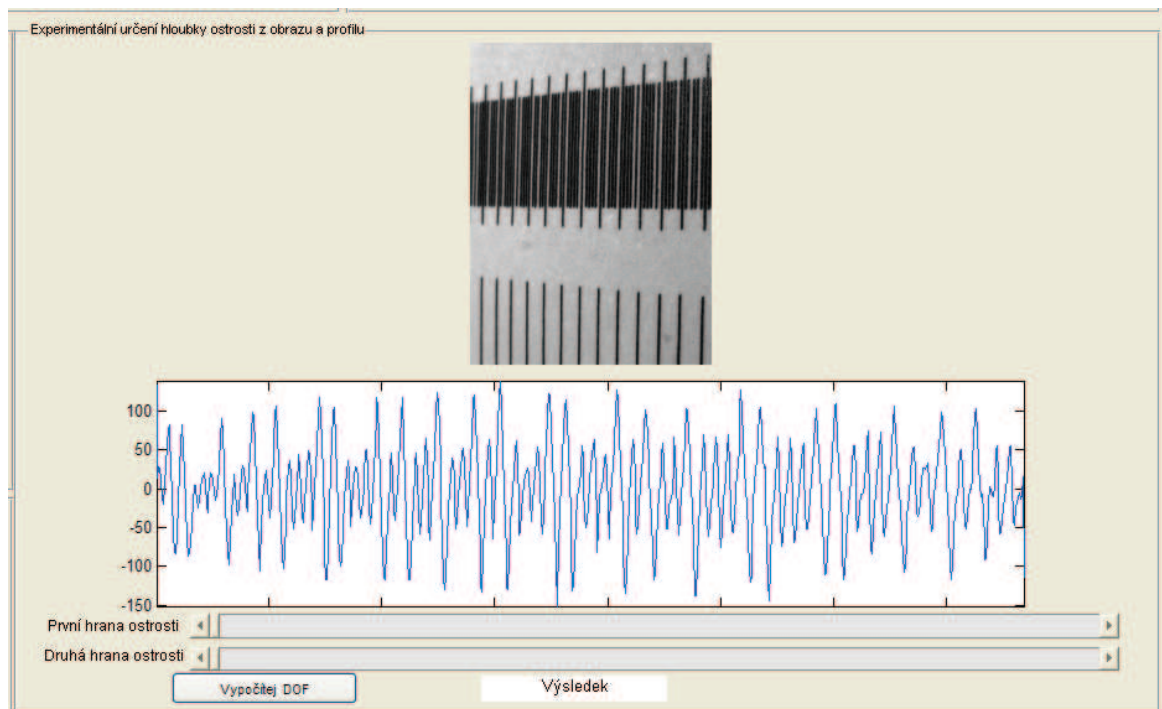
Z těchto jasových profilů, lze usoudit, že rozdíly mezi tmavými a světlými částmi na měřicím papíře nejsou tak velké, aby bylo možné stanovit hloubku ostrosti. Projevují se zde i určité vady objektivu související s jeho malou ohniskovou vzdáleností.

## 5.1.2 Objektiv s nastavitelným ohniskem

Pro tento objektiv byly také pořízeny dva snímky, které se liší nastavením clony. Na obrázcích jsou výstupy z programu tvořící nahraný snímek a jeho hranovou detekci. Hranová detekce byla určena na měřicí rozsahu 5 čar na 1mm.



Obrázek 42: Profil hranové detekce, 5 čar na 1mm, clona otevřena



Obrázek 43: Profil hranové detekce, 5 čar na 1mm, clona uzavřena

Z uvedených obrázku lze experimentálně stanovit hloubku ostrosti pro první obrázek přibližně 2,5mm a pro druhý obrázek lze odhadnou asi na 10 mm. Dále z těchto obrázku plyne, jak velký vliv má clona na hloubku ostrosti.

### 5.1.3 Zhodnocení výsledků

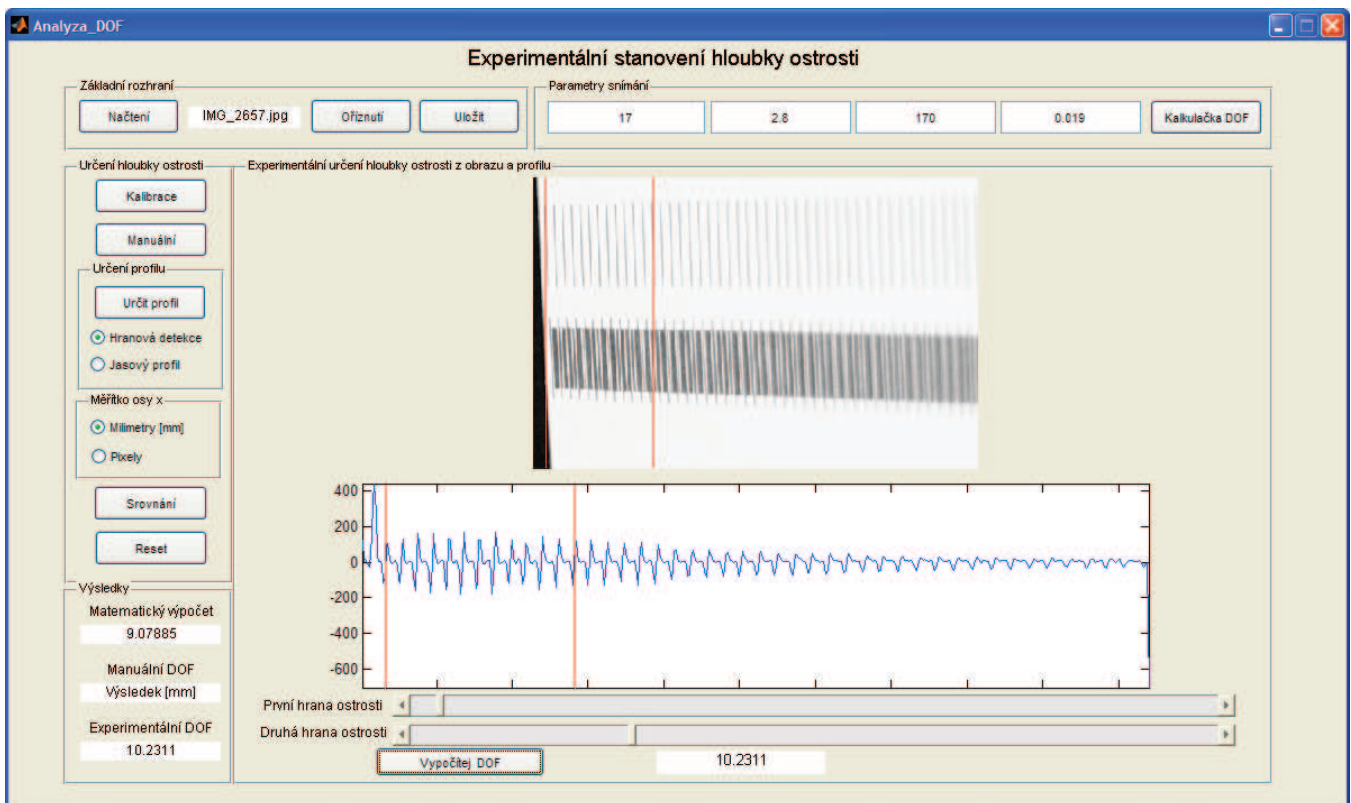
Pro kameru DFK 31AU03 bylo provedeno měření spolu s dvěma objektivy, které se především lišili v ohniskové vzdálenosti. Pro objektiv s ohniskovou vzdáleností 2,6 mm byly pořízeny snímky, které ovšem nesplnili kritérium ostrosti a u toho objektivu nebylo možné stanovit hloubku ostrosti. Tato neostrost je způsobena nejspíše větší vzdáleností mezi objektivem a měřicí pomůckou. Tato větší vzdálenost je dána nemožností přiblížení objektivu dostatečně blízko k měřicímu fantomu, aby byl zachován úhel měření 45 stupňů. U toho objektivu jsou patrné určité vady.

