

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

BAKALÁRSKA PRÁCA

Digitálna holografická mikroskopia so
Sagnacovým interferometrom



Katedra optiky

Vypracoval: **Rastislav Imrich Švihra**

Vedúci bakalárskej práce: **Mgr. Jaromír Běhal**

Študijný program: B1701 – Fyzika

Študijný odbor: Digitální a přístrojová optika

Forma štúdia: prezenčná

Rok odovzdania: 2018

Prehlásenie

Prehlasujem, že som bakalársku prácu spracoval samostatne pod vedením pána Mgr. Jaromíra Běhala a všetky použité zdroje som uviedol v zozname literatúry.

V Olomouci dňa

.....

podpis

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKÁCIA

Autor: Rastislav Imrich Švihra

Názov práce: Digitálna holografická mikroskopia so Sagnacovým interferometrom

Typ práce: Bakalárska práca

Pracovisko: Katedra optiky

Vedúci práce: Mgr. Jaromír Běhal

Rok obhajoby práce: 2018

Abstrakt: Náplňou prezentovanej práce je teoretický popis a experimentálne overenie činnosti digitálneho holografického mikroskopu so zabudovaným Sagnacovým interferometrom. V práci sú odvodené základné vzťahy pre správny záznam a rekonštrukciu hologramu v mimoosovej geometrii. Ďalej je diskutované využitie referenčného hologramu bez prítomnosti vzorku pre kompenzáciu nežiadúcich fázových deformácií pri holografickej rekonštrukcii. V experimentálnej časti práce sú vyhodnotené časové stability Sagnacovho a Mach-Zehnderovho holografického mikroskopu s rovnakými zobrazovacími parametrami so zistením, že Sagnacov interferometer je rádovo stabilnejší. Využitelnosť metódy je demonštrovaná na rozlišovacom čiarovom teste a vybraných biologických vzorkoch.

Kľúčové slová: Digitálna holografická mikroskopia, Sagnacov interferometer, Mach-Zehnderov interferometer, Kompenzácia aberácií

Počet strán: 34

Jazyk: slovenský

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

Author: Rastislav Imrich Švihra

Title: Digital holographic microscopy with Sagnac interferometer

Type of thesis: Bachelor's

Department: Department of Optics

Supervisor: Mgr. Jaromír Běhal

The year of presentation: 2018

Abstract: The primary goal of the presented thesis is to prove the working principle of a digital holographic microscope with built-in Sagnac interferometer. The fundamental relations for accurate recording and reconstruction of the hologram in off-axis geometry are derived. Additionally, the use of a reference hologram recorded without the sample for compensation of unwanted phase deformations during the holographic reconstruction is discussed. In the experimental part of the thesis, the time stability of Sagnac and Mach-Zehnder holographic microscopes with the same imaging parameters is evaluated, finding that the Sagnac interferometer is orderly more stable. Usability of the method is demonstrated on the resolution target and selected biological samples.

Key words: Digital holographic microscopy, Sagnac interferometer, Mach-Zehnder interferometer, Aberration compensation

Number of pages: 34

Language: Slovak

Pod'akovanie

Na tomto mieste by som chcel poďakovať predovšetkým pánovi Mgr. Jaromírovi Běhalovi za všetku pomoc, ústretovosť a dostatok trpezlivosti pri vedení tejto bakalárskej práce.

Obsah

Úvod	7
1 Holografia	9
1.1 Základné delenie holografie	10
1.2 Záznam a rekonštrukcia hologramu	12
1.3 Mimoosová holografia s Mach-Zehnderovým a Sagnacovým interferometrom	15
1.4 Korekcia holografického záznamu	18
1.5 Interferencia vln v Sagnacovom interferometri	19
1.6 Optický mikroskop s tubusovou šošovkou	21
2 Experimentálne merania	22
2.1 Rekonštrukcia digitálnych holografických záznamov	25
2.2 Meranie stability interferometrov	27
2.3 Experimentálne hologramy	29
2.3.1 Čiarový test	29
2.3.2 Fázové objekty	30
Záver	34
Literatúra	34

Úvod

Optická mikroskopia je metóda vhodná pre neinvazívne pozorovanie malých objektov. Pri zobrazovaní slabo absorbujúcich predmetov, napríklad biologických vzorkov, je však kontrast v obrazovej rovine výrazne degradovaný. Tento problém je možné obísť zafarbením vzorku, čo ale zároveň vedie k zmene jeho fyzikálne - chemických vlastností. Zobrazovanie priehľadných vzorkov bez nutnosti ich predchádzajúceho zafarebenia elegantne rieši digitálna holografická mikroskopia umožňujúca rekonštrukciu komplexnej amplitúdy vlny, ktorá prechádza pozorovaným predmetom. Vďaka tejto vlastnosti je možné študovať napríklad fázovú hrúbku predmetov, alebo priestorové rozloženie indexu lomu v materiáli.

Prezentovaná bakalárska práca sa zapodieva digitálnou mimoosovou holografickou mikroskopiou so zabudovaným Sagnacovým interferometrom, v ktorom vlny prechádzajú cez rovnakú sadu optických komponentov vo vzájomne protichodných smeroch. Mimoosová geometria umožňuje korektnú rekonštrukciu z jedného holografického záznamu, zatiaľ čo uvažovaný interferometer zaisťuje vylepšenú časovú stabilitu oproti bežne využívaným experimentálnym konfiguráciám. Uvedené vlastnosti je možné výhodne využiť napríklad pri pozorovaní dynamických dejov.

Cieľom práce je popis, overenie princípu činnosti a charakteristika základných parametrov holografického mikroskopu so zabudovaným Sagnacovým interferometrom. V prvej kapitole sú popísané základné delenia holografie, matematický popis interferencie vln pri zázname hologramu a jeho rekonštrukcii. Taktiež princíp a usporiadanie komponentov v Mach-Zehnderovom a Sagnacovom interferometri. V druhej kapitole je vysvetlený princíp numerickej rekonštrukcie hologramu v

programe MATLAB a experimentálne zmeraná časová stabilita vyššie uvedených interferometrov. Na koniec práce si ukážeme rekonštruované holografické záznamy čiarového testu a epitelových buniek.

Kapitola 1

Holografia

Slovo holografia pochádza z gréčtiny a vzniklo spojením slov *holos* (celý) a *graphie* (záznam). Znamená teda úplný obraz - trojrozmerný záznam založený na zachytení obrazu predmetu pomocou interferencie koherentného žiarenia na dvojrozmerný nosič. Holografický záznam (hologram) vzniká zložením referenčnej a signálnej vlny, ktorá nesie informáciu o predmete. Hologram obsahuje informáciu nielen o intenzite predmetu, ale aj o fáze svetla odrazeného alebo prejdenného zaznamenaným predmetom, vďaka čomu je možné pozorovať aj fázové (priehľadné) predmety [1]. To je hlavný dôvod jej použitia. Na takto zaznamenanom holograme je možné pozorovať interferenčnú štruktúru. Obraz pôvodného predmetu sa nám zobrazí až po nasvietení hologramu rekonštrukčným svetelným zväzkom. Oproti priamemu záznamu obrazu holografia navyše umožňuje rekonštrukciu obrazu predmetu z neúplného záznamu, i keď na úkor zníženia kvality [2].

Holografiu vynášiel maďarsko-britský fyzik Dennis Gabor v roku 1947 (Nobelova cena, 1971) [3], [4]. Efektívne sa začala využívať až od roku 1960, keď bol vynájdený laser ako zdroj koherentného žiarenia. Gaborova holografia sa inak nazýva aj osová. Alternatívnu mimoosovú holografiu objavili v roku 1962 Emmett Leith a Juris Upatnieks [5], [6].

V roku 1963 Pieter van Heerden prišiel s myšlienkou využiť holografiu na záznam binárnych dát [7]. V tomto prípade sa neosvetľoval objekt, ale osvetľovací svetelný zväzok prešiel maticou tmavých a priesvitných pixelov, ktoré predstavovali jednotlivé bity. Uložené dáta sa získali z hologramu taktiež osvetlením

rekonštrukčným zväzkom. Veľká nevýhoda takéhoto dátového záznamu bola v nemožnosti prepísania uložených dát v holograme.

