



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

## ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ

INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

# ZOBRAZOVÁNÍ V SILNĚ ROZPTYLUJÍCÍM PROSTŘEDÍ POMOCÍ KOHERENCÍ ŘÍZENÉHO HOLOGRAFICKÉHO MIKROSKOPU

IMAGING THROUGH A STRONGLY SCATTERING MEDIUM WITH A COHERENCE-CONTROLLED  
HOLOGRAPHIC MICROSCOPE

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

ELIŠKA ANNA MICHALICOVÁ

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Mgr. JAKUB BĚLÍN, Ph.D.

BRNO 2025

# Zadání bakalářské práce

Ústav: Ústav fyzikálního inženýrství  
Studentka: **Eliška Anna Michalicová**  
Studijní program: Fyzikální inženýrství a nanotechnologie  
Studijní obor: bez specializace  
Vedoucí práce: **Mgr. Jakub Bělín, Ph.D.**  
Akademický rok: 2024/25

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 bakalářské práce:

## Zobrazování v silně rozptylujícím prostředí pomocí koherencí řízeného holografického mikroskopu

### Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Holografická mikroskopie s částečně koherentním osvětlením nabízí celou škálu výhod oproti konvenčním metodám kvantitativního fázového zobrazení, které využívají koherentní osvětlení. Jednou z těchto výhod je filtrace rozptýleného záření – a tím odfiltrovat nežádoucí šum z finálního obrazu – pomocí mechanismu koherenční brány. Koherenční brána se dá dokonce uplatnit i v případě, když je vzorek umístěn v silně rozptylujícím prostředí.

### Cíle bakalářské práce:

Studentka se obeznámí s principy šíření světla v rozptylujícím prostředí a nekoherentní holografické mikroskopie. Získané poznatky potom využije k odvození algoritmu pro rekonstrukci obrazu předmětu, který je vnořen do silně rozptylujícího prostředí. Tuto rekonstrukci obrazu navrhne nejdříve pro 2D vzorky, případně potom i 3D.

### Seznam doporučené literatury:

SLABÝ, Tomáš; KOLMAN, Pavel; DOSTÁL, Zbyněk; ANTOŠ, Martin; LOŠŤÁK, Martin et al. Off-axis setup taking full advantage of incoherent illumination in coherence-controlled holographic microscope. *Optics Express*. 2013, roč. 21, č. 12, s. 3706-3710. ISSN 1094-4087. Dostupné z: <https://doi.org/10.1364/OE.21.014747>.

ĎURIŠ, Miroslav a CHMELÍK, Radim. Coherence gate manipulation for enhanced imaging through scattering media by non-ballistic light in partially coherent interferometric systems. Online. *Optics Letters*. 2021, roč. 46, č. 18. ISSN 0146-9592. Dostupné z: <https://doi.org/10.1364/OL.432484>.

LOŠŤÁK, Martin; CHMELÍK, Radim; SLABÁ, Michala a SLABÝ, Tomáš. Coherence-controlled holographic microscopy in diffuse media. *Optics Express*. 2014, roč. 22, č. 4. ISSN 1094-4087. Dostupné z: <https://doi.org/10.1364/OE.22.004180>.

PEŘINA, Jan. Teorie koherence: Určeno [také] studentům. SNTL, Praha, 1975.

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2024/25

V Brně, dne

L. S.

---

prof. RNDr. Tomáš Šikola, CSc.  
ředitel ústavu

---

doc. Ing. Jiří Hlinka, Ph.D.  
děkan fakulty



## **Abstrakt**

Zobrazování skrze rozptylující média je výzvou v biomedicínském výzkumu při pozorování biologických vzorků. Těmito vzorky jsou často nestacionární systémy fázových objektů, jako jsou buňky. Cílem této práce bylo analyticky popsat šíření světla v rozptylujících médiích a na základě těchto poznatků navrhnout algoritmus, který využívá výhod plynoucích z možnosti fázového zobrazování holografickým mikroskopem a je schopen rekonstruovat vzorek umístěný do rozptylujícího prostředí. Do navrženého iterativního algoritmu vstupují měření provedené v několika rovinách, z nichž je s využitím dekonvoluce rekonstruován vzorek pod rozptylující vrstvou v rámci několika desítek iterací.

## **Summary**

Imaging through scattering media presents a challenge in biomedical research when observing biological samples. These are often non-stationary phase objects like cells. The aim of this work was to analytically describe light propagation in scattering media and, based on this knowledge, propose an algorithm that leverages the advantages of phase imaging with a holographic microscope to reconstruct a sample placed within a scattering environment. The proposed iterative algorithm utilizes measurements taken in multiple planes, from which the sample beneath the scattering layer is reconstructed using deconvolution within several tens of iterations.

## **Klíčová slova**

Silně rozptylující prostředí, holografická mikroskopie, propagace světla, Fourierova transformace, konvoluce, simulace, rekonstrukční algoritmus

## **Keywords**

Strongly scattering medium, holographic microscopy, light propagation, Fourier transform, convolution, simulation, reconstruction algorithm

MICHALICOVÁ, Eliška Anna. *Zobrazování v silně rozptylujícím prostředí pomocí koherencí řízeného holografického mikroskopu*. Bakalářská práce. Jakub BĚLÍN (vedoucí práce). Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2025. 40 s.



Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Zobrazování v silně rozptylujícím prostředí pomocí koherencí řízeného holografického mikroskopu“ vypracovala samostatně s použitím zdrojů uvedených v seznamu literatury.

Eliška Anna Michalicová



Ráda bych poděkovala svému vedoucímu, Mgr. Jakubu Bělnovi, Ph.D., za jeho cenné rady, ochotu a čas, který mi věnoval během psaní této bakalářské práce. Děkuji také své rodině a přátelům za jejich podporu během studia.

Eliška Anna Michalicová



# Obsah

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Seznam publikací</b>                                    | <b>3</b>  |
| <b>2</b> | <b>Úvod</b>  | <b>5</b>  |
| <b>3</b> | <b>Šíření světla</b>                                       | <b>7</b>  |
| 3.1      | Helmholtzova rovnice . . . . .                             | 7         |
| 3.1.1    | Řešení Helmholtzovy rovnice . . . . .                      | 8         |
| 3.2      | Fourierova transformace . . . . .                          | 9         |
| 3.2.1    | Fourierovská propagace . . . . .                           | 11        |
| 3.2.2    | Aproximace propagátoru . . . . .                           | 12        |
| 3.3      | Konvoluce . . . . .  | 13        |
| 3.3.1    | Konvoluční teorém . . . . .                                | 14        |
| 3.3.2    | Řetězení propagací . . . . .                               | 15        |
| 3.4      | Difrakční integrál a Huygensův-Fresnelův princip . . . . . | 16        |
| <b>4</b> | <b>Holografická mikroskopie</b>                            | <b>19</b> |
| 4.1      | Vznik hologramu . . . . .                                  | 19        |
| 4.2      | Digitální holografická mikroskopie . . . . .               | 20        |
| 4.2.1    | Koherenci řízený holografický mikroskop . . . . .          | 21        |
| <b>5</b> | <b>Rozptylující prostředí</b>                              | <b>23</b> |
| 5.1      | Šíření přes jednu rozptylující vrstvu . . . . .            | 23        |
| 5.1.1    | Simulace . . . . .   | 25        |
| 5.2      | Alternativní přístupy . . . . .                            | 27        |
| 5.2.1    | Měření difúzního světla pomocí CCHM . . . . .              | 28        |
| 5.2.2    | Měření transmisních matic . . . . .                        | 29        |
| <b>6</b> | <b>Rekonstrukční algoritmus</b>                            | <b>31</b> |
| 6.1      | Gerchbergův-Saxtonův algoritmus . . . . .                  | 31        |
| 6.2      | Návrh rekonstrukčního algoritmu . . . . .                  | 32        |
| 6.2.1    | Návrh algoritmu pro 3D rozptylující prostředí . . . . .    | 33        |
| 6.3      | Výsledky simulace . . . . .                                | 33        |
| <b>7</b> | <b>Závěr</b>   | <b>37</b> |
| <b>8</b> | <b>Literatura</b>  | <b>39</b> |



# 1. Seznam publikací

Výsledky prezentované v této bakalářské práci budou rovněž obsaženy v následujících publikacích:

Michalicová, E. A. & Bělín, J. (2025). Image-reconstruction algorithm for an object covered by a strongly scattering layer, also applicable for 3D imaging. Conference paper submitted for oral presentation at Optica European Conferences on Biomedical Optics.

Michalicová, E. A. & Bělín, J. (2025). Iterative algorithm for 3D image reconstruction based on z-stacking quantitative phase imaging. Paper in preparation.



## 2. Úvod

Optické zobrazovací metody hrají klíčovou roli v mnoha vědeckých a technických oborech, od biologie a medicíny až po materiálové vědy. Tradiční mikroskopické techniky s koherentním osvětlením poskytují vysoké rozlišení a kontrast, nicméně jejich schopnost zobrazovat objekty skrze neprůhledná nebo silně rozptylující prostředí je omezena. Rozptyl světla, který je způsobený interakcí fotonů s částicemi média, vede ke snížení kvality obrazu, ztrátě intenzity a v některých případech pak není zobrazení možné.

Vyvíjejí se proto pokročilé zobrazovací techniky, které jsou schopny překonat limity spojené s rozptylem světla. Jedním z perspektivních směrů je využití holografické mikroskopie s částečně koherentním osvětlením, označované jako koherencí řízená holografická mikroskopie (CCHM). Tato metoda nabízí schopnost filtrace difúzních či balistických fotonů, a tím docílí kvalitní rekonstrukce zkoumaného objektu.

Princip CCHM je založen na interferenci světelných vln s omezenou koherencí. Díky specifickým vlastnostem koherence lze v interferometrickém uspořádání vytvořit tzv. koherenční bránu. Tato brána selektivně propouští pouze balistické fotony, a filtruje tak ty rozptýlené, které prošly delší a náhodnou dráhou v rozptylujícím médiu. Zároveň je možné tento mechanismus uplatnit i naopak, tedy selektivně propouštět jen rozptýlené fotony. Využitím této vlastnosti lze získat kvalitní obraz objektů i v situacích, kdy by konvenční metody selhaly.

Tato bakalářská práce se zaměřuje na možnosti zobrazování objektů vnořených do silně rozptylujícího prostředí pomocí koherencí řízeného holografického mikroskopu. V teoretické části práce budou shrnuty základní principy šíření světla v optických systémech, dále bude pozornost zaměřena na rozptylující média a popis klíčových konceptů nekoherentní holografické mikroskopie, včetně mechanismu koherenční brány. Na závěr pak s využitím znalostí zmíněných výše bude následovat odvození algoritmu pro rekonstrukci obrazu objektu umístěného v rozptylujícím prostředí. Primárně se práce zaměří na rekonstrukci 2D vzorků, s potenciálním rozšířením pro 3D zobrazení. Cílem práce je teoreticky navrhnout metodu, která by umožnila získat kvalitní obraz objektu i přes silný vliv rozptylu okolního média, a tím přispět k rozšíření aplikací holografické mikroskopie v náročných zobrazovacích podmínkách.



## 3. Šíření světla

### 3.1. Helmholtzova rovnice

Při popisu šíření světla optickým systémem vycházíme z faktu, že světlo je elektromagnetická vlna postupující prostorem. Vzájemně se ovlivňující časově proměnné elektrické a magnetické pole tvořící neoddělitelné komponenty této vlny se řídí Maxwellovými rovnicemi.

$$\begin{aligned}\nabla \cdot \vec{D} &= \rho \\ \nabla \cdot \vec{B} &= 0 \\ \nabla \times \vec{E} &= -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \\ \nabla \times \vec{H} &= \vec{j} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t}\end{aligned}\tag{3.1}$$

Za předpokladu lineárního izotropního homogenního nemagnetického prostředí bez zdrojů (tj.  $\rho = 0$  a  $\vec{j} = \vec{0}$ ) podléhají vektory elektrické intenzity  $\vec{E}$  i magnetické indukce  $\vec{B}$  homogenní vlnové rovnici, kterou lze odvodit z Maxwellových rovnic (3.1). Pokud předpokládáme harmonickou časovou závislost

$$\begin{aligned}\vec{E}(\vec{r}, t) &= \vec{E}_0(\vec{r})e^{-i\omega t} \\ \vec{B}(\vec{r}, t) &= \vec{B}_0(\vec{r})e^{-i\omega t},\end{aligned}\tag{3.2}$$

redukuje se vlnová rovnice na časově nezávislou Helmholtzovu rovnici

$$\begin{aligned}(\nabla^2 + k^2)\vec{E}_0(\vec{r}) &= 0 \\ (\nabla^2 + k^2)\vec{B}_0(\vec{r}) &= 0,\end{aligned}\tag{3.3}$$

kde  $k$  je velikost vlnového vektoru  $\vec{k}$  splňující disperzní relaci  $\omega^2 = v^2k^2$ . Veličina  $v$  označuje rychlost světla v daném prostředí. Rychlost světelné vlny je spojena s její frekvencí a vlnovou délkou vztahem

$$v = f\lambda = \frac{\omega}{2\pi}\lambda.$$

Odtud pak velikost vlnového vektoru souvisí s vlnovou délkou světelné vlny v daném prostředí takto

$$k = \frac{2\pi}{\lambda}.\tag{3.4}$$

Jak lze vidět z rovnice (3.3), chování všech složek vektorů  $\vec{E}(\vec{r}, t)$  a  $\vec{B}(\vec{r}, t)$  v prostoru a čase je totožné a lze jej popsat skalární funkcí polohy  $\vec{r}$  a času  $t$ , která vyhovuje stejné vlnové rovnici, resp. Helmholtzově rovnici. V dalších částech této práce bude tedy světelná vlna popisována skalární funkcí ve tvaru  $\psi(\vec{r}, t)$ , resp.  $\psi(\vec{r})$ , přičemž předpokládaná časová závislost vyjádřená v rovnici (3.2) už nebude specificky zmiňována. [5]

### 3.1. HELMHOLTZOVA ROVNICE

#### 3.1.1. Řešení Helmholtzovy rovnice

Skalární vlnu šířící se prostorem lze tedy řešit pomocí Helmholtzovy rovnice s danými okrajovými podmínkami. Nejjednodušším řešením, které vyhovuje této rovnici, je rovinná vlna. Ta je charakteristická konstantní amplitudou  $\psi_0$  po celé rovinné vlnoploše. Rovinné vlny jsou klíčové i pro konstrukci vln se složitějšími tvary vlnoplochy nebo vlnová klubka, proto se jejich podobou a odvozením bude tato kapitola zabývat do větší hloubky.

