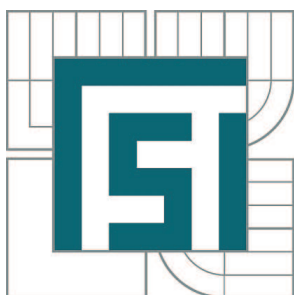


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ  
ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING  
INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

## FRESNELOVA NEKOHERENTNÍ KORELAČNÍ HOLOGRAFIE (FINCH)

FRESNEL INCOHERENT CORRELATION HOLOGRAPHY (FINCH)

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. PETR BOUCHAL

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. RADIM CHMELÍK, Ph.D.

BRNO 2012

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství

Ústav fyzikálního inženýrství

Akademický rok: 2011/2012

## **ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**

student(ka): Bc. Petr Bouchal

který/která studuje v **magisterském navazujícím studijním programu**

obor: **Fyzikální inženýrství a nanotechnologie (3901T043)**

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

### **Fresnelova nekoherentní korelační holografie (FINCH)**

v anglickém jazyce:

### **Fresnel Incoherent Correlation Holography (FINCH)**

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Metoda FINCH umožňuje záznam hologramu v nekoherentním světle tím, že pomocí optického modulátoru vytvoří referenční i předmětovou vlnu s odlišnými geometriemi z jediného zdroje, jímž je nekoherentně osvětlený či fluoreskující předmět.

Cíle diplomové práce:

- odvodit teoretický popis zobrazení (PSF, měřítko zobrazení)
- optimalizovat experimentální sestavu z hlediska příčného a podélného rozlišení
- uvážit vliv rozšíření spektrálního pásma osvětlení
- experimentálně ověřit teoretické výsledky

Seznam odborné literatury:

- [1] J. Rosen, G. Brooker: Digital spatially incoherent Fresnel holography. Optics Letters, Vol. 32, Issue 8, pp. 912-914.  
[2] M. Born, E. Wolf, Principles of optics, 7th exp. ed. Cambridge university press 1999.

Vedoucí diplomové práce: prof. RNDr. Radim Chmelík, Ph.D.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2011/2012.

V Brně, dne 24.11.2011

L.S.

---

prof. RNDr. Tomáš Šíkola, CSc.  
Ředitel ústavu

---

prof. RNDr. Miroslav Doupovec, CSc.  
Děkan fakulty

## Abstrakt

Diplomová práce se zabývá studiem Fresnelovy nekoherentní korelační holografie, v literatuře známé pod akronymem FINCH (Fresnel Incoherent Correlation Holography). Princip metody umožňuje vytvoření holografického korelačního záznamu při použití kvazimonochromatického, prostorově nekoherentního osvětlení a následnou trojrozměrnou numerickou rekonstrukci zaznamenaného objektu. Systém s výhodou využívá jednoduché experimentální sestavy, vybudované na jednocestném Michelsonově interferometru. Metoda FINCH úspěšně kombinuje prvky klasické a digitální holografie a využívá pokročilých experimentálních technik, ve kterých je vznik interferujících svazků zprostředkován prostorovým modulátorem světla, dynamicky ovládaným pomocí elektrooptického jevu.

Diplomová práce prezentuje nový matematický model metody FINCH umožňující intuitivní pochopení optické a digitální fáze zobrazení a popis základních zobrazovacích parametrů. Tento model je následně využit při optimalizaci systému z hlediska požadovaných nároků na obrazový výkon a při demonstraci rozlišení pod Rayleighovou difrakční mezí. V rámci teoretické a experimentální činnosti jsou detailně studovány korelační režimy záznamu a rekonstrukce objektu, objasněny projevy kvazimonochromatického světla a stanoven limit pro přípustnou koherenční délku zdroje. V experimentální části diplomové práce jsou ověřeny dosud známé konfigurace FINCH a zkoumána kvalita rekonstrukce optických testů i reálných preparátů. Významným přínosem diplomové práce je teoretický návrh a experimentální ověření zcela nového režimu zobrazení, které pracuje s vírovou impulzní odezvou a umožňuje spirální zvýraznění kontrastu hrany trojrozměrných amplitudových objektů při použití prostorově nekoherentního světla.

## Abstract

This master's thesis develops a novel method of digital holography, from recent studies known as Fresnel Incoherent Correlation Holography (FINCH). The method enables the reconstruction of the correlation records of three-dimensional objects, captured under quasi-monochromatic, incoherent illumination. The experimental system is based on an action of a Spatial Light Modulator, driven by computer generated holograms to create mutually correlated beams. Both optical and digital parts of the experiment can be carried out using procedures of classical holography, diffractive optics and digital holography.

As an important theoretical result of the master's thesis, a new computational model was proposed, which allows to describe the experiment completely with respect to its two basic phases. The proposed model allows to understand the method intuitively and can be used additionally for analysis and interpretation of the imaging parameters and the system optimization. The theoretical part of the master's thesis also presents a detailed description of the correlation imaging based on an appropriate reconstruction process. Computational models were developed for both monochromatic and quasi-monochromatic illumination. In experimental part, all theoretical results were verified. The imaging parameters were examined using standard resolution target tests and appropriate biological samples. As an original experimental result, spiral modification of the system resulting in a vortex imaging was proposed and realized. Here, a selective edge enhancement of three-dimensional objects is possible, resulting in a significant extension of possible applications of the method.

**klíčová slova:**

prostorová modulace světla, difrakční optika, částečná koherence v zobrazování, digitální holografie, trojrozměrná mikroskopie

**key words:**

spatial light modulation, diffractive optics, partial coherence in imaging, digital holography, three-dimensional microscopy

Bouchal, P. *Fresnelova nekoherentní korelační holografie (FINCH)*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2012. 63 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Radim Chmelík, Ph.D.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem tuto práci napsal samostatně s použitím uvedené literatury a pod vedením prof. RNDr. Radima Chmelíka, Ph.D.

V Brně dne 23. května 2012

.....

### **Poděkování:**

Děkuji vedoucímu práce prof. RNDr. Radimu Chmelíkovi, Ph.D. za čas věnovaný konzultacím a odborným radám. Poděkování patří také mé rodině za podporu během celého studia.



# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Konfigurace a aplikační potenciál metody FINCH</b>	<b>2</b>
2.1	Teoretické a experimentální zázemí . . . . .	4
<b>I</b>	<b>Monochromatický FINCH</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>Princip metody FINCH</b>	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>Matematický model metody FINCH</b>	<b>6</b>
4.1	Paraxiální aproximace zobrazení . . . . .	7
4.1.1	Interpretace hologramu bodového zdroje . . . . .	8
4.1.2	Rekonstrukce hologramu v paraxiální aproximaci . . . . .	10
4.1.3	Určení základních geometrických parametrů zobrazení . . . . .	11
4.1.4	Konfigurace s předmětovou a obrazovou telecentricitou . . . . .	12
4.1.5	Popis zorného pole systému . . . . .	14
4.2	Vlnový popis metody FINCH . . . . .	16
4.2.1	Trojrozměrná PSF pro speciální případy . . . . .	19
4.2.2	Vlastnosti syntetické čočky . . . . .	20
4.2.3	Překročení difrakčního limitu optického zobrazení . . . . .	21
<b>5</b>	<b>Koherentní režim rekonstrukce</b>	<b>23</b>
<b>6</b>	<b>Nové modifikace metody FINCH</b>	<b>25</b>
6.1	Spirální FINCH . . . . .	26
6.1.1	Mikroskopie se spirálním fázovým kontrastem . . . . .	26
6.1.2	FINCH se selektivním zvýrazněním amplitudových rozhraní . . . . .	27
6.2	Dvoučočkový FINCH . . . . .	28
<b>7</b>	<b>Numerická rekonstrukce hologramu</b>	<b>30</b>
<b>8</b>	<b>Optimální konfigurace systému</b>	<b>32</b>
8.1	Diskretizace signálu při prostorové modulaci . . . . .	32
8.2	Rozměrový návrh . . . . .	33
<b>9</b>	<b>Experimentální výsledky</b>	<b>34</b>
9.1	Základní a modifikované verze experimentů . . . . .	34
9.2	Přímý záznam obrazu v sestavě pro metodu FINCH . . . . .	35
9.3	Standardní FINCH zobrazení . . . . .	35
9.3.1	Bodové a dvoubodové zobrazení . . . . .	36
9.3.2	Zobrazení reálných objektů . . . . .	38
9.3.3	Zobrazení s rozlišením pod difrakčním limitem . . . . .	38
9.4	Dvoučočkový FINCH . . . . .	40
9.5	Korelační zorné pole systému a jeho maximalizace . . . . .	43

9.6	Realizace spirálního amplitudového kontrastu . . . . .	45
9.7	Shrnutí aplikačního potenciálu . . . . .	48
<b>II</b>	<b>Kvazimonochromatický FINCH</b>	<b>50</b>
<b>10</b>	<b>Matematický model</b>	<b>50</b>
10.1	Nedisperzní model . . . . .	52
10.1.1	Výpočet OPD . . . . .	53
<b>11</b>	<b>Experimenty s kvazimonochromatickým světlem</b>	<b>56</b>
<b>12</b>	<b>Závěr</b>	<b>59</b>

# 1 Úvod

Historie optické mikroskopie se začala psát v průběhu 17. století vytvořením prvních přístrojů umožňujících pozorování objektů alespoň s malým zvětšením. Z dnešního pohledu se jednalo o jednoduché, zpravidla jednočočkové systémy, které však položily základy zcela novému odvětví. Snahy a úspěchy prvních experimentátorů umožňovaly neustálý vývoj, který postupně vedl ke zvyšování nároků na zobrazení a odrážel se v narůstající složitosti používaných sestav. Mezníkem z hlediska moderní mikroskopie se však stalo až 19. století, kdy Ernst Abbe jako první vytvořil teorii vysvětlující vznik obrazu v mikroskopu a dále navrhl první apochromatické objektivy umožňující lépe korigovat vady zobrazení. Díky navazujícímu rozvoji techniky a výrobních technologií je v současnosti běžné pozorování až na samotné hranici určené fyzikálními zákony a klasická mikroskopie se štěpí do mnoha odvětví.

V dnešní době existuje řada oblastí vědy a techniky využívajících možností optické mikroskopie. Výrazným trendem je snaha o interdisciplinární propojení, které využívá potenciál jednotlivých oblastí. Samozřejmostí se stává i spojení experimentu s výpočetní technikou a řízení experimentu počítačem. To klade zcela nové nároky na prvky využívané v experimentálních sestavách. Prostorový modulátor světla (SLM - Spatial Light Modulator) je příkladem moderního optoelektronického zařízení, které díky své komplexnosti nachází uplatnění v širokém spektru moderních, ale i klasických optických metod. Díky jeho variabilitě lze SLM úspěšně implementovat do rozličných částí experimentálních sestav užívaných v optické mikroskopii. V osvětlovacích systémech umožňuje v reálném čase měnit nasvětlení vzorku s ohledem na používaný zobrazovací režim. Časté je také využití SLM jako fourierovského filtru s možností fázové nebo amplitudové modulace prostorového spektra na úrovni jednotlivých komponent. S výhodou lze poté provazovat transformace v osvětlovacích částech se současnou vhodně volenou spektrální filtrací. SLM dále umožňuje nahradit činnost řady klasických optických prvků (čoček, hranolů, difrakčních mřížek) a dynamicky mezi nimi přepínat. Toho lze využít pro změnu konfigurace systému v reálném čase nebo pro usnadnění justážních činností. Svě uplatnění nachází i v oblastech adaptivní optiky při korekcích vlnoplochy a odstraňování aberací optických systémů. Negativní vlastností SLM je pouze nutnost redukce fáze simulovaných optických prvků na interval  $\langle 0, 2\pi \rangle$ . Tím vznikají periodické struktury, jejichž návrh a vlastnosti jsou podrobně studovány v rámci difrakční optiky. Vzhledem k tomu, že aktivní plocha SLM je tvořena oddělenými buňkami kapalných krystalů, je nutné periodické pracovní struktury vytvářet kontrolovaně, s ohledem na splnění pravidel užívaných při vzorkování optického signálu.

Fresnelova nekoherentní korelační holografie (FINCH), prezentovaná v diplomové práci, je svým principem úzce spojena s činností SLM a aplikačním potenciálem míří především do oblasti optické mikroskopie. Metoda je výhodná zejména tím, že umožňuje vytvořit korelační záznam trojrozměrných objektů pomocí kvazimonochromatického, prostorově nekoherentního záření. Výsledný hologram je tvořen nekoherentní superpozicí interferenčních záznamů jednotlivých předmětových bodů, které vznikají dělením vlnoplochy pomocí SLM v jednocestném Michelsonově interferometru. Rekonstrukce objektu se provádí numerickým zpracováním intenzitních záznamů pořízených pomocí CCD kamery. Metoda FINCH umožňuje variabilitu jak v optické, tak i digitální fázi vzniku obrazu a může pra-

covat v rozdílných režimech zobrazení přizpůsobených konkrétním aplikacím. Atraktivita metody FINCH je ještě zvýšena možností přímého využití ve fluorescenční mikroskopii.

V diplomové práci je metoda FINCH teoreticky a experimentálně zkoumána na dvou odlišných úrovních prezentovaných ve dvou základních částech práce. V první části je na úrovni vhodných aproximací vybudován nový matematický model metody, který dává názornou představu o vzájemné provázanosti optické a digitální fáze vzniku obrazu, umožňuje stanovit rozměrovou vazbu mezi optickým systémem a parametry rekonstruovaného obrazu, diskutovat dosažitelný obrazový výkon a optimalizovat konfiguraci a parametry experimentu. V této části jsou rovněž prezentovány některé netradiční vlastnosti metody FINCH, diskutována a experimentálně ověřena možnost subdifrakčního rozlišení a proveden návrh modifikace systému, který zajistí výrazné zvětšení zorného pole. Významným přínosem této části diplomové práce je návrh vírového režimu zobrazení, které umožňuje zvýšení kontrastu hrany trojrozměrných amplitudových objektů při použití prostorově nekoherentního světla. Tato metoda je původní a v diplomové práci je demonstrována několika experimenty. Základem všech výpočtů a experimentů prezentovaných v první části je předpoklad prostorově nekoherentního záření s dokonalou časovou koherencí. Ve výpočtech se tedy pracuje s monochromatickým zářením a v experimentech je spektrum použitého zdroje zúženo interferenčním filtrem o šířce 3 nm. Za těchto podmínek lze záznam každého předmětového bodu považovat za výsledek interference signální a referenční vlny, které jsou plně korelované.

V některých předpokládaných aplikacích FINCH zobrazení se pracuje se slabým optickým signálem a významným přínosem může být využití záření se zvětšenou šířkou spektra. Této problematice je zasvěcena druhá hlavní část diplomové práce. Diskuse a experimenty vycházejí z výpočetního modelu, který pracuje se základními kvantitativními mírami teorie koherence druhého řádu. V tomto přístupu je proveden popis holografického záznamu jednotlivých předmětových bodů, který pracuje s interferencí částečně korelovaných vln. Následně je nalezena bodová rozptylová funkce (PSF - Point Spread Function), která umožňuje analyzovat kvalitu rekonstruovaného obrazu pro dané spektrální vlastnosti použitého zdroje. Současně jsou diskutovány i různé konfigurace experimentu, které umožňují snížit rozdíl optických drah interferujících svazků a tím zvýšit přípustnou šířku spektra použitého záření. Na základě teoretické a experimentální analýzy degradace obrazu je stanoven odhad přípustné koherenční délky zdroje pro FINCH zobrazení.

Základní principy metody FINCH i veškeré nové teoretické návrhy a modifikace jsou v obou hlavních částech práce doprovázeny důsledným experimentálním ověřením. Jako nekoherentní zdroje jsou užívány luminiscenční diody nebo halogenové žárovky. Při analýze obrazového výkonu jsou používány rozlišovací testy USAF. Potenciál nového zobrazovacího režimu, který umožňuje anizotropní spirální kontrast, je prezentován pomocí vhodných preparátů a demonstračních objektů.

## 2 Konfigurace a aplikační potenciál metody FINCH

S nástupem moderních optoelektronických zařízení v několika posledních desítkách let došlo k rychlému rozvoji aplikované optiky, popřípadě vzniku zcela nových optických odvětví. FINCH díky svému principu, zajímavému fyzikálnímu pozadí a možnostem uplatnění, úspěšně rozšiřuje řady těchto perspektivních metod. Současná optika využívá technic-

kého pokroku v detekci optického signálu a jednoduché možnosti digitalizace dat a jejich shromažďování. Setkáváme se proto se stále sofistikovanějšími principy, které využívají do-  
datečného numerického zpracování měřených dat. Protože z hlediska optického záznamu  
lze nejdůležitější informaci o pozorované scéně uchovat v hologramu, není překvapením, že  
digitální holografie je v současnosti jednou z neaktivnějších oblastí optiky.

Klasická holografie [1, 2], nebo její digitální verze založená na numerické rekonstrukci  
hologramu [3], využívá koherentních zdrojů záření. Ty jsou nezbytné pro samotný prin-  
cip holografie, který uchovává informaci o zobrazovaném objektu v interferenčním poli  
vzájemně korelovaných signálů. V posledních letech se objevily nové korelační metody,  
které využívají záření s nízkou prostorovou koherencí a širokým spektrem [4, 5, 6]. Me-  
toda FINCH je jednou z těchto metod. Její princip umožňuje zaznamenat hologram při  
použití kvazimonochromatického, prostorově nekoherentního osvětlení. Tyto metody mají  
značný aplikační potenciál, protože dávají možnost využít úplnou holografickou informaci  
o pozorovaném objektu v systémech, u nichž není možné takový typ zobrazení běžně  
realizovat.

Potenciál metody FINCH byl poprvé prezentován v roce 2007 rekonstrukcí hologramu  
zaznamenaného při nekoherentním osvětlení [7]. Následně byl nastíněn jeden z aplikačně  
nejzajímavějších směrů umožňující FINCH zobrazení fluoreskujících předmětů [8]. Po ově-  
ření funkčnosti metody se upřela snaha k návrhu optimální konfigurace systému zajišťující  
všestrannou kvalitu zobrazení. První rozměrový návrh byl proveden na základě experi-  
mentálních zkušeností bez adekvátní teoretické analýzy a plně nedokázal využít možností  
metody FINCH [9]. Následně byl vytvořen kompletní výpočetní model metody, který pro-  
kázal, že dříve navržená konfigurace experimentu nevyužívá zobrazovací výkon použitého  
optického systému a v průběhu záznamu a rekonstrukce obrazu dochází k dvojnásobnému  
zhoršení jeho rozlišovací schopnosti. Současně bylo navrženo uspořádání, při kterém kva-  
lita rekonstruovaného obrazu odpovídá difrakčnímu limitu optického systému použitého  
v experimentu [10]. Systematický výzkum ukázal možnost dalších vylepšení vedoucích  
k zobrazení pod Rayleighovým difrakčním limitem vstupního optického systému, a to na  
základě dvou odlišných principů [11, 12]. Subdifrakční rozlišení je průkazné, problém jeho  
kvantifikace je ale komplikovaný jak z teoretického, tak i experimentálního hlediska a není  
dosud uspokojivě vyřešen. Následně byl navržen princip vedoucí k celkovému zlepšení  
pozorovaného obrazu z hlediska kontrastu a šumu [13].

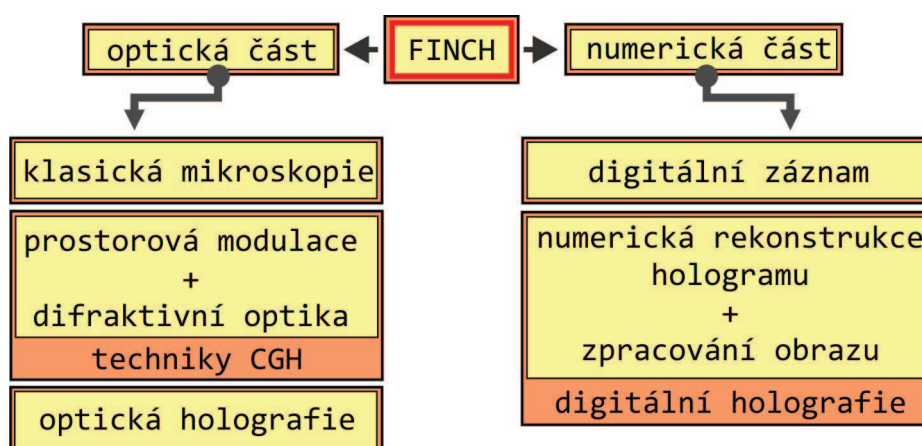
Další významné vlastnosti metody FINCH vyplynuly z matematického popisu, který  
objasňuje souvislost mezi geometrií pozorovaných objektů a strukturou holografických zá-  
znamů a poskytuje intuitivní pochopení vlastností podmíněných kombinací optické a digi-  
tální fáze zobrazení. V tomto přístupu bylo prokázáno, že přestože záznam pozorovaného  
objektu je proveden s prostorově nekoherentním světlem, rekonstrukce obrazu probíhá  
v plně koherentním režimu [10]. Tato specifická vlastnost umožňuje kombinovat FINCH  
zobrazení s metodami, jejichž princip vyžaduje použití koherentního světla a modifikovat  
je tak, aby mohly pracovat také s osvětlením nekoherentním. Konkrétním příkladem  
je propojení FINCH zobrazení se spirální mikroskopií [14, 15] a dosažení anizotropního  
zvýšení kontrastu hran trojrozměrných amplitudových objektů při použití nekoherentních  
zdrojů světla [16].

Z experimentálního hlediska je významná skutečnost, že korelační záznamy objektu  
se realizují v jednocestném interferometru pomocí SLM. To zaručuje vysokou stabilitu

systemu a jeho odolnost proti vlivům okolního prostředí, ale současně také minimalizuje rozdíly optických drah korelovaných svazků. Rozdíl optických drah lze dále snižovat vhodnou změnou geometrie interferujících vln. To se ukazuje jako zásadní pro zvětšení přípustné šířky spektra používaných zdrojů [12, 17].

## 2.1 Teoretické a experimentální zázemí

Přestože jednou z hlavních výhod metody FINCH je nenáročnost experimentální sestavy, spojuje se v ní několik optických disciplín. Na vznik obrazu lze pohlížet jako na dvoustupňový proces, který sestává z opticky realizovaných korelačních záznamů objektu a z jejich následného numerického zpracování. Tyto základní fáze FINCH zobrazení mají vlastní vnitřní strukturu a zahrnují řadu dalších operací. Jejich uspořádání je zřejmé z blokového schématu v obrázku 1.



**Obrázek 1:** Schematické znázornění principů užívaných v metodě FINCH.

Optická část experimentu zahrnuje přípravu a nasvětlení vzorku pomocí postupů užívaných u transmisních nebo reflexních optických mikroskopů. Světlo ovlivněné preparátem je zachyceno optickým systémem, který v praktických případech představuje kvalitní mikroskopový objektiv s korekcí na nekonečno. Kolimované světelné svazky dopadají na SLM, který světlo vycházející z jednotlivých bodů preparátu štěpí na signální a referenční vlnu. Tuto operaci zajišťuje řídicí fázová mapa odeslaná z počítače na SLM. Lze ji považovat za počítačem generovaný hologram (CGH - Computer Generated Hologram) a pro její přípravu jsou využity metody známé z difrakční optiky [18, 19]. Korelační záznam objektu je proveden pomocí CCD prvku, který umožňuje digitalizaci signálu a jeho následné numerické zpracování. To je realizováno pomocí algoritmů známých z digitální holografie. V průběhu numerického zpracování holografických záznamů se otevírají další možnosti pro vylepšení nebo modifikaci rekonstruovaného obrazu. Detailní popis metody, který umožní komplexnější pochopení problematiky, je prezentován v následujících kapitolách diplomové práce.

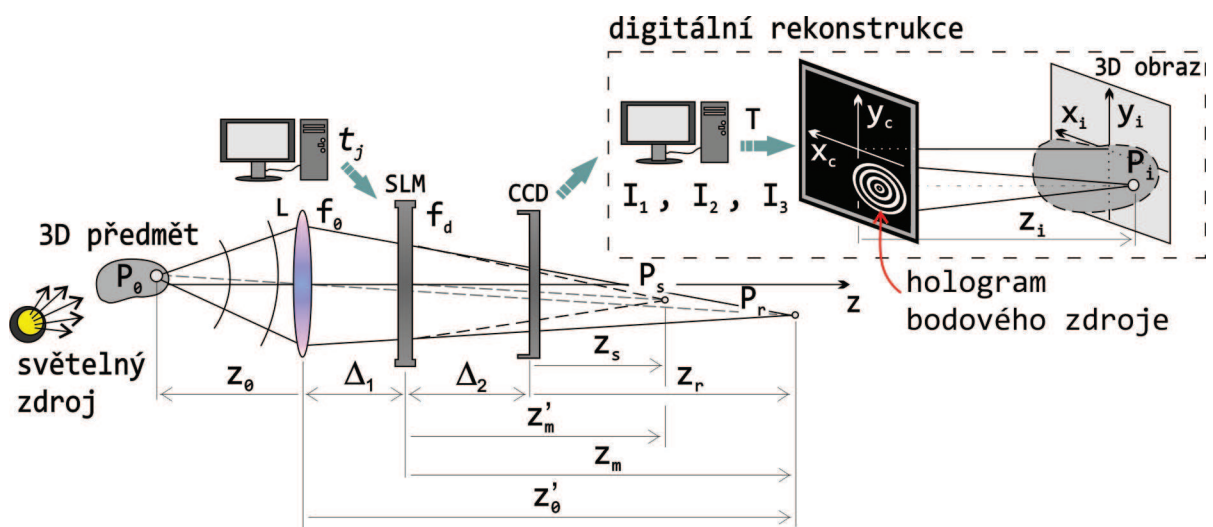
## Část I

# Monochromatický FINCH

Diplomová práce je rozdělena do dvou hlavních částí, ve kterých je problematika FINCH zobrazení řešena v odlišných přístupech. V první části je základní princip metody objasňován na základě podpůrných výpočtů a experimentů, které předpokládají extrémně úzké spektrum použitého zdroje. Druhá část práce předpokládá užití kvazimonochromatického záření a zahrnuje diskusi efektů spojených s časovou koherencí optického signálu vyzářeného zdroje s redukovanou koherenční délkou.

### 3 Princip metody FINCH

Metoda FINCH je další z řady interferometrických metod využívajících principů optické a digitální holografie. Tyto metody se často liší jen mechanismem generace interferujících svazků, které vytvářejí korelační záznam předmětu. V případě FINCH zobrazení je experimentálním základem jednocestný Michelsonův interferometr. V tomto uspořádání jsou interferující svazky vytvářeny pomocí SLM adresovaného vhodnou fázovou funkcí, která zajistí rozdělení vstupní vlny na vlnu signální a referenční.



**Obrázek 2:** Schematické znázornění záznamu hologramu bodového zdroje a jeho digitální rekonstrukce metodou FINCH.  $P_0(x_0, y_0, z_0)$  - bodový zdroj,  $t_j$  funkce propustnosti SLM.  $P_r(x_r, y_r, z_r)$  - obraz bodu  $P_0$  vytvořený čočkou  $L$ ,  $P_s(x_s, y_s, z_s)$  - obraz bodu  $P_0$  formovaný signální vlnou,  $P_i(x_i, y_i, z_i)$  - pozice digitálně rekonstruovaného obrazu bodu  $P_0$  (podélné souřadnice vztaženy k rovině CCD).

Pro pochopení principu metody FINCH je vhodné pohlížet na zobrazovaný objekt umístěný před kolimačním optickým systémem jako na soubor vzájemně nekorelovaných bodových zdrojů, nebo bodových rozptylových center. Této situace je jednoduše dosaženo tak, že transmisní nebo reflexní objekty jsou osvětleny prostorově nekoherentním zdrojem. Další možností je využití objektů, které jsou samy zdrojem nekoherentního záření.

Každý z uvažovaných bodů objektu tak můžeme považovat za bodový zdroj, který vysílá divergentní sférickou vlnu úplně nekorelovanou s vlnami vyzářenými okolními body. Tento optický signál je zachycen vstupní kolimační optikou a směřován k SLM. Protože světlo od jednotlivých bodů objektu vzájemně neinterferuje, je postačující diskutovat holografický záznam pro jediný bod zobrazovaného objektu. Sférická vlna, kterou uvažovaný bodový zdroj vyzáří, je transformovaná kolimační optikou a dopadá na SLM. Zde je rozdělena do dvou vln, které v souladu s terminologií holografie budeme nazývat vlnou signální a referenční. Toho je dosaženo působením SLM, který je adresován vhodně navrženým CGH. Obě vytvořené vlny mají původ v tomtéž bodovém zdroji a jsou schopny interference. Vytvořený interferenční obrazec je ovlivněn rozdílnou geometrií skládaných vln a nese úplnou informaci o geometrické pozici odpovídajícího bodového zdroje a o jeho amplitudě. Celkový záznam zobrazovaného objektu, provedený pomocí CCD, je potom tvořen nekoherentním součtem interferenčních záznamů vytvořených pro jednotlivé body předmětu.