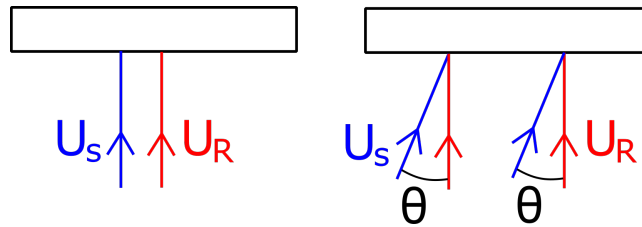
1.1. Základné delenie holografie

Osová a mimoosová holografia

Jedným z možných delení holografie je delenie na osovú (in-line) a mimoosovú (off-axis). Rozdiel medzi nimi je v princípe zaznamenávania a rekonštrukcii hotových záznamov. Pri osovej holografii dopadá na záznamové médium signálna a referenčná vlna pod rovnakým uhlom - kolmo, zatiaľ čo pri mimoosovej holografii je vzájomným náklonom medzi obidve vlny o uhol θ zavedená priestorová frekvencia (Obrázok 1.1).

Osová holografia má na rozdiel od mimoosovej výhodu vo vyššej kvalite záznamu. Pre korektnú rekonštrukciu informácie o predmete je však potrebné zaznamenať a numericky spracovať viac holografických záznamov. To je možné vykonať napríklad pomocou algoritmov využívajúcich vzájomné fázové posunutia medzi interferujúcimi vlnami [8]. Záznam série hologramov však trvá dlhšiu dobu, čo môže byť obmedzujúce pri pozorovaní dynamických dejov.

V mimoosovej holografii sa informácia o signálnej vlne moduluje na nosnú priestorovú frekvenciu. Táto vlastnosť umožňuje separáciu holografických členov v spektre a korektnú rekonštrukciu informácie z jedného holografického záznamu, čo môže byť výhodné pre pozorovanie dynamických dejov. Zároveň sa však redukuje množstvo prenesených priestorových frekvencií, ktoré obsahujú informáciu o predmete, čo môže viesť k zníženiu rozlišovacej schopnosti sústavy.



Obrázok 1.1: Dopad signálnej a referenčnej vlny na záznamové médium - fotografickú emulziu alebo elektronický čip. Naľavo osová holografia, napravo mimoosová holografia. U_S ...signálna vlna, U_R ...referenčná vlna.

Klasická a digitálna holografia

Ďalej môžeme holografiu deliť na klasickú a digitálnu, ktoré sa líšia v princípe záznamu a rekonštrukcie. Pri klasickej je ako záznamové médium použitá emulzia, zatiaľ čo pri digitálnej sa hologram zaznamenáva na čip. Pri rekonštrukcii klasického hologramu sa záznam priamo osvetlí a digitálne zaznamenaný hologram rekonštruujeme počítačovo pomocou numericky definovanej vlny.

Prvé hologramy boli "klasické" - zaznamenané na emulziu alebo fotografický film. Tvorba takýchto hologramov bola zložitá pretože sa svetlomitlivá emulzia musela nasvietiť len po určitú dobu a potom nemohla byť vystavená ďalšiemu svetlu až kým nebola vyvolaná ako film. Klasické hologramy sa stále využívajú napríklad ako zabezpečovacie prvky na bankovkách a kreditných kartách.

Digitálna holografia sa rozmohla až keď boli k dispozícii elektronické čipy s dostatočne malými pixelmi a veľkým rozlíšením, aby bolo možné zaznamenať vysoké priestorové frekvencie pre kvalitný záznam a rekonštrukciu hologramu. Zaznamenaný hologram je ďalej možné numericky spracovávať a napríklad zaostrovať do rôznych rovín vo vzorku či vykonávať korekcie optických aberácií.

V tejto práci sa budeme zaoberať mimoosovou digitálnou holografiou, ktorá umožňuje korektnú rekonštrukciu z jedného zaznamenaného snímku s možnosťou ďalšieho numerického spracovania komplexnej amplitúdy.

1.2. Záznam a rekonštrukcia hologramu

V tejto sekcii si matematicky popíšeme vlastnosti zaznamenaných hologramov v Mach-Zehnderovom interferometri a Sagnacovom interferometri, ktoré sú vhodné pre prácu s priepustnými (transmisívnymi) vzorkami. Ďalej si popíšeme význam nosnej priestorovej frekvencie zavedenej medzi interferujúce vlny a využitie referenčného hologramu pre korekciu fázových deformácií pri holografickej rekonštrukcii.

Matematický popis interferencie

Matematicky si môžeme signálnu a referenčnú vlnu zapísať vo všeobecnom tvare

$$U_S = A_S \cdot e^{i\varphi_S}, \quad U_R = A_R \cdot e^{i\varphi_R}, \quad (1.1)$$

kde A_S a A_R sú ich amplitúdy a φ_S a φ_R sú ich fázy. Výsledné pole vzniknuté interferenciou týchto dvoch vln je možné zapísať v tvare

$$I = |U_S + U_R|^2 = U_S \cdot U_S^* + U_S \cdot U_R^* + U_R \cdot U_S^* + U_R \cdot U_R^*, \quad (1.2)$$

kde * pri U_S^* a U_R^* značí komplexné združenie. V prípade, že zvolíme referenčnú vlnu rovinnú, je možné ju napísať v tvare

$$U_R = A_R \cdot e^{i \cdot \vec{k} \cdot \vec{r}} = A_R \cdot e^{i \cdot \frac{2\pi}{\lambda} \cdot (\sin\theta_X, \sin\theta_Y, \sin\theta_Z) \cdot (x, y, z)}, \quad (1.3)$$

kde A_R je amplitúda vlny, \vec{k} je vlnový vektor, \vec{r} je polohový vektor a λ je vlnová dĺžka svetla. Pre zjednodušenie výpočtov si zoberme vlnu odklonenú len v jednom smere (voči ose x), príslušný uhol označíme θ a navyše uvažujme vznik hologramu v rovine $z=0$. Rovnicu 1.2 je potom možné zapísať v tvare

$$I = A_S^2 + A_R^2 + A_S \cdot A_R \cdot e^{i(\varphi_S - k \cdot x \cdot \sin\theta)} + A_S \cdot A_R \cdot e^{i(k \cdot x \cdot \sin\theta - \varphi_S)}. \quad (1.4)$$

Matematický popis rekonštrukcie hologramu

Pre získanie informácie o signálnej vlně nasvietime zaznamenaný hologram rekonštrukčnou vlnou U_C . Rekonštruované pole hologramu bude mať tvar

$$\begin{aligned} I_C &= U_C [U_S \cdot U_S^* + U_S \cdot U_R^* + U_R \cdot U_S^* + U_R \cdot U_R^*] \\ &= U_C |U_S|^2 + U_C |U_R|^2 + U_C \cdot U_S \cdot U_R^* + U_C \cdot U_R \cdot U_S^*. \end{aligned} \quad (1.5)$$

Pokiaľ budeme predpokladať, že U_C bude rovinná neodklonená vlna, ktorá sa šíri v smere osy z , je v rovine $z=0$ a má amplitúdu A_C

$$U_C = A_C, \quad (1.6)$$

tak je možné výsledné pole 1.5 zapísať v tvare

$$I = A_C \cdot A_S^2 + A_C \cdot A_R^2 + A_C \cdot A_S \cdot A_R \cdot e^{i(\varphi_S - k \cdot x \cdot \sin\theta)} + A_C \cdot A_S \cdot A_R \cdot e^{i(k \cdot x \cdot \sin\theta - \varphi_S)}. \quad (1.7)$$

Prvý a druhý člen tvoria neodklonené vlny a ďalšie dva členy tvoria vlny odklonené, ktoré obsahujú užitočnú informáciu o fázi signálnej vlny.