Tvar rovinné vlny šířící se v obecném směru ve 3D určíme pomocí Helmholtzovy rovnice, přičemž předpokládáme, že vlny šířící se v jednotlivých směrech se neovlivňují a tedy platí

$$\psi(x, y, z) = X(x)Y(y)Z(z). \quad (3.5)$$

Dosazením do Helmholtzovy rovnice a po vydělení součinem  $XYZ$  získáváme

$$\frac{1}{X} \frac{d^2 X}{dx^2} + \frac{1}{Y} \frac{d^2 Y}{dy^2} + \frac{1}{Z} \frac{d^2 Z}{dz^2} + k^2 = 0. \quad (3.6)$$

Osamostatníme nyní výraz závislý na proměnné  $x$ .

$$\frac{1}{Y} \frac{d^2 Y}{dy^2} + \frac{1}{Z} \frac{d^2 Z}{dz^2} + k^2 = -\frac{1}{X} \frac{d^2 X}{dx^2} = k_x^2 \quad (3.7)$$

Protože je na levé straně rovnice výraz závislý na  $y$  a  $z$ , zatímco na pravé výraz závislý na  $x$ , které se musí rovnat pro všechny hodnoty  $x, y, z$ , jediná funkce, která toto může splňovat, je konstanta. Její volba není ničím omezena, označíme ji  $k_x^2$ . Pravou rovnici upravíme

$$\frac{d^2 X}{dx^2} + k_x^2 X = 0, \quad (3.8)$$

odtud lze vidět, že vyhovuje řešení ve tvaru

$$X(x) = a_1 e^{ik_x x} + b_1 e^{-ik_x x}. \quad (3.9)$$

Podobný postup by se uplatnil i po osamostatnění výrazu závislého na proměnné  $y$ , konstanta opět může být libovolně zvolena jako  $k_y^2$  a řešení je tvaru

$$Y(y) = a_2 e^{ik_y y} + b_2 e^{-ik_y y}. \quad (3.10)$$

Pro další postup budeme uvažovat pouze vlny šířící se v kladných směrech  $x, y$ , tedy položíme konstanty  $b_1$  a  $b_2$  v (3.9) a (3.10) rovny nule. Složením těchto řešení získáme výraz

$$\psi(x, y) = X(x)Y(y) = a_1 a_2 e^{i(k_x x + k_y y)}, \quad (3.11)$$

ve kterém lze rozpoznat rovinnou vlnu šířící se v rovině  $(x, y)$ . Šíření v obecném směru získáme z funkce  $Z(z)$ , jejíž podobu získáme řešením rovnice

$$\frac{d^2 Z}{dz^2} + \underbrace{(k^2 - k_y^2 - k_x^2)}_{k_z^2} Z = 0, \quad (3.12)$$

která vznikla úpravou (3.7) po dosazení konstant za výrazy závislé na  $x$  a  $y$ . Jejím řešením je funkce analogického tvaru k funkcím  $X, Y$  pro vlnu šířící se pouze v kladném směru osy  $z$

$$Z(z) = a_3 e^{ik_z z}. \quad (3.13)$$

Kombinací výsledků získáme podobu rovinné vlny šířící se v obecném směru

$$\psi(x, y, z) = a_1 a_2 a_3 e^{i(k_x x + k_y y + k_z z)} = \psi_0 e^{i(k_x x + k_y y + k_z z)}. \quad (3.14)$$

Směr šíření je dán konstantami  $k_x$ ,  $k_y$  a  $k_z$ . Volba konstanty  $k_z$  není libovolná. V dalším budeme uvažovat pouze reálné kladné hodnoty této konstanty, a tedy pouze vlny šířící se v kladném směru osy  $z$ , a ne vlny opačného směru či evanescentní. Konstantu  $k_z$  tedy určuje vztah

$$k_z = \sqrt{k^2 - k_x^2 - k_y^2}, \quad (3.15)$$

který lze číst jako určení velikosti složky  $k_z$  vlnového vektoru z jeho známé velikosti  $k$  a složek  $k_x$  a  $k_y$ . Pokud také položíme polohový vektor  $\vec{r} = (x, y, z)$ , můžeme rovinnou vlnu šířící se z počátku v kladném poloprostoru vyjádřit takto

$$\psi(\vec{r}) = \psi_0 e^{i\vec{k} \cdot \vec{r}}. \quad (3.16)$$

## 3.2. Fourierova transformace

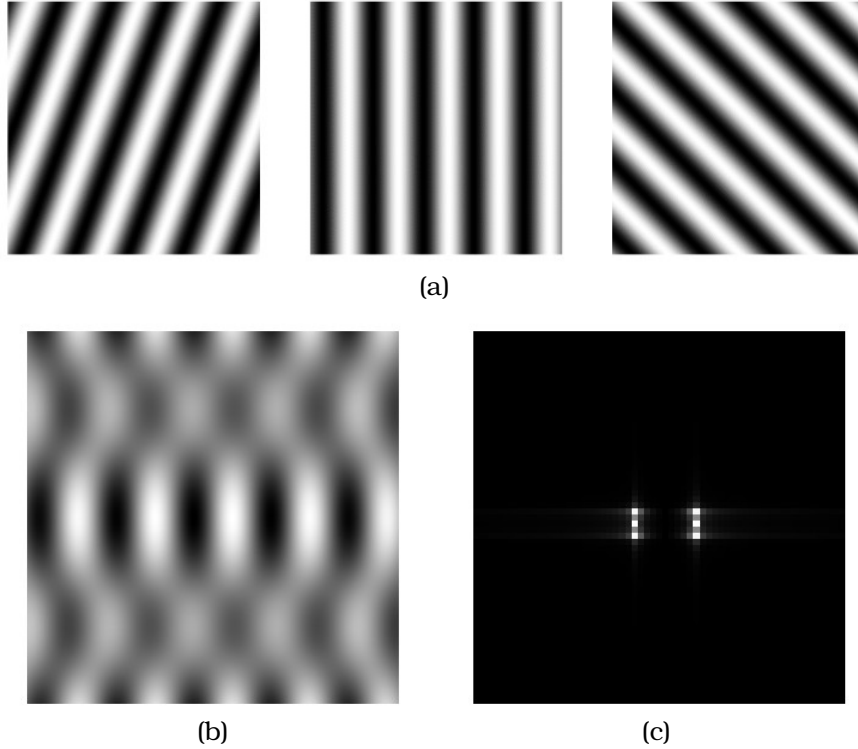
V optickém systému se obecně nesetkáváme pouze s rovinnými vlnami, ale i s vlnami složitějších tvarů. I tyto však lze vyjádřit jako součet rovinných vln s konkrétními amplitudami a složkami vlnového vektoru  $(k_x, k_y)$ . Tuto dvojici charakterizující danou vlnu nazýváme také prostorové frekvence, udávají směr šíření rovinné vlny v rovině  $(x, y)$  neboli projekci vlnového vektoru  $\vec{k}$  do této roviny, viz Obrázek 3.1. Rozklad vlny v konkrétní rovině je důležitý, protože podoba vlny nás zajímá vždy v nějaké rovině optického systému, např. v rovině apertury nebo v ohniskové rovině čočky. Pokud konkrétní vlnu popíšeme v závislosti na proměnných  $x, y$ , jde o vyjádření v přímém prostoru. Pokud naopak použijeme tvar závislý na jednotlivých složkách  $k_x, k_y$ , jde o vyjádření v recipročním prostoru. Důvod tohoto označení je tento. Vlnový vektor má jednotku převrácený metr, a tedy rozměry, které jsou v přímém prostoru velké, jsou v recipročním prostoru transformovány na malé, a naopak.

Nástroj pro toto rozkládání komplexních vln do báze rovinných vln a následné šíření v optické soustavě poskytuje Fourierova transformace (FT). Její princip je analogický s rozkladem funkcí do Fourierovy řady, což lze použít v případě diskrétního spektra prostorových frekvencí, zatímco Fourierova transformace dokáže pracovat se spojitým frekvenčním spektrem. Součtem vln o třech různých frekvencích na Obrázku 3.1 (a) získáme komplexnější obrázek – Obrázek 3.1 (b) – a jednotlivé vlny, ze kterých se skládá, už nelze jednoduše rozeznat. Fourierova transformace tohoto obrázku, viz Obrázek 3.1 (c), však dává prostřednictvím světlých bodů informaci o tom, jaké konkrétní kombinace  $k_x, k_y$  jsou součástí složené funkce. Platí, že jedné rovinné vlně odpovídá dvojice světlých bodů, které jsou vždy souměrné podle středu. Čím dále jsou body od středu, tím menší je vlnová délka a zároveň čím větší úhel, o který je vlna odchýlena od vodorovného směru, tím více jsou od vodorovného směru odchýleny i body ve výsledné FT [7].

Mějme vlnu v rovině apertury, která je obecného tvaru a může být popsána skalární funkcí  $\psi_0(\vec{r}_0)$ , kde  $\vec{r}_0 = (x_0, y_0, 0)$ . Tuto vlnu obdržíme skládáním bazových funkcí pro dané dvojice  $k_x, k_y$ , proto to jsou proměnné, přes něž se integruje. Bazové funkce mají fyzikální význam rovinných vln, vlnu tedy vyjádříme ve tvaru skalárního součinu

$$\psi_0(x_0, y_0, 0) = \frac{1}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} \tilde{\psi}(k_x, k_y, 0) e^{i(k_x x_0 + k_y y_0)} dk_x dk_y. \quad (3.17)$$

### 3.2. FOURIEROVA TRANSFORMACE



Obrázek 3.1: Rovinné vlny charakterizované různými dvojicemi  $k_x, k_y$ , které udávají různé směry šíření v dané rovině, mají však stejné amplitudy. Zobrazena je pouze reálná část vlny  $\Re\{e^{i(k_x x + k_y y)}\}$ , převzato z [7] (a). Součet tří rovinných vln s kombinacemi  $k_x, k_y$  danými výše (b). Fourierova transformace, která podává informaci o konkrétních prostorových frekvencích  $k_x, k_y$  (c).

Výraz  $\tilde{\psi}(k_x, k_y, 0)$  označuje amplitudu jednotlivých rovinných vln v závislosti na konkrétní dvojici  $k_x$  a  $k_y$ . Rovinné vlny tvoří ortogonální bázi, díky tomu i koeficienty stojící u jednotlivých bázevých funkcí udávající jejich váhu – a tedy amplitudu  $\tilde{\psi}(k_x, k_y, 0)$  – je možné vyjádřit pomocí skalárního součinu s komplexně sdruženými bázevými funkcemi

$$\tilde{\psi}(k_x, k_y, 0) = \frac{1}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0, 0) e^{-i(k_x x_0 + k_y y_0)} dx_0 dy_0. \quad (3.18)$$

Výraz (3.18) nazýváme Fourierovou transformací funkce  $\psi_0(x_0, y_0, 0)$ , tedy

$$\mathcal{F}\{\psi_0(x_0, y_0, 0)\} = \tilde{\psi}(k_x, k_y, 0), \quad (3.19)$$

podobně pak opačnou operaci (3.17) inverzní Fourierovou transformací (IFT)

$$\mathcal{F}^{-1}\{\tilde{\psi}(k_x, k_y, 0)\} = \psi_0(x_0, y_0, 0). \quad (3.20)$$

FT je z matematického hlediska integrální transformací, její existence je podmíněna absolutní integrovatelností funkce  $\psi_0(x_0, y_0, 0)$  – tedy hodnota integrálu absolutní hodnoty funkce (Lebesgueova integrálu) je konečná. Fourierovou transformací bývá označována jak samotná operace, tak i funkce  $\tilde{\psi}(k_x, k_y, 0)$ , která je výsledkem působení transformace.

Nyní provedeme důkaz, že výraz (3.17) je skutečně inverzní operací k FT vyjádřené v (3.18) tím, že provedeme IFT obou stran tohoto výrazu

$$\begin{aligned}
& \frac{1}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} \tilde{\psi}(k_x, k_y, 0) e^{i(k_x x'_0 + k_y y'_0)} dk_x dk_y = \\
& = \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0, 0) dx_0 dy_0 \times \underbrace{\frac{1}{(2\pi)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} e^{-i[k_x(x_0-x'_0) + k_y(y_0-y'_0)]} dk_x dk_y}_{\delta(x_0-x'_0) \times \delta(y_0-y'_0)} = \\
& = \psi_0(x'_0, y'_0, 0).
\end{aligned} \tag{3.21}$$

### 3.2.1. Fourierovská propagace

Fourierova transformace poskytuje i prostředek k popisu propagace vln optickou soustavou. Díky této operaci je možné vlnu v libovolné rovině vyjádřit jako superpozici rovinných vln. V sekci 3.1.1 bylo odvozeno, jakým způsobem se šíří jediná rovinná vlna. Díky principu superpozice můžeme šíření každé vlny popsat stejným způsobem. Propagace vlny optickým systémem je zvolena ve směru osy  $z$ . Vlnu v rovině vstupní apertury vyjádříme na základě předchozího ve tvaru

$$\psi_0(x_0, y_0, 0) = \frac{1}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} \tilde{\psi}(k_x, k_y, 0) e^{i(k_x x_0 + k_y y_0)} dk_x dk_y. \tag{3.22}$$

Pokud chceme vyjádřit rovinnou vlnu propagovanou ve směru osy  $z$  o vzdálenost  $\Delta z$ , násobíme ji faktorem  $e^{ik_z \Delta z}$ , v případě superpozice pak násobíme každou vlnu zvlášť s konkrétním  $k_z$  daným vztahem (3.15), kde velikost vlnového vektoru  $k$  je dána vlnovou délkou osvětlení a  $k_x, k_y$  jsou prostorové frekvence příslušné dané rovinné vlně. Za předpokladu, že v prostředí, ve kterém se vlna šíří, nejsou žádné další zdroje vlnění, získáme výslednou vlnu ve vzdálenosti  $\Delta z$  takto

$$\psi(x, y, \Delta z) = \frac{1}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} \tilde{\psi}(k_x, k_y, 0) e^{i(k_x x + k_y y + k_z \Delta z)} dk_x dk_y. \tag{3.23}$$

Tento výraz nedává přímo do souvislosti vlnu ve vstupní rovině s vlnou v rovině výstupní. Lze však využít faktu, že  $\tilde{\psi}(k_x, k_y, 0)$  je vztažena k  $\psi_0(x_0, y_0, 0)$  Fourierovou transformací. Pokud tedy dosadíme za  $\tilde{\psi}(k_x, k_y, 0)$  z (3.18) získáme

$$\psi(x, y, \Delta z) = \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0, 0) \underbrace{\frac{1}{(2\pi)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} e^{ik_z \Delta z} e^{i[k_x(x-x_0) + k_y(y-y_0)]} dk_x dk_y}_{\text{propagátor } P(x-x_0, y-y_0, \Delta z)} dx_0 dy_0. \tag{3.24}$$

Část, která zajišťuje přenos mezi rovinami se nazývá propagátor, zn.  $P(x, y, z)$ , jeho vyjádření je vidět v (3.24). Platí, že v případě lineárního systému lze vlnu za optickým systémem získat konvolucí s propagátorem. O konvoluci bude hlouběji pojednáno později.

Propagátor můžeme odvodit i v závislosti na souřadnicích přímého prostoru, pro což je výhodné použít Weylovu reprezentaci kulové vlny

$$\psi_{k, \text{Weyl}}(k_x, k_y) = \frac{i}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} \frac{e^{ik_z |\Delta z|}}{k_z} e^{i(k_x x + k_y y)} dk_x dk_y. \tag{3.25}$$

### 3.2. FOURIEROVA TRANSFORMACE

Odtud je možné si všimnout, že propagátor je až na konstantu roven parciální derivaci kulové vlny podle  $\Delta z$ . Stejnou derivací provedenou na kulové vlně v přímém prostoru

$$\psi_k(x, y, \Delta z) = \frac{e^{ik\sqrt{x^2+y^2+(\Delta z)^2}}}{\sqrt{x^2+y^2+(\Delta z)^2}} = \frac{e^{ikr}}{r}, \quad (3.26)$$

za předpokladu  $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ , získáme analyticky přesný tvar propagátoru  $P(x, y, \Delta z)$  v přímém prostoru

$$\begin{aligned} -\frac{1}{2\pi} \frac{\partial \psi_k}{\partial \Delta z} &= -\frac{1}{2\pi} \frac{e^{ikr}}{r} \frac{\Delta z}{r} \left( ik - \frac{1}{r} \right) = \\ &= \frac{1}{i\lambda} \frac{e^{ikr}}{r} \frac{\Delta z}{r} \left( 1 + \frac{i}{kr} \right) = P(x, y, \Delta z). \end{aligned} \quad (3.27)$$

#### 3.2.2. Aproximace propagátoru

Z výpočetních důvodů je výhodné popis šíření popsany v sekci 3.2.1 dále zjednodušit. Výchozí bude vztah mezi vlnami v rovině apertury a v rovině detektoru (3.24),  $k_z$  zde vyjádřené rozvineme do Taylorovy řady, přičemž z této řady použijeme první dva nenulové členy

$$k_z = \sqrt{k^2 - k_x^2 - k_y^2} = k \sqrt{1 - \frac{k_x^2 + k_y^2}{k^2}} \approx k - \frac{k_x^2 + k_y^2}{2k}. \quad (3.28)$$

Třetí nenulový a další členy zanedbáme při dodržení podmínek

$$\frac{k_x^4 + 2k_x^2 k_y^2 + k_y^4}{8k^3} \Delta z \ll 2\pi. \quad (3.29)$$

Aproximovaný propagátor potom přejde do tvaru

$$P(x, y, \Delta z) \approx \frac{1}{(2\pi)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} e^{ik\Delta z} e^{-i\frac{k_x^2+k_y^2}{2k}\Delta z} e^{i(k_x x + k_y y)} dk_x dk_y. \quad (3.30)$$

Nyní provedeme inverzní fourierovu transformaci faktoru  $e^{-i\frac{k_x^2+k_y^2}{2k}\Delta z}$ , abychom získali vyjádření aproximace propagátoru v závislosti na souřadnicích přímého prostoru.

$$\mathcal{F}^{-1} \left\{ e^{-i\frac{k_x^2+k_y^2}{2k}\Delta z} \right\} = \frac{1}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} e^{-i\frac{k_x^2+k_y^2}{2k}\Delta z} e^{i(k_x x + k_y y)} dk_x dk_y \quad (3.31)$$

Platí tedy

$$P(x, y, \Delta z) \approx \frac{1}{2\pi} e^{ik\Delta z} \mathcal{F}^{-1} \left\{ e^{-i\frac{k_x^2+k_y^2}{2k}\Delta z} \right\}. \quad (3.32)$$

Pro provedení IFT využijeme známý Gaussův integrál v 1D

$$\int_{\mathbb{R}} e^{-\sigma^2 k_x^2 + \beta_x k_x} dk_x = \sqrt{\frac{\pi}{\sigma^2}} e^{\frac{\beta_x^2}{(2\sigma)^2}}, \quad (3.33)$$

přičemž dosadíme za koeficienty  $\sigma^2 = \frac{i\Delta z}{2k}$  a  $\beta_x = ix$ , resp  $\beta_y = iy$ . Při této substituci obdržíme z IFT funkci

$$\frac{1}{2\pi} e^{ik\Delta z} \mathcal{F}^{-1} \left\{ e^{-i\frac{k_x^2+k_y^2}{2k}\Delta z} \right\} = \frac{2\pi k}{(2\pi)^2 i\Delta z} e^{ik\Delta z} e^{i\frac{k(x^2+y^2)}{2\Delta z}} = \frac{1}{i\lambda\Delta z} e^{ik\Delta z} e^{i\frac{k(x^2+y^2)}{2\Delta z}}, \quad (3.34)$$

která je Fresnelovou aproximací propagátoru  $P(x, y, \Delta z)$ , výše popsany způsob je jedním z vícero možností odvození, aproximace provedená v přímém prostoru je analogická a bude diskutována později.