Pro druhý objektiv šlo určit experimentálně hloubku ostrosti na základě zobrazení profilu. Při měření se projevil vliv clony, které zvyšuje hloubku ostrosti, pokud je clona uzavřená a naopak, čímž se potvrdili teoretické poznatky.

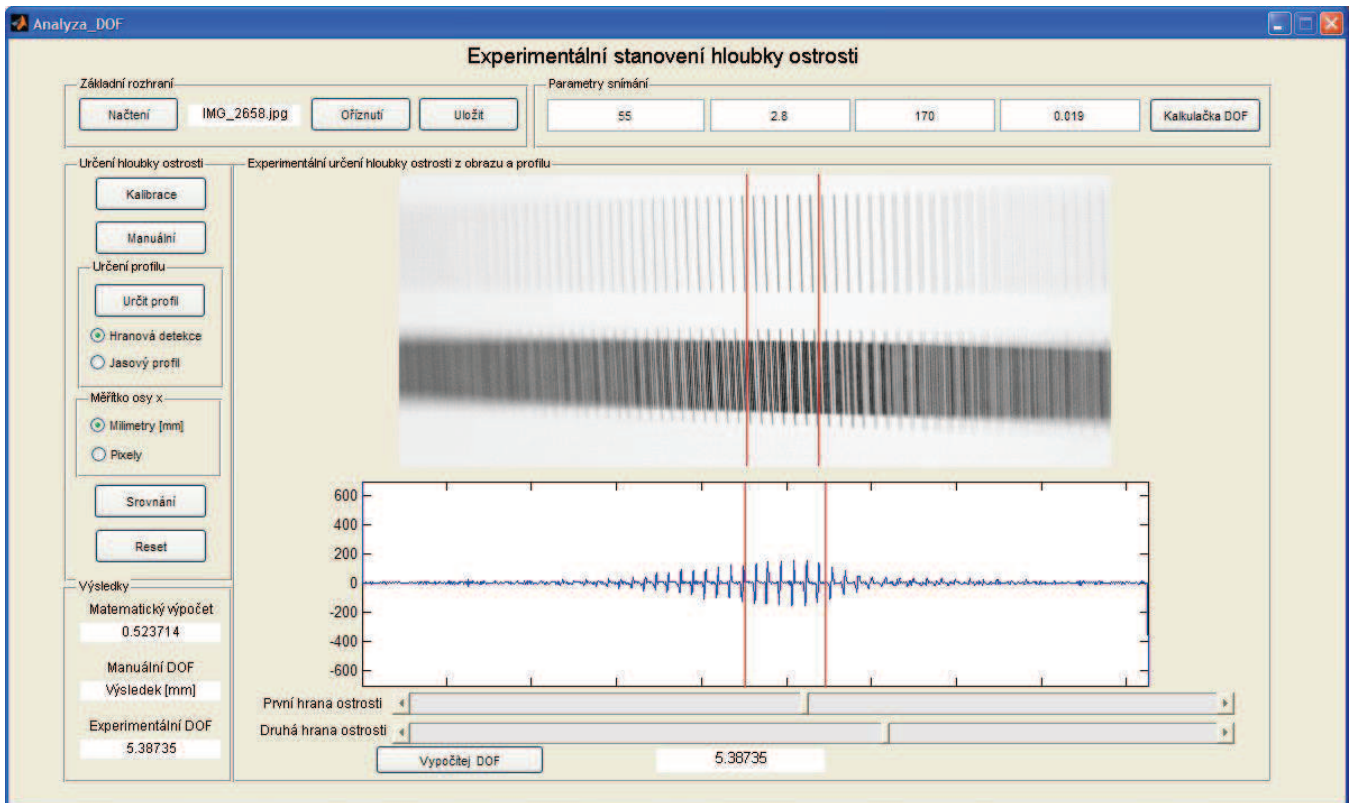
## 5.2 Měření pomocí fotoaparátu

Pro fotoaparát Canon EOS 7D s objektivem Ultrasonic EFS 17 – 55mm bylo nasnímáno celkem 8 snímků. Měření probíhalo pro ohniskovou vzdálenost 17 a 55 mm, pro clonové číslo  $f/2,8$  a  $f/5$  a vzdálenost objektivu od středu měřícího fantomu 17 a 27 cm. Nejprve budou výsledky zobrazeny a poté bude provedeno jejich zhodnocení. Při teoretickém výpočtu byla hodnota rozptylového kroužku stanovena na 0,019mm.