Z uvedeného popisu a schematického znázornění v obrázku 2 vyplývá, že FINCH patří do kategorie metod osové holografie. Ty se při rekonstrukci hologramu vyznačují tím, že rekonstruovaný obraz vzniká v ose systému a překrývá se s konjugovaným obrazem a přímým světlem. V metodě FINCH je separace požadovaného obrazu realizována postupem známým z digitální holografie [20]. Ten vyžaduje opakovaný záznam pozorovaného objektu s rozdílným fázovým posunutím interferujících vln. V případě metody FINCH je SLM adresován postupně třemi CGH, které lze zapsat ve tvaru

$$t_j = a \exp(i\theta_r) + b \exp(i\theta_s - i\vartheta_j), \quad j = 1, 2, 3, \quad (1)$$

kde  $a$  a  $b$  udávají míru rozdělení energie do referenčního a signálního svazku,  $\vartheta_j$  je konstantní fázový posuv a  $\theta_r$  a  $\theta_s$  jsou zatím blíže nespecifikované fázové funkce, které definují tvarování vlnoploch interferujících vln. Zapišeme-li vlnu vycházející z předmětového bodového zdroje při dopadu na SLM jako  $U_m = u \exp(i\Phi)$ , bude signál po prostorové modulaci popsán výrazem  $U_j = U_m t_j$ . Jeho komplexní amplitudu lze přepsat do tvaru

$$U_j = a_r \exp(i\Phi_r) + a_s \exp(i\Phi_s - i\vartheta_j)$$

kde  $a_r$ ,  $\Phi_r$  a  $a_s$ ,  $\Phi_s$  jsou amplitudy a fáze referenční a signální vlny. Protože komplexní amplituda  $U_j$  je koherentní superpozicí dvou vln, jsme schopni postupně získat v rovině záznamového média tři interferenční obrazce s intenzitou  $I_j = |U_j|^2$ ,  $j = 1, 2, 3$ . Numerickým zpracováním záznamů  $I_j$  pořízených s vhodně zvolenými konstantními fázovými posuvy  $\vartheta_j$  získáme hologram, ve kterém není obsažen nežádoucí konjugovaný obraz ani přímé světlo. Hologram těchto vlastností, odpovídající bodovému zobrazení, nabývá tvaru

$$T = i\sqrt{3}a_r a_s \exp[i(\Phi_s - \Phi_r)]. \quad (2)$$

Digitální rekonstrukce hologramu se provádí pomocí Fresnelovy transformace, kterou lze numericky realizovat s využitím algoritmů rychlé Fourierovy transformace (FFT - Fast Fourier Transform).

## 4 Matematický model metody FINCH

V zobrazovací optice je obvyklé diskutovat vlastnosti optického systému s ohledem na PSF, která představuje odezvu na bodový zdroj nebo bodový předmět. PSF pro FINCH



zobrazení byla studována v [21] za předpokladu osově pozice předmětového bodu. V diplomové práci je tento přístup rozšířen a zobecněn tak, aby byl využitelný k analýze geometrických poměrů zobrazení a pro komplexní zhodnocení obrazového výkonu. Bodové zobrazení je v diplomové práci řešeno na dvou rozdílných úrovních. V aproximaci geometrické optiky je FINCH zobrazení analyzováno se zanedbáním difrakčních jevů. V tomto přístupu je provedeno odvození příčného a podélného měřítka zobrazení. Ve vlnovém přístupu je proveden popis záznamu hologramu a jeho rekonstrukce při uvážení příčného ohraničení světelných vln v optickém systému. Kombinace geometrického a vlnového přístupu umožňuje zkoumat systém z hlediska maximální rozlišovací schopnosti a optimální volby geometrie experimentu pro dosažení požadovaných parametrů zobrazení.

## 4.1 Paraxiální aproximace zobrazení

V rámci paraxiálního modelu FINCH zobrazení je optická záznamová fáze i digitální rekonstrukční fáze popsána se zanedbáním příčného omezení světla a výpočetní model pracuje s ideálními homocentrickými vlnami. Dalším užitým zjednodušením je paraxiální aproximace, ve které mohou být sférické vlny nahrazeny vlnami paraboloidními. V tomto přístupu je rekonstruovaný obraz určen Diracovou delta funkcí, která definuje geometrickou vazbu mezi předmětovými body a odpovídajícími obrazovými body. Tento model nedává informaci o reálných limitech zobrazení daných difrakčními jevy, umožňuje ale jednoznačně definovat měřítka zobrazení a odhalit některé z netradičních zobrazovacích vlastností metody FINCH [10].

V následujícím matematickém popisu využijeme značení zavedené v obrázku 2. Uvažujme, že z bodu  $P_0(x_0, y_0, z_0)$ , umístěného v předmětovém prostoru optického systému, vychází paraboloidní vlna s dominantním směrem šíření v kladném směru osy  $z$ . Komplexní amplituda  $U_0$  této vlny při dopadu na kolimační čočku nabývá tvaru

$$U_0 = \exp(ikz_0) \exp \left[ ik \frac{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2}{2z_0} \right].$$

Po transformaci kolimační čočkou určenou fázovou funkcí

$$t_c = \exp \left( ik \frac{x^2 + y^2}{2f'_0} \right),$$

získáme vlnu  $U'_0 = t_c U_0$ . V rovině SLM může být její komplexní amplituda zapsána jako

$$U_m = K \exp \left[ ik \frac{(x_m - x_r)^2 + (y_m - y_r)^2}{2z_m} \right],$$

kde  $x_m, y_m$  jsou příčné souřadnice v rovině SLM,  $z_m = z'_0 - \Delta_1$  a  $K$  je fázová funkce závisající na pozici předmětového bodu a ohniskové vzdálenosti kolimátoru. Souřadnice  $x_r$  a  $y_r$  odpovídají obrazu bodu  $P_0$ , který je vytvořen kolimační čočkou. Vlna dopadající na SLM je ovlivněna funkcí propustnosti  $t_j$ , jejíž obecný tvar (1) určuje amplitudové rozštěpení  $U_m$  na vlnu referenční a signální. V základní konfiguraci FINCH zobrazení tyto

vlny odpovídají vlně rovinné a paraboloidní. CGH zapsaný na SLM má pro tento případ tvar

$$t_j = a \exp(i\theta_r) + b \exp\left(ik \frac{x_m^2 + y_m^2}{2f_d} + i\vartheta_j\right). \quad (3)$$

První člen má konstantní fázi  $\theta_r$  a odpovídá referenční vlně  $U_r$ . Druhý člen má kvadratickou fázi čočky o ohniskové vzdálenosti  $f_d$ , posunutou o konstantní fázi  $\vartheta_j$  a souvisí se vznikem signální vlny  $U_{s_j}$ . V rovině CCD lze referenční a signální vlnu popsat výrazy

$$U_r = a_r K \exp\left[ik \frac{(x_c - x_r)^2 + (y_c - y_r)^2}{2z_r}\right], \quad (4)$$

$$U_{s_j} = a_s K K' \exp\left[ik \frac{(x_c - x_s)^2 + (y_c - y_s)^2}{2z_s} + i\vartheta_j\right], \quad (5)$$

kde  $K' = \exp(i\varsigma)$  je fázová funkce závislá na pozici předmětového bodu a na ohniskových vzdálenostech kolimačního objektivu a čočky vytvořené na SLM. Protože vlny (4) a (5) mají původ ve stejném bodovém zdroji  $P_0$ , jsou vzájemně korelované a mohou interferovat. Intenzita odpovídající interferenci těchto vln v rovině záznamového média je dána vztahem

$$I_j = a_r^2 + a_s^2 + 2a_r a_s \cos(\Phi_s - \Phi_r + \varsigma - \vartheta_j), \quad (6)$$

kde

$$\Phi_l = k \frac{(x_c - x_l)^2 + (y_c - y_l)^2}{2z_l}, \quad l = r, s. \quad (7)$$

Výsledný záznam bodového zdroje  $T$ , používaný při rekonstrukci, vzniká zpracováním intenzit  $I_j$  podle vztahu

$$T = I_1 [\exp(i\vartheta_3) - \exp(i\vartheta_2)] + I_2 [\exp(i\vartheta_1) - \exp(i\vartheta_3)] + I_3 [\exp(i\vartheta_2) - \exp(i\vartheta_1)]. \quad (8)$$

Při volbě  $\vartheta_1 = 0$ ,  $\vartheta_2 = 2\pi/3$  a  $\vartheta_3 = 4\pi/3$ , lze výraz (8) upravit do tvaru

$$T = AK' \exp[i(\Phi_s - \Phi_r)], \quad (9)$$

kde  $A = -i\sqrt{3}a_r a_s$ . Komplexní funkce (9) představuje záznam bodového zdroje popsaný v paraxiální aproximaci. Komplexně sdružený holografický člen a přímé světlo byly odstraněny operací (8), takže rekonstrukcí hologramu (9) je získán nenarušený obraz. Fázová funkce  $K'$  je pro rekonstrukci bodového zdroje nevýznamná. Uplatňuje se však při rekonstrukci plošných nebo trojrozměrných objektů.

#### 4.1.1 Interpretace hologramu bodového zdroje

Hologram bodového předmětu (9) je zapsán v kompaktním tvaru. Skrytě ale obsahuje poměrně komplikovanou vazbu všech parametrů experimentální sestavy. S využitím zobrazovacích rovnic pro kolimační objektiv a čočku vytvořenou pomocí SLM lze hologram (9) upravit tak, aby závisel jen na souřadnicích bodového zdroje  $P_0$  a na základních

geometrických parametrech  $f_0, f_d, \Delta_1$  a  $\Delta_2$ . Toto zjednodušení poskytuje názornou interpretaci holografického záznamu v souvislosti s předmětovou geometrií a usnadňuje volbu rozměrového uspořádání experimentu. Dosazením (7) do (9) lze psát

$$T = AK' \exp \left\{ \frac{ik}{2} \left[ \frac{(x_c - x_s)^2 + (y_c - y_s)^2}{z_s} - \frac{(x_c - x_r)^2 + (y_c - y_r)^2}{z_r} \right] \right\}. \quad (10)$$

Pro další úpravu je výhodné zavést substituci obsahující pouze podélné rozměrové parametry,

$$f_l = \frac{z_s z_r}{z_r - z_s}. \quad (11)$$

S použitím zobrazovacích rovnic pro optické prvky užitě v sestavě je možné (11) přepsat do tvaru

$$f_l = (1 - F) [(1 - F)f_d - \Delta_2], \quad (12)$$

kde

$$F = \frac{\Delta_2(f_0 + z_0)}{f_0 z_0 - \Delta_1(f_0 + z_0)} \quad (13)$$

je funkce závislá pouze na podélné pozici bodového předmětu a základních konstrukčních parametrech sestavy. Obdobným způsobem lze zavést substituce spojující příčné a podélné rozměrové parametry,

$$X' = \frac{z_r x_s - z_s x_r}{z_r - z_s}, \quad (14)$$

$$Y' = \frac{z_r y_s - z_s y_r}{z_r - z_s}. \quad (15)$$

Tyto výrazy lze opět upravit tak, aby závisely pouze na základních parametrech experimentu. Využitím (11), (14) a (15) a následnou úpravou lze (10) přepsat do tvaru

$$T = A \exp(i\Omega_0) \exp \left\{ \frac{ik}{2f_l} \left[ (x_c - X')^2 + (y_c - Y')^2 \right] \right\}, \quad (16)$$

kde výraz

$$\Omega_0 = \frac{k}{\Delta_2 + Ff_d} \left[ \frac{\Delta_2^2}{F} - \frac{Ff_0^2}{2(z_0 + f_0)^2} (x_0^2 + y_0^2) \right] \quad (17)$$

vznikl opět vyjádřením fázové funkce  $K'$  pomocí základních parametrů sestavy. Hologram bodového zdroje má v novém vyjádření (16) tvar kvadratické fáze čočky, která má ohniskovou vzdálenost  $f_l$  a optickou osu příčně posunutou do pozice  $X', Y'$ . Protože tato struktura vznikla matematickou syntézou tří intenzitních záznamů, bude v této práci nazývána syntetická čočka [10]. Digitální rekonstrukce obrazu se provádí pomocí Fresnelovy transformace, která popisuje šíření rovinné vlny po průchodu syntetickou čočkou. Lze tedy intuitivně očekávat, že rekonstruovaný bod vznikne na ose syntetické čočky a jeho pozice bude určena souřadnicemi  $X', Y'$  a ohniskovou vzdáleností  $f_l$ . Tato představa bude v dalším textu prokázána korektním výpočtem.

#### 4.1.2 Rekonstrukce hologramu v paraxiální aproximaci

Rekonstrukcí hologramu provedenou v paraxiální aproximaci a při zanedbání příčného omezení světla lze získat základní geometrickou vazbu mezi předmětovým a digitálně vytvořeným obrazovým prostorem. Tento přístup umožní definovat měřítko zobrazení užívaná v přímém optickém zobrazování.

Pokud budeme předpokládat, že na syntetickou čočku dopadá rovinná monochromatická vlna s jednotkovou amplitudou a zanedbáme její nevýznamný oscilační člen, rekonstrukce obrazu bodového zdroje se redukuje na výpočet konvoluce

$$U = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} T(x_c, y_c) h(x_i - x_c, y_i - y_c, z_i) dx_c dy_c, \quad (18)$$

kde  $U$  značí komplexní amplitudu rekonstruovaného obrazu,  $T$  je funkce syntetické čočky (16) a  $h$  představuje funkci impulsní odezvy pro šíření světla volným prostorem [22]. Použijeme-li v souladu s předpokládanou paraxiální aproximací Fresnelův tvar impulsní odezvy a dosadíme (16), komplexní amplituda  $U$  je dána jako

$$U = A \exp(i\Omega_0) \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \exp \left\{ \frac{ik}{2f_l} \left[ (x_c - X')^2 + (y_c - Y')^2 \right] \right\} \\ \times \exp \left\{ -\frac{ik}{2z_i} \left[ (x_i - x_c)^2 + (y_i - y_c)^2 \right] \right\} dx_c dy_c. \quad (19)$$

Separací kvadratických fázových členů a zavedením vhodných substitucí můžeme konvoluční integrál přepsat do tvaru Fourierovy transformace

$$U = \frac{iA}{\lambda z_i} \exp(i\Gamma) \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \exp \left[ \frac{ik(x_c^2 + y_c^2)}{2} \left( \frac{1}{f_l} - \frac{1}{z_i} \right) \right] \\ \times \exp [i2\pi(x_c \bar{X} + y_c \bar{Y})] dx_c dy_c, \quad (20)$$

kde

$$\bar{X} = \frac{1}{\lambda} \left( \frac{x_i}{z_i} - \frac{X'}{f_l} \right), \quad (21)$$

$$\bar{Y} = \frac{1}{\lambda} \left( \frac{y_i}{z_i} - \frac{Y'}{f_l} \right), \quad (22)$$

$$\Gamma = \Omega_0 - kz_i + k \frac{X'^2 + Y'^2}{2f_l} - k \frac{x_i^2 + y_i^2}{2z_i}.$$

Obraz je nyní popsán Fourierovou transformací kvadratického fázového členu, který určuje míru rozostření obrazu. Protože obsahuje podélnou vzdálenost  $z_i$ , která stanovuje rovinu rekonstrukce obrazu, můžeme jejím vhodným výběrem celý kvadratický fázový člen eliminovat. Tato situace nastává při  $z_i = f_l$  a odpovídá přesnému zaostření obrazu. Ostrý obraz je tedy podle očekávání rekonstruován ve vzdálenosti dané ohniskovou vzdáleností syntetické čočky. Při přesném zaostření obrazu je v použitém limitu geometrické optiky

dosaženo ideálního bodového zobrazení a komplexní amplituda rekonstruovaného obrazu odpovídá Diracově delta funkci,  $U \propto \delta(\bar{X}, \bar{Y})$ . S přihlédnutím k substitucím použitým v (20), můžeme psát zpřesněný tvar výsledku Fourierovy transformace jako

$$U = R \delta\left(\frac{x_i - X'}{z_i}, \frac{y_i - Y'}{z_i}\right), \quad (23)$$

kde  $R = [iA/\lambda f_l] \exp(i\Gamma)$  závisí na pozici obrazového i předmětového bodu. Pro diskusi PSF systému je tento člen ale nevýznamný. Diracova delta funkce ukazuje, že příčné souřadnice rekonstruovaného obrazového bodu jsou dány jako  $x_i = X'$  a  $y_i = Y'$ , takže ostrý obraz vzniká na optické ose syntetické čočky. Touto skutečností je demonstrována zajímavá vlastnost, která je v optice známá jako obrazová telecentricita.

### 4.1.3 Určení základních geometrických parametrů zobrazení

Matematický model vytvořený v přiblížení geometrické optiky poskytuje názornou a velmi užitečnou interpretaci záznamu a rekonstrukce bodového předmětu v metodě FINCH. Pro libovolnou prostorovou pozici bodového předmětu jsou postupně provedeny tři intenzitní záznamy, jejichž zpracováním je zkonstruována fázová funkce syntetické čočky. Její ohnisková vzdálenost je určena podélnou pozicí předmětového bodu, zatímco příčná pozice její optické osy nese informaci o příčných souřadnicích předmětového bodu. Bodový obraz, který vzniká numerickou rekonstrukcí je vytvořen na optické ose syntetické čočky v podélné vzdálenosti, která odpovídá její ohniskové vzdálenosti. Těchto vlastností lze efektivně využít pro stanovení měřítek zobrazení a pro odvození některých speciálních případů FINCH zobrazení plynoucích z geometricky odlišných konfigurací [10].

Příčné měřítko zobrazení je obecně určeno poměrem příčných souřadnic opticky sdružených bodů v předmětovém a obrazovém prostoru. V zavedeném značení tedy pro příčné měřítko můžeme psát  $m = x_i/x_0 = y_i/y_0$ . S použitím (14), (15), (23) a zobrazovacích rovnic může být příčné měřítko vyjádřeno jen pomocí podélné polohy bodového předmětu a základních parametrů systému,

$$m = \frac{f_0 \Delta_2}{z_0(f_0 - \Delta_1) - f_0 \Delta_1}. \quad (24)$$

Podélné měřítko je definováno derivací  $\alpha = dz_i/dz_0 = df_l/dz_0$ . Po dosazení (12), provedení derivace a úpravě, získáme podélné měřítko zobrazení ve tvaru

$$\alpha = \frac{f_0^2 F^2 [2f_d(1 - F) - \Delta_2]}{\Delta_2(z_0 + f_0)^2}, \quad (25)$$

kde  $F$  je určeno pomocí (13).

### Speciální případ I: předmět v blízkosti ohniskové roviny

Podle (24) a (25) lze získat příčná měřítka zobrazení pro zcela obecnou pozici předmětového bodu a libovolnou volbu parametrů systému. Z těchto vztahů lze získat speciální případy, které mohou být výhodné pro použití v některých prakticky významných situacích.

K výraznému zjednodušení měřítek zobrazení dojde v případě umístění zobrazovacího bodu do předmětové ohniskové roviny kolimační čočky, kdy platí  $z_0 \rightarrow -f_0$ . V této konfiguraci vztahy (24) a (25) nabývají jednoduchých tvarů

$$m_F \equiv \lim_{z_0 \rightarrow -f_0} m = -\frac{\Delta_2}{f_0}, \quad (26)$$

$$\alpha_F \equiv \lim_{z_0 \rightarrow -f_0} \alpha = \frac{\Delta_2 - 2f_d}{f_0} m_F.$$

Výrazným způsobem se zjednoduší i vztah (12) pro ohniskovou vzdálenost syntetické čočky používané pro rekonstrukci bodového obrazu,

$$f_{l_F} \equiv \lim_{z_0 \rightarrow -f_0} f_l = f_d - \Delta_2. \quad (27)$$

Tyto zjednodušené vztahy jsou významné, protože pozorovaný objekt je obvykle umístěn do blízkosti předmětové ohniskové roviny kolimační optiky. Lze je proto velmi dobře aplikovat při ideových návrzích nových verzí experimentálního uspořádání.

### Speciální případ II: bezčočkový FINCH

Metoda FINCH umožňuje rovněž zobrazení ve zjednodušené experimentální sestavě, ve které se záznam objektu provádí bez použití kolimační optiky. Parametry zobrazení v tomto případě opět odvodíme z obecných vztahů (24), (25) a (12). Bezčočková sestava odpovídá volbě parametrů  $f_0 \rightarrow \infty$  a  $\Delta_1 \rightarrow 0$  a s jejich použitím dostaneme

$$m_L \equiv \lim_{f_0 \rightarrow \infty} (m) = \frac{\Delta_2}{z_0},$$

$$\alpha_L \equiv \lim_{f_0 \rightarrow \infty} (\alpha) = \frac{[2f_d(1 - m_L) - \Delta_2] m_L^2}{\Delta_2},$$

$$f_{l_L} \equiv \lim_{f_0 \rightarrow \infty} (f_l) = (1 - m_L) [(1 - m_L)f_d - \Delta_2].$$

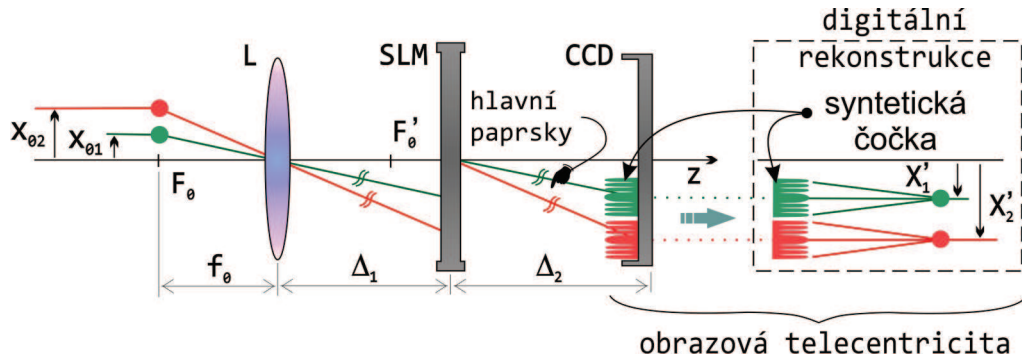
#### 4.1.4 Konfigurace s předmětovou a obrazovou telecentricitou

V předcházejících kapitolách bylo vybudováno zázemí potřebné pro objasnění principu zobrazení metodou FINCH. Matematicky byla odvozena příčná a podélná měřítka zobrazení a diskutována obrazová telecentricita, která má přímou souvislost s principem rekonstrukce zaznamenaného hologramu. Nyní bude určeno nastavení systému, pro které je dosaženo telecentricity v předmětovém prostoru.

Tento zvláštní případ získáme vyšetřením závislosti příčného měřítka zobrazení na poloze předmětu,

$$\frac{dm}{dz_0} = \frac{f_0 - \Delta_1}{f_0 \Delta_2} m^2,$$

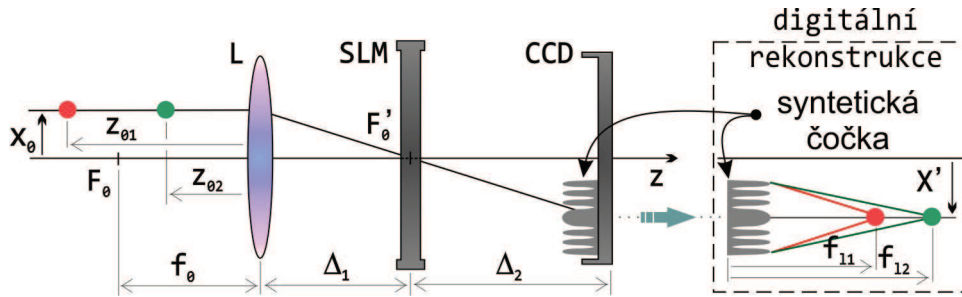
která ukazuje, že její extrém nastává pro  $f_0 = \Delta_1$ . Při použití tohoto nastavení, (24) nabývá tvaru  $m = -\Delta_2/\Delta_1$ , který ukazuje, že příčné měřítka se nemění s podélnou pozicí předmětového bodu a nezávisí rovněž na ohniskové vzdálenosti kolimační čočky



**Obrázek 3:** Grafické znázornění zobrazení dvoubodového zdroje umístěného v předmětové ohniskové rovině kolimačního objektivu. Obrázek doprovází vysvětlení výrazů popisujících příčná měřítka zobrazení a obrazovou telecentricitu.

$f_0$ . Vlastnosti předmětové a obrazové telecentricity je možné objasnit v rámci paprskové optiky pomocí grafického znázornění v obrázcích 3 a 4.

V obrázku 3 je naznačeno zobrazení dvou bodových zdrojů umístěných v předmětové ohniskové rovině kolimační čočky. Ze vztahu pro příčné měřítko (26) je zřejmé, že příčná pozice osy syntetické čočky a tím i velikost obrazu je určena chodem hlavních paprsků znázorněných v obrázku 3. Obrazová telecentricita, při které vzniká bodový obraz na ose syntetické čočky, je přirozenou vlastností rekonstrukce. Vzhledem k tomu, že podle (24) příčné měřítko nezávisí na ohniskové vzdálenosti čočky vytvořené pomocí SLM, je zřejmé, že příčná velikost obrazu bude určena chodem hlavních paprsků i při umístění předmětu mimo předmětovou ohniskovou rovinu kolimační čočky.



**Obrázek 4:** Demonstrace principu zobrazení metodou FINCH, při nastavení  $f_0 = \Delta_1$ , zajišťujícím telecentricitu v předmětovém prostoru.

Nastavení zajišťující předmětovou telecentricitu je schematicky znázorněno v obrázku 4. Podmínka předmětové telecentricity, která vyžaduje sjednocení obrazové ohniskové roviny s pozicí SLM, má zřejmý geometrický význam. V tomto případě je všem předmětovým bodům se stejnou vzdáleností od optické osy kolimační čočky přiřazen identický hlavní paprsek, takže jim odpovídá stejná pozice osy syntetické čočky, a tím i stejné příčné měřítko zobrazení. Při splnění podmínky  $f_0 = \Delta_1$  se tedy při změně podélné polohy předmětového bodu nemění příčné měřítko zobrazení a dochází jen ke změně ohniskové vzdálenosti syntetické čočky a podélného měřítka zobrazení. V této konfiguraci metoda FINCH zachovává současně předmětovou i obrazovou telecentricitu.

#### 4.1.5 Popis zorného pole systému

Dalším významným parametrem zobrazovacích soustav je velikost zorného pole. U běžných optických systémů může být zorné pole ostře ohraničeno clonou umístěnou do roviny předmětu, obrazu nebo meziobrazu, nebo dochází k jeho vymezení postupným ocláněním svazků uvnitř optického systému. U metody FINCH je situace dále ztížena nutností dosáhnout alespoň částečného překryvu interferujících svazků v rovině CCD. Míra překryvu referenční a signální vlny je provázaná se všemi volitelnými parametry sestavy. V této kapitole proto na základě geometrických úvah nalezneme vztahy umožňující charakterizovat zorné pole v závislosti na uspořádání a rozměrových parametrech experimentu.

Velikost zorného pole budeme vyšetřovat sledováním překryvu referenční a signální vlny, které vycházejí z mimoosového bodového zdroje umístěného v předmětové ohniskové rovině objektivu. Pro úspěšný záznam hologramu vyžadujeme alespoň částečný překryv referenční a signální vlny. Při určování zorného pole sledujeme překryv vln pro bodové zdroje s narůstající vzdáleností od optické osy. Okraj lineárního zorného pole potom vymezuje takový mimoosový bod o souřadnici  $x_0$ , pro který právě nastává nulové překrytí signální a referenční vlny. Přestože oblast překryvu je závislá na všech volitelných parametrech sestavy, budeme nejvyšší pozornost věnovat změnám souvisejícím se vzdálenostmi  $\Delta_1$  a  $\Delta_2$ . Vzdálenost  $\Delta_1$  je významná možností ovlivnit dopadovou výšku paprsků na SLM. Vzdálenost  $\Delta_2$  je pak volným parametrem, který je využíván při praktické manipulaci se systémem a umožňuje změnu geometrických parametrů zobrazení a rozlišovací schopnosti. Diskusi vymezení zorného pole rozdělíme do dvou základních případů, ve kterých je CCD před ohniskem čočky vytvořené pomocí SLM ( $\Delta_2 < f_d$ ), nebo za ním ( $\Delta_2 > f_d$ ).

Věnujme se nejprve prvnímu z případů, kdy platí  $\Delta_2 < f_d$ . Podle dříve popsaného postupu je velikost zorného pole určena pozicí bodu  $x_0$ , pro kterou nastane v rovině CCD právě nulový překryv interferujících svazků. Tato situace je zřejmá z obrázku 5. Podle znázorněné geometrie lze najít vztah, který udává velikost zorného pole pro danou pozici CCD,

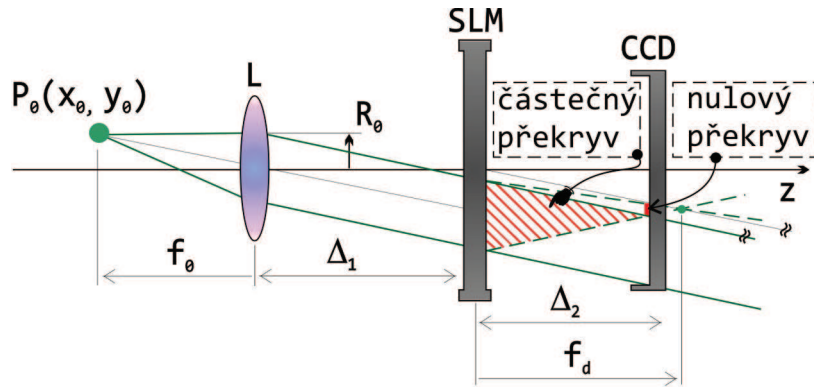
$$2x_0 = 2f_0 \frac{R_0(2f_d - \Delta_2)}{\Delta_1 \Delta_2}. \quad (28)$$

Z obrázku 5 je zřejmá důležitost parametrů  $\Delta_1$  a  $\Delta_2$ . Změnou pozice CCD se v dané konfiguraci můžeme jednoduše dostat do oblasti alespoň částečného překryvu. Obdobně při dostatečném zmenšení mezery  $\Delta_1$  může nastat situace, kdy bod konvergence signální vlny leží uvnitř oblasti vymezené referenční vlnou. To opět zajišťuje alespoň částečný překryv interferujících svazků.

