



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ

INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

VYUŽITÍ METODY FDTD K MODELOVÁNÍ ZOBRAZOVÁNÍ V BIOFOTONICE

APPLICATION OF THE FDTD TECHNIQUE TO MODELLING OF IMAGING IN BIOPHOTONICS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. RENÉ ŘÍHA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. JIŘÍ PETRÁČEK, Dr.

BRNO 2020

Zadání diplomové práce

Ústav: Ústav fyzikálního inženýrství
Student: **Bc. René Říha**
Studijní program: Aplikované vědy v inženýrství
Studijní obor: Fyzikální inženýrství a nanotechnologie
Vedoucí práce: **prof. RNDr. Jiří Petráček, Dr.**
Akademický rok: 2019/20

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.1111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

Využití metody FDTD k modelování zobrazování v biofotonice

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Moderní biofotonické metody pro kvantitativní zobrazování živých buněk bez použití kontrastních látek vycházejí často z teorie rozptylu. Tradičně se rozptylové jevy popisují pomocí Bornovy nebo Rytovovy aproximace; výhodou je teoretický popis zobrazení, avšak výsledná formulace nemusí být dostatečně přesná. Proto se stále více prosazuje využití rigorózních numerických metod, zejména metody konečných diferencí v časové oblasti (FDTD). Smyslem práce je srovnání zmíněných aproximativních metod s FDTD a ověření praktické využitelnosti metody FDTD pro výzkum a optimalizaci metod holografické mikroskopie.

Cíle diplomové práce:

1. Rešeršní studie zaměřená na využitelnost výpočetních metod založených na Bornově aproximaci (BA), Rytovově aproximaci (RA) a FDTD pro zobrazování v biofotonice.
2. Specifikace vhodného modelu buňky. Parametrické simulace rozptylu světla na daném modelu pomocí BA, RA a FDTD. Vyhodnocení přesnosti a praktické použitelnosti metod z hlediska výzkumu nekoherentní holografické mikroskopie.
3. Ověření praktické využitelnosti metody FDTD pro optimalizaci metod holografické mikroskopie.

Seznam doporučené literatury:

STEELMAN, Z. A., D. S. HO, K. K. CHU a A. WAX. Light-scattering methods for tissue diagnosis. *Optica*. 2019, 6(4), 479-489.

DUNN, A. a R. RICHARDS-KORTUM. Three-dimensional computation of light scattering from cells. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. 1996, 2(4), 898-905.

KARLSSON, A., J. HE, J. SWARTLING a S. ANDERSSON-ENGELS. Numerical Simulations of Light Scattering by Red Blood Cells. IEEE Transactions on Biomedical Engineering. 2005, 52(1), 13-18.

TANEV, S., W. SUN, J. POND a V. V. TUCHIN. FDTD Simulation of Light Interaction with Cells for Diagnostics and Imaging in Nanobiophotonics. TUCHIN, V. V., ed. Handbook of Photonics for Biomedical Science. Boca Raton: CRC Press, 2010, s. 1-36.

LIM, J. et al. Born Approximation Model for Light Scattering by Red Blood Cells. Biomedical Optics Express. 2011, 2(10), 2784–91.

CHMELÍK, R. Three-dimensional scalar imaging in high-aperture low-coherence interference and holographic microscopes. Journal of Modern Optics. 2006, 53(18), 2673-2689.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2019/20

V Brně, dne

L. S.

prof. RNDr. Tomáš Šíkola, CSc.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá ověřením praktické využitelnosti metody FDTD pro simulaci zobrazování v koherenci řízeném holografickém mikroskopu. Byly podrobně prozkoumány různé možnosti určení matice rozptylu a vybrán optimální postup založený na rigorózním výpočtu dalekého pole. Matice rozptylu, nesoucí informaci o pozorovaném předmětu, je pak použita k analytickému výpočtu signálu mikroskopu; při tom také byly vyhodnoceny dvě úrovně aproximací aperturních funkcí. Výsledky byly porovnány s tradičním postupem založeným na Rytovově aproximaci a vymezena oblast platnosti této aproximace. Na základě simulací holografického mikroskopu byly dále prozkoumány závislosti podélné rozlišovací schopnosti na aperturách objektivu a osvětlení a citlivost holografického signálu ke změně indexu lomu vzorku.

Summary

This thesis deals with the problem of practical application of FDTD technique for simulation of image formation in coherence controlled holographic microscope. Various ways for obtaining scattering matrices are explored in detail and the optimal technique based on a rigorous calculation of the far field is proposed. The scattering matrix, containing information about the observed sample, is subsequently used in analytic calculation of holographic signal; two levels of approximation of pupil function are also evaluated. The results are compared with a traditional approach based on Rytov approximation resulting in specification of the parameter domain where the approximation is applicable. Based on the simulations of the microscope, the dependence of axial resolution on apertures of the objective and the condenser and sensitivity of the signal to changes of refractive index of the sample is also studied.

Klíčová slova

Holografická mikroskopie, Rytovova aproximace, metoda FDTD, daleké pole

Keywords

Holographic microscopy, Rytov approximation, FDTD method, far field

ŘÍHA, R. *Využití metody FDTD k modelování zobrazování v biofotonice*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2020. 61 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Jiří Petráček, Dr.

Prohlašuji, že jsem práci napsal samostatně pod vedením prof. RNDr. Jiřího Petráčka, Dr., s použitím materiálů uvedených v seznamu literatury.

Bc. René Říha

Na tomto místě bych poděkoval svému vedoucímu prof. RNDr. Jiřímu Petráčkovi, Dr.,
za četné konzultace a usměrňování mé práce.

Bc. René Říha

Obsah

Úvod	3
1 Metody výpočtu rozptylu světla	5
1.1 Rozptyl světla a biofotonika	5
1.2 Skalární vlna	6
1.2.1 Komplexní amplituda	6
1.2.2 Úhlové spektrum	7
1.2.3 Integrální rovnice pro rozptyl	8
1.3 Bornova aproximace prvního řádu	9
1.4 Rytovova aproximace prvního řádu	10
1.5 Metoda FDTD	12
1.5.1 Yeeův algoritmus	12
1.5.2 Formulace celkového a rozptýleného pole	12
1.5.3 Absorpční okrajové podmínky	13
1.5.4 Numerická přesnost a stabilita	14
2 Výpočet rozptylu světla pomocí metody FDTD	17
2.1 Výpočetní okno	17
2.2 Geometrie dopadajících vln	18
2.3 Získání blízkého pole a úhlového spektra	20
2.3.1 Přístup dalekého pole	23
2.4 Důsledky diskretizace	25
2.5 Verifikace metody FDTD pro výpočet rozptylu	26
2.5.1 Daleké pole buňky červené krvinky	27
2.5.2 Simulace rozptylu světla na organelách	29
3 Koherencí řízený holografický mikroskop	33
3.1 Princip CCHM	33
3.2 Teoretický popis zobrazování v CCHM	34
4 Simulace zobrazování v CCHM	37
4.1 FDTD metoda	37
4.2 Rytovova aproximace	41
4.3 Vliv tvaru aperturní funkce	45
4.4 Podélné rozlišení CCHM a závislost signálu na indexu lomu	48
Závěr	53

Úvod

Světelná mikroskopie hraje nezastupitelnou roli v medicíně a biologii [1]. Mezi nejúspěšnější diagnostické metody patří dnes konfokální [2] a fluorescenční [3] mikroskopie a neinvazivní optické metody jako jsou optická koherenční tomografie [4] či holografická mikroskopie [5]. Tyto optické metody vyžadují porozumění jevům při rozptylu světla na elementární úrovni. Lepší porozumění spojitosti mezi biochemickými procesy a morfologií buněk a rozptylem světla vede k rozvoji množství aplikací v lékařské diagnostice.

V mnoha případech diagnostiky a výzkumu biologického zobrazování je numerické modelování rozptylu světla na vzorcích mocným nástrojem jak lépe, či vůbec, pochopit základní fyzikální a biochemické procesy v živé hmotě. Metody numerického modelování mohou poskytnout cenné informace o rozptylu světla na buňkách či tkáních, které lze následně využít pro praktickou interpretaci změn v měřeném rozptylu například v oboru patologie, do které v posledních letech proniká i zobrazování v CCHM (z anglického *coherence-controlled holographic microscope*) [6, 7, 8] vyvinutého na VUT ve spolupráci s firmou Tescan. Pro simulaci zobrazování v CCHM je důležitá znalost tzv. rozptylové funkce, kterou je možné získat z blízkého pole vypočítaného vhodnou numerickou metodou adekvátně popisující rozptyl světla na vzorku. Mezi tradiční metody popisující rozptylové jevy patří Bornova a Rytovova aproximace a v posledním dvacetiletí se stále více prosazuje i rigorózní numerická metoda konečných diferencí v časové oblasti FDTD (z anglického *finite-difference time-domain*) řešící přímo Maxwellovy rovnice elektromagnetického pole.

Práce navazuje na simulace zobrazování v CCHM v [9], které se omezovaly na zobrazování přibližně rovinné struktury s hodnotami numerických apertur do 0,8. Konkrétně se práce zaměří na srovnání aproximativních metod výpočtu rozptylu světla s metodou FDTD a ověření praktické využitelnosti metody FDTD pro výzkum a optimalizaci metod holografické mikroskopie. Pro účely zkoumání podélné rozlišovací schopnosti CCHM je navržena vhodná prostorová struktura buněčných organel a je prozkoumán i vliv vysokých numerických apertur až do 1,3.

V první kapitole jsou shrnuty metody výpočtu rozptylu světla a jejich využití v bi-ofotonice a biologické mikroskopii se zvláštním zřetelem na Rytovovu aproximaci a metodu FDTD. Druhá kapitola je věnována technickým aspektům simulací rozptylu světla metodou FDTD v programu Lumerical a je navržen přístup pro výpočet blízkého pole, respektive úhlového spektra z pole dalekého. Třetí kapitola představuje poslední model CCHM a obsahuje také teoretický popis pro zobrazování v tomto mikroskopu. Poslední kapitola je věnována prezentaci výsledkům simulací zobrazování v CCHM.

1. Metody výpočtu rozptylu světla

1.1. Rozptyl světla a biofotonika

Rozptyl zahrnuje širokou škálu jevů s interakcí vlny nebo částic s látkovým prostředím. Pojmu rozptyl lze použít vždy, když vlna (světlo) interaguje s dvojrozměrnými nebo trojrozměrnými objekty, které obecně nemají periodickou strukturu, a přitom mění svůj směr šíření [10, odst. 2.1]. Rozptýlené světlo se obecně skládá z elastické a neelastické složky. Elastická složka je rozptýlenou vlnou, která má stejnou frekvenci jako vlna dopadající, a pokud se uplatňuje při rozptylu především tato složka, hovoří se o tzv. elastickém nebo také Rayleigho rozptylu [11, odst. 4.2]. V případě neelastického nebo také Ramanovského rozptylu [12, kap. 5] má rozptýlená vlna frekvenci posunutou vzhledem k vlně dopadající. Dva parametry, které mají zásadní vliv v případě rozptylu světla na mikrobiologickém vzorku, jsou morfologie (tvar) a vnitřní biochemická stavba určující index lomu. Elastický rozptyl může poskytnout informaci o velikosti, morfologii a indexu lomu vzorku [13] a neelastickým rozptylem lze získat informaci přímo o jeho molekulární kompozici [14]. Rigorózním popisem rozptylu světla se zabývá například [15].

Existují analytická řešení rozptylu světla pro homogenní struktury určitého tvaru, jako je například Mieova-Lorenzova teorie [16] pro částice kulovitého tvaru. Je zřejmé, že zejména v případě biofotoniky a biologické mikroskopie, kde zkoumané struktury vykazují nepravidelné tvary a nehomogenní rozložení indexu lomu, činí analytické modelovací přístupy velice obtížnými ne-li nemožnými. To vedlo k použití některých klasických přibližných metod, jako jsou Bornova a Rytovova aproximace a později i více rigoróznějších a přesnějších metod jako jsou například diskrétní dipólová aproximace DDA (z anglického *discrete dipole approximation*) či metoda FDTD.

Bornova aproximace vychází z přiblížení, v němž se mikrobiologická struktura považuje za slabě rozptylující prostředí. Na Bornově aproximaci je například založena úspěšná a relativně nová experimentální metoda FTLS (z anglického *Fourier transform light scattering*) kombinující optickou mikroskopii, holografii a teorii rozptylu světla pro výzkum nehomogenních a dynamických mikrobiologických vzorků [17, 18].

