

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING
INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

TEORETICKÝ POPIS ZOBRAZENÍ DIGITÁLNÍM
HOLOGRAFICKÝM MIKROSKOPEM
THEORETICAL DESCRIPTION OF IMAGING BY A DIGITAL HOLOGRAPHIC MICROSCOPE

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. MICHALA HENZLOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

doc. RNDr. RADIM CHMELÍK, Ph.D.

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá teorií zobrazení transmisním digitálním holografickým mikroskopem s částečně koherentním osvětlením. V práci je řešen vliv stavu prostorové a časové koherence osvětlení na vznik optických řezů. Dále je proveden výpočet koherentní funkce přenosu mikroskopu a z této funkce jsou následně odvozeny vybrané vlastnosti zobrazení týkající se přenosu prostorových frekvencí dvojrozměrného rozptylového objektu optickým systémem mikroskopu v závislosti na rozostření. Výpočet je proveden pro dvě různé konstrukce mikroskopu vyvinutých v Laboratoři optické mikroskopie ÚFI FSI VUT v Brně.

Summary

The diploma thesis deals with theory of imaging in a transmitted-light digital holographic microscope using partially coherent illumination. The influence of spatial and temporal coherence state on optical sectioning property is solved. The coherent transfer function is calculated. From this function imaging characteristics for a two-dimensional scattering object are derived depending on its defocus. Two different designs of microscopes developed in the Laboratory of optical microscopy in IPE FME BUT are considered.

Klíčová slova

digitální holografický mikroskop, optické řezy, koherence světla, koherenční funkce přenosu

Keywords

digital holographic microscope, optical sectioning, light coherence, coherent transfer function

HENZLOVÁ, M. *Teoretický popis zobrazení digitálním holografickým mikroskopem*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2010. 41 s. Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Radim Chmelík, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci napsala samostatně s použitím výhradně citovaných pramenů.

V Brně 28. května 2010

Poděkování

Děkuji doc. RNDr. Radimovi Chmelíkovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné konzultace při tvorbě diplomové práce. Dále děkuji prof. RNDr. Jiřímu Komrskovi, CSc. za přínosné rady. V neposlední řadě děkuji svým rodičům za podporu během mého studia.

Obsah

Úvod	1
1 Přibližný výpočet	3
1.1 Průchod optickou soustavou	3
1.1.1 Difrakční mřížka	4
1.1.2 Volný prostor	4
1.1.3 Schopnost interference	4
1.2 Dvojrozměrné přiblížení	5
1.2.1 Monochromatický bodový zdroj	6
1.2.2 Monochromatický plošný zdroj	6
1.2.3 Nemonochromatický bodový zdroj umístěný na optické ose	6
1.2.4 Nemonochromatický plošný zdroj	8
1.3 Výpočet pro plošný zdroj v prostoru	9
1.3.1 Plocha zdroje	10
1.3.2 Spektrální šířka	11
1.3.3 Výsledná intenzita	11
2 Transmisní digitální holografický mikroskop	13
2.1 Původní konstrukce	13
2.2 Nová konstrukce	15
3 Přenos prostorových frekvencí v digitálním holografickém mikroskopu	17
3.1 Transformace souřadnic	18
3.2 Koherentní funkce přenosu – analytický výpočet	19
3.2.1 Výpočet pro speciální případy stavu koherence použitého světla . .	21
3.2.2 Oblast nenulových hodnot koherentní funkce přenosu	21
3.3 Koherentní funkce přenosu – numerický výpočet	22
3.4 Dvojrozměrná funkce přenosu	23
4 Osově nesymetrický systém	29
4.1 Závislost polohy středu obrazu zdroje na vlnové délce	29
4.2 Tvar a velikost zdroje pro různé vlnové délky	30
4.3 Koherentní funkce přenosu	31
4.4 Vlastnosti zobrazení	34
4.4.1 Příčná prostorová frekvence n	34
4.4.2 Příčná prostorová frekvence m	35
Závěr	39
Literatura	41

Úvod

Použití nekoherentního osvětlení v digitálním holografickém mikroskopu poskytuje vlastnosti zobrazení důležité pro pozorování průhledných objemových vzorků. Kromě redukce koherenční zrnitosti je takovou vlastností vznik optických řezů. Lze tak, podobně jako při použití konfokálního mikroskopu, pozorovat světlo rozptýlené pouze v úzké oblasti kolem předmětové roviny.

V této práci je řešena souvislost mezi stavem koherence osvětlení a tím, jak se vlny rozptýlené mimo předmětovou rovinu podílejí na výsledném zobrazení. V kapitole 1 je proveden myšlenkový experiment, kde je transmisní digitální holografický mikroskop nahrazen achromatickým systémem difrakčních mřížek. Výpočet v této kapitole nezahrnuje průchod světla a filtraci prostorových frekvencí zobrazovací soustavou. Vychází z předpokladu, že vlna, šířící se za mřížkou vloženou před výstupní rovinu takového systému, odpovídá vlně šířící se za obrazem mřížky umístěné před předmětovou rovinu v digitálním holografickém mikroskopu. Na základě výpočtu viditelnosti interferenčních proužků vzniklých ve výstupní rovině je diskutována schopnost interference světla předmětové a referenční větve v takovém systému. Na výsledném zobrazení se podílí pouze vlny schopné spolu interferovat, schopnost interference tedy poskytuje informaci o tom, jak se vlna rozptýlená v rovině mimo předmětovou rovinu podílí na výsledném zobrazení.

V kapitole 2 je popsán transmisní digitální holografický mikroskop z laboratoře ÚFI FSI VUT. V kapitole 3 je proveden výpočet koherentní funkce přenosu pro digitální holografický mikroskop popsaný v kapitole 2.2. Z této funkce jsou odvozeny vlastnosti zobrazení týkající se přenosu prostorových frekvencí dvojrozměrného rozptylového objektu systémem v závislosti na rozostření takového objektu. Obdobný výpočet je proveden v kapitole 4 pro původní konstrukci transmisního digitálního holografického mikroskopu popsaného v kapitole 2.1.

Kapitola 1

Přibližný výpočet

Tato kapitola vychází z článku [10], ve kterém se autor zabývá achromatickým systémem využívajícím jako děliče svazku difrakční mřížku. provede myšlenkový experiment, kde odvodí, že snížení stavu časové koherence má za následek vznik optických řezů, stejně jako snížení stavu koherence prostorové. V této kapitole je provedena obdobná úvaha pro soustavu nahrazující transmisní digitální holografický mikroskop. Tato úvaha je navíc doplněna podrobným výpočtem.

Byl proveden výpočet pro systém dle obrázku 1.1.1. Takovým uspořádáním nahrazujeme uspořádání v transmisním digitálním holografickém mikroskopu, ve kterém je navíc zobrazovací soustava. Zobrazujeme-li mikroskopem tenký objekt ležící mimo předmětovou rovinu, jeho obraz leží mimo rovinu obrazovou - výstupní. Vlnu šířící se za obrazem takového tenkého objektu nahradíme vlnou šířící se za difrakční mřížkou. Filtrace prostorových frekvencí zobrazovací soustavou je zanedbána.

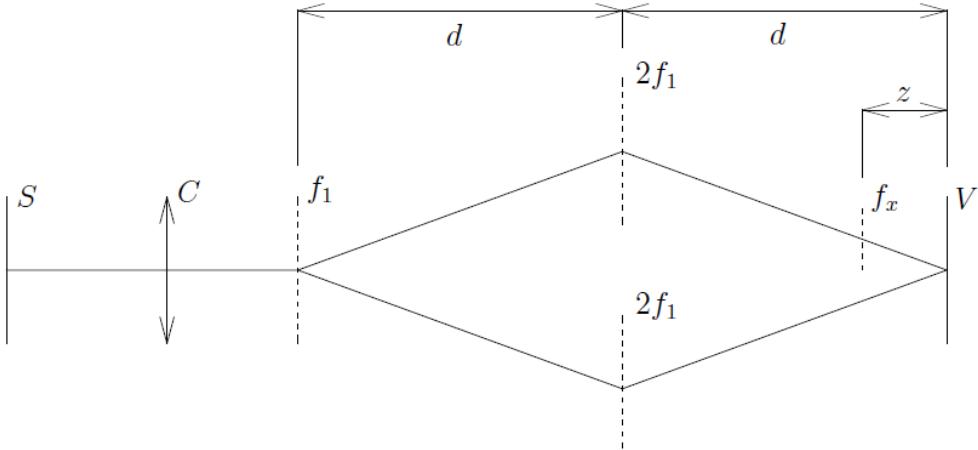
1.1 Průchod optickou soustavou

Zabýváme se soustavou dle obrázku 1.1.1. Zdroj S je umístěn v ohniskové rovině čočky C , každému bodu zdroje tak za čočkou odpovídá rovinná vlna s určitým vlnovým vektorem $\vec{\kappa} = (\kappa_x, \kappa_y, \kappa_z)$, $|\vec{\kappa}| = 1/\lambda$, kde λ je vlnová délka. Příčnou prostorovou frekvenci κ_x ve směru x této vlny za čočkou označme f_s . Difrakční mřížkou s prostorovou frekvencí f_1 je světlo rozděleno do dvou větví (bereme první a minus první difrakční řadu mřížky). V každé větvi vlny dále difraktují na mřížce s prostorovou frekvencí $2f_1$. Do předmětové větve je ve vzdálenosti z od výstupní roviny vložena testovací difrakční mřížka s prostorovou frekvencí f_x . Vlny z předmětové a referenční větve spolu interferují a ve výstupní rovině V pozorujeme interferenční obrazec. Výpočet se týká průchodu soustavou za čočkou, tedy zahrnuje pouze difrakci na mřížkách a průchod volným prostorem. Všechny mřížky jsou orientovány tak, že jejich nenulová prostorová frekvence je v ose x . Na fázový rozdíl mezi předmětovou a referenční větví má tedy vliv pouze změna příčné složky κ_x vlnového vektoru $\vec{\kappa}$. Velikost zdroje popíšeme úhlem β , jenž je maximálním úhlem, který může svírat vlnový vektor rovinné vlny odpovídající krajinámu bodu zdroje s optickou osou.

Rovinnou vlnu můžeme popsat podle [8] (kap. 1) vztahem

$$u(\vec{r}) = A \exp(i2\pi\vec{\kappa} \cdot \vec{r}) , \quad (1.1.1)$$

kde A je konstanta, $\vec{r} = (x, y, z)$ je prostorová souřadnice.



Obrázek 1.1.1: Schéma pro výpočet. Zdroj je označen S , prostorové frekvence jednotlivých mřížek jsou f_1 , $2f_1$ a f_x .

1.1.1 Difrakční mřížka

Amplitudu rovinné vlny v rovině $z = 0$ označme $u_i(x, y)$. Do této roviny umístíme difrakční mřížku s prostorovou frekvencí f . Po průchodu mřížkou se amplituda vlny $u_i(x, y)$ změní na $u_t(x, y)$ podle [11]

$$u_t(x, y) = u_i(x, y) \exp(2\pi vfx) , \quad (1.1.2)$$

kde v je celé číslo rovno řádu difrakce. Zároveň musí platit, že velikost vlnového vektoru rozptýlené vlny je rovna velikosti vlnového vektoru vlny vstupující.

1.1.2 Volný prostor

Amplitudu rovinné vlny v rovině $z = 0$ označme $u_0(x, y)$. Vlnový vektor této vlny je $\vec{\kappa}$. Závislost vlny na vzdálenosti z je zahrnuta podle (1.1.1) ve členu $\exp(i2\pi\kappa_z z)$, kde $\kappa_z = \kappa\sqrt{1 - (\kappa_x^2 + \kappa_y^2)/\kappa^2}$. Pro $\kappa^2 \gg \kappa_x^2 + \kappa_y^2$ můžeme vzít první dva členy binomického rozvoje této odmocniny, tedy $\kappa_z \approx \kappa - \kappa_x^2/(2\kappa) - \kappa_y^2/(2\kappa)$. Členy nezávislé na κ_x nemají vliv na rozdíl fází předmětové a referenční vlny, tedy není třeba se jimi v tomto výpočtu zabývat. Vlnu v rovině $z = d$ popíšeme vztahem

$$u_d(x, y) \approx u_0(x, y) \exp(i\pi\lambda\kappa_x^2 d) . \quad (1.1.3)$$

1.1.3 Schopnost interference

Schopnost dvou vln spolu interferovat lze popsát podle [1] (str. 298) viditelností interferenčních proužků ν , které tyto vlny spolu vytvoří

$$\nu = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}} , \quad (1.1.4)$$

kde I_{\max} je intenzita maxima, I_{\min} je intenzita minima. Intenzita takového interferenčního obrazce dvou rovinných vln je popsána funkcí

$$I = A [1 + \nu \cos(f_p x + \phi)] , \quad (1.1.5)$$

kde A je konstanta, f_p je frekvence interferenčních proužků, ϕ je počáteční fáze (pro $x = 0$).

V následujícím textu se zabýváme otázkou, jakou schopnost interference ve výstupní rovině má vlna rozptýlená na difrakční mřížce ve vzdálenosti z od výstupní roviny v závislosti na stavu prostorové a časové koherence použitého světla.

Schopnost interference vlny referenční s vlnou rozptýlenou na mřížce prostorové frekvence f_x ve vzdálenosti z od výstupní roviny poskytuje informaci o tom, jak se taková rozptýlená vlna podílí na zobrazení. Tedy, v digitálním holografickém mikroskopu to odpovídá tomu, jaký vliv na výsledné zobrazení má vlna rozptýlená v jiné rovině, než předmětové. Pro vznik optických řezů je potřeba, aby viditelnost ν se vzdáleností z klešala a aby byl pokles co nejstrmější.

1.2 Dvojrozměrné přiblížení

Při průchodu světla soustavou dle obrázku 1.1.1 můžeme s využitím vztahů (1.1.2) a (1.1.3) předmětovou u_o a referenční u_r vlnu popsat ve výstupní rovině vztahy

$$u_o = \sqrt{i(f_s, \lambda)/2} \exp [i2\pi(f_s - f_1 + f_x)x - i2\pi\lambda d(f_s^2 + f_1^2) - i\pi\lambda z f_x(2f_s - 2f_1 + f_x)] , \quad (1.2.1)$$

$$u_r = \sqrt{i(f_s, \lambda)/2} \exp [i2\pi(f_s + f_1)x - i2\pi\lambda d(f_s^2 + f_1^2)] , \quad (1.2.2)$$

kde f_s je příčná prostorová frekvence rovinné vlny ve směru x odpovídající jednomu bodu zdroje, $i(f_s, \lambda)$ je hustota intenzity zdroje volena tak, že pro celkovou intenzitu I_0 zdroje rozděleného do dvou větví platí

$$I_0 = \iint_{-\infty}^{\infty} i(f_s, \lambda) d\lambda df_s . \quad (1.2.3)$$

V předmětové věti jsme brali na první mřížce (f_1) první difrakční řád, na druhé mřížce ($2f_1$) minus první řád difrakce, na mřížce f_x opět první difrakční řád. Ve věti referenční byly rády difrakce voleny obráceně.

Ve výstupní rovině interferuje vlna předmětová u_o s vlnou referenční u_r . Intenzita v této rovině je dána kvadrátem velikosti amplitudy, tedy

$$\begin{aligned} I &= |u_o(f_s, \lambda) + u_r(f_s, \lambda)|^2 = \\ &= |u_o(f_s, \lambda)|^2 + |u_r(f_s, \lambda)|^2 + 2|u_o(f_s, \lambda)||u_r(f_s, \lambda)| \cos(\Delta\phi) , \end{aligned} \quad (1.2.4)$$

kde $\Delta\phi$ je fázový rozdíl vln $u_o(f_s, \lambda)$ a $u_r(f_s, \lambda)$. Potom

$$I = i(f_s, \lambda) \{1 + \cos[2\pi(2f_1 - f_x)x + \pi\lambda z f_x(f_x + 2f_s - 2f_1)]\} . \quad (1.2.5)$$

V jednotlivých podkapitolách jsou uvedeny výsledky pro jednotlivé stavy koherence zdroje. Postup výpočtu je ekvivalentní s výpočtem v podkapitole 1.3, kde je podrobněji popsán.

V celé podkapitole je symbolem χ označen výraz

$$\chi = 2\pi(2f_1 - f_x)x + \pi\lambda_0 z f_x(f_x - 2f_1) . \quad (1.2.6)$$

1.2.1 Monochromatický bodový zdroj

U výpočtu pro bodový monochromatický zdroj dosadíme za hustotu intenzity $i(f_s, \lambda)$ výraz $i(f_s, \lambda) = \delta(\lambda - \lambda_0) \delta(f_s - f_c)$, kde výraz $\delta(x)$ značí Diracovu delta funkci (viz např. [7]). Intenzita odpovídající bodovému monochromatickému zdroji je potom po integraci přes vlnové délky λ a prostorové frekvence f_s rovna

$$I = 1 + \cos(\chi + 2\pi\lambda_0 z f_x f_c). \quad (1.2.7)$$

Viditelnost interferenčních proužků je tedy rovna

$$\nu = 1. \quad (1.2.8)$$

Je-li použité světlo prostorově i časově koherentní, interferuje ve výstupní rovině i světlo rozptýlené v jiných rovinách, než předmětové. Viditelnost ν je konstantní, nezávislá na vzdálenosti z . Tedy na výsledném obrazu se podílí světlo rozptýlené v celém objektu.