Nyní můžeme přejít ke druhé z vyšetřovaných situací,  $\Delta_2 > f_d$ , která je znázorněna v obrázku 6. V tomto případě je v souvislosti se zorným polem nutné uvážit jak geometrické omezení interferujících svazků, tak jejich překryv. Při zvětšování vzdálenosti mezi SLM a CCD se oba vlivy projevují rozdílným způsobem. Referenční svazek se s rostoucím  $\Delta_2$  vzdaluje od optické osy, což při konečném příčném rozměru CCD způsobuje geometrické omezení zorného pole. Druhý faktor ovlivňující zorné pole, kterým je překryv signální a referenční vlny, je naopak na změně vzdálenosti  $\Delta_2$  nezávislý. Velikost zorného pole určenou z podmínky překryvu signálního a referenčního svazku je možné zapsat vztahem

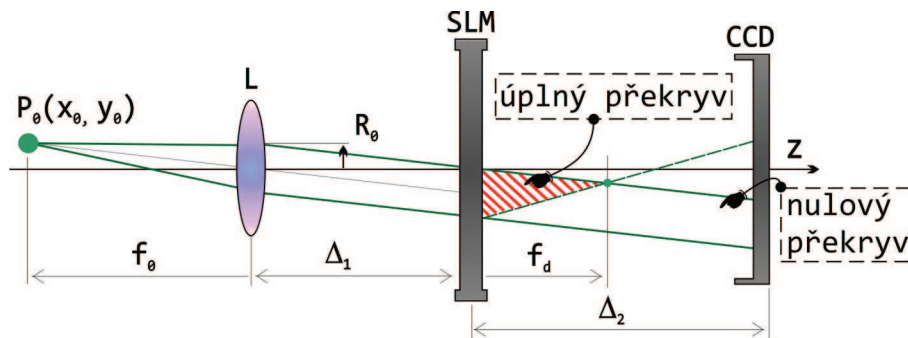
$$2x_0 = 2f_0 \frac{R_0}{\Delta_1}. \quad (29)$$





**Obrázek 5:** Vymezení zorného pole pro nastavení CCD do pozice  $\Delta_2 < f_d$ . Šrafování odpovídá oblastem překryvu referenčního a signálního svazku.

Tento závěr lze jednoduše vyvodit z obrázku 6, který demonstruje situaci, kdy horní paprsek referenčního svazku prochází středem SLM. V tomto případě bod konvergence signální vlny leží na okrajovém paprsku referenčního svazku, takže hranice zorného pole určená právě nulovým překrytím zůstává stejná pro všechny pozice CCD.



**Obrázek 6:** Vymezení zorného pole pro nastavení CCD do pozice  $\Delta_2 > f_d$ . Šrafování odpovídá oblastem překryvu referenčního a signálního svazku.

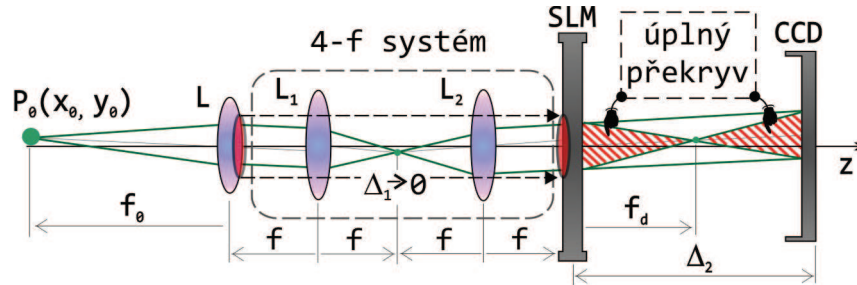
Vztahy (28) a (29) popisující zorné pole pro pozice CCD před a za ohniskovou rovinou modulátorové čočky mají další možnosti použití. Jedna z nich je zřejmá z obrázku 6, kde je kromě právě nulového překryvu vyznačena také oblast úplného překryvu. Dá se ukázat, že pro úplný překryv v oblasti  $\Delta_2 < f_d$  platí stejný vztah (29), který byl odvozen pro nulový překryv v rovinách  $\Delta_2 > f_d$ . Při uvážení, že nulový překryv interferujících svazků v obrázku 5 nastává při průniku nejvyššího parsku referenční vlny s nejnižším paprskem signální vlny, lze ukázat, že také vztah (28) popisuje současně úplný překryv v rovinách  $\Delta_2 > f_d$ . Tato situace je daná tím, že sledovaný nejnižší paprsek signální vlny se po průchodu bodem konvergence stává nejvyšším.

Pro praktické použití je významná zejména závislost překryvové oblasti interferujících svazků na vzdálenosti  $\Delta_1$ . Z (28) a (29) je zřejmé, že zorné pole určené překrytím svazků roste, pokud je vzdálenost  $\Delta_1$  zmenšována a pro limitní případ  $\Delta_1 \rightarrow 0$  vychází  $x_0 \rightarrow \infty$ . Tento výsledek znamená, že metoda FINCH žádným způsobem nelimituje zorné pole a překrytí svazků je dosaženo pro jakoukoliv mimoosovou pozici předmětového bodu. V tomto případě je zorné pole vymezeno geometrickým cloněním svazků a bude je určovat

objektiv použitý pro kolimaci světla.

### Modifikace systému pro zvětšení zorného pole

Pozice  $\Delta_1 \rightarrow 0$ , která odstraňuje omezení zorného pole dané překrytím interferujících svazků, nelze dosáhnout přímým nastavením, protože SLM obvykle pracuje v reflexním režimu. Stejného účinku je ale možné dosáhnout vhodnou modifikací systému. Ta spočívá ve vložení dodatečného dvoučlenného systému, tak zvaného  $4-f$  systému, mezi kolimační objektiv a SLM. Situace je znázorněna v obrázku 7. Úkolem vloženého systému je zobrazit s jednotkovým měřítkem zobrazení výstupní pupilu kolimačního objektivu do roviny SLM. Tím je zajištěno, že hlavní paprsek objektivu současně prochází středem SLM a interferující svazky budou tedy vždy překryté. V reálné situaci může být zorné pole sestav, ideálně odpovídající zornému poli objektivu, limitované velikostí apertur optických komponent  $4-f$  systému, nebo navazující optiky. Řešením těchto problémů se však již dostáváme na úroveň klasické mikroskopie, kdy odpadá nutnost sledování překryvových oblastí referenční a signální vlny.

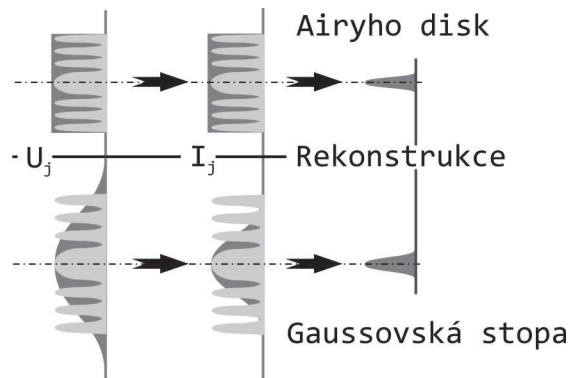


**Obrázek 7:** Znázornění principu zobrazení s vloženým  $4-f$  systémem, zajišťujícím zvětšení zorného pole v porovnání s konvenční sestavou.

## 4.2 Vlnový popis metody FINCH

Metoda FINCH byla dosud studována ve zjednodušeném přístupu, který neuvažoval difrakční jevy a vedl k ideálnímu zobrazení. Rekonstruovanému obrazu odpovídala Diracova delta funkce, která umožnila určení geometrických parametrů zobrazení. Pro určení základních zobrazovacích funkcí a analýzu difrakčních limitů zobrazení a rozlišení, je nutné vytvořit matematický model, který bude brát do úvahy prostorové ohraničení svazků procházejících optickou soustavou.

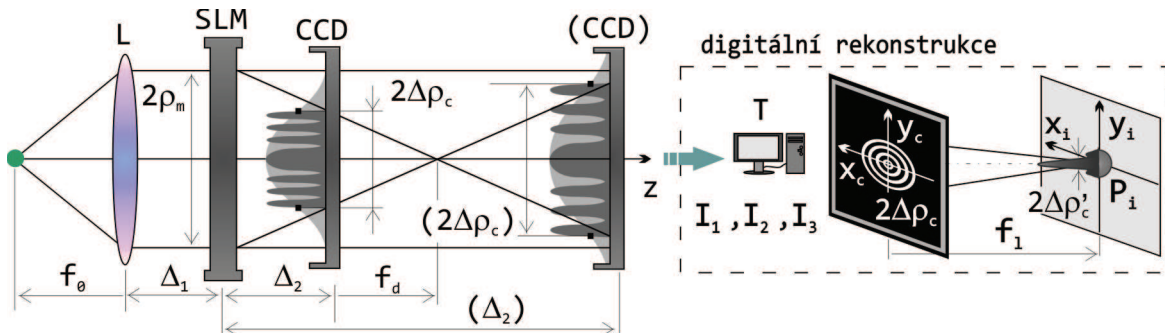
Pro difrakční analýzu zobrazení byl zvolen výpočetní model, který zavádí příčné omezení amplitudy signální a referenční vlny v rovině CCD. Obrázek 8 ukazuje dva možné přístupy, kterými lze provést prostorové ohraničení těchto vln. Obě aproximace umožňují výpočet celkové PSF systému, avšak výsledky nebudou identické. Prostorové omezení zavedené pevnou aperturou se skokovou změnou propustnosti vede v obrazové rovině ke vzniku Airyho difrakční stopy s šířkou jednoznačně definovanou průměrem apertury. Druhý model nahrazuje pevnou aperturu funkcí propustnosti s gaussovským poklesem. To ve výsledku vede k nahrazení Airyho disku gaussovskou difrakční stopou. Její šířka je opět určena vlastnostmi aperturní funkce. Rozdíl mezi oběma principiálně přijatelnými



**Obrázek 8:** Rozdíl přechodu od komplexní amplitudy k intenzitě, při omezení vln interferujících v rovině CCD pevnou a gaussovskou aperturou.

postupy nastává, jak je znázorněno v obrázku 8, při přechodu od komplexní amplitudy k intenzitě, se kterou se pracuje při rekonstrukci. Zatímco šířka pevné apertury zůstává nezměněná, u gaussovského profilu dochází ke zúžení profilu a tedy výraznějším difrakčním efektům při rekonstrukci záznamu. To v konečném důsledku vede k rozšíření difrakční stopy rekonstruovaného obrazu bodu. Protože systém v reálné situaci stojí na pomezí obou uvedených modelů a v závislosti na nastavení se více přibližuje jednomu, nebo druhému, je přesná kvantifikace výsledné PSF obtížná.

Zavedení pevné apertury se skokovou změnou propustnosti neumožňuje provedení veškerých výpočtů analyticky. Pro zjednodušení diskuse je proto volena gaussovská apertura. Takto získané výsledky umožňují analyzovat kvalitu rekonstruovaného obrazu na základě trojrozměrné PSF. V reálném experimentu není prostorové omezení interferujících vln jednoznačně určené účinnou plochou CCD, ale oblastí, ve které se překrývá signální a referenční vlna. Rozměr této překryvové oblasti se velmi výrazně mění s geometrickou konfigurací experimentu a bude určován podle paprskové představy o velikosti stopy signálního svazku na CCD. Situace je schematicky naznačena v obrázku 9 pro dvě různé pozice CCD a bod umístěný na optické ose systému. Prostorové omezení interferenčního záznamu při následné rekonstrukci vede k vytvoření difrakční stopy s gaussovským profilem, při zachování dříve diskutovaných geometrických parametrů zobrazení. Matematický



**Obrázek 9:** Určení šířky gaussovské apertury podle velikosti překryvové oblasti signální a referenční vlny na CCD.

popis vytvoříme na základě vztahů uvedených v kapitole 4.1. Komplexní amplituda odpo-

vídající interferenci referenční a signální vlny v rovině CCD je určena jako  $U_j = U_r + U_{s_j}$ , kde  $U_r$  a  $U_{s_j}$  udávají vztahy (4) a (5). Abychom mohli studovat kvalitu zobrazení s uvážením difrakčních jevů, omezíme komplexní amplitudu  $U_j$  gaussovskou aperturní funkcí tvaru

$$Q = \exp\left(-\frac{x_c^2 + y_c^2}{\Delta\rho_c^2}\right),$$

kde  $\Delta\rho_c$  je poloměr interferenčního pole určený šířkou signálního svazku. Výpočet intenzitních záznamů  $I_j = |QU_j|^2$  a jejich zpracování pomocí (8), umožňuje zapsat modifikovaný tvar funkce propustnosti syntetické čočky,

$$T = A \exp(i\Omega_0) \exp\left[-\frac{2(x_c^2 + y_c^2)}{\Delta\rho_c^2}\right] \exp[i(\Phi_s - \Phi_r)], \quad (30)$$

který se od vztahu (9) liší jen gaussovskou obálkou reprezentující prostorové omezení. Faktor 2, který se objevuje v gaussovském členu, souvisí s přechodem od komplexní amplitudy k intenzitě (obrázek 8). Po dosazení (30) do konvolučního integrálu (18) lze podobnými úpravami jako v kapitole 4.1.2 získat komplexní amplitudu rekonstruovaného obrazu jako Fourierovu transformaci gaussovské funkce,

$$U = \frac{iA}{\lambda z_i} \exp(i\Gamma) \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \exp[-p(x_c^2 + y_c^2)] \exp[i2\pi(x_c\bar{X} + y_c\bar{Y})] dx_c dy_c, \quad (31)$$

kde

$$p = p_R - ip_I = \frac{2}{\Delta\rho_c^2} - ik\left(\frac{1}{f_l} - \frac{1}{z_i}\right), \quad (32)$$

a pro  $\bar{X}$ ,  $\bar{Y}$  platí (21) a (22). Zavedený komplexní faktor  $p$  souvisí s gaussovským amplitudovým omezením a rozostřením. Přesné zaostření obrazu nastává v rekonstrukční vzdálenosti, která odpovídá ohniskové vzdálenosti syntetické čočky  $z_i = f_l$ . Řešením integrálu (31) je funkce

$$U = \frac{iA}{\lambda z_i} \exp(i\Gamma) \frac{\pi}{p} \exp\left[-\frac{\pi^2}{p}(\bar{X}^2 + \bar{Y}^2)\right],$$

kterou lze po dosazení  $\bar{X}$  a  $\bar{Y}$  přepsat do tvaru

$$U = A \exp(i\Omega_0) u, \quad (33)$$

kde

$$u = \frac{i\pi \exp(-ikz_i)}{\lambda p z_i} \exp\left\{\frac{i\pi}{\lambda} \left[\frac{m^2(x_0^2 + y_0^2)}{f_l} - \frac{x_i^2 + y_i^2}{z_i}\right]\right\} \times \exp\left\{-\frac{\pi^2}{p\lambda^2} \left[\left(\frac{x_i}{z_i} - \frac{mx_0}{f_l}\right)^2 + \left(\frac{y_i}{z_i} - \frac{my_0}{f_l}\right)^2\right]\right\}. \quad (34)$$

Při diskusi kvality zobrazení obvykle pracujeme s normovanou intenzitou. V našem případě je vhodné provést normování intenzitou v bodě, který odpovídá geometrickému obrazu při přesném zaostření. Normovaná intenzita je pak vyjádřena vztahem

$$I_N = \frac{|U(x_i, y_i, z_i)|^2}{|U(x_0m, y_0m, f_l)|^2} = \exp\left\{-\frac{2\pi^2 p_R}{\lambda^2 |p|^2} \left[\left(\frac{x_i}{z_i} - \frac{mx_0}{f_l}\right)^2 + \left(\frac{y_i}{z_i} - \frac{my_0}{f_l}\right)^2\right]\right\}. \quad (35)$$

Normovaná intenzita (35) popisuje rekonstruovaný obraz bodového zdroje ovlivněný difrakcí, zavedenou gaussovským omezením komplexní amplitudy zaznamenaného hologramu. Protože výraz byl odvozen za zcela obecných podmínek, umožňuje studovat zobrazení bodového zdroje v libovolné příčné pozici, a to i s vlivy rozostření v předmětovém nebo obrazovém prostoru. Takto získaný zápis intenzity rekonstruovaného bodového zdroje můžeme tedy považovat za trojrozměrnou PSF základního systému metody FINCH.

#### 4.2.1 Trojrozměrná PSF pro speciální případy

Obecný výraz pro trojrozměrnou PSF, odvozený v předešlé kapitole, je poměrně složitým způsobem spojen s parametry systému. Bude vhodné provést jeho diskusi ve zjednodušeném zápisu, který odpovídá speciálním situacím. To umožní lépe pochopit a interpretovat získané výsledky.

Základní diskutovaná situace odpovídá umístění bodového zdroje záření na optickou osu systému a jeho rekonstrukci při přesném zaostření daném volbou  $z_i = f_l$ . Protože pro prostorové omezení holografických záznamů byla použita gaussovská apertura, má i difrakční obraz bodu gaussovský profil a jeho příčný rozměr je nutné zavést vhodnou definicí. V souladu s běžnou praxí budeme poloměr difrakčního obrazce definovat poklesem normované intenzity na hodnotu  $1/e^2$ . Při uvažovaném zaostření osového bodového zdroje se (21) a (22) zjednoduší na  $\bar{X} = x_i/\lambda f_l$  a  $\bar{Y} = y_i/\lambda f_l$  a současně dojde k eliminaci defokusačního členu, takže parametr  $p$  je reálný. To výrazně zjednodušuje vyhodnocení PSF dané vztahem (35). Poloměr difrakční stopy  $\Delta r'$ , který odpovídá rekonstrukci ve vzdálenosti ideálního zaostření, je potom jednoduše určen jako

$$\Delta r' = \frac{\sqrt{2}\lambda}{\pi NA'}, \quad (36)$$

kde  $NA' = \Delta\rho_c/f_l$  lze interpretovat jako numerickou aperturu syntetické čočky použité pro rekonstrukci obrazu.

Obecný vztah pro PSF umožňuje také studovat degradaci obrazu způsobenou rozostřením. Tato situace nastává, když je obraz rekonstruován ve vzdálenostech  $z_i$ , které neodpovídají ohniskové vzdálenosti syntetické čočky  $f_l$ . Míra rozostření je potom definována jako  $\Delta z' = z_i - f_l$ . Účinek rozostření můžeme vyhodnotit způsobem obvyklým v optickém zobrazování. K tomuto účelu je definována jednoduchá míra kvality zobrazení známá jako Strehlovo číslo,

$$D = \frac{|U(0, 0, z_i)|^2}{|U(0, 0, f_l)|^2}. \quad (37)$$

Tento faktor pracuje s intenzitou, která odpovídá středu obrazové difrakční stopy. Ve sledovaném případě se tedy jedná o body ležící na optické ose. V čitateli je uvažována osová intenzita v rovině odpovídající rozostřovacímu posunutí  $z_i = f_l + \Delta z'$ , ve jmenovateli se objevuje osová intenzita v rovině přesného zaostření  $z_i = f_l$ . Strehlovo číslo tedy nabývá pro dokonalé zaostření hodnoty  $D = 1$ , z jeho poklesu lze usuzovat na zhoršení obrazu spojené s rozšířením difrakční stopy, nebo přesunem intenzity do vedlejších maxim.

S použitím (35) je možné Strehlovo číslo zapsat ve tvaru

$$D = \left[ \left( 1 + \frac{\Delta z'}{f_l} \right)^2 + \frac{NA'^2 \Delta z'^2}{\Delta r'^2} \right]^{-1}. \quad (38)$$

Pokud zvolíme přípustný pokles hodnoty Strehlova čísla (obvykle se připouští  $D \geq 0.8$ ), pak může být stanoveno přípustné rozostřovací posunutí,

$$\Delta z' = \frac{\sqrt{2}\lambda}{\pi NA'^2} \sqrt{\frac{1}{D} - 1}. \quad (39)$$

Protože trojrozměrná PSF byla pro případ gaussovského omezení detekovaných svazků vypočtena analyticky, je možné získat i příčný profil obrazu při rozostření. Tvar intenzitní stopy je stále gaussovský a jeho poloměr se dá zapsat pomocí Strehlova čísla ve tvaru

$$\Delta r'_D = \Delta r' \sqrt{\frac{1}{D}}. \quad (40)$$

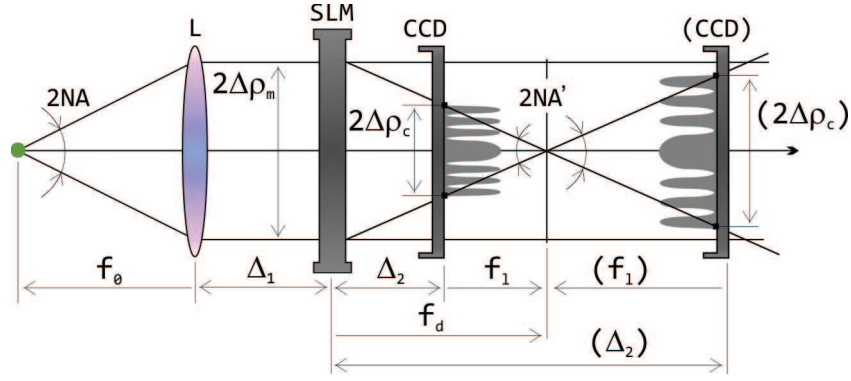
Bodový zdroj je v metodě FINCH rekonstruován jako trojrozměrná difrakční stopa, jejíž šířka  $2\Delta r'$  a délka  $2\Delta z'$  jsou dány vztahy (36) a (39). Tyto parametry obrazu jsou důležité pro diskusi příčného a podélného rozlišení metody.

#### 4.2.2 Vlastnosti syntetické čočky

V kapitole objasňující princip metody FINCH byl zaveden pojem syntetická čočka. Je to fázová funkce, která vzniká syntézou tří různých interferenčních záznamů bodového zdroje a odpovídá čočce s příčně posunutou optickou osou a danou ohniskovou vzdáleností. Numerická rekonstrukce obrazu bodového předmětu pak odpovídá fokusaci rovinné vlny syntetickou čočkou, jejíž parametry jsou určeny geometrickou pozicí předmětového bodu. Velikost obrazové stopy je limitovaná difrakcí a závisí na numerické apertuře syntetické čočky. Z tohoto důvodu je významnou a z praktického hlediska dobře využitelnou vlastností metody FINCH nezávislost numerické apertury  $NA'$  syntetické čočky na geometrickém nastavení systému. K jejímu objasnění je možné využít obrázek 10. Numerická apertura syntetické čočky je určena poměrem  $NA' = \Delta \rho_c / f_l$ , kde příčný rozměr  $2\Delta \rho_c$  je dán velikostí překryvové oblasti signální a referenční vlny v rovině CCD a  $f_l$  při zobrazení z předmětové ohniskové roviny udává (27). Velikost překryvové oblasti na CCD lze pro dané parametry sestavy určit z geometrie systému znázorněné v obrázku 10. S využitím podobnosti trojúhelníku lze psát

$$\Delta \rho_c = \frac{\Delta \rho_m (f_d - \Delta_2)}{f_d}.$$

Po dosazení takto vyjádřeného  $\Delta \rho_c$  a  $f_l$  do vztahu pro výpočet numerické apertury dostáváme  $NA' = \Delta \rho_m / f_d$ . Je tedy zřejmé, že numerická apertura syntetické čočky nezávisí na vzdálenosti CCD od SLM a pro jakékoliv nastavení  $\Delta_2$  je přímo určena numerickou aperturou čočky vytvořené na SLM. Protože příčná a podélná velikost stopy rekonstruovaného obrazu je v difrakčně limitovaném případě přímo určena numerickou aperturou



**Obrázek 10:** Demonstrace nezávislosti numerické apertury syntetické čočky  $NA'$  na rozměrovém uspořádání systému. Změně ohniskové vzdálenosti syntetické čočky  $f_1$  v různých pozicích CCD odpovídá vždy adekvátní změna velikosti příčného rozměru záznamu  $2\Delta\rho_c$ .

syntetické čočky, zůstává neměnná při všech nastaveních CCD. Budeme-li v příčném i podélném směru definovat rozměr obrazové stopy pomocí poklesu normované intenzity na hodnotu  $1/e^2$ , je možné s využitím (36) a (39) pro všechny pozice  $\Delta_2$  psát

$$2\Delta r' = 2 \frac{\sqrt{2}\lambda}{\pi NA'}, \quad 2\Delta z' = 5 \frac{\Delta r'}{NA'}.$$

#### 4.2.3 Překročení difrakčního limitu optického zobrazení

Další významnou vlastností metody FINCH je možnost rekonstrukce obrazu, při které je překročen difrakční limit optického zobrazení pro použitý kolimační systém [11]. Zájemí nutně pro pochopení tohoto efektu bylo vytvořeno navrženým výpočetním modelem metody. Ten prokázal, že při změně pozice CCD dochází ke změně příčného měřítka zobrazení, ale numerická apertura syntetické čočky použité při rekonstrukci obrazu bodu zůstává neměnná. Pro diskusi subdifrakčního rozlišení je důležité porovnat vlastnosti obrazu vytvořeného přímým optickým zobrazením a obrazu získaného numerickou rekonstrukcí holografických záznamů.

Sledujme nejdříve podle obrázku 10 přímé optické zobrazení vytvořené dvoučlenným systémem tvořeným kolimační čočkou o ohniskové vzdálenosti  $f_0$  a předměťové numerické apertuře  $NA$  a SLM čočkou, která má ohniskovou vzdálenost  $f_d$  a obrazovou numerickou aperturu  $NA'$ . Difrakční stopa v předměťové rovině kolimační čočky bude mít poloměr  $\Delta r_0 = q\lambda/NA$ , kde konstanta  $q$  závisí na tvaru použité aperturní funkce. Při umístění CCD do roviny  $\Delta_2 = f_d$  bude bodový zdroj zaznamenán jako difrakční obrazec o poloměru  $\Delta r' = q\lambda/NA'$ . Uvážíme-li příčné měřítka dvoučlenného systému  $m$ , pak obrazová difrakční stopa  $\Delta r'$  bude mít v předměťovém prostoru odpovídající velikost  $\Delta r = \Delta r'/|m|$ . Optický systém splňuje Lagrangeův invariant, podle kterého můžeme pro příčné měřítka psát  $|m| = NA/NA'$ . S jeho použitím dostaneme  $\Delta r = \Delta r_0$ , což znamená, že velikost obrazové difrakční stopy přepočtená pomocí příčného měřítka zobrazení do předměťového prostoru přesně odpovídá difrakčnímu limitu kolimační čočky. V metodě FINCH, u které obraz vzniká kombinací optického záznamu předmětu a jeho numerickou rekonstrukcí, je situace jiná.





$\Delta r/\Delta r_0$ , kde  $\Delta r = \Delta r'/|m_F|$ , a porovnává velikost difrakční stopy rekonstruovaného obrazu po přepočtu do předmětového prostoru s difrakčně limitovanou stopou kolimační čočky. V závislosti na nastavení CCD nabývá  $K$  následujících hodnot

$$K \begin{cases} > 1 & \text{pro } \Delta_2 < f_d, \\ = 1 & \text{pro } \Delta_2 = f_d, \\ < 1 & \text{pro } \Delta_2 > f_d. \end{cases}$$

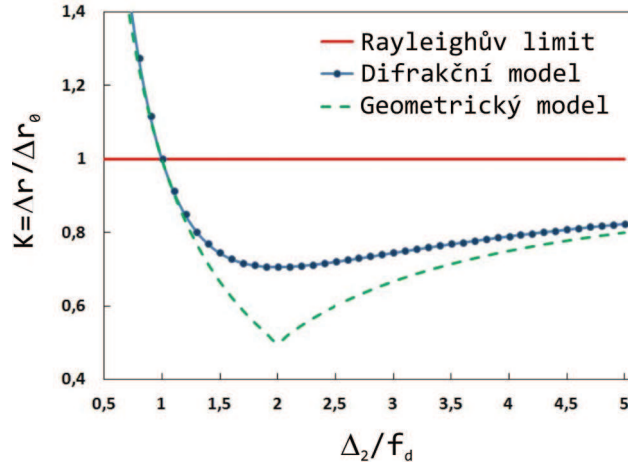
Tento výsledek můžeme interpretovat následovně:

- V pozicích CCD pro které je  $K > 1$ , metoda FINCH nevyužívá difrakční limit použité kolimační optiky a numericky rekonstruovaný obraz je degradován ve srovnání s přímým optickým zobrazením.
- Při záznamech pořízených v blízkosti ohniskové roviny čočky vytvořené pomocí SLM je  $K = 1$  a kvalita rekonstruovaného obrazu odpovídá obrazu optickému.
- Při nastavení CCD pro které je  $K < 1$ , metoda FINCH dává v předmětovém prostoru difrakční stopu menší než je stopa určená difrakčním limitem kolimační optiky. V tomto smyslu lze tvrdit, že numericky rekonstruovaný obraz překonává difrakční limit přímého optického zobrazení. K největšímu překročení difrakčního limitu dochází v nastavení  $\Delta_2 = 2f_d$ , pro které dostáváme  $K = 1/2$ .