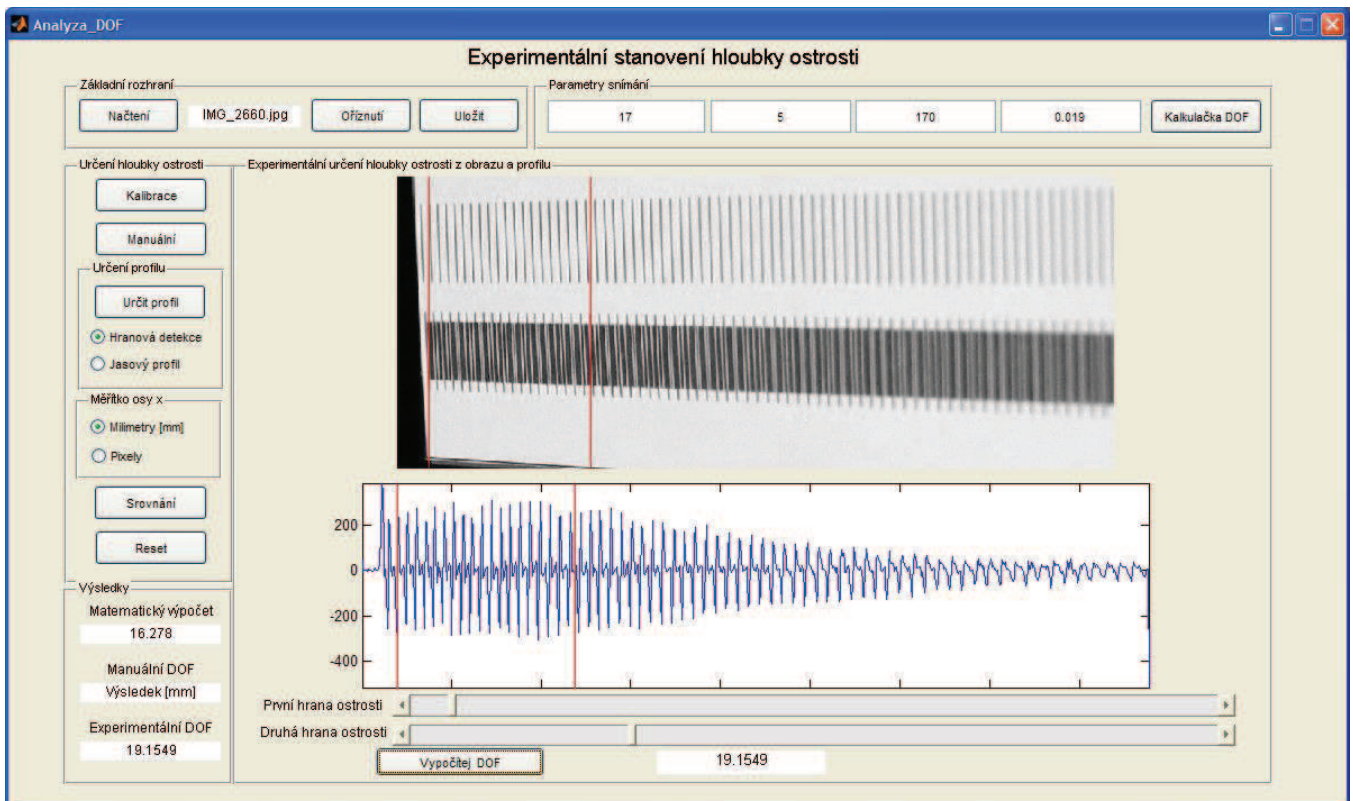
### *Vzdálenost objektivu od středu fantomu – 17 cm*



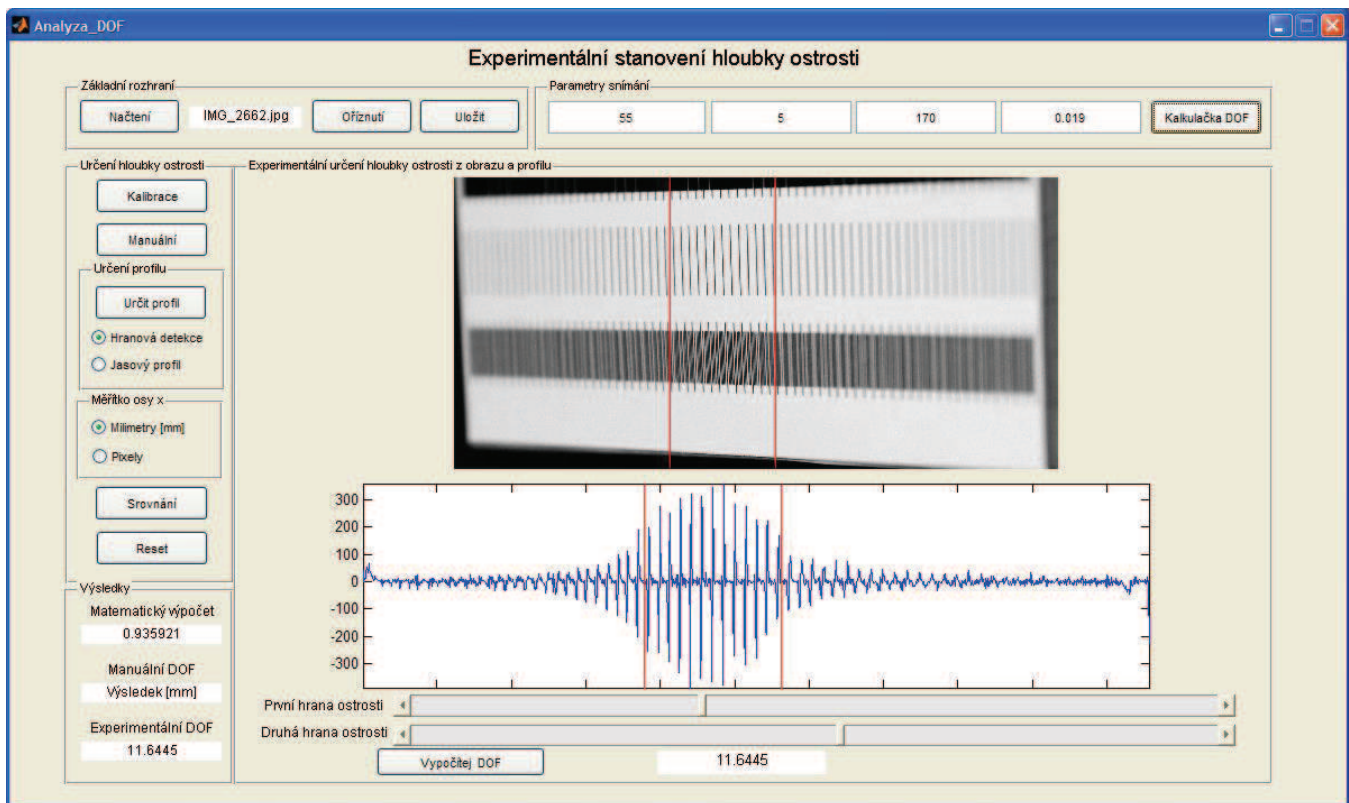
Obrázek 44: Clonové číslo  $f/2,8$ , ohnisková vzdálenost 17mm



