



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií ■

Digitální holografická mikroskopie pro měření topografie reflexních vzorků

Bakalářská práce

Studijní program: B2612 – Elektrotechnika a informatika
Studijní obor: 2612R011 – Elektronické informační a řídicí systémy

Autor práce: **Vladimír Francúz**
Vedoucí práce: Ing. Ondřej Matoušek





TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC
Faculty of Mechatronics, Informatics
and Interdisciplinary Studies ■

Digital holographic microscopy for topography measurement of reflective samples

Bachelor thesis

Study programme: B2612 – Electrical Engineering and Informatics
Study branch: 2612R011 – Electronic Information and Control Systems
Author: **Vladimír Francúz**
Supervisor: Ing. Ondřej Matoušek



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Vladimír Francúz**
Osobní číslo: **M13000040**
Studijní program: **B2612 Elektrotechnika a informatika**
Studijní obor: **Elektronické informační a řídicí systémy**
Název tématu: **Digitální holografická mikroskopie pro měření topografie reflexních vzorků**
Zadávací katedra: **Ústav nových technologií a aplikované informatiky**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

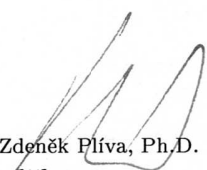
1. Prostudujte odbornou literaturu a vypracujte literární rešerši pojednávající základní principy digitální holografie a digitální holografické mikroskopie (DHM).
2. Na základě rešerše navrhnete holografický mikroskop pro měření reflexních vzorků.
3. Navržené uspořádání sestavte a proveďte měření topografie vhodných vzorků.
4. Zpracujte naměřená data a zhodnoťte dosažené výsledky.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **30 - 40 stran**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**
Seznam odborné literatury:

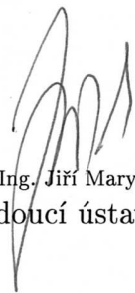
- [1] KREIS, Thomas. Handbook of holographic interferometry: optical and digital methods. Weinheim: WILEY-VCH, 2005. ISBN 978-352-7405-466.
[2] KIM, Myung K. Digital holographic microscopy: principles, techniques, and applications. New York: Springer, 2011. Springer series in optical sciences, v. 162. ISBN 978-144-1977-939.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Ondřej Matoušek**
Ústav nových technologií a aplikované informatiky

Datum zadání bakalářské práce: **20. října 2016**
Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2017**


prof. Ing. Zdeněk Plíva, Ph.D.
děkan




prof. Dr. Ing. Jiří Maryška, CSc.
vedoucí ústavu

V Liberci dne 20. října 2016

Prohlášení

Byl jsem seznámen s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 15.5.2017

Podpis: 

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá sestavením digitálního holografického mikroskopu pro měření topografie reflexních prvků. V úvodu této práce jsou popsány základní principy holografie a holografické interferometrie. Dále jsou popsány světelné a elektronové mikroskopy. V další kapitole jsou popsány jednotlivé komponenty sestaveného digitálního holografického mikroskopu a jeho následné módy, jak se můžou prvky měřit. Dají se měřit prvky reflexní nebo transmisní. Poslední kapitola je zaměřena na měřené prvky.

Klíčová slova

Digitální holografická mikroskopie, mikroskop, holografická interferometrie, interferometrie, reflexní prvky, transmisní prvky

ABSTRACT

This bachelor work deals with assembling of digital holographic microscope for topography measurement of reflective elements. At the beginning of this work are described basic principles of holography and holographic interferometry. Further there are described light and electron microscopes. In the next chapter, there are described principles of all individual components of assembled digital holographic microscope and all modes, how elements can be measured. This elements can be reflective or transmissive. Last chapter is focused on results of the measured elements.

Key words:

Digital holographic microscopy, microscope, holographic interferometry, interferometry, reflective elements, transmission elements

OBSAH

Seznam obrázků	9
Seznam zkratk	11
1. Úvod.....	13
2. Vlastnosti světla.....	14
2.1. Světlo.....	14
2.2. Interference.....	15
2.3. Časová koherence světla	15
2.4. Polarizace světla	17
3. Holografická interferometrie a digitální HI	19
3.1. Holografie.....	19
3.1.1. Záznam hologramu.....	19
3.1.2. Rekonstrukce hologramu (klasická holografie).....	20
3.2. Digitální holografická interferometrie	20
4. Mikroskopie.....	21
4.1. Světelná mikroskopie	21
4.1.1. Metoda světlého pole	22
4.1.2. Metoda temného pole	22
4.2. Elektronová mikroskopie	22
4.2.1. Transmisní elektronový mikroskop (TEM)	23
4.2.2. Rastrovací elektronový mikroskop (SEM).....	23
5. Experimentální část.....	24
5.1. Digitální holografický mikroskop a jeho komponenty	24
5.1.1. Laserový zdroj ADR-1805	24
5.1.2. Kamera UI-1490LE.....	25

5.1.3. Objektiv	26
5.1.4. Kolimátor	26
5.1.5. Čočka field lens.....	27
5.1.6. Optický dělič (Pellicle mirror).....	27
5.1.7. Optické vlákno.....	27
5.2. Digitální holografická mikroskopie	28
5.3. DHM pro měření reflexních prvků	29
5.4. DHM pro měření transmisních prvků	30
6. Měření a vyhodnocení.....	32
6.1. Rekonstrukce objektu.....	33
6.2. Destička USAF	36
6.3. Vzorek lidské krve.....	37
6.4. Vzorek včelího křídla.....	38
6.5. Vzorek cibule	38
6.6. Vzorek náplně popisovače na destičce a vryp.....	39
7. Závěr.....	41
Použitá literatura	42
Použité obrázky.....	42

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 2-1 – Spektrum ELM vln.....	14
Obrázek 2-2 – Interferenční obrazec.....	15
Obrázek 2-3 – Michelsonův interferometr.....	16
Obrázek 2-4 – Šířka spektrální čáry FWHM.....	17
Obrázek 2-5 – Polarizace světla.....	18
Obrázek 3-1 – Záznam hologramu.....	19

Obrázek 3-2 – Topografie krvinky.....	20
Obrázek 4-1 – Schématické zobrazení světelného mikroskopu.....	21
Obrázek 4-2 – Světelné mikroskopy.....	22
Obrázek 4-3 – Druhy mikroskopů.....	23
Obrázek 5-1 – Sestavený digitální holografický mikroskop.....	24
Obrázek 5-2 – Laserový zdroj ADR-1805.....	25
Obrázek 5-3 – Kamera UI-1490LE.....	25
Obrázek 5-4 – Objektivy Olympus.....	26
Obrázek 5-5 – Kolimace svazku.....	26
Obrázek 5-6 – Čočka field lens.....	27
Obrázek 5-7 – Optický dělič (Pellicle mirror).....	27
Obrázek 5-8 – Jednovidové optické vlákno.....	28
Obrázek 5-9 – Objektiv s korekcí na nekonečno.....	29
Obrázek 5-10 – Schémata DHM pro měření reflexních prvků.....	30
Obrázek 5-11 – Schéma DHM pro měření transmisních prvků.....	31
Obrázek 6-1 – Destička USAF.....	32
Obrázek 6-2 – Interferenční proužky na destičce USAF.....	33
Obrázek 6-3 – Včelí křídlo.....	34
Obrázek 6-4 – Spektrum digitálního hologramu.....	34
Obrázek 6-5 – Numerické ostření objektu.....	35
Obrázek 6-6 – Intenzita a fáze měřeného objektu.....	35
Obrázek 6-7 – Rozlišovací schopnost na destičce USAF.....	36
Obrázek 6-8 – Použité destičky USAF.....	37

Obrázek 6-9 – Červené krvinky.....	38
Obrázek 6-10 – Včelí křídlo.....	38
Obrázek 6-11 – Buňky tkáně cibule.....	39
Obrázek 6-12 – Náplň z permanentního popisovače.....	39
Obrázek 6-13 – Vrypy na destičce.....	40

SEZNAM ZKRATEK

HI	Holographic Interferometry	Holografická Interferometrie
DHI	Digital Holographic Interferometry	Digitální Holografická Interferometrie
DHM	Digital Holographic Microscopy	Digitální Holografická Mikroskopie
ODR	Optical path distance	Optický Dráhový Rozdíl
FWHM	Full Width at Half Maximum	Šířka spektrální čáry
CCD	Charge Coupled Device	Zařízení s vázanými náboji
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductor	Komplementární polovodič oxidu kovu
ELM	Electromagnetic	Elektromagnetická
TEM	Transverse ElectroMagnetic	Transverzálně ElektroMagnetická
TEM	Transmission Electron Microscopy	Transmisní elektronový mikroskop

SEM	Scanning Electron Microscope	Rastrovací elektronový mikroskop
USAF	United States Air Force	Letectvo spojených států
FFT	Fast Fourier Transformation	Rychlá Fourierova transformace
IFFT	Inverse Fast Fourier Transformation	Inverzní rychlá Fourierova transformace
MATLAB	MATrix LABoratory	Maticová laboratoř

1. Úvod

Mikroskopie je souhrn aplikací optiky, který sahá do historie, a to na přelom 16. a 17. století. Dle některých zdrojů je zmínka o sestavení prvního mikroskopu v roce 1590, a to Nizozemcem Zachariasem Janssenem. Touto konstrukcí se zabýval o 20 let později i Galileo Galilei. Avšak první jednoduchý mikroskop sestrojil až v roce 1676 nizozemský obchodník a vědec Anton van Leeuwenhoek.

První firmou, která začala vyrábět mikroskopy, se stala německá společnost Carls Zeiss, která je jednou z nejstarších firem v oboru optiky a v dnešní době má celosvětovou působnost v oboru optiky a opto-elektroniky.

Pro obor mikroskopie byl obrovský pokrok v roce 1931, kdy Ernst Ruska zkonstruoval první elektronový mikroskop. Tyto mikroskopy nám umožnily studovat i prvky, které jsou menší než $0,2 \mu\text{m}$.