1.2.2 Monochromatický plošný zdroj

Předpokládáme plošný zdroj skládající se z navzájem nekoherentních elementů. Intenzitu ve výstupní rovině potom můžeme určit jako součet příspěvků od každého ze všech těchto elementů. Jelikož se jedná o dvojrozměrné přiblížení, je plošným zdrojem myšlena úsečka. Provedeme integraci přes celou oblast zdroje, tedy přes všechna $s = f_s \lambda_0$, $s \in (-s_0, s_0)$, kde $s_0 = \sin \beta$. Za intenzitu $i(f_s, \lambda)$ dosadíme výraz $i(f_s, \lambda) = \delta(\lambda - \lambda_0) \text{rect}(s/s_0)$ (dle definice funkce rect v [7], kap.1). Integrujeme dále výraz

$$I = \int_{-s_0}^{s_0} \{1 + \cos[2\pi(2f_1 - f_x)x + \pi\lambda_0 z f_x(f_x - 2f_1) + 2\pi s z f_x]\} df_s. \quad (1.2.9)$$

Intenzita je potom rovna

$$I = 2s_0 [1 + \text{sinc}(2\pi z f_x s_0) \cos \chi], \quad (1.2.10)$$

kde $\text{sinc } x = \sin x / x$. Viditelnost interferenčních proužků je

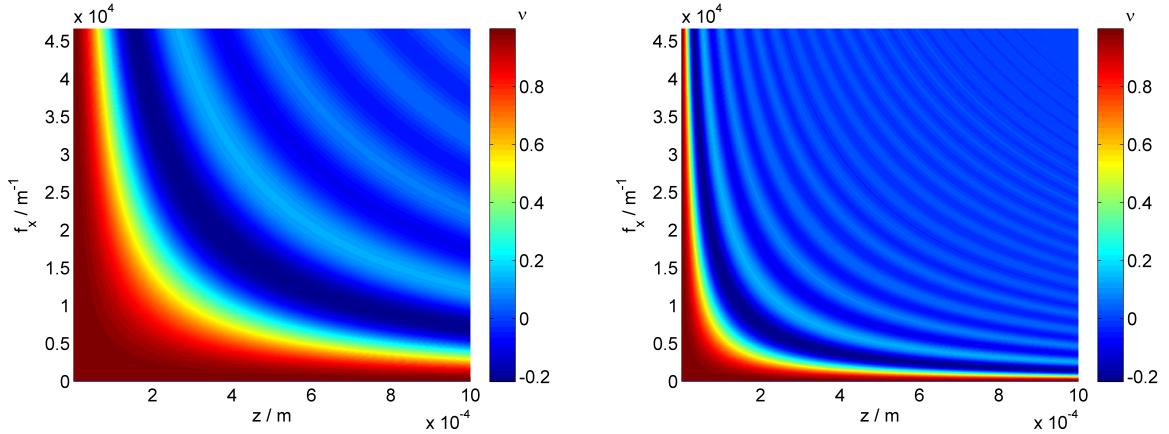
$$\nu = \text{sinc}(2\pi z f_x s_0). \quad (1.2.11)$$

Z tvaru výrazu (1.2.11) je například vidět, že pro určitou frekvenci f_x dostaneme stejnou hodnotu viditelnosti při zdvojnásobení úhlové úhlové velikosti zdroje v poloviční vzdálenosti z mřížky od výstupní roviny. Tohoto faktu si lze povšimnout na obrázku 1.2.2, kde ν je konstantní, rovno $1/2$, a rozsah úhlové velikosti zdroje je $\beta \in (0, 25; 0, 5)$ rad. Na tomto obrázku 1.2.2 je zobrazen graf vzdálenosti Δz na úhlové velikosti zdroje β , kde Δz je hodnota vzdálenosti z , ve které klesne viditelnost ν na $1/2$. Na obrázku 1.2.1 je zobrazena závislost viditelnosti ν na vzdálenosti z a prostorové frekvenci f_x pro dvě velikosti zdroje. Pro názornost je rozsah osy z v obou grafech na tomto obrázku stejný.

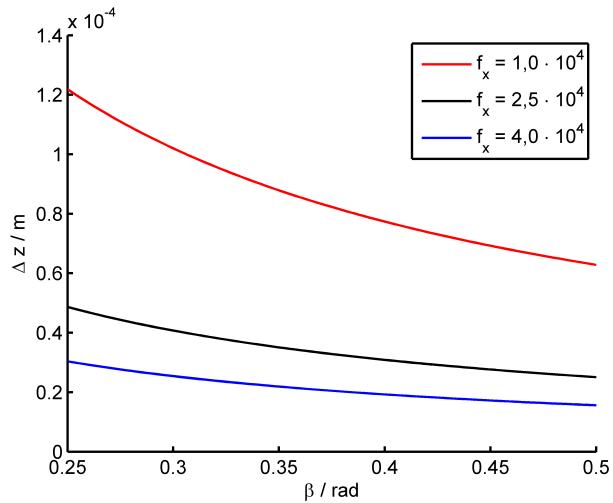
1.2.3 Nemonochromatický bodový zdroj umístěný na optické ose

V tomto případě nahradíme funkci $i(f_s, \lambda) = \delta(f_s) \text{rect}[(\lambda - \lambda_0)/\Delta\lambda]$. Intenzitu lze potom vypočítat integrací výrazu

$$I = \int_{\lambda_0 - \frac{\Delta\lambda}{2}}^{\lambda_0 + \frac{\Delta\lambda}{2}} \{1 + \cos[2\pi(2f_1 - f_x)x + \pi\lambda z f_x(f_x - 2f_1)]\} d\lambda. \quad (1.2.12)$$



Obrázek 1.2.1: Závislost viditelnosti ν na vzdálenosti z a prostorové frekvenci f_x . Vlevo pro $\beta = 0, 1$ rad, vpravo pro $\beta = 0, 5$ rad.



Obrázek 1.2.2: Závislost vzdálenosti Δz na velikosti zdroje β .

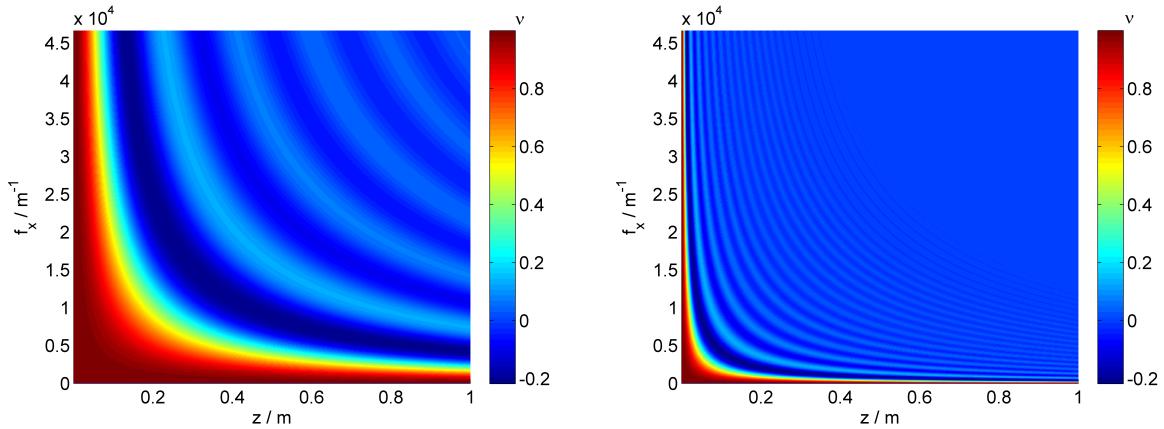
Výsledná intenzita je

$$I = \Delta\lambda \left\{ 1 + \operatorname{sinc} \left[\pi \frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1) \cos \chi \right] \right\}. \quad (1.2.13)$$

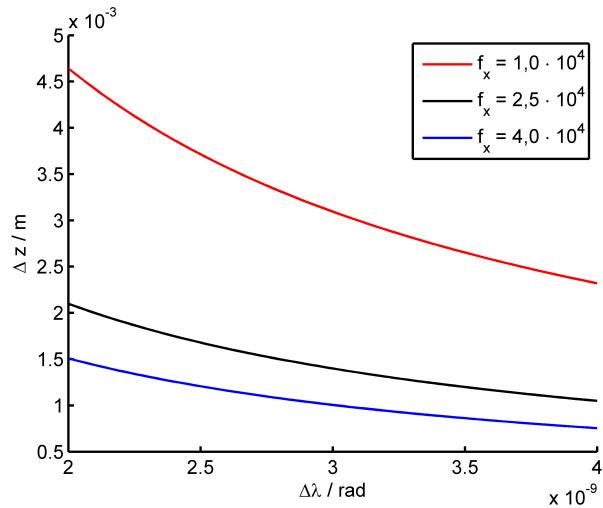
Viditelnost interferenčních proužků je rovna

$$\nu = \operatorname{sinc} \left[\pi \frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1) \right]. \quad (1.2.14)$$

Na obrázku 1.2.3 je zobrazena závislost viditelnosti na vzdálenosti z a na prostorové frekvenci f_x pro dvě různé hodnoty $\Delta\lambda$. Rozsah prostorové frekvence f_x (osa y) je volen tak, že pro všechny prostorové frekvence v tomto rozsahu je splněna holografická podmínka (viz [6]). Graf závislosti je vykreslen pro prostorovou frekvenci mřížky $f_1 = 70 \cdot 10^3 \text{ m}^{-1}$, rozsah osy y je volen $f_x \in (0, 46) \cdot 10^3 \text{ m}^{-1}$. Na obrázku 1.2.4 je zobrazena závislost vzdálenosti Δz na šířce spektra $\Delta\lambda$ pro tři prostorové frekvence $f_x \in (0, 46) \cdot 10^3 \text{ m}^{-1}$.



Obrázek 1.2.3: Závislost viditelnosti ν na vzdálenosti z a prostorové frekvenci f_x pro $f_1 = 70 \cdot 10^3 \text{ m}^{-1}$. Vlevo pro $\Delta\lambda = 5 \text{ nm}$, vpravo pro $\Delta\lambda = 50 \text{ nm}$.



Obrázek 1.2.4: Závislost vzdálenosti Δz na šířce spektra $\Delta\lambda$.

1.2.4 Nemonochromatický plošný zdroj

Hustotu intenzity $i(f_s, \lambda)$ nahradíme pro tento případ výrazem $i(f_s, \lambda) = \text{rect}(s/s_0) \times \text{rect}[(\lambda - \lambda_0)/\Delta\lambda]$, kde $s = f_s \lambda$. Integrací určíme intenzitu

$$I = 2\Delta\lambda s_0 \left\{ 1 + \text{sinc}(2\pi z f_x s_0) \text{sinc}\left[\pi \frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1)\right] \cos \chi \right\}. \quad (1.2.15)$$

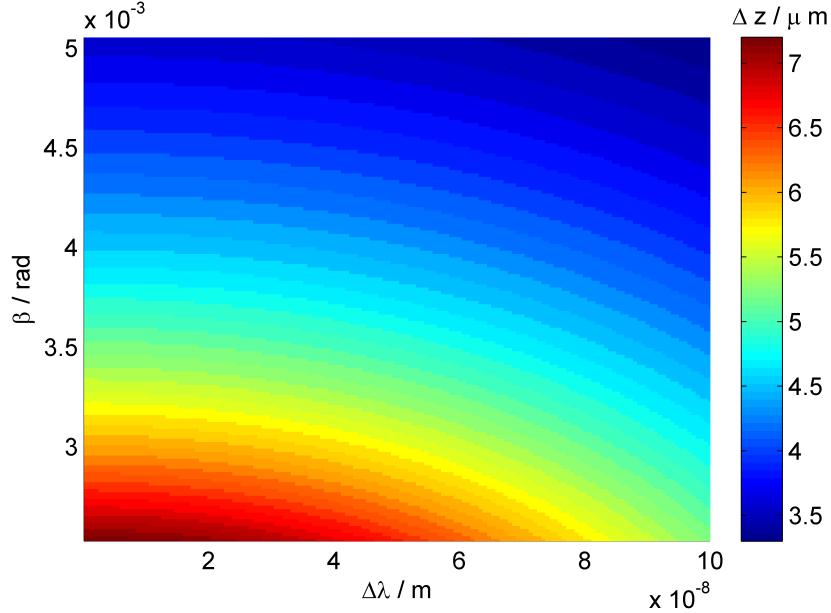
Viditelnost interferenčních proužků je

$$\nu = \text{sinc}(2\pi z f_x s_0) \text{sinc}\left[\pi \frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1)\right]. \quad (1.2.16)$$

Výraz pro viditelnost při použití plošného nemonochromatického zdroje světla je součinem výrazu (1.2.14) pro viditelnost $\nu_{\Delta\lambda}$ při použití bodového nemonochromatického zdroje a výrazu (1.2.11) pro viditelnost ν_β při použití plošného monochromatického zdroje

$$\nu = \nu_{\Delta\lambda} \nu_\beta. \quad (1.2.17)$$

Mějme mřížku s prostorovou frekvencí f_x ve vzdálenosti z od výstupní roviny. Potom, je-li velikost zdroje β taková, že při použití monochromatického světla je viditelnost proužků rovna $1/2$ a $\Delta\lambda$ je taková, že při použití bodového zdroje je viditelnost rovna $1/2$, je viditelnost proužků rovna $1/4$. Na obrázku 1.2.5 je zobrazen graf závislosti vzdálenosti Δz na velikosti zdroje β a na šířce spektra $\Delta\lambda$ při použití plošného nemonochromatického zdroje. Z grafu je zřejmé, že při spektrálním i prostorovém rozšíření zdroje dochází ke snížení vzdálenosti Δz , kde viditelnost proužků klesne na $1/2$.



Obrázek 1.2.5: Závislost vzdálenosti Δz , ve které klesne viditelnost ν na $1/2$ pro prostorovou frekvenci $f_x = 3,65 \cdot 10^4 \text{ m}^{-1}$ a prostorovou frekvenci mřížky $f_1 = 70 \cdot 10^3 \text{ m}^{-1}$ na velikosti zdroje β a spektrální šířce $\Delta\lambda$.

1.3 Výpočet pro plošný zdroj v prostoru

V této podkapitole je uveden výpočet v prostoru. Tedy bereme v úvahu oba rozměry plošného zdroje. Výpočet je proveden pro kruhový plošný zdroj o poloměru $s_0 = \sin \beta$. Spektrální závislost opět popíšeme funkcí $\text{rect}[(\lambda - \lambda_0)/\Delta\lambda]$.

Pro výpočet je vhodné převést funkci kosinus na funkci exponenciální. Tedy

$$\begin{aligned} 2 \cos [2\pi(2f_1 - f_x)x + \pi\lambda_0 z f_x (f_x + 2f_c - 2f_1)] &= \\ &= \exp[i2\pi(2f_1 - f_x)x] \exp[i\pi\lambda_0 z f_x (f_x - 2f_1)] \exp(i2\pi s z f_x) + \\ &+ \exp[-i2\pi(2f_1 - f_x)x] \exp[-i\pi\lambda_0 z f_x (f_x - 2f_1)] \exp(-i2\pi s z f_x) . \quad (1.3.1) \end{aligned}$$

Provedeme integraci obou sčítanců ve výrazu (1.3.1), tedy výrazu

$$I_{\pm} = \exp[\pm i2\pi(2f_1 - f_x)x] \int_{\lambda_0 - \frac{\Delta\lambda}{2}}^{\lambda_0 + \frac{\Delta\lambda}{2}} \exp[\pm i\pi\lambda_0 z f_x (f_x - 2f_1)] d\lambda \iint_{x_s, y_s} \exp(\pm i2\pi s z f_x) dy_s dx_s . \quad (1.3.2)$$

Jednotlivé integrace budeme provádět zvlášť, pro přehlednost tedy označíme jednotlivé integrály

$$I_{s\pm} = \iint_{x_s, y_s} \exp(\pm i2\pi x_s z f_x) dy_s dx_s, \quad (1.3.3)$$

$$I_{\lambda\pm} = \int_{\lambda_0 - \frac{\Delta\lambda}{2}}^{\lambda_0 + \frac{\Delta\lambda}{2}} \exp[\pm i\pi\lambda_0 z f_x (f_x - 2f_1)] d\lambda. \quad (1.3.4)$$

Dolní index λ označuje integraci přes vlnovou délku, index s integraci přes plochu zdroje. Výsledná intenzita je potom popsána vztahem

$$\begin{aligned} I = & \int_{\lambda_0 - \frac{\Delta\lambda}{2}}^{\lambda_0 + \frac{\Delta\lambda}{2}} \iint_{x_s, y_s} 1 dy_s dx_s d\lambda + \\ & + \frac{1}{2} \{ \exp[i2\pi(2f_1 - f_x)x] I_{\lambda+} I_{s+} + \exp[-i2\pi(2f_1 - f_x)x] I_{\lambda-} I_{s-} \}. \end{aligned} \quad (1.3.5)$$

1.3.1 Plocha zdroje

V následující části se budeme věnovat výpočtu integrálu přes plochu zdroje. Jelikož se jedná o kruhový zdroj, zavedeme polární souřadnice

$$x_s = \rho \cos \varphi, \quad (1.3.6)$$

$$y_s = \rho \sin \varphi, \quad (1.3.7)$$

kde $\varphi \in (0, 2\pi)$, $\rho \in (0, s_0)$. Jakobián této transformace je roven ρ . Potom

$$I_{s\pm} = \iint_{x_s, y_s} \exp(\pm i2\pi x_s z f_x) dy_s dx_s = \int_0^{s_0} \rho \int_0^{2\pi} \exp(\pm i2\pi\rho \cos \varphi z f_x) d\varphi d\rho. \quad (1.3.8)$$