Nosná priestorová frekvencia

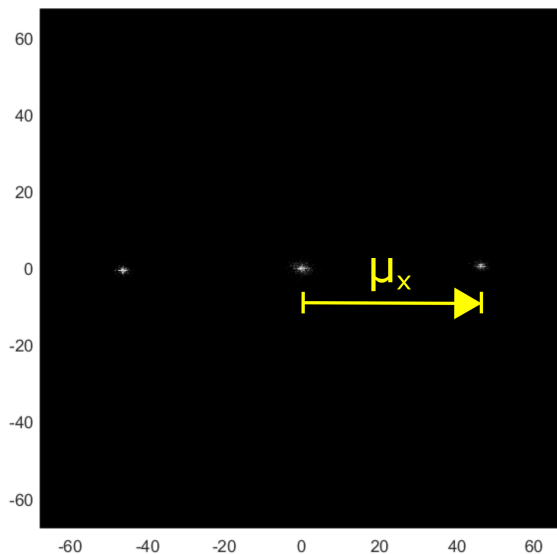
Aby sme dokázali správne rekonštruovať digitálny mimoosový hologram, potrebujeme mať informáciu o signálnej vlně namodulovanú na vyššej nosnej priestorovej frekvencii. Počas rekonštrukcie hologramu využívame dvojrozmernú Fourierovu transformáciu, ktorá prevádza priestorový signál na frekvenčné spektrum. Fourierovú transformáciu môžeme zapísať v tvare

$$\mathfrak{F}\{g(x,y)\} = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} g(x,y) \cdot e^{-i \cdot 2 \cdot \pi \cdot (x\mu_x + y\mu_y)} dx dy, \quad (1.8)$$

kde $g(x,y)$ je vstupujúci priestorový signál, μ_x a μ_y sú frekvenčné súradnice a x , y sú karteziánske súradnice.

Keď budeme pre jednoduchosť predpokladať, že $g(x,y)$ je rovinná vlna, ktorej vlnový vektor leží v rovine $x-z$ a je odklonený o uhol θ vzhľadom k osi z , bude spektrum spočítané podľa rovnice 1.8 obsahovať jedinú nenulovú komponentu, ktorej poloha v spektre je daná vzťahom

$$\mu_x = \frac{\sin\theta}{\lambda}. \quad (1.9)$$



Obrázok 1.2: Príklad frekvenčného spektra vzniknutého interferenciou signálnej vlny s rovinnou referenčnou vlnou. 0.rád spektra je v strede a -1. a 1. rády sú naľavo a napravo. Hodnoty na súradnicových osiach sú v čiarach na mm.

Ak použijeme FT pre rovnicu 1.4, objavia sa vo frekvenčnom spektre 3 difrakčné rády (Obrázok 1.2). To znamená, že čím väčší je uhol medzi dopadajúcimi vlnami, tým väčšia je priestorová frekvencia interferenčného obrazca a tým ďalej od stredu sa vo frekvenčnom spektre zobrazí 1. a -1. rád. Keďže vo frekvenčnom spektre separujeme -1. alebo 1. člen, v ktorom je informácia o zmene fázy vlny spôsobená jej prechodom alebo odrazom od pozorovaného predmetu, potrebujeme ho dostatočne oddialiť od 0. rádu, aby sa neprekrývali. Zároveň však nechceme, aby sa člen s informáciou o fáze oddialil natoľko, že jeho časť bude mimo frekvenčného spektra, pretože by sme prišli o časť informácie. Taktiež pri prevzorkovaní kamery by sa mohol úplne vytratiť, alebo by sme zaznamenali neskutočné artefakty. Budeme sa teda riadiť Shannon-Nyquistovou vzorkovacou frekvenciou, podľa ktorej je presná rekonštrukcia spojitého, frekvenčne obmedzeného signálu z jeho vzorku možná vtedy, keď je vzorkovacia frekvencia vyššia ako dvojnásobok najvyššej harmonickej zložky vzorkovaného signálu.

Maximálna priestorová frekvencia $\mu_{x_{\max}}$, ktorú si môžeme zaviesť medzi in-

terferujúce vlny pri použití našej kamery bude

$$\mu_{x \max} = \frac{\sin \theta_{\max}}{\lambda}. \quad (1.10)$$

Vzťah pre vzorkovaciu frekvenciu kamery μ_{kamera} je

$$\mu_{\text{kamera}} = \frac{1}{\Delta}, \quad (1.11)$$

kde Δ je veľkosť jedného pixelu kamery. Podľa Shannon-Nyquistovho kritéria musí byť vzorkovacia frekvencia kamery aspoň dvakrát vyššia ako najvyššia harmonická zložka vzorkovaného signálu. Porovnaním vzťahov 1.10 a 1.11

$$\mu_x = 2 \frac{\sin \theta_{\max}}{\lambda} \leq \frac{1}{\Delta} \quad (1.12)$$

získame vzťah

$$\sin \theta = \frac{\lambda}{2\Delta}, \quad (1.13)$$

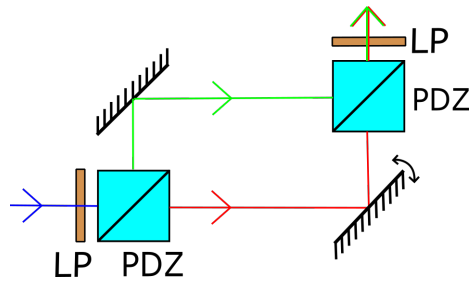
pomocou ktorého dokážeme vypočítať maximálny prípustný uhol θ medzi interferujúcimi vlnami.

1.3. Mimoosová holografia s Mach-Zehnderovým a Sagnacovým interferometrom

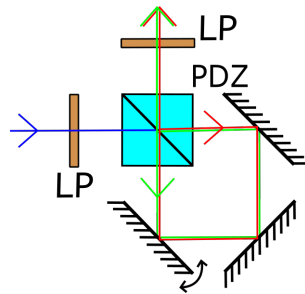
Medzi bežne používané typy interferometrov pre realizáciu mimoosovej geometrie patrí Mach-Zehnderov, Michelsonov a Sagnacov typ interferometra. Michelsonov interferometer obsahuje jeden delič zväzku a dva zrkadlá. Svetlo v každej vetve ide smerom k zrkadlu a naspäť, takže tento interferometer nie je vhodný pre pozorovanie priehľadných vzorkov. Zameriame sa preto na využitie Mach-Zehnderovho a Sagnacovho interferometra, ktoré sú vhodné na pozorovanie transparentných vzorkov. Tieto interferometre často využívajú zrkadlá a delič zväzku alebo polopriepustné zrkadlo pre rozdelenie vstupujúceho zväzku na dva. Jedna časť zväzku poslúži ako referenčná vlna a druhá časť osvetlí predmet. Následne spolu tieto dve vlny interferujú a vytvoria interferenčný obraz na kamere.

Intenzitné deliče zväzku ktoré delia svetelný zväzok na prechádzajúci a odrazený v pomere 50:50 majú nevýhodu spätného odrazu svetla do zostavy. V prípade Sagnacovho interferometra ide o reflexiu pred interferometer. U Mach-Zehnderovho interferometra nám druhý delič zväzku rozdelí celkový vstupujúci svetelný výkon do zostavy 50:50 kde jedna časť smeruje na kameru a druhá zostáva nevyužitá. To sa prejaví v energetickej účinnosti zostavy, kde v prípade že nemáme k dispozícii citlivejšiu kameru a nemôžeme predĺžiť expozičnú dobu snímky musíme zvýšiť svetelný výkon vystupujúci do zostavy, čo nemusí byť vždy možné.

Preto sme v našich interferometrických zostavách použili polarizačný delič zväzku (PDZ). Vstupujúci laserový zväzok prechádza cez lineárny polarizátor (LP) a stane sa teda lineárne polarizovaný pod uhlom 45 stupňov. Vďaka tomuto LP môžeme korigovať intenzity v jednotlivých vetvách interferometra a tým aj výsledný kontrast interferenčného obrazca - ďalšia výhoda oproti využitiu nepolarizačných deličov zväzku. Následne sa v PDZ rozdelí vstupujúci zväzok na dva, ten čo prechádza PDZ je horizontálne polarizovaný a druhý, odrazený, je vertikálne polarizovaný. Po prechode interferometrom sa musia zväzky nasmerovať znova rovnakým smerom, v Mach-Zehnderovom interferometri (Obrázok 1.3) sa to deje pomocou druhého PDZ, v Sagnacovom interferometri (Obrázok 1.4) prechádzajú zväzky znova tým istým PDZ. Pri výstupe z interferometra potrebujeme ešte druhý LP natočený o 45 stupňov pre zaistenie interferencie oboch zväzkov.