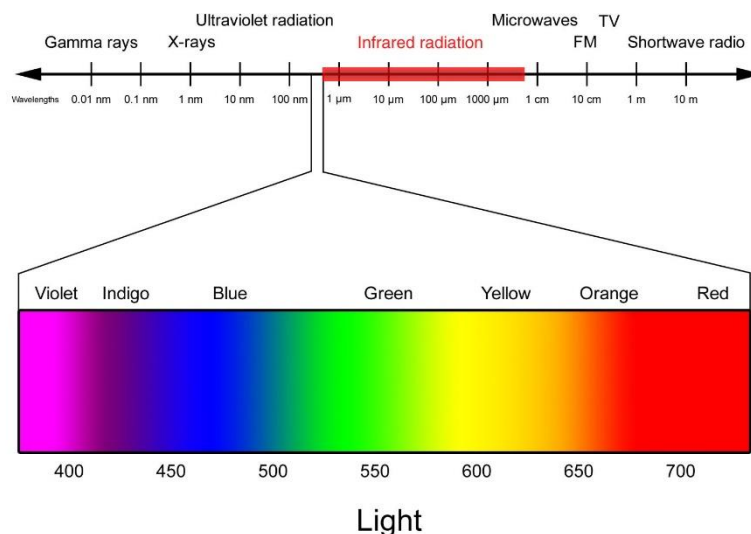
Tato práce se však zabývá digitálním holografickým mikroskopem pro měření reflexních prvků, který jsme upravili i pro měření transmisních prvků. Tyto mikroskopy se dají přirovnat světelnému mikroskopu. Digitální holografický mikroskop má výhodu, že po sběru dat, lze objekt i pomocí počítačového softwaru zrekonstruovat do 3D modelu, protože není citlivý jen na intenzitu, ale i na jeho fázi. Jako další velkou výhodou můžeme vzít v potaz i numerickou fokusaci, pomocí které lze rekonstruovat obraz v různých rovinách jediného hologramu.

V této práci jsou nejprve popsány teoretické základy digitální holografické mikroskopie a poté i následné navržení schématu digitálního holografického mikroskopu a i jeho sestavení a ověřena jeho funkčnost na několika organických i anorganických vzorcích v reflexním a i transmisním módu.

2. Vlastnosti světla

2.1. SVĚTLO

Světlo je příčně elektromagnetické vlnění (TEM – transversálně elektromagnetická), kde je vektor elektrické a magnetické síly kolmý na směr šíření a které je vidět lidským okem. Tyto vlny mají vlnovou délku v rozmezí 390 až 700 nm, kde 390 nm odpovídá fialovému světlu a délka 700 nm je červené světlo.



Obrázek 2-1 – Spektrum elektromagnetických vln
Na obrázku jsou zobrazeny ELM vlny rozděleny podle vlnové délky. Je zde vybrána oblast viditelného spektra, který odpovídá vlnovým délkám 390 až 700 nm.

Tyto vlnové délky odpovídají frekvencím 430 až 790 THz. Pro výpočet frekvence vlny platí vzorec (2.1), kde f je frekvence vlny, λ je vlnová délka vlny a c je rychlost šířící se vlny.

$$f = \frac{c}{\lambda} \quad (2.1)$$

Ve vakuu je tato rychlost přibližně rovna rychlosti $3 \cdot 10^8 \text{ ms}^{-1}$.

Šíří-li se vlna jiným prostředím, její rychlost se zmenšuje. Rychlost šíření lze spočítat pomocí vzorce (2.2), kde ϵ_0 je permitivita vakua, která je přibližně rovna hodnotě $8,854 \cdot 10^{-12} \text{ Fm}^{-1}$, ϵ_r je relativní permitivita (konstanta, která vyjadřuje, kolikrát se zmenší elektrická síla oproti vakuu), μ_0 je permeabilita vakua, která je rovna hodnotě $4 \cdot \pi \cdot 10^{-7} \text{ Hm}^{-1}$ a μ_r je relativní permeabilita

(konstanta, která vyjadřuje, kolikrát se zmenší/zvětší magnetická síla oproti vakuu).

$$c = \frac{1}{\sqrt{\varepsilon_0 \varepsilon_r \mu_0 \mu_r}} \quad (2.2)$$

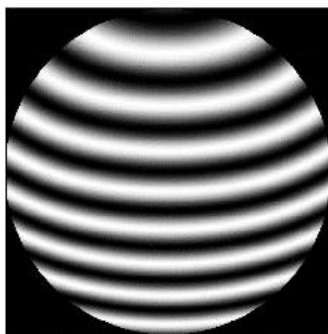
2.2. INTERFERENCE

Jedná se o jev, který nastává ve chvíli, kdy se dvě vlny navzájem střetávají nebo prolínají. Při tomto prolínání nebo střetávání nastávají situace, kdy se tyto vlny navzájem zesilují nebo zeslabují. Tohoto jevu se využívá v holografii a holografické interferometrii.

Výslednou intenzitu v bodě lze spočítat pomocí interferenční rovnice (2.3), kde I_1 a I_2 jsou intenzity vln v daném bodě a úhel $\Delta\varphi$ je úhel, který tyto dvě vlny svírají. Maximální intenzita vzniká, když tyto vlny jsou ve fázi. Naopak nulová intenzita vzniká, když jsou tyto vlny v protifázi.

$$I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Delta\varphi) \quad (2.3)$$

Pomocí tohoto jevu vznikají interferenční obrazce, kde na Obrázku 2-2 je znázorněn příklad, jak může vypadat.



Obrázek 2-2 – Interferenční obrazec

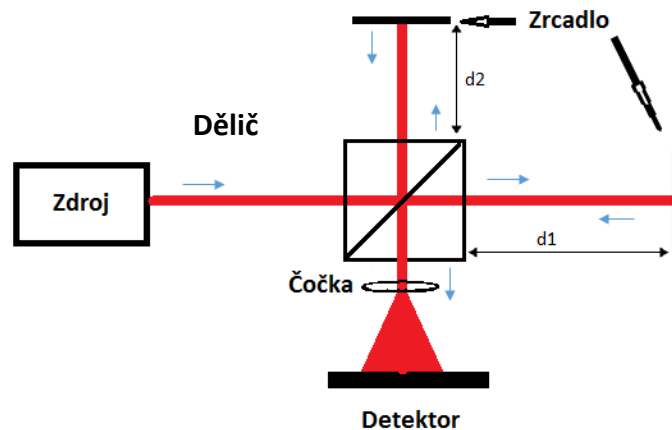
2.3. ČASOVÁ KOHERENCE SVĚTLA

Existují dva typy koherencí, a to časová a prostorová. V interferometrii, kde se používají jako zdroje svazků lasery, je zapotřebí splnit časovou koherenci.

Máme-li elektromagnetickou vlnu v bodě A v čase t a následně v bodě B v čase $t + \Delta t$ a je-li pro libovolný interval Δt rozdíl fází vlny stejný,

lze takovouto vlnu prohlásit za časově koherentní. Tento stav je však jen ideální a nelze ho dosáhnout. Ideálnímu stavu se pouze blíží některé lasery. Je-li rozdíl fáze v krátkém čase nestálý, je vlna nekoherentní (příkladem nekoherentního světla je žárovka).

Změnu časové koherence můžeme sledovat pomocí Michelsonova interferometru, jenž je znázorněn na Obrázku 2-3



Obrázek 2-3 – Michelsonův interferometr

Interferometr se skládá ze zdroje světla (laseru), který vyzařuje paprsek na dělič, kde část vlny se odrazí a druhá část děličem projde. Následně se vlny odrazí na zrcadlech a zpět přes dělič se dostávají na detektor, kde vzniká interferogram (detektorem může být stínítko nebo CCD kamera).

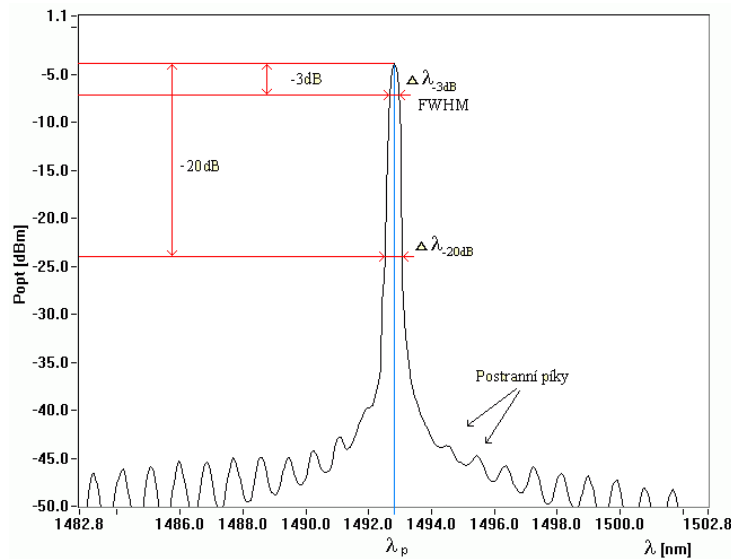
Je-li délka ramen d_1 a d_2 stejná, tak interferenční obrazec má vysoký kontrast, jako je znázorněno na Obrázku 2-2. Začneme-li měnit velikost jednoho ramene, čímž začneme zvyšovat rozdíl délek ramen, tím se začne obrazci snižovat kontrast. Rozdíl délek těchto ramen se nazývá optický dráhový rozdíl ODR. Jeho velikost se počítá pomocí vzorce (2.4)

$$ODR = |2d_1 - 2d_2| \quad (2.4)$$

Aby byl interferenční obrazec vidět, tak nesmí ODR přesáhnout hodnotu koherenční délky L_c . Když tuto délku přesáhne ($ODR > L_c$), tak interferenční obrazec zmizí. Koherenční délku lze spočítat pomocí vztahu (2.5)

$$L_c \approx \frac{\lambda_{cent}^2}{\Delta\lambda} \quad (2.5)$$

kde λ_{cent} je střední hodnota vlnové délky a $\Delta\lambda$ je šířka spektrální čáry ($\Delta\lambda \approx \text{FWHM}$). Tyto veličiny jsou znázorněny na Obrázku 2-4.



Obrázek 2-4 – Šířka spektrální čáry FWHM

Šířka spektrální čáry se odečítá ve chvíli, kdy poklesne optický výkon P_{opt} o 3 dB z maximální hodnoty výkonu. Maximální hodnota optického výkonu je při střední hodnotě vlnové délky spektra λ_{cent} (na obrázku jako λ_p).