### 3.3. Konvoluce

Výstupní vlna v lineárním optickém systému je dána konvolucí vstupní vlny s propagátorem. Konvoluce má důležitou souvislost s Fourierovou transformací. Tato souvislost je využívána v simulacích optických systémů, protože poskytuje způsob, jak efektivně získat ze vstupní vlny výstupní. Protože v celé práci je zacházeno převážně s funkcemi dvou proměnných, je konvoluční i Fourierův integrál vyjádřen pro dva rozměry, jednoduše by se však dala tato teorie rozšířit na  $N$  rozměrů.

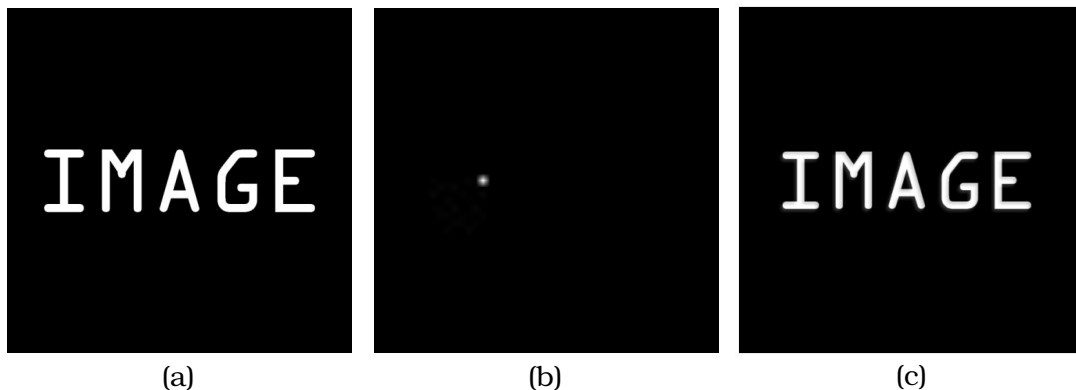
Konvoluce funkce  $f$  s konvolučním jádrem  $g$  má obecně tvar integrálu

$$f(x, y) * g(x, y) = \iint_{\mathbb{R}^2} f(x_0, y_0) g(x - x_0, y - y_0) dx_0 dy_0. \quad (3.35)$$

Konvoluci lze vizualizovat pomocí Diracovy  $\delta$ -distribuce ve tvaru

$$\delta(x - x_0) = \frac{1}{2\pi} \int_{\mathbb{R}} e^{\pm it(x-x_0)} dt. \quad (3.36)$$

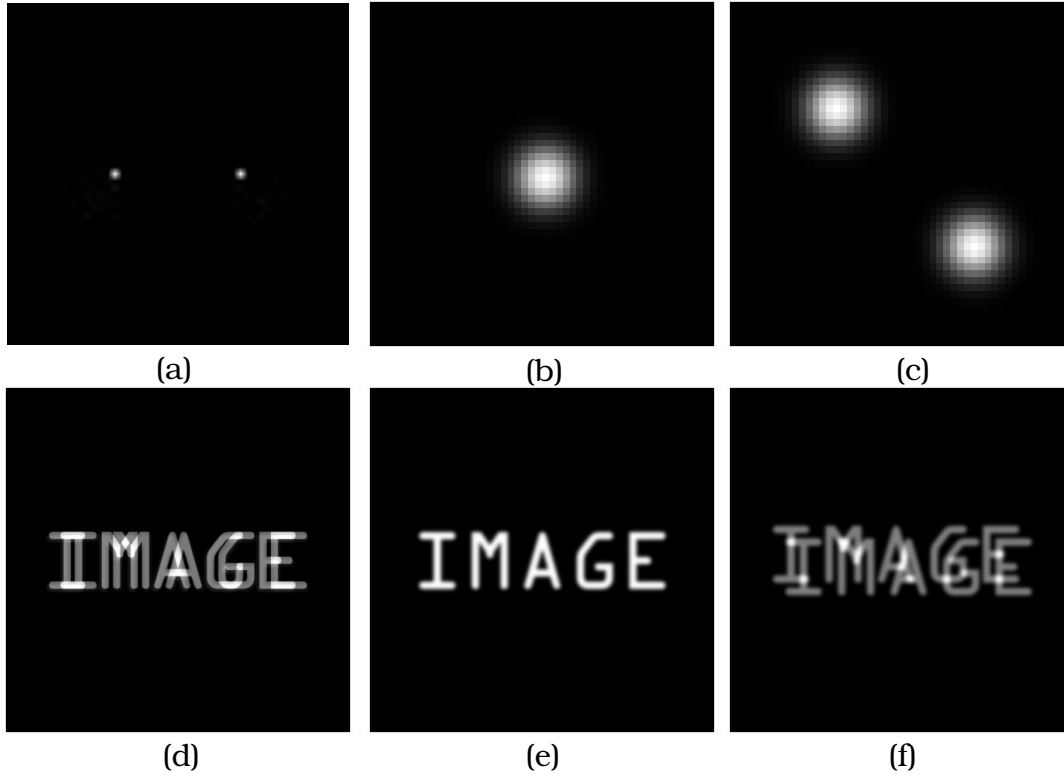
Tato distribuce má tzv. filtrační vlastnost, protože je nenulová právě v jednom bodě určeném konstantou  $x_0$ . Pokud provedeme konvoluci námi zvolené funkce, viz Obrázek 3.2 (a), s Diracovým  $\delta$  reprezentovaným jedním světlým pixelem (Obrázek 3.2 (b)), získáme výsledek, který kopíruje původní obrázek (Obrázek 3.2 (c)), právě díky filtrační vlastnosti  $\delta$  distribuce.



Obrázek 3.2: Obrázek vstupující do konvoluce (a). Konvoluční jádro –  $\delta$ -funkce – reprezentovaná jediným světlým pixelem (b). Funkce, která je výsledkem konvoluce dvou předchozích obrázků, je téměř shodná s původním obrázkem díky tomu, že konvolučním jádrem je právě  $\delta$ -funkce (c).

Pokud je konvolučním jádrem funkce jiného tvaru než Diracovo  $\delta$ , výsledek konvoluce se mění a již neodpovídá původnímu obrázku. Jak je vidno na Obrázku 3.3 (a) a (d), v případě dvou světlých bodů, které odpovídají dvěma  $\delta$ -funkcím posunutým ze středu o různé hodnoty  $x_0, y_0$ , vytvoří při konvoluci obraz původní funkce každá z nich. Tento princip se uplatňuje i při větším počtu světlých bodů, z nichž každý produkuje jeden obraz, výsledná funkce se poté jeví jako rozostřená původní (Obrázek 3.3 (b) a (e), resp. (c) a (f)).

### 3.3. KONVOLUCE



Obrázek 3.3: Konvoluční jádro - dvě  $\delta$ -funkce posunuté ze středu o různé hodnoty  $x_0, y_0$ , reprezentované dvěma světlými pixely (a). Výsledkem konvoluce je dvakrát vytvořený obraz původní funkce (d). Při více světlých bodech v konvolučním jádře (b), (c), produkuje každý jeden obraz. Výsledek konvoluce je tedy rozostřený (e) a může opět být i posunut v prostoru (f).

#### 3.3.1. Konvoluční teorém

Konvoluční teorém říká, že Fourierova transformace konvoluce funkcí je úměrná součinu Fourierových transformací těchto funkcí [12], tedy

$$\mathcal{F}\{f(x, y) * g(x, y)\} = 2\pi \mathcal{F}\{f(x, y)\} \mathcal{F}\{g(x, y)\}. \quad (3.37)$$

Aby bylo možné podat důkaz rovnosti (3.37), rozepišme levou stranu. Změníme pořadí integrace a po využití substituce  $x' = x - x_0$  a  $y' = y - y_0$  získáme integrandy závislé na proměnných  $x_0, y_0$  a  $x', y'$ , které lze separovat. Díky faktu, že frekvenční spektrum funkce nezávisí na translaci (tedy přičtení konstanty k argumentu funkce či její odečtení), získáme součin dvou integrálů, které jsou až na faktor  $2\pi$  rovny Fourierovým transformacím funkcí  $f$  a  $g$ .

$$\begin{aligned} \mathcal{F}\{f(x, y) * g(x, y)\} &= \\ &= \frac{1}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} \left\{ \iint_{\mathbb{R}^2} f(x_0, y_0) g(x - x_0, y - y_0) dx_0 dy_0 \right\} e^{-i(k_x x + k_y y)} dx dy = \\ &= \iint_{\mathbb{R}^2} f(x_0, y_0) e^{-i(k_x x_0 + k_y y_0)} dx_0 dy_0 \times \frac{1}{2\pi} \iint_{\mathbb{R}^2} g(x', y') e^{-i(k_x x' + k_y y')} dx' dy' = \\ &= 2\pi \mathcal{F}\{f(x_0, y_0)\} \mathcal{F}\{g(x', y')\} = 2\pi \mathcal{F}\{f(x, y)\} \mathcal{F}\{g(x, y)\} \end{aligned} \quad (3.38)$$

### 3.3.2. Řetězení propagací

Pomocí FT a za využití konvolučního teorému můžeme podat důkaz o tom, že při propagaci vlny ve volném prostoru ve směru  $z$  o  $z_1$  a poté o  $z_2$  má výsledná vlna stejný tvar, jako v případě propagace o  $z_1 + z_2$ . Zaměříme se teď pouze na tvar propagátorů, protože vlnu v aperturní rovině předpokládáme stejného tvaru. V prvním popsaném případě je vlna propagována dvakrát po sobě a výsledný propagátor aplikovaný na vlnu tedy vznikne konvolucí propagátorů. V následujícím dokážeme, že platí

$$P(z_1) * P(z_2) = P(z_1 + z_2), \quad (3.39)$$

přičemž

$$P(z_1 + z_2) = \frac{1}{i\lambda(z_1 + z_2)} e^{i\frac{k(x^2+y^2)}{2(z_1+z_2)}}, \quad (3.40)$$

$$P(z_1) = \frac{1}{i\lambda z_1} e^{i\frac{k(x^2+y^2)}{2z_1}}, \quad (3.41)$$

$$P(z_2) = \frac{1}{i\lambda z_2} e^{i\frac{k(x^2+y^2)}{2z_2}}. \quad (3.42)$$

Budeme uvažovat Fresnelovu aproximaci propagátoru, pro přehlednost bez prefaktoru  $e^{ik(z_1+z_2)}$ , resp.  $e^{ikz_1}$ , resp.  $e^{ikz_2}$ . Z konvolučního teorému vyplývá, že konvoluce je úměrná IFT součinu Fourierových transformací propagátorů. Pokud použijeme dříve zmíněný přechod na Fresnelův propagátor pomocí IFT (3.34), pro součin 2D Fourierových transformací propagátorů platí

$$2\pi \mathcal{F}\{P(z_1)\} \cdot \mathcal{F}\{P(z_2)\} = \frac{2\pi}{(2\pi)^2} e^{-i\frac{k_x^2+k_y^2}{2k}(z_1+z_2)}. \quad (3.43)$$

Nyní provedeme opět IFT se substitucí v Gaussově integrálu (3.33)

$$\sigma^2 = \frac{i(z_1 + z_2)}{2k}; \quad \beta_x = ix, \quad \beta_y = iy. \quad (3.44)$$

Po provedení konvoluce

$$\begin{aligned} P(z_1) * P(z_2) &= \mathcal{F}^{-1}\left\{2\pi \mathcal{F}\{P(z_1)\} \mathcal{F}\{P(z_2)\}\right\} = \\ &= \frac{1}{2\pi} \frac{2\pi}{(2\pi)^2} \left(\sqrt{\frac{2\pi k}{i(z_1 + z_2)}}\right)^2 e^{k\frac{(ix)^2+(iy)^2}{i2(z_1+z_2)}} = \\ &= \frac{1}{i\lambda(z_1 + z_2)} e^{ik\frac{x^2+y^2}{2(z_1+z_2)}} = P(z_1 + z_2) \end{aligned} \quad (3.45)$$

se ukazuje, že řetězení propagací je ekvivalentní přímé propagaci přes součet vzdáleností. Díky tomu, že v IFT vystupuje součet vzdáleností jen jako parametr, je zřejmé, že stejný postup je uplatnitelný i pro řetězení  $N$  propagací.

Tohoto poznatku budeme využívat při popisu zaostření mikroskopu pomocí objektivu do konkrétní roviny ve vzdálenosti  $z_0$ , přičemž předmět se nachází v jiné vzdálenosti  $z$  od čočky. K rekonstrukci obrazu předmětu, který je vytvořen pomocí objektivu, propagujeme předmět do roviny  $z_0$  a odtud k čočce. Díky řetězení propagací se ukazuje, že tento postup opravdu poskytuje správný obraz předmětu.

$$P(z) = P(z_0 - z_0 + z) = P(z_0) * P(z - z_0) \quad (3.46)$$

### 3.4. Difrakční integrál a Huygensův-Fresnelův princip

Jiný přístup k popisu šíření světla optickým systémem představuje Huygensův-Fresnelův princip a řešení difrakčního integrálu, který je sestaven takto. Světelná vlna  $\psi(\vec{r}_0)$  je na vstupu do optického systému omezena aperturou. Každý bod v rovině apertury je zdrojem kulové vlny, jejíž amplituda závisí na amplitudě vlny  $\psi(\vec{r}_0)$  v daném bodě. Tento princip zjednodušeně popisuje také první Rayleigh-Sommerfeldovo řešení difrakčního integrálu, který vyplývá z Greenovy věty aplikované na Helmholtzovu rovnici, a to pro rovinnou integrační plochu. Odtud se ve výrazu objevuje faktor sklonu  $K(\theta)$ , definován je jako

$$K(\theta) = \begin{cases} \cos \theta & \text{pro } \theta \in \left(\frac{\pi}{2}, \frac{3\pi}{2}\right) \\ 0 & \text{pro } \theta \in \left(-\frac{\pi}{2}, \frac{\pi}{2}\right) \end{cases}, \quad (3.47)$$

funkce  $\cos \theta$  vzniká při derivaci kulové vlny podle vnější normály [5] a nule je to rovno pro dané  $\theta$ , protože je uvažováno pouze dopředné šíření.

Předpokládejme, že  $\vec{r}_0 = (x_0, y_0, 0)$ ,  $\vec{r} = (x, y, \Delta z)$  a tedy

$$|\vec{r} - \vec{r}_0| = \sqrt{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2 + (\Delta z)^2},$$

apertura leží v rovině  $(x_0, y_0)$  a vlnění se šíří ve směru osy  $z$ . Pak lze šíření vlny do roviny  $(x, y)$  pomocí Huygensova-Fresnelova principu vyjádřit takto

$$\psi(x, y, \Delta z) = \frac{1}{i\lambda} \iint_{\mathbb{R}^2} \psi(x_0, y_0, 0) \frac{e^{ik|\vec{r}-\vec{r}_0|}}{|\vec{r}-\vec{r}_0|} \underbrace{\frac{\Delta z}{|\vec{r}-\vec{r}_0|}}_{\cos \theta} dx_0 dy_0. \quad (3.48)$$

Odtud plyne, že výraz

$$P(x - x_0, y - y_0, \Delta z) = \frac{1}{i\lambda} \frac{e^{ik|\vec{r}-\vec{r}_0|}}{|\vec{r}-\vec{r}_0|} \frac{\Delta z}{|\vec{r}-\vec{r}_0|} \quad (3.49)$$

je propagátorem.