Rytovova aproximace je založena na odlišném přístupu k řešení integrální rovnice pro rozptyl, viz odst. 1.2.3. Aproximace je hojně využívána při modelování rozptylu světla v nehomogenním prostředí, v difrakční tomografii [19] a při inverzních problémech v teorii rozptylu [20]. V případech, kdy je vlnová délka výrazně kratší než nejjemnější detail zkoumané struktury, je Rytovova aproximace přesnější než Bornova [21].

Teoretický popis Bornovy a Rytovovy aproximace se nachází v odst. 1.3 a 1.4 této práce.

Diskrétní dipólová aproximace DDA je univerzální metoda pro výpočet rozptylu či absorpce elektromagnetické vlny na strukturách libovolného tvaru a stavby a patří mezi tzv. rigorózní metody. Metoda spočívá v rozdělení struktury na malé elektrické dipóly [22]. Výsledné elektrické pole je poté superpozicí polí ze zdrojů vně a uvnitř zkoumané struktury. Aproximace DDA byla například použita při analýze rozptylu světla na buňkách červené krvinky [23, 24].

FDTD metoda je pravděpodobně nejjednodušší technikou, v rámci teoretického popisu i implementace, řešení problémů v elektromagnetismu [25, 26]. Stejně jako DDA patří i FDTD do třídy rigorózních metod. Metoda FDTD a možnosti jejího aplikačního využití

1.2. SKALÁRNÍ VLNA

prošly v druhé polovině 20. stol. obecně rychlým rozvojem [26, odst. 1.1]. V roce 1966 K. Yee [27] navrhl diskrétní techniku řešení Maxwellových rovnic pro výpočet vektorů elektrické \mathbf{E} a magnetické \mathbf{H} intenzity. Technika je založena na aproximaci prostorových i časových derivací přítomných v Maxwellových rovnicích pomocí konečných diferencí a vešla ve známost jako Yeeův algoritmus, viz odst. 1.5.1. Aplikační využití FDTD metody rostlo zároveň s pokrokem výpočetního výkonu počítačů [28] a dnes se jedná o nejrychlejší metodu přímo řešící Maxwellovy rovnice elektromagnetického pole [29].

Konkrétní využití metody FDTD zahrnuje například výpočet účinných průřezů rozptylu na libovolných strukturách [30], rozptylu na frekvenčně závislých materiálech [31] či v mikroskopii diagnostiku lidské tkáně [32, 33] a simulace rozptylu světla na buňkách [34, 23]. Rozmanitost aplikačních využití metody FDTD dobře shrnuje článek [35].

Existují i další metody výpočtu rozptylu, jako jsou metoda T-matice, metoda konečných prvků FEM (z anglického *finite element method*), metoda momentů MOM (z anglického *method of moments*) a další [36]. Tyto metody zde nejsou podrobněji popsány, jelikož jejich použití v biofotonice není obvyklé.

Srovnání aproximativních a rigorózních metod

Výhodou aproximativních metod jako jsou Bornova a Rytovova aproximace je teoretický popis zobrazení umožňující porozumění zkoumanému jevu. Numerické výsledky těchto metod však nemusí být dostatečně přesné. Další významnou výhodou je možnost řešení inverzní úlohy. Naproti tomu rigorózní numerické metody DDA a FDTD obvykle poskytují vysokou přesnost a univerzálnost pro širokou škálu aplikací. Jejich nevýhodou je obtížnější fyzikální interpretace výsledků a praktická nemožnost řešení inverzní úlohy[†]. Hlavním překážkou pro plné využití potenciálu rigorózních metod býval výpočetní výkon a poněkud složitější implementace. S dnešním výpočetním výkonem a komerčními programy pro výpočty FDTD metodou již však tato nevýhoda v současnosti ztrácí téměř význam.

1.2. Skalární vlna

Jelikož v odst. 3.2 je při teoretickém popisu zobrazování v CCHM použito skalární formulace elektromagnetické vlny, je v tomto odstavci zavedeno pojmu komplexní amplitudy a definice jejího úhlového spektra. Je i představena tzv. integrální rovnice pro rozptyl, ze které budou dále vycházet Bornova a Rytovova aproximace.

1.2.1. Komplexní amplituda

Šíří-li se monochromatická elektromagnetická vlna v prostředí, které je lineární, izotropní a homogenní, vektor elektrické intenzity $\mathbf{E} = (E_x, E_y, E_z)$ vyhovuje tzv. vektorové vlnové rovnici [38, odst. 3.2]

$$\nabla^2 \mathbf{E} - \frac{n^2}{c^2} \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} = 0, \quad (1.1)$$

[†]K tomuto problému například probíhá v posledních letech výzkum pro optimalizaci fázového kontrastu v mikroskopii využitím umělé inteligence [37].

kde c je rychlost světla ve vakuu a n je index lomu prostředí definovaný vztahem

$$n = \left(\frac{\epsilon}{\epsilon_0} \right)^{1/2}, \quad (1.2)$$

v němž ϵ je absolutní permitivita materiálu a ϵ_0 permitivita vakua. Jelikož všechny složky vektoru elektrické intenzity \mathbf{E} vyhovují stejné vlnové rovnici (1.1), lze chování \mathbf{E} shrnout do tzv. skalární vlnové rovnice

$$\nabla^2 u(\mathbf{r}, t) - \frac{n^2}{c^2} \frac{\partial^2 u(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} = 0, \quad (1.3)$$

kde skalární veličina $u(\mathbf{r}, t)$ zastupuje kteroukoliv ze složek E_x , E_y , E_z a ve které je již explicitně vyznačena závislost na polohovém vektoru $\mathbf{r} = (\mathbf{r}_t, z) = (x, y, z)$ a čase t .

Skalární vlnu lze zapsat exponenciální notací, která bude používána i v celé práci,

$$u(\mathbf{r}, t) = U(\mathbf{r}) \exp(-i2\pi\nu t), \quad (1.4)$$

kde ν je optická frekvence a $U(\mathbf{r})$ komplexní funkce polohy nazývaná komplexní amplitudou. Dosazením (1.4) do (1.3) se získá tzv. Helmholtzova rovnice

$$(\nabla^2 + k^2 n^2)U(\mathbf{r}) = 0, \quad (1.5)$$

v níž k zastupuje tzv. vlnové číslo definované jako

$$k = 2\pi \frac{\nu}{c} = \frac{2\pi}{\lambda_\nu}, \quad (1.6)$$

kde λ_ν je vlnová délka světla ve vakuu.

1.2.2. Úhlové spektrum

Řešení Helmholtzovy rovnice (1.5) je možné zapsat jako součet rovinných vln $\exp(i2\pi \mathbf{K}_t \cdot \mathbf{r}_t)$ s komplexní amplitudou $A(\mathbf{K}_t; z)$ [39]

$$U(\mathbf{r}_t, z) = \iint_{-\infty}^{+\infty} A(\mathbf{K}_t; z) \exp(i2\pi \mathbf{K}_t \cdot \mathbf{r}_t) d^2 \mathbf{K}_t, \quad (1.7)$$

kde

$$\mathbf{K} = (\mathbf{K}_t, K_z) = (K_x, K_y, K_z) \quad (1.8)$$

je tzv. redukovaný vlnový vektor, pro jehož velikost $|\mathbf{K}|$ a složku K_z platí

$$|\mathbf{K}| = K = \frac{n}{\lambda_\nu}, \quad K_z = \pm (K^2 - K_x^2 - K_y^2)^{1/2}. \quad (1.9)$$

Komplexní amplituda $A(\mathbf{K}_t; z)$ v (1.7) se v optice běžně nazývá úhlovým spektrem nebo jen spektrem. Pravá strana rov. (1.7) je ve formě zpětné dvourozměrné Fourierovy transformace $\mathcal{F}^{-1}\{A(\mathbf{K}_t; z)\}$ [40, kap. 11], zde ve tvaru

$$\mathcal{F}^{-1}\{A(\mathbf{K}_t; z)\} \equiv \iint_{-\infty}^{+\infty} A(\mathbf{K}_t; z) \exp(i2\pi \mathbf{K}_t \cdot \mathbf{r}_t) d^2 \mathbf{K}_t. \quad (1.10)$$

1.2. SKALÁRNÍ VLNA

Úhlové spektrum $A(\mathbf{K}_t; z)$ se získá Fourierovou transformací komplexní amplitudy $\mathcal{F}\{U(\mathbf{r}_t, z)\}$

$$A(\mathbf{K}_t; z) = \mathcal{F}\{U(\mathbf{r}_t, z)\} \equiv \iint_{-\infty}^{+\infty} U(\mathbf{r}_t, z) \exp(-i2\pi\mathbf{K}_t \cdot \mathbf{r}_t) d^2\mathbf{r}_t. \quad (1.11)$$

Dosažením komplexní amplitudy ve formě (1.7) do Helmholtzovy rovnice (1.5) a jejím vyřešením lze získat výraz pro vývoj úhlového spektra $A(\mathbf{K}_t; z)$ [38, odst. 3.10.1]

$$A(\mathbf{K}_t; z) = A(\mathbf{K}_t; 0) \exp(i2\pi K_z z), \quad (1.12)$$

kde $A(\mathbf{K}_t; 0)$ je úhlové spektrum komplexní amplitudy $U(\mathbf{r}_t, 0)$.

1.2.3. Integrální rovnice pro rozptyl

Odvození integrální rovnice pro rozptyl a následující teoretický popis Bornovy a Rytovovy aproximace se omezuje na popis rozptylu světla v látkách s lineární časově invariantní odezvou (tzv. statický rozptyl).

Uvažuje-li se monochromatické elektromagnetické pole dopadající na lineární, izotropní, nemagnetické látkové prostředí zabírající v prostoru objem V a za předpokladu neexistence zdrojů v tomto objemu, prostorově závislá část elektrického pole $\mathbf{E}(\mathbf{r})$ bude vyhovovat rovnici [41, odst. 13.1.1]

$$\nabla^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}) + k^2 n^2(\mathbf{r}) \mathbf{E}(\mathbf{r}) + \nabla[\mathbf{E}(\mathbf{r}) \cdot \nabla \ln n^2(\mathbf{r})] = 0. \quad (1.13)$$

Rovnice (1.13) může být dále zjednodušena, pokud je index lomu $n(\mathbf{r})$ prakticky konstantní na vzdálenostech jednotek vlnové délky λ_v . Potom lze psát

$$\nabla^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}) + k^2 n^2(\mathbf{r}) \mathbf{E}(\mathbf{r}) = 0 \quad (1.14)$$

Pro zjednodušení zápisu a dalších úvah budou složky vektoru elektrické intenzity $\mathbf{E}(\mathbf{r})$ v rov. (1.14) stejně jako v odst. 1.2.1 nahrazeny komplexní amplitudou $U(\mathbf{r})$

$$\nabla^2 U(\mathbf{r}) + k^2 n^2(\mathbf{r}) U(\mathbf{r}) = 0. \quad (1.15)$$

Ve skalární teorii rozptylu bývá zvykem rov. (1.15) přepsat do tvaru

$$\nabla^2 U(\mathbf{r}) + k^2 n_{back}^2 U(\mathbf{r}) = -4\pi F(\mathbf{r}) U(\mathbf{r}), \quad (1.16)$$

kde n_{back} je index lomu pozadí obklopující zkoumané látkové o objemu V a

$$F(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi} k^2 [n^2(\mathbf{r}) - n_{back}^2] \quad (1.17)$$

je tzv. rozptylový potenciál.