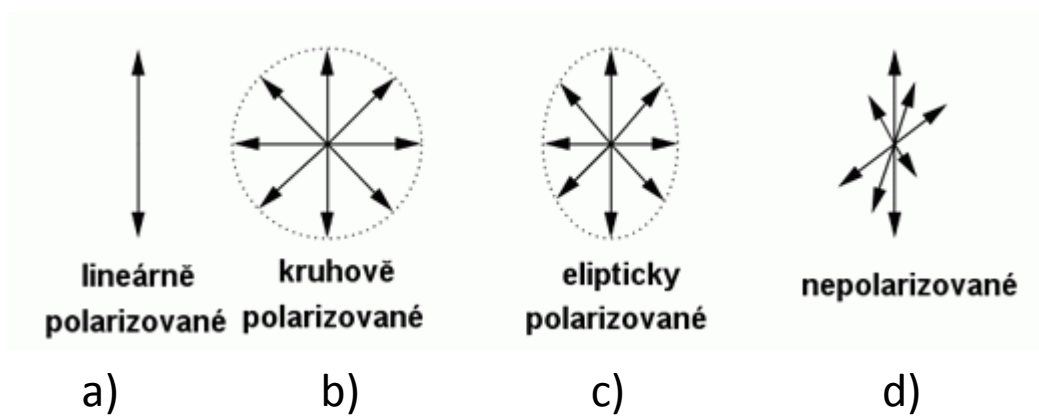
2.4. POLARIZACE SVĚTLA

Polarizace je vlastnost, která udává směr kmitání vektoru elektrického pole \mathbf{E} elektromagnetické vlny. O nepolarizované světlo se jedná, je-li směr kmitání vektoru \mathbf{E} náhodný (viz obrázek 2-5d). Jako nepolarizované světlo se chovají z pravidla tepelné zdroje, což je například sluneční záření nebo žárovka.

Existují tři druhy polarizací, a to polarizace lineární, kruhová a eliptická. O lineární polarizaci se jedná, když vektor \mathbf{E} kmitá pouze v jedné rovině (viz obrázek 2-5a). Když se u vektoru \mathbf{E} mění jeho fáze, ale jeho intenzita zůstává stejná, tak se jedná o polarizaci kruhovou (viz obrázek 2-5b), ale když vektor \mathbf{E} při změně fáze mění i velikost intenzity, tak se jedná o polarizaci eliptickou (viz obrázek 2-5c).

Abychom získali interferenční obrazec, tak nesmějí mít interferující svazky na sebe kolmou polarizaci. Viditelnost interferenčního obrazce je

úměrná $\cos(\alpha)$, kde α je úhel, který svírají polarizace těchto dvou interferenčních svazků. Tedy nejvyšší viditelnost interferenčního obrazce získáme, když tyto vlny mají stejnou polarizaci.



Obrázek 2-5 – Polarizace světelné vlny v osách y a z

3. Holografická interferometrie a digitální holografická interferometrie

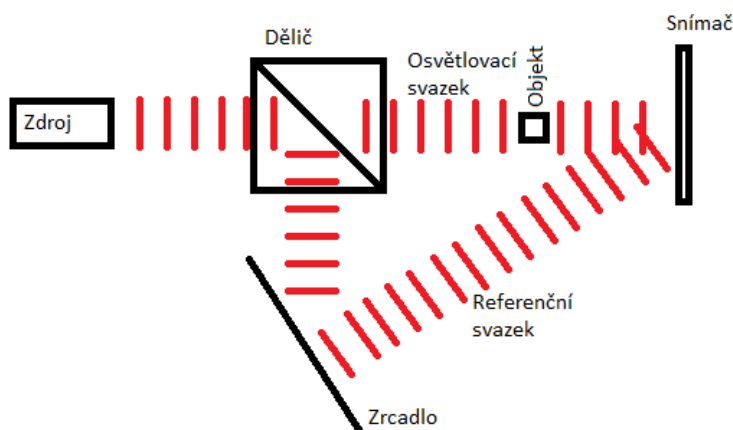
Holografická interferometrie (HI) je kombinací holografie a interferometrie. Holografická interferometrie se využívá ke měření fyzikálních veličin, a to například deformace objektu, amplituda vibrací, změna optické dráhy při šíření plynem nebo kapalinou (lze zjistit index lomu), tvar objektu, teplotní pole objektu a mnoho dalších veličin z oblasti fyziky.

3.1. HOLOGRAFIE

Holografie je z řeckých slov *holos* a *grafie*, kde *holos* znamená úplný a *grafie* záznam, tedy úplný záznam. Holografie je záznam obrazu, který znamená trojrozměrnou strukturu tohoto obrazu.

3.1.1. Záznam hologramu

Ze zdroje je vyslán paprsek, který se na děliči rozdělí na referenční svazek a osvětlovací svazek. Osvětlovací svazek prochází objektem nebo se od něj odráží a následně nese informaci o intenzitě světla a jeho fázi na snímač. Tyto informace však vznikají na snímači díky interferenci s referenčním svazkem na tomto snímači (výsledné dílčí intenzity se chovají dle interferenční rovnice, která je zmíněna v kapitole 2-2). Snímačem může být fotografická deska, čímž se jedná o klasickou holografii. Je-li však použita CCD/CMOS kamera, tak se jedná již o digitální holografii.



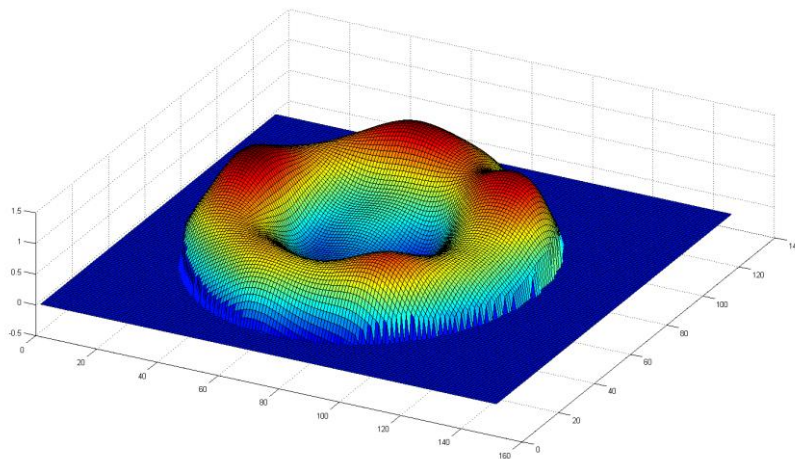
Obrázek 3-1 – Záznam hologramu

3.1.2. Rekonstrukce hologramu (klasická holografie)

Rekonstrukce hologramu probíhá tak, že fotografickou desku osvětlíme koherentním světlem pod stejným úhlem, pod kterým byl objekt zaznamenán. Tímto nám vznikne projekce zaznamenaného objektu, a to tak, že fotografickou deskou projdou jen paprsky, které odpovídají vlastnostem paprsku při záznamu.

3.2. DIGITÁLNÍ HOLOGRAFICKÁ INTERFEROMETRIE

V dnešní době lze již použít digitální holografickou interferometrii (DHI), kdy je struktura hologramu zaznamenána digitálně. Každý stav objektu je zaznamenán do nového hologramu a hologram je následně rekonstruován numericky. Následně lze tedy zjistit fázový rozdíl mezi těmito dvěma hologramy, čímž můžeme například vytvořit 3D obraz měřeného objektu.



Obrázek 3-2 – Topografie krvinky

4. Mikroskopie

Mikroskopie je metoda, která umožňuje, abychom lidským okem pozorovali i velmi malé objekty. Lidské oko je schopno rozeznat strukturu jednotlivých bodů objektů, kde jsou tyto body od sebe vzdáleny 0,2 mm. Jsou-li tyto body od sebe vzdáleny méně než 0,2 mm, potřebujeme mikroskop, abychom tuto strukturu dokázali rozeznat.

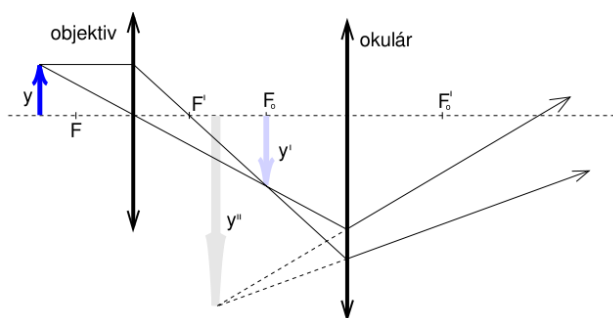
4.1. SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE

Světelnou mikroskopii pozorujeme objekty, které jsou menší než 0,2 mm. Světelné mikroskopy jsou však omezeny svým zvětšením, a to hlavně díky světelnému záření (v našem případě světlo). Těmito mikroskopy lze rozlišit strukturu objektu, kde je vzdálenost mezi dvěma body struktury větší než 200 nm. Tomu tedy odpovídá, že světelné mikroskopy mají zvětšení až 1000×.

Světelné mikroskopy se skládají ze tří hlavních částí, a to z osvětlovací části, objektivu a okuláru. Osvětlovací část slouží k podsvícení pozorovaného objektu.

Objektiv je soustava čoček, která má velmi malou ohniskovou vzdálenost. Tato soustava funguje jako spojná čočka a tedy zobrazuje objekt převrácený, skutečný a zvětšený (viz obrázek 4-1 – tento objekt je znázorněn jako y').

Poslední částí je okulár, což je také soustava čoček, pomocí které pozorujeme objekt. Tato soustava plní v podstatě funkci lupy a objekt je tedy zvětšený, ale je zdánlivý (viz obrázek 4-1 – tento objekt je znázorněn jako y'').