Je možné dále jej zjednodušit. Tím oslabíme předpoklad, že vlnoplocha v rovině apertury budí kulové vlny. Kulové vlny pro Fresnelovu aproximaci propagátoru nahradí vlny parabolické. Pro Fresnelovu aproximaci propagátoru použijeme první dva členy Taylorova rozvoje vzdálenosti od zdroje  $|\vec{r} - \vec{r}_0|$

$$\begin{aligned} |\vec{r} - \vec{r}_0| &= \sqrt{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2 + (\Delta z)^2} \approx \Delta z \left( 1 + \frac{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2}{2(\Delta z)^2} \right) = \\ &= \Delta z + \frac{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2}{2\Delta z}, \end{aligned} \quad (3.50)$$

což dostatečně dobře platí za podmínky

$$\frac{k\Delta z}{8} \left( \frac{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2}{(\Delta z)^2} \right)^2 \ll 2\pi. \quad (3.51)$$

Třetí člen Taylorova rozvoje přidává do propagace tak malou fázi, že je možné jej a všechny další členy rozvoje zanedbat, tedy

$$((x - x_0)^2 + (y - y_0)^2)^2 \ll 8\lambda(\Delta z)^3, \quad (3.52)$$

prakticky pak používáme pro použití Fresnelova propagátoru podmínku paraxiálního šíření

$$(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2 \ll \Delta z. \quad (3.53)$$

Odtud tedy, přičemž ve jmenovateli použijeme aproximaci  $r \approx \Delta z$ , získáme tvar Fresnelova propagátoru

$$\begin{aligned} P(x - x_0, y - y_0, \Delta z) &\approx \frac{1}{i\lambda} \frac{e^{ik\left(\Delta z + \frac{(x-x_0)^2 + (y-y_0)^2}{2\Delta z}\right)} \Delta z}{(\Delta z)^2} = \\ &= \frac{e^{ik\Delta z}}{i\lambda\Delta z} e^{ik\frac{(x-x_0)^2 + (y-y_0)^2}{2\Delta z}}, \end{aligned} \quad (3.54)$$

který byl dříve odvozen za pomoci inverzní Fourierovy transformace (3.34). Jak lze vidět, výsledek je shodný. Podoba uvedená v rovnici (3.54) reflektuje tvar, který vystupuje v konvoluci získané při šíření skalární vlny volným prostorem.

Fraunhoferova aproximace znamená další zjednodušení tvaru vln buzených v rovině apertury na vlny rovinné. Upravuje vyjádření vzdálenosti od zdroje na tvar

$$\begin{aligned} r &\approx \Delta z + \frac{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2}{2\Delta z} = \Delta z + \frac{x^2 + y^2 - 2xx_0 - 2yy_0 + \overbrace{x_0^2 + y_0^2}^{\rightarrow 0}}{2\Delta z} \approx \\ &\approx \Delta z + \frac{x^2 + y^2 - 2xx_0 - 2yy_0}{2\Delta z}. \end{aligned} \quad (3.55)$$

Za použití tohoto vyjádření je Fraunhoferova aproximace propagátoru

$$P(x - x_0, y - y_0, \Delta z) \approx \frac{e^{ik\Delta z}}{i\lambda\Delta z} e^{ik\frac{x^2+y^2}{2\Delta z}} e^{-ik\frac{xx_0+yy_0}{\Delta z}}. \quad (3.56)$$

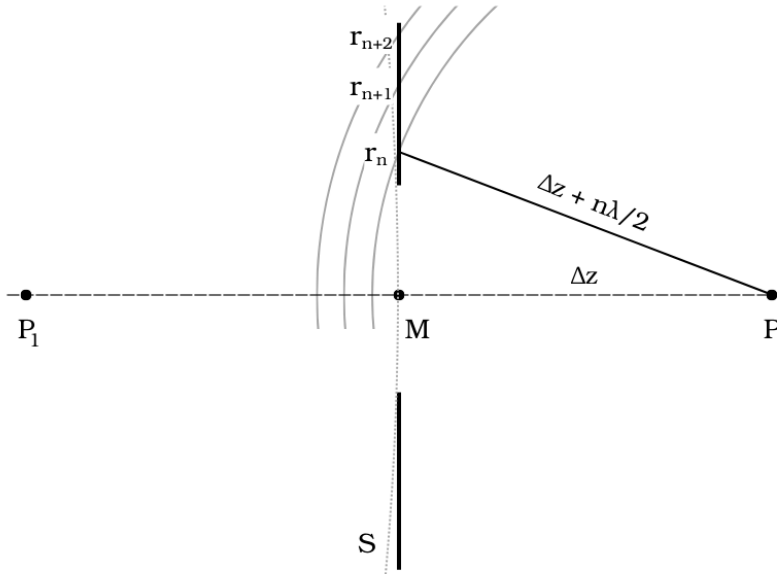
Lze si všimnout, že při přeuspořádání faktorů v (3.56) a dosazení Fraunhoferovy aproximace propagátoru do vlny vyjádřené pomocí Huygensova-Fresnelova principu v (3.48) získáme Fourierovu transformaci vlny v rovině apertury s prostorovými frekvencemi  $f_x$  a  $f_y$ :

$$\begin{aligned} f_x &= \frac{kx}{\Delta z}, \quad f_y = \frac{ky}{\Delta z}. \\ \psi(x, y, \Delta z) &= \frac{e^{ik\Delta z}}{i\lambda\Delta z} e^{ik\frac{x^2+y^2}{2\Delta z}} \iint_{\mathbb{R}^2} \psi(x_0, y_0, 0) e^{-i(f_x x_0 + f_y y_0)} dx_0 dy_0, \end{aligned} \quad (3.57)$$

což odpovídá aproximaci buzených vln na vlny rovinné.

Abychom dokázali odhadnout hranici použití Fresnelovy a Fraunhoferovy aproximace, použijeme konstrukci tzv. Fresnelových zón. Fresnelovy zóny jsou části vlnoplochy  $S$  šířící se z bodu  $P_1$  ležícího na optické ose. Tato vlnoplocha je omezena aperturou v rovině kolmé na optickou osu ve vzdálenosti dané bodem  $M$ . Dále budeme uvažovat, že dopadající

### 3.4. DIFRAKČNÍ INTEGRÁL A HUYGENSŮV-FRESNELŮV PRINCIP



Obrázek 3.4: Schéma představující konstrukci Fresnelových zón.

vlnoplocha, a tedy i jednotlivé zóny, jsou tu rovinné. Každá ze zón má na vlnoploše přesně vymezenou hranici, kterou tvoří kulová plocha se středem v bodě pozorování  $P$ , který je od apertury vzdálen o  $\Delta z$ . Kulová plocha, která odděluje zónu řádu  $n$  a  $n + 1$  má poloměr daný výrazem

$$\Delta z + n \frac{\lambda}{2}. \quad (3.58)$$

Jak je vidět na Obrázku 3.4, poloměr  $n$ -té Fresnelovy zóny je z Pythagorovy věty

$$r_n = \sqrt{\left(\Delta z + n \frac{\lambda}{2}\right)^2 - (\Delta z)^2} = \sqrt{\Delta z n \lambda + \left(n \frac{\lambda}{2}\right)^2}, \quad (3.59)$$

přičemž druhý člen je díky druhé mocnině možné zanedbat. Části vln, které projdou sudou Fresnelovou zónou, mají díky podmínce (3.58) opačnou fázi než ty, které projdou lichou zónou. Pokud tedy aperturou propustíme vlny procházející právě sudým počtem zón, intenzita pozorovaná v bodě  $P$  je minimální, protože dochází k destruktivní interferenci. Počet zón, které projdou konkrétní aperturou s charakteristickým rozměrem  $D$ , se nazývá Fresnelovo číslo  $F$ , a lze jej z rovnice (3.59) vyjádřit ve tvaru

$$F = n = \frac{D^2}{\Delta z \lambda}. \quad (3.60)$$

Pomocí tohoto čísla je právě možné přibližně určit, kdy lze použít Fraunhoferovu aproximaci propagátoru místo Fresnelovy, která je výpočetně náročnější. Při dodržení podmínky

$$\frac{D^2}{\Delta z \lambda} \ll 1 \quad (3.61)$$

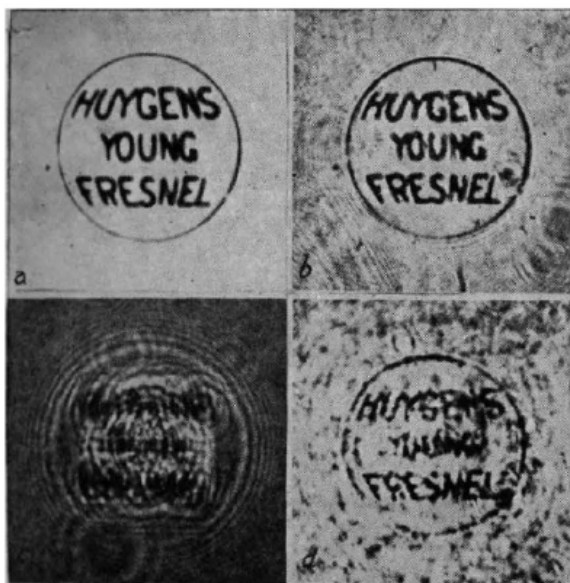
je počet zón propuštěných aperturou mnohem menší než 1 a lze tedy uvažovat Fraunhoferovu aproximaci. Jinak řečeno, můžeme ji uvažovat, pokud je vzdálenost pozorování mnohem větší než rozměr apertury. Fraunhoferova aproximace propagátoru je tedy aplikovatelná při zobrazování v dalekém poli nebo z předmětové do obrazové ohniskové roviny spojné čočky. [1] [13]

## 4. Holografická mikroskopie

### 4.1. Vznik hologramu

V předchozí kapitole bylo diskutováno šíření světla optickým systémem a matematické nástroje, jakými je toto možné popsat. Nyní bude předmětem zájmu holografická mikroskopie, jejímž prostřednictvím je světelná vlna zaznamenána a může být dále analyzována.

Historie holografie se začala psát v roce 1948, kdy se Dennis Gabor zabýval způsobem, jak zvýšit rozlišení elektronového mikroskopu. Přišel se zobrazovací technikou, která umožňuje ve dvou krocích získat úplnou informaci o objektu v optickém systému, tedy nejen amplitudu vlny, která jej osvětluje, ale i její fázi. Tento postup nazval rekonstrukcí vlnoplochy a samotný interferenční obrazec hologramem. [3] [4]



Obrázek 4.1: Obrázek (a), jehož rekonstrukci (d) pomocí zobrazování přes interferenční obrazec (c), provedl Dennis Gabor v roce 1948, převzato z [3].

Holografie jako zobrazovací technika nebyla v padesátých letech z praktických důvodů široce využívána. Její rozvoj a propojení s mikroskopií, které Gabor zamýšlel [4], umožnil především v šedesátých letech vývoj laseru. E. N. Leith a J. Upatnieks z University of Michigan využili vysoce koherentní osvětlení laserového paprsku k pořízení optických hologramů zobrazujících 3D objekty [14]. Za objev a rozvoj holografie získal následně Dennis Gabor v roce 1971 Nobelovu cenu.

Dva kroky Gaborovy metody spočívají v záznamu interferenčního obrazce a následně rekonstrukce původního pole, která umožní zobrazit původní objekt. V první fázi je tedy třeba na nějaké médium zapsat interferenční obrazec. Aby bylo možné obrazec vytvořit, používá se koherentní světlo rozdělené na dvě větve - objektovou a referenční, které se v místě záznamového média opět setkají a díky splnění podmínek koherence interferují (pro částečně koherentní či nekoherentní světlo bude situace diskutována později).

Na stínítku je možné zachytit pouze intenzitu, ne samotné vlny, které se tu setkávají. Předpokládejme vlnu v referenční větvi ve tvaru

$$\psi_R(x, y) = |\psi_R(x, y)|e^{i\phi_R(x, y)}, \quad (4.1)$$

## 4.2. DIGITÁLNÍ HOLOGRAFICKÁ MIKROSKOPIE

z průchodu touto větví si nese fázi  $\phi_R(x, y)$ . Vlna v objektové větvi je analogicky tvaru

$$\psi_O(x, y) = |\psi_O(x, y)|e^{i\phi_O(x, y)} \quad (4.2)$$

s fází  $\phi_O(x, y)$ . Intenzitní obrazec pak lze popsat výrazem

$$\begin{aligned} I(x, y) &= |\psi_R(x, y)|^2 + |\psi_O(x, y)|^2 + \psi_R(x, y)\psi_O^*(x, y) + \psi_R^*(x, y)\psi_O(x, y) = \\ &= |\psi_R|^2 + |\psi_O|^2 + |\psi_R||\psi_O|e^{i(\phi_R-\phi_O)} + |\psi_R||\psi_O|e^{-i(\phi_R-\phi_O)}. \end{aligned} \quad (4.3)$$

Analýzou tohoto výrazu zjistíme, že se do podoby interferenčního obrazce propisuje fázový rozdíl vlny v referenční a objektové větvi. Pokud by se v objektové větvi žádný objekt nevyskytoval, svazky v obou větvích by při průchodu větvemi překonaly stejnou optickou dráhu. V případě vloženého pozorovaného objektu tedy podává fázový rozdíl vln v obou větvích o tomto objektu informaci.

Rekonstrukce objektu je provedena tak, že interferenční obrazec je osvětlen pouze vlnou procházející referenční větví interferometru. Pro popis rekonstrukce uplatňujeme předpoklad, že funkce propustnosti stínítka, která modifikuje rekonstrukční vlnu, je úměrná intenzitnímu profilu popsanému výše (předpokládáme lineární zčernání záznamového média, viz [5]). Platí

$$t(x, y) \propto a I(x, y), \quad (4.4)$$

kde  $a$  je konstanta úměrnosti. Prošlou vlnu je na tomto základě možné popsat výrazem

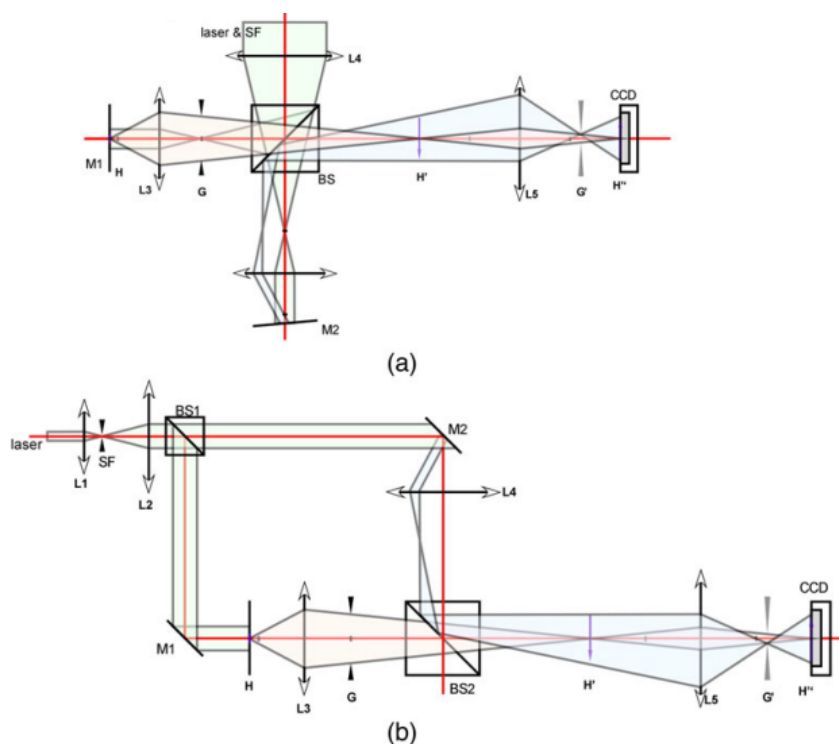
$$\begin{aligned} \psi_R(x, y)t(x, y) &\propto a \underbrace{(|\psi_R(x, y)|^2 + |\psi_O(x, y)|^2)}_{\psi_1} \psi_R(x, y) + \\ &+ \underbrace{a \psi_R^2(x, y)\psi_O^*(x, y)}_{\psi_2} + \underbrace{a |\psi_R(x, y)|^2 \psi_O(x, y)}_{\psi_3}. \end{aligned} \quad (4.5)$$

Jak je naznačeno, prošlá vlna se skládá ze tří dílčích vln, které nesou různé informace. Všechny vlny mají modulovanou amplitudu. Vlna  $\psi_1$  postupuje ve směru referenční vlny a nenese žádnou informaci o objektu. Vlna  $\psi_2$  odpovídá komplexně sdružené objektové vlně a vytváří reálný obraz z imaginárního předmětu. Naproti tomu vlna  $\psi_3$  se šíří ve směru původní objektové vlny a až na pozměněnou amplitudu jí odpovídá, vytváří tedy zdánlivý obraz předmětu na místě, na kterém se původně nacházel. Tato část tedy umožňuje rekonstruovat původní pole. [11]

## 4.2. Digitální holografická mikroskopie

V současné době je v porovnání s původním Gaborovým návrhem mnohem užívanější digitální holografie, jejíž éru odstartovali J. Goodman a R. Lawrence roku 1967, kdy z hologramu elektronicky zachyceného na vidicon kameru pomocí Fourierovy transformace numericky rekonstruovali původní obraz [6]. Zisk digitální podoby hologramu je aktuálně realizován především za pomoci CCD kamer, které umožňují zachycení pole o velikosti až  $10.000 \text{ px} \times 10.000 \text{ px}$  [9]. Následná rekonstrukce obrazu se provádí numericky s využitím rekonstrukčních algoritmů, což má oproti optické holografii mnoho výhod (možnost numerické korekce aberací, defokusu apod.).