Obrázek 46: Clonové číslo 2,8, ohnisková vzdálenost 55mm



Obrázek 45: Clonové číslo 5, ohnisková vzdálenost 17mm



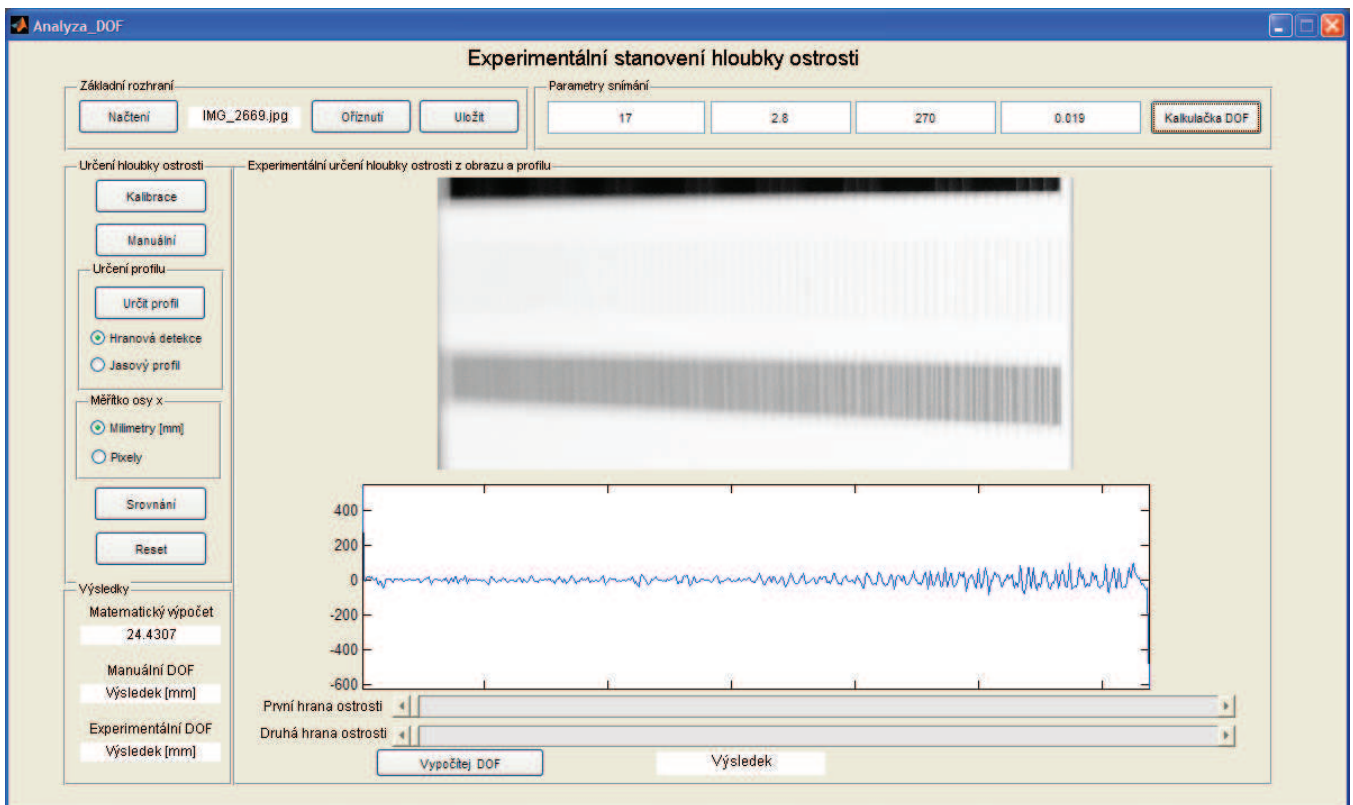
Obrázek 47: Clonové číslo 5, ohnisková vzdálenost 55mm