Pole $U(\mathbf{r})$ lze vyjádřit jako součet pole dopadající vlny $U_{inc}(\mathbf{r})$ a pole vlny rozptýlené $U_{scat}(\mathbf{r})$

$$U(\mathbf{r}) = U_{inc}(\mathbf{r}) + U_{scat}(\mathbf{r}), \quad (1.18)$$

ve němž $U_{inc}(\mathbf{r})$ je obvykle rovinná vlna

$$U_{inc}(\mathbf{r}) = \exp(in_{back} \mathbf{k}_{inc} \cdot \mathbf{r}) \quad (1.19)$$

s vlnovým vektorem \mathbf{k}_{inc} o velikosti (1.6) a která vyhovuje Helmholtzově rovnici (1.5). Po dosazení (1.18) do (1.16) a použitím (1.5) pro $U_{inc}(\mathbf{r})$ bude pole rozptýlené vlny $U_{scat}(\mathbf{r})$ vyhovovat rovnici

$$(\nabla^2 + k^2 n_{back}^2)U_{scat}(\mathbf{r}) = -4\pi F(\mathbf{r})U(\mathbf{r}). \quad (1.20)$$

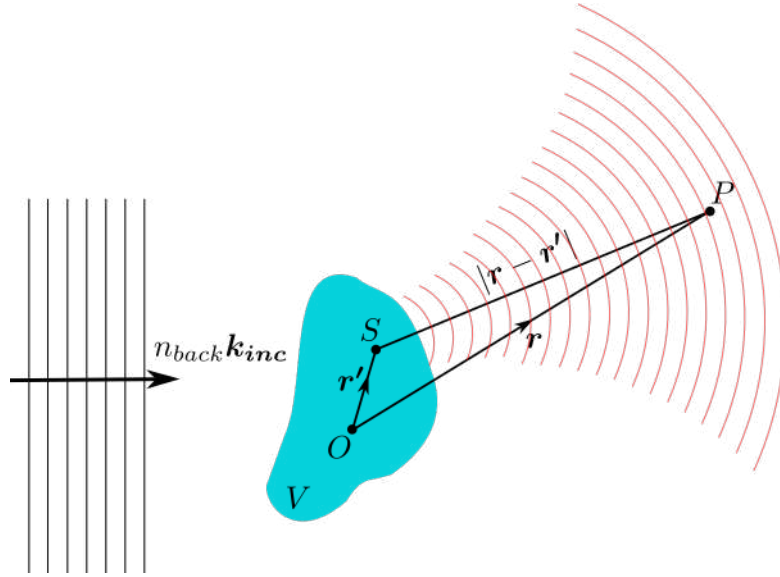
Využitím skalární Greenovy funkce Helmholtzovy rovnice [15, odst. 1.6.1] a následováním postupu v [41, odst. 13.1.1] má integrální řešení rov. (1.20) tvar

$$U_{scat}(\mathbf{r}) = \iiint_V F(\mathbf{r}')U(\mathbf{r}') \frac{\exp(in_{back}k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d^3\mathbf{r}', \quad (1.21)$$

kde integrační doménou je objem V látkového prostředí rozptylujícího světlo, viz obr. 1.1. Z rov. (1.18), (1.19) a (1.21) vyplývá, že

$$U(\mathbf{r}) = \exp(in_{back}\mathbf{k}_{inc} \cdot \mathbf{r}) + \iiint_V F(\mathbf{r}')U(\mathbf{r}') \frac{\exp(in_{back}k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d^3\mathbf{r}'. \quad (1.22)$$

Rov. (1.22) se nazývá integrální rovnice pro rozptyl (z anglického *integral equation of potential scattering*). Jakmile je známo pole uvnitř rozptylujícího látkového prostředí, pole vně se určí dosazením pole uvnitř prostředí do integrálu (1.22).



Obr. 1.1: Ilustrace zápisu rov. (1.21) a (1.22). Rovinná vlna s vlnovým vektorem $n_{back}\mathbf{k}_{inc}$ dopadá na látkové prostředí o objemu V a rozptýlené světlo je zkoumáno v bodě P s polohovým vektorem \mathbf{r} .

1.3. Bornova aproximace prvního řádu

Obvykle není možné získat řešení integrální rovnice (1.22) v uzavřeném tvaru. Jedna metoda řešení této rovnice je založena na rozvoji do tzv. Neumannovy řady [42, odst. 21.3], v teorii rozptylu známá jako Bornova řada.

Bornova aproximace prvního řádu, dále jen Bornova aproximace, předpokládá, že pole $U(\mathbf{r}')$ v integrálu v rov. (1.22) v případě slabě rozptylujícího prostředí (tedy $n(\mathbf{r}) \approx n_{back}$

1.4. RYTOVOVA APROXIMACE PRVNÍHO ŘÁDU

v rov. (1.17)) lze nahradit polem dopadající vlny $U_{inc}(\mathbf{r}')$. Na základě (1.19) bude mít aproximace tvar

$$U(\mathbf{r}) \approx \exp(i\mathbf{k}_{inc} \cdot \mathbf{r}) + \iiint_V F(\mathbf{r}') \exp(in_{back}\mathbf{k}_{inc} \cdot \mathbf{r}') \frac{\exp(in_{back}k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d^3\mathbf{r}' \quad (1.23)$$

Dosazení $U_{inc}(\mathbf{r}')$ za $U(\mathbf{r}')$ v (1.22) odpovídá prvnímu členu iterační Bornovy řady. Tento první člen poskytuje hrubý pohled do vlastností zkoumaného rozptylu. Pro zvýšení přesnosti lze do aproximace zařadit více členů Bornovy řady [41, odst. 13.1.4].

1.4. Rytovova aproximace prvního řádu

Další aproximativní metodou v případě malých fluktuací indexu lomu prostředí je Rytovova aproximace [15, ods. 3.10.2], [41, odst. 13.5]. Podstatou Rytovovy aproximace je vyjádřit $U(\mathbf{r})$ v exponenciální formě

$$U(\mathbf{r}) = \exp[\psi(\mathbf{r})], \quad (1.24)$$

kde $\psi(\mathbf{r})$ je obecně komplexní funkce, a rozvinout $\psi(\mathbf{r})$ místo $U(\mathbf{r})$ v případě Bornovy řady. Laplaceův rov. (1.24) je[†]

$$\begin{aligned} \nabla^2 U(\mathbf{r}) &= \nabla \cdot \nabla \exp[\psi(\mathbf{r})] = \\ &= \nabla \cdot \{\exp[\psi(\mathbf{r})] \nabla \psi(\mathbf{r})\} = \\ &= \exp[\psi(\mathbf{r})] \nabla^2 \psi(\mathbf{r}) + \exp[\psi(\mathbf{r})] [\nabla \psi(\mathbf{r})]^2 = \\ &= U(\mathbf{r}) \{\nabla^2 \psi(\mathbf{r}) + [\nabla \psi(\mathbf{r})]^2\}. \end{aligned} \quad (1.25)$$

Dosazení za $\nabla^2 U(\mathbf{r})$ v rov. (1.16) z výsledku (1.25) vede k rovnici

$$\nabla^2 \psi(\mathbf{r}) + [\nabla \psi(\mathbf{r})]^2 + k^2 n_{back}^2 = -4\pi F(\mathbf{r}) \quad (1.26)$$

Podobně pole dopadající vlny lze zapsat ve formě

$$U_{inc}(\mathbf{r}) = \exp[\psi_{inc}(\mathbf{r})], \quad (1.27)$$

ve které $\psi_{inc}(\mathbf{r})$ bude vyhovovat rovnici

$$\nabla^2 \psi_{inc}(\mathbf{r}) + [\nabla \psi_{inc}(\mathbf{r})]^2 + k^2 n_{back}^2 = 0. \quad (1.28)$$

Odečtením (1.28) od (1.26) se obdrží rovnice

$$\nabla^2 \psi'(\mathbf{r}) + 2\nabla \psi_{inc}(\mathbf{r}) \cdot \nabla \psi'(\mathbf{r}) = -[\nabla \psi'(\mathbf{r})]^2 - 4\pi F(\mathbf{r}), \quad (1.29)$$

v níž se zavedlo označení

$$\psi(\mathbf{r}) = \psi_{inc}(\mathbf{r}) + \psi'(\mathbf{r}). \quad (1.30)$$

Použije-li se identita

$$\begin{aligned} \nabla^2 [U_{inc}(\mathbf{r}) \psi'(\mathbf{r})] &= U_{inc}(\mathbf{r}) \nabla^2 \psi'(\mathbf{r}) + 2\nabla U_{inc}(\mathbf{r}) \nabla \psi'(\mathbf{r}) + \psi'(\mathbf{r}) \nabla^2 U_{inc}(\mathbf{r}) = \\ &= U_{inc}(\mathbf{r}) \nabla^2 \psi'(\mathbf{r}) + 2U_{inc}(\mathbf{r}) \nabla \psi_{inc}(\mathbf{r}) \cdot \nabla \psi'(\mathbf{r}) + \psi'(\mathbf{r}) \nabla^2 U_{inc}(\mathbf{r}) \end{aligned} \quad (1.31)$$

[†]Shrnutí vlastností a identit vektorové analýzy lze nalézt například v [43, kap. 9].

a vezme-li se do úvahy, že

$$(\nabla^2 + k^2 n_{back}^2)U_{inc}(\mathbf{r}) = 0, \quad (1.32)$$

lze rov. (1.29) přepsat do tvaru

$$(\nabla^2 + k^2 n_{back}^2)[U_{inc}(\mathbf{r})\psi'(\mathbf{r})] = -\{[\nabla\psi'(\mathbf{r})]^2 + 4\pi F(\mathbf{r})\}U_{inc}(\mathbf{r}). \quad (1.33)$$

Rovnice (1.33) je ve stejné formě jako (1.20) a tedy její integrální řešení lze získat technikou Greenovy funkce stejně jako v odst. 1.3 integrální řešení (1.21)

$$\psi'(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi} \frac{1}{U_{inc}(\mathbf{r})} \iiint_V \{[\nabla\psi'(\mathbf{r}')]^2 + 4\pi F(\mathbf{r}')\} U_{inc}(\mathbf{r}') \frac{\exp(in_{back}k|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d^3\mathbf{r}'. \quad (1.34)$$

Rovnice (1.34) může být řešena iteračně podobně jako rov. (1.21) v případě Bornovy aproximace. První iterace $\psi'_0(\mathbf{r}) = 0$ se získá stanovením $\psi'(\mathbf{r}) = 0$ v integrálu (1.34)

$$\psi'_0(\mathbf{r}) = \frac{1}{U_{inc}(\mathbf{r})} \iiint_V F(\mathbf{r}') U_{inc}(\mathbf{r}') \frac{\exp(ik|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d^3\mathbf{r}' \quad (1.35)$$

a použitím rov. (1.29) se Rytovova aproximace zapíše ve tvaru

$$U_{Rytov}(\mathbf{r}) = \exp[\psi_{inc}(\mathbf{r}) + \psi'_0(\mathbf{r})] \quad (1.36)$$

nebo

$$U_{Rytov}(\mathbf{r}) = U_{inc}(\mathbf{r}) \exp[\psi'_0(\mathbf{r})], \quad (1.37)$$

kde $\psi'_0(\mathbf{r})$ je dáno rov. (1.35). Na integrál v rov. (1.35) lze nahlížet jako na rozptýlené pole v Bornově aproximaci (1.23) při obecné dopadající vlně $U_{inc}(\mathbf{r})$. Označí-li se toto rozptýlené pole jako $U_{Born}(\mathbf{r})$, na základě rov. (1.35) a (1.37) lze dojít k explicitnímu vztahu mezi Rytovovou aproximací prvního řádu a Bornovou aproximací prvního řádu

$$U_{Rytov}(\mathbf{r}) = U_{inc}(\mathbf{r}) \exp \left[\frac{U_{Born}(\mathbf{r})}{U_{inc}(\mathbf{r})} \right]. \quad (1.38)$$

Bornova aproximace celkového pole je podle (1.23) superpozicí dopadajícího a aproximovaného rozptýleného pole, kdežto Rytovova aproximace celkového pole (1.38) je korekcí fáze dopadajícího pole, která je sama funkcí dopadajícího pole.

Pokud se exponenciální funkce v (1.38) rozvine do mocninné řady[†] a je-li poměr $|U_{Born}(\mathbf{r})/U_{inc}(\mathbf{r})|$ dostatečně malý pro zanedbání druhého a vyšších členů, bude $U_{Rytov}(\mathbf{r}) \approx U_{inc}(\mathbf{r})$ [44, odst. 1.17], což odpovídá Bornově aproximaci pro celkové pole uvnitř rozptylujícího prostředí. Pokud se vezmou do úvahy dva první členy rozvoje, (1.38) bude mít tvar $U_{Rytov}(\mathbf{r}) \approx U_{inc}(\mathbf{r}) + U_{Born}(\mathbf{r})$ a Rytovova aproximace se redukuje na Bornovu aproximaci celkového pole vně rozptylujícího prostředí. To je případ měření dalekého pole slabě rozptylující struktury, ve kterém Bornova a Rytovova aproximace dávají prakticky stejné výsledky.