Změna koeficientu  $K$  pro různá nastavení CCD je graficky demonstrována v obrázku 12. Vyhodnocení je provedeno ve dvou rozdílných přístupech. Průběh znázorněný zelenou čárkovanou čarou byl získán s využitím vztahu (41), který pracuje s ohraničením záznamů určeném skokovou změnou funkce propustnosti. Tento přístup je označen jako geometrický model, protože příčný rozměr záznamů byl stanoven na základě geometrických úvah pomocí propočtu vhodně vybraných paprsků. V souladu s dříve uvedenou diskusí křivka ukazuje subdifrakční zobrazení pro nastavení  $\Delta_2 > f_d$  s dvojnásobným překročením Rayleighova limitu pro  $\Delta_2 = 2f_d$ . Ostrý zlom křivky v oblasti maximálního překonání difrakčního limitu je z fyzikálního hlediska nepřírozený a je důsledkem použitého způsobu omezení záznamů. V případě ohraničení záznamů gaussovskou aperturou podle obrázku 8 je možné získat změnu koeficientu  $K$  znázorněnou modrou tečkovanou křivkou. V tomto případě je v optimálním nastavení Rayleighův limit překonán jen  $\sqrt{2}$ -krát. Diskuse zobrazení za hranicí difrakčního limitu nebyla doposud uzavřena a probíhá jak na teoretické, tak experimentální úrovni.

## 5 Koherentní režim rekonstrukce

Hlavním přínosem metody FINCH na poli holografické mikroskopie je možnost vytvoření korelačního záznamu zobrazovaných předmětů při nekoherentním osvětlení. Výsledný záznam vzniká intenzitním součtem holografických záznamů jednotlivých bodů předmětu, které představují interferenční pole vytvořená s využitím časové koherence světla. Digitální rekonstrukce hologramu však způsobuje, že rekonstruovaný obraz vzniká v plně koherentním režimu [10]. To znamená, že z interferenčních bodových záznamů je numerickou



**Obrázek 12:** Závislost koeficientu  $K$  na pozici CCD kamery. Koeficient porovnává difrakční limit pro numericky rekonstruovaný a přímý optický obraz a pro hodnoty  $K < 1$  odpovídá zobrazení pod Rayleighovým limitem.

rekonstrukcí získána komplexní amplituda a výsledný obraz vzniká koherentní superpozicí, ve které se projeví jak amplituda, tak i fáze bodových obrazů. Metoda FINCH je tedy specifická tím, že záznamy jednotlivých bodů předmětu jsou úplně nekorelované, zatímco numericky rekonstruované obrazy těchto bodů vykazují úplnou korelovanost. Tuto vlastnost je nutné vzít v úvahu při rekonstrukci rozlehlých objektů. S jejím využitím je možné při použití nekoherentního světla realizovat metody, které jinak pracují jen s koherentním světlem.

Přechod od nekoherentního záznamu ke koherentní rekonstrukci bude demonstrován na modelovém objektu tvořeném dvěma bodovými zdroji, které vysílají vzájemně nekorelované záření. Pro rekonstrukci je nutné zajistit tři záznamy objektu pořízené při různých fázových posunutích signální vlny, které jsou následně zpracovány. Výsledkem je komplexní funkce použitá v numerické rekonstrukci. V případě uvažovaného zdroje je nutné interferenční záznamy bodu  $I_j$ ,  $j = 1, 2, 3$ , použité v 6, nahradit záznamy dvoubodovými,  $I_j \rightarrow \sum_{i=1}^2 I_{j,i}$ . Jejich nekoherentní součet je daný tím, že při použití prostorově nekoherentního světla jsou signály vysílané oddělenými bodovými zdroji statisticky nezávislé a tedy nekorelované. Pro rekonstrukci je významná komplexní funkce  $T_{TP}$ , kterou lze získat pomocí 8 jako

$$T_{TP} = A \sum_{i=1}^2 \exp(i\Omega_i) \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{l_i}} \left[ (x_c - X'_i)^2 + (y_c - Y'_i)^2 \right] \right\}. \quad (42)$$

Ta představuje součet dvou syntetických čoček s různým příčným posunutím optických os určeným souřadnicemi  $(X'_i, Y'_i)$  a rozdílnými ohniskovými vzdálenostmi  $f_{l_i}$ . Tyto parametry syntetických čoček jsou jednoznačně určeny souřadnicemi bodových zdrojů, které mají být zaznamenány a následně rekonstruovány. Rekonstrukci hologramu (42) provedeme opět s využitím konvolučního integrálu (18). Po jeho vyřešení můžeme výslednou

komplexní amplitudu rekonstruovaného obrazu dvoubodového zdroje zapsat ve tvaru

$$U_{TP} = A \sum_{i=1}^2 \exp(i\Omega_i) u_i,$$

kde  $\Omega_i$  a  $u_i$  lze určit pomocí vztahů (17) a (34). Je zřejmé, že komplexní amplituda  $U_{TP}$  je tvořena koherentním součtem dílčích obrazů získaných rekonstrukcí jednotlivých bodových zdrojů. Výslednou obrazovou intenzitu  $I_{TP} = |U_{TP}|^2$  pak můžeme zapsat ve tvaru interferenčního zákona pro dva koherentní optické signály

$$I_{TP} = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Delta\phi),$$

kde

$$\begin{aligned} I_i &= |A|^2 |u_i|^2, \\ \Delta\phi &= \Omega_1 - \Omega_2 + \kappa_1 - \kappa_2, \\ \kappa_i &= \arctan \frac{\Im(u_i)}{\Re(u_i)}. \end{aligned}$$

Fázový člen  $\Delta\phi$  je důležitý při úvahách o dvoubodovém rozlišení nebo zobrazení rozlehlého předmětu. Mohou být diskutovány tři základní situace [24]. Pokud  $\Delta\phi = \pi/2$ , interferenční člen nabývá nulové hodnoty a rozlišení systému je stejné, jako při zobrazování s nekoherentním světlem. Maximální odchylky od tohoto režimu zobrazení nastávají pro  $\Delta\phi = 0$  a  $\Delta\phi = \pi$ . V prvním z případů jsou signály z bodových zdrojů ve fázi a dochází ke konstruktivní interferenci a tedy zhoršení rozlišení proti nekoherentnímu režimu. Druhý případ naopak odpovídá destruktivní interferenci a signály jsou v protifázi. Tím dochází k vylepšení rozlišení systému ve srovnání s nekoherentním režimem. V reálné situaci jsou fázové rozdíly nekontrolovatelné a rychle oscilují se změnou vzájemné vzdálenosti zobrazovaných bodů. Z tohoto důvodu musíme při vyhodnocení rozlišení metody FINCH uvažovat plně koherentní rekonstrukci obrazu.

Narozdíl od klasické holografie realizované s koherentním zářením, nelze metodu FINCH přímo využít pro rekonstrukci čistě fázových objektů. Důvody spočívají v samotném principu metody. Interferenční záznam jednotlivých bodů předmětu vzniká dělením vln v jednocestném interferometru a neuchovává informaci o výchozí fázi zobrazovaných bodů. Díky koherentnímu režimu rekonstrukce je ale v metodě FINCH principiálně možné aplikovat postupy inspirované mikroskopií spirálního kontrastu používanou mimo jiné ke zviditelnění amplitudových gradientů.

## 6 Nové modifikace metody FINCH

Teoretický popis metody FINCH prezentovaný v diplomové práci byl vytvořen pro základní geometrii experimentu. Přestože metoda byla navržena teprve před 5 lety, objevilo se již několik významných modifikací, které zvyšují její výkon a aplikační potenciál [12, 16]. V této kapitole bude zmíněn jejich princip a diskutovány výhody a vzájemné odlišnosti. V základním nastavení metoda FINCH pracuje s rovinnou referenční vlnou a sférickou signální vlnou. Navržené modifikace se většinou zaměřují na změnu geometrie interferujících svazků, popřípadě využívají dodatečného numerického zpracování zaznamenaných dat.

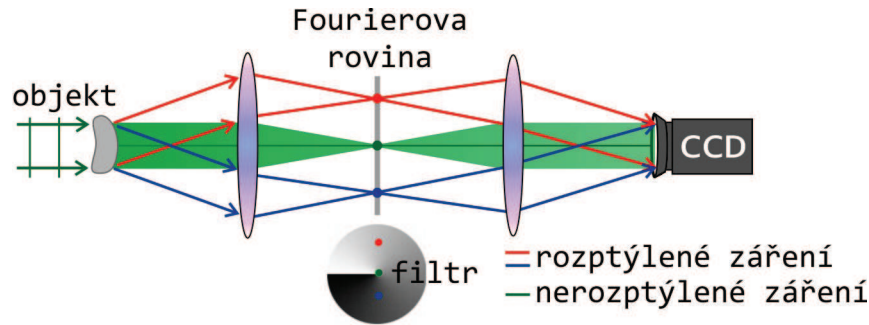
## 6.1 Spirální FINCH

Mikroskopie spirálního fázového kontrastu patří do skupiny metod vyhledávaných pro možnost zvýraznění struktury pozorovaných objektů [14, 15]. Ve srovnání s klasickým mikroskopovým zobrazením umožňuje zvýraznění kontrastu hran amplitudových objektů a současně přeměnu gradientů fáze na změny intenzity v detekovaném obrazu. Metoda pracuje s modifikovanou PSF, která vzniká spirální filtrací. Zvýšení kontrastu hran je dosaženo interferencí světelných vln se speciální fázovou strukturou a metoda je účinná pouze při použití koherentního záření.

Metoda FINCH díky objasněnému koherentnímu mechanismu rekonstrukce obrazu umožňuje dosáhnout některých výhod spirálního kontrastu při použití nekoherentního zdroje světla. V rámci diplomové práce byl proveden návrh a experimentální ověření spirální modifikace FINCH zobrazení, které umožňuje selektivní zvýraznění hran trojrozměrných amplitudových předmětů. Výsledky jsou přijaty k publikaci [16].

### 6.1.1 Mikroskopie se spirálním fázovým kontrastem

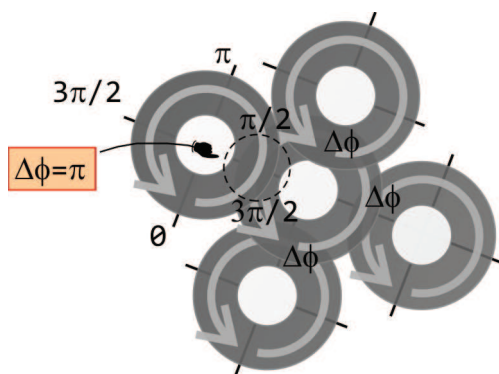
Metoda spirálního fázového kontrastu je realizována v jednoduché experimentální sestavě. Jedná se o optický systém, ve kterém se tak, jako u podobných metod fázového kontrastu nebo temného pole, využívá zásahu do prostorového spektra zobrazovaných objektů.



**Obrázek 13:** Základní experimentální sestava využívaná pro spirální filtraci v mikroskopii spirálního fázového kontrastu [14].

Typická sestava pro fázový spirální kontrast je znázorněna v obrázku 13. Její hlavní částí je  $4 - f$  systém, který po optickém provedení Fourierovy transformace umožňuje modulaci spektra zobrazovaného předmětu. Po zpětné Fourierově transformaci je na výstupu  $4 - f$  systému detekován modifikovaný obraz pozorovaného předmětu. Pro filtraci prostorového spektra se užívá spirální fázová maska jejíž funkce propustnosti má tvar  $t_{\Phi} = \exp(im\varphi)$ , kde  $\varphi \in \langle 0, 2\pi \rangle$  je azimutální úhel a  $m \in \mathbb{N}$  je topologický náboj definující stoupání fázové struktury. Při osvětlení pozorovaného objektu koherentním optickým zářením dochází k jeho rozptylu mimo původní směr šíření. Tím se do záření dostává informace o struktuře zobrazovaného předmětu. Zbylá část záření prochází přes preparát nezměněna a ve Fourierově rovině odpovídá nulové prostorové frekvenci. Toto objektem neodkloněné záření dále prochází přes střed spirální masky a v rovině záznamu tvoří obdobu referenční vlny, která interferuje se zbylým zářením ovlivněným preparátem. Na úrovni bodových zdrojů dochází díky popsané spirální filtraci k vytvoření obrazových difrakčních stop, které mají vírový charakter. Jejich amplituda má mezikruhový tvar a pro fázi je typická

šroubovitá struktura. Azimutální změna fáze odpovídá spirální masce a je tedy zřejmé, že protilehlé strany mezikruží mají fázový rozdíl  $m\pi$ . Při koherentním skládání obrazových vírových stop, které odpovídají oblastem předmětu s konstantní amplitudou a fází, dochází k destruktivní interferenci a odpovídající oblast obrazu je tmavá. Tento princip je znázorněn v obrázku 14. V zaznamenaném obrazu se objevují světlé oblasti pouze tehdy, pokud nedochází k destruktivní interferenci. Těmto místům odpovídají amplitudové přechody předmětu, kdy vírová obrazová stopa nemá rovnocenného souseda pro destruktivní interferenci, nebo fázové přechody na nichž dochází k rotaci fáze a tím narušení fázového rozdílu odpovídajícího destruktivní interferenci.



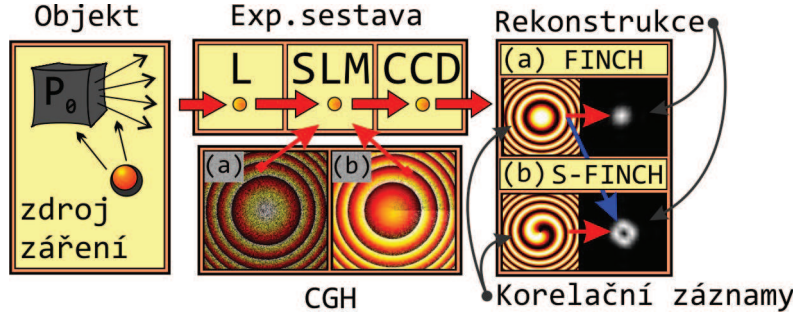
**Obrázek 14:** Znázornění principu destruktivní interference vírových obrazových stop v místech odpovídajících oblastem konstantní fáze, nebo amplitudové propustnosti pozorovaného objektu.

### 6.1.2 FINCH se selektivním zvýrazněním amplitudových rozhraní

Koherentní mechanismus rekonstrukce obrazu v metodě FINCH umožňuje přenést spirální kontrast užívaný v koherentním optickém zobrazení také do oblasti korelačního digitálního zobrazení realizovaného s nekoherentním osvětlením. Tímto způsobem je možné dosáhnout směrově selektivního zvýšení kontrastu hran trojrozměrných amplitudových objektů, při zachování dalších výhod poskytovaných metodami holografické mikroskopie [16].

Protože základem zvýraznění hran v optickém spirálním kontrastu je destruktivní interference vírových bodových obrazů, je nutné FINCH zobrazení přepnout do vírového režimu. Toho je možné dosáhnout jak opticky ve fázi záznamu předmětu, tak numericky při rekonstrukci obrazu. V této kapitole je diskutována první z možností. Ta je založena na nahrazení rovinné referenční vlny šroubovitou vlnou s fázovou singularitou umístěnou na její ose. Interferenční záznamy bodu mají v tomto případě typickou spirální strukturu a jejich zpracováním je získána vírová syntetická čočka. Její standardní rekonstrukce potom vede na požadovanou vírovou impulsní odezvu. Porovnání záznamu a rekonstrukce bodového předmětu pro základní metodu FINCH a její spirální modifikaci je provedeno v obrázku 15.

Ve střední části obrázku jsou CGH odeslané na SLM. CGH označený (a) odpovídá základnímu FINCH zobrazení a je definovaný vztahem (3). Jeho působením vzniká rovinná referenční a sférická signální vlna. Spirální modifikaci odpovídá CGH s označením (b).



**Obrázek 15:** Záznam a rekonstrukce bodového předmětu: (a) základní metoda FINCH, (b) modifikovaná sestava pro spirální amplitudový kontrast [16].

Jeho působení lze popsat vztahem

$$t_{s_j} = a \exp(im\varphi) + b \exp\left(ik\frac{x^2 + y^2}{2f_d} + i\vartheta_j\right), \quad j = 1, 2, 3. \quad (43)$$

V tomto případě CGH vytváří referenční vlnu se šroubovitou vlnoplochou, která zajišťuje vírovou strukturu rekonstruovaného obrazu bodu. Geometrické parametry zobrazení odvozené v základním výpočetním modelu zůstávají v platnosti. Numerická simulace korelačních záznamů bodového zdroje odpovídající základnímu i spirálnímu typu zobrazení je v pravém bloku obrázku 15. Jejich zpracováním a následnou numerickou rekonstrukcí je získána odpovídající PSF. V případě standardního FINCH zobrazení má tvar Airyho disku, zatímco pro spirální FINCH je získána mezikruhová vírová struktura, která zabezpečuje zvýraznění kontrastu hrany amplitudových objektů. Demonstrace provedená s USAF rozlišovacími testy i dalšími objekty je prezentovaná v experimentální části diplomové práce.

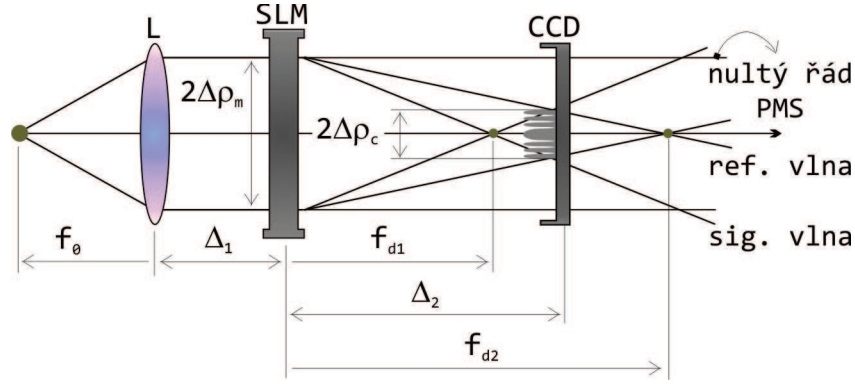
## 6.2 Dvoučočkový FINCH

Dvoučočkový FINCH představuje další užitečnou inovaci standardní konfigurace, která se objevila teprve v době dokončování diplomové práce [12, 17]. Dvoučočkový FINCH se od standardní sestavy liší způsobem záznamu pozorovaného objektu. Na SLM je v tomto případě adresován CGH, který pro každý bod předmětu vytváří dvě konvergentní sférické vlny odlišných poloměrů křivosti. Referenční rovinná vlna používaná ve standardní sestavě je tedy nahrazena vlnou sférickou. Z hlediska geometrických parametrů je dosaženo srovnatelných výsledků jako v metodě standardní, dvoučočková konfigurace je ale výhodná tím, že dochází k výraznému zlepšení poměru signálu a šumu [17].

Dvoučočková modifikace FINCH sestavy je znázorněná v obrázku 16. Jak bylo uvedeno, odlišnost spočívá v přechodu od CGH popsaného vztahem (3) ke tvaru

$$t_{d_j} = a \exp\left(ik\frac{x^2 + y^2}{2f_{d_1}}\right) + b \exp\left(ik\frac{x^2 + y^2}{2f_{d_2}} + i\vartheta_j\right), \quad j = 1, 2, 3, \quad (44)$$

který obvyklou rovinnou referenční vlnu nahrazuje vlnou sférickou. Vlna dopadající na SLM je tedy rozdělena do dvou vln transformovaných čočkami o ohniskových vzdálenostech  $f_{d_1}$  a  $f_{d_2}$ . Pro diskutovaný případ lze najít ideální nastavení CCD vyznačené



**Obrázek 16:** Dvoučočková modifikace standardní sestavy FINCH. Změnou CGH adresovaného na SLM je rovinná referenční vlna nahrazena vlnou sférickou.

v obrázku 16. Věnujme se nyní důvodům, které vedou k této volbě pozice CCD. Při změně geometrie záznamu nedojde ke změně pozice osy syntetické čočky a pro příčné měřítko zobrazení stále platí vztah (24) odvozený pro rovinnou referenční vlnu. V následující diskusi se omezíme předpokladem umístění předmětu do blízkosti předmětové ohniskové roviny kolimační čočky a budeme pracovat s jednodušším vyjádřením příčného měřítko zobrazení (26). Odlišná situace nastává v případě dvoučočkové varianty při vyjádření ohniskové vzdálenosti syntetické čočky. Ta byla zavedena substitucí (12) a je zřejmé, že závisí na bodech konvergence signální a referenční vlny. Ve standardní verzi záznamu je referenční vlna rovinná, bod konvergence leží v nekonečnu a ohnisková vzdálenost je daná jednoduchým vztahem (27). V případě sférické referenční vlny je situace komplikovanější a ohniskovou vzdálenost syntetické čočky je možné zapsat ve tvaru demonstrujícím symetrii,

$$f_{l_d} = \pm \left| \frac{(\Delta_2 - f_{d1})(f_{d2} - \Delta_2)}{f_{d1} - f_{d2}} \right|. \quad (45)$$

Za optimální je potom považováno takové nastavení systému, ve kterém je dosaženo nejlepšího překryvu signální a referenční vlny. Z obrázku 16 je zřejmé, že této podmínce odpovídá pozice CCD daná jako

$$\Delta_2 = \frac{2f_{d1}f_{d2}}{f_{d1} + f_{d2}}. \quad (46)$$

Signální i referenční vlna vytvářejí na CCD stopu stejné velikosti. Její poloměr lze zapsat ve tvaru

$$\rho_c = \rho_m \frac{\Delta_2 - f_{d1}}{f_{d1}} = \rho_m \frac{\Delta_2 - f_{d2}}{f_{d2}}. \quad (47)$$

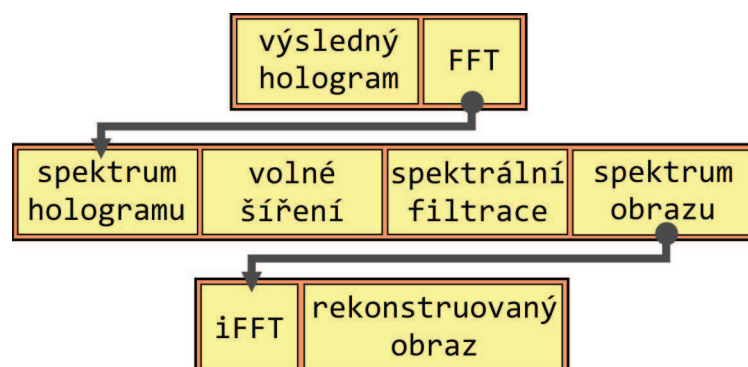
Tato pozice s plným překrytím svazků je energeticky výhodná a navíc poskytuje i vysokou obrazovou kvalitu. Tu je možné dokumentovat výpočtem velikosti difrakční stopy při zobrazení bodového zdroje. Její poloměr je v rekonstruovaném obrazu dán jako  $\Delta r' = q\lambda/NA'$ , kde  $NA' = \rho_c/f_{l_d}$ . Odpovídající velikost stopy v předmětovém prostoru  $\Delta r = \Delta r'/m_F$  pak může být porovnána s difrakčním limitem použitého kolimačního objektivu  $\Delta r_0 = q\lambda/NA$ . S použitím (45) a (46) je možné ukázat, že platí  $K = \Delta r/\Delta r_0 = 1/2$ . Tento výsledek koresponduje s nejlepším rozlišením dosažitelným ve standardní konfiguraci s rovinnou

referenční vlnou a opět demonstruje možnost překonání difrakčního limitu kolimačního objektivu.

Přestože v obou popisovaných konfiguracích lze dosáhnout subdifrakčního rozlišení, je dobré si uvědomit odlišnost principů, které k němu vedou. Ve standardní sestavě subdifrakční rozlišení souvisí s nárůstem příčného měřítka zobrazení ve vzdálených pozicích CCD splňujících podmínku  $\Delta_2 > f_d$ . Narozdíl od přímého optického zobrazení zůstává nezměněná velikost obrazové apertury syntetické čočky a proto se zachovává také velikosti obrazové stopy bodového zdroje  $\Delta r'$ . Velikost difrakční stopy v předmětovém prostoru  $\Delta r$  je nepřímo úměrná příčnému měřítku zobrazení a může být zmenšena pod difrakční limit  $\Delta r_0$ . V případě dvoučočkového FINCH nastavení je mechanismus jiný. Uplatňuje se zkrácení ohniskové vzdálenosti syntetické čočky, které vede ke zvýšení její numerické apertury a tím dosažení vyššího rozlišení.

## 7 Numerická rekonstrukce hologramu

V experimentální části metody FINCH se provádějí korelační záznamy předmětu, ze kterých je následně vytvořen hologram použitý pro numerickou rekonstrukci. V této kapitole bude podrobněji diskutováno numerické pozadí, které je důležité nejen pro pochopení samotného postupu rekonstrukce, ale i objasnění možných úprav obrazu pomocí zásahu do prostorového spektra. Rekonstrukce spočívá v numerické simulaci šíření rovinné vlny po



**Obrázek 17:** Blokové schéma jednotlivých úrovní procesů zpracování a rekonstrukce hologramu v metodě FINCH.

průchodu hologramem. Tento proces lze matematicky popsat pomocí Fresnelovy transformace, kterou lze převést do tvaru Fourierovy transformace aplikované na funkci propustnosti rekonstruovaného hologramu násobenou kvadratickou fázovou funkcí. Tento postup byl použit již při rekonstrukci záznamu bodového zdroje v (20) a (31). Kromě uvedeného impulzního přístupu, který pracuje s funkcí impulzní odezvy volného šíření reprezentované paraboloidní vlnou, je možné problém rekonstrukce řešit i v přístupu frekvenčním. V tomto případě je pomocí Fourierovy transformace vypočteno prostorové spektrum hologramu a šíření difraktovaného světla je vyjádřeno pomocí optické funkce přenosu. Změnou vzdálenosti šíření je obraz numericky zaostřen a rekonstruované pole je získáno inverzní Fourierovou transformací [25, 26]. Princip rekonstrukce je schematicky znázorněn v obrázku 17. Při numerických výpočtech se využívá algoritmů pro rychlou Fourierovu trans-



formaci. Metoda umožňuje provést zásahy do prostorového spektra, které mohou zvýšit kvalitu obrazu nebo změnit jeho strukturu.

### **Zvýraznění amplitudových rozhraní pomocí digitální spirální modulace**

V předcházející kapitole byla popsána spirální modifikace FINCH sestavy, která umožňuje zvýraznění kontrastu hran amplitudových předmětů. Základem metody byla změna CGH zapsaných na SLM, která vedla k nahrazení rovinné referenční vlny vírovou vlnou se šroubovitou vlnoplochou. Zvýraznění hran je potom dosaženo interferencí vírových struktur, které vznikají jako difrakční obrazy jednotlivých bodů předmětu.

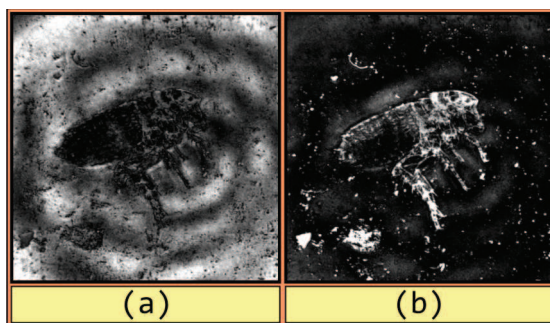
V rámci diskuse rekonstrukce obrazu je vhodné zmínit, že stejných výsledků je možné dosáhnout numerickým zpracováním záznamů pořízených ve standardní konfiguraci FINCH. Tato metoda je založena na spirální fázové modulaci prostorového spektra běžného hologramu. Fázová maska má azimutální změnu fáze danou jako  $t_{\Phi} = \exp(im\varphi)$  a zajišťuje vírový difrakční obraz bodu. Tato modulace je digitální analogií metody spirálního fázového kontrastu, která se provádí opticky [14, 15]. Tímto způsobem je získána alternativní možnost vytvoření obrazu se zvýrazněným kontrastem hrany. Výhodou tohoto postupu je pak zejména fakt, že narozdíl od experimentálního provedení amplitudového spirálního kontrastu není třeba jakákoliv modifikace CGH adresovaných na SLM. Jak je naznačeno modrou šipkou v obrázku 15, lze dosáhnout požadované vírové struktury obrazu bodu vyhodnocením standardních FINCH záznamů. To umožňuje provést běžný záznam a o typu rekonstruovaného obrazu rozhodnout až následně při numerickém zpracování. Provedení digitální spirální fázové modulace skrývá i další možnosti, které nabízí mikroskopie spirálního kontrastu. V tomto již dobře zavedeném oboru existuje řada postupů pro modifikaci výsledného obrazu, spočívajících v úpravách použité spirální fázové masky [28, 29]. Protože digitální spirální modulace ve FINCH zobrazení vychází z principů spirální mikroskopie, můžeme veškeré známe metody přímočaře aplikovat numerickou obměnou spirální masky. Z aplikačního hlediska je zajímavá zejména anizotropie zvýraznění hran, kdy výsledný obraz vykazuje dojem plastičnosti způsobený stínováním intenzity výsledného obrazu v určitých preferovaných směrech. Tato metoda je originální tím, že ji lze použít pro trojrozměrnou rekonstrukci objektů osvětlených prostorově nekoherentním světlem.

### **Eliminace přímého světla digitální prostorovou filtrací**

Hlavní aplikační potenciál metody FINCH míří do oblasti fluorescenční mikroskopie, ve které jsou zobrazovány objekty vysílající záření. Jinou možnou aplikací metody je transmisní mikroskopie, která zobrazuje nekoherentně osvětlené předměty. V tomto případě je kromě interferenčních záznamů vytvořených pro jednotlivé body preparátu detekováno i přímé světlo, které prochází okolím. V případě standardního FINCH zobrazení je možné přímé světlo využít jako rovinnou referenční vlnu pro vytvoření korelačních záznamů.