Tabulka 1: Dosážené výsledky hloubky ostrosti pro vzdálenost objektu 17cm

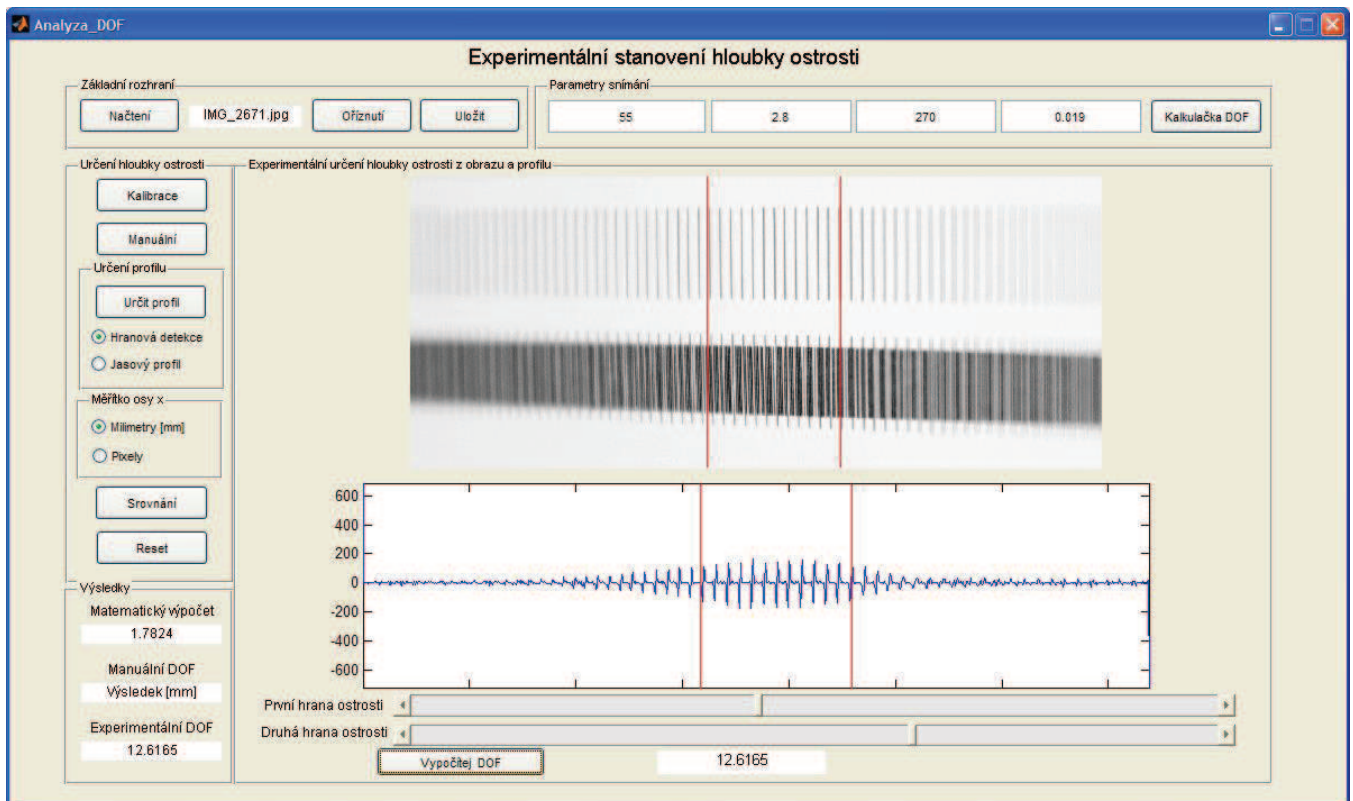
Vzdálenost objektu 17 cm	Experimentální hloubka ostrosti		Teoretická hloubka ostrosti	
	Ohnisková vzdálenost 17mm	Ohnisková vzdálenost 55mm	Ohnisková vzdálenost 17mm	Ohnisková vzdálenost 55mm
Clonové číslo f/2.8	10,2 mm	5,4 mm	9,1 mm	0,5 mm
Clonové číslo f/5	19,2	11,5mm	16,4	0,9 mm



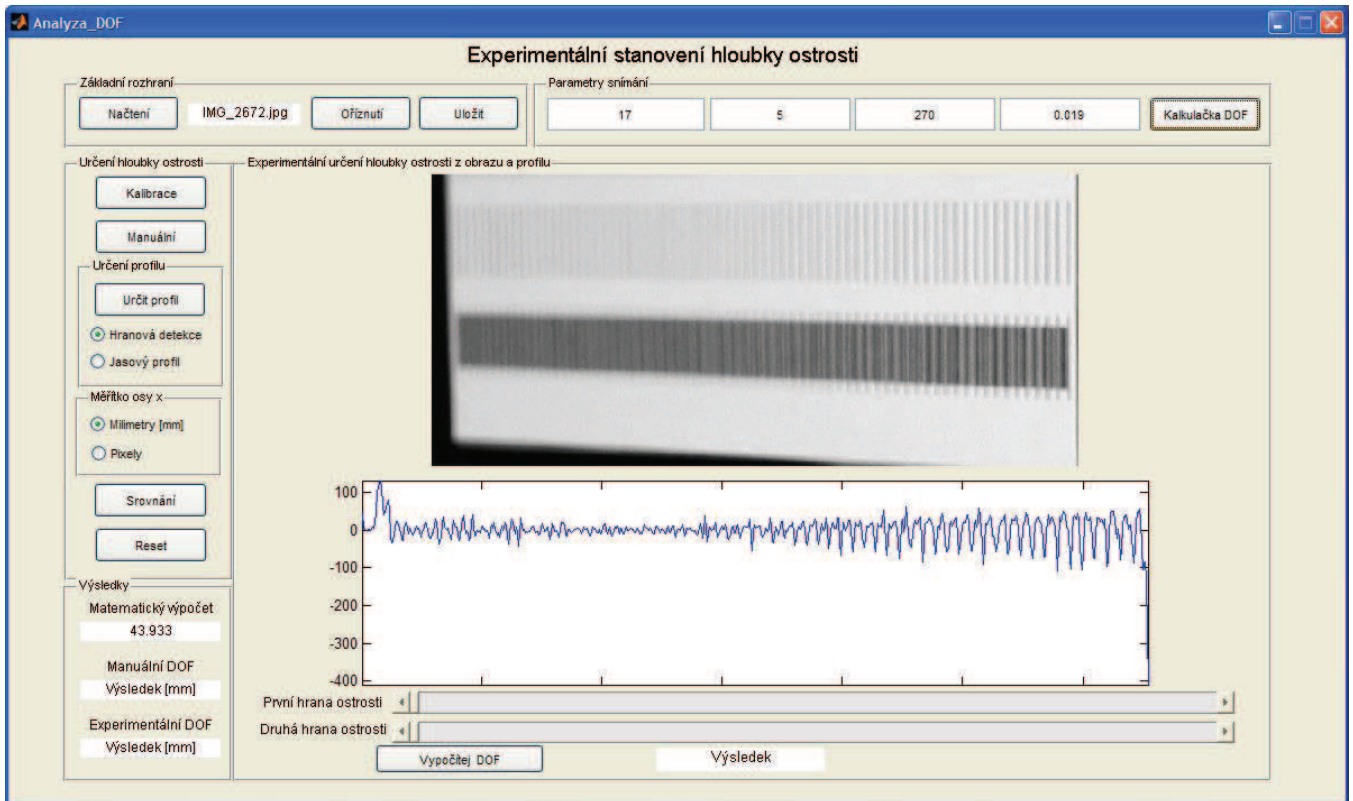
## Vzdálenost objektivu od středu fantomu – 27 cm