Tento integrál vede na Besselovu funkci. Podle [7] (str. 225) platí

$$J_n(x) = \frac{(\mp i)}{2\pi} \int_{\alpha}^{\alpha+2\pi} \exp[\pm i(n\varphi + x \cos \varphi)] d\varphi, \quad (1.3.9)$$

kde $J_n(x)$ je Besselova funkce řádu n . Dosazením $x = 2\pi\rho z f_x$, $\alpha = 0$ a $n = 0$ do vztahu (1.3.9) upravíme vnitřní integrál ve vztahu (1.3.8) a vztah (1.3.8) přejde na

$$I_{s\pm} = 2\pi \int_0^{s_0} \rho J_0(2\pi\rho z f_x) d\rho. \quad (1.3.10)$$

Podle [12] (str. 661) platí

$$\int x^{n+1} J_n(x) dx = x^{n+1} J_{n+1}(x). \quad (1.3.11)$$

Využitím tohoto vztahu upravíme výraz (1.3.10) na

$$I_{s\pm} = \frac{s_0}{z f_x} J_1(2\pi s_0 z f_x) = \pi s_0^2 \frac{2J_1(2\pi s_0 z f_x)}{(2\pi s_0 z f_x)}. \quad (1.3.12)$$

1.3.2 Spektrální šířka

V této podkapitole je uveden výpočet integrálů $I_{\lambda+}$ a $I_{\lambda-}$ definovaných vztahem (1.3.4)

$$I_{\lambda\pm} = \Delta\lambda \exp[\pm i\pi\lambda_0 z f_x (f_x - 2f_1)] \times \\ \times \frac{\exp[\pm i\pi\frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1)] - \exp[\mp i\pi\frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1)]}{\pm 2i [\pi\frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1)]}. \quad (1.3.13)$$

Protože $\sin(x) = [\exp(ix) - \exp(-ix)]/(2i)$, platí

$$I_{\lambda\pm} = \Delta\lambda \exp[\pm i\pi\lambda_0 z f_x (f_x - 2f_1)] \operatorname{sinc}\left[\pi\frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1)\right]. \quad (1.3.14)$$

1.3.3 Výsledná intenzita

Výslednou intenzitu potom po dosazení (1.3.12) a (1.3.14) do (1.3.5) upravíme na výraz

$$I = \pi\Delta\lambda s_0^2 \left\{ 1 + \frac{2J_1(2\pi s_0 z f_x)}{(2\pi s_0 z f_x)} \operatorname{sinc}\left[\pi\frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1)\right] \cos\chi \right\}, \quad (1.3.15)$$

kde

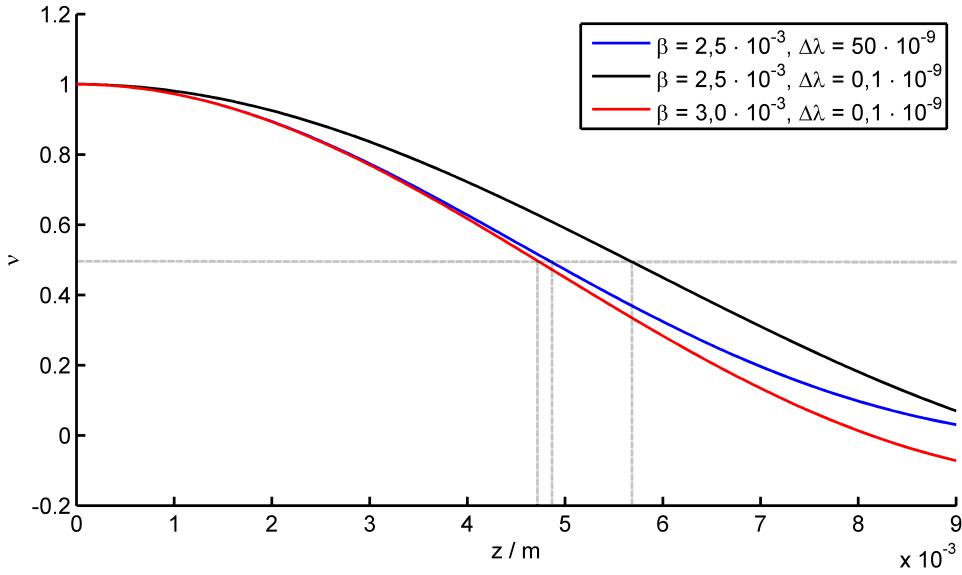
$$\chi = 2\pi(2f_1 - f_x)x + \pi\lambda_0 z f_x (f_x - 2f_1). \quad (1.3.16)$$

Viditelnost interferenčních proužků je

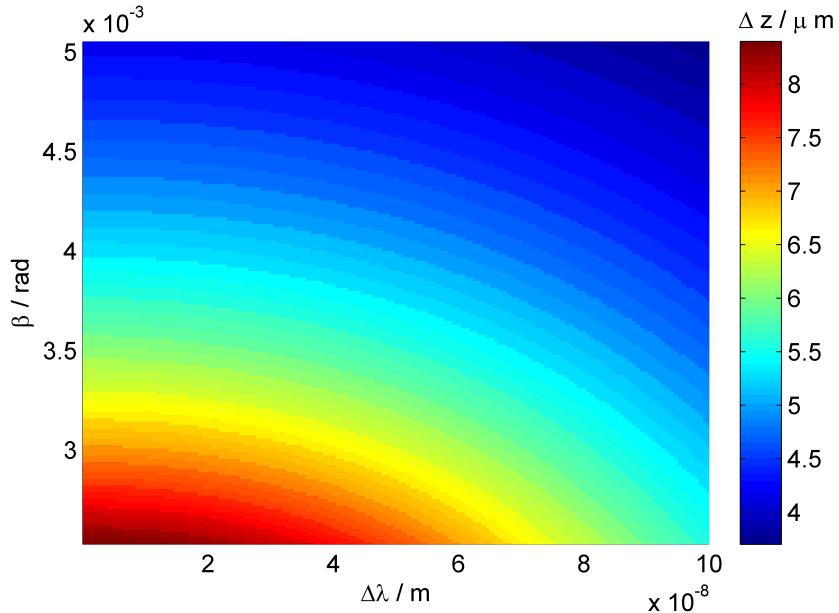
$$\nu = \frac{2J_1(2\pi s_0 z f_x)}{(2\pi s_0 z f_x)} \operatorname{sinc}\left[2\pi\frac{\Delta\lambda f_1}{2} z f_x - \pi\frac{\Delta\lambda}{2} z f_x^2\right]. \quad (1.3.17)$$

Stejná hodnota viditelnosti ν bude při zachování konstantního součinu $s_0 z f_x = \sin\beta z f_x$ a součinu $\frac{\Delta\lambda}{2} z f_x (f_x - 2f_1)$. Zvětšíme-li velikost zdroje, tedy velikost úhlu β nebo spektrální šířku pro stejnou frekvenci f_x , budeme muset zmenšit vzdálenost z . To znamená, že čím širší zdroj (prostorově i spektrálně), tím méně mají vliv na výsledné zobrazení vlny rozptýlené v jiných rovinách, než v předmětové.

Na obrázku 1.3.1 je zobrazena závislost viditelnosti ν proužků na vzdálenosti z pro jednu prostorovou frekvenci a pro 3 různé stavy koherence. V grafu je tato závislost zobrazena pro tři různé stavy prostorové a časové koherence. Šedou čárou je vyznačena hodnota $\nu = 0,5$ a je znázorněno určení odpovídajících hodnot Δz . Tyto hodnoty odpovídají hodnotám z průsečíků jednotlivých závislostí s přímkou $\nu = 0,5$. V grafu na obrázku 1.3.2 je zobrazena závislost pološířky Δz viditelnosti na úhlové velikosti zdroje β a spektrální šířce $\Delta\lambda$. Z grafu je patrné, že vzdálenost Δz se zvětšujícím se zdrojem a šířkou spektra klesá.



Obrázek 1.3.1: Závislost viditelnosti proužků ν na vzdálenosti z pro prostorovou frekvenci $f_x = 2,5 \cdot 10^4 \text{ m}^{-1}$ a prostorovou frekvenci mřížky $f_1 = 70 \cdot 10^3 \text{ m}^{-1}$. Hodnoty $\Delta\lambda$ jsou uvedeny v metrech, úhly β v radiánech.



Obrázek 1.3.2: Závislost vzdálenosti Δz , ve které klesne viditelnost ν na $1/2$ pro prostorovou frekvenci $f_x = 3,65 \cdot 10^4 \text{ m}^{-1}$ a prostorovou frekvenci mřížky $f_1 = 70 \cdot 10^3 \text{ m}^{-1}$ na velikosti zdroje β a spektrální šířce $\Delta\lambda$.

Kapitola 2

Transmisní digitální holografický mikroskop

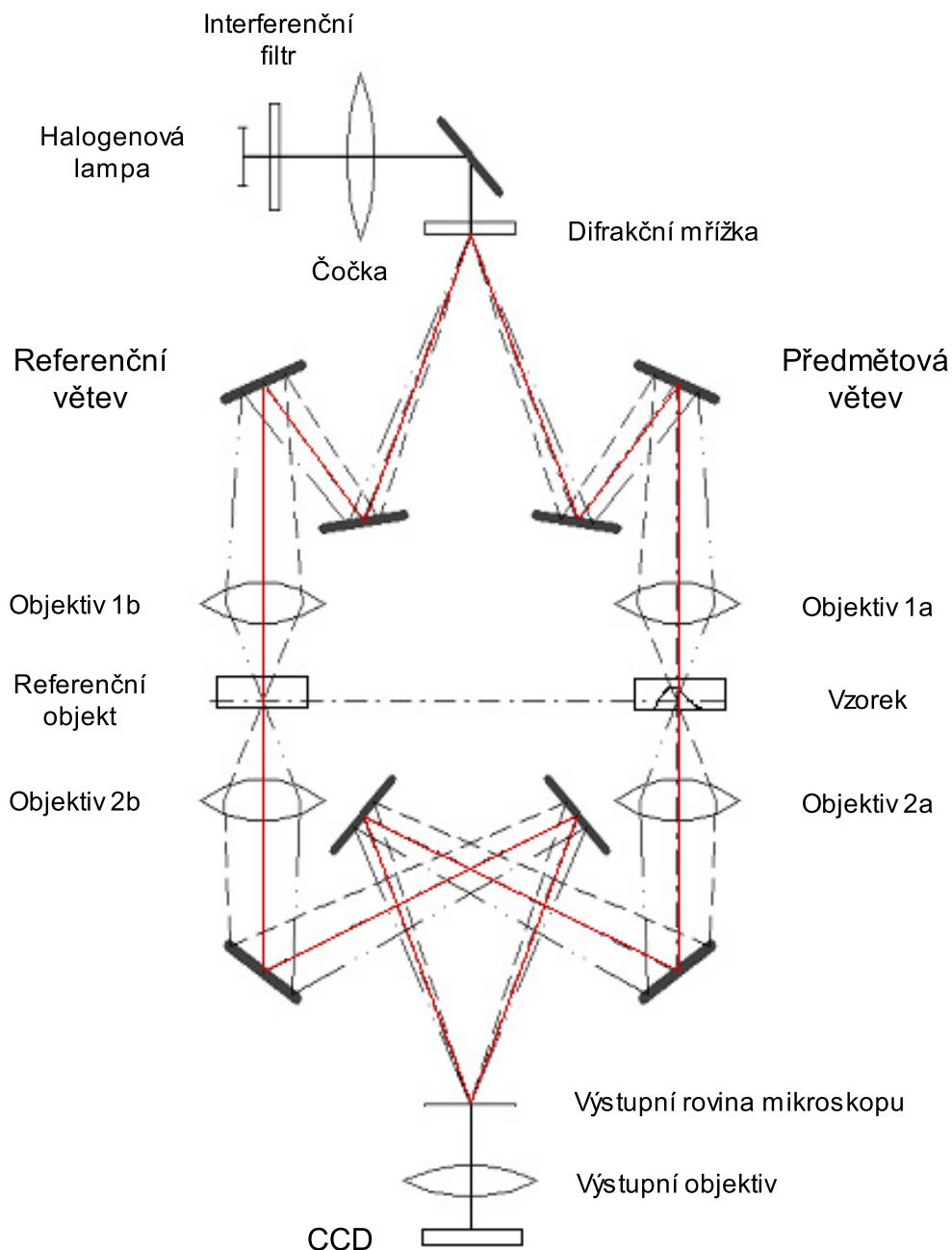
Transmisní digitální holografický mikroskop je určen k pozorování průhledných objemových objektů. Obsahuje dvě opticky ekvivalentní větve, předmětovou a referenční. V předmětové větvi je umístěn pozorovaný objekt, v referenční větvi je umístěn referenční objekt. Vlny z těchto dvou větví spolu interferují ve výstupní rovině mikroskopu. Vzniklý interferenční obrazec vln poskytuje informaci o fázovém rozdílu předmětové vlny způsobeném vzorkem vůči vlně referenční. Z digitálně zaznamenaného interferenčního obrazce lze na základě znalosti referenční vlny rekonstruovat amplitudu i fázi předmětové vlny.

2.1 Původní konstrukce

Halogenová lampa je zdrojem bílého světla. Velikost zdroje lze nastavit clonkou umístěnou za zdrojem, lze tak nastavit stav prostorové koherence světla. Požadovaná část spektra je omezena interferenčním filtrem s maximální propustností na vlnové délce $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$ a pološírkou maxima $\Delta\lambda = 10 \text{ nm}$. Použitím filtrů s různými hodnotami pološírky $\Delta\lambda$ můžeme nastavit stav časové koherence osvětlení. Jako dělič svazku je použita lineární difrakční mřížka s frekvencí 70 mm^{-1} . Do předmětové a referenční větve je vybrán první a minus první difrakční řád. Prostorová frekvence mřížky je zvolena tak, aby byla splněna holografická podmínka (viz [6]). Pro každou vlnovou délku platí, že difrakční úhel svazků je stejný, jako úhel pod kterým svazky interferují ve výstupní rovině mikroskopu. Pro všechny vlnové délky světla tak vznikají v této rovině interferenční proužky stejné prostorové frekvence. Není potřeba žádného spojovacího členu. Jedná se tedy o achromatický systém a lze tak použít nemonochromatické světlo.

Schéma transmisního digitálního mikroskopu je zobrazeno na obrázku 2.1.1. Osvětlovací soustava je navržena na principu Köhlerova osvětlení. Zdroj je zobrazen osvětlovací čočkou do zadní ohniskové roviny kondenzorů, těmi jsou objektivy 1a a 1b. Každému bodu zdroje tak v předmětovém prostoru odpovídá rovinná vlna. Obrazová rovina kondenzoru sdružená s difrakční mřížkou je zároveň předmětovou rovinou objektivu – objektiv 2a v předmětové, objektiv 2b v referenční větvi. V předmětové větvi je do této roviny umístěn vzorek. V referenční větvi je místo vzorku do předmětového prostoru umístěn tzv. referenční objekt, který je volen tak, aby optický rozdíl drah ve větvích byl co nejmenší. Tento rozdíl potom odpovídá odchylkám pozorovaného vzorku od referenčního objektu. Předmět je objektivem zobrazen do výstupní roviny mikroskopu, kde spolu in-

terferují svažky obou větví. Interferenční obrazec je zobrazen výstupním objektivem na čip CCD kamery. Funkcí tohoto objektivu je zvětšení interferenčního obrazce, aby byly interferenční proužky rozlišitelné kamerou.



Obrázek 2.1.1: Schéma digitálního holografického mikroskopu [5].

2.2 Nová konstrukce

Byla navržena nová konstrukce, kde zobrazovacím systémem prochází světlo nerozdělené dispersí. K rozdělení světla do dvou větví slouží hranolový dělič. Obraz zdroje ve vstupní pupile tedy není spektrálně rozložen, jako u mikroskopu popsaném v podkapitole 2.1. Difrakční mřížka, která zajišťuje achromatičnost systému je umístěna až za objektivem referenční větve, v předmětové větvi difrakční mřížka není.

Kapitola 3

Přenos prostorových frekvencí v digitálním holografickém mikroskopu

Zobrazení digitálním holografickým mikroskopem lze charakterizovat jeho koherentní funkci přenosu. Ta popisuje přenos prostorových frekvencí systémem. Z této funkce lze také například určit, jak se budou dané prostorové frekvence systémem přenášet při nenulovém rozostření. V této kapitole je odvozen částečný analytický výpočet koherentní funkce přenosu. Výsledek tohoto výpočtu byl dále numericky zpracován. Tato kapitola obsahuje výsledky získané tímto zpracováním popisující zobrazovací vlastnosti optické soustavy při různých stavech koherence osvětlení.

V celém textu je vlnovým vektorem $\vec{\kappa} = (\kappa_x, \kappa_y, \kappa_z)$ označen vektor kolmý na vlnoplochu, jehož velikost je $\kappa = |\vec{\kappa}| = 1/\lambda$, kde λ je vlnová délka dané vlny. Rozptylovým vektorem $\vec{\mu} = (m, n, s)$ rozumíme vektor složený z fourierovských komponent rozptylujícího objektu tak, že vektor $(0, 0, s)$ je rovnoběžný s optickou osou.

Rekonstruovanou komplexní amplitudu zobrazení digitálním holografickým mikroskopem můžeme popsat (podle [4]) zpětnou Fourierovou transformací součinu $T(\vec{\mu}) c(\vec{\mu})$

$$u(\vec{r}) = \iiint_{-\infty}^{\infty} T(\vec{\mu}) c(\vec{\mu}) \exp(2\pi i \vec{\mu} \cdot \vec{r}) d^3 \vec{\mu}, \quad (3.0.1)$$

kde $\vec{r} = (x, y, z)$ je polohový vektor odpovídající předmětovému prostoru, $T(\vec{\mu})$ je Fourierova transformace rozptylového potenciálu $t(\vec{r})$ objektu [4] a $c(\vec{\mu})$ je koherentní funkce přenosu daného optického systému. Koherentní funkce přenosu je tedy váhovou funkcí fourierovského spektra objektu, která je závislá pouze na parametrech zobrazovacího systému.