Obrázok 1.3: Mach-Zehnderov interferometer s lineárnymi polarizátormi (LP) a polarizačnými deličmi zväzku (PDZ).



Obrázok 1.4: Sagnacov interferometer s lineárnymi polarizátormi (LP) a polarizačným deličom zväzku (PDZ).

V obidvoch interferometroch sa naklápaním zrkadla, prípadne PDZ, mení uhol medzi vlnami dopadajúcimi na tienitko alebo kameru a tým aj priestorová frekvencia interferenčného obrazca. Pri jej zvyšovaní musíme dbať na to, aby sme splnili vzorkovaciu podmienku 1.13.

Dôležitá vlastnosť interferometra je jeho časová stabilita. Hovorí, o koľko radiánov sa mení fáza vlny v nehybnom interferometri. Závisí predovšetkým na type použitého interferometra a vibráciách a fluktuáciách vo vzduchu. Pri zlej časovej stabilite nedokážeme správne korigovať holografický záznam a rekonštruovať fázu signálnej vlny.

1.4. Korekcia holografického záznamu

Optické sústavy majú aberácie ktoré sa nie vždy dajú dokonale vykorigovať. Okrem optických aberácií môže byť kvalita výsledného hologramu ovplyvnená parazitnými interferenciami od odrazu svetla na optických plochách, prípadne ďalšími deformáciami v optickej ceste. Taktiež keďže sa sústredíme predovšetkým na pozorovanie fázových predmetov - napríklad biologických vzorkov, máme ich väčšinou umiestnené na podložnom sklíčku, ktoré je ďalším objektom meniacim fázu vlny. Jednou z metód ako kompenzovať fázové deformácie je využiť korekčný holografický záznam získaný bez prítomnosti vzorku v zornom poli. Jeho využitím sa zbavíme parazitných interferencií a nežiadúcich zmien fázy vlny spôsobených použitou optickou sústavou.

Interferenciu dvoch vln v Mach-Zehnderovom interferometri bez umiestneného vzorku, kde U_1 je vlna prechádzajúca interferometrom priamo a U_2 je vlna odklonená od kolmice dopadu na tienitko alebo kameru o uhol θ , môžeme zapísať v tvare

$$U_1 = A_1 \cdot e^{i\delta_1}, \quad U_2 = A_2 \cdot e^{i\delta_2} \cdot e^{i\mathbf{k}\cdot\mathbf{x}\cdot\sin\theta}, \quad (1.14)$$

kde A_1 a A_2 sú amplitúdy svetelných vln a δ_1 a δ_2 je rozloženie aberácií a priestorových fázových nehomogenít v sústave v príslušných vlnách. Z interferencie týchto vln nás bude zaujímať napríklad len člen $U_1 U_2^*$, pretože nesie informáciu o fáze signálu. Po odstránení nosnej frekvencie môžeme $U_1 U_2^*$ zapísať v tvare

$$U_1 U_2^* = A_1 \cdot e^{i\delta_1} \cdot A_2 \cdot e^{-i\delta_2}. \quad (1.15)$$

Pri interferencii dvoch vln s pozorovaným vzorkom v optickej sústave nahradíme vlnu U_1 signálnou vlnou U_S , ktorá obsahuje navyše fázovú zmenu $e^{i\varphi_S}$ závislú na vlastnostiach pozorovaného predmetu. Za predpokladu, že sa aberácie a fázové nehomogenity δ_1 nezmenia, zostávajú rovnaké ako v U_1 . Vlna U_2 zostane ako referenčná a vlna U_S bude mať tvar

$$U_S = A_S \cdot e^{i\varphi_S} \cdot e^{i\delta_1}. \quad (1.16)$$

Z interferencie U_S a U_2 nás bude taktiež zaujímať len člen $U_S U_2^*$, v ktorom sa rovnako ako v 1.15 eliminovala priestorová frekvencia pri rekonštrukcii presunom v spektre

$$U_S U_2^* = A_S \cdot e^{i\varphi_S} \cdot e^{i\delta_1} \cdot A_2 \cdot e^{-i\delta_2}. \quad (1.17)$$

Následne podelíme rekonštruovaný záznam 1.17 s referenčným záznamom 1.15

$$\frac{U_S U_2^*}{U_1 U_2^*} = \frac{A_S \cdot A_2 \cdot e^{i\varphi_S} \cdot e^{i\delta_1} \cdot e^{-i\delta_2}}{A_1 \cdot A_2 \cdot e^{i\delta_1} \cdot e^{-i\delta_2}} = \frac{A_S}{A_1} \cdot e^{i\varphi_S}. \quad (1.18)$$

Po korekcii zaznamenaného hologramu na referenčné spektrum obsahuje rekonštruovaná fáza len informáciu o pozorovanom predmete. Práve pre jej správnu rekonštrukciu potrebujeme čo najlepšiu časovú stabilitu interferometra. Pri zlej časovej stabilite sa fázové nehomogenity δ_1 zmenia a nedokážeme správne rekonštruovať fázu signálnej vlny φ_S .

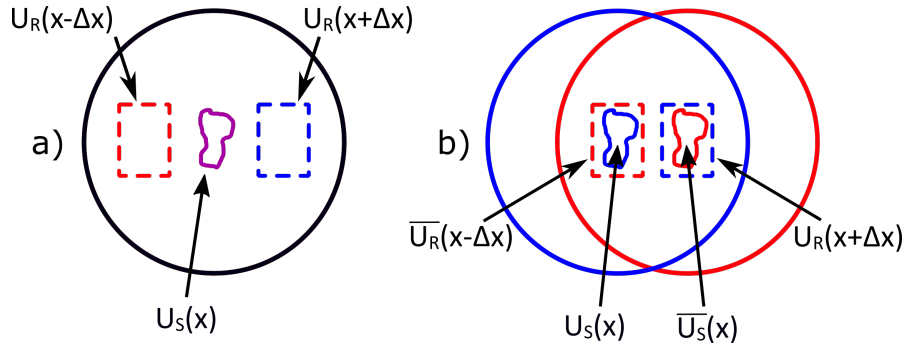
1.5. Interferencia vln v Sagnacovom interferometri

V Sagnacovom interferometri pred ktorým je umiestnený vzorok interferujú 4 svetelné vlny, z ktorých sú 2 referenčné a 2 signálne. To je spôsobené princípom metódy, keďže v Sagnacovom interferometri sa nedelí svetelný zväzok na referenčnú a signálnu vlnu ale obidve obsahujú signálnu aj referenčnú časť. Tieto 4 svetelné vlny si môžeme zapísať ako

$$\begin{aligned} U_S(x) &= \overline{U_S}(x) \cdot e^{i \cdot k \cdot x \cdot \sin\theta} \\ U_R(x + \Delta x) &= \overline{U_R}(x - \Delta x) \cdot e^{i \cdot k \cdot x \cdot \sin\theta}, \end{aligned} \quad (1.19)$$

kde $U_S(x)$ je signálna vlna, $U_R(x + \Delta x)$ referenčná vlna a $\overline{U_S}(x)$ a $\overline{U_R}(x - \Delta x)$ sú odklonené vlny - signálna a referenčná (Obrázok 1.5). Ich interferencia na detektore je

$$\begin{aligned} I = & \{ U_S(x) + U_R(x + \Delta x) + [\overline{U_S}(x) + \overline{U_R}(x - \Delta x)] \cdot e^{i \cdot k \cdot x \cdot \sin\theta} \} \cdot \\ & \{ U_S^*(x) + U_R^*(x + \Delta x) + [\overline{U_S}^*(x) + \overline{U_R}^*(x - \Delta x)] \cdot e^{-i \cdot k \cdot x \cdot \sin\theta} \}. \end{aligned} \quad (1.20)$$



Obrázok 1.5: Interferencia vln v Sagnacovom interferometri pred ktorým je umiestnený pozorovaný predmet, bez zavedenej priestorovej frekvencie a bez oddeleného zdvojeného obrazu (a), a so zavedenou priestorovou frekvenciou a s dostatočne oddelenými zdvojenými obrazmi (b).