Digitální holografie je rozvinutá a široce uplatnitelná disciplína. Pro potřeby této práce je však důležité zmínit především její aplikaci v mikroskopii, tedy digitální holografickou



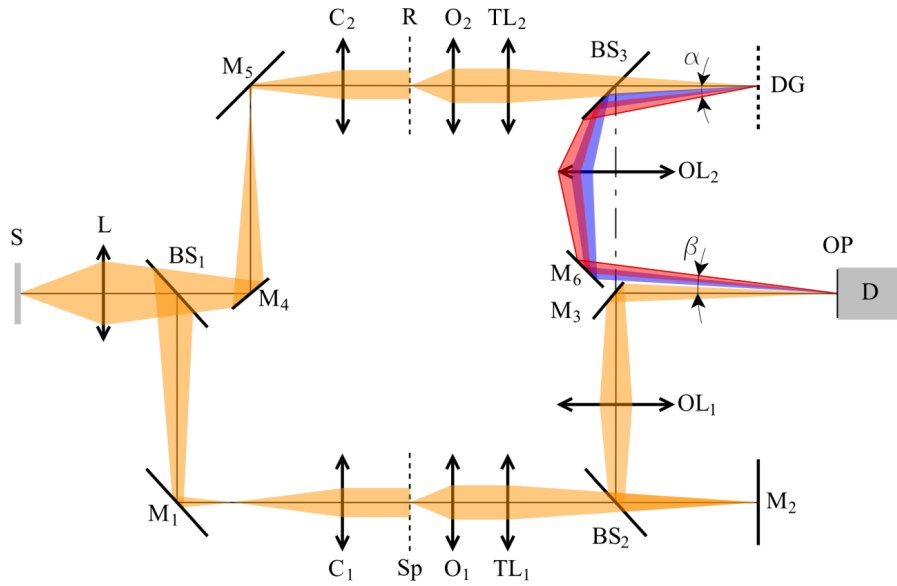
Obrázek 4.2: Schéma Michelsonova interferometru jako součásti digitálního holografického mikroskopu pro odrazné vzorky (a) a Mach-Zehnderova interferometru pro transmisní vzorky (b), převzato z [10].

mikroskopii (DHM). DHM využívá mimoosý přístup (tzv. off-axis), což znamená, že úhel mezi svazkem objektovým a referenčním je nenulový. Základem digitálního holografického mikroskopu je kromě zdroje osvětlení a kamery také interferometr, který vytváří interferenční pole. Často používaný je Michelsonův interferometr v případě odrazných vzorků nebo Mach-Zehnderův interferometr v případě transmisních vzorků. V referenční větvi interferometru světelný svazek prochází nerušeně, zatímco v objektové větvi vzorek změni optickou dráhu svazku. Tato změna se promítne do fázového rozdílu svazků a informace o něm je zapsána v hologramu, z fázového rozdílu je pak možné vyčíst index lomu vzorku nebo jeho tloušťku. Digitální holografické mikroskopy v sobě kombinují rekonstrukci obrazu s použitím jediného hologramu díky off-axis konstrukci, vysokou výpočetní rychlost a tedy schopnost zobrazovat optické systémy v reálném čase, a možnost rekonstruovat informace ze zachyceného fázového rozdílu – kvantitativní fázové zobrazování. Tyto faktory otevírají příležitosti zejména k pozorování živých buněk bez nutnosti použití markerů, což je v klasické mikroskopii nedosažitelné kvůli jejich průhlednosti. [10]

#### 4.2.1. Koherencí řízený holografický mikroskop

Off-axis DHM má mnoho výhod v porovnání s optickou holografií, které byly diskutovány v předchozí sekci, kvůli nenulovému úhlu mezi svazky z referenční a objektové větve však je potřeba použití vysoce koherentního osvětlení – laseru, což s sebou nese ale i jisté nevýhody, jako je zrnitost obrazu, která vzniká kvůli náhodné interferenci. Eliminaci tohoto vlivu přináší koherencí řízený holografický mikroskop (CCHM), který je konstruován pro transmisní vzorky, tedy na základě Mach-Zehnderova interferometru a umožňuje použití i

## 4.2. DIGITÁLNÍ HOLOGRAFICKÁ MIKROSKOPIE



Obrázek 4.3: Schéma koherencí řízeného holografického mikroskopu, převzato z [17].

velmi nízce koherentního osvětlení, časově i prostorově. Koherenční délka  $l_c$  a koherenční šířka  $w_c$ , které míru koherence charakterizují, mají přibližné teoretické hodnoty

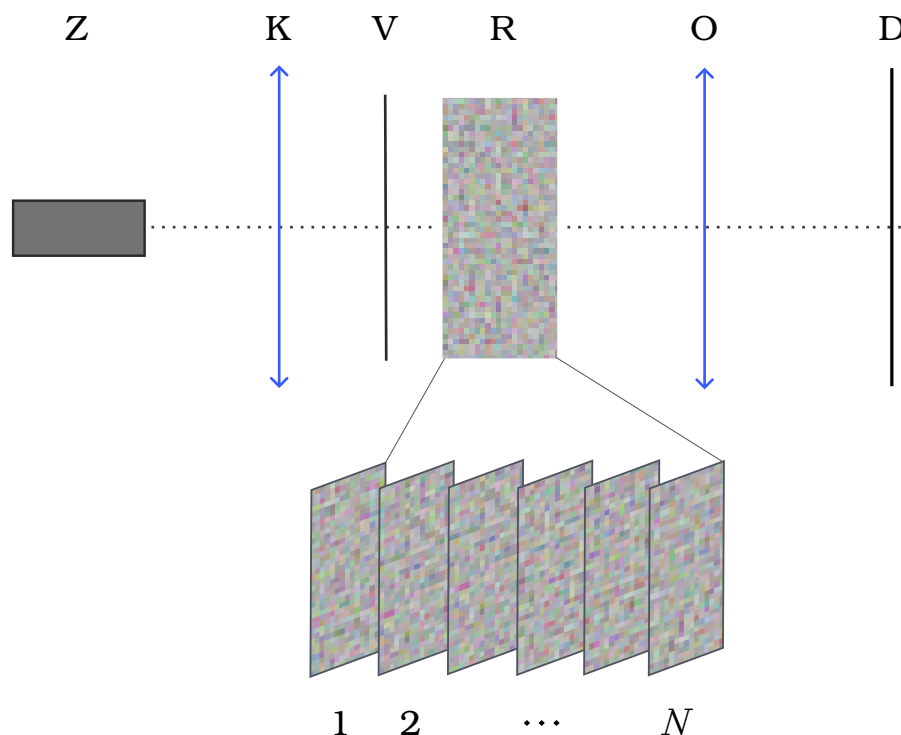
$$\begin{aligned} l_c &= 2,2 \mu\text{m} \\ w_c &= 63 \mu\text{m}, \end{aligned} \quad (4.6)$$

přičemž reálně naměřené hodnoty, za kterých CCHM operuje, jsou ještě vyšší. Patřičné osvětlení obou větví mikroskopu zajišťují kondenzory  $C_1$  a  $C_2$ . Díky schopnosti zobrazovat nízce koherentním zdrojem dovoluje CCHM využití mechanismu koherenční brány, který bude podrobněji rozebrán později.

Komponentou, která připouští použití nekoherentního zdroje, je difrakční mřížka (DG na Obrázku 4.3), zejména pak její vlastnost, že je opticky sdružena s rovinou detektoru (OP), stejně jako předmětové roviny Sp a R objektivů  $O_1$  a  $O_2$ . Díky jejímu použití je prostorově oddělen první difrakční řád, který dále prochází čočkou  $OL_2$ , narozdíl od ostatních difrakčních řádů, které jsou odfiltrovány. Světlo různých vlnových délek dopadá na detektor pod různými úhly  $\beta$ , který souvisí s difrakčním úhlem  $\alpha$  dané vlnové délky. V tomto uspořádání tvoří všechny vlnové délky při interferenci se svazkem z objektového ramena interferenční proužky se stejnou prostorovou frekvencí, mikroskop je achromatický. [17]

## 5. Rozptylující prostředí

Popis šíření rozptylujícím prostředím realizujeme pomocí principů popsaných v kapitole 3, přičemž 3D rozptylující vzorek popsaný indexem lomu  $n(x, y, z)$  budeme uvažovat jako soustavu  $N$  rozptylujících 2D vrstev (viz Obrázek 5.1), z nichž každá je popsána vlastní funkcí propustnosti  $t_n(x_n, y_n)$ ,  $n \in \{1, 2, \dots, N\}$ . Předpokládáme silně rozptylující vrstvy, fáze vlny po mnohanásobném rozptylu je náhodná, tedy i fázový rozdíl po průchodu je náhodný a náleží intervalu  $\langle 0, 2\pi \rangle$ . Tento model bude použit pro rekonstrukci vzorku, který je umístěn pod rozptylující médium.



Obrázek 5.1: Zjednodušené schéma objektové větve mikroskopu se vzorkem umístěným pod rozptylujícím médiem. Světlo se šíří ze zdroje Z, prochází přes kondenzor K, osvětluje vzorek V a dále je rozptýleno rozptylujícím médiem R, které je aproximováno  $N$  rozptylujícími vrstvami s funkcemi propustnosti  $t_n(x_n, y_n)$ . Prošlý svazek je dále přes objektiv O přenesen na detektor D.

### 5.1. Šíření přes jednu rozptylující vrstvu

Pro názornost bude tato sekce věnována analytické charakteristice šíření vlny přes jednu rozptylující vrstvu, aby na tomto základě mohl být vysvětlen navržený postup rekonstrukce v případě mnoha vrstev, kdy analytický popis není ilustrativní. Uvažujeme světelnou vlnu  $\psi_0$  šířící se v ose  $z$ , která projde silně rozptylující vrstvou ve vzdálenosti  $z_1$ , která je popsána funkcí  $t(x_1, y_1)$ . V rovině rozptylující vrstvy bude vlna vypadat takto

$$\psi_1(x_1, y_1, z_1) = (\psi_0 * P(z_1))(x_1, y_1) \cdot t(x_1, y_1), \quad (5.1)$$

## 5.1. ŠÍŘENÍ PŘES JEDNU ROZPTYLUJÍCÍ VRSTVU

tedy konkrétně za použití Fresnelovy aproximace propagátoru

$$\psi_1(x_1, y_1, z_1) = \frac{e^{ikz_1}}{i\lambda z_1} \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0) e^{ik \frac{(x_1-x_0)^2+(y_1-y_0)^2}{2z_1}} dx_0 dy_0 \cdot t(x_1, y_1). \quad (5.2)$$

Návrh experimentu je následující. Holografický mikroskop zaostříme do roviny rozptylné vstvy (vstava 1 na Obrázku 5.1), z čehož je možné pomocí měření obdržet pole komplexních hodnot, které nese informaci o amplitudě i fázi zaznamenané vlny. Získané pole odpovídá výrazu (5.2). V dalším kroku zaostříme mikroskop do objektové roviny (rovina V na Obrázku 5.1). Je však třeba brát v úvahu, že v dráze paprsku je umístěna rozptylná vrstva, která vlnu modifikuje. Aby bylo možné získat pole v objektové rovině, aplikujeme zde úvahy ze sekce 3.3.2. Vlnu nejprve propagujeme do roviny rozptylné vrstvy, vynásobíme funkcí propustnosti a následně propagujeme zpět do objektové roviny, na kterou je zaostřený mikroskop, protože platí

$$P(z_1) * P(-z_1) = P(z_1 - z_1). \quad (5.3)$$

Pokud tento postup rozepíšeme, získáme vlnu v podobě

$$\begin{aligned} \psi_2(x, y, z_1 - z_1) &= \iint_{\mathbb{R}^2} \left( \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0) \frac{e^{ikz_1}}{i\lambda z_1} e^{ik \frac{(x_1-x_0)^2+(y_1-y_0)^2}{2z_1}} dx_0 dy_0 \right) \cdot \\ &\cdot t(x_1, y_1) \frac{e^{-ikz_1}}{-i\lambda z_1} e^{-ik \frac{(x-x_1)^2+(y-y_1)^2}{2z_1}} dx_1 dy_1 = \\ &= \frac{-1}{(i\lambda z_1)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} \left( \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0) e^{\frac{ik}{2z_1} (x_1^2 - 2x_1x_0 + x_0^2 + y_1^2 - 2y_1y_0 + y_0^2)} dx_0 dy_0 \right) \cdot \\ &\cdot t(x_1, y_1) e^{\frac{-ik}{2z_1} (x^2 - 2xx_1 + x_1^2 + y^2 - 2yy_1 + y_1^2)} dx_1 dy_1 = \\ &= \frac{e^{-ik \frac{x^2+y^2}{2z_1}}}{(\lambda z_1)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0) e^{ik \frac{x_0^2+y_0^2}{2z_1}} dx_0 dy_0 \times \\ &\times \iint_{\mathbb{R}^2} t(x_1, y_1) e^{ik \frac{x_1(x-x_0)+y_1(y-y_0)}{2z_1}} dx_1 dy_1, \end{aligned} \quad (5.4)$$

která odpovídá komplexnímu poli naměřenému v této rovině. Aby bylo zřejmé, jakým způsobem bude prováděna rekonstrukce vzorku, dále tyto vztahy upravíme. Provedeme substituci proměnných

$$\begin{aligned} \frac{kx_1}{z_1} &= K_x, \quad \frac{ky_1}{z_1} = K_y \\ dx_1 &= \frac{\lambda z_1}{2\pi} dK_x, \quad dy_1 = \frac{\lambda z_1}{2\pi} dK_y, \end{aligned} \quad (5.5)$$

a tím získáme výsledek v názornějším tvaru

$$\begin{aligned} \psi_2(x, y, z_1 - z_1) &= \frac{e^{-ik \frac{x^2+y^2}{2z_1}}}{(2\pi)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0) e^{ik \frac{x_0^2+y_0^2}{2z_1}} dx_0 dy_0 \times \\ &\times \iint_{\mathbb{R}^2} t\left(\frac{z_1 K_x}{k}, \frac{z_1 K_y}{k}\right) e^{i[K_x(x-x_0)+K_y(y-y_0)]} dK_x dK_y. \end{aligned} \quad (5.6)$$