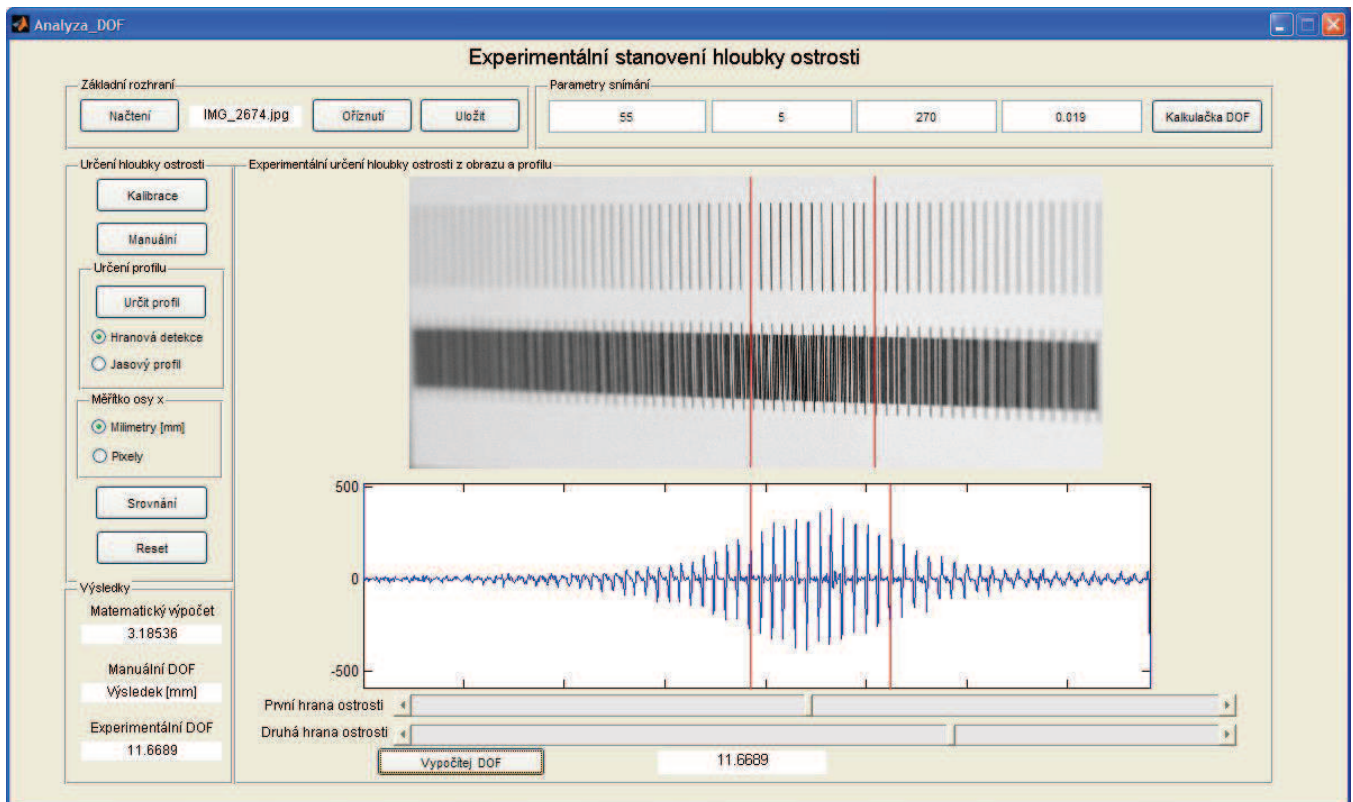
Obrázek 48: Clonové číslo 2.8, ohnisková vzdálenost 17mm



Obrázek 49: Clonové číslo 2.8, ohnisková vzdálenost 55



Obrázek 51: Clonové číslo 5, ohnisková vzdálenost 17



Obrázek 50: Clonové číslo 5, ohnisková vzdálenost 17

**Tabulka 2: Dosažené výsledky hloubky ostrosti pro vzdálenost objektu 27cm**

Vzdálenost objektu 27 cm	Experimentální hloubka ostrosti		Teoretická hloubka ostrosti	
	Ohnisková vzdálenost 17mm	Ohnisková vzdálenost 55mm	Ohnisková vzdálenost 17mm	Ohnisková vzdálenost 55mm
Clonové číslo f/2.8	Nelze určit	12,6 mm	24.4 mm	1,8 mm
Clonové číslo f/5	Nelze určit	11,2 mm	43,4 mm	3,2 mm

### 5.2.1 Zhodnocení výsledků

V této části bylo provedeno měření na optické přístroji Canon EOS 7D s objektivem Ultrasonic EFS 17 – 55m. Hlavním cílem této části bylo experimentálně stanovit hloubku ostrosti z naměřených snímků a porovnat je s teoretickými hodnotami. Tyto hloubky ostrosti byly stanoveny různé vzdálenosti objektů, ohniskové vzdálenosti a clonová čísla.

Tabulka 1 a tabulka 2 obsahuje měření pro různé parametry snímání a přináší srovnání mezi teoretickými hodnotami a experimentálně zjištěnými hodnotami hloubky ostrosti. Obě tyto hodnoty byly určeny pomocí vytvořeného programu Analyza\_DOF. Mezi těmito hodnotami dochází k rozdílům především při vyšší vzdálenosti objektivu od měřícího fantomu. Při hodnotě této vzdálenosti 27 cm a pro nastavení ohniskové vzdálenosti 17 mm nebylo možné určit hodnotu hloubky ostrosti ani pro jedno clonové číslo, protože obraz nebyl dostatečně ostrý v celé své části. Nyní nastává otázka, zda je možné se experimentálně přiblížit teoretické hloubce ostrosti nebo zda se stala při měření chyba, která tento výsledek ovlivnila.

Při nižší vzdálenosti objektivu od měřícího fantomu se hodnoty hloubek ostrosti při nižší ohniskové vzdálenosti tolik nelišili. K odlišnosti výsledků dochází v tomto případě při vyšší ohniskové vzdálenosti, kdy experimentální výsledky jsou asi desetkrát nižší než hodnoty získané teoreticky.