Po roznásobení dostávame 0., -1. a 1.difrakčný rád, kde sa zameriavame hlavne na 1.difrakčný rád, ktorý je možné po odstránení nosnej priestorovej frekvencie zapísať v tvare

$$U = \overline{U_S}(x) \cdot U_S^*(x) + \overline{U_S}(x) \cdot U_R^*(x + \Delta x) + \overline{U_R}(x - \Delta x) \cdot U_S^*(x) + \overline{U_R}(x - \Delta x) \cdot U_R^*(x + \Delta x) \quad (1.21)$$

Z týchto členov sa $\overline{U_S}(x) \cdot U_S^*(x)$ a $\overline{U_R}(x - \Delta x) \cdot U_R^*(x + \Delta x)$ rovnajú nule v prípade, že máme dostatočne veľký posun obrazov na kamere a neprekrývajú sa (vplyvom použitej metódy vzniká na kamere zdvojený obraz predmetu). Zostane nám teda len

$$\overline{U_S}(x) \cdot U_R^*(x + \Delta x) + \overline{U_R}(x - \Delta x) \cdot U_S^*(x). \quad (1.22)$$

Môžeme vidieť, že členy signálnych vln sú komplexne združené a tvoria na kamere zdvojené obrazy. Ich zmena fázy prechádzajúcej vlny teda bude rovnaká, len s opačným znamienkom.

1.6. Optický mikroskop s tubusovou šošovkou

Pozorovanie malých transparentných vzorkov umožňuje holografická mikroskopia. Interferuje tu zväčšený obraz vzorku s referenčnou vlnou. Dôležitým parametrom mikroskopu je jeho zväčšenie. Keď poznáme zväčšenie optickej sústavy tak dokážeme určiť veľkosť pozorovaného predmetu. Udáva sa v bezrozmerných jednotkách a je to pomer veľkosti obrazu k veľkosti predmetu

$$m = \frac{y'}{y}, \quad (1.23)$$

kde m je zväčšenie mikroskopu, y' je veľkosť obrazu predmetu a y je veľkosť predmetu (v rovnakých jednotkách). V našej experimentálnej zostave použijeme mikroskopový objektív v kombinácii s tubusovou šošovkou, aby sme dokázali zobrazit' ostrý obraz pozorovaného predmetu na kameru. Pre matematický výpočet zväčšenia našej optickej sústavy môžeme použiť vzťah

$$m = -\frac{f_{TS}'}{f_{MO}'}, \quad (1.24)$$

kde f_{TS}' je obrazová ohnisková vzdialenosť tubusovej šošovky a f_{MO}' je obrazová ohnisková vzdialenosť mikroskopového objektívu.

Kapitola 2

Experimentálne merania

V nasledujúcich podkapitolách si popíšeme priebeh jednotlivých meraní v laboratóriu. Ako prebieha praktický záznam hologramu, meranie zväčšenia mikroskopu implementovaného do interferometra, vďaka ktorému dokážeme určiť veľkosť pozorovaných predmetov, rekonštrukcia digitálnych hologramov v programe MATLAB, meranie časovej stability interferometrov, ktorá ovplyvňuje kvalitu hologramov pri korekcii a nakoniec si ukážeme hotové rekonštruované hologramy zaznamenané v laboratóriu.

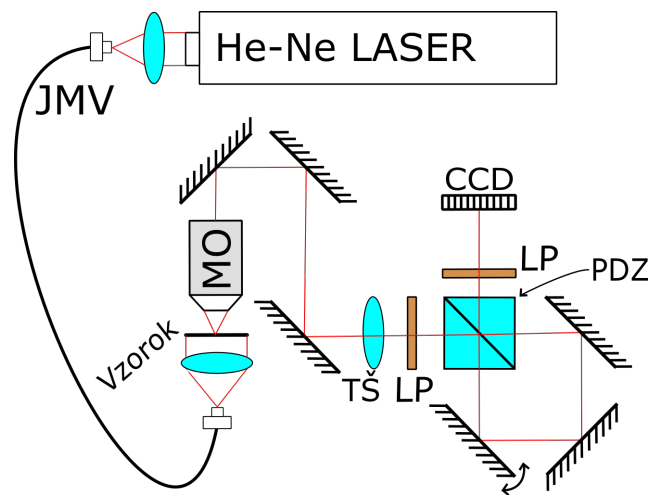
V našich experimentálnych zostavách bolo svetlo z nepolarizovaného He-Ne laseru ($\lambda=632,8$ nm) naviazané do jednomódového optického vlákna (JMV) a následne z neho bolo vyviazané a kolimované.

V zostave so Sagnacovým interferometrom (Obrázok 2.1) bol týmto kolimovaným zväzkom osvetlený pozorovaný predmet (vzorok), ktorý sa zobrazoval ďalej cez mikroskopový objektív (MO). Tento mikroskopový objektív bol uchytený zvislo pre možnosť pozorovania biologických preparátov, ktoré bývajú často vo forme tekutín umiestnených na podložnom sklíčku. Kvôli zvislému uchyteniu mikroskopu boli v zostave použité ďalšie 3 zrkadlá, cez ktoré prechádza svetlo k interferometru. Pred interferometrom je tubusová šošovka (TŠ, $f'=400$ mm), ktorá tvorí s mikroskopovým objektívom 4f systém a zobrazuje obraz predmetu priamo na CCD čip kamery, ktorý je umiestnený v obrazovom ohnisku tubusovej šošovky. Následne svetlo prechádza lineárnym polarizátorom (LP) a interferometrom, v ktorom je polarizačný delič zväzku (PDZ). Obidve prechádzajúce vlny

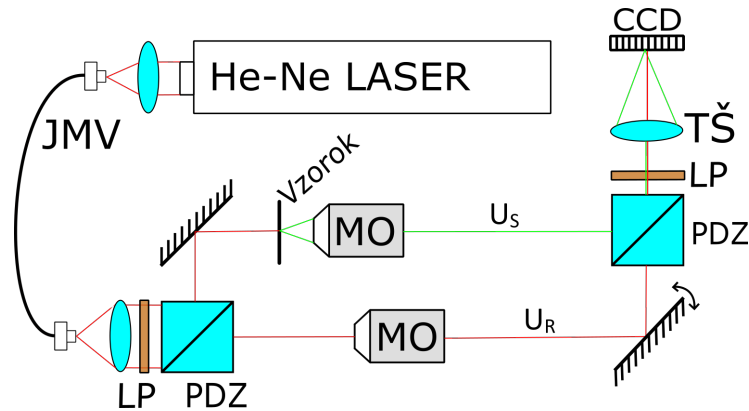
majú rovnakú optickú dráhu, len v opačnom smere. Za interferometrom musí byť druhý lineárny polarizátor, aby spolu mohli vlny interferovať.

V zostave s Mach-Zehnderovým interferometrom (Obrázok 2.2) prechádzal kolimovaný zväzok lineárnym polarizátorom (LP) a v interferometri sa pomocou polarizačného deliču zväzku rozdelil na 2 vetvy, kde obidve obsahovali rovnaký mikroskopový objektív (MO), aby sa zachovala rovnaká optická dráha s aberáciami objektívu. Pred jedným objektívom bol umiestnený pozorovaný predmet - táto vlna bola signálna (U_S). Druhá vlna zostala ako referenčná (U_R). Za interferometrom bol rovnako ako pri použití Sagnacovho interferometra lineárny polarizátor a nakoniec tubusová šošovka ($f'=400$ mm).

Schématický náčrt použitých zostáv;



Obrázok 2.1: Zostava so Sagnacovým interferometrom, ktorá obsahuje aj zrkadlá navyše pre možnosť zvislej mikroskopie napríklad pre pozorovanie biologických preparátov v roztokoch.



Obrázok 2.2: Zostava s Mach-Zehnderovým interferometrom.