Přeznačíme stěžejní části výrazu a získáme

$$\underbrace{\psi_2(x, y, z_1 - z_1) e^{ik \frac{x_0^2 + y_0^2}{2z_1}}}_{\psi'_2(x, y, z_1 - z_1)} = \iint_{\mathbb{R}^2} \underbrace{\psi_0(x_0, y_0) e^{ik \frac{x_0^2 + y_0^2}{2z_1}}}_{\psi'_0(x_0, y_0)} dx_0 dy_0 \times \quad (5.7)$$

$$\times \underbrace{\frac{1}{(2\pi)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} t\left(\frac{z_1 K_x}{k}, \frac{z_1 K_y}{k}\right) e^{i[K_x(x-x_0) + K_y(y-y_0)]} dK_x dK_y}_{T(x-x_0, y-y_0)},$$

tedy konvoluci funkcí  $\psi'_0$  a  $T$ . Tento vztah nám nabízí možnost získat původní pole  $\psi_0(x_0, y_0)$  pomocí dekonvoluce s využitím konvolučního teoremu. Konvoluci můžeme rozepsat pomocí součinu Fourierových transformací

$$\mathcal{F}\{(\psi'_0 * T)\} = 2\pi \mathcal{F}\{\psi'_0\} \mathcal{F}\{T\}, \quad (5.8)$$

tento výraz je jiným vyjádřením vlny v objektové rovině. Pokud odtud chceme získat původní vlnu, osamostatníme výraz  $\psi'_0$ , který tuto vlnu zahrnuje

$$\psi'_0(x_0, y_0) = \mathcal{F}^{-1}\left\{\frac{\psi'_2}{2\pi \mathcal{F}\{T\}}\right\}(x_0, y_0), \quad (5.9)$$

odtud můžeme vlnu v rovině vzorku vyjádřit následovně

$$\psi_0(x_0, y_0) = \mathcal{F}^{-1}\left\{\frac{\psi'_2}{2\pi \mathcal{F}\{T\}}\right\}(x_0, y_0) \cdot e^{-ik \frac{x_0^2 + y_0^2}{2z_1}}. \quad (5.10)$$

Mezi funkcemi  $T(x, y)$  a  $t\left(\frac{z_1 K_x}{k}, \frac{z_1 K_y}{k}\right)$  existuje vztah, který lze využít při návrhu simulace, která bude podrobně popsána v následující kapitole. Platí, že funkce  $t\left(\frac{z_1 K_x}{k}, \frac{z_1 K_y}{k}\right)$  je úměrná Fourierově transformaci funkce  $T(x, y)$ , což lze dokázat následujícím způsobem

$$\begin{aligned} 2\pi \mathcal{F}\{T\}(K_x, K_y) &= \iint_{\mathbb{R}^2} \left( \frac{1}{(2\pi)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} t\left(\frac{z_1 K'_x}{k}, \frac{z_1 K'_y}{k}\right) e^{i(K'_x x + K'_y y)} dK'_x dK'_y \right) \times \quad (5.11) \\ &\times e^{i(K_x x + K_y y)} dx dy = \\ &= \iint_{\mathbb{R}^2} t\left(\frac{z_1 K'_x}{k}, \frac{z_1 K'_y}{k}\right) dK'_x dK'_y \times \\ &\times \frac{1}{(2\pi)^2} \iint_{\mathbb{R}^2} \underbrace{e^{i(K_x x + K_y y)} e^{i[(K'_x - K_x)x + (K'_y - K_y)y]}}_{\delta(K'_x - K_x) \times \delta(K'_y - K_y)} dx dy = \\ &= t\left(\frac{z_1 K_x}{k}, \frac{z_1 K_y}{k}\right). \end{aligned}$$

Tato informace je důležitá, protože Fourierova transformace funkce  $T(x, y)$  vystupuje ve výrazu (5.10), který vystihuje způsob, jakým rekonstruovat vzorek. Jak plyne z odvození výše, toto pole tedy není potřeba počítat, ale nahradit přeskálovanou funkcí propustnosti.

### 5.1.1. Simulace

Situaci popsanou v předchozí sekci můžeme simulovat numericky a demonstrovat tak, že dekonvolucí obdržíme podobu vzorku ukrytého pod rozptylující vrstvou. Simulace je

## 5.1. ŠÍŘENÍ PŘES JEDNU ROZPTYLUJÍCÍ VRSTVU

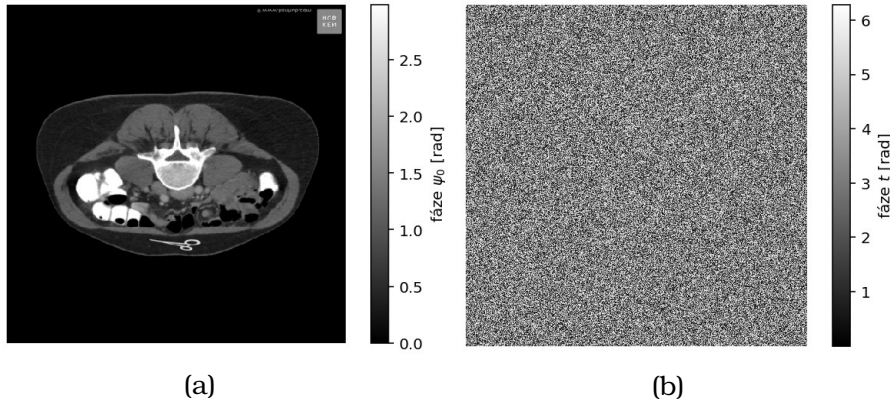
navržena v jazyce Python s použitím knihovny NumPy a výsledek vykreslen s využitím Matplotlib Pyplot. Do simulace vstupují dvě informace, které definujeme – podoba vzorku a funkce propustnosti rozptylující vrstvy. Vzorek vstupující do simulace je definován jako 2D pole, které je čistě fázové. Představují jej hodnoty

$$\psi_0(x_0, y_0) = e^{if\pi\phi(x_0, y_0)}, \quad (5.12)$$

kde  $f$  je parametr udávající fázovou modulaci, který má smysl v rozsahu  $\langle 0, 2 \rangle$ , a  $\phi(x_0, y_0)$  je pole normované v rozsahu hodnot  $\langle 0, 1 \rangle$ , které představuje vzorek, který si zvolíme, viz např. Obrázek 5.2. Funkci propustnosti rozptylné vrstvy  $t(x_1, y_1)$  definujeme podobně jako fázové pole

$$t(x_1, y_1) = e^{iR(x_1, y_1)}, \quad (5.13)$$

kde  $R(x_1, y_1)$  je pole náhodných čísel v rozmezí  $\langle 0, 2\pi \rangle$ , což odpovídá představě silně rozptylujícího prostředí (viz Obrázek 5.2).



Obrázek 5.2: Fázové pole definující vzorek, použitý škálovací faktor je zde  $f = 0,95$  (a). Fázová funkce propustnosti (b). Zobrazeno pomocí knihovny Matplotlib Pyplot.

Vlnu v rovině vzorku definovanou  $\psi_0(x_0, y_0)$  propagujeme o vzdálenost  $z_1$ , a vynásobíme funkcí propustnosti  $t(x_1, y_1)$  a následně propagujeme zpět. Propagaci realizujeme pomocí Fresnelova propagátoru. Vzdálenost  $z_1$  může být obecně zvolena libovolně. Díky odvození v sekci 5.1 při rekonstrukci využijeme zaměnitelnosti funkce propustnosti  $t(\frac{z_1 K_x}{k}, \frac{z_1 K_y}{k})$  s Fourierovou transformací funkce  $T(x, y)$  takto

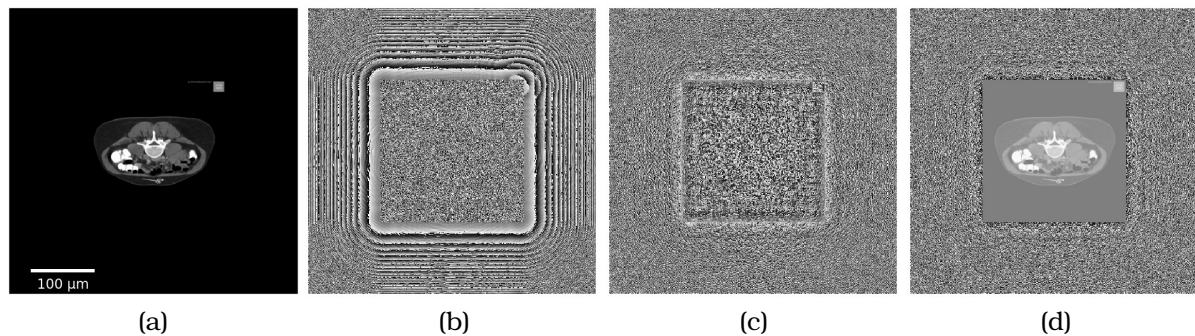
$$\psi_0(x_0, y_0) = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{\psi'_2}{t} \right\} (x_0, y_0) \cdot e^{-ik \frac{x_0^2 + y_0^2}{2z_1}}, \quad (5.14)$$

Aby však byla zajištěna co nejmenší výpočetní náročnost simulace, je vhodné zajistit, aby FT funkce  $T(x, y)$  byla plně zaměnitelná s funkcí propustnosti  $t(x_1, y_1)$  bez nutnosti škálování, což znamená dodržení podmínky

$$\frac{z_1 K_x}{k} = x, \quad \frac{z_1 K_y}{k} = y. \quad (5.15)$$

Dále si zvolíme, že při simulaci jsou pole čtvercová, tedy šířka a výška simulačního pole jsou si rovny –  $L_x = L_y = L$ . Podmínku (5.15) tedy rozvedeme pouze pro rozměr ve směru osy  $x$  a pro rozměr  $y$  je situace analogická. Platí

$$\begin{aligned} x &= n\Delta x, \\ K_x &= \frac{2\pi}{L}n, \end{aligned} \quad (5.16)$$



Obrázek 5.3: Fázové pole definující vzorek, přeškálovaný na polovinu pole, zvolena hodnota  $z_1 = 1$  mm, dále  $N = 500$ ,  $\lambda = 500$  nm a odtud celkový rozměr pole  $L = 0,5$  mm (a). Fázové pole představující měření v rovině rozptylné vrstvy (b). Fázové pole představující měření v rovině vzorku (c). Výsledek získaný z pole změřeného v rovině vzorku za užití dekonvoluce (d). Vykresleno pomocí Matplotlib Pyplot.

tedy

$$n\Delta x = \frac{z_1}{k} \frac{2\pi}{L} n, \quad (5.17)$$

$$1 = \frac{z_1 \lambda}{L \Delta x}.$$

kde  $L$  je fyzický rozměr simulačního pole,  $\lambda$  je vlnová délka světla, které se šíří optickým systémem,  $n$  je index pixelu, který určuje konkrétní polohu  $x$  a  $\Delta x$  je fyzický rozměr jednoho pixelu. Pokud si označíme počet pixelů v rámci rozměru  $L$  jako  $N$ , platí, že  $\Delta x = \frac{L}{N}$ . Pokud si tedy vzdálenost propagace zvolíme libovolně, jak bylo výše řečeno, a počet pixelů  $N$  i vlnová délka  $\lambda$  jsou také určeny (konkrétním mikroskopem a rozlišením jeho detektoru), pak fyzický rozměr pole  $L$  musí být určen takto

$$L = \sqrt{N\lambda z_1}. \quad (5.18)$$

Podmínka (5.18) tedy zaručuje, že funkce propustnosti  $t(x_1, y_1)$  je zaměnitelná s Fourierovou transformací funkce  $T(x, y)$  a není třeba ji dopočítávat, abychom mohli využít vztahu (5.10), stačí využít námi definované pole  $t(x_1, y_1)$ , přičemž kvůli způsobu, jakým je prováděna Fourierova transformace v jazyce Python, je potřeba toto pole upravit pomocí funkce `fftshift`.

Aby byla propagace provedena správně, byl vzorek naškálován do středu simulačního pole tak, aby jeho rozměr nezabíral celou simulační oblast, konkrétně  $L_{\text{vzorek}} = \frac{L}{2}$ . Pole, která by odpovídala měřením v rovině rozptylné vrstvy a v rovině vzorku podle sekce 5.1, jsou vidět na Obrázku 5.3 (b), (c), také je zde vidět výsledek dekonvoluce provedené podle vztahu (5.14).

## 5.2. Alternativní přístupy

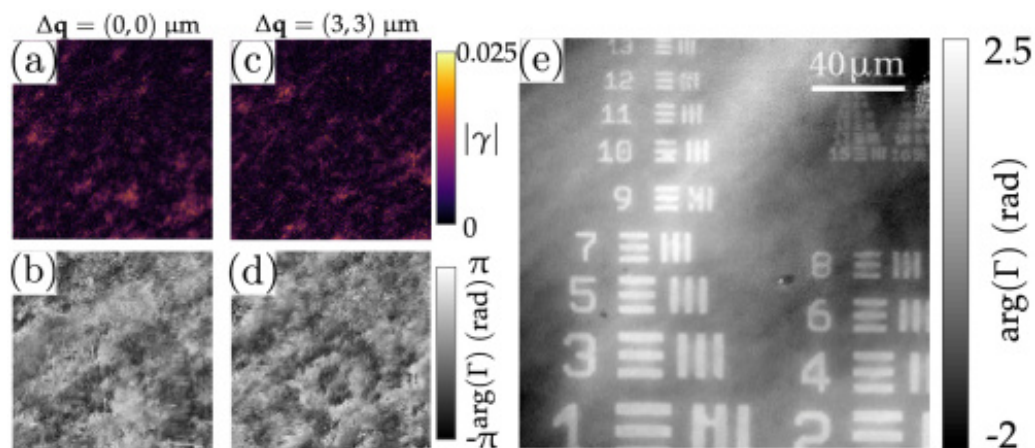
Existuje mnoho možností, kterými lze docílit kvalitního zobrazování skrze rozptylující prostředí. V této sekci budou ve větší podrobnosti zmíněny dva z nich, a to měření difúzního světla pomocí koherencí řízeného holografického mikroskopu a měření transmisních matic optických systémů, ale k problému lze přistoupit i jinak – např. s využitím konfokální či dvoufotonové [8] mikroskopie.

## 5.2.1. Měření difúzního světla pomocí CCHM

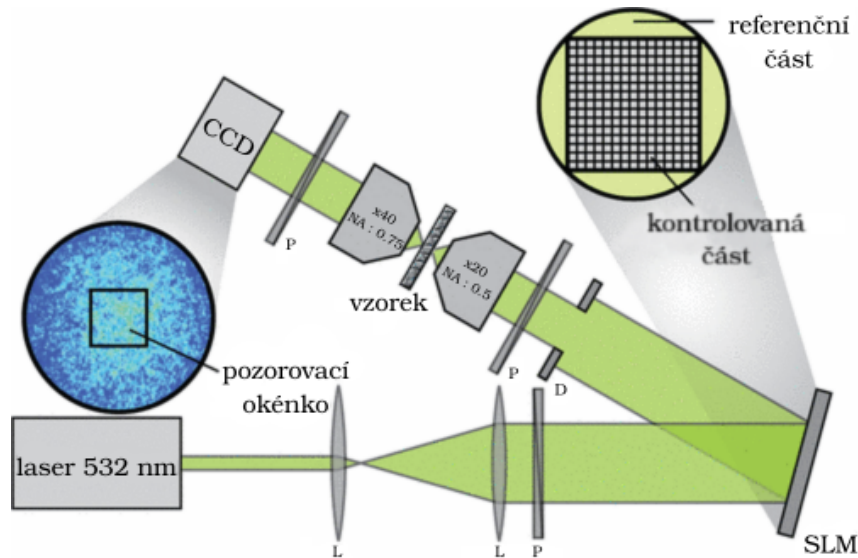
Sekce 4.2.1 byla věnována výhodným vlastnostem CCHM pro fázové zobrazování, nyní bude podrobněji pojednáno o mechanismu koherenční brány, který je klíčový pro zobrazování v silně rozptylném médiu. Při průchodu světla takovým médiem dochází k rozptylu části záření do jiných směrů, než je primární směr šíření. Koherenční brána umožňuje filtraci balistického světla od difúzního tak, že k zobrazování přispívá jedno nebo druhé pouze omezeně. Balistické světlo při průchodu rozptylujícím prostředím nemění svůj směr, zatímco difúzní světlo se rozptyluje do různých směrů. V klasickém nastavení mikroskopu s nízkou koherentním zdrojem osvětlení difúzní světlo s referenčním svazkem díky filtrační schopnosti difrakční mřížky neinterferuje, a je tedy možné získat podobu vzorku umístěného pod rozptylující vrstvou, pokud je umístěn mimo rovinu, kam je mikroskop zaostřen [17]. V tomto případě tedy difúzní světlo ke tvorbě obrazu nepřispívá, ale balistický obraz rozptylem značně ztrácí na intenzitě.