[†] $\exp(x) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{x^n}{n!}$

1.5. Metoda FDTD

1.5.1. Yeeův algoritmus

Yeeův algoritmus vychází z Maxwellových rovnic obsahující rotaci elektrické a magnetické intenzity [25, odst. 3.2]

$$\begin{aligned}\nabla \times \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) &= -\mu(\mathbf{r}) \frac{\partial \mathbf{H}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} \\ \nabla \times \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) &= \sigma(\mathbf{r}) \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \epsilon(\mathbf{r}) \frac{\partial \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{\partial t},\end{aligned}\tag{1.39}$$

kde μ , ϵ a σ jsou po řadě magnetická permeabilita, elektrická permitivita a elektrická vodivost prostředí, a provádí jejich vzorkování v čase a prostoru. Výsledkem je soustava šesti rovnic konečných diferencí složek vektorů \mathbf{E} a \mathbf{H} . Příklad rovnic konečných diferencí pro x -ovou složku elektrické intenzity E_x a y -ovou složku magnetické intenzity H_y je [45]

$$\begin{aligned}E_x^{n+1}(i+1/2, j, k) &= \left[1 - \frac{\sigma(i+1/2, j, k)\Delta t}{\epsilon(i+1/2, j, k)} \right] E_x^n(i+1/2, j, k) + \frac{\Delta t}{\epsilon(i+1/2, j, k)\Delta d} \times \\ &\times [H_z^{n+1/2}(i+1/2, j+1/2, k) - H_z^{n+1/2}(i+1/2, j-1/2, k) + \\ &+ H_y^{n+1/2}(i+1/2, j, k-1/2) - H_y^{n+1/2}(i+1/2, j, k+1/2)],\end{aligned}\tag{1.40}$$

$$\begin{aligned}H_y^{n+1/2}(i+1/2, j, k+1/2) &= H_y^{n-1/2}(i+1/2, j, k+1/2) + \frac{\Delta t}{\mu\Delta d} \times \\ &\times [E_z^n(i+1, j, k+1/2) - E_z^n(i, j, k+1/2) + \\ &+ E_x^n(i+1/2, j, k) - E_x^n(i+1/2, j, k+1)].\end{aligned}\tag{1.41}$$

Celá čísla i , j , k udávají pozici ve vzorkovaném prostoru a Δt a Δd jsou časový a prostorový vzorkovací interval[‡]. Podobné rovnice jako (1.40) a (1.41) platí i pro zbývající složky vektorů E_y , E_z a H_x , H_z . Pozice složek vektorů E a H v trojrozměrném prostoru, tzv. Yeeově mřížce, jsou ukázány na obr. 1.2.

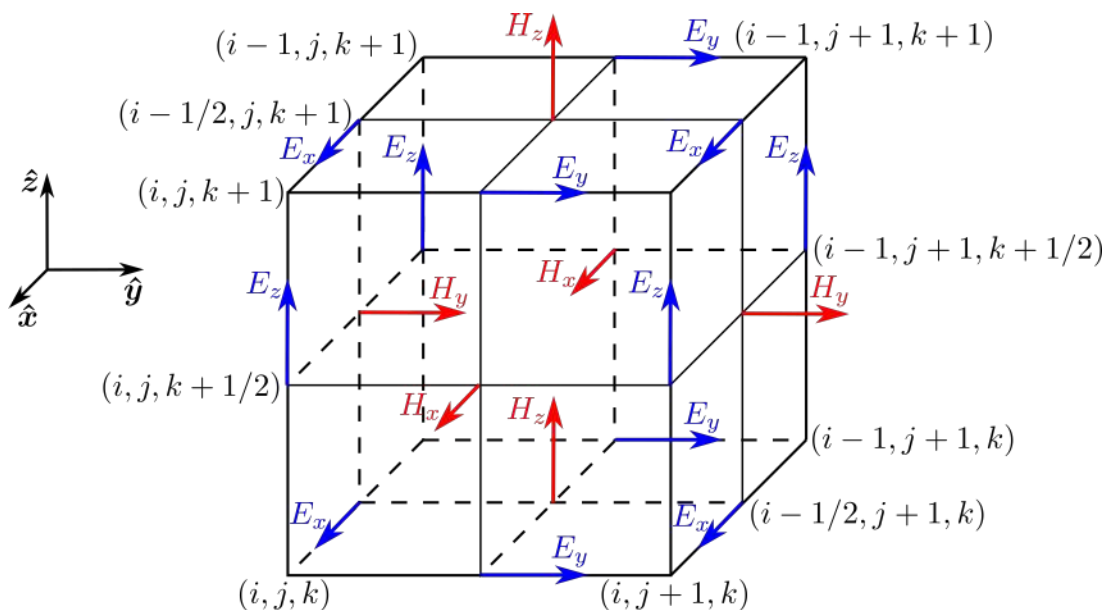
Ucelený popis Yeeova algoritmu lze nalézt např. v [25, odst. 3.6] nebo [45].

1.5.2. Formulace celkového a rozptýleného pole

Formulace, resp. technika celkového a rozptýleného pole je založena nahrazení dopadající vlny zdrojem na fiktivní uzavřené ploše zcela obklopující zkoumanou strukturu. Tato plocha se v této práci bude nazývat TFSSF zdrojem (z anglického *total field/scattered field*). Celkové pole \mathbf{E}_{total} je simulováno pouze uvnitř objemu ohraničeného TFSSF plochou a vně objemu je počítáno pouze pole rozptýlené \mathbf{E}_{scat} , viz obr. 1.3. Technika vychází z linearity Maxwellových rovnic a pro rozptýlené pole tedy platí

$$\mathbf{E}_{scat} = \mathbf{E}_{total} - \mathbf{E}_{inc},\tag{1.42}$$

[‡]V případě ekvidistantního prostorového vzorkování se bude pro jednoduchost psát $\Delta x = \Delta y = \Delta z = \Delta d$, kde Δx , Δy , Δz jsou vzorkovací intervaly ve směrech os x , y , z , v tomto pořadí.



Obr. 1.2: Pozice složek vektorů elektrické \mathbf{E} a magnetické \mathbf{H} intenzity v Yeeově mřížce. Převzato a upraveno z [46, odst. 4.3].

kde \mathbf{E}_{inc} označuje pole dopadající vlny, zde dopadající vlny rovinné. Identický vztah (1.42) platí i pro vektor magnetické intenzity \mathbf{H} .

Použití TFSF zdroje přináší nové možnosti a řadu výhod [25, odst. 6.5.1]. Například dopadající pole \mathbf{E}_{inc} libovolného tvaru, úhlu dopadu a polarizace je omezeno na oblast celkového pole, viz obr. 1.3. To umožňuje existenci oblasti rozptýleného pole pro další analýzu. Zavedení oblasti rozptýleného pole také přináší větší využití potenciálu absorpčních okrajových podmínek (viz 1.5.3), které simulují prostorový dosah FDTD výpočetního okna do nekonečna a zároveň dostatečně potlačují nežádoucí odrazy na jeho hranicích. V neposlední řadě TFSF zdroj také dovoluje provést záznam rozptýleného pole na virtuální ploše obklopující zkoumanou strukturu a tento záznam poté použít pro výpočet dalekého pole, možnosti které bylo využita i v této práci, viz odst. 2.3.

Typické aplikační použití techniky celkového a rozptýleného pole zahrnuje například Mieův rozptyl [47, kap. 4] nebo rozptyl na povrchu a uvnitř vícevrstvých substrátů [48].

1.5.3. Absorpční okrajové podmínky

Většina simulací rozptylu světla předpokládá šíření elektromagnetického pole do nekonečna. Nemožnost řešit tyto otevřené problémy při simulacích metodou FDTD vedla k zavedení umělých hranic, které virtuálně rozšiřují výpočetní okno do nekonečna. V ideálním případě je všechna energie na hranicích absorbována a žádná odražena zpět dovnitř výpočetního okna.

Podmínka splňující tento požadavek se nazývá absorpční okrajovou podmínkou ABC (z anglického *absorbing boundary condition*). Existuje množství různých typů ABC, jejichž shrnutí a popis lze nalézt například v [26, kap. 5]. ABC lze rozdělit do tří základních kategorií: globální ABC, lokální ABC a absorpční prostředí. Globální ABC vyžaduje pro výpočet pole v jednom bodě hranice znalost úplné historie pole na celé ploše hranice [49, 50]. Na druhou stranu lokální ABC obvykle vyžadují pouze znalost pole v nejbližším okolí bodu hranice, vykazují však větší artefakty v odrazu než globální ABC a absorpční

1.5. METODA FDTD

prostředí. Mezi neúspěšnější metody lokálních ABC patří třída Engquista-Majdaova [51], založená na vlnové rovnici pro vlnu šířící se pouze v určitých směrech a kterou pro metodu FDTD využil G. Mur [46, odst. 8.1]. Obecně různé metody ABC jsou vhodné pro různé aplikace a správná volba určité ABC zvýší účinnost a stabilitu simulace.

Původní ABC ovšem v jistých případech vykazovaly poměrně velké artefakty v odrazu a také nedostačovaly pro komplexnější materiály. To se změnilo s příchodem techniky dokonale přizpůsobené vrstvy PML (z anglického *perfectly matched layer*), která byla poprvé zavedena a popsána v [52]. PML patří do třídy absorpčních prostředí, které nahrazují explicitní okrajové podmínky v případě lokálních a globálních ABC simulovanou vrstvou prostředí s minimální odrazivostí [26, odst. 5.1] a nacházející se na hranicích výpočetního okna. Na PML lze nahlížet jako na absorpční materiál s anizotropní permitivitou ϵ [53]. PML lze přizpůsobit i pro ztrátové, nehomogenní či nelineární materiály [26, odst. 6.1]. Lze konstatovat, že až zavedením PML okrajové podmínky se FDTD simulační metoda stala skutečně efektivním nástrojem pro široké spektrum aplikací, viz odst. 1.1. PML podmínky byly využity i v této práci, jako je ukázáno na obr. 1.3 nebo 2.1.

1.5.4. Numerická přesnost a stabilita

Motivací pro správnou volbu prostorového Δd a časového Δt vzorkovacího intervalu je numerická přesnost a stabilita, v tomto pořadí [45]. Pro zajištění přesnosti Δd musí být dostatečně malé, aby se pole neměnilo příliš výrazně s přírůstkem Δd (jinak řečeno $\Delta d \ll \lambda$) a zároveň aby prostorové vzorkování dostatečně aproximovalo detaily zkoumané struktury. Pro zajištění numerické stability časově a prostorově vzorkovaného výpočtu řešící parciální diferenciální rovnice, jakým je i metoda FDTD, horní mez Δt musí být stanovena podle [26, odst. 3.5]

$$\Delta t < \frac{1}{c} \left(\frac{1}{\Delta x^2} + \frac{1}{\Delta y^2} + \frac{1}{\Delta z^2} \right)^{-1/2}, \quad (1.43)$$

kde c je rychlost světla. Vztah (1.43) definuje tzv. Courantovu-Freedrichsovu-Lewyho podmínku stability Yeeova algoritmu pro řešení Maxwellových rovnic v prostoru. V případě stejného prostorového vzorkování ve všech osách $\Delta x = \Delta y = \Delta z = \Delta d$ a fázové rychlosti v v prostředí o indexu lomu n bude mít podmínka tvar

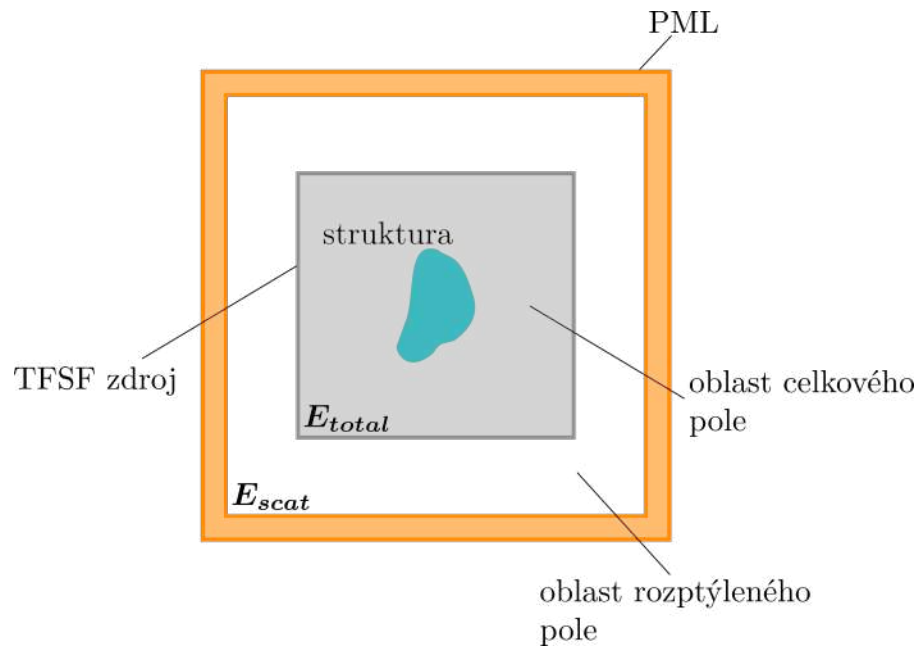
$$\Delta t < \frac{\Delta d}{v} \frac{1}{\sqrt{3}} \quad (1.44)$$

Nerovnici (1.44) lze přepsat do tvaru

$$\frac{\Delta d}{v\Delta t} \frac{1}{\sqrt{3}} = C < 1 \quad (1.45)$$

kde C je tzv. Courantovo číslo. Pro stabilní výpočet tedy podle (1.45) musí platit $C < 1$.