3.1 Transformace souřadnic

Koherentní funkci přenosu transmisního digitálního holografického mikroskopu [2] lze popsat podle [3] vztahem

$$c(\vec{\mu}) = \iint_{-\infty}^{\infty} i(\vec{\kappa}) |P_c(\vec{\kappa})|^2 P^*(\vec{\kappa}) C(\vec{\kappa}, \vec{\mu}) C_r(\vec{\kappa}) P[(\vec{\kappa} + \vec{\mu})] \times \\ \times \delta \left[(\kappa_z + s) - [\kappa^2 - (\kappa_x + m)^2 - (\kappa_y + n)^2]^{1/2} \right] \kappa_z \kappa^{-3} d^3 \vec{\kappa}, \quad (3.1.1)$$

kde $\vec{\kappa}$ je vlnový vektor vlny vstupující do optického systému, $(\vec{\kappa} + \vec{\mu})$ je vlnový vektor rozptýlené vlny, pro který platí $|\vec{\kappa} + \vec{\mu}| = |\vec{\kappa}|$, $C(\vec{\kappa}, \vec{\mu})$, resp. $C_r(\vec{\kappa})$ je geometrický faktor pro předmětovou, resp. referenční větev, předpokládáme $C(\vec{\kappa}, \vec{\mu}) = C_r(\vec{\kappa}) = 1$,

$$P(\vec{\kappa}) = \begin{cases} \kappa^{1/2} \kappa_z^{-1/2}, & \text{pro } \kappa_z \geq \kappa \cos \alpha, \\ 0, & \text{jinak,} \end{cases} \quad (3.1.2)$$

je pupilová funkce objektivu (viz [3]), jehož numerická apertura je $\text{NA} = \sin \alpha$. Dosazením (3.1.2) do vztahu (3.1.1) dostaneme

$$c(\vec{\mu}) = \iint_{\kappa_x, \kappa_y, \kappa_z} i(\vec{\kappa}) \frac{\kappa^{-1}}{\sqrt{\kappa_z(\kappa_z + s)}} \times \\ \times \delta \left[(\kappa_z + s) - [\kappa^2 - (\kappa_x + m)^2 - (\kappa_y + n)^2]^{1/2} \right] d^3 \vec{\kappa}. \quad (3.1.3)$$

Zavedeme transformaci souřadnic

$$\kappa_x = -\sin \gamma \left[\frac{\mu}{2} \sin \vartheta + \sqrt{\kappa^2 - \left(\frac{\mu}{2} \right)^2} \cos \varphi \cos \vartheta \right] + \sqrt{\kappa^2 - \left(\frac{\mu}{2} \right)^2} \cos \gamma \sin \varphi, \quad (3.1.4)$$

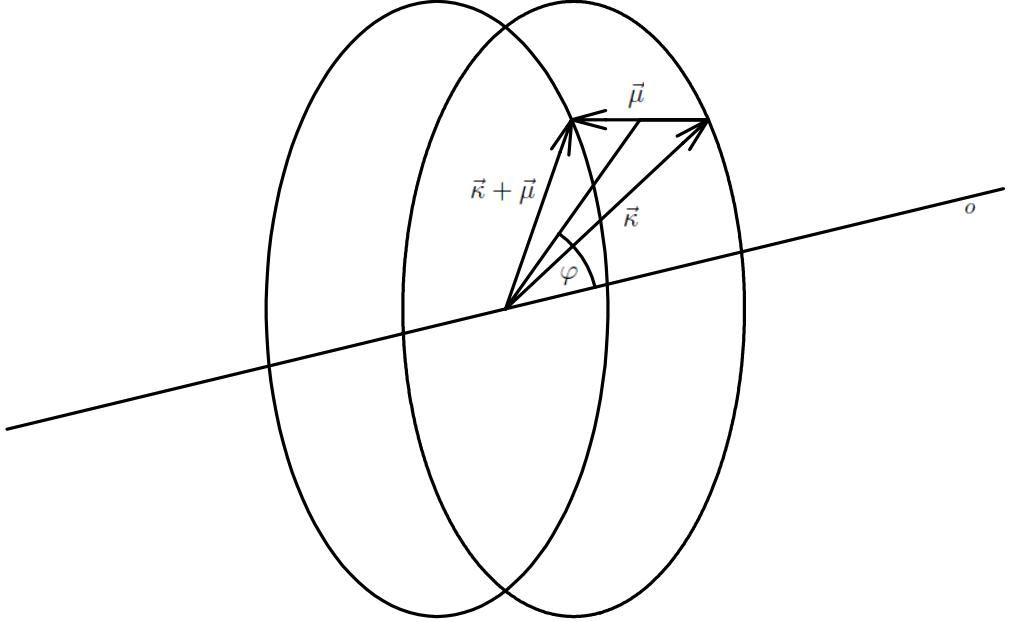
$$\kappa_y = -\cos \gamma \left[\frac{\mu}{2} \sin \vartheta + \sqrt{\kappa^2 - \left(\frac{\mu}{2} \right)^2} \cos \varphi \cos \vartheta \right] - \sqrt{\kappa^2 - \left(\frac{\mu}{2} \right)^2} \sin \gamma \sin \varphi, \quad (3.1.5)$$

$$\kappa_z = -\frac{\mu}{2} \cos \vartheta + \sqrt{\kappa^2 - \left(\frac{\mu}{2} \right)^2} \cos \varphi \sin \vartheta, \quad (3.1.6)$$

pro rozptylový vektor vyjádřený ve sférických souřadnicích $\vec{\mu} = (m, n, s) = (\mu \cos \gamma \sin \vartheta, \mu \sin \gamma \sin \vartheta, \mu \cos \vartheta)$. Tato transformace vychází ze skutečnosti, že velikosti vlnového vektoru rozptýlené a původní vlny jsou stejné. Položíme-li počáteční bod obou těchto vektorů do počátku systému souřadnic, jejich koncové body budou ležet na kulové ploše. Rozptylový vektor $\vec{\mu}$ lze tedy v systému souřadnic umístit tak, že jeho počáteční i koncový bod leží na této kulové ploše. Množinou bodů, na které může ležet počáteční, resp. koncový bod téhož vektoru $\vec{\mu}$, je kružnice (viz obr. 3.1.1). Úhel φ je úhel, který svírá rovina určená vektorem $\vec{\mu}$ a optickou osou s rovinou určenou vektory $\vec{\kappa}$ a $\vec{\mu}$. Každý vlnový vektor podílející se na přenesení určité prostorové frekvence odpovídající nějakému rozptylovému vektoru můžeme popsat úhlem φ (tedy orientací v prostoru) a velikostí κ . Pro vlnový vektor směřující rovnoběžně s optickou osou potom platí $\varphi = 0$.

Po zavedení transformace se výpočet redukuje na integraci přes φ a κ . Vzhledem ke tvaru souřadnic a rotační symetrii soustavy (předpokládáme zdroj světla kruhový s optickou osou procházející jeho středem) je oblast integrace přes φ symetrická podle nuly, tedy ve tvaru $(-\varphi_{\max}, \varphi_{\max})$. Jakobián této transformace je

$$J = \frac{\kappa_z + s}{\mu} \kappa. \quad (3.1.7)$$



Obrázek 3.1.1: Schéma pro transformaci souřadnic, \vec{k} je vlnový vektor původní vlny, $\vec{\mu}$ je rozptylový vektor, $\vec{k} + \vec{\mu}$ je vlnový vektor rozptýlené vlny a o je optická osa.

3.2 Koherentní funkce přenosu – analytický výpočet

Po zavedení transformace souřadnic a dosazení do vztahu (3.1.3) pro koherentní funkci přenosu dostaneme výraz

$$c(\vec{\mu}) = \frac{1}{\mu} \iint_{\kappa, \varphi} i(\kappa, \varphi) \frac{\frac{\mu}{2} \cos \vartheta + \sqrt{\kappa^2 - (\frac{\mu}{2})^2} \cos \varphi \sin \vartheta}{\sqrt{[\kappa^2 - (\frac{\mu}{2})^2] \cos^2 \varphi \sin^2 \vartheta - (\frac{\mu}{2} \cos \vartheta)^2}} d\varphi d\kappa. \quad (3.2.1)$$

Meze integrace přes oblast φ určíme z oblasti nenulových hodnot pupilové funkce (3.1.2) a z velikosti obrazu zdroje ve vstupní pupile kondenzoru. Zobrazíme-li zdroj tak, že vstupní pupil nebude zcela vyplňovat, maximální úhel mezi vlnovým vektorem vstupující vlny a optickou osou nebude dán numerickou aperturou, ale úhlem $\beta \leq \alpha$, odpovídající velikosti obrazu zdroje ve vstupní pupile kondenzoru. Pro průchod světla kondenzorem musí být splněna podmínka (3.2.2) a pro průchod rozptýleného světla objektivem musí být splněna podmínka (3.2.3).

$$P(\vec{k}) \neq 0 \quad \text{pro} \quad \kappa_z \geq \kappa \cos \beta, \quad (3.2.2)$$

$$P(\vec{k} + \vec{\mu}) \neq 0 \quad \text{pro} \quad \kappa_z + s \geq \kappa \cos \alpha. \quad (3.2.3)$$

V referenční věti prochází objektivem vlna nerozptýlená. Protože $\beta \leq \alpha$, světlo, které do referenční větve vstoupí, systémem projde, takže není potřeba žádné další podmínky. Z podmínek (3.2.2) a (3.2.3) plyne

$$|\varphi| \leq \arccos \left[\frac{\kappa \cos \beta + \frac{\mu}{2} \cos \vartheta}{\sqrt{\kappa^2 - (\frac{\mu}{2})^2} \sin \vartheta} \right] \quad \wedge \quad |\varphi| \leq \arccos \left[\frac{\kappa \cos \alpha - \frac{\mu}{2} \cos \vartheta}{\sqrt{\kappa^2 - (\frac{\mu}{2})^2} \sin \vartheta} \right]. \quad (3.2.4)$$

V dalším výpočtu předpokládáme, že platí $i(\kappa, \varphi) = i(\kappa) \text{rect} [\varphi / (2\varphi_{\max})]$ (dle definice funkce rect v [7], kap.1), tedy předpokládáme rovnoměrné rozložení intenzity v ploše

zdroje. Protože platí $\kappa_z > 0$ a $\kappa_z + s > 0$ (usporádání na průchod), platí $(\kappa_z + s)/(\kappa_z) > 0$ a tedy musí platit $\kappa > \mu/(2 \sin \vartheta)$.

Označíme

$$A(\kappa, \vec{\mu}) = \sqrt{\frac{4\kappa^2 - \mu^2}{4\kappa^2 - \mu^2 \sin^{-2} \vartheta}} , \quad (3.2.5)$$

$$B(\kappa, \vec{\mu}) = \frac{\cot \vartheta}{\sqrt{4\kappa^2 - \mu^2}} , \quad (3.2.6)$$

potom koherentní funkci přenosu (3.2.1) upravíme do tvaru

$$\begin{aligned} c(\vec{\mu}) = & \frac{2}{\mu} \int_{\kappa} i(\kappa) \arcsin [A(\kappa, \vec{\mu}) \sin \varphi_{\max}(\kappa, \vec{\mu})] d\kappa + \\ & + 2 \int_{\kappa} i(\kappa) B(\kappa, \vec{\mu}) F \{ A^{-1}(\kappa, \vec{\mu}), \arcsin [A(\kappa, \vec{\mu}) \sin \varphi_{\max}(\kappa, \vec{\mu})] \} d\kappa , \end{aligned} \quad (3.2.7)$$

kde $F(k, \phi) = \int_0^\phi (1 - k^2 \sin^2 \phi)^{-1/2} d\phi$ je Legendreův eliptický integrál prvního druhu ([9], str. 490).

Hodnoty úhlu φ_{\max} pro jednotlivé hodnoty vektoru $\vec{\mu}$ a úhlů α a β byly určeny z (3.2.4). Jednotlivé oblasti definičního oboru byly určeny porovnáváním obou nerovnic.

- Pro $s \geq 0$, nebo pro $(s < 0) \wedge (\alpha > \beta) \wedge [-\sin(2\vartheta) < \cos \beta - \cos \alpha]$ platí:

$$\varphi_{\max} = \arccos \left(\frac{2\kappa \cos \beta + \mu \cos \vartheta}{\sqrt{4\kappa^2 - \mu^2} \sin \vartheta} \right) , \quad (3.2.8)$$

- pro $s < 0$ a pro $\alpha = \beta$

$$\varphi_{\max} = \arccos \left(\frac{2\kappa \cos \alpha - \mu \cos \vartheta}{\sqrt{4\kappa^2 - \mu^2} \sin \vartheta} \right) , \quad (3.2.9)$$

- pro $(s < 0) \wedge (\alpha > \beta) \wedge [-\sin(2\vartheta) > \cos \beta - \cos \alpha]$ je každý integrál podle κ rozdělen na dvě části:

- Pro

$$\kappa \in \left(\frac{\mu}{2 \sin \vartheta}, \frac{-\mu \cos \vartheta}{\cos \beta - \cos \alpha} \right)$$

platí

$$\varphi_{\max} = \arccos \left(\frac{2\kappa \cos \alpha - \mu \cos \vartheta}{\sqrt{4\kappa^2 - \mu^2} \sin \vartheta} \right) . \quad (3.2.10)$$

- Pro

$$\kappa \geq \frac{-\mu \cos \vartheta}{\cos \beta - \cos \alpha}$$

platí

$$\varphi_{\max} = \arccos \left(\frac{2\kappa \cos \beta + \mu \cos \vartheta}{\sqrt{4\kappa^2 - \mu^2} \sin \vartheta} \right) . \quad (3.2.11)$$

3.2.1 Výpočet pro speciální případy stavu koherence použitého světla

- **Monochromatický plošný zdroj**

Při použití monochromatického zdroje světla přejde výraz $i(\kappa)$ na delta funkci $i(\kappa) = \delta(\kappa - \kappa_0)$ a v tomto případě není potřeba numerické integrace výrazu (3.2.7). Koherentní funkce přenosu nabude tvaru

$$c(\vec{\mu}) = \frac{2}{\mu} \arcsin [A(\kappa_0, \vec{\mu}) \sin \varphi_{\max}(\kappa_0, \vec{\mu})] + \\ + 2B(\kappa_0, \vec{\mu}) F \{ A^{-1}(\kappa_0, \vec{\mu}), \arcsin [A(\kappa_0, \vec{\mu}) \sin \varphi_{\max}(\kappa_0, \vec{\mu})] \} . \quad (3.2.12)$$

- **Bodový zdroj**

Při použití bodového zdroje můžeme ve vztahu (3.2.1) dosadit $i(\kappa, \varphi) = i(\kappa)\delta(\varphi - \varphi_0)$ a potom platí

$$c(\vec{\mu}) = \frac{1}{\mu} \int_{\kappa} i(\kappa) \frac{\mu \cos \vartheta + \sqrt{4\kappa^2 - \mu^2} \cos \varphi_0 \sin \vartheta}{\sqrt{(4\kappa^2 - \mu^2) \cos^2 \varphi_0 \sin^2 \vartheta - (\mu \cos \vartheta)^2}} d\kappa . \quad (3.2.13)$$

- **Bodový zdroj na optické ose**

Pro bodový zdroj umístěný na optické ose je $\varphi_0 = 0$, $\kappa_z = \kappa$, tedy integrál (3.2.13) přejde do tvaru

$$c(\vec{\mu}) = \frac{2}{\mu} \int_{\kappa} i(\kappa) \frac{\mu \cos \vartheta + \kappa}{\sqrt{4\kappa^2 \sin^2 \vartheta - \mu^2}} d\kappa . \quad (3.2.14)$$

Nahradíme-li funkci $i(\kappa)$ funkcí $\text{rect}[(\kappa - \kappa_0)/(2\Delta\kappa)]$, tedy rovnu jedné na intervalu $(\kappa_0 - \Delta\kappa, \kappa_0 + \Delta\kappa)$, mimo tento interval rovnu nule, můžeme funkci (3.2.14) vyjádřit analyticky

$$c(\vec{\mu}) = \cot \vartheta \ln \left[\frac{\kappa_0 + \Delta\kappa + \sqrt{(\kappa_0 + \Delta\kappa)^2 - \left(\frac{\mu}{2 \sin \vartheta}\right)^2}}{\kappa_0 - \Delta\kappa + \sqrt{(\kappa_0 - \Delta\kappa)^2 - \left(\frac{\mu}{2 \sin \vartheta}\right)^2}} \right] + \\ + \frac{1}{\mu} \left[\sqrt{(\kappa_0 + \Delta\kappa)^2 - \left(\frac{\mu}{2 \sin \vartheta}\right)^2} - \sqrt{(\kappa_0 - \Delta\kappa)^2 - \left(\frac{\mu}{2 \sin \vartheta}\right)^2} \right] . \quad (3.2.15)$$

- **Monochromatický bodový zdroj na optické ose**

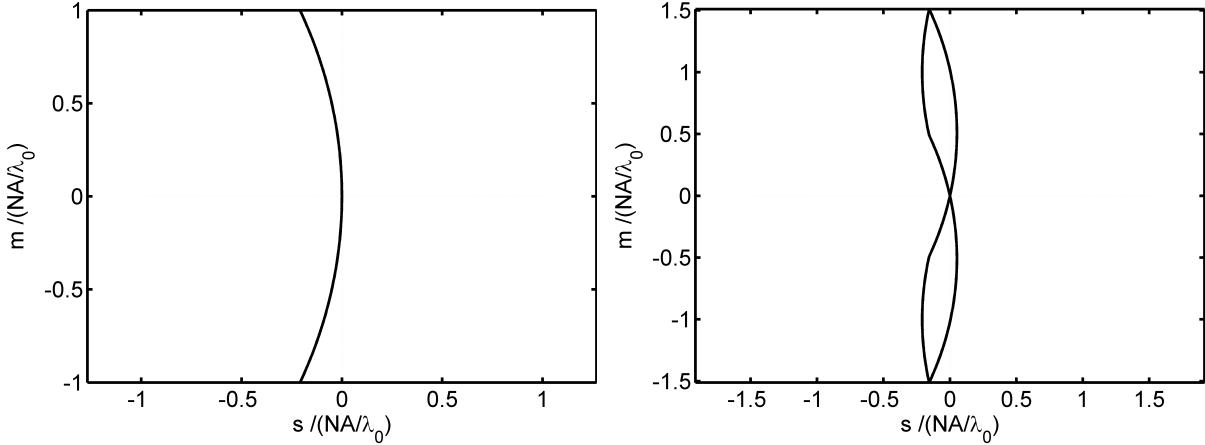
Pro monochromatický bodový zdroj umístěný na optické ose platí $i(\kappa, \varphi) = \delta(\kappa - \kappa_0) \times \delta(\varphi)$ a výraz (3.2.14) se zjednoduší na

$$c(\vec{\mu}) = \frac{2}{\mu} \frac{\mu \cos \vartheta + \kappa_0}{\sqrt{4\kappa_0^2 \sin^2 \vartheta - \mu^2}} . \quad (3.2.16)$$