Pro všechny teoretické i experimentální hodnoty hloubky ostrosti platí znalosti o vlivu ohniskové vzdálenosti, clonového čísla a vzdálenosti objektu, které byly uvedeny v prvních kapitolách této práce.

## 6 Návod měření hloubky ostrosti optických systémů

Tento návod je realizován pro měření hloubky ostrosti na fotoaparátu Canon EOS D7 s objektivem Ultrasonic EFS 17 – 55mm. Výhodou tohoto zařízení je nastavení ohniskové vzdálenosti a clonového čísla.

Pro tento fotoaparát s objektivem sestavte měřicí pracoviště skládající se z měřícího fantomu, úchopného ramene pro fotoaparát, osvětlení a pc s programem Analyza\_DOF. Po uchopení fotoaparátu k rameni nastavte vzdálenost mezi objektivem a středem měřícího fantomu na 10cm. Pro tuto vzdálenost získejte snímky pro dvě různá clonová čísla a dvě různé ohniskové vzdálenosti. Po získání těchto snímků nastavte vzdálenost mezi objektivem fotoaparátu a středem měřícího fantomu na 20 cm a opakujte měření pro stejné hodnoty clonového čísla a ohniskové vzdálenosti.

Po nasnímání těchto snímků je přeneste do počítače a spustě program Analyza\_DOF. V tomto programu analyzujte všechny snímky a stanovte experimentální hodnoty hloubky ostrosti u všech snímků. Dále určete teoretické hodnoty hloubky ostrosti na základě parametrů snímání, při kterých byly snímky pořízeny.

Diskutujte vlivy ohniskové vzdálenosti, clonového čísla a vzdálenosti objektivu od objektu a porovnejte teoretické a experimentální hodnoty hloubky ostrosti.

## 7 Závěr

Cílem této práce bylo se seznámit s principem snímání v oblasti optické mikroskopie se zaměřením na parametry procesu zobrazení a jejich měření. Dalším cílem bylo určit metodiku měření pro experimentální stanovení hloubky ostrosti zobrazovacího systému a návrh schéma měřicího pracoviště.

V prvních kapitolách diskutovány základní principy optických soustav a tedy vzniku obrazu. Z těchto principů plynuly určitá omezení pro optické soustavy, které jsou způsobeny fyzikálními vlastnostmi viditelného světla a plynou z nich určité nároky na konstrukci těchto optických soustav a zobrazovacích systémů.

Další část této práce byla zaměřena na problém zobrazování obrazů. Zobrazování obrazů se skládá s několika kroků, mezi které patří prose snímání obrazů, digitalizaci a samotné zobrazení. Jsou zde uvedeny parametry zobrazení obrazů mající vliv na jejich kvalitu.

Samostatná část je poté věnována hloubce ostrosti obrazu jako jednoho stěžejního parametru zobrazení. Jsou zde rozebrány principy, které tento parametr kvalitativně zvyšují nebo snižují. Kromě teoretického stanovení hloubky ostrosti ji lze určit i experimentálně. Je zde nastíněna metoda, jakým způsobem lze stanovit hloubku ostrosti spolu s návrhem měřicího pracoviště pro kamery a fotoaparáty.

V další části této práce je popsána realizace experimentálního měření hloubky ostrosti. Na základě návrhů v předešlých kapitolách je zde popsáno a znázorněno měřicí pracoviště a pomůcky, které slouží k experimentu. Dále je zde popsán program Analyza\_DOF spolu s uživatelským rozhraním, který byl vytvořen v programovém prostředí Matlab v součásti GUI. Tento program je použit k analýze a zjištění jak experimentální hloubky ostrosti z měřených dat tak i stanovení teoretické hloubky ostrosti na základě parametrů optických soustav.

V následující kapitole jsou obsaženy výsledky měření pro dvě různé optické soustavy, kamera kameru DFK 31AU03 s dvěma různými objektivy a fotoaparát Canon EOS D7. Kromě teoretických a experimentálních hodnot hloubky ostrosti pro různé parametry jsou zde znázorněn i program Analyza DOF. Tento program sloužil při měření k získání teoretické hodnoty hloubky ostrosti na základě matematického výpočtu a dále jeho úkolem bylo stanovit

hloubku ostrosti na základě získaných snímků z optických soustav. Na základě těchto výsledků se při měření potvrdily teoretické znalosti o vlivu clonového čísla, ohniskové vzdálenosti a vzdálenosti mezi objektivem a objektem na hloubku ostrosti.

V poslední kapitole je uveden krátký návod na měření hloubky ostrosti pomocí fotoaparátu Canon EOS D7 za využití realizovaného měřicího pracoviště a za programu Analyza\_DOF.

## Seznam literatury

- [1] MERZ J. Introduction to Optical Microscopy. Roberts and Company Publishers; 1st Edition, May 11, 2009, p. 413, ISBN - 10: 0981519482.
- [2] NIKON. Základní metody světelné mikroskopie. [online], p. 66, Brno, 2004. [cit. 2012-12-01]. Dostupné z: <[http://www.are.cz/documents/ZAKLADNI\\_METODY\\_SVETELNE\\_MIKROSKOPIE.pdf](http://www.are.cz/documents/ZAKLADNI_METODY_SVETELNE_MIKROSKOPIE.pdf)>
- [3] Optika. *Optika* [online]. [cit. 2012-12-13]. Dostupné z: <<http://apfyz.upol.cz/ucebnice/down/optika.pdf>>
- [4] PLÁŠEK, Jaromír. Proměny světelné mikroskopie ve 20. století. *Vesmír*, 2004, roč. 3, č. 83, str. 143-153
- [4] PIRKL, Slavomír. Moderní mikroskopické metody. p. 25, Univerzita Pardubice, 2003.
- [5] PIHAN, R.: Fenomén hloubky ostrosti. [on-line]. 2005, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <[http://fotoroman.cz/techniques2/focus\\_dof.htm](http://fotoroman.cz/techniques2/focus_dof.htm)>
- [6] Ostření a hloubka ostrosti – 1. Zaostřování. [on-line], 2006, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://www.fotografovani.cz/fotopraxe/zakladni-postupy1/ostreni-a-hloubka-ostrosti-1-zaostrovani-151774cz>>
- [7] Edmund Optics Inc. - DOF 5-15 Depth of Field Target. [on-line], 2012, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://www.edmundoptics.com/testing-targets/test-targets/image-analysis-test-targets/dof-5-15-depth-of-field-target/1485>>
- [8] Edmund Optics Inc. – Choosing the Correct Test Target, [on-line], 2012, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://www.edmundoptics.com/learning-and-support/technical/learning-center/application-notes/testing-targets/choosing-the-correct-test-target/>>
- [9] Získávání a analýza obrazové informace, prezentace. Brno Masarykova univerzita, Fakulta lékařská. [on-line], 2012, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <[http://www.med.muni.cz/biofyz/Image/prezentace\\_2.pdf](http://www.med.muni.cz/biofyz/Image/prezentace_2.pdf)>
- [10] Zpracování obrazu – 3. Parametry obrazu. [on-line], 2006, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://www.fotografovani.cz/fotopraxe/zakladni-postupy1/zpracovani-obrazu-3-parametry-obrazu-151848cz>>