1. METODY VÝPOČTU ROZPTYLU SVĚTLA



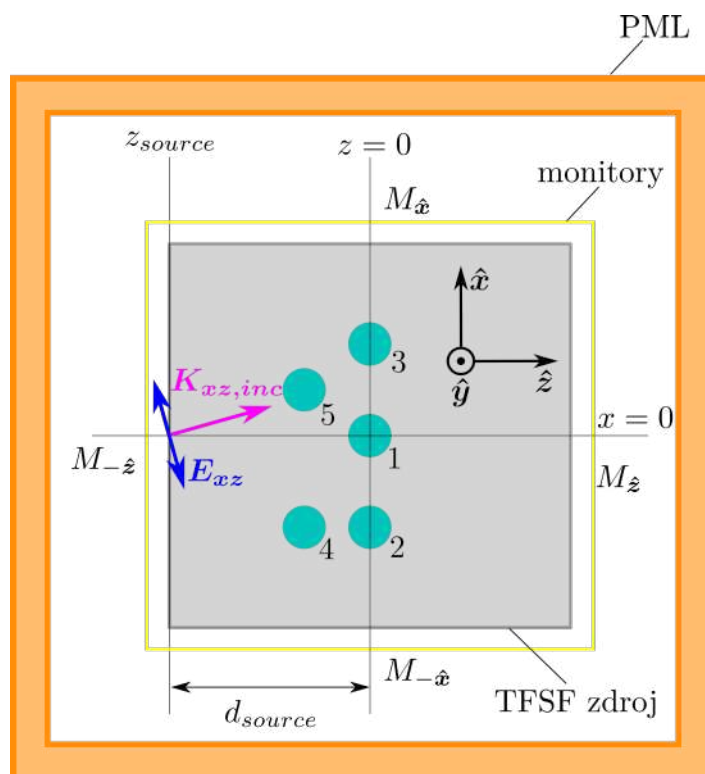
Obr. 1.3: Schéma výpočetního okna pro metodu FDTD.

2. Výpočet rozptylu světla pomocí metody FDTD

Simulace FDTD metodou byly prováděny v programu Lumerical [54]. Kapitola obsahuje podrobný návod jak získat blízka pole v tomto programu pro účely simulace zobrazování v holografickém mikroskopu v kap. 3 a 4. Je definováno výpočetní okno a popsán postup, jakým způsobem zadávat parametry dopadající (excitační) vlny. Je navrhnut přístup pro výpočet úhlového spektra z pole dalekého a nakonec jsou uvedeny vybrané výsledky výpočtů blízkého a dalekého pole.

2.1. Výpočetní okno

Na obr. 2.1 se nachází náčrt řezu v rovině $y = 0$ výpočetního okna se zkoumanou strukturou, zde organelami 1 až 5. Jako zdroj je použit TFSSF zdroj (odst. 1.5.2). Blízké celkové či rozptýlené pole je zaznamenáváno na monitory. Symbolem $M_{\hat{z}}$ bude označován monitor, jehož normála míří ve směru jednotkového vektoru \hat{z} . Je zvykem umisťovat monitory do vzdálenosti větší než je vlnové délka použitého světla od nejbližší hranice struktury, aby se zajistilo, že na monitory nebudou zaznamenávány nežádoucí evanescentní vlny. Výpočetní okno je ohraničeno PML absorpční vrstvou, jehož vlastnosti jsou popsány v odst. 1.5.3.



Obr. 2.1: Náčrt řezu v rovině $y = 0$ výpočetního okna se zkoumanými organelami 1 až 5.

V tab. 2.1 je výčet všech významných parametrů zkoumané struktury a výpočetního okna. Mezní doba simulace t_{max} byla volena tak, aby byla větší než čas, který potřebuje

2.2. GEOMETRIE DOPADAJÍCÍCH VLN

dopadající vlna k uražení vzdálenosti mezi rovinou zdroje z_{source} a rovinou monitoru M_z pro největší zkoumaný úhel dopadu (viz odst. 2.2). Parametr vypnutí simulace ε_{off} udává poměr celkové energie nacházející se uvnitř výpočetního okna ku energii dopadající vlny[†], při kterém dojde k automatickému zastavení simulace. Větší počet PML vrstev zpravidla vede k menším odrazům na hranicích výpočetního okna, ovšem za cenu většího výpočetního času [56]. Pro účely práce se ukázalo jako dostatečný počet PML vrstev 20.

Tab. 2.1: Tabulka parametrů zkoumané struktury a výpočetního okna na obr. 2.1. Veškeré prostorové rozměry jsou udávány v μm a časové ve fs.

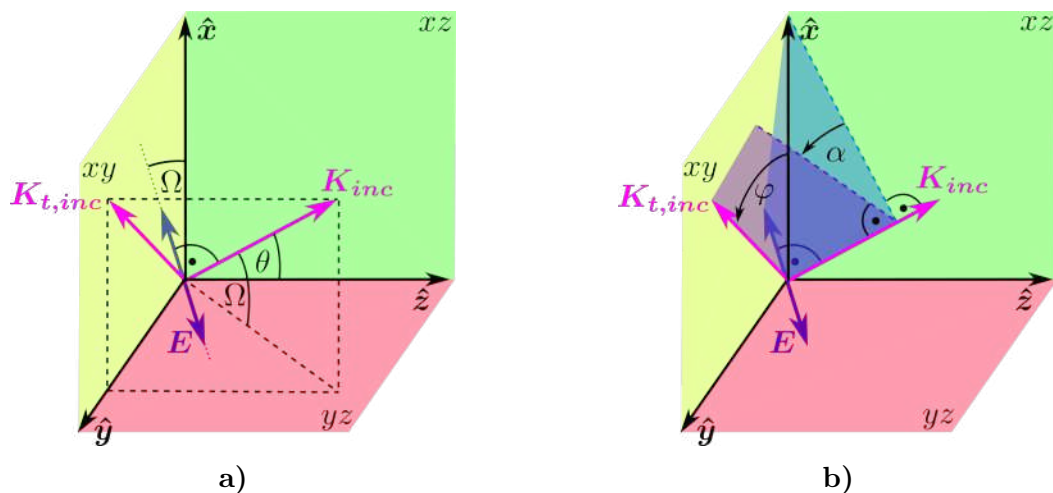
parametr	hodnota
vlnová délka λ	0,65
index lomu pozadí n_{back}	1,336 (voda)
index lomu organel n_{body}	1,37
poloměr organel R	0,49
poloha organely 1 \mathbf{r}_1	(0;0;0)
poloha organely 2 \mathbf{r}_2	(-1,95;0;0)
poloha organely 3 \mathbf{r}_3	(1,95;0;0)
poloha organely 4 \mathbf{r}_4	(-1,95;0;-1,43)
poloha organely 5 \mathbf{r}_5	(0,98;0;-1,43)
rovina TFSF zdroje z_{source}	-2,57
prostorový vzorkovací interval $\Delta x = \Delta y = \Delta z$	0,05
rozlišení dalekého pole $N \times N$	65×65
časový vzorkovací interval Δt	$9,50 \cdot 10^{-2}$
mezní doba simulace t_{max}	120
parametr vypnutí simulace ε_{off}	$1 \cdot 10^{-3}$
počet PML vrstev $\#_{PML}$	20
Courantovo číslo C	0,25

2.2. Geometrie dopadajících vln

Grafická reprezentace konvence pro geometrii dopadající vlny používané v programu Lumerical je vyobrazena na obr. 2.2. Směr redukovaného vlnového vektoru dopadající vlny \mathbf{K}_{inc} je jednoznačně dán neorientovanou úhlovou souřadnicí (zenitovým úhlem) θ (*angle theta* na obr. 2.3), vyznačenou na obr. 2.2a), a orientovanou úhlovou souřadnicí

[†]Ve skutečnosti je v Lumericalu dopadající vlna ve formě pulzu, ke kterému se poté normují veškeré záznamy polí na monitorech [55].

2. VÝPOČET ROZPTYLU SVĚTLA POMOCÍ METODY FDTD



Obr. 2.2: Grafická reprezentace konvence používané v programu Lumerical. **a)** Trojrozměrný pohled s vyznačenou úhlovou souřadnicí θ (rov. (2.1)) a úhlem Ω (rov. (2.4)). **b)** Trojrozměrný pohled s vyznačenou úhlovou souřadnicí φ (rov. (2.2)) a polarizačním úhlem α (rov. (2.3)).

(azimutem) φ (*angle phi* na obr. 2.3), vyznačenou na obr. 2.2b). Na základě obr. 2.2 lze úhlové souřadnice θ a φ získat převodními vztahy

$$\theta = \arcsin \frac{\sqrt{K_{x,inc}^2 + K_{y,inc}^2}}{K}, \quad \theta \in \langle 0, 90^\circ \rangle, \quad (2.1)$$

$$\varphi = \left\{ \begin{array}{ll} \arctan \frac{K_{y,inc}}{K_{x,inc}} & \text{pokud } K_{x,inc}, K_{y,inc} \geq 0, \\ \arctan \frac{K_{y,inc}}{K_{x,inc}} + 180^\circ & \text{pokud } K_{x,inc} < 0, \\ \arctan \frac{K_{y,inc}}{K_{x,inc}} + 360^\circ & \text{pokud } K_{x,inc} \geq 0, K_{y,inc} < 0, \end{array} \right\} \varphi \in \langle 0, 360^\circ \rangle. \quad (2.2)$$

Polarizační úhel α (*polarization angle* na obr. 2.3) vyznačený na obr. 2.2b), je orientovaný úhel otáčející kmitovou rovinou EK_{inc} [†]. Pro $\alpha = 0$ kmitová rovina EK_{inc} splývá s rovinou $K_{inc}K_{t,inc}$. Hodnota α byla volena tak, aby kmitová rovina splývala s rovinou xK_{inc} , tedy

$$\alpha = -\varphi. \quad (2.3)$$

Neorientovaný úhel Ω , vyznačený na obr. 2.2a), je úhel mezi vektorem \mathbf{E} a rovinou yz a při nastavení (2.3) i úhel mezi vektory \mathbf{E} a \hat{x} . Úhel Ω bude později využit pro geometrický faktor $\kappa(\Omega)$ při výpočtu dalekého pole (2.6). Pro $\kappa(\Omega)$ s pomocí obr. 2.2 platí

$$\kappa(\Omega) = \kappa(\mathbf{K}_{t,inc}) = \cos \Omega = \sqrt{1 - \sin^2 \theta \cos^2 \varphi}, \quad \Omega \in \langle 0, 90^\circ \rangle. \quad (2.4)$$

[†]Podobně jako „rovina xy “ označuje rovinu vytyčenou vektory \hat{x} a \hat{y} a procházející počátkem souřadnicové soustavy 2.2, „rovina EK_{inc} “ zde označuje rovinu vytyčenou vektory \mathbf{E} a \mathbf{K}_{inc} a procházející počátkem souřadnic 2.2.