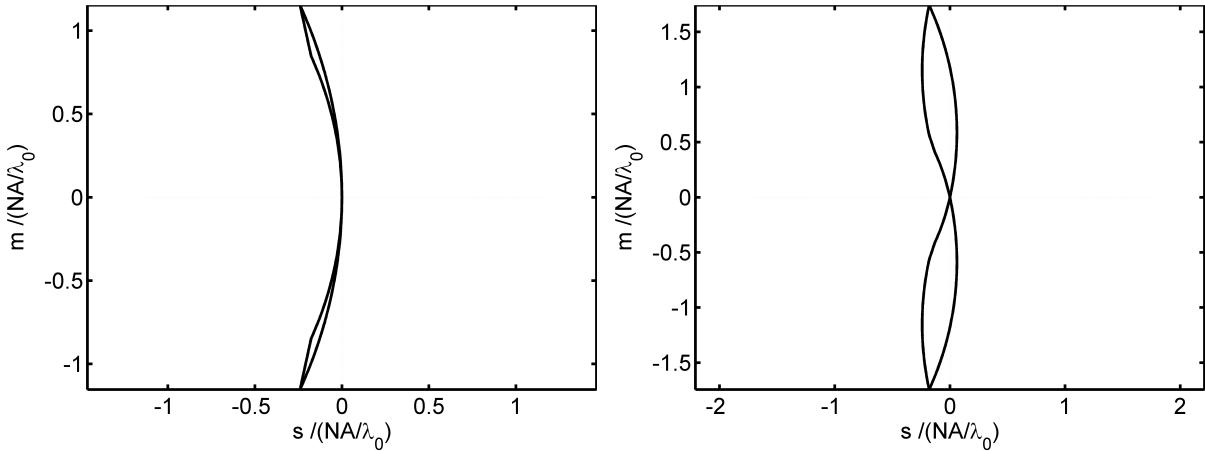
3.2.2 Oblast nenulových hodnot koherentní funkce přenosu

Tvar a velikost oblasti přenesených prostorových frekvencí závisí na stavu koherence použitého světla. Při použití monochromatického světla je takovou oblastí (v prostoru (m, n, s)) část kulové plochy. Při prostorovém i při spektrálním rozšíření dojde ke zvětšení této oblasti. Na obrázcích 3.2.1 a 3.2.2 jsou znázorněny tvary těchto oblastí pro různé stavy

koherence. Systém je rotačně symetrický, k popsání hranice oblasti nenulových hodnot i samotné koherentní funkce přenosu $c(m, n, s)$ postačuje vykreslení této funkce v rovině $n = 0$. Na ose y je vynesena redukovaná prostorová frekvence $m/(NA/\lambda_0)$, na ose x je $s/(NA/\lambda_0)$. Při použití bodového monochromatického zdroje tak oblast nenulových hodnot funkce $c(m, n, s)$ leží v intervalu $m/(NA/\lambda_0) \in \langle -1, 1 \rangle$. Oblasti nenulových hodnot byly určeny výpočtem vycházejícím z geometrie systému.



Obrázek 3.2.1: Hranice oblasti nenulových hodnot koherentní funkce přenosu $c(m, 0, s)$ při použití monochromatického zdroje pro $NA = 0,25$, $\lambda_0 = 650$ nm. Vlevo bodový, vpravo plošný zdroj $\beta = \alpha/2$.

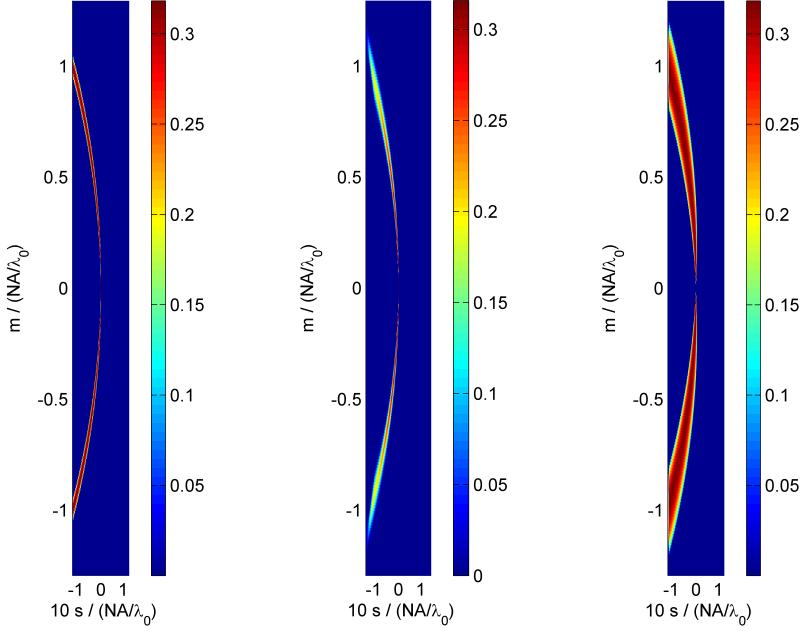


Obrázek 3.2.2: Hranice oblasti nenulových hodnot koherentní funkce přenosu $c(m, 0, s)$ při použití nemonochromatického zdroje pro $NA = 0,25$, $\lambda_0 = 650$ nm a $\Delta\lambda = 100$ nm. Vlevo bodový, vpravo plošný zdroj $\beta = \alpha/2$.

3.3 Koherentní funkce přenosu – numerický výpočet

Koherentní funkce přenosu byla určena numerickou integrací výrazu (3.2.7) pro polychromatický prostorově omezený zdroj. Na obrázcích 3.3.1 a 3.3.2 je funkce zobrazena pro různé stavy koherence. Pro lepší viditelnost a zvýraznění oblasti nenulových hodnot je funkce vynásobena velikostí rozptylového vektoru a v grafech je vykreslena funkce $c(\vec{\mu}) \cdot |\vec{\mu}|$. Bodu v počátku souřadného systému je přiřazena nulová hodnota, protože součin

$c(\vec{\mu}) \cdot |\vec{\mu}|$ není v tomto bodě definován. Ostatní body nespojitosti v grafech jsou způsobeny malým počtem vykreslených bodů.



Obrázek 3.3.1: Koherentní funkce přenosu vynásobená velikostí rozptylového vektoru $c(\vec{\mu}) \cdot |\vec{\mu}| (\text{m}^{-1})$ pro $\text{NA} = 0,25$, $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$. Vlevo pro $\beta = \alpha/20$, $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$, uprostřed pro $\beta = \alpha/20$, $\Delta\lambda = 100 \text{ nm}$, vpravo pro $\beta = \alpha/5$, $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$.

3.4 Dvojrozměrná funkce přenosu

Předpokládejme dvojrozměrný rozptylující objekt, který vložíme do předmětového prostoru. Souřadný systém prostorových souřadnic (x, y, z) zvolíme tak, že předmětová rovina je rovina $z = 0$. Potom rozptylový potenciál $t(x, y, z)$ takového dvojrozměrného objektu umístěného v rovině $z = z_0$ lze popsat vztahem

$$t(x, y, z) = t_2(x, y) \delta(z - z_0), \quad (3.4.1)$$

kde $t_2(x, y)$ jsme označili dvojrozměrný rozptylový potenciál objektu. Fourierova transformace rozptylového potenciálu je potom

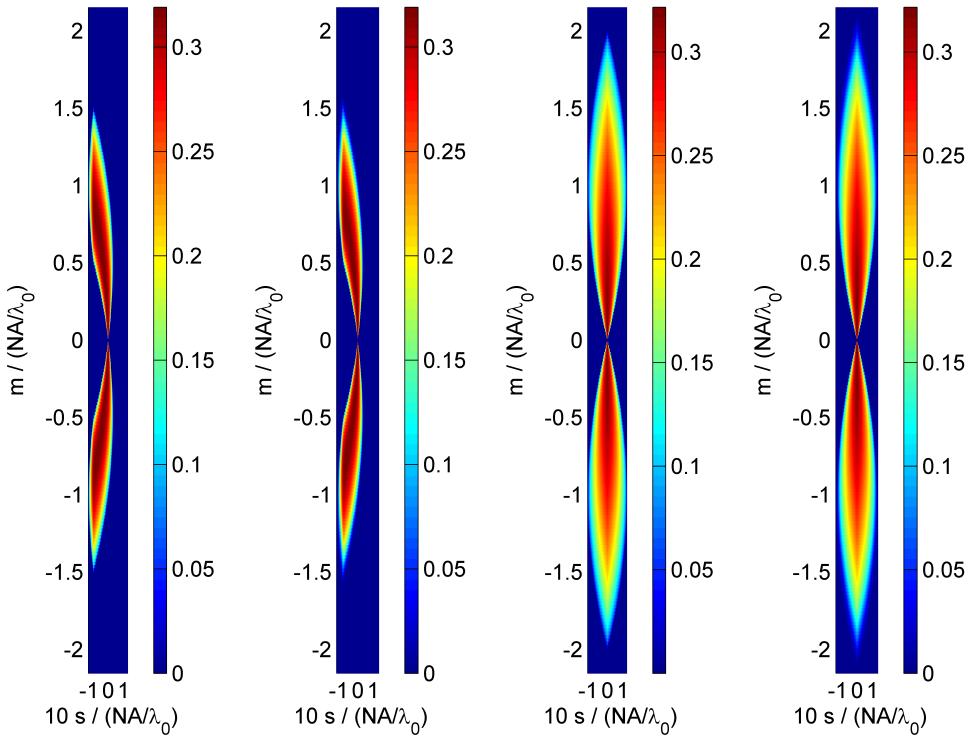
$$T(m, n, s) = \iint_{-\infty}^{\infty} t_2(x, y) \exp[-2\pi i(mx + ny)] dx dy \int_{-\infty}^{\infty} \delta(z - z_0) \exp(-2\pi i s z) dz. \quad (3.4.2)$$

Označíme-li $T_2(m, n)$ dvojrozměrnou Fourierovu transformaci výrazu $t_2(x, y)$, dostaneme výraz

$$T(m, n, s) = T_2(m, n) \exp(-2\pi i s z_0). \quad (3.4.3)$$

Po dosazení do výrazu (3.0.1) dostaneme

$$u(\vec{r}) = \iint_{-\infty}^{\infty} T_2(m, n) c_2(m, n; z - z_0) \exp[2\pi i(mx + ny)] dm dn, \quad (3.4.4)$$



Obrázek 3.3.2: Koherentní funkce přenosu vynásobená velikostí rozptylového vektoru $c(\vec{\mu}) \cdot |\vec{\mu}|(\text{m}^{-1})$ pro $\text{NA} = 0,25$, $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$. Zleva postupně pro $\beta = \alpha/2$, $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$; $\beta = \alpha/2$, $\Delta\lambda = 50 \text{ nm}$; $\beta = \alpha$, $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$; $\beta = \alpha$, $\Delta\lambda = 50 \text{ nm}$.

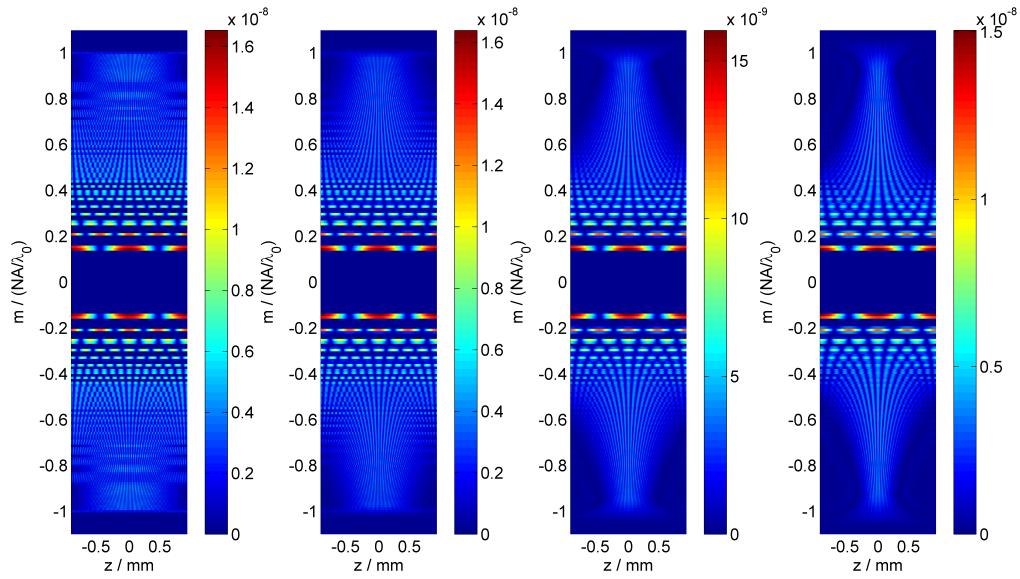
kde $c_2(m, n; z)$ je dvojrozměrná funkce přenosu [3]

$$c_2(m, n; z) = \int_{-\infty}^{\infty} c(m, n, s) \exp(2\pi i s z) \, ds, \quad (3.4.5)$$

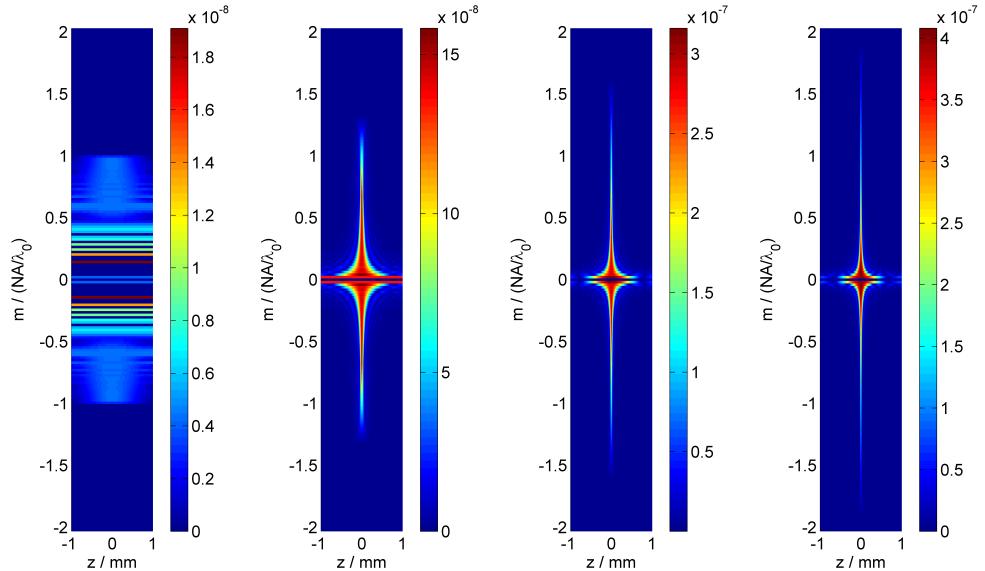
$z - z_0$ je vzdálenost daného dvojrozměrného objektu od roviny z , ve které popisujeme vlnu $u(\vec{r})$. Kladná hodnota tohoto rozdílu znamená, že daný objekt leží před rovinou z . Dvojrozměrná funkce přenosu $c_2(m, n; z)$ je jednorozměrnou zpětnou Fourierovou transformací koherentní funkce přenosu $c(m, n, s)$. Dvojrozměrná funkce přenosu $c_2(m, n; z)$ tedy popisuje, jak se příčné frekvence dvojrozměrného objektu umístěného mimo předmětovou rovinu podílí na zobrazení.

Na obrázcích 3.4.1 a 3.4.2 je zobrazeno $|c_2(m, n; z)|$ pro různé stavy koherence použitého světla. Z grafů je patrné, že maximální hodnoty funkce $c_2(m, n; z)$ odpovídají při všech stavech koherence (s výjimkou monochromatického bodového zdroje) nulovému rozostření, tedy funkci $c_2(m, n; 0)$. Vodorovné pruhy v grafu jsou způsobeny malou hustotou bodů ve výpočtu koherentní funkce přenosu.