U dvoučočkové FINCH konfigurace však nastává situace, kdy referenční vlnou je konvergentní sférická vlna podle obrázku 16 a přímé světlo vytváří nežádoucí pozadí, které snižuje kontrast rekonstruovaného obrazu. V optimálním režimu SLM je možné vhodnou volbou polarizace světla zvýšit efektivnost modulace a redukovat intenzitu přímého světla, které představuje nultý difrakční řád. Prakticky však není možné dosáhnout modulace,

kdy veškeré záření dopadající na SLM je transformováno adresovanými pracovními CGH a využito v signální a referenční vlně. Odstranění rušivého nultého řádu je možné provést numerickou prostorovou filtrací nízkých frekvencí provedenou ve fázi rekonstrukce hologramu. V obrázku 18 jsou demonstrovány obrazy rekonstruované ze záznamů blechy, která



**Obrázek 18:** Demonstrace přínosu numerické prostorové filtrace při zobrazování v dvoučočkové FINCH sestavě: (a) přímo rekonstruovaný obraz, (b) obraz vytvořený dodatečným numerickým zpracováním v průběhu rekonstrukce hologramu.

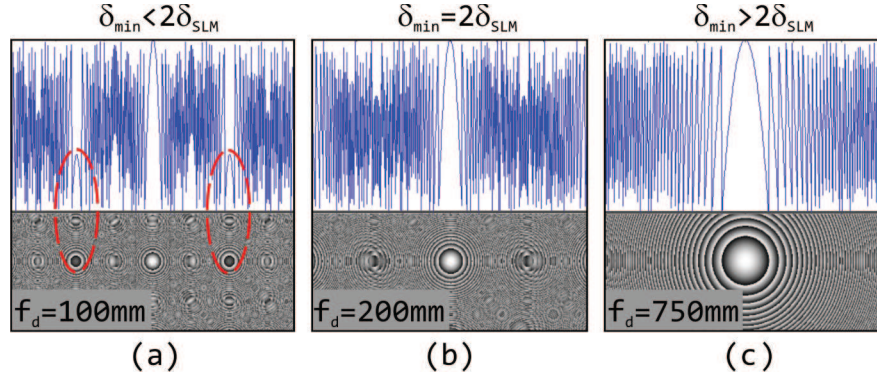
byla umístěna mezi dvě mikroskopová krycí skla. Obrázek 18a vznikl přímou rekonstrukcí zaznamenaného hologramu a jeho kvalita je silně degradovaná jasným pozadím. Pro porovnání je uveden obrázek 18b, který vznikl rekonstrukcí stejných záznamů s dodatečně provedenou prostorovou filtrací. Je patrné, že výrazné zlepšení spočívá zejména v nárůstu kontrastu obrazu, který zvyšuje jeho praktickou využitelnost.

## 8 Optimální konfigurace systému

Při rozměrových návrzích experimentálních sestav obvykle dochází k tomu, že změny jednotlivých konstrukčních parametrů protichůdně ovlivňují sledované parametry zobrazení. Příkladem může být zmenšení zorného pole a hloubky ostrosti, ke kterému dochází při zkrácení ohniskové vzdálenosti objektivu motivované zvýšením příčného rozlišení systému. Z těchto důvodů je nezbytné znát alespoň přibližné požadavky na navrhovanou sestavu, které vycházejí z předpokládané aplikace. V experimentech realizovaných pomocí optoelektronických zařízení s diskretní detekční nebo pracovní strukturou je nutné přihlídnout k aspektům souvisejícím s diskretizací signálu a parametry systému navrhovat s ohledem na splnění vzorkovacích pravidel.

### 8.1 Diskretizace signálu při prostorové modulaci

SLM je variabilní systém, který při tvarování světla v mnoha směrech překračuje možnosti běžných refraktivních nebo difraktivních optických prvků. Určitá omezení pro činnost SLM plynou ze skutečnosti, že není schopen vytvořit fázové změny přesahující  $2\pi$ . Vytvářené fázové funkce je proto nutné redukovat na omezený interval, což nutně vede ke vzniku periodických nebo kvaziperiodických pracovních struktur. Protože aktivní plocha SLM je tvořena diskretními buňkami kapalných krystalů, je zřejmé, že z hlediska splnění vzorkovacího kritéria existují limity pro fázovou modulaci, kterou jsme pomocí SLM schopni realizovat [18].



**Obrázek 19:** Vzorkování funkce propustnosti čočky ohniskové vzdálenosti  $f_d$ , způsobené diskrétní strukturou aktivní plochy SLM: (a) nesplnění Nyquistova vzorkovacího kritéria a vznik aliasingu, (b) limitní splnění vzorkovací podmínky, (c) splnění vzorkovací podmínky.

V metodě FINCH je SLM klíčovým prvkem, který realizuje fázové funkce čoček formujících signální a referenční vlnu. Praktické použití vyžaduje obezřetnost zejména při vytváření čoček s krátkou ohniskovou vzdáleností. V tomto případě vzniká jemnější periodická struktura a rostou nároky z hlediska splnění vzorkovacího kritéria. Pro SLM s danou velikostí pixelů  $\delta_{PMS}$  je možné určit nejkratší ohniskovou vzdálenost čočky, kterou je možné na toto zařízení úspěšně zapsat. K tomuto účelu použijeme Nyquistovo kritérium, které vyžaduje, aby frekvence vzorkování byla alespoň dvakrát větší než maximální měřená frekvence. V uvažované situaci lze toto pravidlo interpretovat jako nutnost použít alespoň dvou pixelů SLM na nejjemnější periodu CGH, která se nachází zpravidla v krajní části SLM. Šířka nejjemnějšího intervalu CGH  $\delta_{min}$  je v závislosti na parametrech adresované funkce propustnosti čočky daná jako

$$\delta_{min} = f_d \lambda / \rho_m, \quad (48)$$

kde  $\rho_m$  je pološířka SLM. Pro adekvátní vzorkování takového signálu je tedy nutné splnění nerovnosti  $\delta_{min} \geq 2\delta_{PMS}$ . Při použití běžně dostupných SLM s velikostí pixelu přibližně  $\delta_{PMS} \approx 8 \mu\text{m}$  a pološířkou aktivní plochy  $\rho_m \approx 7,5 \text{ mm}$  se na vzorkovací limit dostáváme při ohniskové vzdálenosti blízké hodnotě  $f_d \approx 200 \text{ mm}$ . Vzorkovaná fázová funkce čočky je znázorněna v obrázku 19 pro tři případy, které odpovídají nesplnění vzorkovacího kritéria, limitnímu splnění a použitelnému vzorkování.

## 8.2 Rozměrový návrh

Pro dosažení požadovaných parametrů zobrazení je nutná správná volba parametrů optického systému použitého pro záznam hologramů. Kromě ohniskové vzdálenosti kolimační optiky a ohniskových vzdáleností čoček vytvořených pomocí SLM je významným parametrem pozice CCD kamery. Ta ovlivňuje měřítko zobrazení, rozlišovací schopnost i zorné pole. Zásady pro optimální výběr parametrů systému plynou ze základního výpočetního modelu a lze je shrnout následovně:

- ohnisková vzdálenost čočky vytvořené pomocí SLM je limitovaná Nyquistovým vzorkovacím kritériem a pro běžná SLM je nutné volit  $f_d > 200 \text{ mm}$ ,

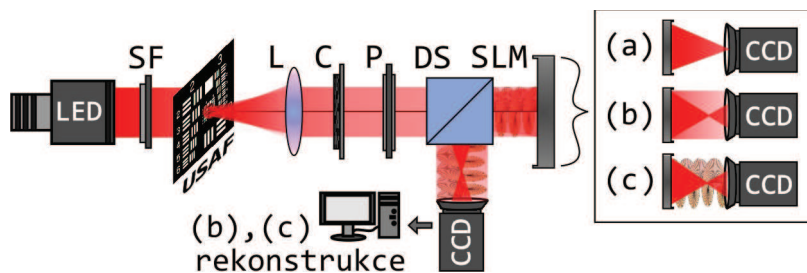
- subdifrakční rozlišení nastává pro pozice CCD  $\Delta_2 > f_d$ , k maximálnímu překročení difrakčního limitu kolimační optiky dochází pro  $\Delta_2 = 2f_d$ ,
- pro nastavení CCD  $\Delta_2 < f_d$  je zorné pole systému větší než v pozicích  $\Delta_2 > f_d$ ,
- v dvoučočkové konfiguraci lze teoreticky dosáhnout subdifrakčního rozlišení a současně zvětšeného zorného pole proti případu s rovinnou referenční vlnou,
- při doplnění sestavy  $4-f$  systémem lze plně využít zorné pole kolimačního objektivu ve všech pozicích CCD a to jak v klasické, tak i dvoučočkové variantě.

## 9 Experimentální výsledky

V předešlých kapitolách diplomové práce byl vytvořen výpočetní model metody, který reálnou situaci zjednodušuje předpokladem použití prostorově nekoherentního monochromatického světla. V tomto přístupu je možné objasnit základní princip metody a určit relace mezi parametry experimentální sestavy a optickými parametry rekonstruovaného obrazu. V této části diplomové práce budou experimentálně ověřovány teoretické výsledky a diskutovány komplikace, které se objevují při praktické realizaci FINCH zobrazení. Teoretický předpoklad monochromatického záření je v experimentech v dobrém přiblížení zajištěn použitím spektrálních filtrů o šířce 3 nm.

### 9.1 Základní a modifikované verze experimentů

Ověření principu záznamu hologramu a jeho rekonstrukce bylo na základní úrovni provedeno v bakalářské práci [21]. Záznam a rekonstrukce obrazu byla ale experimentálně testována jen pro bodové a dvoubodové zobrazení. Při řešení diplomové práce nastal výrazný experimentální pokrok, který umožnil rekonstrukci testovacích objektů i reálných preparátů užívaných v optické mikroskopii. První experimenty byly realizovány v základní konfiguraci [7], následně byly navrženy a experimentálně ověřeny nové zobrazovací režimy, které umožňují subdifrakční rozlišení nebo trojrozměrné vírové zobrazení se zvýrazněním kontrastu amplitudových rozhraní [12, 16].



**Obrázek 20:** Schematické znázornění základních variant experimentální sestavy pro metodu FINCH: (a) přímé zobrazení, (b) standardní FINCH zobrazení, (c) spirální FINCH se zvýrazněním kontrastu amplitudových rozhraní.

Základní experimentální sestava metody FINCH je schematicky znázorněna na obrázku 20. Jako zdroj nekoherentního záření byla v experimentech prezentovaných v této

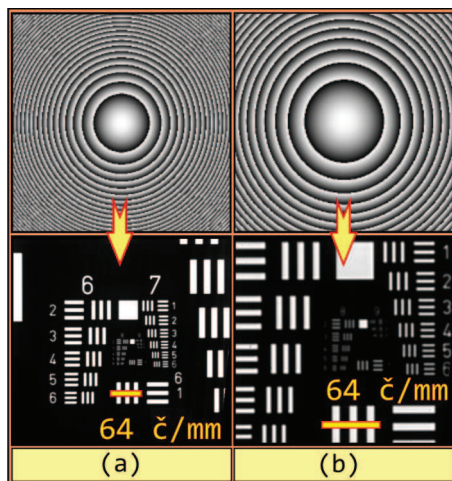
části práce použita kolimovaná luminiscenční dioda (LED, Thorlabs M625L2-C1) s vloženým interferenčním filtrem SF s šířkou pásma propustnosti 3 nm. Parametry LED udávané výrobcem jsou centrální vlnová délka 625 nm a šířka spektra 25 nm. Nasvětlení pozorovaného objektu bylo provedeno jako u klasických transmisních systémů kolimovaným osvětlovacím svazkem, který zajišťuje rovnoměrné rozdělení energie záření v předmětovém prostoru. Ve většině experimentů byl jako předmět využíván negativní rozlišovací USAF test, obsahující zóny v rozsahu (1 – 645) čar/mm. Pomocí kolimačního objektivu L byl signál od předmětu veden přes irisovou clonu C a polarizátor P směrem k SLM (Hamamatsu, 792 pixelů x 600 pixelů, velikost pixelu 20  $\mu\text{m}$ ). Polarizátor umožňuje optimalizovat funkci SLM a maximalizuje tak účinnost prostorové modulace. SLM je v závislosti na požadovaném zobrazovacím režimu nutné adresovat vhodně voleným CGH. To vede k odlišným transformacím svazků šířících se směrem k CCD (Retiga 4000R, 2048 pixelů x 2048 pixelů, velikost pixelu 7,4  $\mu\text{m}$ ). Jak je naznačeno v obrázku 20a, klasickému optickému zobrazení odpovídá CGH, který představuje kvadratickou fázovou funkci čočky redukovanou na interval  $\langle 0, 2\pi \rangle$ . To vede ke vzniku konvergentní sférické vlny. Při umístění CCD do bodu konvergence, respektive do ohniskové roviny vytvořené čočky, je možné pozorovat přímý obraz vytvořený tandemem kolimační objektiv - SLM čočka. Tento záznam nevyžaduje žádné dodatečné zpracování a odpovídá běžnému optickému obrazu. Při FINCH zobrazení používáme CGH podle (3). Ten dává vzniknout dvojici vln využitých pro interferenční záznam bodu. Geometrie těchto vln v prostoru za SLM je zřejmá z obrázku 20b. Pomocí postupů popsaných v teoretické části diplomové práce zpracujeme interferenční záznamy a numerickou rekonstrukcí hologramu získáme obraz. Využitím stejného postupu lze realizovat i vírové FINCH zobrazení se zvýrazněným kontrastem hran, kde rovinná referenční vlna je nahrazena vlnou vírovou se šroubovitou vlnoplochou (obrázek 20c).

## 9.2 Přímý záznam obrazu v sestavě pro metodu FINCH

V experimentální sestavě pro FINCH lze realizovat rovněž běžné optické zobrazení. Toho je možné dosáhnout tak, že na SLM je zapsána jednoduchá čočka a CCD je nastavena do její obrazové ohniskové roviny. Díky variabilitě SLM je možné prakticky v reálném čase měnit ohniskovou vzdálenost vytvářených čoček a tím i parametry systému. Tento typ zobrazení umožňuje vytvořit referenční obraz, který lze porovnávat s obrazem rekonstruovaným z holografických záznamů. To dává prostor pro diskusi parametrů a kvality klasického FINCH zobrazení a jeho modifikací. Ukázka přímého zobrazení USAF testu je pro dvě odlišné ohniskové vzdálenosti čočky vytvořené pomocí SLM uvedena v obrázku 21. První řádek tohoto obrázku představuje funkce propustnosti čočky adresované na SLM v jednotlivých případech zobrazení. Druhý řádek demonstruje příslušný přímý obraz zaznamenaný na CCD.

## 9.3 Standardní FINCH zobrazení

Metoda FINCH se od přímého zobrazení liší sofistikovanějším způsobem záznamu předmětu a numerickou rekonstrukcí obrazu. Při záznamu se využívá SLM, který musí zaručit amplitudové rozštěpení dopadajících vln a tedy vznik signální a referenční vlny pro každý bod pozorovaného objektu. Vzhledem k novým modifikacím metody budeme původní ná-



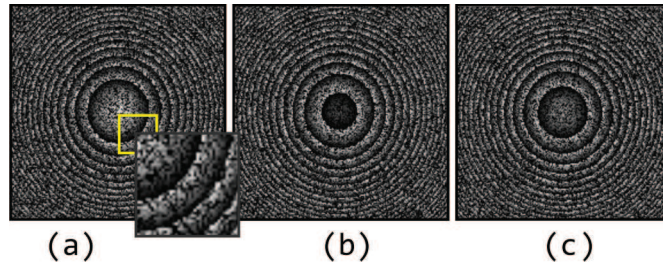
**Obrázek 21:** Přímé zobrazení USAF testu v tandemu tvořeném kolimačním objektivem o ohniskové vzdálenosti  $f_0 = 20$  mm a SLM čočkou o různých ohniskových vzdálenostech  $f_d$ : (a)  $f_d = 750$  mm, (b)  $f_d = 1500$  mm.

vrh konfigurace [7] odlišovat označením standardní FINCH. Ten odpovídá případu, ve kterém jsou jednotlivé body předmětu zaznamenány s využitím interference rovinné referenční vlny a sférické signální vlny.

### 9.3.1 Bodové a dvoubodové zobrazení

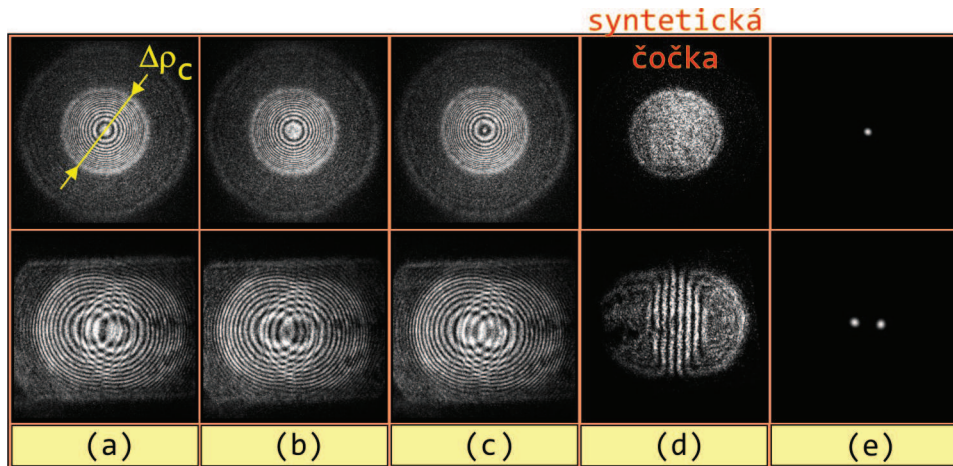
Základní zobrazovací funkcí užívanou při teoretické analýze obrazového výkonu je PSF, která představuje difrakční obraz bodového zdroje. Podobně i v experimentální části diplomové práce je nejprve metoda FINCH demonstrována na bodovém a dvoubodovém zobrazení.

Jako zdroj záření bylo v ověřovacím experimentu použito jednomódové vlákno, jehož čelo umístěné v blízkosti předmětové ohniskové roviny kolimační čočky v dobrém přiblížení realizuje předpokládaný bodový předmět. Vyzářená sférická vlna je kolimována a následně transformována SLM. Transformaci určuje CGH definovaný vztahem (3), který je vytvořen pro tři rozdílná fázová posunutí signální vlny. Příslušné profily jsou znázorněny v obrázku 22. Je zřejmé, že odpovídají redukované kvadratické fázi čočky znázorněné v obrázku (21). Tato struktura vytváří sférickou signální vlnu. Pro dosažení interference je nutné, aby SLM část energie dopadající vlny volně propustil a dovolil tak vznik referenční vlny. Toho se dosahuje tak, že generátorem náhodných čísel jsou vybrány pixely SLM, které dopadající záření nijak neovlivňují. To zaručuje nahodilost výsledného rozdělení aktivních a neaktivních pixelů a zamezuje vzniku nežádoucích kvaziperiodických struktur. Rozdělení počtu pixelů podílejících se na vytvoření referenční a signální vlny je pro dosažení ideálního interferenčního kontrastu drženo v poměru 50/50. Signál zaznamenaný v rovině CCD odpovídá interferenčnímu obrazci vytvořenému rovinnou referenční a sférickou signální vlnou. Tyto záznamy jsou pro ohniskovou vzdálenost SLM čočky  $f_d = 750$  mm a pozici CCD  $\Delta_2 = 375$  mm znázorněny v prvním řádku obrázku 23. Tři záznamy 23a, b a c odpovídají postupně adresovaným CGH. Jejich numerickým zpracováním pomocí (8) získáme pro bodový zdroj syntetickou čočku (16) znázorněnou v obrázku



**Obrázek 22:** CGH adresované na SLM při realizaci standardního FINCH zobrazení ( $f_d = 750$  mm, rozdělení pixelů 50/50). Metoda využívá tři CGH vytvořené pro rozdílná fázová posunutí signální vlny  $\vartheta$  zaručující eliminaci konjugovaného obrazu při rekonstrukci hologramu: (a)  $\vartheta_1 = 0$ , (b)  $\vartheta_2 = 2\pi/3$ , (c)  $\vartheta_3 = 4\pi/3$ .

23d. Rekonstruovaný obraz je znázorněn v obrázku 23e. Na záznamech bodového zdroje lze demonstrovat některé příznaky důležité pro úspěšnou rekonstrukci obrazu. Kruhové pozadí interferenční oblasti obrázků 23a – c odpovídá referenční vlně mimo oblast překryvu se signální vlnou. Interference zjevně nastává pouze v oblastech překryvu obou svazků a umožňuje tak velmi názorně demonstrovat parametr  $\Delta\rho_c$ . Ten byl použit pro prostorové ohraničení interferenční oblasti v rámci výpočtů 3D PSF systému v kapitole 4.2.

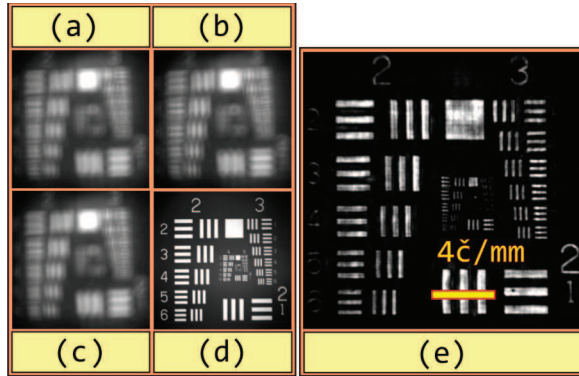


**Obrázek 23:** Demonstrace experimentálních fází záznamu a rekonstrukce obrazu bodového a dvoubodového zdroje ve standardní konfiguraci metody FINCH: záznamy vytvořené pro fázová posunutí signální vlny (a)  $\vartheta_1 = 0$ , (b)  $\vartheta_2 = 2\pi/3$ , (c)  $\vartheta_3 = 4\pi/3$ , (d) syntetická čočka a hologram použitý v numerické rekonstrukci, (e) rekonstruované obrazy bodového a dvoubodového zdroje.

V druhém řádku obrázku 23 je naznačena situace, která demonstruje záznam a rekonstrukci dvojice bodů vysílajících vzájemně nekorelované záření. To umožňuje odkrýt mechanismus, jakým je formován hologram reálného předmětu. Z obrázků 23a – c je patrné, že součet interferenčních záznamů jednotlivých bodových zdrojů probíhá skutečně intenzivně. Tvar odpovídajícího výsledného hologramu je už ale určen koherentním součtem fázových funkcí syntetických čoček příslušejících daným bodovým zdrojům. Rekonstruovaný obraz dvoubodového zdroje je v druhém řádku sloupce 23e.

### 9.3.2 Zobrazení reálných objektů

Zobrazení bodového zdroje je vhodné pro demonstraci principu metody FINCH a pro jednoduchý odhad kvality rekonstruovaného obrazu. Z hlediska praktického použití je hlavní pozornost zaměřena na rekonstrukci reálných dvourozměrných, případně trojrozměrných objektů. Záznam pozorovaných objektů se provádí s kvazimonochromatickým prostorově nekoherentním světlem, takže hlavní aplikační potenciál metody míří do oblasti fluorescenční mikroskopie. Experimenty demonstrovány v diplomové práci pracují s plošnými transparentními předměty, které jsou umístěny do blízkosti předmětové ohniskové roviny a osvětleny nekoherentním zdrojem. Při tomto způsobu nasvětlení vznikají v zobrazovaném



**Obrázek 24:** Záznam a rekonstrukce negativního USAF testu: (a) – (c) korelační záznamy testu, (d) přímý optický obraz, (e) rekonstruovaný obraz.

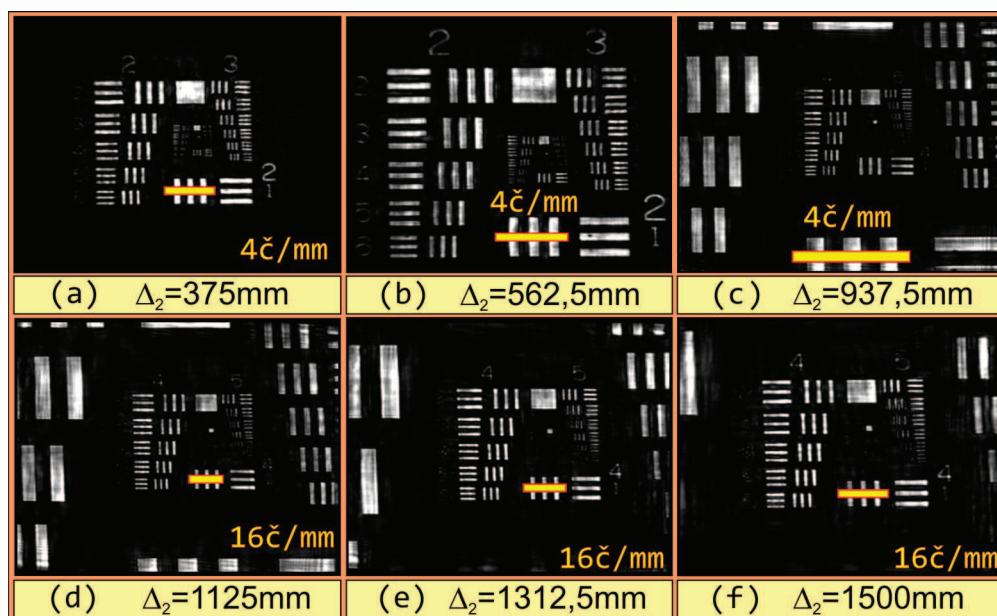
objektu rozptylová centra, která jsou zaznamenána a rekonstruována podobným způsobem, jako v případě izolovaného bodového zdroje. Možnosti metody jsou demonstrovány na zobrazení negativního USAF testu osvětleného LED Thorlabs. Záznamy testu provedené při různém fázovém posunutí signální vlny jsou uvedeny v obrázku 24a – c. Jejich zpracováním je vytvořen hologram použitý v numerické rekonstrukci. Přímý optický obraz testu a intenzita rekonstruovaného obrazu jsou znázorněny v obrázku 24d a 24e.

### 9.3.3 Zobrazení s rozlišením pod difrakčním limitem

Po ověření základních zobrazovacích možností metody FINCH je možné přistoupit k některým speciálním vlastnostem. Pro aplikace metody je významné zejména to, že umožňuje zobrazení pod difrakčním limitem použité kolimační optiky a to pomocí dvou principiálně odlišných postupů. V této kapitole se budeme věnovat experimentům, které umožňují subdifrakční rozlišení ve standardní konfiguraci využívající rovinné referenční vlny. Teoreticky byl tento princip rozpracován v kapitole 4.2.3, kde bylo prokázáno, že subdifrakční rozlišení je možné pro nastavení CCD do pozic splňujících podmínku  $\Delta_2 > f_d$  a efekt je nejvýraznější pro  $\Delta_2 = 2f_d$ . V provedeném experimentu byla zaznamenána série hologramů negativního USAF testu při pevných parametrech systému a proměnné pozici  $\Delta_2$ . Závislost příčného měřítka zobrazení na nastavení CCD, která je klíčová pro dosažení subdifrakčního rozlišení v předmětovém prostoru, vykazuje v experimentálním ověření soulad se vztahem (26). Rekonstruované obrazy odpovídající hologramům zaznamenaným v rovinách  $\Delta_2 = 375$  mm až 1500 mm při ohniskové vzdálenosti objektivu  $f_0 = 150$  mm a



SLM čočky  $f_d = 750$  mm, jsou v obrázku 25. Z obrázků 25a – f je dále patrné, že se

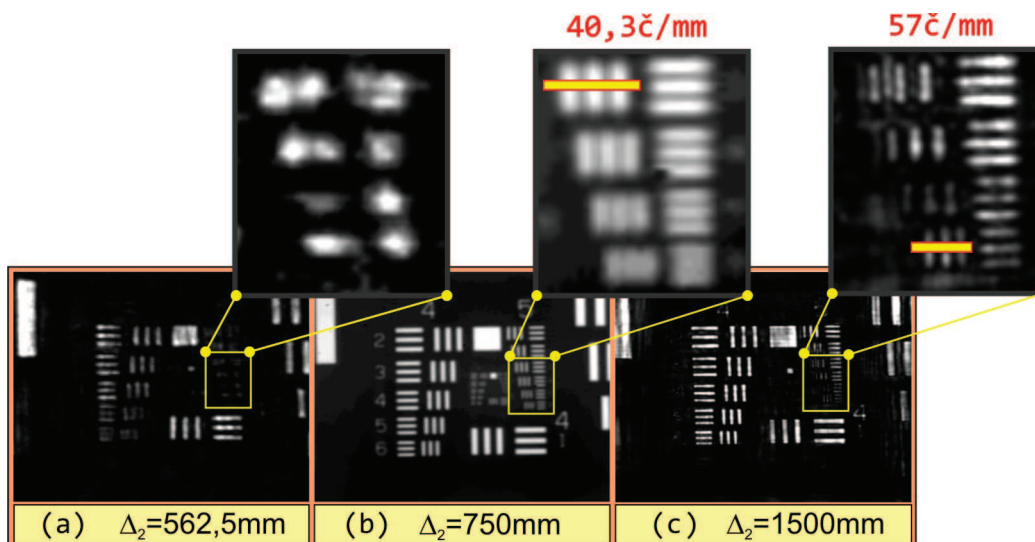


**Obrázek 25:** Demonstrace rekonstrukce USAF testu při nárůstu příčného měřítka zobrazení způsobeného zvětšováním odstupů CCD a SLM.

změnou  $\Delta_2$  se mění také velikost zobrazované oblasti, kterou jsme schopni zaznamenat. V případě prezentovaných výsledků s velkou ohniskovou vzdáleností kolimačního objektivu není zobrazovaná oblast omezena velikostí zorného pole systému, ale rozměrem čipu kamery. Rozměrové škálování obrazu se změnou  $\Delta_2$  ztěžuje porovnání záznamů pořizovaných v jednotlivých konfiguracích. Z těchto důvodů je vždy vyjmuta jen inkriminovaná oblast studovaného obrazu.