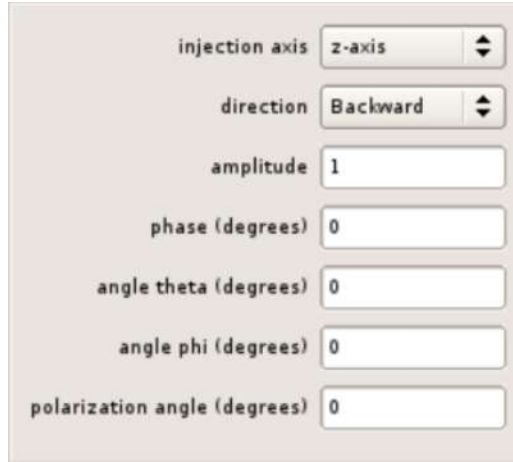
2.3. ZÍSKÁNÍ BLÍZKÉHO POLE A ÚHLOVÉHO SPEKTRA

Počáteční fáze β_0 (*phase* na obr. 2.3) dopadající vlny v rovině zdroje z_{source} byla nastavována jako

$$\beta_0 = \arg\{\exp[-i2\pi(K_{z,inc}d_{source} + \xi)]\}, \quad (2.5)$$

kde ξ zde označuje tzv. „korekční fázi“. Potřeba uvažovat korekční fázi je důsledkem numerické diskretizace a požadavkem měřit očekávanou komplexní amplitudu dopadající vlny $U_{inc}(\mathbf{r}_t, z)$ na monitoru v rovině z . Bez ξ v (2.5) byly na monitorech měřeny komplexní amplitudy $U_{inc}(\mathbf{r}_t, z)$, které neodpovídaly očekávání při zadávání počáteční fáze pouze $\beta_0 = \arg\{\exp(-i2\pi K_{z,inc}d_{source})\}$. Bylo zjištěno, že ξ závisí na prostorovém vzorkovacím intervalu Δd , nikoliv však na složce $K_{z,inc}$, tedy $\xi = \xi(\Delta d)$. Hodnota korekční fáze bude tím menší, čím vyšší bude rozlišení výpočetního okna.

Postup pro změření ξ při daném vzorkování Δd je následující. Z výpočetního okna se vyjme zkoumaná struktura, celkové pole tedy tedy $U_{total}(\mathbf{r}_t, z) = U_{inc}(\mathbf{r}_t, z)$ ($U_{scat}(\mathbf{r}_t, z) = 0$), a zároveň geometrie a ostatní parametry výpočetního okna zůstávají původní. Do roviny $z = 0$ se vloží monitor a parametry zdroje se nastaví na $\theta = 0^\circ$ (kolmý dopad), $\alpha = -\varphi$ (φ je pro tento případ libovolné) a $\beta_0 = \arg\{\exp(-i2\pi K_{inc}d_{source})\}$ (pro kolmý dopad je $K_{z,inc} = K_{inc}$). Po provedení simulace se korekční fáze ξ získá z komplexní amplitudy nahané na monitor $z = 0$ jako $\xi = \arg\{U_{inc,\perp}(\mathbf{r}_t, 0)\} = \text{konst.}$.



Obr. 2.3: Parametry geometrie dopadající vlny zadávané v programu Lumerical.

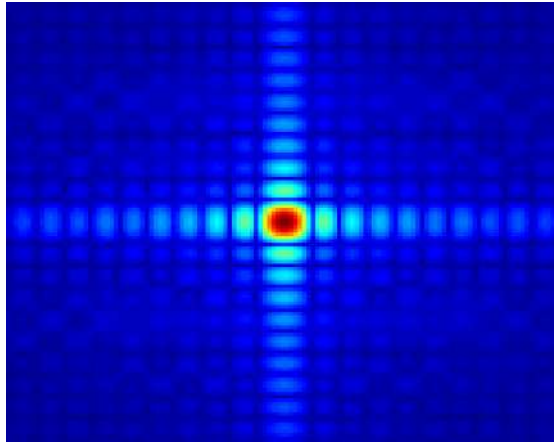
2.3. Získání blízkého pole a úhlového spektra

Jak již bylo zmíněno dříve, účelem řešení rozptylové úlohy je získat matici rozptylu \mathcal{S} pro rekonstrukci holografického signálu v odst. 3.2. Prvky této matice odpovídají amplitudám úhlového spektra $A(\mathbf{K}_t)$ blízkého pole, které je získáno simulací rozptylu monochromatické rovinné vlny na zkoumané struktuře metodou FDTD. Alternativně lze úhlové spektrum získat i z dalekého pole.

Program Lumerical nabízí více přístupů pro získání blízkého celkového či rozptýleného pole v závislosti na uživatelských požadavcích. Následuje výčet prozkoumaných přístupů s jejich výhodami i nevýhodami. Je vybrán nejvhodnější přístup pro účely práce.

Záznam blízkého celkového pole na monitor

Nejpřímější přístup získání blízkého celkového pole je záznam pole přímo na monitor, viz obr. 2.5a). Přístup je vhodný pro přibližně rovinné struktury a pro relativně malé úhly dopadu θ . Pro trojrozměrné struktury, jako je například soustava organel na obr. 2.1, a větším úhlu dopadu θ je potřeba volit i větší rozměry monitoru, což vede k potřebě zvětšení výpočetního okna a tím ke zvýšení výpočetního času. Ze záznamu blízkého celkového pole na monitoru lze programem v Lumerical vypočítat pole daleké. Výsledek však popisuje Fraunhoferovu difrakci na obdélníkovém otvoru [11, odst. 10.2.4], jak ukazuje obr. 2.4, proto tento přístup není vhodný pro zkoumání rozptylových účinků struktury.



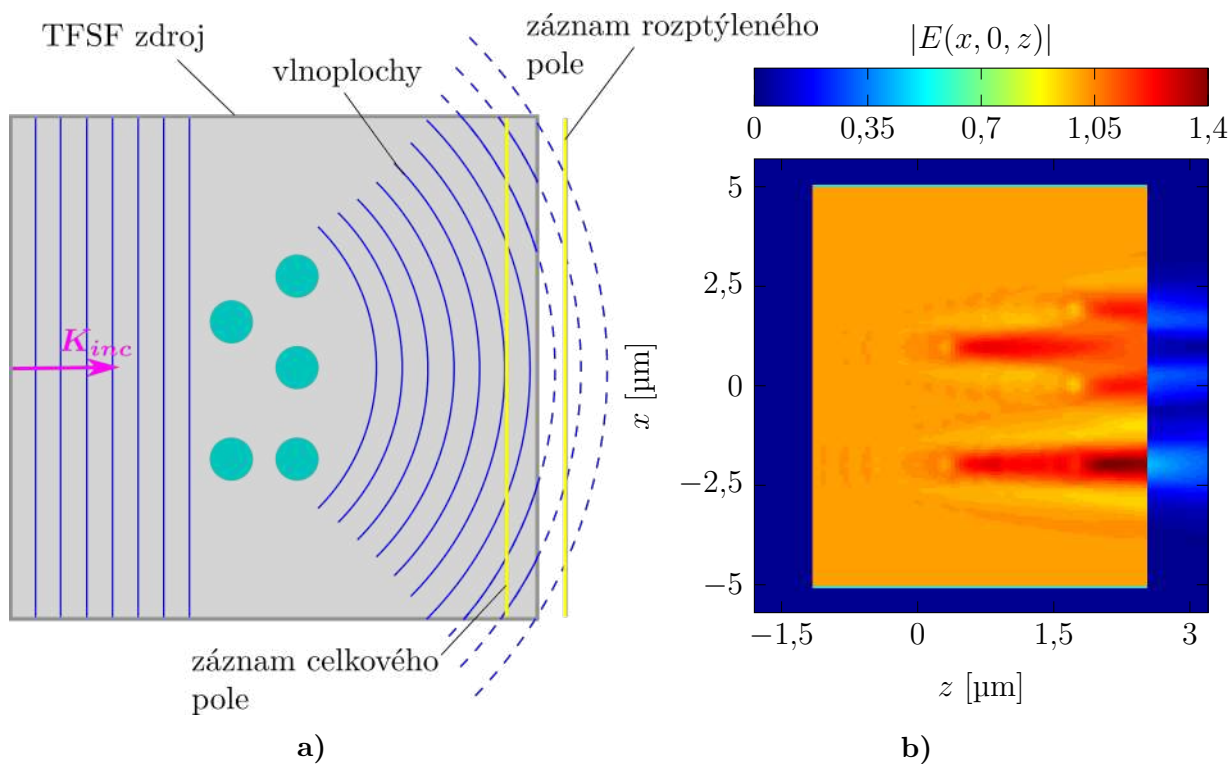
Obr. 2.4: Ukázka výpočtu dalekého pole ze záznamu blízkého celkového pole na monitoru M_z ze simulace rozptylu světla na organelech 2.1 pro $\theta = 0^\circ$. Výpočet dalekého pole je v tomto případě Fraunhoferovou difrakcí na obdélníkovém otvoru.

Záznam blízkého rozptýleného pole na monitor

Využitím TFSSF zdroje lze v Lumericalu zaznamenat na monitor pouze rozptýlené pole, viz obr. 2.5b). Stejně jako u celkového blízkého pole lze tuto možnost bez nutnosti použití monitorů velkých[†] rozměrů využít pro rovinné struktury a malé θ . Z blízkého rozptýleného pole zaznamenaného na monitor již lze případně určit daleké rozptýlené pole.

[†]Monitor, který je dvakrát větší než největší příčný rozměr struktury, je zde již považován za „velký“.

2.3. ZÍSKÁNÍ BLÍZKÉHO POLE A ÚHLOVÉHO SPEKTRA



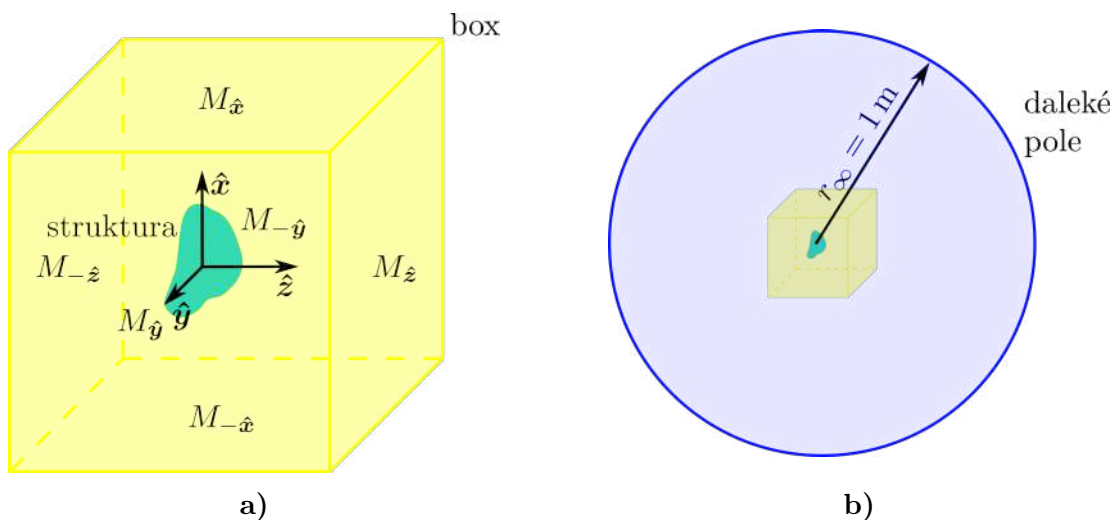
Obr. 2.5: a) Schéma formulace TFSSF zdroje se záznamem celkového a rozptýleného pole. b) Záznam pole na monitor v rovině $y = 0$ ze simulace rozptylu na organelách 2.1 pro $\theta = 0^\circ$.

2.3.1. Přístup dalekého pole

Motivací pro výpočet dalekého pole jako mezikrok pro získání úhlového spektra byla skutečnost, že monitorem M_z na obr. 2.1 lze zaznamenávat pouze prostorově omezenou část pole. Při velkých úhlech dopadu θ se tak ztrácí podstatná informace o vlně rozptýlené na zkoumané struktuře.

Monitory $M_{\pm\hat{x}}$, $M_{\pm\hat{y}}$, $M_{\pm\hat{z}}$ tvořící stěny boxu na obr. 2.6a) již zaznamenávají rozptýlené pole ve všech směrech bez ohledu na úhlu dopadu θ . Spojením těchto monitorů vznikne virtuální plocha zcela obklopující zkoumanou strukturu. Výpočet dalekého pole využívá tzv. teorému o ekvivalenci uzavřené plochy, který říká, že pole mimo virtuální uzavřenou plochu lze získat ze znalosti tečných složek pole na této ploše[‡] [25, kap. 8]. Daleké rozptýlené pole bylo počítáno na sféře o poloměru 1 m se středem v počátku souřadnic výpočetního okna (výchozí nastavení pro výpočet dalekého pole v Lumericalu, viz 2.6b)).

Jelikož daleké pole získané ze záznamů na monitorech tvořících box obsahuje úplnou informaci o poli ve všech směrech, hledal se způsob, jak daleké pole využít pro zpětný výpočet blízkého pole $U(\mathbf{r}_t, z)$, resp. úhlového spektra $A(\mathbf{K}_t; z)$ v rovině z .



Obr. 2.6: a) Monitory boxu tvoří uzavřenou plochu obklopující strukturu. b) Daleké pole je počítáno na sféře o poloměru 1 m se středem v počátku souřadnic výpočetního okna.