Útlum každé příčné prostorové frekvence velikosti $\sqrt{m^2 + n^2}$ v závislosti na vzdálenosti od předmětové roviny lze charakterizovat pološírkou maxima $\Delta z(m, n)$, kde $\Delta z(m, n)/2$ je vzdálenost od předmětové roviny, pro kterou platí $c_2(m, n; \Delta z(m, n)) = 1/2 c_2(m, n; 0)$. Závislost $\Delta z(m, n)$ na velikosti zdroje je zobrazena na obrázku 3.4.3, na spektrální pološířce $\Delta\lambda$ na obrázku 3.4.4. V grafech je zobrazena pouze velikosti pološírky $\Delta z(m, n)$, není zde nijak zahrnuta velikost maxima pro danou vlnovou délku, maxima pro vyšší prostorové



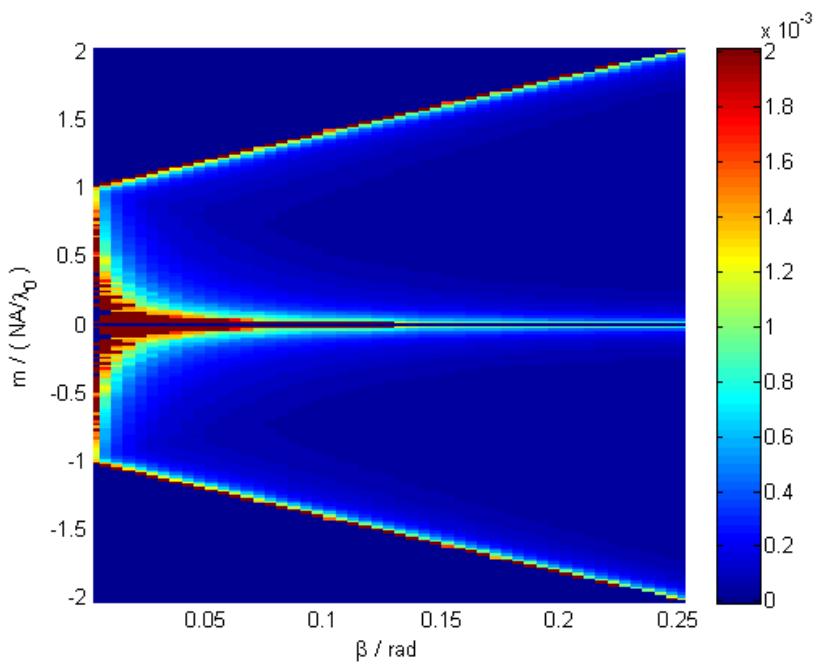
Obrázek 3.4.1: Velikost dvojrozměrné funkce přenosu $c_2(m, 0; z)$ pro $\text{NA} = 0, 25$, $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$, $\beta = \alpha/100$. Zleva lineárně pro spektrální pološírku od $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$ do $\Delta\lambda = 50 \text{ nm}$.



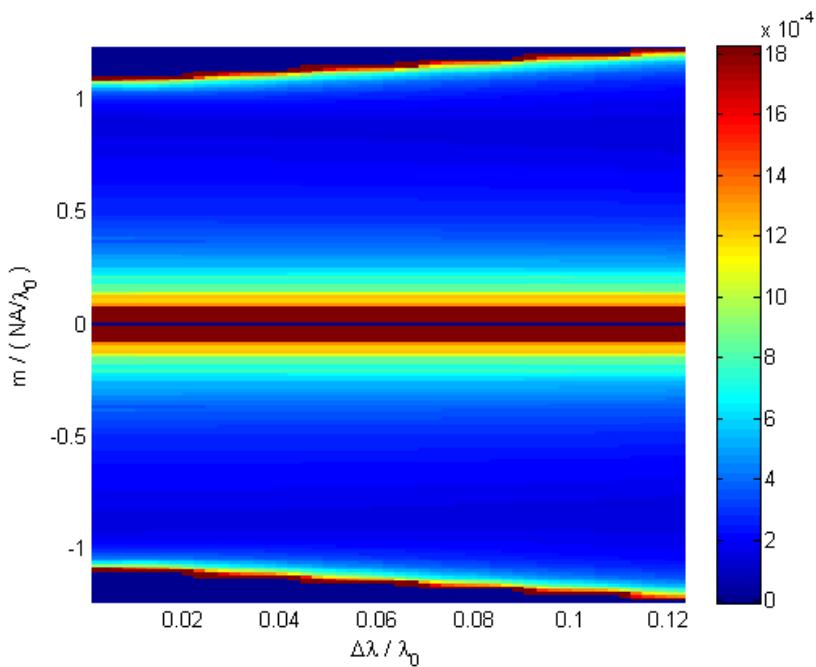
Obrázek 3.4.2: Velikost dvojrozměrné funkce přenosu $c_2(m, 0; z)$ pro $\text{NA} = 0, 25$, $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 10 \text{ nm}$. Zleva lineárně pro velikost zdroje od $\beta = \alpha/100$ do $\beta = \alpha$.

frekvence jsou malá, takže i velká hodnota pološírky $\Delta z(m, n)$ pro určitou velikost zdroje neznamená, že daná frekvence bude přenesena.

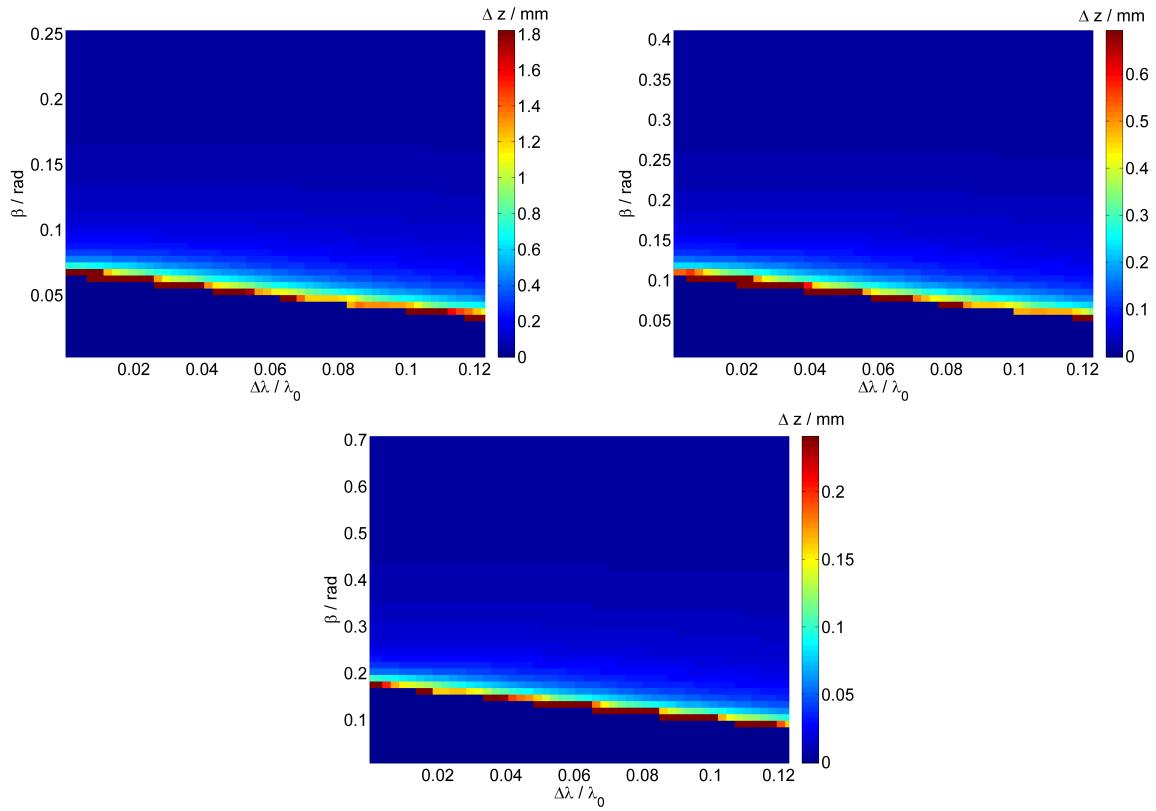
Z grafu na obrázku 3.4.3 je zřejmé, že pološírka $\Delta z(m, n)$ výrazně klesá se zvětšujícím se zdrojem. Zvětšování šírky spektra na tuto vzdálenost má vliv téměř zanedbatelný. V grafu na obrázku 3.4.5 si lze povšimnout, že vliv spektrální šírky na velikost vzdálenosti $\Delta z(m, n)$ je znatelný pro menší velikosti zdroje. Pro větší úhly β se závislost na $\Delta\lambda$ téměř ztrácí.



Obrázek 3.4.3: Závislost velikosti pološírky maxima $\Delta z(m, n)$ na velikosti zdroje β pro $NA = 0,25$, $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 10 \text{ nm}$. Hodnoty vzdálenosti $\Delta z(m, n)$ jsou uvedeny v metrech.



Obrázek 3.4.4: Závislost velikosti pološírky maxima $\Delta z(m, n)$ na šířce spektra $\Delta\lambda$ pro $NA = 0,25$, $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$, $\beta = \alpha/10$. Hodnoty vzdálenosti $\Delta z(m, n)$ jsou uvedeny v metrech.



Obrázek 3.4.5: Závislost velikosti pološírky maxima $\Delta z(m, n)$ pro redukovanou prostorovou frekvenci $m/(NA/\lambda_0) = 1, 26$ na šířce spektra $\Delta\lambda$ a velikosti zdroje β pro $\lambda_0 = 650$ nm, vlevo nahoře $NA = 0, 25$, vpravo nahoře $NA = 0, 4$, dole $NA = 0, 65$.

Kapitola 4

Osově nesymetrický systém

V předchozí kapitole jsme se zabývali optickým systémem, ve kterém měl zdroj pro všechny vlnové délky stejné vlastnosti. V transmisním digitálním holografickém mikroskopu (kap. 2.1), jehož schéma je znázorněno na obrázku 2.1.1, závisí poloha obrazu zdroje ve vstupní pupile kondenzoru na vlnové délce použitého světla. Mikroskop je navržen pro střední vlnovou délku $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$. Monochromatický zdroj této vlnové délky je kolektorem zobrazen do vstupní pupily kondenzoru tak, že střed obrazu zdroje leží na optické ose - ve středu vstupní pupily. Použijeme-li monochromatický zdroj jiné vlnové délky, je střed obrazu zdroje posunut vůči středu vstupní pupily kondenzoru. Tato skutečnost je způsobena použitím difrakční mřížky.

4.1 Závislost polohy středu obrazu zdroje na vlnové délce

Pro první a minus první řád difrakce platí podle [1] (str. 449) vztah

$$\sin \xi = f\lambda , \quad (4.1.1)$$

kde ξ je velikost difrakčního úhlu, f je prostorová frekvence použité mřížky a λ je vlnová délka světla. Delší vlnovým délkám tedy přísluší větší difrakční úhly, než vlnovým délkám kratším.

Pro střední vlnovou délku použitého světla platí

$$\xi_0 = \arcsin(f\lambda_0) . \quad (4.1.2)$$

Jelikož se jedná o úhel odpovídající vlnové délce světla λ_0 , pro kterou je mikroskop navržen, je optická osa kondenzoru orientována tak, že vlnový vektor světla difrakujícího pod tímto úhlem je s optickou osou kondenzoru rovnoběžný. Závislost úhlu $\zeta_0(\lambda)$, který svírá vlnový vektor s optickou osou, na vlnové délce λ lze podle (4.1.1) a (4.1.2) popsat vztahem

$$\zeta_0(\lambda) = \xi(\lambda) - \xi_0 = \arcsin(f\lambda) - \xi_0 . \quad (4.1.3)$$

Jako kondenzor je v mikroskopu použit objektiv (viz obr. 2.1.1). Za předpokladu splnění Abbeovy sinové podmínky ([1], kap. 4.5) platí pro objektiv vztah

$$\sin \sigma_0 = M \sin \sigma_1 , \quad (4.1.4)$$

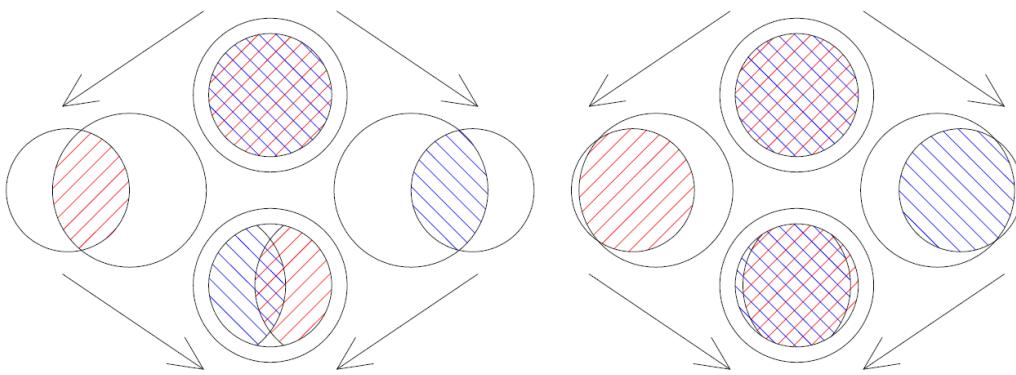
kde úhel σ_0 , resp. σ_1 je úhel, který svírá vstupující, resp. vystupující paprsek z objektivu s optickou osou, M je zvětšení objektivu. Jelikož je objektiv použit jako kondenzor, platí pro úhel ζ , který svírá paprsek vystupující z kondenzoru s optickou osou, vztah

$$\sin \zeta(\lambda) = M \sin \zeta_0(\lambda) . \quad (4.1.5)$$

4.2 Tvar a velikost zdroje pro různé vlnové délky

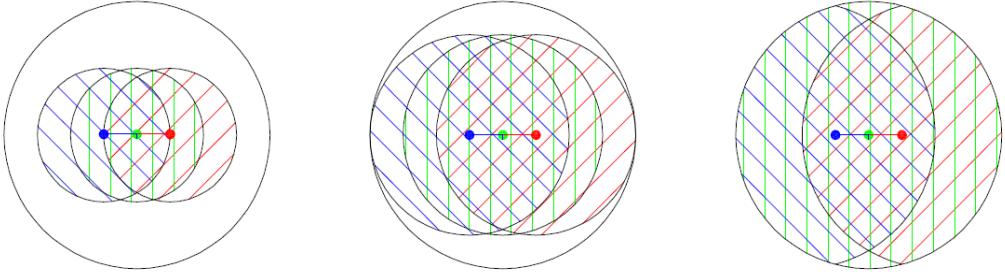
V předchozí podkapitole byla určena úhlová poloha středu obrazu zdroje v předmětovém prostoru. Pokud by pro nějaký bod byl tento úhel větší, než je úhel α odpovídající numerické apertuře, tento bod zdroje by byl zobrazen mimo vstupní pupilu kodenzoru a na zobrazení by se nepodílel. V této podkapitole se budeme věnovat určení oblasti zdroje, která zasahuje do zobrazovacího procesu.

Větve odpovídají difrakčním řádům 1 a -1. Tedy v každé větvi je posun středu vůči středu obrazu světla střední vlnové délky na opačnou stranu (obr. 4.2.1).



Obrázek 4.2.1: Zobrazení monochromatického zdroje ve vstupní pupile kondenzoru pro vlnovou délku větší, než je střední vlnová délka λ_0 , pro kterou je mikroskop navržen. Modré šrafování odpovídá předmětové větvi, červené šrafování odpovídá věti referenční. Obrázek vlevo znázorňuje použití vlnové délky λ_1 , obrázek vpravo λ_2 , kde $\lambda_0 < \lambda_2 < \lambda_1$.

Ve výstupní rovině mikroskopu interferují vlny z předmětové a referenční větve. K interferenci dochází pro každou vlnovou délku vždy u vln odpovídajících jednomu bodu zdroje. Pokud některou z větví neprojdou vlny s vlnovými vektory odpovídajícími nějaké oblasti zdroje, tato oblast se nebude podílet na zobrazení. V obrázku 4.2.1 je oblast zdroje podílející se na zobrazení (efektivní plocha zdroje) vyznačena průnikem šrafováných ploch. Při použití světla jiné vlnové délky, než je vlnová délka λ_0 , je obraz zdroje ve vstupní pupile kondenzoru posunut vůči středu pupily, v každé větvi na opačnou stranu. Použijeme-li tedy nemonochromatické světlo a zvolíme velikost zdroje takovou, že obraz zdroje nevyplňuje vstupní pupilu kondenzoru, dojde ve vstupní pupile kondenzoru v jednom směru k prostorovému protažení obrazu zdroje (viz obrázek 4.2.2 vlevo a uprostřed). Tedy podobně, jak bylo popsáno v kapitole 1, způsobí spektrální rozšíření zdroje v jednom směru i zvětšení geometrických rozměrů obrazu zdroje. Tento jev lze považovat za významný u malých velikostí obrazu zdroje vůči velikosti vstupní pupily kondenzoru, tedy pro $\beta \ll \alpha$, pro velikosti obrazu zdroje blížící se velikosti vstupní pupily již není možno zdroj příliš geometricky zvětšit (obrázek 4.2.2 vpravo).



Obrázek 4.2.2: Zobrazení efektivní plochy nemonochromatického zdroje ve vstupní pupile kondenzoru, střední vlnová délka λ_0 , pro kterou je mikroskop navržen je zobrazena zeleně, modře $\lambda < \lambda_0$, červeně $\lambda > \lambda_0$. Středy pro jednotlivé vlnové délky jsou zvýrazněny odpovídajícími barvami. Vlevo a uprostřed obraz zdroje menší, než vstupní pupila kondenzoru, vpravo obraz zdroje vyplňuje vstupní pupilu.