CCHM ovšem staví zobrazování prostřednictvím difúzního světla na stejnou úroveň jako zobrazování balistickým světlem. Aby toto tvrzení obstálo, je nutné docílit toho, že difúzní světlo v rovině detektoru interferuje s referenčním svazkem. Bylo ukázáno, že pokud je referenční svazek laterálně posunut, v rovině detektoru neinterferuje s balistickým světlem, ale se světlem, které bylo rozptýleno do tohoto místa detektoru. Rekonstrukcí vzniklého hologramu je možné získat obraz podobný balistickému, experimentálně však vychází, že jeho rozlišení závisí na daném laterálním posuvu referenční větve. [15]

Pro silně rozptylující prostředí, které zakrývá vzorek, však obsahuje pole změřené pomocí difúzního i balistického světla informaci o vzorku porovnatelné kvality, a tedy ani jeden z přístupů není nadřazený. Pro takové prostředí je také možné, že jediným měřením, ať už s balistickými nebo difúzními fotony, není možné dosáhnout vyhovující rekonstrukce vzorku, protože nenese dostatečnou informaci. Dalším přístupem, který je navržen v [2], je provést měření pro mnoho různých posuvů referenčního svazku a jejich kombinací získat kvalitnější rekonstruovaný obraz. Pomocí navrženého Chmelíkova-Ďurišova algoritmu, který skládá výsledný obraz, vznikne velmi kvalitní fázový obrázek vzorku i pod leptaným sklíčkem či 1-2 mm silnou vrstvou kuřecího masa (viz Obrázek 5.4).



Obrázek 5.4: Vzorek umístěný pod vrstvou kuřecího masa. Amplituda (a) a fáze (b) rekonstruovaná pomocí změřeného interferenčního obrazce s balistickým světlem. Amplituda (c) a fáze (d) rekonstruovaná pomocí změřeného interferenčního obrazce s difúzním světlem. Složený kvantitativně fázový obrázek vzniklý kombinací měření difúzního světla (e), převzato z [2].



Obrázek 5.5: Schéma měření transmisní matice, převzato z [16] a upraveno.

### 5.2.2. Měření transmisních matic

Místo charakteristiky každé části optického systému a jeho vlivu na procházející světelný svazek zvláště, je možné celý tento systém popsat funkcí. Protože není možné detekovat spojitý signál, ale dochází k jeho diskretizaci, můžeme si tento signál představit jako vektor. Funkci, která charakterizuje daný systém, pak nahradíme transmisní maticí (TM). Signál představující světelnou vlnu na výstupu lineárního optického systému je poté závislý na vstupním signálu takto

$$\psi_m^{\text{out}} = \sum_n t_{mn} \psi_n^{\text{in}}, \quad (5.19)$$

kde  $t_{mn}$  je koeficient transmisní matice, která má rozměr  $N \times M$ . V článku [18] autoři demonstují možnost zaostřit i mnohonásobně rozptýlené světlo do jednoho či více bodů, a navíc zvýšit získanou intenzitu až  $1000\times$ . Tento postup se zakládá na fázové modulaci vstupní světelné vlny pomocí prostorových modulátorů světla (SLM), která je v podstatě inverzní vůči změně fáze světelné vlny vlivem rozptylujícího média. V článku [16] je do jisté míry navázáno na toto zjištění a prostorové modulátory jsou zde použity ke změření transmisní matice optického systému. Tento postup je možný aplikovat, pokud je prostředí během měření neměnné, protože jakákoliv změna se projeví i v transmisní matici, která už nebude přesně popisovat daný systém. Jakmile se získá transmisní matice, je možné nejen ze vstupního signálu získat výstupní bez nutnosti dalšího měření, fokusovat rozptýlené světlo do konkrétních bodů, ale především se otevírá možnost provést tento experiment obráceně, tedy z naměřeného výstupního signálu získat neznámý vstupní signál za pomoci inverzní matice. Toto je žádoucí, protože vstupní signál nese informaci o objektu, který může být umístěn v dráze světelného svazku.

Postup měření je následující. Zdrojem světla je laserový svazek, který se vyznačuje vysokou koherencí. Tento svazek se po projití systémem čoček a polarizátoru odráží od SLM, přičemž jen část tohoto svazku je jím modulována, část je ponechána jako referenční (viz Obrázek 5.5). Tato konfigurace je zvolena, aby bylo dosaženo interference, aniž by byly potřeba dvě různé větve. Po odrazu svazek prochází rozptylujícím vzorkem a je

## 5.2. ALTERNATIVNÍ PŘÍSTUPY

detekován na CCD kameře. Transmisní matice v tomto uspořádání popisuje jak rozptyl, tak i šíření mezi SLM a detektorem. Detekována je intenzita

$$I_m^{\text{out}} = |\psi_m^{\text{out}}|^2 = \left| r_{mn} + \sum_n e^{i\alpha} t_{mn} \psi_n^{\text{in}} \right|^2, \quad (5.20)$$

kde  $r_m$  je komplexní amplituda referenční části svazku. Měření je prováděno se svazkem se známou vlnoplochou pro čtyři fázové posuny  $\alpha = 0, \frac{\pi}{2}, \pi, \frac{3\pi}{2}$  a z nich se pak získávají jednotlivé koeficienty  $t_{mn}$  takto

$$\frac{I_m^0 + I_m^\pi}{4} + i \frac{I_m^{\pi/2} + I_m^{3\pi/2}}{4} \propto t_{mn}. \quad (5.21)$$

## 6. Rekonstrukční algoritmus

V této kapitole bude navázáno na navržené simulace v sekci 5.1.1, nicméně funkce propustnosti, která popisuje rozptylující vrstvu, není v experimentu známá. Proto je potřeba simulaci upravit a navrhnout způsob, jak zrekonstruovat vzorek bez znalosti této funkce propustnosti.

### 6.1. Gerchbergův-Saxtonův algoritmus

Gerchberg-Saxtonův (G-S) algoritmus je iterativní algoritmus, který dokáže získat fázi vlny v určité rovině ze dvou měření intenzity. Jeho idea je tato: jako vstup do algoritmu máme dvě intenzitní pole

$$|\psi_1(x_1, y_1)|, |\psi_2(x_2, y_2)|, \quad (6.1)$$

která byla získána měřením konkrétní vlny v rovinách, které jsou spolu propojeny Fourierovou transformací (případně jinou transformací – např. Fresnelovou propagací) takto

$$\psi_2(x_2, y_2) = \mathcal{F}\{\psi_1(x_1, y_1)\}, \quad (6.2)$$

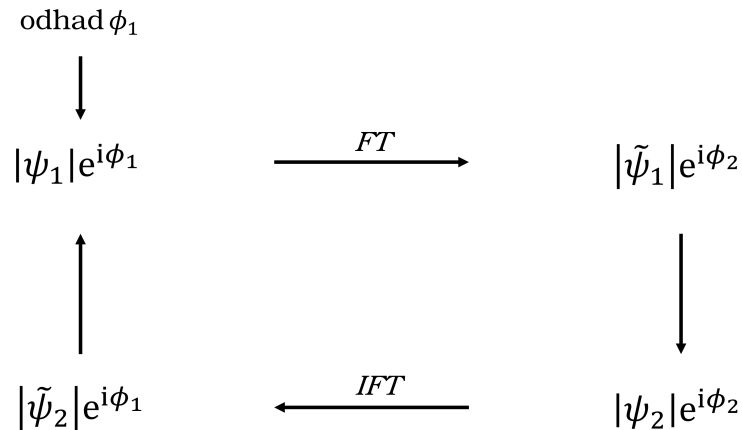
kde

$$\begin{aligned} \psi_1(x_1, y_1) &= |\psi_1(x_1, y_1)| e^{i\phi_1(x_1, y_1)}, \\ \psi_2(x_2, y_2) &= |\psi_2(x_2, y_2)| e^{i\phi_2(x_2, y_2)}. \end{aligned} \quad (6.3)$$

Prvním krokem je odhad fáze v jedné z těchto rovin, často  $\phi_1(x_1, y_1)$ . Tento odhad vstupuje do algoritmu jako počáteční aproximace, tedy

$$\psi_1^0(x_1, y_1) = |\psi_1(x_1, y_1)| e^{i\phi_1^0(x_1, y_1)} \quad (6.4)$$

Každá iterace G-S algoritmu obsahuje několik kroků, viz Obrázek 6.1. Nejprve je prove-



Obrázek 6.1: Schéma G-S algoritmu

dena Fourierova transformace funkce  $\psi_1$ , získané počátečním odhadem, nebo odhadem v rámci předchozí iterace. Tato FT má pro  $j$ -tou iteraci tvar

$$\mathcal{F}\{\psi_1^{j-1}\} = |\tilde{\psi}_1^j| e^{i\phi_2^j}. \quad (6.5)$$

## 6.2. NÁVRH REKONSTRUKČNÍHO ALGORITMU

Protože spolu však pole  $\psi_1(x_1, y_1)$  a  $\psi_2(x_2, y_2)$  souvisí přes Fourierovu transformaci, je možné amplitudu  $|\tilde{\psi}_1^n|$  nahradit změřeným polem  $|\psi_2(x_2, y_2)|$ , tedy

$$\mathcal{F}\{\psi_1^{j-1}\} = |\psi_2| e^{i\phi_2^j}, \quad (6.6)$$

čímž je zároveň získán odhad fáze vlny v druhé rovině  $\phi_2(x_2, y_2)$ . Pro odhad  $\phi_1(x_1, y_1)$ , který vstupuje do další iterace, je nutné provést IFT pole  $|\psi_2| e^{i\phi_2^j}$

$$\mathcal{F}^{-1}\{|\psi_2| e^{i\phi_2^j}\} = |\tilde{\psi}_2^j| e^{i\phi_1^j} \quad (6.7)$$

a nahradit amplitudu

$$\psi_1^j(x_1, y_1) = |\psi_1(x_1, y_1)| e^{i\phi_1^j(x_1, y_1)}, \quad (6.8)$$

čímž získáme vstupní pole pro  $(j + 1)$ -tou iteraci algoritmu. [19]

## 6.2. Návrh rekonstrukčního algoritmu

Při návrhu algoritmu, jehož úlohou je rekonstruovat zkoumaný objekt umístěný pod rozptylujícím prostředím, se inspirujeme principem G-S algoritmu. Tento postup je zvolen z důvodu, že podobně jako v případě G-S algoritmu provádíme dvě měření ve vrstvách, které jsou propojeny známou transformací, přestože není tak přímočará jako FT. Zájmem je taktéž rekonstruovat fázi světelného svazku v daných rovinách, protože fáze nese informaci o vzorku. Měření jsou ovšem prováděna pomocí koherencí řízeného holografického mikroskopu, proto je v nich již inherentně obsažena informace o amplitudě i fázi. Jak tato dvě změřená pole komplexních hodnot vstupují do algoritmu a jak odsud rekonstruujeme vlnu při průchodu objektovou rovinou, je předmětem této kapitoly.

První měření provedeme v rovině rozptylující vrstvy, která je popsána funkcí propustnosti  $t(x_1, y_1)$ . Pole naměřené v této vrstvě má tvar

$$\begin{aligned} \psi_1(x_1, y_1, z_1) &= \frac{e^{ikz_1}}{i\lambda z_1} \iint_{\mathbb{R}^2} \psi_0(x_0, y_0) e^{ik \frac{(x_1-x_0)^2 + (y_1-y_0)^2}{2z_1}} dx_0 dy_0 \cdot t(x_1, y_1) = \\ &= (\psi_0 * P(z_1))(x_1, y_1) \cdot t(x_1, y_1), \end{aligned} \quad (6.9)$$

který byl odvozen v sekci 5.1. Druhé měření je provedeno v objektové rovině a změřené pole je tedy tvaru

$$\begin{aligned} \psi_2(x, y, z_1 - z_1) &= e^{-ik \frac{x^2 + y^2}{2z_1}} \iint_{\mathbb{R}^2} e^{ik \frac{x_0^2 + y_0^2}{2z_1}} \psi_0(x_0, y_0) T(x - x_0, y - y_0) dx_0 dy_0 = \\ &= e^{-ik \frac{x^2 + y^2}{2z_1}} (\psi_0' * T)(x, y) \end{aligned} \quad (6.10)$$

Objektem zájmu je pole  $\psi_0(x_0, y_0)$ , které nese informaci o vzorku. V analogii s Gerchberg-Saxtonovým algoritmem provedeme na počátku jeho odhad  $\psi_0^0(x_0, y_0)$ . V první iteraci poté určíme i odhad funkce propustnosti  $t(x_1, y_1)$ , jejíž tvar také není znám. Pro tuto aproximaci využijeme rovnici (6.9), kde pole  $\psi_1(x_1, y_1, z_1)$  je známé, a  $(\psi_0 * P(z_1))(x_1, y_1)$  získáme numerickou propagací aproximovaného pole  $\psi_0^0(x_0, y_0)$ . Odhad funkce propustnosti je tedy ve tvaru

$$t^1(x_1, y_1) = \frac{\psi_1(x_1, y_1, z_1)}{(\psi_0^0 * P(z_1))(x_1, y_1)}. \quad (6.11)$$

Dále je potřeba získat lepší odhad  $\psi_0(x_0, y_0)$ , který vstoupí do další iterace algoritmu. Jak bylo již dříve odvozeno, lze  $\psi_0(x_0, y_0)$  získat dekonvolucí. Do tohoto kroku vstupuje druhé naměřené pole v objektové rovině  $\psi_2(x, y, z_1 - z_1)$ , jehož prostřednictvím je možné získat lepší odhad. V tomto kroku totiž de facto skrze pole  $t^j(x_1, y_1)$  vystupuje aproximace  $\psi_0(x_0, y_0)$  z předchozí iterace, a je porovnávána s měřením  $\psi_2(x, y, z_1 - z_1)$ , které v sobě nese informaci o skutečné podobě pole  $\psi_0(x_0, y_0)$ . Jeho odhad, který bude vstupovat do  $(j + 1)$ -té iterace je tedy tvaru

$$\psi_0^j(x_0, y_0) = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{\psi_2(x, y, z_1 - z_1) \cdot e^{iik \frac{x^2+y^2}{2z_1}}}{t^j(x_1, y_1)} \right\} \cdot e^{-iik \frac{x_0^2+y_0^2}{2z_1}}, \quad (6.12)$$

$(j + 1)$ -tá aproximace funkce propustnosti  $t(x_1, y_1)$  bude opět

$$t^{j+1}(x_1, y_1) = \frac{\psi_1(x_1, y_1, z_1)}{(\psi_0^j * P(z_1))(x_1, y_1)}. \quad (6.13)$$

Tyto odhady se budou zlepšovat s každou iterací, podobně jako v G-S algoritmu.

### 6.2.1. Návrh algoritmu pro 3D rozptylující prostředí

V této kapitole bude představena idea algoritmu, který by mohl pracovat s objemovým rozptylujícím prostředím, které si představíme jako  $N$  silně rozptylujících vrstev s vlastními funkcemi propustnosti. Pro názornost bude použito tří rozptylujících vrstev, což by se již dalo považovat za 3D prostředí, avšak stejný postup by se dal rozšířit matematickou indukcí na případ  $N$  vrstev.

Pro 3 rozptylující vrstvy provedeme 4 měření. Jedno v rovině objektové a zbývající tři v rovinách jednotlivých rozptylujících vrstev. Cílem je postupně systém redukovat tak, že z něj odstraníme jednu nejsvrchnější rozptylující vrstvu, jejíž funkce propustnosti byla algoritmem rekonstruována. V prvním kroku tedy vstupují do algoritmu měření v rovině druhé a třetí rozptylující vrstvy, díky čemuž získáme podobu vlny po projití druhou rozptylující vrstvou a funkci propustnosti nejsvrchnější vrstvy. Zbývající dvě naměřená pole (tj. v rovině vzorku a v rovině první rozptylující vrstvy) je třeba numericky propagovat do roviny třetí rozptylující vrstvy, vydělit rekonstruovanou funkcí propustnosti a propagovat zpět. Tím se fakticky provede redukce systému na 2 rozptylující vrstvy.

V dalším kroku vstoupí do algoritmu rekonstruovaná podoba vlny po projití druhou rozptylující vrstvou a měření v rovině první rozptylující vrstvy (což po redukci systému opět odpovídá měřením ve dvou nejsvrchnějších vrstvách). Výstupem algoritmu je opět podoba vlny po projití první rozptylující vrstvou a funkce propustnosti druhé vrstvy. V analogii se situací výše se následně provede redukce na systém s 1 rozptylující vrstvou, což je situace popsána v předchozí sekci, a odtud se získá rekonstruovaný zkoumaný vzorek.