Daleké pole je obecně vektorovým polem a program Lumerical nabízí výpočet kompletního vektoru daleké elektrické intenzity \mathbf{E}_∞

$$\mathbf{E}_\infty(\mathbf{r}) = (E_{x,\infty}(\mathbf{r}), E_{y,\infty}(\mathbf{r}), E_{z,\infty}(\mathbf{r})). \quad (2.6)$$

Jelikož vztahy v kap. 3 jsou odvozeny v rámci skalární formulace, do dalších úvah bude zahrnována pouze x -ová složka obecně vektorového pole. Na základě obr. 2.2 a rov. (2.4) bude daleké pole $U_\infty(\mathbf{s})$ definováno pomocí x -ové složky elektrické intenzity $E_{x,\infty}(\mathbf{r})$ škálované geometrickým faktorem $\kappa(\mathbf{K}_{t,inc})$

$$U_\infty(\mathbf{s}) = \frac{E_{x,\infty}(\mathbf{r})}{\kappa(\mathbf{K}_{t,inc})}. \quad (2.7)$$

[‡]Přesněji řečeno daleké pole se počítá z plošných elektrických a magnetických proudů splňující určité okrajové podmínky na uzavřené ploše, viz [25, kap. 8.4].

2.3. ZÍSKÁNÍ BLÍZKÉHO POLE A ÚHLOVÉHO SPEKTRA

Vztah mezi úhlovým spektrem a dalekým polem

Odvozením vztahu mezi úhlovým spektrem $A(\mathbf{K}_t; z)$ a obecným (celkovým či rozptýleným) dalekým polem se zabývá např. [57, odst. 3.4]. Pro výpočet dalekého pole ve velké vzdálenosti $r = (x^2 + y^2 + z^2)^{1/2}$ od počátku soustavy souřadnic se v rov. (1.7) požaduje, aby $r = r_\infty \rightarrow \infty$

$$U_\infty(\mathbf{s}) = \lim_{Kr \rightarrow \infty} \iint_{K_t \leq K} A(\mathbf{K}_t, 0) \exp(i2\pi Kr \hat{\mathbf{K}} \cdot \mathbf{s}) d^2 \mathbf{K}_t, \quad (2.8)$$

kde

$$\mathbf{s} = (s_x, s_y, s_z) = \left(\frac{x}{r}, \frac{y}{r}, \frac{z}{r} \right) \quad (2.9)$$

je jednotkový směrový vektor směřující do polohy \mathbf{r}_∞ a $\hat{\mathbf{K}} = \frac{\mathbf{K}}{K}$. Evanescentní vlny nepřispívají do dalekého pole, proto je integrační oblast v (2.8) omezena na $K_t \leq K$. Asymptotické chování dvojitého integrálu v (2.8) pro $Kr \rightarrow \infty$ lze popsat metodou tzv. stacionární fáze [58, odst. 3.3], která vede k výsledku

$$U_\infty(\mathbf{s}) = -iK s_z A(\mathbf{K}_t; 0) \frac{\exp(i2\pi Kr)}{r}, \quad (2.10)$$

kde \mathbf{K} a \mathbf{s} jsou spolu svázány podmínkou

$$\mathbf{K} = K \mathbf{s}, \quad (2.11)$$

tedy slovně řečeno pouze rovinná vlna s vlnovým vektorem \mathbf{K} přispívá k dalekému poli ve směru \mathbf{s} . Po přeuspořádání (2.10) lze získat vztah pro výpočet úhlového spektra $A(\mathbf{K}_t, 0)$ v rovině $z = 0$ z dalekého pole $U_\infty(\mathbf{s})$

$$A(\mathbf{K}_t; 0) = \frac{ir \exp(-i2\pi Kr)}{K_z} U_\infty(\mathbf{s}). \quad (2.12)$$

Výpočet rozptýleného a celkového pole

V práci bylo počítáno daleké pole ze záznamů rozptýleného pole, a proto rovnice (2.12) zde udává vztah mezi úhlovým spektrem blízkého rozptýleného pole $A_{scat}(\mathbf{K}_t; 0)$ a dalekým rozptýleným polem $U_{scat, \infty}(\mathbf{s})$. Blízké rozptýlené pole $U_{scat}(\mathbf{r}_t, 0)$ se podle (1.7) poté vypočítá jako zpětná Fourierova transformace spektra $A_{scat}(\mathbf{K}_t; 0)$

$$U_{scat}(\mathbf{r}_t, 0) = \mathcal{F}^{-1}\{A_{scat}(\mathbf{K}_t; 0)\}. \quad (2.13)$$

Blízké celkové pole $U_{total}(\mathbf{r}_t, 0)$ lze získat podle (1.7) zpětnou Fourierovou transformací úhlového spektra $A_{total}(\mathbf{K}_t; 0)$ po přičtení Diracovy delta funkce vyjadřující příspěvek dopadající vlny ve spektru k $A_{scat}(\mathbf{K}_t; 0)$

$$U_{total}(\mathbf{r}_t, 0) = \mathcal{F}^{-1}\{A_{total}(\mathbf{K}_t; 0)\} = \mathcal{F}^{-1}\{A_{scat}(\mathbf{K}_t; 0) + \delta^2(\mathbf{K}_t - \mathbf{K}_{t, inc})\}, \quad (2.14)$$

nebo zpětnou Fourierovou transformací spektra $A_{scat}(\mathbf{K}_t; 0)$ a přičtením pole dopadající vlny $U_{inc}(\mathbf{r}_t, 0)$ k poli rozptýlenému $U_{scat}(\mathbf{r}_t, 0)$

$$U_{total}(\mathbf{r}_t, 0) = U_{scat}(\mathbf{r}_t, 0) + U_{inc}(\mathbf{r}_t, 0) = \mathcal{F}^{-1}\{A_{scat}(\mathbf{K}_t; 0)\} + U_{inc}(\mathbf{r}_t, 0). \quad (2.15)$$

2. VÝPOČET ROZPTYLU SVĚTLA POMOCÍ METODY FDTD

Rozptýlené $U_{scat}(\mathbf{r}_t, z)$ a celkové $U_{total}(\mathbf{r}_t, z)$ pole v rovině z lze získat podle (1.11)

$$U_{scat}(\mathbf{r}_t, z) = \mathcal{F}^{-1}\{A_{scat}(\mathbf{K}_t; z)\} = \mathcal{F}^{-1}\{A_{scat}(\mathbf{K}_t; 0) \exp(i2\pi K_z z)\}, \quad (2.16)$$

$$U_{total}(\mathbf{r}_t, z) = \mathcal{F}^{-1}\{A_{total}(\mathbf{K}_t; z)\} = \mathcal{F}^{-1}\{A_{total}(\mathbf{K}_t; 0) \exp(i2\pi K_z z)\}. \quad (2.17)$$

Numerické aspekty výpočtu $U_{total}(\mathbf{r}_t, z)$ v diskrétním případě jsou probrány v odst. 2.4.

Závěr

Po zvážení a vyzkoušení přístupů uvedených výše byla pro účely práce vybrána možnost získání úhlového spektra z dalekého rozptýleného pole vypočítaného z boxu zcela obklopující zkoumanou strukturu organel. Tato možnost nejlépe splňovala požadavek získat spektra i pro poměrně velké úhly dopadu θ (v práci byl největší uvažovaný úhel dopadu 77°).

2.4. Důsledky diskretizace

Následuje krátký pohled do způsobu a důsledků diskretizace pole a úhlového spektra použité v práci.

Vzorkování úhlového spektra a pole

V případě výpočtu úhlového spektra $A(\mathbf{K}_t, 0)$ podle rov. (2.12) je rozlišení frekvenční domény shodné s uživatelem Lumericalu zvoleným rozlišením $N \times N$ dalekého pole $U_\infty(\mathbf{s})$, viz tab. 2.1. Vzorkovací interval prostorové frekvence ΔK_t úhlového spektra se poté vypočítá jako

$$\Delta K_t = \frac{2K_{t,max}}{N-1} = \frac{2n}{\lambda(N-1)}, \quad (2.18)$$

kde $K_{t,max}$ je mezní přenesená prostorová frekvence při zcela otevřené apertuře

$$K_{t,max} = K_{x,max} = K_{y,max} = \frac{n \sin 90^\circ}{\lambda} = \frac{n}{\lambda}. \quad (2.19)$$

Na základě vzorkovacího teorému [59, odst. 2.1] je prostorový podélný rozměr L a podélný vzorkovací interval ΔL určen ze vztahů

$$L = \frac{1}{\Delta K_t}, \quad \Delta L = \frac{1}{2K_{t,max}}. \quad (2.20)$$

Spojité pole $U(\mathbf{r}_t, 0)$ a úhlové spektrum $A(\mathbf{K}_t; 0)$ jsou nahrazeny svými diskrétními formami

$$U(\mathbf{r}_t, 0) \longrightarrow U(\mathbf{r}_t(m, n), 0), \quad A(\mathbf{K}_t; 0) \longrightarrow A(\mathbf{K}_t(p, q); 0), \quad (2.21)$$

kde m, n, p, q jsou celá kladná čísla. Složky polohového vektoru $\mathbf{r}_t(m, n) = (x(m), y(n))$ byly v práci vzorkovány podle vztahů

$$x(m) = \left(i - \left\lfloor \frac{N}{2} \right\rfloor \right) \Delta L, \quad y(n) = \left(j - \left\lfloor \frac{N}{2} \right\rfloor \right) \Delta L, \quad m, n = 0, 1, 2, \dots, N, \quad (2.22)$$

kde $\lfloor x \rfloor$ označuje dolní celou část čísla x .

2.5. VERIFIKACE METODY FDTD PRO VÝPOČET ROZPTYLU

Vzorkování vlnového vektoru dopadající vlny

Spojité vlnový vektor dopadající vlny $\mathbf{K}_{t,inc}$ je nahrazen svou diskretní formou

$$\mathbf{K}_{t,inc} \longrightarrow \mathbf{K}_{t,inc}(i, j), \quad (2.23)$$

kde i, j jsou celá kladná čísla a jehož vzorkovací interval byl s výhodou zvolen (2.18)

$$\Delta K_{x,inc} = \Delta K_{y,inc} = \Delta K_t. \quad (2.24)$$

Složky vlnového vektoru $\mathbf{K}_{t,inc}(i, j) = (K_{x,inc}(i), K_{y,inc}(j))$ byly tedy vzorkovány podle vztahů

$$K_x(i) = \left(i - \left\lfloor \frac{N}{2} \right\rfloor\right) \Delta K_t, \quad K_y(j) = \left(j - \left\lfloor \frac{N}{2} \right\rfloor\right) \Delta K_t, \quad i, j = 0, 1, 2, \dots, N. \quad (2.25)$$

Diskretní delta funkce

Tvar diskretní delta funkce lze odvodit z rovnosti

$$\exp[i2\pi \mathbf{K}_{t,inc}(i, j) \cdot \mathbf{r}_t(m, n)] = \sum_p \sum_q A(\mathbf{K}_t(p, q); 0) \exp[i2\pi \mathbf{K}_t(p, q) \cdot \mathbf{r}_t(m, n)] (\Delta K_t)^2, \quad (2.26)$$

na jejíž pravé straně se nachází dvourozměrná diskretní inverzní Fourierova transformace [40, odst. 11.2.]. Rovnost (2.26) bude platit pouze pokud[†]

$$A(\mathbf{K}_t(p, q); 0) = \frac{\delta_{ip} \delta_{jq}}{(\Delta K_t)^2}, \quad (2.27)$$

kde δ_{kl} je Kroneckerovo delta, pro které je definováno

$$\delta_{kl} = \begin{cases} 1 & \text{pro } k = l, \\ 0 & \text{pro } k \neq l. \end{cases} \quad (2.28)$$

Pravá strana (2.27) vyjadřuje příspěvek dopadající vlny s vlnovým vektorem $\mathbf{K}_{t,inc}(i, j)$ v diskretním úhlovém spektru. Diskretní podoba spektra celkového pole $A_{total}(\mathbf{K}_t(p, q); 0)$ bude na základě (2.15) a (2.27) ve tvaru

$$A_{total}(\mathbf{K}_t(p, q); 0) = A_{scat}(\mathbf{K}_t(p, q); 0) + \frac{\delta_{ip} \delta_{jq}}{(\Delta K_t)^2} \quad (2.29)$$