4.3 Koherentní funkce přenosu

Označme $\vec{\kappa}_o$, $\vec{\kappa}_r$, $\vec{\kappa}_n$ vlnové vektory rovinné vlny pocházející z jednoho bodu zdroje tak, že $\vec{\kappa}_o = (\kappa_{o,x}, \kappa_{o,y}, \kappa_{o,z})$ je vlnový vektor vlny v předmětové větví, $\vec{\kappa}_r = (\kappa_{r,x}, \kappa_{r,y}, \kappa_{r,z})$ vlnový vektor v referenční větví a vektor $\vec{\kappa}_n$ je vlnový vektor teoretické vlny, kterou bychom dostali, kdyby nedocházelo k dispersi. To odpovídá například použití nultého difrakčního řádu mřížky. Souřadnice těchto vektorů nechť jsou vztaženy k předmětovým prostorům jednotlivých větví, tedy směr osy z je rovnoběžný s optickou osou a všechny tři osy x leží v jedné rovině. Pro světlo centrální vlnové délky λ_0 platí $\vec{\kappa}_o = \vec{\kappa}_r = \vec{\kappa}_n$, protože bodový zdroj takové vlnové délky se zobrazí ve vstupních pupilách obou kondenzorů do stejného místa. Pro světlo jakékoli jiné vlnové délky platí $\vec{\kappa}_o \neq \vec{\kappa}_n \neq \vec{\kappa}_r$. Zavedeme tzv. dispersní vektory $\vec{\Delta}_o$ a $\vec{\Delta}_r$, popisující změnu vlnového vektoru vůči $\vec{\kappa}_n$ vztahy

$$\vec{\kappa}_o = \vec{\kappa}_n + \vec{\Delta}_o , \quad (4.3.1)$$

$$\vec{\kappa}_r = \vec{\kappa}_n + \vec{\Delta}_r . \quad (4.3.2)$$

Abychom mohli počítat koherentní funkci přenosu, je potřeba upravit výraz (3.1.1) tak, aby tuto nesymetrii systému postihl. Difrakční mřížka je orientována tak, že její nenulová prostorová frekvence je ve směru osy x . Vektory $\vec{\kappa}_o$, $\vec{\kappa}_r$ se tedy liší pouze ve složkách ve směru osy x a z . Tedy platí $\Delta_{o,y} = \Delta_{r,y} = 0$. Složky $\Delta_{o,x}(\kappa) = -\Delta_{r,x}(\kappa) = \Delta_x(\kappa)$ jsou funkcí velikosti vlnového vektoru (vlnové délky). Složky $\Delta_{o,z}$ a $\Delta_{r,z}$ mají takovou velikost, aby velikost vlnového vektoru byla zachována, tedy $|\vec{\kappa}_o| = |\vec{\kappa}_r| = |\vec{\kappa}_n| = \kappa$. Tedy složka vektoru $\Delta_{o,z}$ a $\Delta_{r,z}$ je funkcí velikosti κ vlnového vektoru i jeho směru. Pro koherentní funkci přenosu osově nesymetrického systému platí (podle [3])

$$c(\vec{\mu}) = \iiint_{-\infty}^{\infty} i(\vec{\kappa}) P_c^*(\vec{\kappa}_r) P^*(\vec{\kappa}_r) P_c(\vec{\kappa}_o) P(\vec{\kappa}_o + \vec{\mu}) C(\vec{\kappa}, \vec{\mu}) C(\vec{\kappa}) \times \\ \times \delta \left[(\kappa_{o,z} + s) - [\kappa^2 - (\kappa_{o,x} + m)^2 - (\kappa_{o,y} + n)^2]^{1/2} \right] \kappa_z \kappa^{-3} d^3 \vec{\kappa} . \quad (4.3.3)$$

Geometrický faktor opět předpokládáme $C(\vec{\kappa}, \vec{\mu}) = C_r(\vec{\kappa}) = 1$. Oborem integrace jsou všechny vlnové vektory $\vec{\kappa}$ světla pocházejícího ze zdroje. Tvar efektivní plochy zdroje a její zmenšení způsobené dispersí jsou zahrnuty v členu $i(\vec{\kappa})$ a ve výrazech pro pupilové funkce jednotlivých objektivů a kondenzorů.

Vzhledem ke komplikovanosti výpočtu takového integrálu přistupme k následujícímu zjednodušení. Jako zdroj světla, přes který provedeme integraci, vezměme obraz zdroje

ve vstupní pupile kondenzoru předmětové větve. Potom ve vztahu (4.3.3) dosadíme za $\vec{\kappa} = (\kappa_x, \kappa_y, \kappa_z)$ vektor $\vec{\kappa}_o$. Vztah (4.3.3) nabude tvaru

$$c(\vec{\mu}) = \iint_{-\infty}^{\infty} i(\vec{\kappa}_o) P_c^*(\vec{\kappa}_r) P^*(\vec{\kappa}_r) P_c(\vec{\kappa}_o) P(\vec{\kappa}_o + \vec{\mu}) \times \\ \times \delta \left[(\kappa_{o,z} + s) - [\kappa^2 - (\kappa_{o,x} + m)^2 - (\kappa_{o,y} + n)^2]^{1/2} \right] \kappa_{o,z} \kappa^{-3} d^3 \vec{\kappa}_o . \quad (4.3.4)$$

Po dosazení výrazu (3.1.2) pro pupilovou funkci objektivů

$$c(\vec{\mu}) = \iint_{\vec{\kappa}_o} i(\vec{\kappa}_o) \frac{\kappa_{o,z}}{(\kappa_{o,z} - \Delta_{o,z} + \Delta_{r,z})} \frac{\kappa^{-1}}{\sqrt{\kappa_{o,z} (\kappa_{o,z} + s)}} \times \\ \times \delta \left[(\kappa_{o,z} + s) - [\kappa^2 - (\kappa_{o,x} + m)^2 - (\kappa_{o,y} + n)^2]^{1/2} \right] d^3 \vec{\kappa}_o . \quad (4.3.5)$$

Povšimněme si, že vztah (4.3.5) se od výrazu (3.1.3) pro symetrický systém liší pouze ve členu

$$\frac{\kappa_{o,z}}{\kappa_{o,z} - \Delta_{o,z} + \Delta_{r,z}} = 1 - \frac{\Delta_{r,z} - \Delta_{o,z}}{\kappa_{o,z} + \Delta_{r,z} - \Delta_{o,z}} . \quad (4.3.6)$$

Označme $(\Delta_{o,z} - \Delta_{r,z})/(\kappa_{o,z} + \Delta_{r,z} - \Delta_{o,z}) = \Psi(\vec{\kappa}_o)$. Výraz (4.3.5) tak upravíme na součet dvou integrálů

$$c(\vec{\mu}) = \iint_{\vec{\kappa}_o} i(\vec{\kappa}_o) \frac{\kappa^{-1}}{\sqrt{\kappa_{o,z} (\kappa_{o,z} + s)}} \times \\ \times \delta \left[(\kappa_{o,z} + s) - [\kappa^2 - (\kappa_{o,x} + m)^2 - (\kappa_{o,y} + n)^2]^{1/2} \right] d^3 \vec{\kappa}_o + \\ + \iint_{\vec{\kappa}_o} \Psi(\vec{\kappa}_0) i(\vec{\kappa}_o) \frac{\kappa^{-1}}{\sqrt{\kappa_{o,z} (\kappa_{o,z} + s)}} \times \\ \times \delta \left[(\kappa_{o,z} + s) - [\kappa^2 - (\kappa_{o,x} + m)^2 - (\kappa_{o,y} + n)^2]^{1/2} \right] d^3 \vec{\kappa}_o . \quad (4.3.7)$$

První integrál součtu (4.3.7) je stejný, jako výraz (3.1.3). Druhý integrál má v argumentu navíc člen $\Psi(\vec{\kappa}_o)$. Funkce $i(\vec{\kappa}_0)$ je nezáporná na celém integračním oboru, hodnoty κ jsou vždy kladné. Pro každou funkci $f(\vec{\kappa}_0)$ nabývající na nějakém intervalu nezáporných hodnot, platí na celém tomto intervalu

$$\Psi_{\min} f(\vec{\kappa}_0) \leq \Psi(\vec{\kappa}_0) f(\vec{\kappa}_0) \leq \Psi_{\max} f(\vec{\kappa}_0) , \quad (4.3.8)$$

kde Ψ_{\min} , resp. Ψ_{\max} je minimální, resp. maximální hodnota funkce $\Psi(\vec{\kappa}_o)$, které může na tomto intervalu nabývat. Z toho plyne

$$\Psi_{\min} \iint_{\vec{\kappa}_o} f(\vec{\kappa}_0) d^3 \vec{\kappa}_o \leq \iint_{\vec{\kappa}_o} \Psi(\vec{\kappa}_0) f(\vec{\kappa}_0) d^3 \vec{\kappa}_o \leq \Psi_{\max} \iint_{\vec{\kappa}_o} f(\vec{\kappa}_0) d^3 \vec{\kappa}_o . \quad (4.3.9)$$

Označíme-li $c_0(m, n, s)$ koherentní funkci přenosu, kterou bychom vypočítali pomocí vztahu (3.1.3), kde bychom za $\vec{\kappa}$ dosadili $\vec{\kappa}_o$, můžeme psát

$$(1 + \Psi_{\min}) c_0(m, n, s) \leq c(m, n, s) \leq (1 + \Psi_{\max}) c_0(m, n, s) . \quad (4.3.10)$$

V následujícím odstavci určíme hodnoty Ψ_{\max} a Ψ_{\min} . Z (3.1.2) plyne

$$\Delta_{o,z} - \Delta_{r,z} \in [-\kappa(1 - \cos \alpha), \kappa(1 - \cos \alpha)] , \quad (4.3.11)$$

$$\kappa_{o,z} - \Delta_{o,z} + \Delta_{r,z} \in (\kappa \cos \alpha, \kappa) . \quad (4.3.12)$$

Maximální možnou hodnotou podílu dvou funkcí je podíl maximální hodnoty funkce v čitateli a minimální hodnoty funkce ve jmenovateli, tedy

$$\Psi_{\max,1} = \frac{(\Delta_{o,z} - \Delta_{r,z})_{\max}}{(\kappa_{o,z} + \Delta_{r,z} - \Delta_{o,z})_{\min}} = \frac{\kappa(1 - \cos \alpha)}{\kappa \cos \alpha} = \frac{1 - \cos \alpha}{\cos \alpha} , \quad (4.3.13)$$

$$\Psi_{\min,1} = -\frac{1 - \cos \alpha}{\cos \alpha} . \quad (4.3.14)$$

Protože absolutní hodnota $|\Psi_{\max,1}|$ je stejná jako absolutní hodnota $|\Psi_{\min,1}|$, budeme se dále zabývat pouze jednou z těchto hodnot. Maximální hodnota $\Psi_{\max,1}$ funkce $\Psi(\vec{\kappa}_o)$ není funkcí vlnového vektoru, udává pouze hodnotu, kterou tato funkce nemůže překonat. V tabulce 4.1 jsou uvedeny tyto maximální hodnoty pro tři hodnoty numerické apertury, jaké odpovídají objektivům používaným v mikroskopu. Z tabulky 4.1 je patrné, že

Tabulka 4.1: Hodnoty $\Psi_{\max,1}$ pro různé hodnoty numerické apertury.

NA	0, 25	0, 40	0, 65
$\Psi_{\max,1}$	0,033	0,091	0,316

vypočítáme-li koherentní funkci přenosu pro $NA = 0, 25$ pomocí vztahu (3.1.3), bude se tato hodnota lišit od hodnoty vypočítané podle vztahu (4.3.7) o maximálně 3,3 %, pro $NA = 0, 40$ o 9,1 % a pro $NA = 0, 65$ o 31,6 %.

Tyto hodnoty odpovídají maximální možné odchylce. Dané hodnoty můžeme určit přesněji a snížit tak maximální hodnotu procentuální odchylky. Maximální hodnota výrazu $\Delta_{o,z} - \Delta_{r,z}$ nastane pro takovou kombinaci vektorů $\vec{\kappa}_o$ a $\vec{\kappa}_r$, že jeden z těchto vektorů svírá s optickou osou úhel α a oba leží v rovině $y = 0$ (viz obrázek 4.3.1). Maximální velikost rozdílu $\Delta_{o,z} - \Delta_{r,z}$ je potom

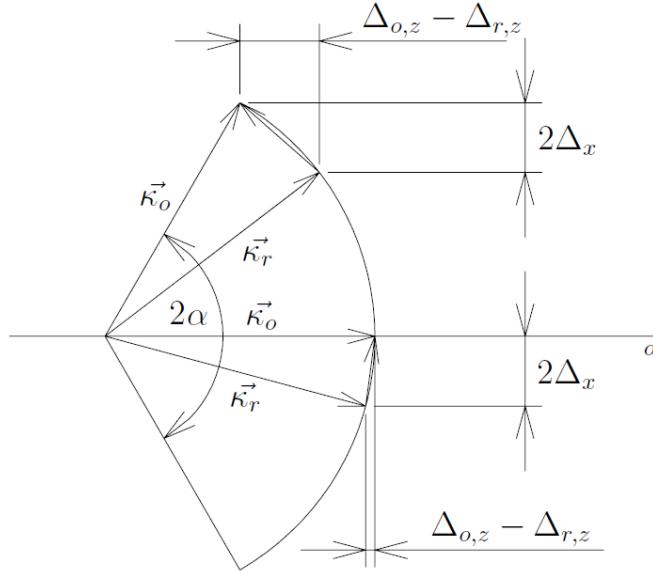
$$|\Delta_{o,z} - \Delta_{r,z}|_{\max} = \kappa \left[\sqrt{1 - \left(\sin \alpha - \frac{2\Delta_x}{\kappa} \right)^2} - \cos \alpha \right] . \quad (4.3.15)$$

Tomu odpovídá

$$\Psi_{\max,2}(\kappa) = \frac{\sqrt{1 - \left(\sin \alpha - \frac{2\Delta_x}{\kappa} \right)^2}}{\cos \alpha} - 1 . \quad (4.3.16)$$

V tabulce 4.2 jsou uvedeny hodnoty vypočítané z tohoto vztahu. Symbol λ_{\max} označuje maximální vlnovou délku světla v systému. Pro symetrickou spektrální závislost, v jejímž středu je centrální vlnová délka pro daný systém, platí, že hodnota $\Psi_{\max,2}(\kappa)$ je maximální pro hodnotu λ_{\max} . Pro numerickou aperturu $NA = 0, 25$ se výsledná koherentní funkce přenosu v každém bodě prostoru (m, n, s) počítaná vztahem (3.1.3) a tedy i vztahem (3.2.7) liší od přesné hodnoty určené výrazem (4.3.7) o maximálně 1,7 %.

Pro výpočet koherentní funkce přenosu takového optického systému neplatí podmínka (3.2.2). Nalézt odpovídající podmínu a výraz pro φ_{\max} není analyticky možné, úhel φ_{\max} je proto počítán numericky. Protože tento systém není rotačně symetrický, byl výpočet proveden pro dva na sebe kolmé směry – pro příčnou prostorovou frekvenci m ve směru protažení zdroje a pro příčnou prostorovou frekvenci n kolmou na tento směr.



Obrázek 4.3.1: Schéma pro určení maximální hodnoty $\Delta_{o,z} - \Delta_{r,z}$. Vektory jsou orientovány tak, že optické osy obou větví splývají (ozn. o).

Tabulka 4.2: Hodnoty $\Psi_{\max 2}$ pro různé hodnoty numerické apertury.

NA		0,25	0,40	0,65
$\lambda_{\max} = 700 \text{ nm}$	$\Psi_{\max,2}$	0,0170	0,057	0,235
$\lambda_{\max} = 675 \text{ nm}$	$\Psi_{\max,2}$	0,0090	0,031	0,136
$\lambda_{\max} = 662,5 \text{ nm}$	$\Psi_{\max,2}$	0,0045	0,016	0,073

4.4 Vlastnosti zobrazení

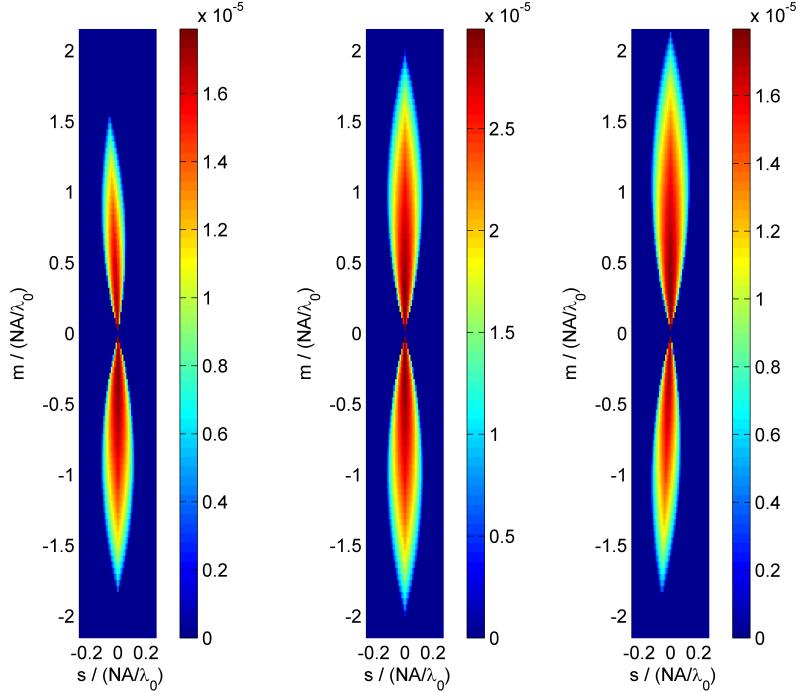
Tato podkapitola je věnována vlastnostem optického systému, které můžeme určit z koherentní funkce přenosu. Výpočet této funkce byl upraven tak, aby zahrnoval dispersi, tedy různé polohy a tvary obrazu zdroje pro různé vlnové délky. Jsou zde provedeny analogické výpočty k výpočtu v kapitole 3 (3.3, 3.4). Výpočet vychází ze vztahu (3.2.7).

4.4.1 Příčná prostorová frekvence n

Velikost obrazu zdroje v tomto směru není nijak změněna. Obraz zdroje odpovídající vlnové délce, pro kterou mikroskop není navržen, může být vstupní pupilou kondenzoru oříznut tak, že maximální úhel, který svírá vlnový vektor s optickou osou je menší, než β (viz např. obr. 4.2.1 vlevo, v tomto obrázku odpovídá prostorová frekvence n svislému směru). Také celková intenzita světla odpovídající takové vlnové délce je menší, protože se na zobrazení nepodílí celá plocha zdroje. Tyto jevy nejsou pro tvar koherentní funkce přenosu příliš významné. Výsledky pro prostorovou frekvenci n se tedy příliš neliší od výsledků v kapitole 3.3.