Na meranie zväčšenia našej optickej sústavy teda potrebujeme predmet o známej veľkosti. Zvolili sme si kalibrovaný test USAF 1951, obsahujúci čiary o rôznych šírkach, ktorých veľkosti sa dajú zistiť z veľkostnej tabuľky priloženej k testu. Meranie bolo vykonané na Sagnacovom aj Mach-Zehnderovom interferometri. Počas merania bola použitá len signálna vetva v interferometri. Urobili sme záznam, z ktorého sme potom pomocou programu spočítali na koľko pixelov sa zobrazila čiara z testu a vynásobením tohto čísla veľkosťou pixelu ($7,4\mu\text{m}$) dostávame veľkosť obrazu v μm . Po dosadení veľkosti obrazu a veľkosti predmetu ktorú vieme z tabuľky do vzorca 1.23 dostávame:

$$m_{\text{Sagnac}} = 22 \quad , \quad m_{\text{Mach}} = 22,5. \quad (2.1)$$

Namerali sme teda zväčšenie 22 v Sagnacovom interferometri a 22,5 v Mach-Zehnderovom interferometri pre mikroskopový objektív Olympus UPlanFL N, 10x/0.30. V prípade že by sme chceli zmeniť zväčšenie, môžeme vymeniť napríklad objektív, alebo tubusovú šošovku v sústave. Pre pozorovanie drobnejších predmetov sme tak neskôr učinili a pre zvolený objektív Olympus UPlanFL N, 40x/0.75 v Sagnacovom interferometri sme rovnakým postupom namerali zväčšenie 88,3.

Priebeh záznamu hologramu

Pomocou programu pre ovládanie kamery v počítači môžeme sledovať živý náhľad z kamery - pre jednoduché doostrovanie predmetu, nastaviť si dobu expozície snímku a ukladať záznamy do pamäte počítača. Program nám ponúka aj ďalšie nastavenia a možnosti, napríklad tvorbu záznamov v pravidelných intervaloch po určitú dobu, čo sme využili pri meraní stability interferometrov.

Pri vykonávaní samotných záznamov si potrebujeme zaviesť medzi interferujúce vlny vhodnú priestorovú frekvenciu, aby sme následne dokázali záznam správne rekonštruovať. To vykonáme naklápaním zrkadla alebo otáčaním deličom zväzku v interferometri. Maximálny uhol θ medzi interferúcimi vlnami dopadajúcimi na kameru vypočítame dosadením parametrov našej sústavy $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ a $\Delta = 7,4 \mu\text{m}$ do vzťahu 1.13 a dostávame výsledok

$$\theta_{\max} = \arcsin \frac{632,8 \cdot 10^{-9}}{2 \cdot 7,4 \cdot 10^{-6}} = 2,45^\circ. \quad (2.2)$$

Taktiež potrebujeme, aby bol v interferenčnom obraze vysoký kontrast medzi svetlými a tmavými interferenčnými prúžkami. Kontrast dokážeme meniť pomocou polarizačných filtrov, keďže máme v sústavách polarizačné deliče zväzku. Podľa teórie by sme mali dosiahnuť najvyšší kontrast pri natočení lineárneho polarizátora pod uhlom ± 45 stupňov na vstupe do interferometra (aby bola intenzita rozdelená rovnako do oboch ramien, keďže v jednom je vertikálne a v druhom horizontálne polarizovaný zväzok) a ± 45 stupňov na výstupe z interferometra.

2.1. Rekonštrukcia digitálnych holografických záznamov

Celý proces rekonštrukcie zaznamenaných digitálnych hologramov uložených v počítači prebieha pomocou programu MATLAB. Hologram sa zo súboru načíta do matice. Keďže potrebujeme frekvenčné spektrum, s ktorým budeme ďalej pracovať, použijeme algoritmus pre dvojrozmernú rýchlu fourierovu transformáciu

(FFT2 - Fast Fourier Transform 2D). Následne dostávame frekvenčné spektrum, v ktorom sú nízke frekvencie na okrajoch a v rohoch a smerom do stredu matice sú vyššie frekvencie - v strede je Nyquistova frekvencia. Ďalej požadujeme, aby boli nízke frekvencie zobrazené v strede spektra a vyššie na okrajoch, teda presne naopak. Diagonálne vymeníme kvadranty v matici pomocou funkcie FFTshift. Teraz máme vo frekvenčnom spektre nízke frekvencie v strede matice a vysoké frekvencie pri okrajoch.

Zvislé interferenčné prúžky (pri interferujúcich vlnách vychýlených len do strán) sa vo frekvenčnom spektre zobrazia ako body na osi x, šikmé prúžky by sa zobrazili vo všeobecnej polohe voči osi x. Ak máme správne zaznamenaný hologram, uvidíme v spektre -1., 0. a 1. difrakčný rád.

V nasledujúcom kroku nájdeme stred 1.rádu spektra - bod s najvyššou intenzitou a spravíme výrez jeho okolia. Vyrežeme z matice frekvenčného spektra malú maticu, ktorá má v strede stred 1.rádu spektra, v ktorého okolí je informácia o fáze pozorovaného predmetu. Túto novú maticu premiestnime do pôvodného miesta 0.rádu spektra a to vykonáme vytvorením novej nulovej matice o rovnakých rozmeroch ako mala pôvodná matica so spektrom. Malú maticu s výrezom vložíme do tejto novej nulovej matice, s ktorou budeme ďalej pracovať. Vďaka tomuto presunutiu v spektre sme eliminovali nosnú priestorovú frekvenciu a zostal nám len interferenčný člen nesúci informáciu o fáze, ako bolo ukázané v 1.18. Pri tomto “vyrezávaní” je nutné mať na vedomí, že požadujeme len 1.rád spektra - pri veľkom oreze by mohlo dôjsť aj k výberu časti 0.rádu a to je nežiadúce.

S novou maticou nasleduje inverzná operácia ako bola na začiatku; FFTshift pre diagonálnu výmenu kvadrantov a iFFT2 - inverzná Fourierova transformácia, ktorá nám prevedie frekvenčné spektrum do priestorového signálu. Dostávame rekonštruovaný holografický záznam, z ktorého si môžeme vykresliť ako amplitúdu, tak aj fázu pôvodnej svetelnej vlny.

Keďže pri zaznamenávaní hologramu musíme použiť optickú sústavu ktorá má svoje aberácie, vznikajú nám v holografickom zázname nežiadúce deformácie obrazu a parazitné interferencie. Pomocou korekčného hologramu zaznamenaného

bez pozorovaného vzorku sa môžeme zbaviť parazitných interferencií a zmien fázy vlny spôsobených použitou optickou sústavou, tak ako to bolo popísané v sekcii 1.4. Takýto korekčný záznam môže mať viacero foriem, napríklad len ako záznam interferencie vln v optickej sústave pri rovnakých podmienkach ako boli pri zázname hologramu, alebo pri pozorovaní biologických preparátov, ktoré bývajú vo forme tekutín na podložnom sklíčku prekryté krycím sklíčkom môže obsahovať aj zmenu fázy spôsobenú spomenutými sklíčkami. V druhom prípade dokážeme lepšie odseparovať zmenu fázy vlny spôsobenú len pozorovaným predmetom.

Pri použití korekčného záznamu ho potrebujeme rovnako digitálne rekonštruovať ako hologram, s ktorým pracujeme. Keď ho máme rekonštruovaný a uložený v programe MATLAB ako maticu, môžeme ním vydeliť holografický záznam rovnako ako v 1.18, pre každý pixel zvlášť. Následne si môžeme vykresliť fázu z rekonštruovaného korigovaného hologramu pomocou funkcie `angle()`.

2.2. Meranie stability interferometrov

Časová stabilita interferometra závisí predovšetkým na optickej dráhe signálnej a referenčnej vlny v interferometri. Sagnacov interferometer má rovnakú optickú dráhu pre obidve vetvy, len ňou prechádzajú v opačnom smere. Preto očakávame, že bude výrazne stabilnejší ako napríklad Mach-Zehnderov interferometer, ktorý má samostatné ramená pre dané vlny.