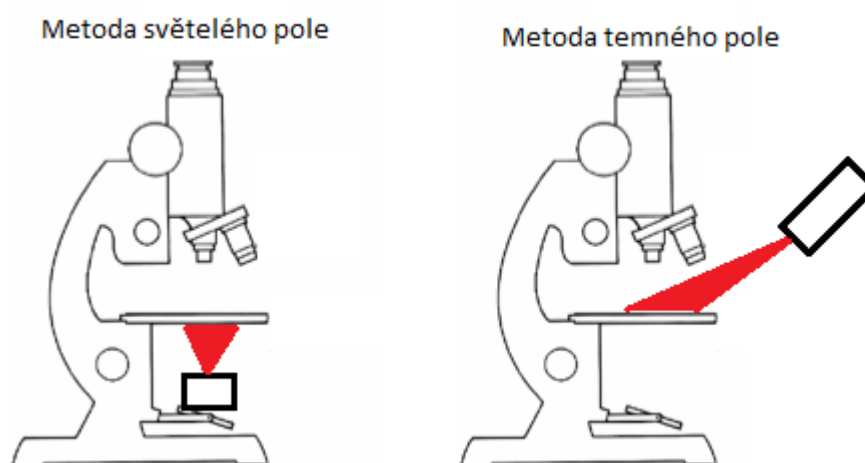
Obrázek 4-1 – Schématické zobrazení světelného mikroskopu

4.1.1. Metoda světlého pole

Tato metoda sestavení mikroskopu je nejstarší a nejjednodušším způsobem jak sestavit světelný mikroskop a proto je velmi oblíbený. Tento objekt je osvětlen z dolní části a proto je vhodný pro objekty, které moc nepohlcují světelné záření. Tento mikroskop lze vidět na Obrázku 4-2 vlevo.

4.1.2. Metoda temného pole

U této metody nedopadá světlo do objektivu, a proto je pozorovaný objekt v temném poli. Při odrazu od objektu se do objektivu odrazí jen minimální část světelných paprsků a zbytek se rozptýlí. Hlavní nevýhodou tohoto způsobu je, že je zapotřebí světelného zdroje o vysokém výkonu pro zvýšení kontrastu obrazu. Tento mikroskop lze vidět na Obrázku 4-2 vpravo.



Obrázek 4-2 – Světelné mikroskopy

4.2. ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE

Chceme-li zvětšit objekt, který je menší než $0,2 \mu\text{m}$, a tedy nelze ho pozorovat ani světelným mikroskopem, tak již potřebujeme pro pozorování tohoto objektu elektronový mikroskop. Elektronový mikroskop funguje na podobném principu jako světelný, ale místo fotonů jsou elektrony a místo čoček jsou použity elektromagnetické čočky (cívka, která vhodně tvaruje magnetické pole).

Elektronový mikroskop dokáže zvětšit menší objekty než světelný mikroskop díky tomu, že elektron má menší vlnovou délku než foton. Zvětšení u těchto mikroskopů může dosahovat až $1\,000\,000\times$.

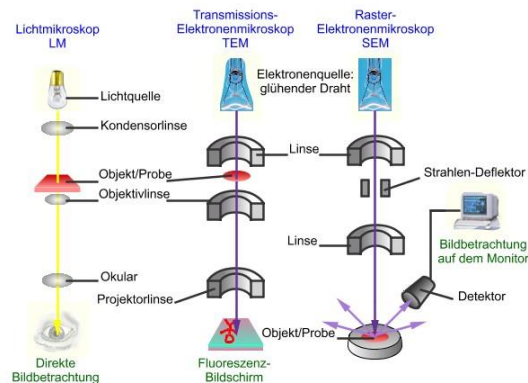
Existuje několik typů elektronových mikroskopů, ale vybral jsem pouze dva z nich. První zmíněný mikroskop byl první vynalezený elektronový mikroskop a druhý je nejvíce rozšířený.

4.2.1. *Transmisní elektronový mikroskop (TEM)*

U tohoto mikroskopu prochází elektrony objektem a následně jsou detekovány. Aby elektrony prošly objektem, tak je u těchto mikroskopů urychlovací napětí 100-400 kV a objekty by měly být velmi tenké 10-500 nm.

4.2.2. *Rastrovací elektronový mikroskop (SEM)*

Tento mikroskop, jak je již patrné z názvu, objekt rastruje takovým způsobem, že elektronový svazek se od objektu odráží řádek po řádku. U tohoto mikroskopu je zrychlovací napětí 0,1-30 kV.



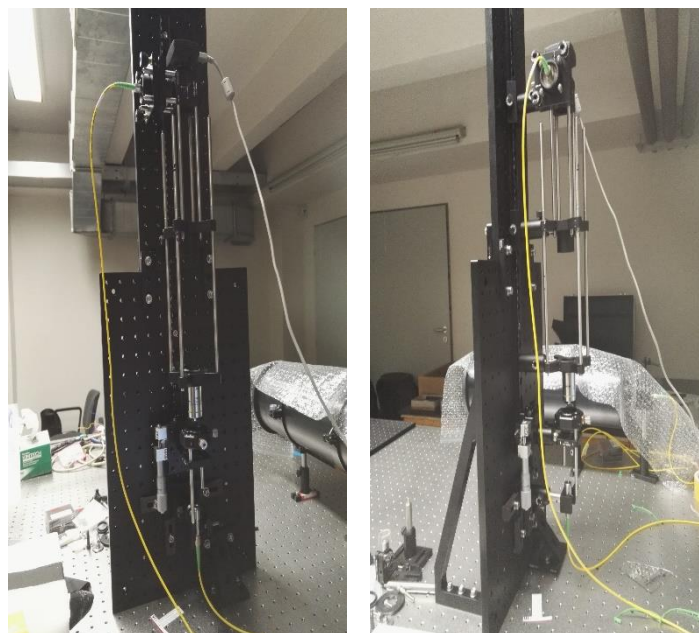
Obrázek 4-3 Druhy mikroskopů

První zleva je světelný mikroskop, který je popsán v kapitole 3.1, dále je transmisní elektronový mikroskop, u kterého elektrony prochází objektem a poslední je rastrovací elektronový mikroskop, který rastruje objekt na zobrazovací jednotku (například monitor).

5. Experimentální část

5.1. DIGITÁLNÍ HOLOGRAFICKÝ MIKROSKOP A JEHO KOMPONENTY

Jak již bylo zmíněno v úvodu, tak tato bakalářská práce se zabývá sestavením digitálního holografického mikroskopu pro měření reflexních prvků. Tento mikroskop jsme však nakonec sestavili jak pro měření reflexních prvků, tak i pro transmisní prvky (Obrázek 5-1).



Obrázek 5-1 – Sestavený digitální holografický mikroskop

Transmisní prvky jsou takové prvky, u kterých se informace přenáší, když světelný svazek tímto prvkem projde. Naopak reflexními prvky se myslí takové prvky, u kterých se informace přenáší při odrazu světelného svazku od prvku.

Tento mikroskop se skládá z několika prvků, které jsou popsány v následujících podkapitolách.

5.1.1. Laserový zdroj ADR-1805

Tento laserový zdroj generuje laserový paprsek o vlnové délce 635 nm, což odpovídá červené barvě. Intenzita tohoto paprsku se mění změnou vstupního napětí. Maximální výkon tohoto laseru jsou 4 mW.



Obrázek 5-2 – Laserový zdroj ADR-1805
 Vlevo je ovládací jednotka, kterou se mění intenzita laserového paprsku a vpravo je laserová jednotka, z které je navedený paprsek to optického vlákna.

5.1.2. Kamera UI-1490LE

Pro snímání hologramu je zapotřebí kamery, která je připojena pomocí USB k počítači. Tato kamera má rozlišení 3840 x 2748, což odpovídá 10,55 MPix. Čip této kamery je vytvořen pomocí technologie CMOS. CMOS technologie se v kamerách začíná vyskytovat stále častěji, než bývalo kdysi.

Výhodou CMOS je, že zpracování obrazu je rychlejší než u čipu s CCD. Oproti CCD má na každém pixelu svůj vlastní tranzistor a výsledný signál je digitální a díky tomu není zapotřebí jako u CCD mít další převodníky. Hlavní výhody CMOS oproti CCD jsou rychlejší zpracování obrazu a energetická úspornost. Jejich výroba je snazší, čímž jsou i levnější.



Obrázek 5-3 – Kamera UI-1490LE od firmy IDS

5.1.3. Objektiv

Na tomto mikroskopu jsme používali dva objektivy. První byl o zvětšení $4\times$ a druhý $20\times$. Oba objektivy jsou od firmy Olympus, a to typy RMS4X a RMS20X. Pracovní vzdálenost objektivu RMS4X je 18,5 mm. Dále efektivní ohnisková vzdálenost je rovna 45 mm, numerická apertura je 0,1 a zvětšení je $4\times$.

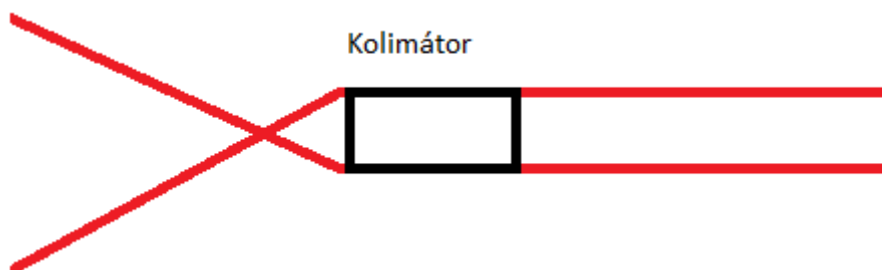
U objektivu RMS20X je pracovní vzdálenost oproti předchozímu objektivu daleko menší, a to 1,2 mm. Efektivní ohnisková vzdálenost je opět menší než u RMS4X, a to o 9 mm, což znamená, že ohnisková vzdálenost tohoto objektivu je 36 mm a numerická apertura je čtyři krát větší, čili je rovna 0,4. Tento objektiv má zvětšení $20\times$, jak je již známo z názvu.



Obrázek 5-4 – Objektivy Olympus
a)RMS4X b) RMS20X

5.1.4. Kolimátor

Kolimátor je soustava čoček, která z rozbíhavého nebo sbíhavého optického svazku udělá paprsek kolimovaný, tedy svazek, což znamená, že jednotlivé paprsky jsou na sebe rovnoběžné.



Obrázek 5-5 – Kolimace svazku pomocí kolimátoru

5.1.5. Čočka *field lens*

Tato čočka slouží v sestaveném mikroskopu pro zaostření obrazu na čip kamery. Vzhledem k použití objektivu s korekcí na nekonečno je vzdálenost mezi čočkou a kamerou, která je přidělána k děliči, fixní.