- [11] FIŘT, J., HOLOTA, R.: Digitalizace a zpracování obrazu [on-line]. 2009 [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://home.zcu.cz/~holota5/publ/DigZprO.pdf>>
- [12] HOZMAN, J.: Základní metody předzpracování obrazu [on-line]. 2003 [cit. 2012-12-13]. Dostupné z: <[http://webzam.fbmi.cvut.cz/hozman/Zprac\\_obr\\_prisp\\_kurz\\_UEM\\_3\\_2003.pdf](http://webzam.fbmi.cvut.cz/hozman/Zprac_obr_prisp_kurz_UEM_3_2003.pdf)>
- [13] MARTIŠEK, D.: Matematické metody modelování mikroskopických objektů [online]. 2002 [cit. 2012-12-13]. Dostupné z: <[http://www.ancor.cz/no/dr\\_martisek.pdf](http://www.ancor.cz/no/dr_martisek.pdf)>
- [14] PIHAN, R.: Podle čeho vybrat objektiv. [on-line]. 2005, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <[http://www.fotoroman.cz/techniques2/lenses\\_basic.htm](http://www.fotoroman.cz/techniques2/lenses_basic.htm)>
- [15] Aberace optických soustav. [prezentace on-line], 2012, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <[http://webfyzika.fsv.cvut.cz/PDF/prednasky/aberrace\\_opt\\_soustav.pdf](http://webfyzika.fsv.cvut.cz/PDF/prednasky/aberrace_opt_soustav.pdf)>
- [16] Optické vady a vlastnosti objektivů. [on-line], 2012, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://photo.mysteria.cz/clanky/objekt2.html>>
- [17] Optické soustavy parametry. [on-line], 2012, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <[http://webfyzika.fsv.cvut.cz/PDF/prednasky/opticke\\_soustavy\\_parametry.pdf](http://webfyzika.fsv.cvut.cz/PDF/prednasky/opticke_soustavy_parametry.pdf)>
- [18] Měření rozlišovací schopnosti soustav. [on-line], 2012, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://webfyzika.fsv.cvut.cz/PDF/navody/fyzika3/NavodF.pdf>>
- [19] ŘEHOŘ, Zdeněk. Kvalita optických přístrojů – 5. Díl. 2006, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://posec.astro.cz/rservice.php?akce=tisk&cislocianku=2006121201>>
- [20] Historie mikroskopů. 2008, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://www.levne-mikroskopy.cz/historie-mikroskopu>>
- [21] BELLIS, Marry. History of the Microscope. [online], 2012, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <<http://inventors.about.com/od/mstartinventions/a/microscope.htm>>
- [22] POSPÍŠIL, Jaroslav. Měření funkce přenosu kontrastu objektivů statistickou metodou autokorelace. [online], Olomouc: Palackého univerzita, 1969, p. 99-107. Dostupné z: <[http://dml.cz/bitstream/handle/10338.dmlcz/119902/ActaOlom\\_10-1969-1\\_10.pdf](http://dml.cz/bitstream/handle/10338.dmlcz/119902/ActaOlom_10-1969-1_10.pdf)>
- [23] PIHAN, R.: Expoziční základy. [on-line]. 2005, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <[http://www.fotoroman.cz/techniques3/expozice1\\_zaklad.htm](http://www.fotoroman.cz/techniques3/expozice1_zaklad.htm)>
- [24] PIHAN, R.: Perspektiva a hloubka ostrosti. [on-line]. 2005, [cit. 2012-12-12]. Dostupné z: <[http://www.fotoroman.cz/techniques3/persp6\\_dof.htm](http://www.fotoroman.cz/techniques3/persp6_dof.htm)>



- [25] Výpočet MTF z odezvy LSF nebo PSF optické soustavy. [on-line]. 2013, [cit. 2012-05-05]. Dostupné z:  
<[http://webzam.fbmi.cvut.cz/szabozol/ZOD/web\\_U2/Mereni\\_MTF\\_z\\_LSF.htm](http://webzam.fbmi.cvut.cz/szabozol/ZOD/web_U2/Mereni_MTF_z_LSF.htm)>
- [26] Fliegel, K.: Modelování a měření charakteristik obrazových snímačů. ČVUT v Praze, Fakulta elektrotechnická, Katedra radioelektroniky. [on-line]. 2013, [cit. 2013-05-05]. Dostupné z: <[http://dsp.vscht.cz/konference\\_matlab/matlab04/fliegel.pdf](http://dsp.vscht.cz/konference_matlab/matlab04/fliegel.pdf)>
- [27] Depth of Field Equations [on-line]. 2013, [cit. 2013-05-05]. Dostupné z:  
<<http://www.dofmaster.com/equations.html>>
- [28] PÁLKA, Z. Realizace hranového detektoru s využitím vlnkové transformace. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2009. 55 s. [cit. 2013-05-05]. Dostupné z:  
<<https://dSPACE.vutbr.cz/bitstream/handle/11012/11674/Hranovy%20detektor.pdf?sequence=1>>
- [29] Canon EOS 7D [on-line]. 2013, [cit. 2013-05-05]. Dostupné z:  
<[http://www.canon.cz/For\\_Home/Product\\_Finder/Cameras/Digital\\_SLR/EOS\\_7D/](http://www.canon.cz/For_Home/Product_Finder/Cameras/Digital_SLR/EOS_7D/)>