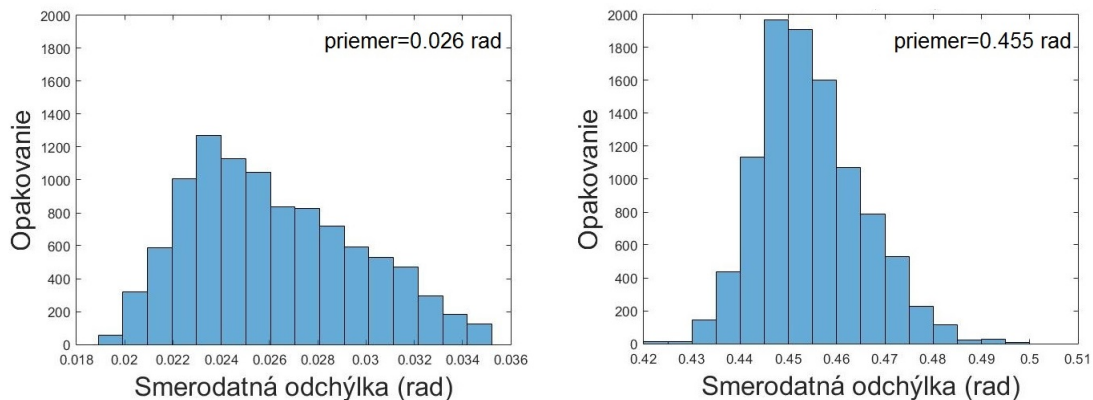
Meranie prebiehalo bez prítomnosti vzorku a so všetkými optickými prvkami ako pri zaznamenávaní hologramov. V programe na počítači, ktorý riadi kameru s CCD a ukladá záznamy, sa dá nastaviť expozičná doba snímku a vlastnosti sériového snímania. My sme nastavili expozičnú dobu na jeden snímok 21 ms a sériové snímanie po dobu 120 s, pričom sa jeden snímok zaznamenal každú pol sekundu. Celkovo máme teda 240 snímkov. Stabilitu sme merali na Sagnacovom aj Mach-Zehnderovom interferometri za rovnakých podmienok. Obidva interferometre boli postavené na optickom stole s tlmením vibrácií pomocou vzduchových vankúšov. Keďže je stabilita závislá na fluktuáciách vo vzduchu a vibráciách, v

priebehu merania sme sa nepohybovali po laboratóriu a boli sme vzdialení od meraného interferometra, aby sme neovplyvnili kvalitu merania.

Výpočet stability prebiehal v programe MATLAB, kde sa každý zaznamenaný hologram rekonštruoval, aby sa odstránila priestorová frekvencia interferujúcich vln. V časti záznamu, kde spolu interferujú elektromagnetické vlny prechádzajúce interferometrom, sme vybrali maticu 100x100pixelov - teda 10 000 “náhodných” pixelov na výpočet stability. To zodpovedá ploche 33,64 x 33,64 μm . Z nich sa pre každý pixel zo všetkých matíc zvlášť počíta výberová smerodatná odchýlka vzhľadom k prvému záznamu pre fázu vlny;

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N [A_i - A_1]^2} \quad (2.3)$$

kde σ je smerodatná odchýlka v radiánoch, N je počet záznamov pre ktoré počítame odchýlku - v našom prípade 239 pretože z 240 je prvý referenčný, A_i je v poradí i-tá rekonštruovaná holografická fáza daného 1 pixelu z matice a A_1 je v poradí prvá rekonštruovaná holografická fáza toho istého pixelu z prvého záznamu, ktorá je použitá ako referencia. Výsledné hodnoty z merania stability (10 000 hodnôt odchýlky σ) sme si vyniesli do histogramu (Obrázok 2.3).



Obrázok 2.3: Naľavo histogram stability Sagnacovho interferometra, napravo stabilita Mach-zehnderovho interferometra

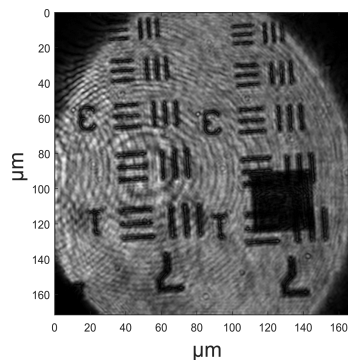
Nami nameraná výsledná priemerná hodnota výberovej smerodatnej odchýlky je 0,026 rad v Sagnacovom interferometri a 0,455 rad v Mach-Zehnderovom interferometri. Môžeme teda vidieť, že stabilita Sagnacovho interferometra je rádovo lepšia ako stabilita Mach-Zehnderovho interferometra (17,5 x).

2.3. Experimentálne hologramy

V tejto časti sa pozrieme na hologramy zaznamenané v laboratóriu s využitím Sagnacovho interferometra, ako vyzerajú po rekonštrukcii v programe MATLAB a aký vplyv majú korekčné záznamy.

2.3.1. Čiarový test

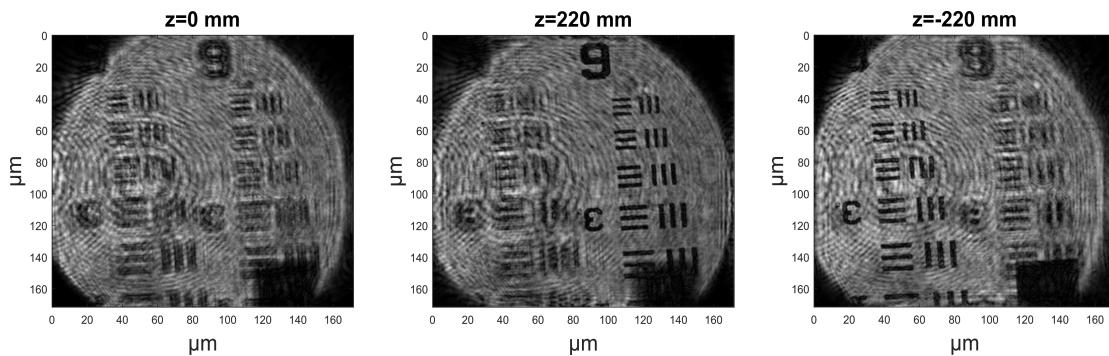
Ako prvý rekonštruovaný holografický záznam si ukážeme čiarový test USAF-1951, na ktorom je vidno zdvojený obraz spôsobený princípom metódy záznamu pomocou Sagnacovho interferometra (Obrázok 2.4).



Obrázok 2.4: Rekonštruovaný holografický záznam zaostreného čiarového testu

Počas zaznamenávania hologramov sa nám môže stať, že nemáme obraz zaostrený presne na CCD a zistíme to až pri rekonštrukcii. V takomto prípade môžeme buď vykonať záznam znova, alebo ak to nie je možné, môžeme ho doostriť pomocou algoritmu pre šírenie svetla v počítači. Jednou z možností je Fresnelovské šírenie, ktoré je možné naprogramovať v MATLABe a implementovať do nášho skriptu [9].

Najprv musíme holografický záznam rekonštruovať a uložiť do matice, z ktorej sa načíta do funkcie s Fresnelovským šírením. Po zadaní vzdialenosti obrazovej roviny do ktorej svetlo šírieme, z nej dostávame doostrený holografický záznam (Obrázok 2.5). Môžeme vidieť, že obrazy sú komplexne združené a pri rekonštrukcii rovinou vlnou sa pozícia rekonštruovaných obrazov líši v znamení.