Obrázek 5-6 – Čočka *field lens*

5.1.6. Optický dělič (*Pellicle mirror*)

Tento dělič je vyroben z velmi tenkého skla místo skleněné kostky. Na skleněné kostce oproti tomuto děliči vznikají nechtěné odrazy, což jsme zjistili i během sestavování mikroskopu.



Obrázek 5-7 – Optický dělič (*Pellicle*)

5.1.7. Optické vlákno

V této práci jsme z důvodu co největší úspory místa a jednodušší manipulaci jsme využili přivedení referenční vlny a objektové vlny optické vlákno. V praxi se vyskytují dva druhy optických vláken, a to jednovidová (single mod) a mnohovidová (multi mod). Pro interferenci se využívají jednovidová optická vlákna a to proto, že mají lepší přenosové vlastnosti. Tento přenos je lepší z důvodu, že tato vlákna mají velmi malý průměr jádra (až 8,6 μm), čímž se paprsek uvnitř jádra odráží pod menším úhlem.

K laseru je připojen vláknový optický dělič, který dělí intenzitu paprsku v poměru 75 % ku 25 % a tyto rozdělené vlny jsou přivedeny k mikroskopu jako objektová a referenční vlna.



Obrázek 5-8 – Jednovidové optické vlákno

5.2. DIGITÁLNÍ HOLOGRAFICKÁ MIKROSKOPIE

Digitální holografická mikroskopie je mikroskopie, ve které lze měřit objekt ve všech osách a tedy i v ose Z , kterou v klasické mikroskopii nedokážeme změřit, a to díky měření fáze. Po zpracování počítačem, lze vytvořit zvětšený 3D objekt.

Pro zpracování objektu u našeho mikroskopu používáme off-line ostření. Díky off-line ostření nám stačí zaznamenat pouze jeden snímek objektu a následně lze ostatní roviny objektu numericky fokusovat.

Toto ostření probíhá pomocí řešení difrakční úlohy, neboť digitální hologram považovat za difrakční mřížky. Řešení difrakční úlohy je popsáno ve skriptech *Digitální holografická interferometrie* od kolektivu autorů (Vít Lédl, Pavel Psota, Petr Vojtíšek a Roman Doleček) a výsledkem je vzorec 5.1,

$$U(x, y, z) = \frac{j}{z\lambda} * e^{\left(-\frac{j\pi}{\lambda z}[x^2+y^2]\right)} \times \mathfrak{F}\left\{U_d h(x_0, y_0, 0) e^{\left(-\frac{j\pi}{\lambda z}[x_0^2+y_0^2]\right)}\right\} \quad (5.1)$$

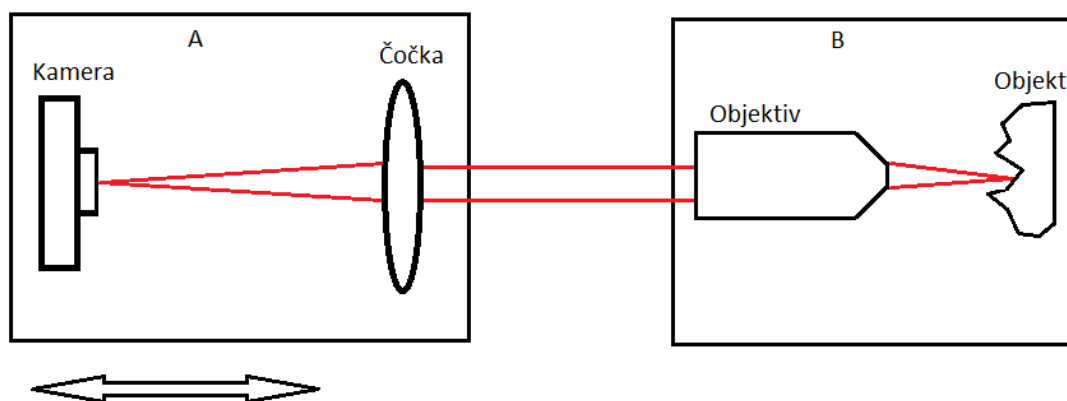
kde U je komplexní amplituda rekonstruovaného pole ve vzdálenosti z , λ je vlnová délka světla, h reprezentuje digitální hologram a U_d je rekonstrukční vlna.

5.3. DIGITÁLNÍ HOLOGRAFICKÝ MIKROSKOP PRO MĚŘENÍ REFLEXNÍCH PRVKŮ

Tento mikroskop jsme nejprve stavěli podle schématu na Obrázku 5-10a, ale tímto způsobem to nebylo úplně ideální z důvodu, že referenční vlna se špatně kolimovala a vznikalo zde více ztrát. Proto jsme mikroskop předělali podle schématu, které je znázorněno na Obrázku 5-10b.

Hlavním rozdílem v nově sestaveném mikroskopu je čočka field lens, čímž z digitálního holografického mikroskopu můžeme udělat zakrytím referenční vlny mikroskop světelný.

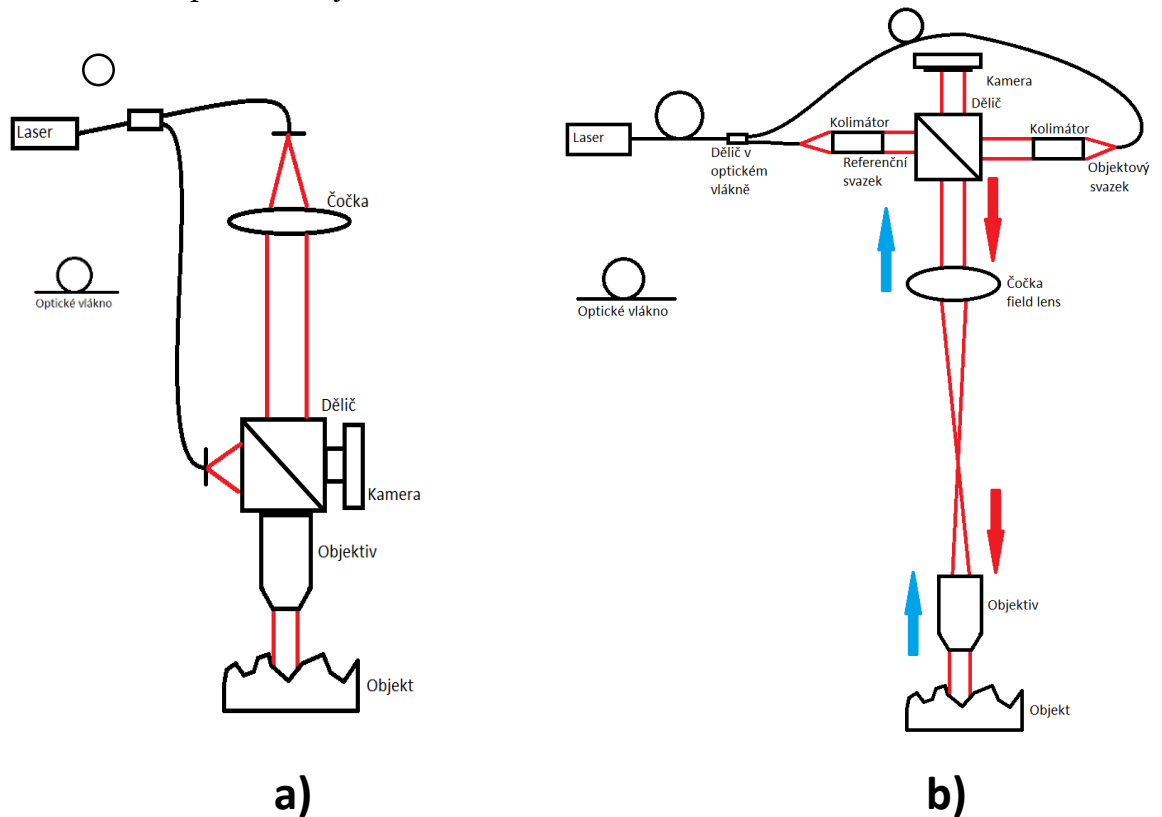
Mikroskop je sestaven v uspořádání s korekcí na nekonečno (viz Obrázek 5-9). Vzájemná poloha částí A a B neovlivňuje zaostření obrazu na čipu kamery. Při změně objektivu tak lze vhodnou vzdáleností zajistit dopad kolimované vlny na detektor, což je žádoucí vzhledem ke kolimované referenční vlně.



Obrázek 5-9 – Objektiv s korekcí na nekonečno

Na Obrázku 5-10b je znázorněn i směr šíření objektové vlny. Vlna se v děliči odrazí směrem k objektu a prochází nejprve čočkou field lens, následně objektivem se kolimovaná vlna dostává k objektu. Trasa vlny k objektu je na obrázku znázorněna červenými šipkami. Cesta od objektu je zakreslena pomocí modrých šipek.

Odražená vlna od objektu prochází opět objektivem, který udělá vlnu sbíhavou. Tato vlna se na čočce opět kolimuje a přes dělič se ke kameře dostává informace o podobě objektu.



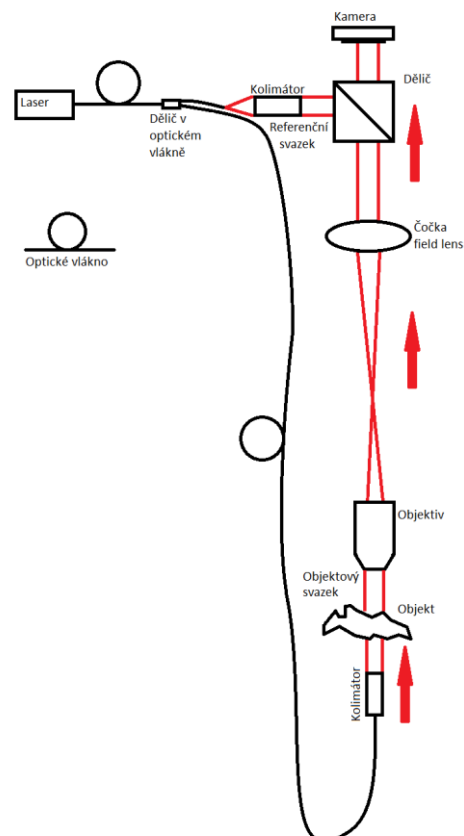
Obrázek 5-10 – Schémata digitálního holografického mikroskopu pro měření reflexních prvků
a) špatně zvolené sestavení mikroskopu
b) finální verze mikroskopu

Tento způsob sestavení tohoto mikroskopu se dá přirovnat principiálně světelnému mikroskopu s tmavým polem. Však není vhodný pro transmisní prvky z důvodu, že paprsek se od nich špatně odráží, jelikož mají nízkou odrazivost.