## 6.3. Výsledky simulace

Simulace navržená v jazyce Python staví na situaci popsané v článku 5.1.1, ovšem místo jednoho dekonvolučního kroku je nutné zabudovat rekonstrukční algoritmus podle návrhu v článku 6.2. Kvalitu rekonstrukce je možné kvantifikovat tím, že rekonstruované pole bude propagováno do roviny rozptylující vrstvy, dále vynásobeno rekonstruovanou funkcí

### 6.3. VÝSLEDKY SIMULACE

propustnosti, a propagováno zpět do objektové roviny. Takto získané pole je pak možné porovnat s měřením v objektové rovině a jejich podobnost určit pomocí

$$\varepsilon > \frac{1}{N^2} \sqrt{\sum_{x,y} |\psi_2^{\text{rek}}(x, y) - \psi_2^{\text{měř}}(x, y)|^2}, \quad (6.14)$$

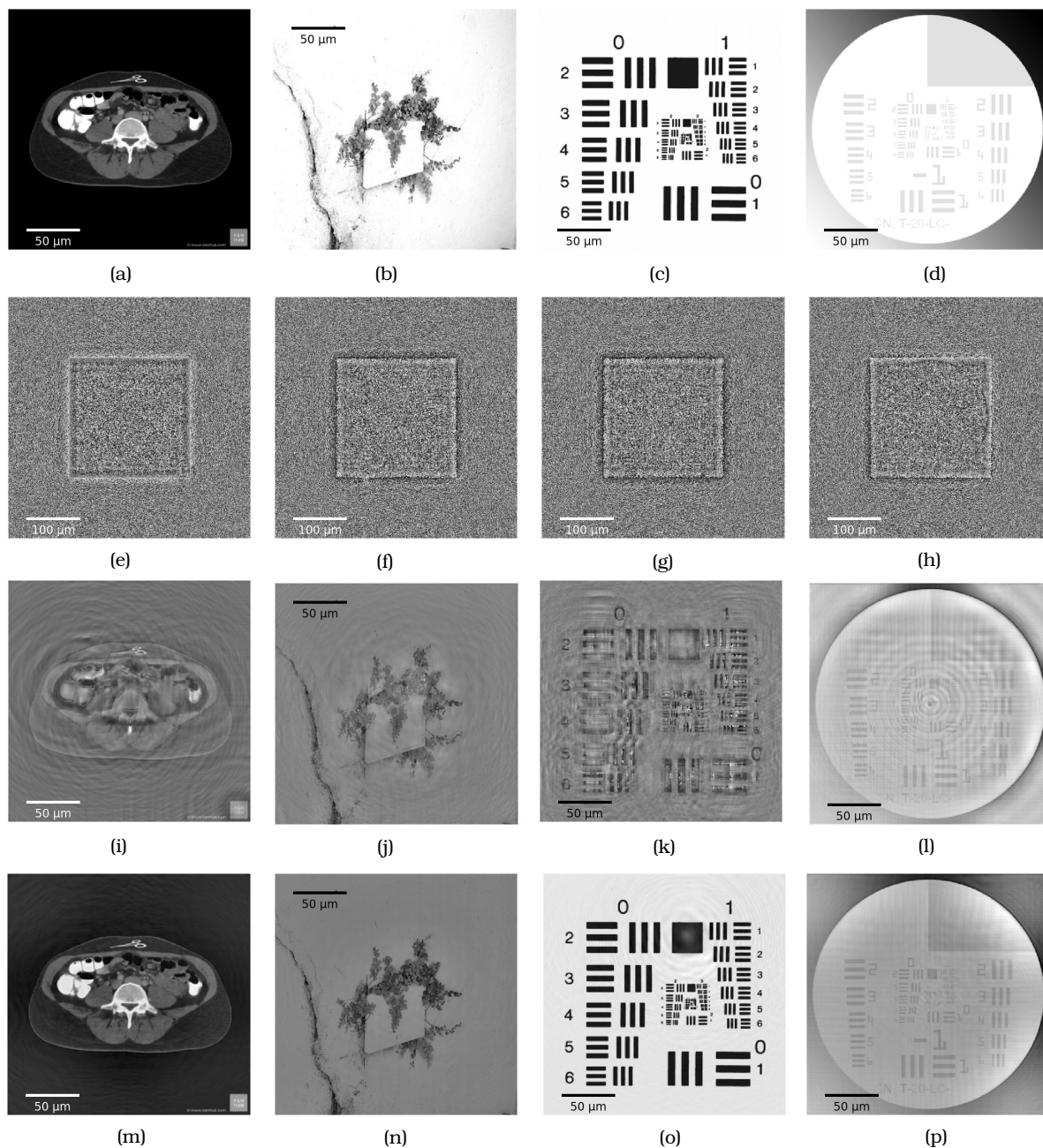
kde  $\varepsilon$  je reálná hodnota, která může být libovolně zvolena. Algoritmus pak běží, dokud hodnota na pravé straně rovnice není nižší než požadované  $\varepsilon$ .

Hodnota  $\varepsilon$  byla stanovena na  $\varepsilon = 10^{-5}$ . Pro jednu rozptylující vrstvu je algoritmus schopný rekonstruovat fázové vzorky v této kvalitě už po několika desítkách iterací, přičemž již po 5 iteracích je odhad pole uspokojivý, což znamená, že již lze rozeznat rekonstruované objekty, viz Obrázek 6.2 (i)-(l). Výjimkou je rekonstrukce vstupního pole na Obrázku 6.2 (b), které konverguje velmi pomalu a kvalitního výsledku bylo dosaženo až po 1382 iteracích. Protože vzorek má mnoho ostrých rozhraní mezi bílými a černými plochami, rekonstrukce trvá velmi dlouho. Výstup algoritmu zachovává rozlišení, nicméně se snižuje kontrast. Jak je však viditelné v případě vstupního pole na Obrázku 6.2 (c), které má inherentně nízký kontrast, i v tomto případě je po rekonstrukci při sníženém kontrastu objekt rozeznatelný. Lze také usoudit, že algoritmus konverguje k hodnotě  $\varepsilon = 0$ .

Pro více vrstev nebylo zatím rekonstrukce docíleno. Důvodem je to, že během propagace vzniká nezanedbatelná amplituda, která neumožňuje rekonstrukci. Tímto směrem budou směřovány další snahy v návaznosti na tuto práci. Až se v budoucnu podaří adaptovat algoritmus na amplitudové vzorky, rekonstrukce bude realizována tak, jak byla popsána v sekci 6.2.1. Rekonstrukční problém popisuje nelineární rovnice odvozena kombinací rovnic (6.9) a (6.10)

$$(\psi_0 * P(\Delta z)) (\tilde{\psi}_2 * \tilde{P}(\Delta z)) = (\tilde{\psi}_0 * \tilde{P}(\Delta z)) (\psi_2 * P(\Delta z)), \quad (6.15)$$

kterou zatím lze vyřešit pouze v případě, že všechny komponenty této rovnice jsou čistě fázové.



Obrázek 6.2: Pole vstupující do algoritmu představující vzorek (a), (b), (c), (d), zvolené hodnoty  $z_1 = 1$  mm,  $N = 800$ ,  $\lambda = 600$  nm, celkový rozměr pole  $L = 0,7$  mm, vstupní pole byla naškálována na polovinu tohoto rozměru podobně jako u simulací v sekci 5.1.1, tedy rozměr vzorku odpovídá  $L_{\text{vzorek}} = L/2$ . Pole o rozměru  $L$  získaná měřením v objektové rovině (e), (f), (g), (h). Rekonstrukce vzorku získaná po 5 iteracích, objekty jsou již rozeznatelné (i), (j), (k), (l). Rekonstrukce vzorku odpovídající podmínce, že  $\varepsilon = 10^{-5}$ , dosažená po 188 iteracích (m), 43 iteracích (n), 1382 iteracích (o) a 107 iteracích (p).

### 6.3. VÝSLEDKY SIMULACE

## 7. Závěr

Tato bakalářská práce se zabývala problematikou zobrazování v silně rozptylujícím prostředí s využitím koherencí řízeného holografického mikroskopu. Cílem práce bylo seznámit se s principy šíření světla v takovýchto médiích a s principy koherencí řízené holografické mikroskopie, a následně navrhnout algoritmus pro rekonstrukci objektu vnořeného do silně rozptylujícího prostředí.

V teoretické části práce byly nejdříve popsány základní mechanismy šíření světla v lineárním prostředí, byl odvozen tvar propagátoru, který představuje vztah mezi vlnou na vstupu a výstupu lineárního optického systému, přičemž byly diskutovány podmínky, za kterých je možné použít Fresnelovu či Fraunhoferovu aproximaci propagátoru. Následně byl popsán význam konvoluce a Fourierovy transformace při analytickém popisu šíření světla.

Další část byla věnována principům holografické mikroskopie, s důrazem na možnost kvantitativního fázového zobrazení díky interferenci svazků procházejících objektovou a referenční větví mikroskopu. Představen byl koherencí řízený holografický mikroskop, jehož výhodou je, že pro vznik interferenčního obrazce dokáže využít i pouze částečně koherentní osvětlení. Popsán byl také mechanismus koherenční brány, která umožňuje selektivní potlačení balistického nebo difúzního záření, a získat tak informaci o vzorku neporušenou rozptylujícím prostředím.

Stěžejní část práce byla věnována popisu šíření světla systémem, kde je vzorek umístěn pod rozptylujícím médiem. Z analytického popisu vzešel návrh algoritmu pro rekonstrukci obrazu objektu umístěného v silně rozptylujícím prostředí. Tento iterativní algoritmus je inspirován Gerchbergovým-Saxtonovým algoritmem a na základě měření holografickým mikroskopem v rovině vzorku a rovině rozptylující vrstvy rekonstruuje fázový vzorek umístěný pod rozptylující vrstvou, i její fázovou funkci propustnosti. Algoritmus využívá poznatků získaných při popisu propagace světla rozptylujícím prostředím. Zásadní operací, která je v algoritmu využita, je dekonvoluce. Návrh algoritmu byl primárně zaměřen na rekonstrukci 2D vzorků, a funkčnost tohoto algoritmu byla ověřena pomocí simulace navržené v jazyce Python. V návaznosti na to byly diskutovány možnosti rozšíření tohoto přístupu pro rekonstrukci 3D objektů, které by zahrnovalo snímání v různých hloubkách rozptylujícího média a následnou postupnou redukci systému o rozptylující vrstvy, jejichž funkce propustnosti byla rekonstruována, až na 2D vzorek.

Navržené simulace založené na dekonvoluci ukázaly, že algoritmus je schopen s vysokou přesností rekonstruovat 2D objekt při zachování rozlišení a mírném (ale nedestruktivním) snížení kontrastu, a to v rámci několika desítek iterací. Algoritmus v navržené podobě zatím dokáže pracovat pouze s čistě fázovými komponentami. V budoucnu bude cílem jej dále upravit tak, aby dokázal pracovat i s amplitudovými vzorky, které otevírají cestu pro rekonstrukci 3D objektů, protože i při propagaci fázového objektu přes několik rozptylujících vrstev vzniká amplituda, kterou nelze zanedbat. Dále bude následovat testování a optimalizace algoritmu pro reálná experimentální data z holografického mikroskopu.

Závěrem lze tedy říci, že navržený algoritmus a provedené analýzy potvrzují potenciál holografické mikroskopie v zobrazování skrze silně rozptylující prostředí a že holografická mikroskopie představuje slibnou cestu k překonání limitů klasického optického zobrazování v přítomnosti silného rozptylu.



## 8. Literatura

- [1] BĚLÍN, Jakub. *Interference a difrakce kolem nás [online]*. 2014. Dostupné také z: <https://theses.cz/id/3mthso/>. [cit. 2025-04-26].
- [2] ĎURIŠ, Miroslav; CHMELÍK, Radim. Coherence gate manipulation for enhanced imaging through scattering media by non-ballistic light in partially coherent interferometric systems. *Opt. Lett.* 2021, roč. 46, č. 18, s. 4486–4489. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1364/OL.432484>. [cit. 2025-03-25].
- [3] GABOR, Dennis. A New Microscopic Principle. *Nature*. 1948, roč. 161, s. 777–778. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1038/161777a0>. [cit. 2025-04-01].
- [4] GABOR, Dennis. Microscopy by reconstructed wave-fronts. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*. 1949, roč. 197, č. 1051, s. 454–487. ISSN 0080-4630. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1098/rspa.1949.0075>. [cit. 2025-04-01].
- [5] GOODMAN, Joseph W. *Introduction to Fourier Optics*. 2nd ed. New York : McGraw-Hill, 1996. ISBN 0-07-024254-2.
- [6] GOODMAN, Joseph W. Digital Image Formation From Electronically Detected Holograms. In: *Computerized Imaging Techniques*. SPIE, International Society for Optics a Photonics, 1967, sv. 0010, s. 176–181. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1117/12.946709>. [cit. 2025-04-20].
- [7] GRUPPETTA, Stephen. *How to Create Any Image Using Only Sine Functions / 2D Fourier Transform in Python*. The Python Coding Book, 2021. Online. Dostupné také z: <https://thepythoncodingbook.com/2021/08/30/2d-fourier-transform-in-python-and-fourier-synthesis-of-images/>. [cit. 2025-04-08].
- [8] HELMCHEN, Fritjof; DENK, Winfried. Deep tissue two-photon microscopy. *Nature Methods [online]*. 2005, roč. 2, č. 12, s. 932–940 [cit. 2025-05-18]. ISSN 1548-7091. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nmeth818>.
- [9] JAVIDI, Bahram; CARNICER, Artur; ANAND, Arun; BARBASTATHIS, George; CHEN, Wen et al. Roadmap on digital holography. *Opt. Express*. 2021, roč. 29, č. 22, s. 35078–35118. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1364/OE.435915>. [cit. 2025-04-21].
- [10] KIM, Myung K. Principles and techniques of digital holographic microscopy. *SPIE Reviews*. 2010, roč. 1, č. 1. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1117/6.0000006>. [cit. 2025-04-21].
- [11] KOLLÁROVÁ, Věra. *Holografie – přednáška ze Základů optiky*. 2024.
- [12] KOMRSKA, Jiří. *Fourierovské metody v teorii difrakce a ve strukturní analýze*. Brno : VUTIUM, 2001. ISBN 80-214-2011-1.
- [13] KOMRSKA, Jiří. Kapitola 3: Huygensův-Fresnelův princip a odvození difrakčních integrálů. In: *Difrakce*. Fakulta strojního inženýrství, VUT v Brně, [b.r.]. Dostupné také z: <https://physics.fme.vutbr.cz/~komrska/Difrakce/KapD03.pdf>. [cit. 2025-04-26].

- [14] LEITH, Emmett N.; UPATNIEKS, Juris. Wavefront Reconstruction with Diffused Illumination and Three-Dimensional Objects. *J. Opt. Soc. Am.* 1964, roč. 54, č. 11, s. 1295–1301. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1364/JOSA.54.001295>.
- [15] LOŠŤÁK, Martin; CHMELÍK, Radim; SLABÁ, Michala; SLABÝ, Tomáš. Coherence-controlled holographic microscopy in diffuse media. *Opt. Express.* 2014, roč. 22, č. 4, s. 4180–4195. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1364/OE.22.004180>. [cit. 2025-03-25].
- [16] POPOFF, Sébastien M.; LEROSEY, Geoffroy; CARMINATI, Rémi; FINK, Mathias; BOCCARA, A. C. et al. Measuring the Transmission Matrix in Optics: An Approach to the Study and Control of Light Propagation in Disordered Media. *Phys. Rev. Lett.* 2010, roč. 104, s. 100601. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.104.100601>. [cit. 2025-05-12].
- [17] SLABÝ, Tomáš; KOLMAN, Pavel; DOSTÁL, Zbyněk; ANTOŠ, Martin; LOŠŤÁK, Martin et al. Off-axis setup taking full advantage of incoherent illumination in coherence-controlled holographic microscope. *Optics Express.* 2013, roč. 21, č. 12, s. 3706–3710. ISSN 1094-4087. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1364/OE.21.014747>. [cit. 2025-03-25].
- [18] VELLEKOOP, Ivo M.; MOSK, Allard P. Focusing coherent light through opaque strongly scattering media. *Opt. Lett.* 2007, roč. 32, č. 16, s. 2309–2311. Dostupné také z: <https://doi.org/10.1364/OL.32.002309>. [cit. 2025-05-12].
- [19] ZHAO, Tiejun; CHI, Yingying. Modified Gerchberg–Saxton (G-S) Algorithm and Its Application. *Entropy.* 2020, roč. 22, č. 12. ISSN 1099-4300. Dostupné také z: <https://doi.org/10.3390/e22121354>. [cit. 2025-05-12].