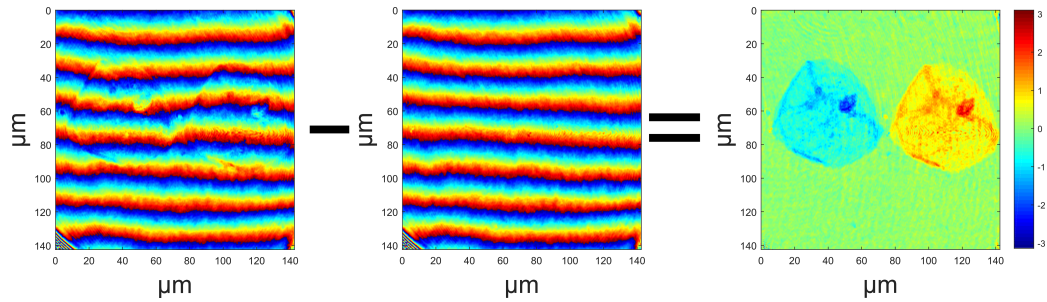
Obrázok 2.5: Rekonštruovaný holografický záznam rozostreného čiarového testu, doostrený pomocou Fresnelovského šírenia

2.3.2. Fázové objekty

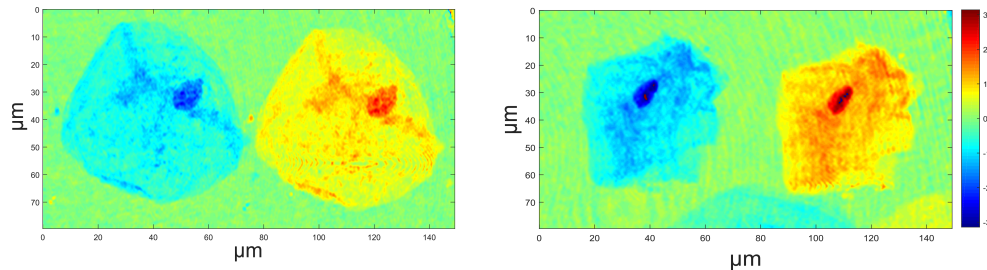
Za fázové objekty považujeme tie, ktoré nemenia amplitúdu prechádzajúcej vlny, respektíve ju menia len minimálne. Sú to teda objekty, ktoré svojim rozličným indexom lomu a hrúbkou, teda rozdielnou optickou dráhou vzhľadom k okoliu, menia fázu prechádzajúcej vlny. Môžu to byť napríklad priehľadné tekutiny (voda, lieh) alebo biologické preparáty (bunky).

Vyskúšali sme v laboratóriu zaznamenať hologram “cheek cells” - epitelových buniek z vnútornej strany líca. Na podložné sklíčko sme kvapli kvapku vody, do nej sme pridali výter z vnútornej strany líca a prekryli sme to krycím sklíčkom. Po jeho umiestnení do predmetovej roviny mikroskopu v Sagnacovom interferometri sme zaostrili obraz - posuvom predmetu pred mikroskopom, nastavili interferometer na vhodnú priestorovú frekvenciu a oddelili od seba dva obrazy predmetu ktoré vznikajú vplyvom zvolenej interferometrickej metódy. Rekonštruovaný ho-

lografický záznam sme korigovali referenčným záznamom, vďaka čomu sme dosiahli takmer len informáciu o zmene fázy signálnej vlny spôsobenú pozorovaným predmetom (Obrázok 2.6). Zaznamenali a rekonštruovali sme viac záznamov buniek (Obrázok 2.7).

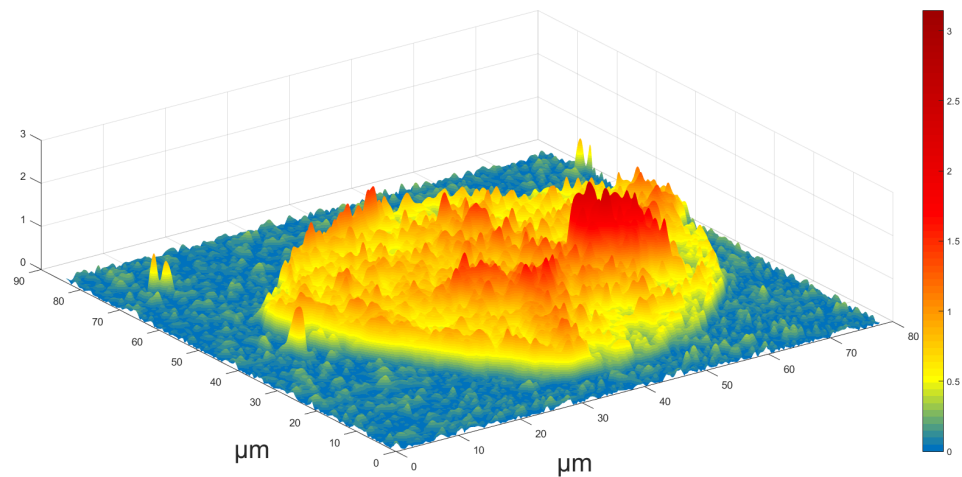


Obrázok 2.6: Naľavo rekonštruovaný holografický záznam buniek podelený rekonštruovaným korekčným záznamom a napravo korigovaný rekonštruovaný záznam, podľa 1.18 .



Obrázok 2.7: Rekonštruované a korigované holografické záznamy buniek

Taktiež sme si v programe MATLAB vykreslili jeden obraz pozorovanej bunky do trojosého súradnicového systému. Tu je pekne vidno, že pri znalosti indexu lomu danej bunky by sme vedeli podľa zmeny fázy a vlnovej dĺžky použitého svetla vypočítať jej hrúbku (Obrázok 2.8).



Obrázok 2.8: Rekonštruovaný holografický záznam bunky, zvislá os značí zmenu fázy prechádzajúcej vlny od 0 do π .

Záver

Cieľom mojej bakalárskej práce bolo vysvetliť princíp holografickej mikroskopie a jej výhody oproti bežným mikroskopickým metódam. Hlavným cieľom bolo teoreticky popísať a experimentálne overiť činnosť digitálneho holografického mikroskopu so zabudovaným Sagnacovým interferometrom a vysvetliť dôležitosť referenčného korekčného záznamu využitého pri rekonštrukcii hologramu.

V prvej kapitole sme si vysvetlili čo je to holografia, ako sa zaznamenáva a rekonštruje hologram a delenie holografie podľa metódy záznamu a záznamového média. Porovnali sme osovú a mimoosovú holografiiu a ich výhody a nevýhody. Rovnako aj rozdiely medzi klasickou a digitálnou holografiou a spôsoby ich rekonštrukcií. Ďalej sme sa zapodievali už len mimoosovou digitálnou holografiou, pretože umožňuje rekonštrukciu signálnej vlny z jedného záznamu a pri digitálnom spracovaní záznamu aj korekciu aberácií optickej sústavy.

V druhej kapitole sme sa pozreli na experimentálne merania z laboratória - ako prebiehal záznam digitálneho hologramu s použitím Sagnacovho alebo Mach-Zehnderovho interferometra a jeho rekonštrukcia pomocou programu MATLAB. Taktiež sme prakticky zmerali zväčšenia týchto interferometrov s implementovaným mikroskopom a ich časovú stabilitu, ktorú sme vyhodnotili. Nakoniec sme zaznamenali a rekonštruovali digitálne hologramy, kde sme pozorovali amplitúdové ale hlavne aj fázové predmety.

Počas písania bakalárskej práce som sa toho veľa naučil, prakticky som si overil ako funguje digitálna holografia a rekonštrukcia záznamov v programe MATLAB. Taktiež dúfam, že tento text bude v budúcnosti nápomocný niekomu, koho bude táto problematika zaujímať.

Literatúra

- [1] SALEH, B. E. A., TEICH, M. C. Základy fotoniky 1-4. Matfyzpress, Praha 1994.
- [2] KREIS, Thomas. Handbook of holographic interferometry: optical and digital methods. Weinheim: WILEY-VCH, 2005, s. 119-123. ISBN 9783527405466.
- [3] GABOR, Dennis. (1948) A New Microscope Principle. Nature, 161, 777-778.
- [4] GOODMAN, Joseph W. Introduction to Fourier optics. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1996. ISBN 0-07-024254-2.
- [5] BENTON, Stephen A. a V. Michael. BOVE. Holographic imaging. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2008. ISBN 978-0-470-06806-9.
- [6] E. N. Leith and J. Upatnieks, Wavefront Reconstruction with Continuous-Tone Objects, J. Opt. Soc. Am. 53, 1377-1381 (1963)
- [7] Holografie. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2018-04-19]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Holografie>
- [8] MALACARA, Daniel. Optical shop testing. 3rd ed. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2007, kap. 14. ISBN 978-0-471-48404-2.
- [9] VOELZ, David George. Computational fourier optics: a MATLAB tutorial. Bellingham, Wash.: SPIE Press, c2011. ISBN 978-0-8194-8204-4.