5.4. DIGITÁLNÍ HOLOGRAFICKÝ MIKROSKOP PRO MĚŘENÍ TRANSMISNÍCH PRVKŮ

Modifikace mikroskopu pro měření transmisních prvků již nebyla obtížná, a to z toho důvodu, protože tento mikroskop je téměř totožný mikroskopu z předchozí kapitoly. Jediná změna nastává u objektové vlny, která není přivedena do děliče, ale pod měřený objekt.

Na Obrázku 5-11 je znázorněno principiální schéma transmisního mikroskopu. Červenými šipkami je znázorněn směr paprsku, kterým se šíří. Po kolimaci objektové vlny prochází objektem a následně přes objektiv, kde se z vlny stává sbíhavá. Tato vlna se na čočce field lens opět kolimuje a informace o objektu je zaostřena na kameru.



Obrázek 5-11 – Schéma digitálního holografického mikroskopu pro měření transmisních prvků

Sestavení tohoto mikroskopu odpovídá světelnému mikroskopu se světelným polem. U tohoto mikroskopu nelze měřit reflexní prvky, a to z důvodu, že paprsek se odrazí do prostoru mimo mikroskop.

6. Měření a vyhodnocení

Po sestavení mikroskopu pro měření reflexních a transmisních prvků byl mikroskop testován na vzorku různých objektů. Prvním objektem byla destička USAF, kterou se měří rozlišovací schopnost mikroskopu. Tato destička vznikla v roce 1951 pro letectvo spojených států, pro měření rozlišení kamer, mikroskopů a scannerů obrazu.

Tato destička je rozdělena do několika tříd, kde jsou různě veliké obdélníky. Velikost jednotlivých obdélníků jsou vypsány v tabulce 1 a na obrázku 6-1 je názorná ukázka této destičky

Tabulka 1 – USAF rozměry jednotlivých obdélníků, dle daných tříd [1]

Width of 1 line in micrometers in USAF Resolving Power Test Target 1951												
Group Number												
Element	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2000,00	1000,00	500,00	250,00	125,00	62,50	31,25	15,63	7,81	3,91	1,95	0,98
2	1781,80	890,90	445,45	222,72	111,36	55,68	27,84	13,92	6,96	3,48	1,74	0,87
3	1587,40	793,70	396,85	198,43	99,21	49,61	24,80	12,40	6,20	3,10	1,55	0,78
4	1414,21	707,11	353,55	176,78	88,39	44,19	22,10	11,05	5,52	2,76	1,38	0,69
5	1259,92	629,96	314,98	157,49	78,75	39,37	19,69	9,84	4,92	2,46	1,23	0,62
6	1122,46	561,23	280,62	140,31	70,15	35,08	17,54	8,77	4,38	2,19	1,10	0,55



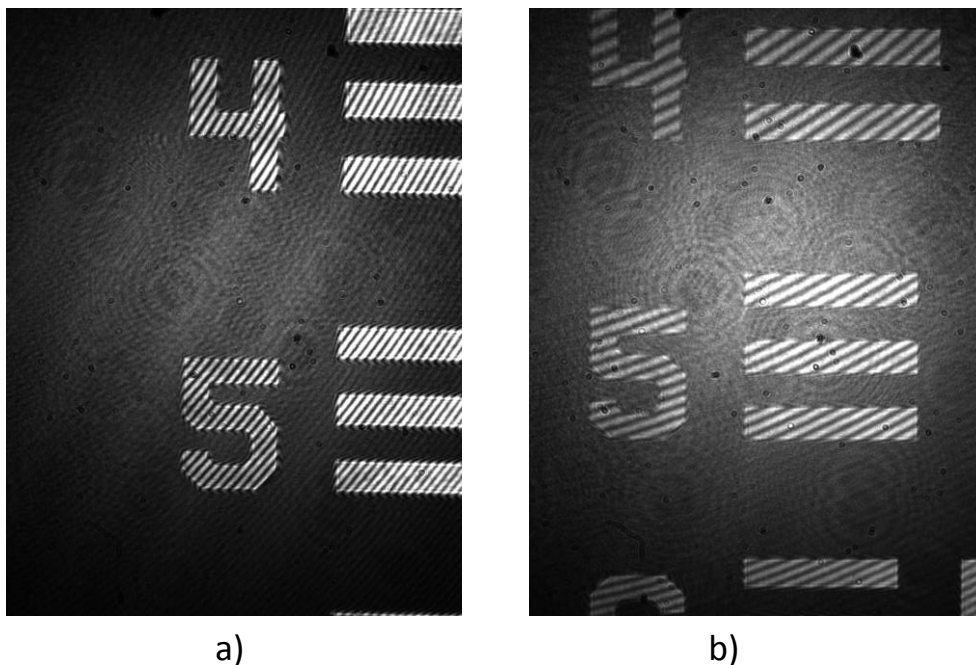
Obrázek 6-1 –Destička USAF pro měření rozlišovací schopnosti

V tabulce je nejmenší třída 9, ale my jsme měli USAF s nejmenší třídou 7.

Na Obrázcích 6-2a a 6-2b lze vidět zaostřenou třídu 2 na USAF. Rozdílem v těchto dvou obrázcích je jiná perioda interferenční struktury (Λ), která se mění pomocí úhlu (θ), který mezi sebou svírají objektová a referenční vlna. Tuto periodu lze spočítat pomocí vzorce 6.1.

$$\Lambda = \frac{\lambda}{2n \sin(\theta)} \quad (6.1)$$

Jelikož se vlny pohybují ve vzduchu, tak lze ve vzorci vynechat index lomu (n), protože je roven 1.



Obrázek 6-2 – Interferenční proužky na destičce USAF
Rozdílem těchto dvou obrázků je různá perioda interferenční struktury, což je způsobeno rozdílným úhlem, který mezi sebou svírá referenční a objektová vlna.

Malá perioda interferenční struktury ukazuje, že se jedná o off-axis (mi-mosovou) digitální holografii, což je digitální uspořádání, kde referenční a objektový svazek mezi sebou svírají úhel. Hologram je difrakční mřížka přirozeně obsahující difrakční řády. Toto lze pozorovat ve spektru hologramu (viz Obrázek 6-4), kde se vyskytuje nultý, první a mínus první řád. Odstup mezi prvním a nultým řádem lze měnit pomocí změny úhlu mezi referenčním a objektovým svazkem. Čím je úhel mezi svazky vyšší, tím je i úhel mezi řády větší (viz Obrázek 6-2 a Obrázek 6-4).

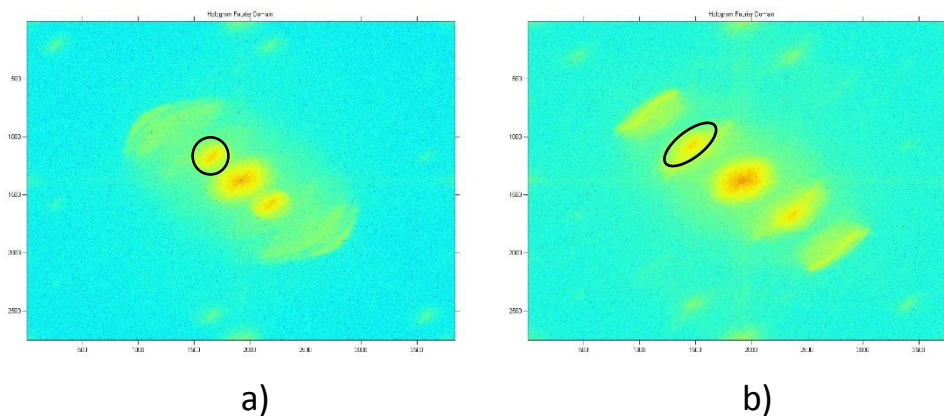
6.1.REKONSTRUKCE OBJEKTU

Pro rekonstrukci měřeného objektu se používá Fourierovy transformace. Po zaznamenání informace o objektu na kameře (viz Obrázek 6-3) je zapotřebí provést rekonstrukci Fourierovou transformací, kterou provádí počítač. Pro tuto rekonstrukci, však je zapotřebí udělat několik kroků.



Obrázek 6-3 – Včelí křídlo

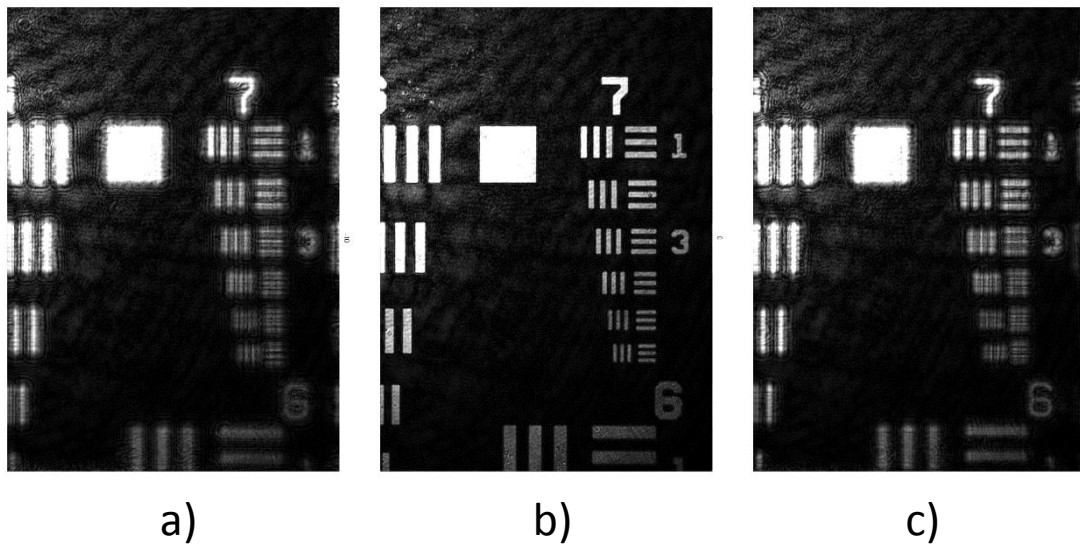
V prvním kroce po provedení FFT (rychlá Fourierova transformace) se na obrazovce počítače zobrazí spektrum digitálního obrazce. Na Obrázku 6-4a a Obrázku 6-4b je spektrum digitálního hologramu s různým úhlem mezi referenční a objektovou vlnou. Lze vidět, že se řády s rostoucím úhlem více separují.