Experimentální činnost byla rovněž zaměřena na ověření teoretických úvah odhalujících možnosti zobrazení pod difrakčním limitem kolimační optiky. Tento jev byl dosud experimentálně demonstrován pouze v práci [11] a navíc za podmínek, které neodpovídají požadavkům praktického použití. V uvedené demonstraci byl kolimační objektiv silně cloněn. Tím došlo ke zmenšení optických aberací a současně také k umělému zvětšení difrakční stopy v obraze bodu.

V experimentu jehož výsledky jsou v obrázku 26, je prezentován pokus o dosažení subdifrakčního rozlišení s kolimačním objektivem o ohniskové vzdálenosti  $f_0 = 150$  mm a plně využitou numerickou aperturou  $NA = 0,15$ . Použitý objektiv byl dublet, který v pozorovaném zorném poli nedosahuje difrakčního limitu. Cílem experimentu proto bylo demonstrovat, že obraz rekonstruovaný metodou FINCH umožňuje rozlišení jemnějších detailů, než v případě přímého optického zobrazení. V obrázcích 26a – c jsou pro porovnání zobrazeny výřezy totožných částí USAF testu. Jak plyne z teorie, v pozici 26a není obrazový výkon kolimačního objektivu plně využit a systém FINCH omezuje výsledné rozlišení. Obrázek 26b odpovídá přímému zobrazení vytvořenému SLM čočkou a 26c ukazuje maximální dosažitelné rozlišení systému. Z porovnání zvětšených částí obrázků 26a – c je zřejmé, že překonání optického rozlišení kolimačního objektivu je skutečně možné. Maximální rozlišení v přímém obraze je 40,3 č/mm. Při optimální konfiguraci systému



**Obrázek 26:** Rekonstrukce negativního USAF testu pro rozdílné pozice CCD při záznamu hologramů: (a) záznam proveden v pozici  $\Delta_2 < f_d$  - systém FINCH nevyužívá optický výkon kolimačního objektivu, (b) srovnávací přímé optické zobrazení, (c) záznam v optimální pozici CCD - systém FINCH překračuje rozlišení kolimačního objektivu.

$\Delta_2 = 2f_d$  je pak dosaženo vyššího rozlišení 57 č/mm. Přesná kvantifikace míry překročení zobrazovacího limitu kolimačního objektivu je z důvodu hrubého kroku jednotlivých oblastí testu obtížná. Současně můžeme ale odhadnout, že teoreticky předpovězeného dvojnásobného překročení nebude zřejmě dosaženo. Přestože přímý obraz vizuálně působí lepším a kontrastnějším dojmem, metoda FINCH dává možnost rozlišení jemnějších detailů. Princip, který v rekonstruovaném obrazu zlepšuje rozlišení detailů ve srovnání se samotným kolimačním objektivem je založen na vhodných změnách příčného měřítká zobrazení, ke kterým dochází při změně pozice CCD, při současném zachování obrazové numerické apertury syntetické čočky. Je zřejmé, že ke stejnému efektu dojde i v případě, kdy použitý kolimační objektiv bude fyzikálně dokonalý s obrazovým výkonem limitovaným difrakcí.

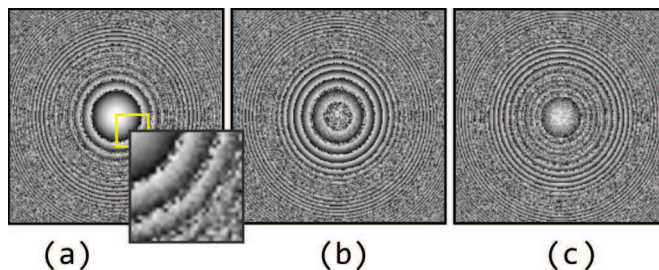
Obrazové rekonstrukce prezentované v této kapitole jsou vytvořeny na základě zpracování pouze jediného výsledného hologramu. Při záznamu většího počtu hologramů stejné scény a následném statistickém zpracování rekonstruovaných obrazů je možné výrazně zvýšit kvalitu FINCH zobrazení [13]. Tím se minimalizuje rozdíl FINCH obrazu vůči přímému obrazu také z hlediska šumů na pozadí a celkové kvality.

## 9.4 Dvoučočkový FINCH

Užitečnou modifikací metody FINCH, publikovanou teprve v roce 2012, je její dvoučočková varianta. Název vychází z tvaru CGH (44), který je adresován na SLM. Ten umožňuje vznik sférické referenční vlny, která tak nahrazuje referenční vlnu rovinnou, používanou ve standardní sestavě. Výhodou metody je teoretická možnost dosažení subdifrakčního rozlišení, která byla bez experimentálního ověření uvedena v práci [12]. Dalším významným přínosem je minimalizace rozdílu optických drah, která umožňuje pracovat s kratší koherenční délkou použitého záření [17]. Tomuto aspektu bude věnována zvláštní pozornost

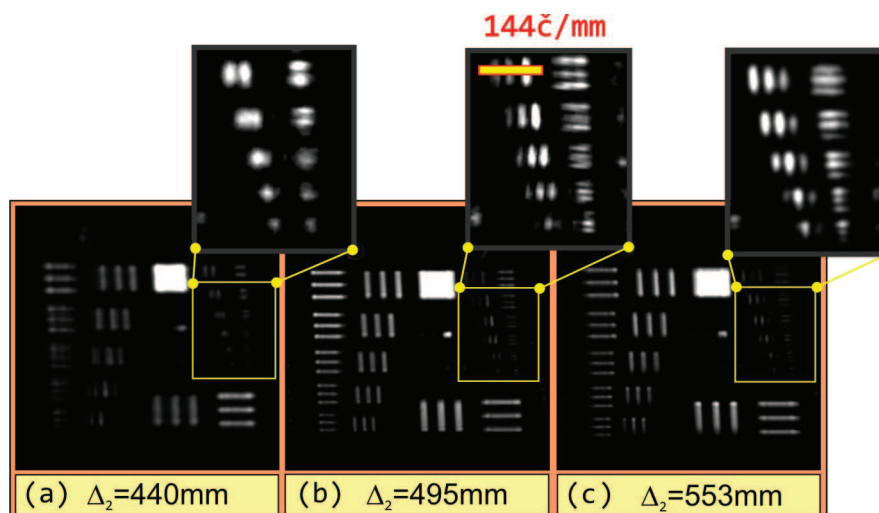
ve druhé části diplomové práce.

Princip jakým je dosaženo efektu subdifrakčního rozlišení v dvoučočkovém provedení, se liší od způsobu použitého ve standardní sestavě. Oba mechanismy byly podrobněji diskutovány v kapitole 6.2. Dvoučočková verze je dále výhodná i z hlediska geometrie experimentu. Dovoluje zvýšit kompaktnost systému, protože v tomto případě není nutné umístění CCD do vzdálenosti  $\Delta_2 = 2f_d$ . To se stává u standardní sestavy technicky obtížné zejména při použití dlouhé ohniskové vzdálenosti čočky adresované na SLM.



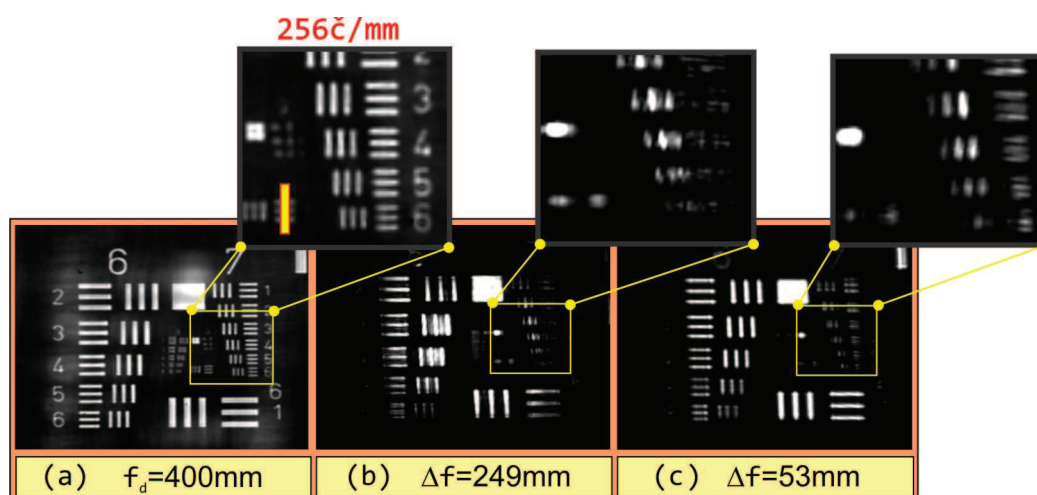
**Obrázek 27:** CGH použitý v dvoučočkové variantě FINCH pro ohniskové vzdálenosti vytvářených čoček  $f_{d_1} = 470$  mm a  $f_{d_2} = 523$  mm a rozdělení pixelů 50/50. Při záznamu jsou užity CGH vytvořené pro různá fázová posunutí signální vlny  $\vartheta$ : (a)  $\vartheta_1 = 0$ , (b)  $\vartheta_2 = 2\pi/3$ , (c)  $\vartheta_3 = 4\pi/3$ .

Uvedená změna CGH, která je základem dvoučočkového FINCH zobrazení, je demonstrována v obrázku 27. CGH rozdělují svazek dopadající na SLM do dvou vln, které jsou transformovány čočkami o odlišných ohniskových vzdálenostech  $f_{d_1}$  a  $f_{d_2}$ . Rozdělení pixelů odpovídajících jednotlivým čočkám je opět zvoleno v poměru 50/50, jejich prostorové rozmístění je provedeno generátorem náhodných čísel. Tento postup se osvědčil jako optimální z hlediska kontrastu interferenčních záznamů na CCD.



**Obrázek 28:** Rekonstrukce obrazu v dvoučočkové FINCH konfiguraci pro základní parametry  $f_0 = 20$  mm,  $f_{d_1} = 470$  mm,  $f_{d_2} = 523$  mm a různé pozice CCD při záznamu hologramů: (a) CCD umístěná před optimální rovinu detekce, (b) optimální pozice CCD, (c) CCD umístěná za optimální rovinu detekce.

Způsob zpracování korelačních záznamů objektu a konstrukce výsledného hologramu probíhá podobně, jako ve dříve diskutované standardní FINCH konfiguraci. Beze změny zůstává i technika rekonstrukce výsledného hologramu. Jediným rozdílem je způsob numerického zaostření obrazu, který musí respektovat pozměněnou geometrii záznamu. Takto získané obrazy negativního USAF testu jsou v obrázku 28. V optické sestavě byl tentokrát použit mikroskopový objektiv Melles Griot o ohniskové vzdálenosti  $f_0 = 20$  mm a numerické apertury  $NA = 0,28$ . Uprostřed je obraz rekonstruovaný ze záznamů provedených v ideální pozici CCD určené vztahem (46), která zajišťuje ideální překryv interferujících vln. V obrázcích 28a a 28c jsou rekonstrukce testu získané ze záznamů provedených v pozicích CCD posunutých před a za optimální rovinu detekce. Porovnání obrazů potvrzuje správnost vztahu použitého pro určení nejlepší polohy CCD pro vytvoření korelačních záznamů předmětu.



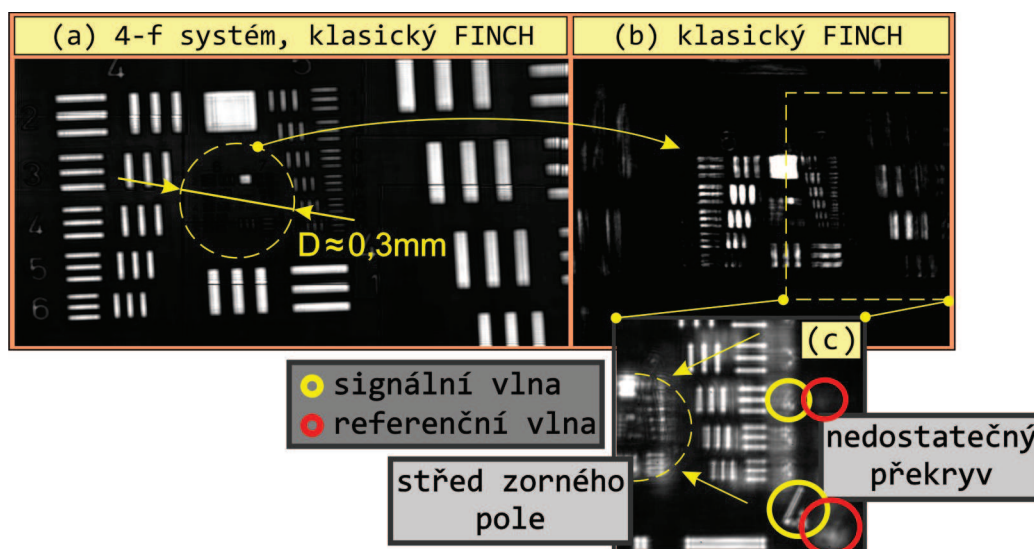
**Obrázek 29:** Porovnání přímého obrazu a rekonstrukcí testu v dvoučočkové modifikaci metody FINCH: (a) přímé zobrazení v tandemu mikroobjektiv  $f_0 = 20$  mm a SLM čočka  $f_d = 400$  mm, (b) FINCH rekonstrukce pro  $f_{d_1} = 400$  mm,  $f_{d_2} = 649$  mm, (c) FINCH rekonstrukce pro  $f_{d_1} = 470$  mm,  $f_{d_2} = 523$  mm.

Z teoretických úvah plyne možnost dosažení subdifrakčního rozlišení také v dvoučočkové modifikaci metody FINCH. Protože experimentální ověření tohoto návrhu nebylo dosud provedeno, bylo zajímavé se o realizaci pokusit. Obrázek 29a odpovídá přímému zobrazení, které bylo vytvořeno tandemem mikroskopový objektiv  $f_0 = 20$  mm a SLM čočka o ohniskové vzdálenosti  $f_d = 400$  mm. Takto získaný obraz byl následně porovnán s FINCH rekonstrukcemi provedenými ze záznamů vytvořených v optimálních pozicích CCD. Na základě [12], kde bylo prokázáno, že při menším rozdílu ohniskových vzdáleností SLM čoček  $\Delta f$  roste kvalita pozorovaného obrazu, byly provedeny dva záznamy pro odlišné hodnoty  $\Delta f$ . Tento parametr má technická omezení a  $\Delta f = 53$  mm představuje minimální možnou vzdálenost mezi body konvergence referenční a signální vlny. Obraz vytvořený s limitním parametrem  $\Delta f$  je na obrázku 29c. Druhému obrazu 29b odpovídá CGH s  $\Delta f = 249$  mm. Záznamy byly pořízeny při využití plné numerické apertury objektivu  $NA = 0,28$ . Z obrázku 29 je zřejmé, že ani v jedné z prezentovaných konfigurací rekonstruovaný obraz nedosahuje rozlišení přímého zobrazení. Narozdíl od standardní konfigurace se experimentálně nezdařilo dosáhnout rekonstrukce obrazu, která dosahuje

vyššího rozlišení detailů než přímé optické zobrazení. Teoretický návrh dosažitelného rozlišení je založen na čistě geometrických úvahách a zanedbává některé důležité difrakční efekty. Ty mohou způsobovat pozorované zhoršení kvality obrazu a tedy pozorovaný nesoulad experimentu s teorií.

## 9.5 Korelační zorné pole systému a jeho maximalizace

Velikost zorného pole je dalším z důležitých parametrů zobrazovacích systémů. V metodě FINCH je velikost zorného pole určena mírou překryvu interferujících referenčních a signálních svazků. V teoretické části byly odvozeny vztahy užitečné pro odhad překryvu svazků v rovině CCD. Ty lze přímo použít pro přibližné určení velikosti zorného pole. Na tomto místě se pokusíme nalézt experimentální ověření uvedených vztahů a určit zorné pole v jednotlivých geometrických konfiguracích. Hlavní pozornost bude zaměřena na experimentální ověření metody, která umožňuje eliminovat korelační omezení zorného pole. Tato úprava je založena na vřazení  $4 - f$  systému mezi kolimační optiku a SLM a zajišťuje úplné překrytí interferujících vln ve všech pozicích CCD. Funkce  $4 - f$  systému byla objasněna v teoretické části diplomové práce. Účinek vloženého systému je ekvivalentní volbě parametru  $\Delta_1 = 0$  ve standardní FINCH sestavě. Tato vzdálenost představuje odstup mezi kolimačním objektivem a SLM a její nulová hodnota je ve standardní sestavě technicky nemožná. V modifikaci se  $4 - f$  systémem je stejného efektu dosaženo projekcí výstupní pupily kolimačního objektivu do roviny SLM. Tím je zaručeno, že interferující svazky budou vždy překryté. Nastavení  $4 - f$  systému je provedeno tak, aby jeho zvětšení bylo jednotkové. Tento princip byl schematicky naznačen v obrázku 7. Dále bude demonstrováno, že na zvětšení zorného pole systému má ve srovnání se standardním systémem pozitivní vliv také dvoučočková konfigurace metody FINCH.

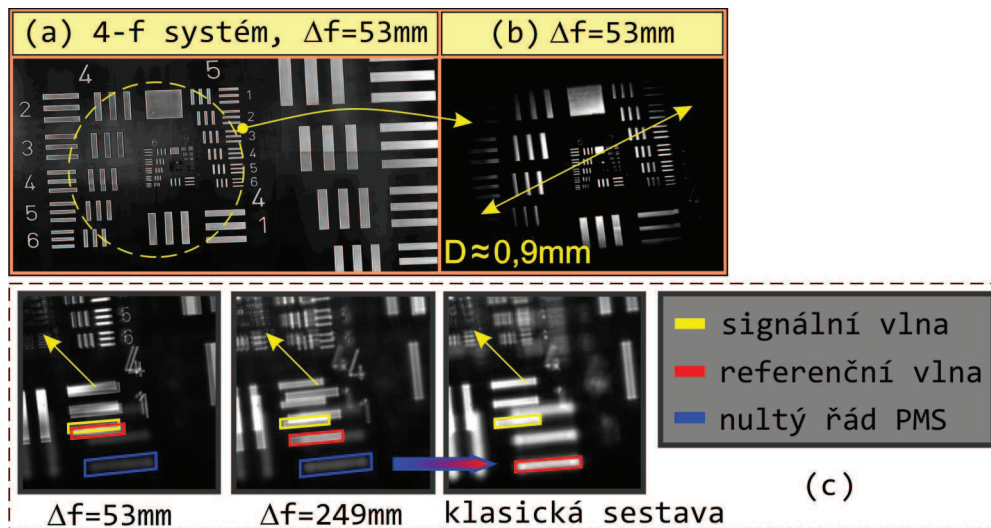


**Obrázek 30:** Porovnání velikostí zorného pole pro (a) modifikovanou FINCH sestavu s vloženým  $4 - f$  systémem a (b) standardní FINCH sestavu se stejnými základními parametry. (c) Demonstrace porušení překryvu referenčního a signálního svazku v okrajových částech zorného pole.

V obrázku 30 jsou prezentovány rekonstruované záznamy USAF testu pořízené ve dvou konfiguracích, které využívají stejných základních parametrů  $f_0 = 20$  mm,  $f_d = 750$  mm a  $\Delta_2 = 562$  mm. Rozdíl mezi sestavami je v tom, že jedna využívá vřazený  $4 - f$  systém, zatímco druhá je standardní. Rekonstrukce testu v obrázku 30a byla provedena ze záznamů pořízených pomocí  $4 - f$  systému. Při porovnání s rekonstrukcí v obrázku 30b provedenou ze záznamů získaných v sestavě bez  $4 - f$  systému je rozdíl ve velikosti zorného pole na první pohled patrný. Referenční a signální svazek jsou v libovolné rovině  $\Delta_2$  vždy překryty a to pro všechny body zorného pole objektivu. V konfiguraci metody FINCH s vloženým  $4 - f$  systémem bylo odstraněno korelační omezení zorného pole a to je tedy limitováno jen zorným polem použitého objektivu. Obraz prezentovaný v obrázku 30a vznikl složením několika rekonstruovaných obrazů, které byly zachyceny v různých příčných pozicích CCD. Tento postup byl použit, protože celé zorné pole kolimačního objektivu pokrývá oblast, která pro danou podélnou pozici  $\Delta_2$  přesahuje rozměr aktivní plochy CCD.

Srovnávací rekonstrukce na obrázku 30b provedená ve standardní konfiguraci bez vloženého  $4 - f$  systému vykazuje několikrát menší zorné pole. Jeho průměr lze odhadnout na  $D \approx 0,3$  mm. Toto výrazné zmenšení zorného pole je způsobeno menším překryvem interferujících svazků při zobrazování mimoosových bodů. Zhoršení překryvu je v praktické situaci demonstrováno na interferenčním záznamu použitém pro rekonstrukci obrazu 30b. Zakroužkované oblasti interferenčního záznamu uvedeného v obrázku 30c znázorňují signální a referenční vlny. Je vidět, že s narůstající vzdáleností od středu zorného pole, vyznačeného pomocí žlutých šipek, roste i vzdálenost mezi komponentami odpovídajícími signálním a referenčním vlnám. Sbíhavá signální vlna způsobuje stažení obrazu blíže ke středu zorného pole. Signál odpovídající referenční vlně zůstává více roztažený. Přestože zde není kladen důraz na kvantifikaci velikosti zorného pole, ale spíše na úspěšnou demonstraci jeho zvětšení, alespoň hrubé porovnání skutečného a výpočtetně určeného zorného pole lze provést. S použitím (29) pro standardní sestavu s použitými parametry  $f_0 = 20$  mm,  $NA = 0,28$  a  $\Delta_1 = 250$  mm výpočtem dostáváme teoretický průměr zorného pole  $D_T = 0,45$  mm. Skutečné zorné pole odhadnuté z rekonstruovaného obrazu je přibližně  $D = 0,3$  mm. S ohledem na paprskovou aproximaci použitou při výpočtu překryvu lze tento odhad považovat za uspokojivý.

Obrázek 31 demonstruje zvětšení zorného pole s využitím  $4 - f$  systému při dvoučočkovém záznamu hologramů. Zvětšené zorné pole při použití  $4 - f$  systému je v obrázku 31a. Zlepšení ve srovnání s dvoučočkovým záznamem v obrázku 31b je opět jednoznačné. Zorné pole systému s vloženým  $4 - f$  systémem opět odpovídá zornému poli použitého kolimačního objektivu. Zajímavé srovnání nabízí rekonstruované obrazy 30b a 31b, které byly získány v identické geometrii experimentu. Jejich rozdíl je daný jen rozdílným typem referenčních vln. Je zřejmé, že při využití dvoučočkové varianty pracující se sférickou referenční vlnou dochází k nárůstu zorného pole ve srovnání se standardním systémem. Tento jev lze jednoduše vysvětlit při uvážení změny geometrie referenční a signální vlny za SLM. Ve standardní sestavě signální vlna konverguje do bodu ležícího na hlavním paprsku čočky adresované na SLM, zatímco referenční vlna prochází nezměněná. Při adresování SLM dvoučočkovým CGH jsou obě vlny při průchodu přes SLM směrově změněny ke společnému hlavnímu paprsku. Tím se zmenšuje úhlové rozbíhání referenční a signální vlny a dochází k rozšíření zorného pole systému. Zorné pole systému se v dvoučočkové konfi-



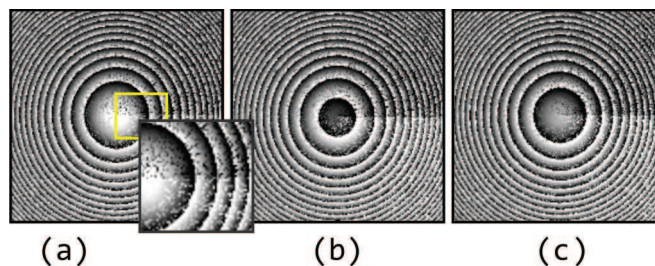
**Obrázek 31:** Porovnání velikostí zorného pole pro (a) dvoučočkovou FINCH sestavu s vloženým 4 –  $f$  systémem a (b) standardní dvoučočkovou FINCH sestavu se stejnými základními parametry (c). Demonstrace změn překryvu referenčního a signálního svazku v okrajových částech zorného pole v odlišných konfiguracích systému.

guraci dále zlepšuje se zmenšující se vzdáleností bodů konvergence referenční a signální vlny  $\Delta f$ . Popisovaná situace je uvedena názorně na experimentálních datech v obrázku 31c. Zde jsou opět interferenční záznamy podílející se na vytvoření výsledného hologramu. Pomocí barevných obdelníků jsou v jednotlivých obrázcích vyznačeny elementy odpovídající signálním vlnám, referenčním vlnám a v případě dvoučočkového FINCH zobrazení i nultému řádu SLM. Diskuse vlivu nultého řádu na rekonstruovaný obraz byla provedena v kapitole 6.2 zabývající se obecně dvoučočkovou sestavou. Zde bylo také ukázáno, že nultý řád je ve standardní sestavě v překryvu s referenční vlnou. Oblasti nultého řádu jsou modře vyznačeny v 31c pro případy  $\Delta f = 53$  mm a  $\Delta f = 249$  mm. Přechod nultého řádu v dvoučočkové sestavě do referenční vlny ve standardní sestavě lze poté pozorovat při přechodu modře vyznačených oblastí v obrázku 31c  $\Delta f = 53$  mm a  $\Delta f = 249$  mm do červené oblasti v obrázku odpovídajícímu standardní sestavě. V obrázku 31c, který odpovídá standardní sestavě je dále vidět velká vzdálenost mezi žlutou a červenou oblastí. Ty popisují signální a referenční vlny a míra jejich překryvu vymezuje zorné pole. Přínos dvoučočkové konfigurace ke zvětšení zorného pole je poté patrný na obrázcích 31c  $\Delta f = 53$  mm a  $\Delta f = 249$  mm, kde se žluté a červené oblasti přibližují se zmenšujícím se  $\Delta f$ . Tím se zvětšuje překryv interferujících svazků i ve větších vzdálenostech od středu zorného pole.

## 9.6 Realizace spirálního amplitudového kontrastu

Zvýraznění kontrastu hran trojrozměrných amplitudových objektů v korelačním zobrazení pracujícím s nekoherentním osvětlením je původní metoda, která byla navržena a experimentálně ověřena v rámci diplomové práce [16]. Teoretické zázemí vychází z principů mikroskopie spirálního fázového kontrastu. Ta využívá spirální filtrace k vytvoření vírové impulzní odezvy optických systémů pracujících s koherentním světlem. Na základě

interferenčních efektů vírových obrazových struktur dochází ke zvýraznění amplitudových přechodů a zviditelnění gradientů fáze při intenzitní detekci. FINCH je originální tím, že přestože využívá nekoherentní osvětlení, rekonstrukce obrazu probíhá v koherentním režimu. V této metodě je tedy z principu možné využít interferenčních vírových efektů. Vírové impulsní odezvy je možné v metodě FINCH dosáhnout opticky, zavedením vírové referenční vlny se šroubovitou vlnoplochou, nebo implementací spirální fázové modulace prostorového spektra ve fázi numerické rekonstrukce standardních záznamů. Šroubovitá



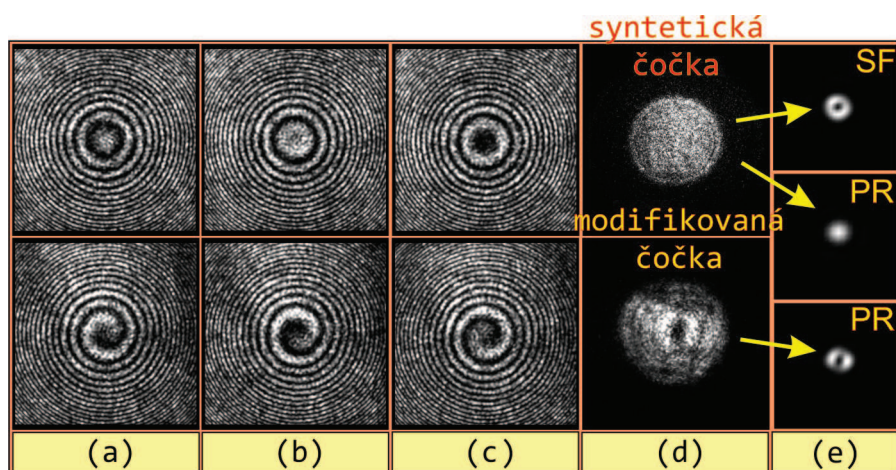
**Obrázek 32:** CGH využívané ve spirální modifikaci metody FINCH. CGH vytváří sférickou signální vlnu s bodem konvergence ve vzdálenosti  $f_d = 750$  mm od SLM a vírovou referenci se šroubovitou vlnoplochou. CGH odpovídají různým fázovým posunutím signální vlny  $\vartheta$ : (a)  $\vartheta_1 = 0$ , (b)  $\vartheta_2 = 2\pi/3$ , (c)  $\vartheta_3 = 4\pi/3$ .

referenční vlna je v optické realizaci vírového FINCH zobrazení získána působením vhodně navržených CGH. Jejich matematický tvar udává vztah (43) a profily odpovídající třem různým fázovým posunutím jsou znázorněny v obrázku 32. Při zobrazení bodového zdroje CGH generuje sférickou signální a šroubovitou referenční vlnu, které interferují a na CCD vytvářejí typický spirální interferenční vzor. Záznamy bodového zdroje pořízené se šroubovitou referenční vlnou jsou ve spodním řádku obrázku 33. Pro porovnání jsou v horním řádku uvedeny korelační záznamy bodového zdroje pro rovinnou referenční vlnu. V obou případech jsou záznamy uvedeny pro tři rozdílná fázová posunutí signální vlny. Zpracováním těchto záznamů je získána syntetická čočka použitá při rekonstrukci obrazu. Syntetická čočka vytvořená v případě šroubovité referenční vlny má spirální fázi a její rekonstrukci je získána vírová impulsní odezva, která má v intenzitním vyjádření mezikruhovou stopu znázorněnou ve spodním řádku obrázku 32e. Přímou rekonstrukcí syntetické čočky odpovídající rovinné referenční vlně je získán bodový obraz, který má pro difrakčně limitovaný systém tvar Airyho disku. Je-li při rekonstrukci této standardní syntetické čočky použita spirální fázová modulace prostorového spektra, je získána vírová impulsní odezva, podobně jako v případě rekonstrukce záznamů pořízených se šroubovitou referencí. Výsledky přímé a spirální rekonstrukce syntetické čočky vytvořené s rovinnou referencí jsou naznačeny v horním řádku obrázku 32e.