4.4.2 Příčná prostorová frekvence m

V tomto směru je zdroj protažen. Každý z krajů takto protáhlého zdroje odpovídá krajní hodnotě vlnové délky použitého spektra (příp. takové mezní vlnové délce, která ještě zasahuje do zobrazovacího procesu). Koherentní funkce přenosu tedy v tomto případě není symetrická (viz obrázek 4.4.1). Na tomto obrázku jsou zobrazeny grafy součinu koherentní

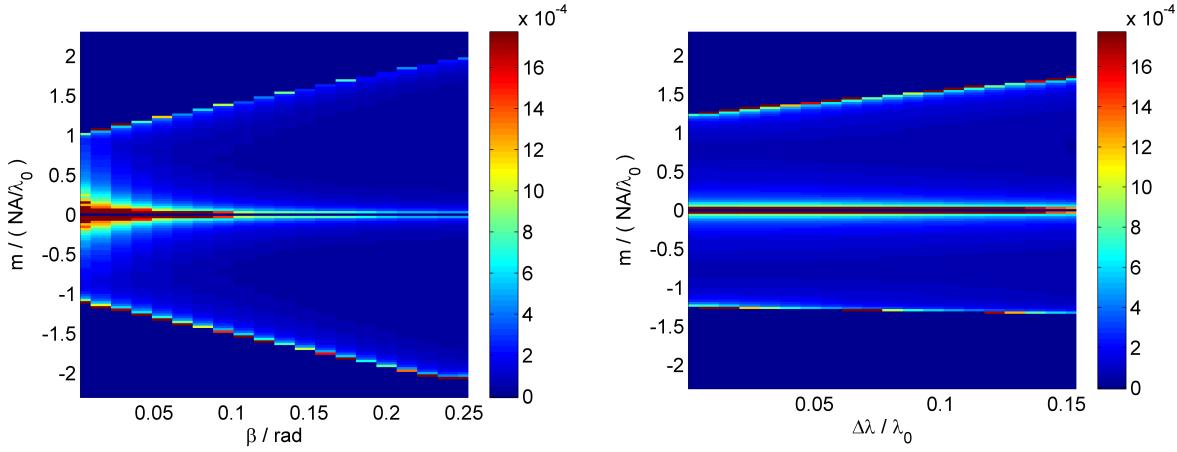


Obrázek 4.4.1: Součin koherentní funkce přenosu a velikosti rozptylového vektoru pro monochromatický plošný zdroj (m^{-1}), kde $\beta = \alpha$, $NA = 0,25$. Vlevo pro $\lambda_1 = 600\text{ nm}$, uprostřed pro $\lambda = \lambda_0 = 650\text{ nm}$, vpravo pro $\lambda_2 = 700\text{ nm}$.

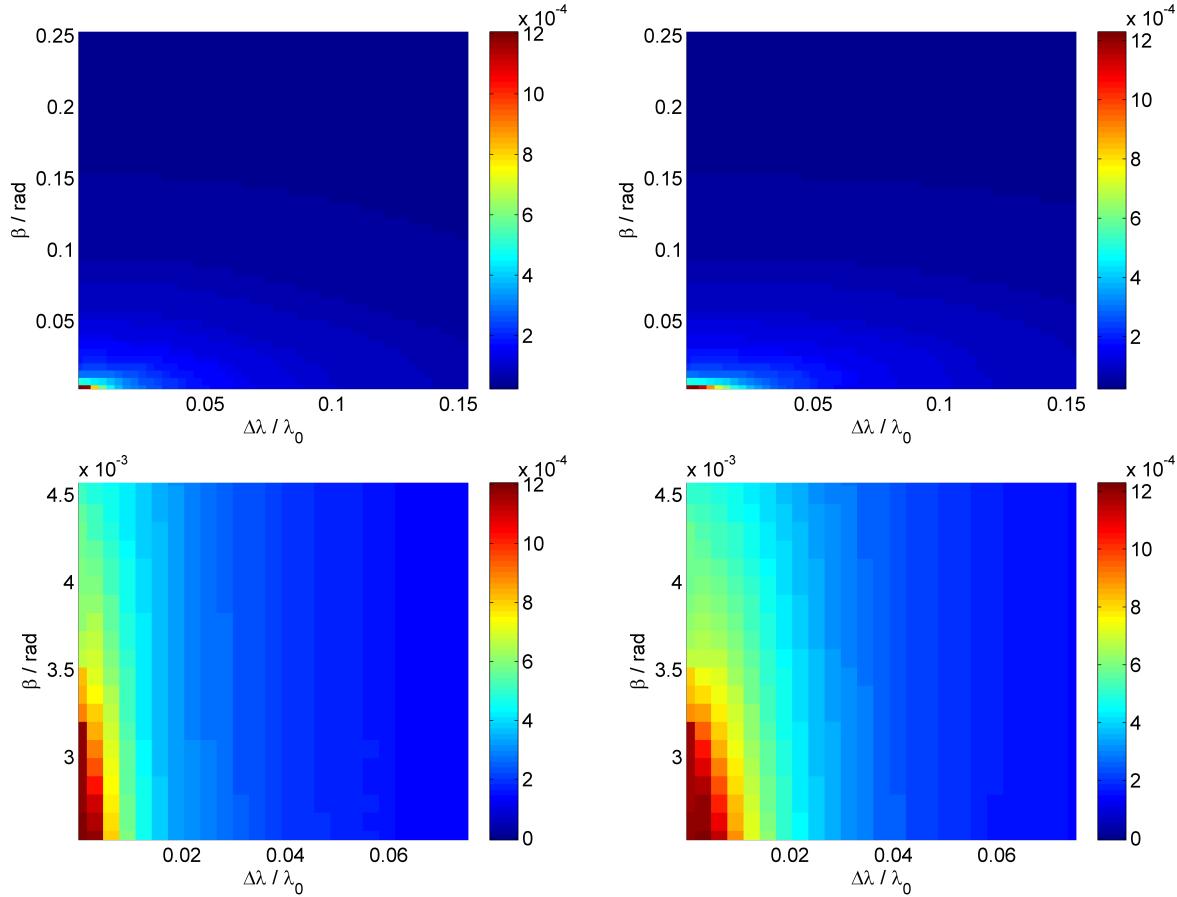
funkce a velikosti rozptylového vektoru pro tři různé zdroje světla. Jedná se o plošné monochromatické zdroje různých vlnových délek. Vlevo pro vlnovou délku λ_1 kratší, než je centrální vlnová délka ($\lambda_1 < \lambda_0$), uprostřed pro centrální vlnovou délku λ_0 , vpravo pro vlnovou délku λ_2 delší, než je centrální vlnová délka ($\lambda_2 > \lambda_0$). Lze si povšimnout, že koherentní funkce přenosu pro vlnové délky λ_1 a λ_2 není symetrická podle roviny $m = 0$. To je způsobeno posunem obrazu zdroje ve vstupní pupile kondenzoru. Symetrický podle této roviny není ani součet koherentních funkcí přenosu pro tyto dvě krajní vlnové délky. Tedy, použijeme-li nemonochromatický zdroj světla se spektrální závislostí symetrickou podle centrální vlnové délky, získáme koherentní funkci přenosu nesymetrickou dle roviny $m = 0$.

Z obrázků 4.4.2, 4.4.3 a 4.4.4 je patrné, že se při spektrálním rozšiřování projevuje určitý pokles ve velikosti polosírky $\Delta z(m, 0)$. Pokles při zvětšování geometrických rozměrů je ale stále významnější.

Na obrázku 4.4.5 je zobrazena závislost dvojrozměrné funkce přenosu $c_2(m, 0; z)$ na prostorové frekvenci m a velikosti rozostření z . Na jednotlivých řádcích je tato funkce zleva vždy pro spektrálně rozšiřující se zdroj konstantní prostorové velikosti. V jednotlivých sloupcích směrem dolů je tato funkce zobrazena pro prostorově se zvětšující zdroj s určitou konstantní šírkou spektra. Z tohoto obrázku je patrné, že prostorové rozšiřování zdroje

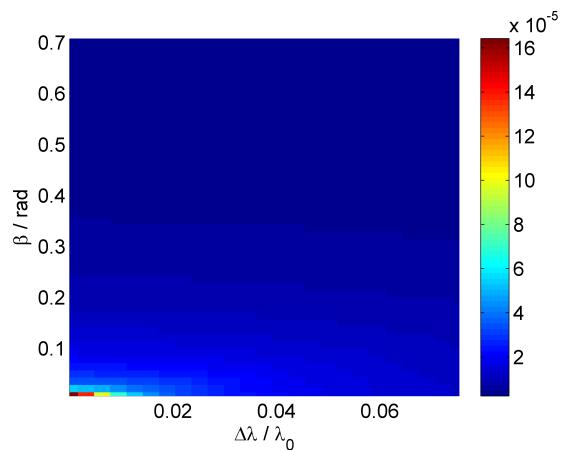


Obrázek 4.4.2: Vlevo - závislost velikosti pološírky maxima $\Delta z(m, n)$ na velikosti zdroje β pro NA = 0,25, $\lambda_0 = 650$ nm, $\Delta\lambda = 24$ nm. Vpravo - závislost velikosti pološírky maxima $\Delta z(m, n)$ na šířce spektra $\Delta\lambda$ pro NA = 0,25, $\lambda_0 = 650$ nm, $\beta = 0,0207$ nm.



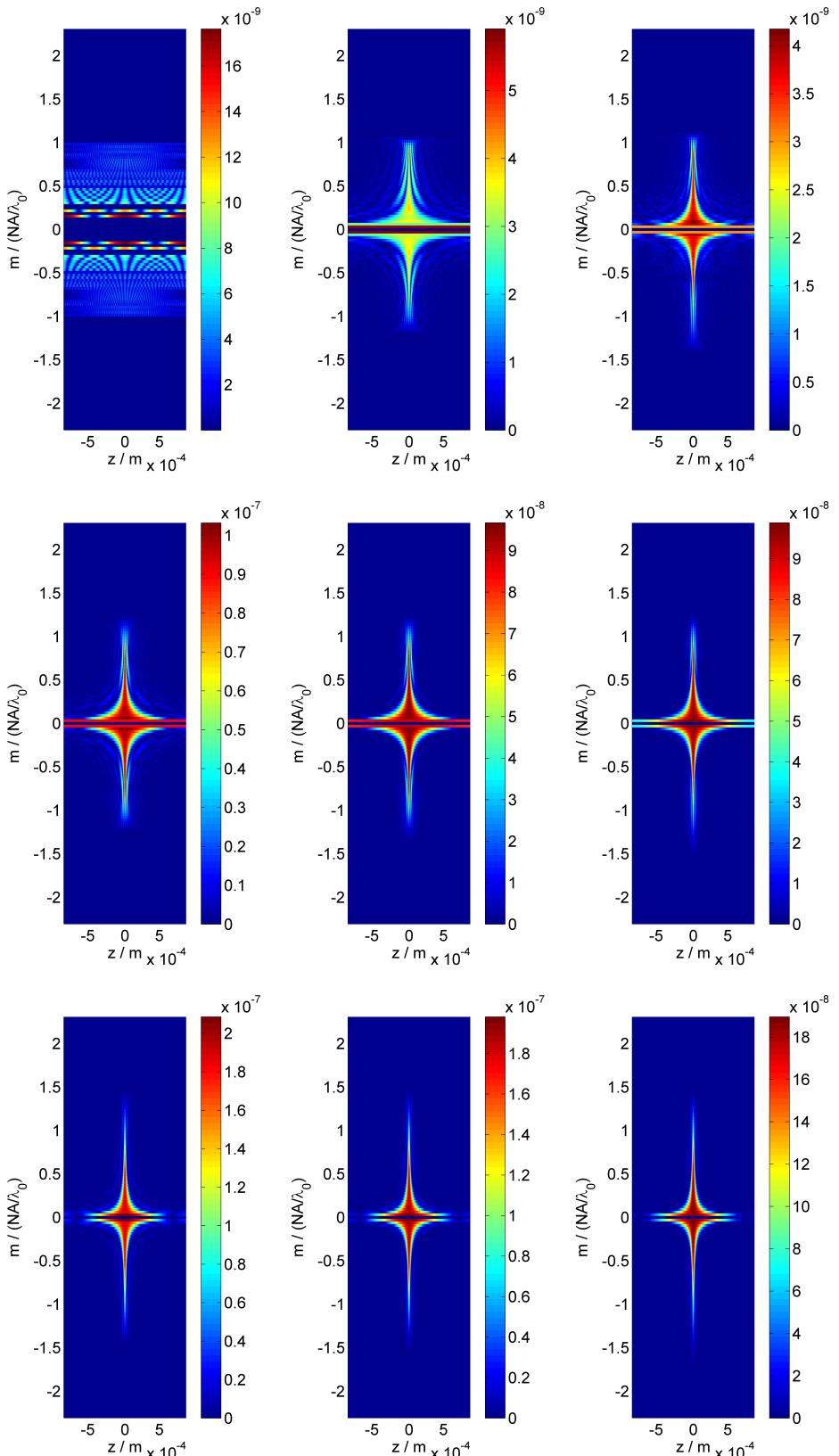
Obrázek 4.4.3: Závislost velikosti pološírky maxima $\Delta z(m, n)$ na velikosti zdroje β a na šířce spektra $\Delta\lambda$ pro NA = 0,25, $\lambda_0 = 650$ nm. Vlevo pro $m/(NA/\lambda_0) = 0,95$, vpravo pro $m/(NA/\lambda_0) = -0,95$.

má významný vliv na zvyšování útlumu přenosu frekvencí při rozostřování, tedy při rozšírování zdroje se výrazně zužuje tvar závislosti $c_2(m, 0; z)$ na z a tím se zmenšuje vzdálenost $\Delta z(m, 0)$ pro jednotlivé prostorové frekvence. Při spektrálním rozšírování zdroje je vidět obdobný trend. Vliv spektrálního rozšírování je výrazný u malých velikostí



Obrázek 4.4.4: Závislost velikosti pološírky maxima $\Delta z(m, n)$ na velikosti zdroje β a na šířce spektra $\Delta\lambda$ pro NA = 0,65, $\lambda_0 = 650 \text{ nm}$, $m/(\text{NA}/\lambda_0) = -0,95$.

zdroje, u větších již přestává být významným (viz obr. 4.4.5 dole).



Obrázek 4.4.5: Velikost dvojrozměrné funkce přenosu pro $NA = 0,25$, $\lambda_0 = 650\text{ nm}$ – zleva lineárně od $\Delta\lambda = 1\text{ nm}$ do $\Delta\lambda = 100\text{ nm}$, po řádcích postupně lineárně velikost zdroje od $\beta = \alpha/100$ do $\beta = \alpha/2$.

Závěr

Provedla jsem výpočet dle úvahy v článku [10]. Výsledky výpočtu ukázaly, že tloušťka optických řezů, respektive šířka oblasti objektu, pro kterou se vlny rozptýlené v ní podílí na zobrazení, závisí jak na prostorové, tak na časové koherenci. Vzhledem k možnostem nastavení stavu koherence v mikroskopu je závislost na stavu prostorové koherence významnější.

V práci byl upraven výpočet koherentní funkce přenosu pro transmisní holografický mikroskop z článku [3]. Byl proveden částečný analytický výpočet této funkce, který byl doplněn výpočtem numerickým. Na základě znalosti koherentní funkce přenosu jsem počítala, jak se mění přenos prostorových frekvencí dvojrozměrného objektu systémem v závislosti na vzdálenosti objektu od předmětové roviny. Tento výpočet jsem provedla pro dva optické systémy.

Pro mikroskop, kde světlo při průchodu zobrazovacím systémem není disperzně rozděleno, má na útlum přenosu prostorových frekvencí v závislosti na rozostření pouze stav prostorové koherence. Vliv stavu časové koherence se projeví pouze u velmi malých velikostí zdroje.

U mikroskopu, kde světlo prochází zobrazovacím systémem disperzně rozloženo, lze zrychlení útlumu přenosu prostorových frekvencí v závislosti na rozostření docílit prostorovým i spektrálním rozšířením zdroje, podobně, jak bylo odvozeno ve výpočtu nezahrnujícím zobrazovací soustavu. Vliv spektrálního rozšiřování zdroje klesá s rostoucí prostorovou velikostí zdroje.

Literatura

- [1] Born M., Wolf E.: *Principles of Optics*, 7th Ed. Cambridge Univ. Press, Cambridge 1999.
- [2] Chmelík R.: *Trojrozměrné zobrazení v mikroskopii*. Ústav fyzikálního inženýrství FSI VUT, Brno 2003, 14.
- [3] Chmelík R.: *Three-dimensional scalar imaging in high-aperture low-coherence interference and holographic microscopes*. Journal of Modern Optics, 2006, 2673–2689.
- [4] Chmelík R., Harna Z.: *Přenos prostorových frekvencí holografickým konfokálním mikroskopem*. Jemná mechanika a optika 44, 1999, 348-351.
- [5] Janečková H., *Mikroskopie časově proměnných biologických objektů*. Dizertační práce, VUT Brno, 2009.
- [6] Janečková H., *Interferenční mikroskopie biologických vzorku*. Diplomová práce, VUT Brno, 2006.
- [7] Komrska J.: *Fourierovské metody v teorii difrakce a ve strukturní analýze*, CERM, Brno 2007.
- [8] Komrska J.: *Vlnová optika*, část *Difrakce světla.*, CERM, Brno 2004.
- [9] Rektorys K.: *Přehled užité matematiky*, SNTL, Praha 1968.
- [10] Leith N. et al.: *Optical sectioning by holographic coherence imaging: a generalized analysis*. JOSA A 20(2), 2003, 380–387.
- [11] Leith N., Swanson J.: *Achromatic interferometers for white light optical processing and holography*. Appl.Opt. 19(4), 1980, 638–644.
- [12] Gradshteyn I. N., Ryzhik I. M.: *Table of Integrals, Series, and Products*. Academic Press, New York and London 1965