Obrázek 6-4 – Spektrum digitálního hologramu

Pro rekonstrukci se využívá pouze informace náležející prvnímu řádu a následně probíhá vymaskování a posunutí tohoto obrazce na střed. Následně provádí počítač IFFT (inverzní rychlá Fourierova transformace) a dostáváme komplexní pole. Toto komplexní pole lze přeastřit (viz Obrázek 6-5)

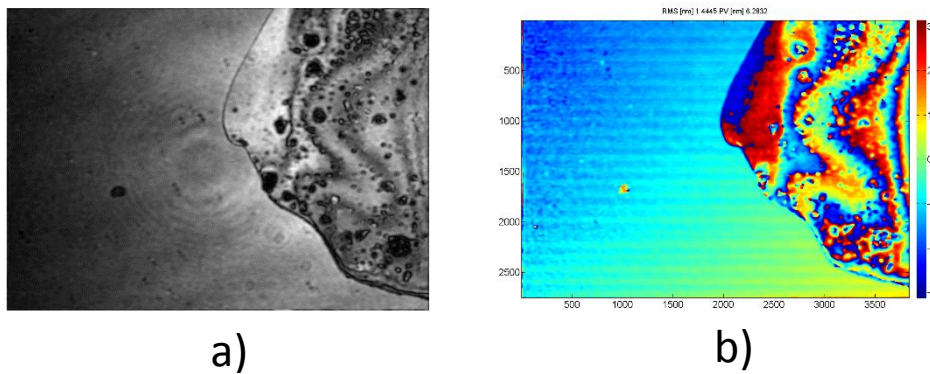
a pomocí vztahů 6.2 a 6.3 z výsledného komplexního pole získáváme jeho intenzitu a fázi (viz obrázek 6-6).



Obrázek 6-5 – Numerické ostření objektu
a) Numericky zaostřeno do $-10\ \mu\text{m}$
b) Zaostřený objekt
c) Numericky zaostřeno do $+10\ \mu\text{m}$

$$I = U_{Re}^2 + U_{Im}^2 \quad (6.2)$$

$$\varphi = \text{tg} \frac{U_{Im}}{U_{Re}} \quad (6.3)$$

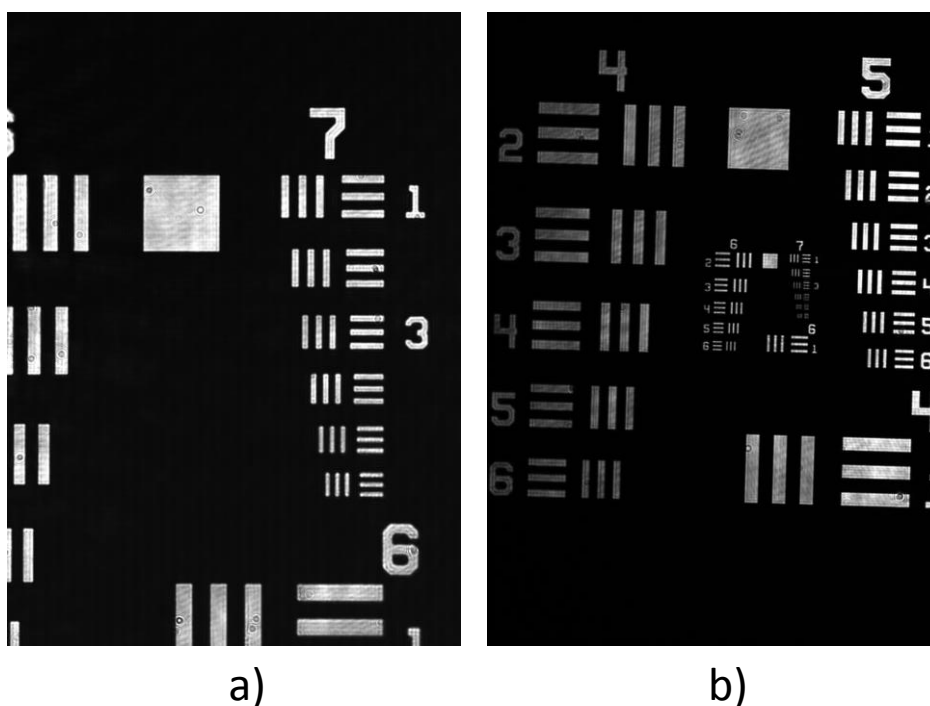


Obrázek 6-6 – Intenzita a fáze měřeného objektu
a) Pole s intenzitou objektu
b) fázové pole objektu

6.2. DESTIČKA USAF

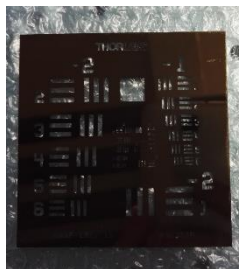
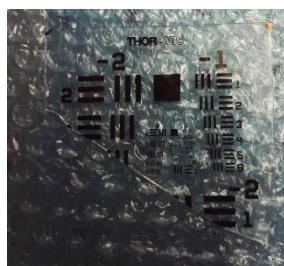
Pomocí mikroskopu, když byl použit objektiv se zvětšením 20×, jsme rozlišili nejmenší třídu 7, a tedy můžeme říct, že dokážeme určitě pomocí tohoto mikroskopu rozlišit objekty, které jsou velké 2,19 μm (viz Obrázek 6-7a).

Při použití objektivu se zvětšením 4× jsme schopni rozlišit tvar objektu, které jsou velké 4,38 μm (viz Obrázek 6-7b).



Obrázek 6-7 – Rozlišovací schopnost na destičce USAF

Jak již bylo zmíněno výše, USAF je destička pro zjištění rozlišení. Použili jsme dva typy USAF, a to transmisní a reflektivní. Rozdíl v těchto destičkách je vidět na Obrázcích 6-8, kde vlevo je USAF, na kterém se vlna odráží na obdélnících a vpravo těmito obdélníky vlna prochází.



a)

b)

Obrázek 6-8 – Použité destičky USAF

Jelikož jsme naměřili destičku USAF ve třídě 2, konkrétně na element 5, u kterého víme, že šířka jednoho obdélníku je 78,75 μm , tak můžeme dopočítat zorné pole tohoto mikroskopu a porovnat ho s teoretickým zorným polem pomocí vzorce 6.4. Pro objektiv RMS4X je zorné pole 1,66 x 1,22 mm a pro RMS20X je zorné pole rovno 331 x 234 μm .

$$\text{Zorné pole} = \frac{\text{Šířka čipu kamery}}{\text{Zvětšení mikroskopu}} \times \frac{\text{Výška čipu kamery}}{\text{Zvětšení mikroskopu}} \quad (6.4)$$

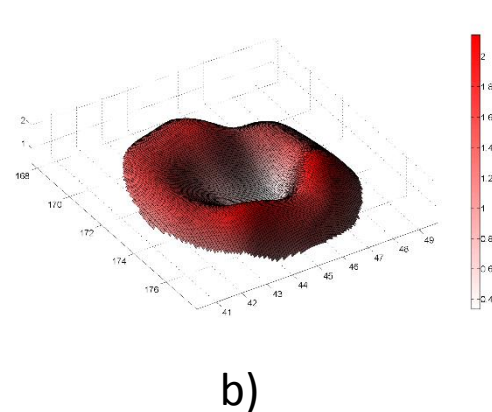
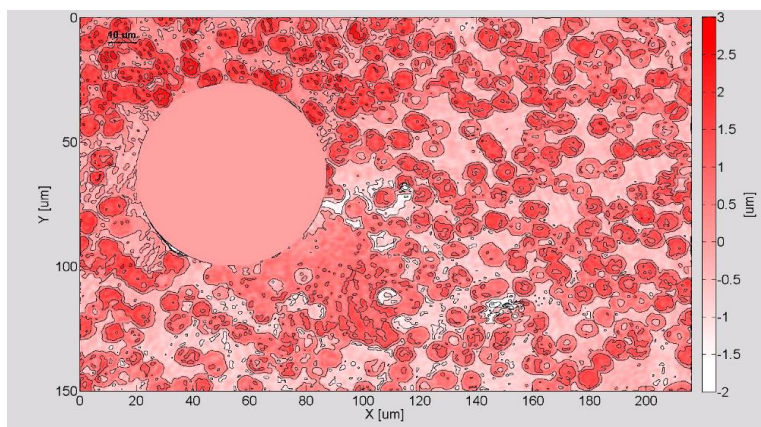
Po dosazení hodnot do vzorce, kde šířka x výška čipu kamery je rovna 6413 x 4590 μm , tak nám vyjde, že zorné pole pro objektiv RMS4X je 1,6 x 1,1 mm a pro RMS20X vyšla 320 x 230 μm .

Když tyto hodnoty porovnáme tak pro objektiv RMS20X je reálná i teoretická hodnota zorného pole téměř shodná a pro RMS4X se zanedbatelně liší.

6.3.VZOREK LIDSKÉ KRVE

Během měření jsme použili i vzorek krve, který je transmisní a měřili jsme ho pomocí objektivu se zvětšením 20 \times . Na Obrázku 6-9a lze vidět vzorek krve, na kterém je stovka krvinek, které se pohybovali okolo vzduchové bubliny, která vznikla mezi krycím a podložním sklíčkem.

Dále pomocí programu MATLAB jsme vybrali pouze jednu krvineku a zobrazili ji ve 3D (viz Obrázek 6-9b). Krvinka je válcovitého tvaru s rozměry přibližně 8 μm a její výškou 2 μm , což odpovídá údajům, které jsou zmíněné i na internetové stránce www.moje-krev.cz/cervene-krvinky/.