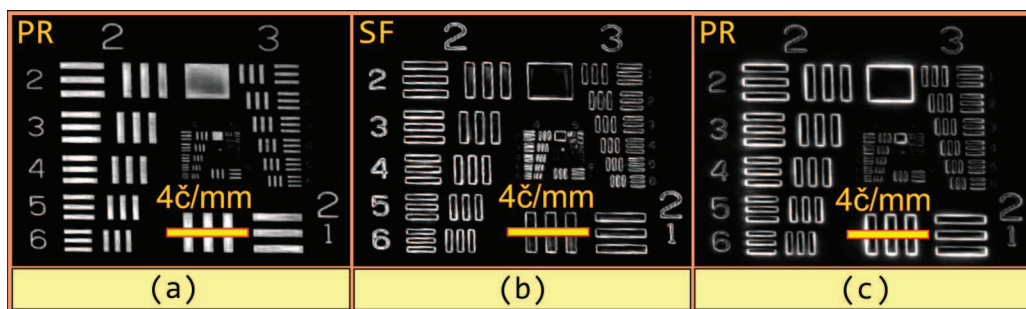
Při rekonstrukci rozlehlého objektu jsou jeho jednotlivé body zobrazeny jako vírové stopy s azimutálně proměnnou fází. Výsledný obraz pak vzniká jejich koherentní superpozicí. Konstruktivní a destruktivní vírovou interferencí objasněnou v kapitole 6.1.2 potom dochází ke zvýraznění amplitudových rozhraní pozorovaných objektů. Možnosti této metody jsou demonstrovány při rekonstrukci negativního USAF testu v dvoučočkové konfiguraci FINCH. Porovnání obrazů testu získaných běžnou rekonstrukcí s výsledky spirálního zvýraznění hran je provedeno v obrázku 34. Záznamy byly pořízeny s objektivem  $f_0 = 150$  mm a SLM čočkami o ohniskových vzdálenostech  $f_{d1} = 470$  mm a  $f_{d2} = 523$



mm. Pozice CCD odpovídala vzdálenosti  $\Delta_2 = 495$  mm. Obraz testu 34b byl vytvořen spirální fázovou modulací prostorového spektra v průběhu numerické rekonstrukce běžných záznamů odpovídajících srovnávacímu obrazu 34a. Amplitudového kontrastu v obrázku 34c bylo dosaženo opticky. V tomto případě byl použit CGH, který zajišťuje spirální strukturu bodových korelačních záznamů. Porovnání rekonstrukcí 34b, c ukazuje, že oběma metodami spirálního amplitudového kontrastu lze dosáhnout srovnatelných výsledků. Z hlediska praktického využití se jako velmi výhodná jeví numerická spirální modulace prostorového spektra.



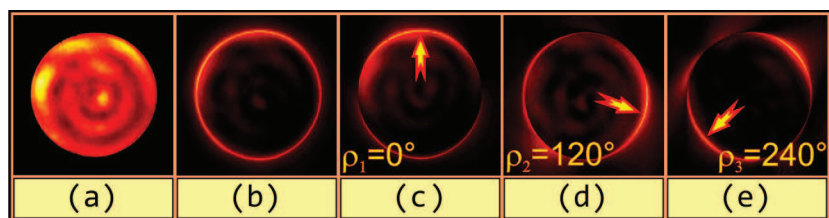
**Obrázek 33:** Srovnání záznamu a rekonstrukce bodového zdroje ve standardní metodě FINCH (horní řádek) a spirální modifikaci metody FINCH (spodní řádek): (a) – (c) bodové korelační záznamy pro různá fázová posunutí signální vlny, (d) konstrukce syntetické čočky, (e) rekonstruovaný obraz bodu.



**Obrázek 34:** Srovnání různých verzí metody FINCH při rekonstrukci negativního USAF testu: (a) standardní záznam a rekonstrukce, (b) standardní záznam a rekonstrukce se spirální filtrací, (c) spirální záznam se šroubovitou referencí a standardní rekonstrukce.

Metoda numerické spirální fázové modulace prostorového spektra je výhodná také tím, že umožňuje využít některých technik zavedených v mikroskopii spirálního fázového kontrastu. Jedná se zejména o směrově selektivní zvýraznění hran. Toho je dosaženo modifikací spirálního filtru používaného při rekonstrukci klasických záznamů. Metoda prezentovaná v [29] umožňuje pomocí sinové modulace spirálního filtru zvýrazňovat hrany

v požadovaných směrech. Stejného efektu lze dosáhnout stanovením konstantní fáze středu spirálního filtru, který ovlivňuje nulovou prostorovou frekvenci transformovaného obrazu [28]. Experimentální ověření funkčnosti selektivního zvýraznění hrany při zobrazení v amplitudovém kontrastu bylo demonstrováno na rekonstrukci kruhové clony. Výsledky prezentované v obrázku 35a a 35b ukazují standardně rekonstruovaný obraz a poté homogenní zvýraznění hrany clony. Zbylé obrázky 35c – e demonstrují selektivní zvýraznění hrany ve směrech  $0^\circ$ ,  $120^\circ$  a  $240^\circ$ . Směrové zvýraznění hran bylo dosaženo pomocí spirálního filtru modifikovaného sinovou funkcí. Demonstrace jsou svou kvalitou přinejmenším srovnatelné s výsledky prezentovanými v práci [29], kde se využívá optického spirálního kontrastu realizovaného v koherentním osvětlení. Metoda prezentovaná v diplomové práci je originální tím, že pracuje s nekoherentním osvětlením. Podle dostupných informací se jedná o první metodu, která umožňuje zvýraznění kontrastu amplitudových rozhraní v trojrozměrném korelačním holografickém zobrazení. Tato technika výrazně rozšiřuje aplikační potenciál metody FINCH.

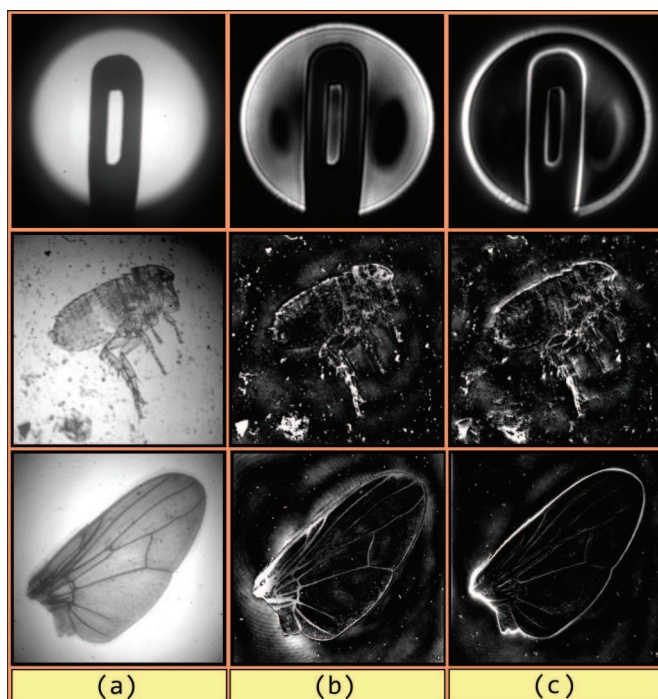


**Obrázek 35:** Demonstrace anizotropního spirálního kontrastu při rekonstrukci kruhové clony: (a) srovnávací rekonstrukce provedená standardní metodou FINCH, (b) izotropní zvýraznění hrany, (c) – (e) směrově selektivní zvýraznění hrany. Obrazy (b) – (e) byly získány spirální fázovou modulací použitou při numerické rekonstrukci záznamů odpovídajících případu (a).

## 9.7 Shrnutí aplikačního potenciálu

V experimentální části diplomové práce byla prezentována řada výsledků získaných v rozdílných režimech metody FINCH. V této kapitole bude vytvořen přehled nejdůležitějších záznamových a rekonstrukčních technik a provedena ukázka zobrazení některých zajímavých objektů.

V experimentální sestavě FINCH lze zobrazovat ve třech základních režimech, které mají další modifikace. Nejjednodušší variantou je přímé optické zobrazení, které je dosaženo tak, že SLM pracuje jako jednoduchá čočka použitá v tandemu s kolimačním objektivem. Takovéto záznamy lze s výhodou využít jako referenční obraz pro posouzení kvality rekonstruovaných hologramů. Další možností sestavy FINCH je standardní rekonstrukce obrazu, která ve vhodné geometrické konstalaci umožňuje subdifrakční rozlišení. Zde existují další dvě modifikace odpovídající záznamu předmětu s rovinnou referenční vlnou nebo dvoučočkovému záznamu se sférickou referenční vlnou. Obě nastavení lze modifikovat vložením  $4 - f$  systému, který zajistí plné využití zorného pole kolimačního objektivu. Třetí základní variantou je vírové FINCH zobrazení, které umožňuje zvýšení kontrastu hran trojrozměrných objektů. Metoda FINCH umožňuje provést tento typ zobrazení v nekoherentním světle, což ji odlišuje od ostatních známých metod schopných



**Obrázek 36:** Demonstrace tří základních režimů zobrazení, které umožňuje sestava FINCH: (a) přímé optické zobrazení, (b) standardní FINCH rekonstrukce, (c) spirální FINCH rekonstrukce se zvýrazněním kontrastu hran. Použité objekty: první řádek - kruhová clona s uchem jehly, druhý řádek - blecha umístěná mezi mikroskopová krycí sklíčka, třetí řádek - křídlo mouchy.

podobně pracovat pouze za využití koherentních zdrojů záření. Zobrazení se zvýrazněním hran lze opět provést dvěma způsoby. První vychází ze spirální modifikace korelačních záznamů předmětu, druhý je založen na spirální fázové modulaci uplatněné v průběhu numerické rekonstrukce obrazu.

Na obrázku 36 jsou všechny tři základní varianty FINCH zobrazení prezentovány v konkrétní situaci. Sloupec 36a odpovídá přímému optickému zobrazení, sloupec 36b standardnímu FINCH zobrazení a 36c spirální FINCH rekonstrukci se zvýrazněním kontrastu hran. První řádek obrázku 36 zobrazuje binární amplitudový předmět reprezentovaný kruhovou clonou a uchem jehly. Jejich podélná pozice v předmětovém prostoru je odlišná a umožňuje demonstrovat možnost trojrozměrného zvýraznění hrany. Předmětem použitým ve druhém řádku byla blecha vložená mezi dvě mikroskopová krycí sklíčka. Třetí řádek představuje po čistě amplitudovém a amplitudově-fázovém preparátu použitým v prvních dvou případech výrazně transparentní objekt, kterým je křídlo mouchy.

## Část II

# Kvazimonochromatický FINCH

V první části diplomové práce byl navržen základní výpočetní model, který objasňuje princip rekonstrukce obrazu metodou FINCH, popisuje základní geometrickou vazbu mezi předmětovým a numericky vytvořeným obrazovým prostorem a stanovuje difrakční limity obrazového výkonu pro dosud známé experimentální konfigurace. Pro zjednodušení matematického zpracování bylo předpokládáno, že záznam pozorovaných předmětů je proveden s využitím prostorově nekoherentního monochromatického světla. V tomto přístupu byla navržena a podrobně prozkoumána celá řada specifických zobrazovacích vlastností, které v běžných metodách nejsou dostupné. Provedená experimentální ověření teoretických výsledků byla prováděna s nekoherentními zdroji záření, kterými byly LED nebo halogenové žárovky. Splnění předpokladu monochromatickosti záření bylo v dobrém přiblížení dosaženo použitím interferenčního filtru s pásmem propustnosti 3 nm. Při experimentech prováděných v průběhu řešení diplomové práce bylo ověřeno, že korelační záznamy je možné vytvořit a následně rekonstruovat i při mnohem větší šířce spektra použitého zdroje. Tento poznatek je velmi významný zejména pro oblast fluorescenční mikroskopie, kde se pracuje s velmi slabým optickým signálem.

Experimentální podněty motivovaly snahu o vytvoření zpřesněného výpočetního modelu, který bude pracovat s kvazimonochromatickým zářením určeným definovaným profilem spektra a koherenční délkou. Touto problematikou se zabývá druhá část diplomové práce. Hlavním cílem je výpočetní analýza vlivu zmenšené koherenční délky zdroje na kvalitu holografického záznamu a rekonstruovaného obrazu a odhad limitů pro přípustnou koherenční délku nebo šířku spektra použitého zdroje. Velmi významná je rovněž analýza, která ukazuje, že degradace rekonstruovaného obrazu má v různých experimentálních konfiguracích velmi rozdílnou citlivost na rostoucí šířku spektra zdroje. Toho je využito pro návrh systému, který minimalizuje rozdíly optických drah a toleruje extrémní šířku spektra. Veškeré teoretické návrhy jsou podobně jako v první části práce ověřeny experimentálně.

## 10 Matematický model

Princip metody FINCH spočívá v korelačním záznamu objektu, který vzniká tak, že záření vysílané jednotlivými body objektu je rozděleno do dvou vln, které na CCD vytvářejí interferenční vzor obsahující úplnou informaci o výchozím bodovém zdroji. V případě kvazimonochromatického záření je interference zásadně závislá na koherenční délce použitého záření a na rozdílu optických drah (OPD - Optical Path Difference) interferujících vln. Tyto parametry významně ovlivní strukturu holografického záznamu objektu a následně také kvalitu rekonstruovaného obrazu. Uvážení kvazimonochromatického záření a důsledná analýza jeho vlivů může mít i významný dopad na optimální volbu experimentální sestavy. OPD je důsledkem odlišného zakřivení vlnoploch interferujících vln. Narozdí od časové koherence, která je danou vlastností záření se kterým pracujeme, lze velikost OPD ovlivňovat změnou tvaru vlnoploch referenčního a signálního svazku a tím optima-

lizovat nastavení systému s ohledem na šířku spektra použitého zdroje. Rozdíl OPD daný geometrií vlnoploch referenční a signální vlny může být dále zesílen disperzními efekty, ke kterým dochází při fázové modulaci záření na SLM. Původ disperze signálu na SLM, lze vidět v difrakci záření na diskretní periodické struktuře SLM. Tento efekt lze v případě potřeby úspěšně kompenzovat materiálovou disperzí vhodně navržených refrakčních optických prvků.

Kompletní analýza rekonstrukce obrazu metodou FINCH, která v obecném případě pracuje s trojrozměrnými objekty osvětlenými kvazimonochromatickým prostorově nekoherentním zářením, představuje komplikovaný, v odborné literatuře dosud neřešený problém. V rámci diplomové práce bude hlavní pozornost zaměřena na základní situaci, která se týká záznamu a rekonstrukce obrazu bodového zdroje, který vysílá kvazimonochromatické záření s blíže určenými vlastnostmi z hlediska časové koherence. Pro vyšetření vlastností metody FINCH byl vypracován matematický model, který vychází z teorie koherence druhého řádu a respektuje její předpoklady stacionarity a ergodicity. Tento model se podrobněji věnuje optické části experimentu a popisuje a následně názorně interpretuje korelační záznam bodového zdroje s uvážením časové koherence použitého záření. Tím je vytvořeno zázemí pro následnou rekonstrukci obrazu a výpočet trojrozměrné PSF.

Při popisu bodového zobrazení předpokládáme bodový zdroj kvazimonochromatického záření umístěný do předmětové ohniskové roviny kolimační čočky. Kulová vlna vyzářená tímto zdrojem je kolimována a směřována na SLM. Podobně jako v případě monochromatického záření ji SLM rozštěpí na vlnu referenční a signální. Po transformaci se vlny šíří volným prostorem a dopadají na CCD. S ohledem na částečnou časovou koherenci signálu je nutné definovat funkci vzájemné koherence

$$\Gamma_j(\tau) = \langle U_{s_j}(t)U_r^*(t + \tau) \rangle, \quad j = 1, 2, 3, \quad (49)$$

kde  $U_r$  a  $U_{s_j}$  jsou referenční a signální vlna,  $\langle \cdot \cdot \rangle$  značí časové středování a  $\tau = t' - t$  představuje časové zpoždění mezi signální a referenční vlnou. Vlny  $U_r$  a  $U_{s_j}$  jsou kvazimonochromatickým zobecněním vln daných vztahy (4) a (5) a pro jejich zápis je vhodné využít Fourierovy transformace,

$$U_r = A_r \int_{-\infty}^{\infty} u(\nu) \exp(i\phi_r + i2\pi\nu t) d\nu,$$

$$U_{s_j} = A_s \int_{-\infty}^{\infty} u(\nu) \exp(i\phi_s - i\vartheta_j + i2\pi\nu t) d\nu, \quad j = 1, 2, 3,$$

kde  $A_r$ ,  $A_s$  jsou konstantní amplitudy,  $u(\nu)$  jsou frekvenční komponenty obsažené ve spektru uvažovaného zdroje záření a  $\vartheta_j$  jsou konstantní fázové posuvy signální vlny postupně adresované na SLM ve formě CGH. Fázové členy  $\phi_r$  a  $\phi_s$  jsou určeny výrazem

$$\phi_i = \frac{2\pi\nu}{c} D_i, \quad i = r, s,$$

kde  $D_r$  a  $D_s$  jsou optické dráhy referenční a signální vlny mezi uvažovaným bodovým zdrojem záření a rovinou záznamu a  $c$  je fázová rychlost šíření světla ve vakuu. Za předpokladu, že jednotlivé frekvenční komponenty spektra uvažovaného zdroje jsou vzájemně

nekorelované, lze psát  $\langle u(\nu)u^*(\nu') \rangle = \delta(\nu - \nu') |g(\nu)|^2$ , kde  $\delta$  značí Diracovu delta funkci a  $|g(\nu)|^2$  je spektrální hustota zdroje. Funkci vzájemné koherence pak můžeme po dosažení referenční a signální vlny do (49) zapsat ve tvaru

$$\Gamma_j(\tau) = A_r A_s \exp(-i\vartheta_j) \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \delta(\nu - \nu') |g(\nu)|^2 \times \exp \left\{ \frac{i2\pi}{c} [(\nu D_s - \nu' D_r) + c(\nu t - \nu' t')] \right\} d\nu d\nu'. \quad (50)$$

Je zřejmé, že funkce vzájemné koherence nabývá nenulové hodnoty jen pro  $\nu = \nu'$ , takže dostáváme

$$\Gamma_j(\tau) = A_r A_s \exp(-i\vartheta_j) \int_{-\infty}^{\infty} |g(\nu)|^2 \exp \left[ \frac{i2\pi\nu}{c} (\Delta D - c\tau) \right] d\nu, \quad (51)$$

kde  $\Delta D = D_s - D_r$  je OPD mezi referenční a signální vlnou. Pro další výpočty je nutné definovat vlastnosti spektra uvažovaného zdroje záření. Pro možnost provedení analytických výpočtů je výhodné uvažovat gaussovský tvar spektra zdroje,

$$g(\nu) = \exp \left[ \frac{-(\nu - \nu_0)^2}{\Delta\nu^2} \right].$$

Jeho základními parametry jsou šířka spektra  $2\Delta\nu$  a centrální frekvence  $\nu_0$ . Řešitelnost integrálu (51) závisí na přijaté aproximaci, ve které na systém nahlížíme. Situace se výrazně zjednoduší při zanedbání disperzních vlivů související s činností užitých refrakčních prvků a také disperzních projevů SLM způsobených difrakcí. V nedisperzním přiblížení je určení funkce vzájemné koherence přímočaré, protože se redukuje na výpočet Fourierovy transformace Gaussovy funkce. Přesnější model zahrnující disperzní vlivy je výpočetně náročnější, protože  $\Delta D$  vykazuje závislost na frekvenci.

## 10.1 Nedisperzní model

Nedisperzní model pracuje s představou idealizovaných optických prvků, u kterých není uvažována materiálová disperze a frekvenční závislost difrakčních jevů. Tento přístup je cenný tím, že umožňuje poměrně jednoduše zkoumat vliv časové koherence na degradaci záznamu a rekonstrukce obrazu, určit přípustné parametry používaných zdrojů a optimalizovat experimentální sestavu s ohledem na spektrální vlastnosti zdroje. V nedisperzním přiblížení OPD nezávisí na frekvenci a integraci (51) lze jednoduše provést. Pomocí vypočtené funkce vzájemné koherence je možné zapsat intenzitu, která odpovídá korelačním záznamům bodového zdroje,

$$I_j = \langle |U_{s_j} + U_r|^2 \rangle = \langle |U_r|^2 \rangle + \langle |U_{s_j}|^2 \rangle + \langle U_{s_j} U_r^* \rangle + \langle U_{s_j}^* U_r \rangle.$$

Po úpravě je možné korelační záznamy přepsat do tvaru zákona pro interferenci dvou částečně koherentních svazků,

$$I_j = I_r + I_{s_j} + 2|\gamma| \sqrt{I_r I_{s_j}} \cos(\Delta\Phi - \vartheta_j), \quad (52)$$

kde

$$|\gamma| = \exp \left[ \frac{-\pi^2}{2c^2} \Delta\nu^2 (\Delta D - c\tau)^2 \right], \quad (53)$$

$$\Delta\Phi = \frac{2\pi}{c} \nu_0 (\Delta D - \tau). \quad (54)$$

V rovnici (52) je významný zejména interferenční člen, ve kterém se objevuje stupeň koherence  $|\gamma|$ . Ten popisuje míru korelace interferujících vln z pohledu časové koherence. V limitním případě monochromatického záření je  $\Delta\nu = 0$  a dostáváme plnou korelaci  $|\gamma| = 1$ . S rostoucí šířkou spektra korelace signálů klesá a  $|\gamma|$  se postupně blíží k nule. Kombinací tří korelačních záznamů provedených s rozdílným fázovým posunutím signální vlny  $I_j$  je pomocí (8) získán výsledný hologram

$$T = -i\sqrt{3I_r I_s} |\gamma| \exp(i\Delta\Phi), \quad (55)$$

který představuje syntetickou čočku. Vztah (55) má zásadní význam pro diskusi vlivu částečné časové koherence světla na rekonstrukci obrazu metodou FINCH. Pro monochromatické záření je  $|\gamma| = 1$  a  $T$  přechází do dříve uvedeného tvaru (9). V tomto případě je syntetická čočka reprezentovaná kvadratickým fázovým členem a její amplituda je konstantní. Jde tedy o prostorově neomezenou čočku, která při rekonstrukci vede na Diracovu delta funkci definující bodový obraz. V případě kvazimonochromatického světla je situace zcela odlišná. Pro  $\Delta\nu \neq 0$  je funkce propustnosti čočky (55) ovlivněna stupněm koherence  $|\gamma|$ , který je určen vztahem (53). Výpočet OPD, na které stupeň koherence závisí, bude podrobně rozpracován v následující kapitole. V této diskusi je postačující uvést, že OPD je kvadratickou funkcí souřadnic  $(x_c, y_c)$  určujících pozici na CCD a závisí rovněž na základních geometrických parametrech experimentu. Pro osový předmětový bod můžeme OPD zapsat jako  $\Delta D = Vr_c^2$ , kde  $r_c^2 = x_c^2 + y_c^2$  a  $V$  je zatím blíže neurčená funkce parametrů systému. Stupeň koherence (53) potom můžeme přepsat do tvaru

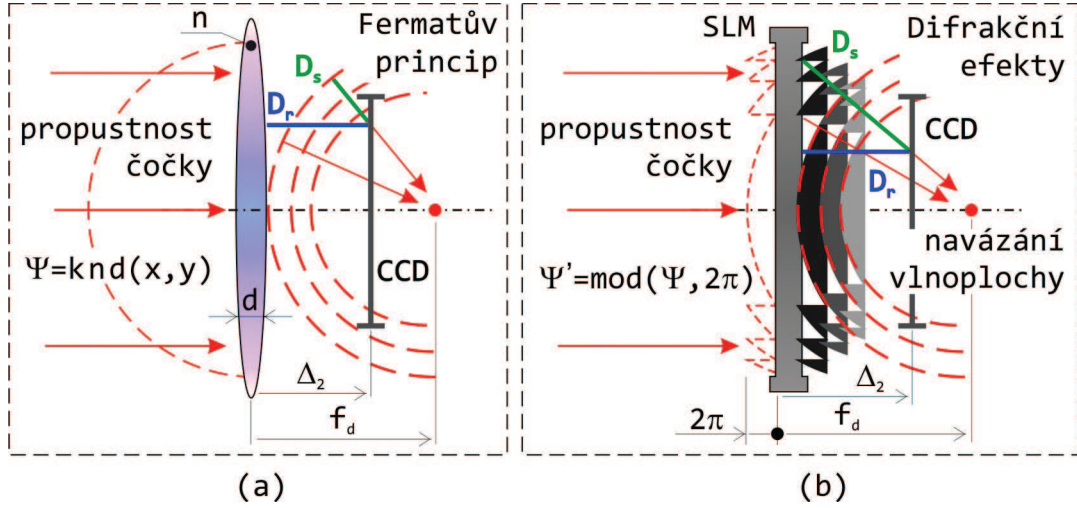
$$|\gamma| = \exp \left( \frac{-\pi^2 Vr_c^2}{2L_k^2} \right), \quad (56)$$

kde  $L_k = c/\Delta\nu$  je koherenční délka zdroje. Vztah (55) teď můžeme interpretovat jako syntetickou čočku příčně ohraničenou gaussovskou aperturou. Tato aperturní funkce není určena geometrickým ohraničením svazků, ale časovou koherencí použitého záření. Gaussovský tvar apertury je určen předpokládaným gaussovským tvarem spektra použitého zdroje. Šířka apertury je přímo úměrná koherenční délce zdroje  $L_k$  a závisí rovněž na funkci parametrů experimentální sestavy  $V$ . Tato závislost bude později využita pro optimální návrh systému s ohledem na částečnou časovou koherenci použitého zdroje. Protože syntetická čočka je použita pro numerickou rekonstrukci obrazu, bude šířka její apertury přímo určovat šířku rekonstruovaného obrazu bodu. Zkrácení koherenční délky zdroje způsobí zúžení koherencí indukované apertury a to se následně projeví rozšířením difrakční stopy rekonstruovaného obrazu bodu.

### 10.1.1 Výpočet OPD

Při výpočtu OPD je nutné přihlídnout k rozdílným způsobům tvarování vlnoplochy pomocí klasických optických prvků využívajících refrakci a SLM, jehož činnost je založena

na principech difraktivní optiky. Spojitá fázová funkce čočky je při zápisu na SLM redukována do intervalů nepřesahujících fázový rozdíl  $2\pi$ . To vede k odlišným přístupům výpočtu OPD se značně rozdílnými výsledky. V této kapitole bude diskutován způsob výpočtu OPD, který bere v úvahu diskretizaci fáze na SLM a umožňuje korektní posouzení korelačních záznamů v jednotlivých konfiguracích metody FINCH.



**Obrázek 37:** Znázornění odlišného způsobu tvarování vlnoplochy pomocí (a) refraktivních a (b) difraktivních optických prvků.

Velikost OPD můžeme jednoduše určit jako rozdíl optických drah paprsků odpovídajících referenční a signální vlně se stejnou dopadovou výškou v rovině CCD. Vzdálenost, na které OPD vyhodnocujeme, je určena separační mezerou  $\Delta_2$  mezi SLM a CCD. Odlišnost obou zmíněných přístupů vyhodnocení OPD je schematicky naznačena v obrázku 37a a 37b. Zde je naznačen refraktivní a difraktivní způsob vytvoření konvergentní signální vlny s bodem konvergence ve vzdálenosti  $f_d$ . Referenční vlny jsou v obou případech uvažovány jako rovinné vlny postupující podél optické osy. Pro OPD pak platí  $\Delta D = D_s - D_r$ , kde  $D_s$  je optická dráha signální vlny, kterou je nutné určit, a  $D_r = \Delta_2$ . Parametry  $D_r$  a  $D_s$  jsou pro jednu dopadovou výšku v rovině CCD vyznačeny v obrázku 37a, b. Odtud je zřejmé, že hodnota  $\Delta D$  je závislá na souřadnicích  $(x_c, y_c)$  roviny CCD.