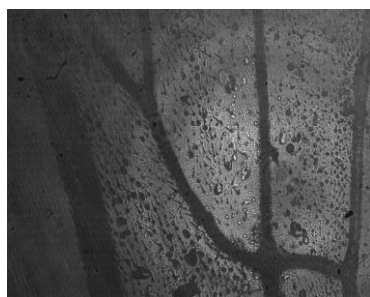


a)

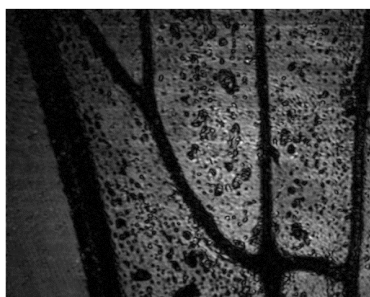
Obrázek 6-9 – Červené krvinky (všechny jednotky jsou v μm)
 a) červené krvinky ve vzorku krve
 b) 3D model červené krvinky

6.4. VZOREK VČELÍHO KŘÍDLA

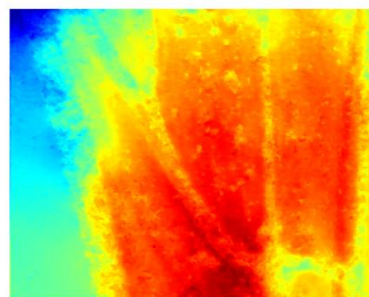
Dalším transmisním prvkem je vzorek včelího křídla, který byl zobrazen se zvětšením 4 \times .



a)



b)



c)

Obrázek 6-10 – Včelí křídlo
 a) Hologram včelího křídla
 b) Intenzita
 c) Topografie křídla

6.5. VZOREK CIBULE

Dalším transmisním prvkem jsou buňky obsažené v tkáni cibule, které jsou velmi podobné struktuře včelího křídla, ale jsou mnohem menší a proto jsme je pozorovali pomocí objektivu se zvětšením 20 \times (viz Obrázek 6-11).



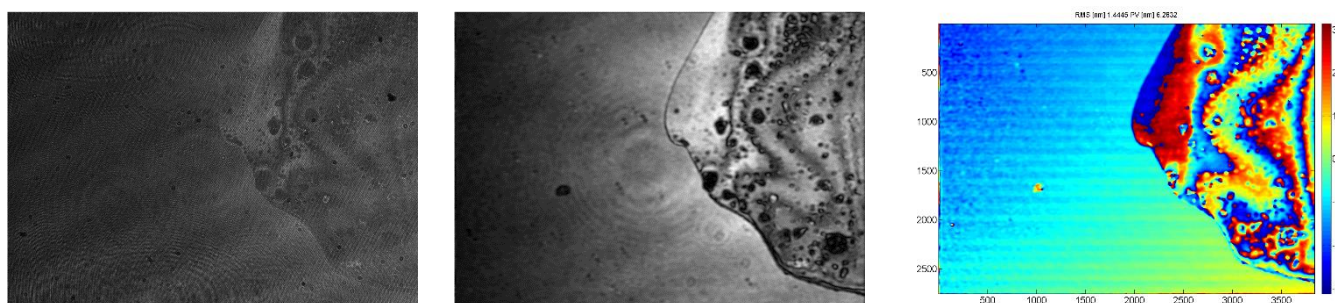
a)

b)

c)

Obrázek 6-11 – Buňky tkáně cibule
 a) Hologram buněk tkáně cibule
 b) Intenzita
 c) Topografie buněk tkáně cibule

6.6. VZOREK NÁPLNĚ PERMANENTNÍHO POPISOVAČE NA DESTIČCE A VRYP
 Jako reflexní prvek jsme pozorovali náplň permanentního popisovače (viz Obrázek 6-12) a vrypu (viz Obrázek 6-13), které byly na destičce.

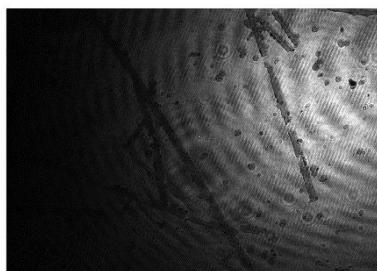


a)

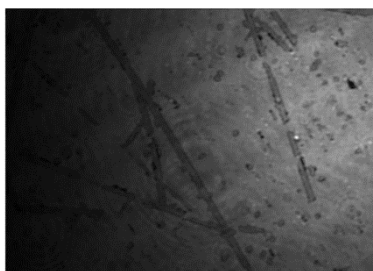
b)

c)

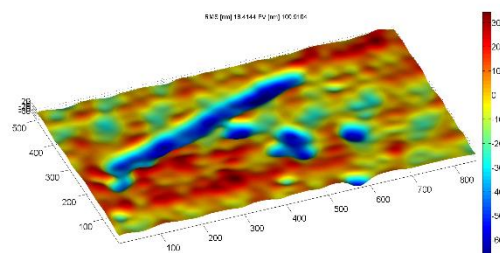
Obrázek 6-12 – Náplň z permanentního popisovače
 a) Hologram náplně
 b) Intenzita
 c) Fáze náplně



a)



b)



c)

Obrázek 6-13 – Vrypy v destičce
a) Hologram vrypů
b) Intenzita
c) 3D model topografie vrypu

7. Závěr

V této práci jsou popsány základní principy digitálního holografického mikroskopu a následně popsáno jeho složení. Původně byl mikroskop určen pouze pro měření reflexních prvků, ale po dodělání menší modifikace, a to přidání jednoho kolimátoru pod měřené objekty, bylo možné pozorovat i transmisní prvky.

Digitální holografický mikroskop má oproti světelným mikroskopům několik výhod. První výhodou je, že po zaznamenání jediného hologramu můžeme přeostržit numericky na libovolnou rovinu objektu. Další výhodou je měření fáze objektu, díky které lze zjistit topografie měřeného prvku. Proto měřené objekty můžeme zrekonstruovat i do 3D.

Pomocí digitálního holografického mikroskopu nedokážeme, jako u světelných mikroskopů, pozorovat objekty, které jsou menší než polovina vlnové délky použitého laseru. U tohoto mikroskopu je použit laser o vlnové délce 635 nm, čímž nejmenší objekt, který jsme mohli pozorovat, musel mít minimálně 317,5 nm. Vlnová délka není však jediné omezení pro maximální rozlišovací schopnost mikroskopu. Tímto omezením je ještě veškerá použitá optika, ale hlavně použitý objektiv. V našem případě měl objektiv zvětšení 20× a jeho rozlišovací schopnost pro ostrost objektu byla lepší než 2,19 μm .

Mikroskop byl již ze začátku sestavován na principu off-axis (mimosové) digitální holografie, díky které se dá snižovat nebo zvyšovat perioda interferenční struktury a tím i zvýšit/snížit úhle mezi prvním a nultým řádem difrakční mřížky. První mikroskop byl však přestaven na nový, který využíval korekce na nekonečno, která je vhodná například při výměně objektivu.

Funkčnost sestaveného mikroskopu byla otestována na celé řadě vzorků.

Použitá literatura

[1] 1951 USAF resolution test chart. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-04-30]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/1951_USAF_resolution_test_chart

Mikroskopické metody. *WikiSkripta* [online]. 2008- [cit. 2017-04-23]. ISSN 18046517. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Mikroskopické_metody&oldid=335616

DOLEČEK, Roman, Vít LÉDL, Pavel PSOTA a Petr VOJTÍŠEK. *Digitální holografická interferometrie: Digital holographic interferometry*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2015. ISBN 978-80-7494-241-9.

Spektra a koherence [online]. Praha: Fyzikální ústav UK, 2013 [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: http://fu.mff.cuni.cz/semicond/files/courses/Spektra_a_koherence_1.pdf

Koherence záření [online]. Brno: Vysoké Učení Technické v Brně [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <http://ottp.fme.vutbr.cz/~pavelek/optika/0206.htm>

Koherence (vlnění). In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Koherence_\(vln%C4%9Bn%C3%AD\)](https://cs.wikipedia.org/wiki/Koherence_(vln%C4%9Bn%C3%AD))

Myprovas.cz [online]. [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: <http://www.myprovas.cz/blog/jaky-je-rozdil-mezi-ccd-a-cmos/>

Thorlabs.com [online]. [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=2922

Použité obrázky

Obrázek 2-1 [online]. In: . [cit. 2017-03-16]. Dostupné z: <http://www.creativeplanet-network.com/sites/default/files/images/04Learn-DV101-IRFilter-1.jpg>

Obrázek 2-2 [online]. In: . [cit. 2017-04-23]. Dostupné z: http://www.ceravolo.com/images/sphere_hindle.jpg

Obrázek 2-4 [online]. In: . [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: <http://www.elektrorevue.cz/clanky/02023/DFBspektrum.gif>

Obrázek 2-5 [online]. In: . [cit. 2017-04-23]. Dostupné z: http://edu.techmania.cz/sites/default/files/styles/extra_large/public/podrobnosti/insert/32.gif?itok=bnWbHuqu

Obrázek 4-1 [online]. In: . [cit. 2017-04-23]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Opticke_zobrazeni_mikroskop.svg

Obrázek 4-2 [online]. In: . [cit. 2017-04-23]. Dostupné z: http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/width/600/height/450/vsc/de/ch/8/bc/proteindynamik/bild/lm_tem_sem4.svg.jpg

Obrázek 5-2 [online]. In: . [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: <https://en.ids-imagining.com/store/media/catalog/product/cache/2/image/795x795/9df78eab33525d08d6e5fb8d27136e95/c/a/camera-usb2-ueye-lehoused-1.jpg>

Obrázek 5-3a [online]. In: . [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: <https://www.thorlabs.com/images/xlarge/TTN088608-xl.jpg>

Obrázek 5-3b [online]. In: . [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: <https://www.thorlabs.com/images/xlarge/TTN088613-xl.jpg>

Obrázek 5-5 [online]. In: . [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: <https://www.thorlabs.com/images/xlarge/21248-xl.jpg>

Obrázek 5-6 [online]. In: . [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: <https://www.thorlabs.de/images/large/20400-lrg.jpg>

Obrázek 5-7 [online]. In: . [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: https://www.thorlabs.com/Images/GuideImages/7999_MIR_SnglModFluorideFiber_5.jpg

Obrázek 6-1 [online]. In: . [cit. 2017-04-30]. Dostupné z: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d6/1951usaf_test_target.jpg