Situace na obrázku 37a odpovídá čočce, která vytváří spojitou sférickou vlnoplochu. Vzhledem k Fermatovu principu je nutné optickou dráhu signální vlny  $D_s$  vztahovat k výstupní vlnoploše, jak ukazuje zelená úsečka. OPD lze potom zapsat jako

$$\Delta D_k = \frac{x_c^2 + y_c^2}{2(f_d - \Delta_2)}. \quad (57)$$

V případě SLM, výstupní vlnoplocha vzniká působením fázové funkce redukována na interval  $\langle 0, 2\pi \rangle$  a uvedený výpočet OPD této situaci neodpovídá. Při výpočtu OPD můžeme ve velmi dobrém přiblížení postupovat tak, jak je znázorněno v obrázku 37b. Zde není optická dráha měřena od sférické vlnoplochy, ale přímo od roviny SLM. Velikost OPD je v tomto přístupu daná jako

$$\Delta D = \frac{x_c^2 + y_c^2}{2(f_d - \Delta_2)^2} \Delta_2. \quad (58)$$



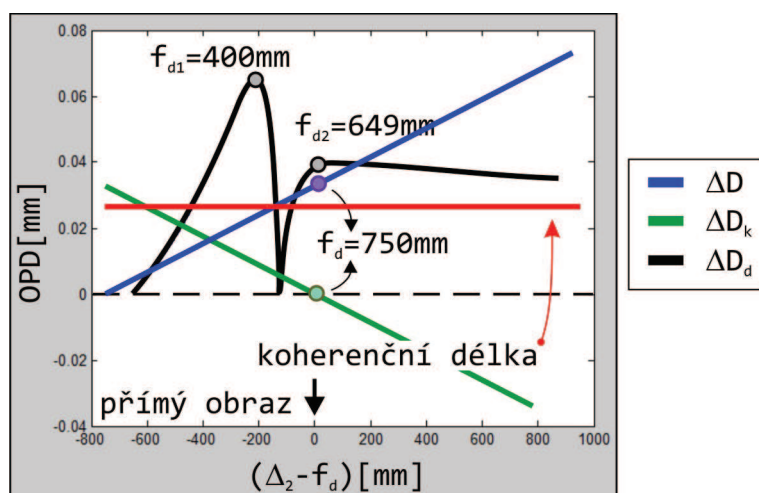
Při vyhodnocení korelačního záznamu kvazimonochromatického bodového zdroje určeno vztahem (52) se s OPD pracuje dvojím způsobem. OPD se objevuje v modulačním interferenčním členu, který určuje tvar interferenčního obrazce, a současně také v korelačním členu, který odpovídá aperturní funkci příčně omezující záznam. Analýzou korelačních záznamů bylo ověřeno, že OPD vystupující v interferenčním členu je nutné vyhodnotit pomocí vztahu (57), zatímco v korelačním členu je nutné užít OPD určenou vztahem (58). Tento postup je z fyzikálního hlediska logický. Profil korelačního obrazce je určen tvary vlnoploch interferující signální a referenční vlny. Z hlediska výsledného tvaru lze signální vlnu považovat za sférickou i v případě použití SLM. To je dáno mechanismem schematicky znázorněným v obrázku 37b, který ilustruje postupné navázání jednotlivých částí vlnoploch vytvořených pomocí CGH s redukovanou fází. Výsledná navázaná vlnoplocha je potom tvarově identická s vlnoplochou vytvořenou refraktivním prvkem a vztah (57) je použitelný i pro případ SLM. Při vyhodnocení korelačního členu je ale nutné pracovat se skutečnými optickými drahami signální a referenční vlny a použít vztah (58).

Identickou analýzu lze provést také pro dvoučočkový FINCH. V této modifikaci jsou obě interferující vlny sférické. Tento fakt musíme opět zohlednit při výpočtu OPD. Na základě obdobných úvah jako při výpočtech s redukovanou fázovou funkcí čočky, provedených výše, lze psát

$$\Delta D_d = \Delta_2 \left[ \sqrt{1 + \frac{x_c^2 + y_c^2}{(f_{d1} - \Delta_2)^2}} - \sqrt{1 + \frac{x_c^2 + y_c^2}{(f_{d2} - \Delta_2)^2}} \right]. \quad (59)$$

Ze vztahů (57) – (59) je zřejmé, že rekonstrukci bodového zdroje nelze pro kvazimonochromatické světlo provést analytickým výpočtem. Důvodem je to, že ve vztahu pro syntetickou čočku (55) se po dosažení faktoru  $|\gamma|$  objeví čtvrtá mocnina souřadnic  $x_c$  a  $y_c$ .

Teoretické průběhy OPD vykreslené na základě numerického vyhodnocení vztahů (57) – (59) jsou v obrázku 38. Vodorovná červená čára odpovídá koherenční délce použitého zdroje  $L_k$  a vymezuje hodnoty OPD, pro které může docházet k interferenci. Ve vykreslené situaci bylo voleno  $\Delta\lambda = 15$  nm. Zelená čára odpovídá průběhu rozdílu OPD ve standardní konfiguraci metody FINCH a vznikla vyhodnocením vztahu (57), který odpovídá transformaci vlnoplochy čočkou. Takto vyhodnocená OPD určuje strukturu interferenčního záznamu bodového zdroje. Vyhodnocení OPD, které je významné pro korelační funkci příčně ohraničující bodový záznam, je určeno modrou křivkou. Ta odpovídá standardní FINCH sestavě s rovinnou referenční vlnou a vznikla vyhodnocením vztahu (58). OPD v tomto případě lineárně narůstá s rostoucí vzdáleností  $\Delta_2$ . Černá křivka pak popisuje průběh OPD v dvoučočkové FINCH konfiguraci a vznikla vyhodnocením vztahu (59). Její průběh je významný pro aplikace a demonstruje výhodnost umístění CCD mezi body konvergence signální a referenční vlny, kde je redukována OPD. Nejmenšího rozdílu OPD lze dosáhnout umístěním CCD do pozice, ve které nastává úplný překryv interferujících svazků. Velikost separační mezery  $\Delta_2$  korespondující s tímto nastavením je určena vztahem (46). Závislosti vynesené v obrázku 38 lze využít při rozměrových návrzích systému.



**Obrázek 38:** Vyhodnocení OPD pro standardní FINCH s rovinnou referenční vlnou a dvoučočkovou modifikací. Červená čára - koherenční délka zdroje, zelená čára - průběh rozdílu OPD ve standardní konfiguraci se spojitou fázovou funkcí propustnosti, modrá čára - průběh rozdílu OPD ve standardní konfiguraci s redukovanou fázovou funkcí propustnosti, černá čára - průběh rozdílu OPD v dvoučočkové konfiguraci s redukcí fázových funkcí propustnosti.

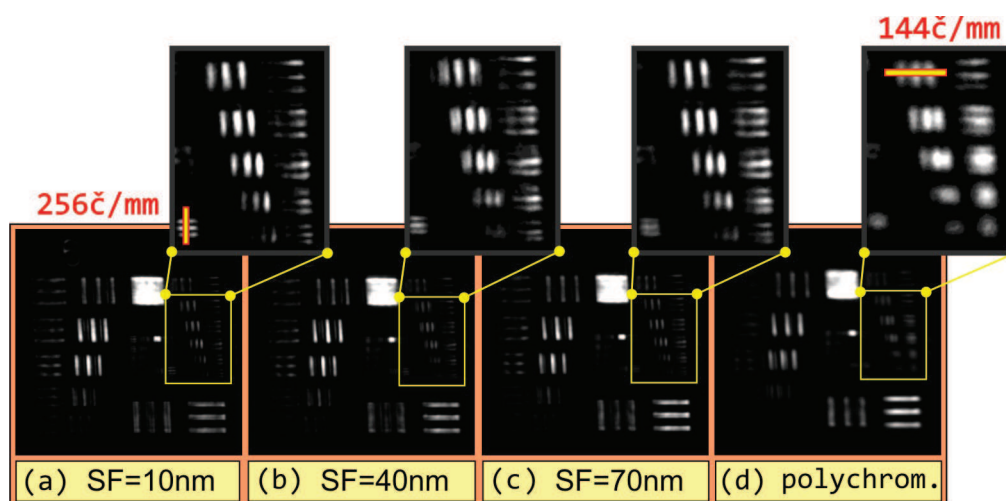
## 11 Experimenty s kvazimonochromatickým světlem

Experimentální výsledky prezentované v první části diplomové práce ověřovaly teoretické výsledky získané v monochromatickém přiblížení a proto využívaly úzkopásmový interferenční filtr o šířce 3 nm. Princip metody FINCH ji ale předurčuje k použití kvazimonochromatických zdrojů s mnohem větší šířkou spektra. V návaznosti na analýzu vlivů částečné časové koherence budou v této kapitole prezentovány experimenty, které teoretické výsledky potvrzují. K experimentům je využita stejná experimentální sestava jako v první části práce, zdrojem záření je ale místo LED halogenová lampa, kterou lze považovat za zdroj bílého světla. Při analýze vlivů šířky spektra byl zdroj používán s interferenčními filtry o šířce pásma propustnosti 10, 40 a 70 nm.

V teoretické části bylo prokázáno, že nejvýznamnějšími faktory, které ovlivňují korelační záznam bodového zdroje, jsou koherenční délka nebo spektrální šířka použitého zdroje a OPD. Protože OPD má přímou souvislost se základními parametry experimentální sestavy, je nutné v souvislosti s částečnou časovou koherencí řešit i optimální volbu experimentální konfigurace. Experimenty jsou zaměřeny především na ověření teoretické předpovědi, že ve dvoučočkové variantě FINCH zobrazení je OPD výrazně menší než v adekvátní standardní konfiguraci, využívající rovinnou referenční vlnu. Dalším teoretickým podnětem pro experimenty je ověření rozdílné citlivosti obrazu na šířku spektra zdroje při pořízení záznamů předmětu v různých pozicích CCD. Tento efekt je markantní jak ve standardní, tak i dvoučočkové konfiguraci.

Protože metoda FINCH využívá jednocestného interferometru, je zde zaručena vysoká odolnost proti vlivům okolního prostředí a také minimální rozdíl OPD. Z těchto důvodů může docházet k interferenci mezi referenční a signální vlnou i při extrémní šířce spektra, kdy je koherenční délka zdroje záření velmi malá a dosahuje hodnot jednotek mikrometrů.

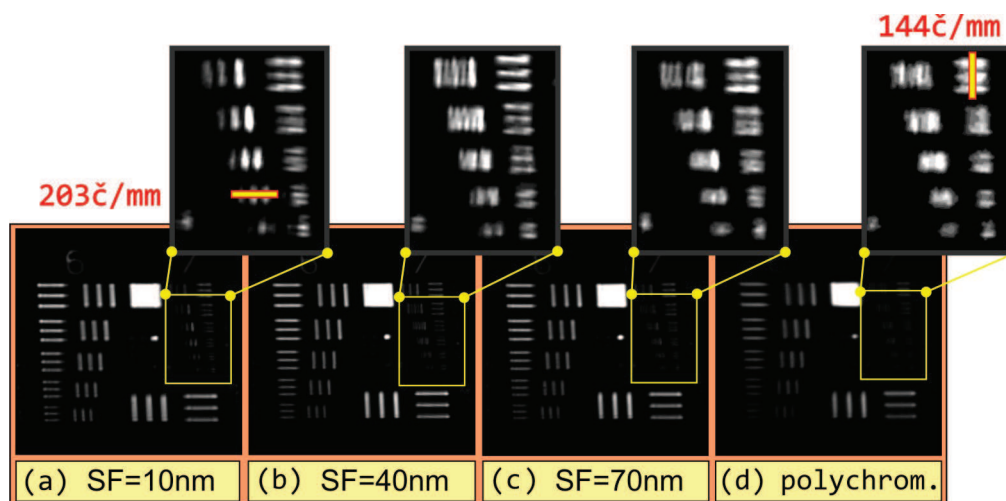
Přestože korelační záznamy vznikají i v těchto extrémních podmínkách, v rekonstruovaném obrazu je zřejmá ztráta kvality, která se projevuje horším rozlišením detailů. Tento efekt je z experimentů zřejmý a je v souladu s teoretickými závěry. Ty ukazují, že kvazi-monochromatické záření vytváří omezující aperturu syntetických čoček, které odpovídají bodovým záznamům. Pro gaussovské spektrum má apertura rovněž gaussovský tvar a její šířka se zmenšuje s rostoucí šířkou spektra použitého záření. Při rekonstrukci se zúžená apertura projeví rozšířením difrakčního obrazu bodu a s tím související ztrátou rozlišení detailů při zobrazení reálných objektů.



**Obrázek 39:** Rekonstrukce USAF testů zaznamenaných ve standardní konfiguraci FINCH s parametry  $f_d = 750$  mm a  $\Delta_2 = 900$  mm. Záznamy byly provedeny při rozdílné šířce spektra použitého záření: (a) – (c) záznamy provedeny s interferenčním filtrem o šířce pásma 10, 40 a 70 nm, (d) záznam s bílým světlem (halogenová lampa bez použití spektrálního filtru).

Na obrázku 39 jsou prezentovány obrazy USAF testů rekonstruované ze záznamů pořízených ve standardní konfiguraci metody FINCH při rozdílné šířce spektra použitého záření. Pro monochromatické záření byla volba pozice CCD z hlediska nejlepšího rozlišení jednoznačně určena podmínkou  $\Delta_2 = 2f_d$ . V případě kvazimonochromatického záření je situace komplikovanější. Graf průběhu OPD v obrázku 38 ukazuje, že v uvažované standardní konfiguraci OPD lineárně roste se vzdáleností CCD od SLM. Z hlediska OPD jsou tedy výhodné blízké pozice CCD,  $\Delta_2 < f_d$ . Při tomto nastavení ale dochází při FINCH zobrazení ke zhoršení rozlišovací schopnosti kolimačního objektivu, které nastává i pro monochromatické záření. Volba vzdálených pozic  $\Delta_2 > f_d$ , které dávají zvýšené rozlišení pro monochromatické záření, vede k nárůstu OPD a tím degradaci obrazu způsobené částečnou časovou koherencí záření. Pro provedenou demonstraci byla zvolena pozice  $\Delta_2 = 900$  mm a parametry sestavy  $f_0 = 20$  mm,  $NA = 0,28$  a  $f_d = 750$  mm. Zvolený případ spíše ukazuje potenciál metody FINCH v extrémních spektrálních podmínkách, než optimální výběr parametrů systému. Na obrázku 39a – c jsou obrazy USAF testů vytvořené rekonstrukcí záznamů pořízených s halogenovou lampou a interferenčními filtry s šířkou pásma propustnosti 10, 40 a 70 nm. Obrázek 39d ukazuje rekonstrukci záznamu pořízeného v bílém světle bez použití spektrálního filtru. Při srovnání obrazu 39a a 39d vidíme, že došlo ke snížení rozlišení systému z původních 256 čar/mm při použitém spektrálním

filtru o šířce 10 nm, na hodnotu 144 čar/mm při plné šířce spektra halogenové lampy. Tyto výsledky naznačují velký potenciál metody z hlediska praktického uplatnění.



**Obrázek 40:** Rekonstrukce USAF testů zaznamenaných ve dvoučočkové konfiguraci FINCH s parametry  $f_{d_1} = 470$  mm,  $f_{d_2} = 523$  mm a  $\Delta_2 = 495$  mm. Záznamy byly provedeny při rozdílné šířce spektra použitého záření: (a) – (c) záznamy provedeny s interferenčním filtrem o šířce pásma 10, 40 a 70 nm, (d) záznam s bílým světlem (halogenová lampa bez použití spektrálního filtru).

Ještě kvalitnějších výsledků a vyšší spektrální odolnosti lze dosáhnout v dvoučočkové modifikaci metody FINCH. Takové experimentální závěry lze předpokládat již na základě průběhu grafu v obrázku 38. Křivka popisující průběh OPD v dvoučočkové FINCH konfiguraci vykazuje minimum pro vzdálenost  $\Delta_2$ , která odpovídá symetrickému nastavení CCD s nejlepším překryvem interferujících svazků. Tato pozice je v závislosti na  $f_{d_1}$  a  $f_{d_2}$  popsána vztahem (46). Teoreticky i experimentálně bylo potvrzeno, že v této pozici a se zmenšujícím se  $\Delta f$  dochází k ideálnímu rozlišení systému a navíc také ke zvětšení zorného pole. Vylepšení spektrální odolnosti v této rovině záznamu je pak jen další výhodou popisované konfigurace. V obrázku 40 je sada obrazů rekonstruovaných ze záznamů pořízených ve stejné konfiguraci jako v obrázku 39. Změna nastala v adresování SLM. Odeslané CGH v tomto případě vytvářejí dvě čočky o ohniskových vzdálenostech  $f_{d_1} = 470$  mm a  $f_{d_2} = 523$  mm. Symetrické nastavení CCD potom odpovídá vzdálenosti  $\Delta_2 = 495$  mm. Z rekonstruovaných obrazů 40a – d je patrné, že zhoršení jejich kvality s rostoucí šířkou spektra je v souladu s teorií menší, než v případě standardní konfigurace. Při porovnání záznamu 40a a 40d lze odhanout zhoršení rozlišení z 203 čar/mm na 144 čar/mm. Protože z hlediska teorie se OPD v ideální symetrické pozici blíží k nule, pozorované zhoršení rozlišení by mělo mít souvislost s disperzními efekty způsobenými SLM a použitými refraktivními prvky.

## 12 Závěr

Diplomová práce se zabývá Fresnelovou nekoherentní korelační holografií (FINCH). Tato metoda byla navržena před pěti lety a je stále systematicky rozvíjena jak z hlediska nových principů, tak i technické realizace. Metoda FINCH umožňuje provést korelační záznam a následnou rekonstrukci trojrozměrných, nekoherentně osvětlených nebo vyzařujících objektů. Základem metody jsou principy optické a digitální holografie a difraktivní optiky spojené s moderními optoelektronickými technologiemi pro fázovou modulaci světla. Klíčovým zařízením experimentální sestavy je prostorový modulátor světla (SLM), který umožňuje sestavit jednocestný interferometr pro realizaci korelačních záznamů pozorovaných objektů.

Cílem diplomové práce bylo navázat na bakalářskou práci [21] a zpracovat nové teoretické a experimentální poznatky publikované v odborné literatuře. Hlavním cílem bylo získat vlastní experimentální zkušenosti a prozkoumat výhody a nevýhody metody a ověřit možnost jejího využití v optické mikroskopii. Tyto cíle byly splněny a na jejich základě se podařilo dosáhnout nových výsledků, které přispěly k rozvoji metody a rozšíření jejího aplikačního potenciálu a byly publikovány v odborné literatuře.

Diplomová práce je koncipovaná jako aktuální přehled shrnující veškeré dosavadní výsledky dosažené při studiu metody FINCH. K tomu využívá výstupy dostupných publikací ale z velké části také vlastní výsledky. Po úvodních kapitolách, které zasazují metodu FINCH do odborného kontextu a nastiňují její aplikační potenciál, je diplomová práce rozpracována ve dvou hlavních tématických blocích. V prvním z bloků je metoda zkoumána za předpokladu, že holografický záznam pozorovaných objektů je proveden s využitím monochromatického prostorově nekoherentního záření. Ověřovací experimenty se tomuto předpokladu přibližují díky využití úzkopásmových interferenčních filtrů. V druhém bloku jsou podrobně studovány efekty spojené s využitím kvazimonochromatických zdrojů záření. Výběr řešených problémů a příslušných experimentů je proveden s ohledem na potenciální využití metody FINCH ve fluorescenční mikroskopii. Obě hlavní části obsahují řadu vzájemně navazujících podkapitol, které umožňují postupné rozšiřování diskutovaných problémů a jejich následné sjednocení umožňující formulaci globálních závěrů.

Pro možnost lepšího posouzení přínosu diplomové práce je provedeno shrnutí hlavních aktivit a výsledků. Ty zahrnují jak výsledky získané na základě publikačních podnětů, tak i nové přístupy, metody a experimenty navržené v rámci řešené diplomové práce.

Z odborných publikací jiných autorů vycházejí zejména experimentální činnosti zaměřené na ověření základních principů a některých nových modifikací metody. Jejich shrnutí lze provést následovně:

- Podle původní práce [7] bylo provedeno základní ověření principu zobrazení reálných objektů ve standardní konfiguraci metody FINCH a navržena metodika justáže systému zajišťující požadované korelační překrytí.
- Byla provedena experimentální ověření možnosti dosažení subdifrakčního rozlišení navrženého v [11].
- Bylo demonstrováno zobrazení testovacích a reálných objektů v doučočkové konfiguraci metody FINCH [12].

- Byla ověřena možnost výrazného rozšíření spektra použitého zdroje při využití dvoučočkové konfigurace metody FINCH [12, 17].

Vlastní přínos práce spočívá v aktivitách zaměřených na výpočetní simulace metody, návrh a experimentální ověření spirálního režimu rekonstrukce obrazu a optimální návrh parametrů experimentální sestavy. Některé výsledky diplomové práce již byly publikovány v časopisech Optics Express a Optics Letters, další odborné publikace se připravují.

- V rámci monochromatického přiblížení metody FINCH byl vytvořen první výpočetní model, který zahrnuje optickou i digitální fázi zobrazení a umožňuje originální interpretaci hologramu bodového zdroje jako syntetické čočky, s parametry vázanými na nastavení systému. Simulační model byl využit pro optimalizaci metody a výsledky byly experimentálně ověřeny [10].
- V rámci paprskového přiblížení byly odvozeny základní parametry rekonstruovaného obrazu, které tvoří významné propojení optické a digitální části experimentu. Jejich platnost byla experimentálně ověřena rekonstrukcí posuvných bodových zdrojů.
- V rámci navržené aproximace byl proveden simulační výpočet trojrozměrné PSF a následně v dobrém souladu realizována její rekonstrukce z experimentálně zaznamenaných dat [10].
- Na základě analýzy bodového zobrazení bylo navrženo rozměrové uspořádání, ve kterém metoda FINCH nedegraduje optický výkon kolimační optiky použité v experimentu. Provedená analýza byla následně využita pro návrh konfigurace se subdifrakčním rozlišením [11].
- Teoreticky a experimentálně byla potvrzena skutečnost, že objekty zaznamenané s nekoherentním osvětlením jsou rekonstruovány v plně koherentním režimu [10].
- Experimentem bylo ověřeno, že dvoučočková modifikace metody FINCH vykazuje rozšířené zorné pole ve srovnání s metodou standardní.
- Byla navržena a experimentálně ověřena modifikace standardního i dvoučočkového systému FINCH, která zajistí několikanásobné zvětšení zorného pole.
- Byl představen vírový mód FINCH zobrazení inspirovaný mikroskopií spirálního kontrastu. Jedná se o první metodu, která umožňuje selektivní zvýraznění hran v trojrozměrné rekonstrukci obrazu při použití nekoherentního světla [16].
- Byl vytvořen matematický model umožňující popis vlivů částečné časové koherence světla na kvalitu korelačního záznamu objektu a rekonstrukce obrazu.
- Experimentálně byla potvrzena vysoká odolnost metody vůči zkrácení koherenční délky použitého zdroje ve vhodné zvolené geometrické konfiguraci experimentu. V diplomové práci jsou prezentovány první rekonstrukce obrazu metodou FINCH, provedené pomocí záznamů realizovaných v bílém světle.

Výsledky diplomové práce potvrdily vysoký potenciál metody FINCH a možnosti jejího praktického uplatnění. Z hlediska následného výzkumu zůstává otevřená řada perspektivních problémů. Doposud prezentovaný teoretický popis zobrazení s využitím širokospektrálních zdrojů není dostatečný a vyžaduje posun k podrobnému a přesnému studiu trojrozměrné PSF ve vazbě na experimentální podmínky. Dále se jedná zejména o ověření možnosti rekonstrukce fázových objektů s využitím částečné prostorové korelace světla, dosažení hloubkové diskriminace při rekonstrukci trojrozměrných objektů nebo ověření principů holografického záznamu fluoreskujících objektů. Mezi dalšími úkoly a cíly je také celkové zvýšení kompaktnosti systému z hlediska konstrukčního řešení, ale i vytvoření uživatelsky přístupného prostředí pro řízení SLM a CCD a zpracování experimentálních dat. Tyto úkoly jsou plánovány v rámci Centra kompetence TA ČR, které nese název Centrum digitální optiky a bylo uděleno konsorciu, které tvoří Univerzita Palackého v Olomouci, Vysoké učení technické v Brně - Středoevropský technologický institut a firmy Meopta - optika, s.r.o., PRAMACOM-HT, spol. s r.o. a Zebr s.r.o. Metoda FINCH je základem pracovního balíčku Zobrazování s využitím SLM technologií a jeho odborným garantem je prof. Radim Chmelík.

## Reference

- [1] Gabor D., *A new microscopic principle*, Nature, 161, 777 (1948).
- [2] Leith E. N., Upatnieks J., *Holography with Achromatic-Fringe Systems*, JOSA, Vol. 57, Issue 8, pp. 975-979 (1967).
- [3] Schnars U., Juptner W., *Digital Holography*, Springer, 2000.
- [4] Kolman P., Chmelík R., *Coherence-controlled holographic microscope*, Optics Express, Vol. 18, Issue 21, pp. 21990-22003 (2010).
- [5] Wojtkowski M., *High-speed optical coherence tomography: basics and applications*, Applied Optics, Vol. 49, Issue 16, pp. D30-D61 (2010).
- [6] Bouchal P., Bradu A., Podoleanu A. Gh., *Gabor fusion technique in a Talbot bands optical coherence tomography system*, Optics Express, Vol. 20, Issue 5, pp. 5368-5383 (2012).
- [7] Rosen J., Brooker G., *Digital spatially incoherent Fresnel holography*, Optics Letters, Vol. 32, Issue 8, pp. 912-914 (2007).
- [8] Rosen J., Brooker G., *Fluorescence incoherent color holography*, Optics Express, Vol. 15, Issue 5, pp. 2244-2250 (2007).
- [9] Brooker G., Siegel N., Wang V., Rosen J., *Optimal resolution in Fresnel incoherent correlation holographic fluorescence microscopy*, Optics Express, Vol. 19, Issue 6, pp. 5047-5062 (2011).
- [10] Bouchal P., Kapitán J., Chmelík R., Bouchal Z., *Point spread function and two-point resolution in Fresnel incoherent correlation holography*, Optics Express, Vol. 19, Issue 16, pp. 15603-15620 (2011).
- [11] Rosen J., Siegel N., Brooker G., *Theoretical and experimental demonstration of resolution beyond the Rayleigh limit by FINCH fluorescence microscopic imaging*, Optics Express, Vol. 19, Issue 27, pp. 26249-26268 (2011).
- [12] Katz B., Rosen J., Kelner R., Brooker G., *Enhanced resolution and throughput of Fresnel incoherent correlation holography (FINCH) using dual diffractive lenses on a spatial light modulator (SLM)*, Optics Express, Vol. 20, Issue 8, pp. 9109-9121 (2012).
- [13] Katz B., Wulich D., Rosen J., *Optimal noise suppression in Fresnel incoherent correlation holography (FINCH) configured for maximum imaging resolution*, Applied Optics, Vol. 49, Issue 30, pp. 5757-5763 (2010).
- [14] Bernet S., Jesacher A., Fürhapter S., Maurer C., Marte M. R., *Quantitative imaging of complex samples by spiral phase contrast microscopy*, Optics Express, Vol. 14, Issue 9, pp. 3792-3805 (2006).



- [15] Fürhapter S., Jesacher A., Bernet S., Marte M. R., *Spiral phase contrast imaging in microscopy*, Optics Express, Vol. 13, Issue 3, pp. 689-694 (2005).
- [16] Bouchal P., Bouchal Z., *Selective edge enhancement in the three-dimensional vortex imaging with incoherent light*, Optics Letters, doc. ID 165784 (4 May 2012, accepted for publication).
- [17] Lai X, Zhao Y., Lv X., Zhou Z., Zeng S., *Fluorescence holography with improved signal-to-noise ratio by near image plane recording*, Optics Letters, doc. ID 164283 (posted 20 April 2012, in press).
- [18] Soifer V.A., *Methods for Computer Design of Diffractive Optical Elements*, Wiley, New York, 2002.
- [19] Kress B., Meyrueis P., *Digital Diffractive Optics*, Wiley, West Sussex, 2000.
- [20] Yamaguchi I., Zhang T., *Phase-shifting digital holography*, Optics Letters, Vol. 22, Issue 16, pp. 1268-1270 (1997).
- [21] Bouchal P., *Fresnelova nekoherentní korelační holografie (FINCH)*, Bakalářská práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2010. 41 s.
- [22] Saleh B.E.A., Teich M.C., *Základy fotoniky - svazek 1*, MATFYZPRESS, Praha, 1994.
- [23] Saleh B.E.A., Teich M.C., *Základy fotoniky - svazek 2*, MATFYZPRESS, Praha, 1994.
- [24] Aert S. V., Dyck D. V., Dekker A. J., *Resolution of coherent and incoherent imaging systems reconsidered—classical criteria and a statistical alternative*, Optics Express, Vol. 14, Issue 9, pp. 3830-3839 (2006).
- [25] Shannon R.R., Wyant J.C., *Applied optics and optical engineering*, ACADEMIC PRESS, San Diego, 1992.
- [26] Komrska J., *Fourierovské metody v teorii difrakce a ve strukturní analýze*, Akademické nakladatelství CERM, Brno, 2007.
- [27] Komrska J., *Vlnová optika, část Difrakce světla*, Akademické nakladatelství CERM, Brno, 2004.
- [28] Jesacher A., Fürhapter S., Bernet S., Marte M. R., *Shadow effects in spiral phase contrast microscopy*, Phys. Rev. Lett, Vol. 94, Issue 23, 233902 (2005).
- [29] Sharma M. K., Joseph J., Senthilkumaran P., *Selective edge enhancement using anisotropic vortex filter*, Applied Optics, Vol. 50, Issue 27, pp. 5279-5286 (2011).
- [30] Goodman J.W., *Introduction to Fourier Optics*, McGraw-Hill, New York, 1996.