2.5. Verifikace metody FDTD pro výpočet rozptylu

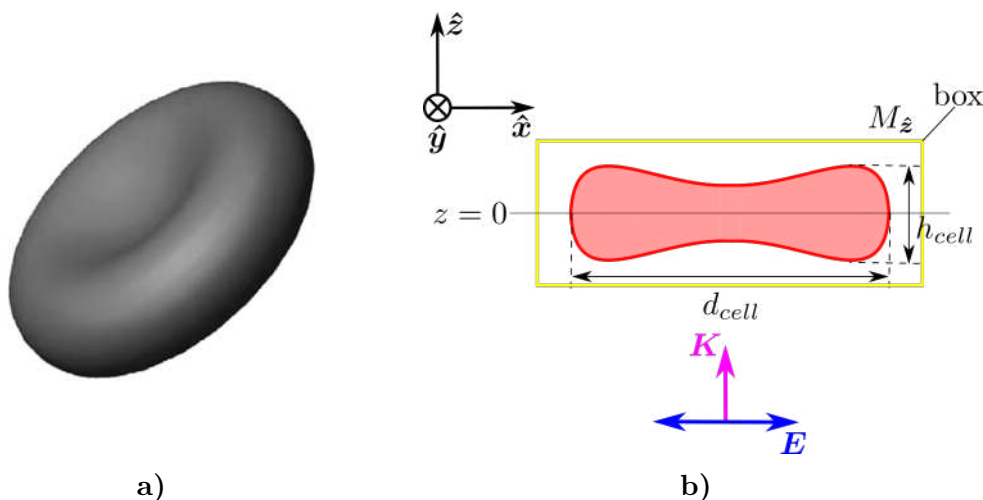
Jelikož v simulacích rozptylu světla metodou FDTD bylo použito přístupu získání úhlového spektra z pole dalekého, výsledky se v tomto odstavci omezují na verifikaci tohoto nekonvenčního přístupu. Srovnání blízkých polí získaných FDTD metodou a Bornovy a Rytovovou aproximací lze nalézt v [9].

Nejprve je otestován výpočet dalekého pole na simulaci rozptylu světla na buňce červené krvinky. Dále jsou uvedeny vybrané výsledky dalekých polí a výpočtu blízkých celkových polí v simulaci rozptylu světla na organelách 2.1. Vybraná blízká pole vypočtená přístupem dalekého pole jsou srovnána z polí zaznamenanými na monitor.

[†]Vyhází se z ortogonality exponenciálních funkcí (viz např. [60, odst. 4.1]) v (2.26).

2.5.1. Daleké pole buňky červené krvinky

Pro test správnosti a přesnosti výpočtu dalekého pole, který Lumerical nabízí, byly srovnány vlastní výpočty s výsledky simulace rozptylu světla na buňce červené krvinky a následného výpočtu dalekého pole v článku [23]. Jedná se o jednu z prvních prací zkoumající využití FDTD v biofotonice. Jednoduché schéma simulace je na obr. 2.7, kde buňka červené krvinky byla v Lumericalu vymodelována přesně podle explicitního vztahu uvedeného v [23].



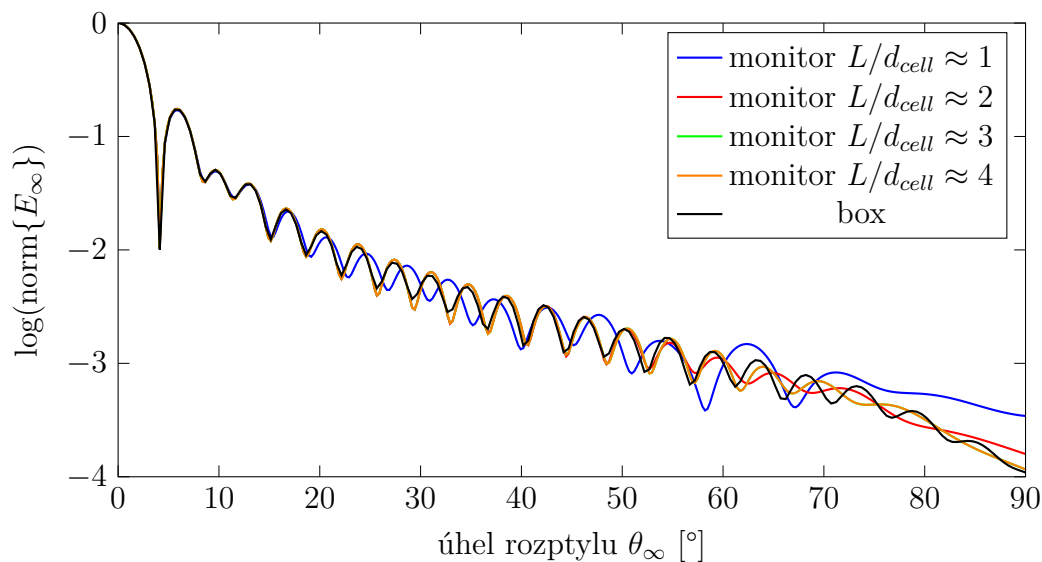
Obr. 2.7: a) Trojrozměrný model červené krvinky. b) Nákres řezu FDTD simulace rozptylu světla na červené krvince v rovině $y = 0$ s rozměry buňky krvinky $d_{cell} = 7,76 \mu\text{m}$ a $h_{cell} = 2,55 \mu\text{m}$. Převzato a upraveno z [23].

Daleké pole bylo počítáno z čtvercového monitoru M_z i z boxu monitorů obklopující červenou krvinku. Výsledek ukazuje graf na obr. 2.8. Z grafu lze sledovat přesnost výpočtu dalekého pole v závislosti na velikosti monitoru M_z , která je udávána v poměru rozměru monitoru ku průměru buňky L/d_{cell} , a srovnat ji s výpočtem dalekého pole z boxu. S větším rozměrem monitoru M_z lze získat více informací o blízkém poli, výpočet dalekého pole se stává přesnějším a konverguje k výpočtu z boxu. Rozdíly v 2.8 by byly mnohem výraznější v případě nenulového úhlu dopadu rovinné vlny na obr. 2.7b).

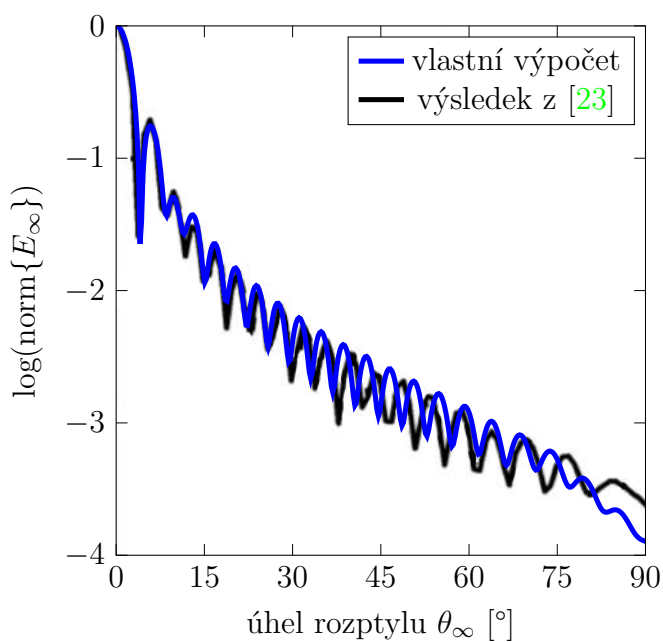
V hojně citovaném článku [23] je daleké pole počítáno z monitoru M_z na obr. 2.7b), ovšem nejsou zde uvedeny rozměry tohoto monitoru. Jelikož podle grafu 2.8 je přesnost výpočtu dalekého pole závislá od velikosti monitoru, není možné výsledky práce [23] přímo reprodukovat a verifikovat. Proto obr. 2.9 srovnává pouze vlastní výpočet dalekého pole červené krvinky z boxu s výsledkem z článku. Daleká pole se v tomto případě shodují zhruba do 30° rozptylového úhlu θ_∞ .

Při výpočtu dalekého pole je tedy nutné být obezřetným a mít na paměti, že velikost a umístění monitoru může významně ovlivnit přesnost výsledků. Obecně nepřesnost vzrůstá se zvětšujícím úhlem rozptylu θ_∞ i úhlem dopadu θ . Správným postupem je tedy počítat daleké pole z boxu monitorů zcela obklopující zkoumanou strukturu.

2.5. VERIFIKACE METODY FDTD PRO VÝPOČET ROZPTYLU



Obr. 2.8: Vlastní výpočet dalekého pole červené krvinky na obr. 2.7 pro různé rozměry monitoru L a box.



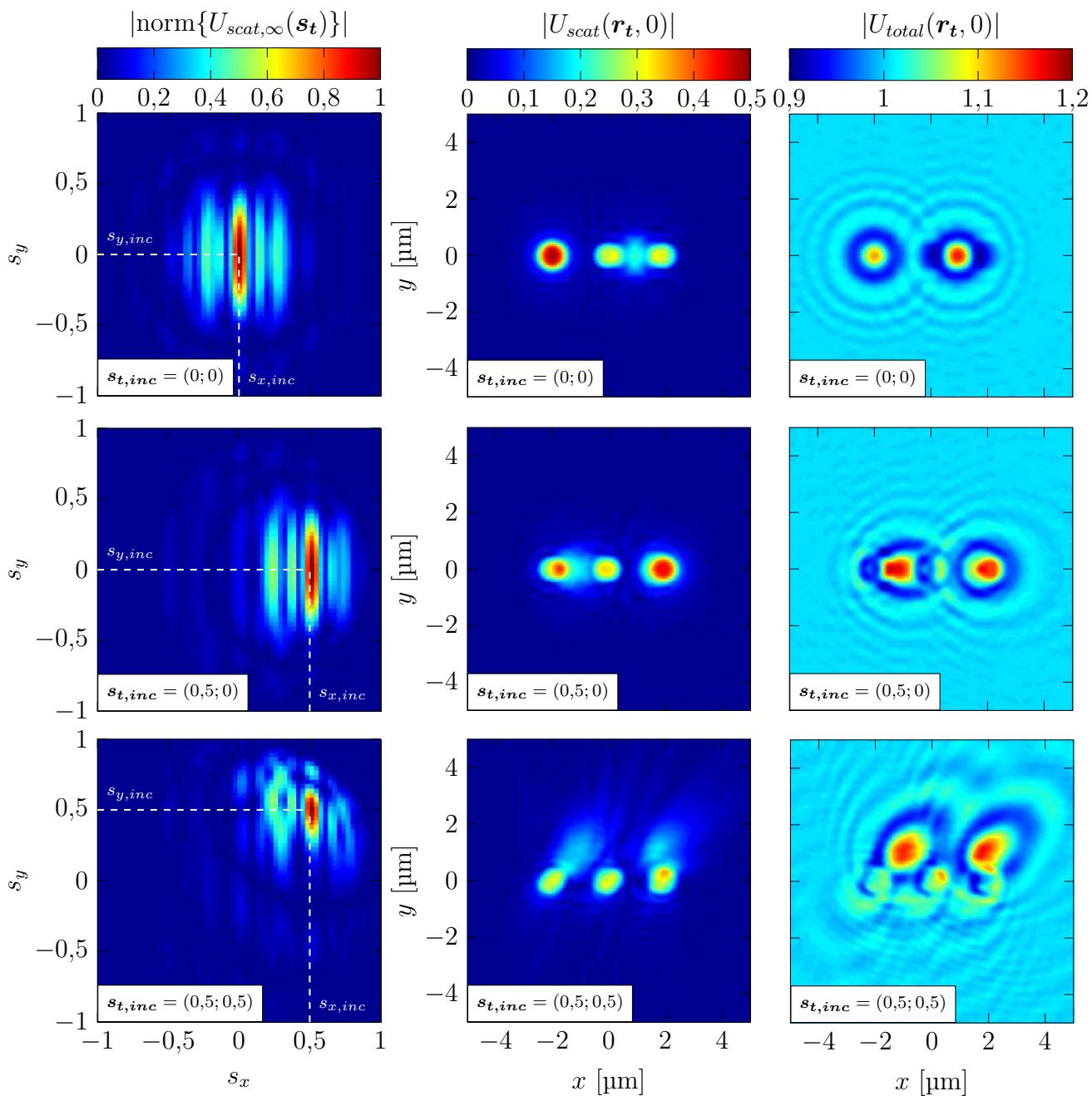
Obr. 2.9: Srovnání vlastního výpočtu dalekého pole buňky červené krvinky s výsledkem z článku [23].

2.5.2. Simulace rozptylu světla na organelách

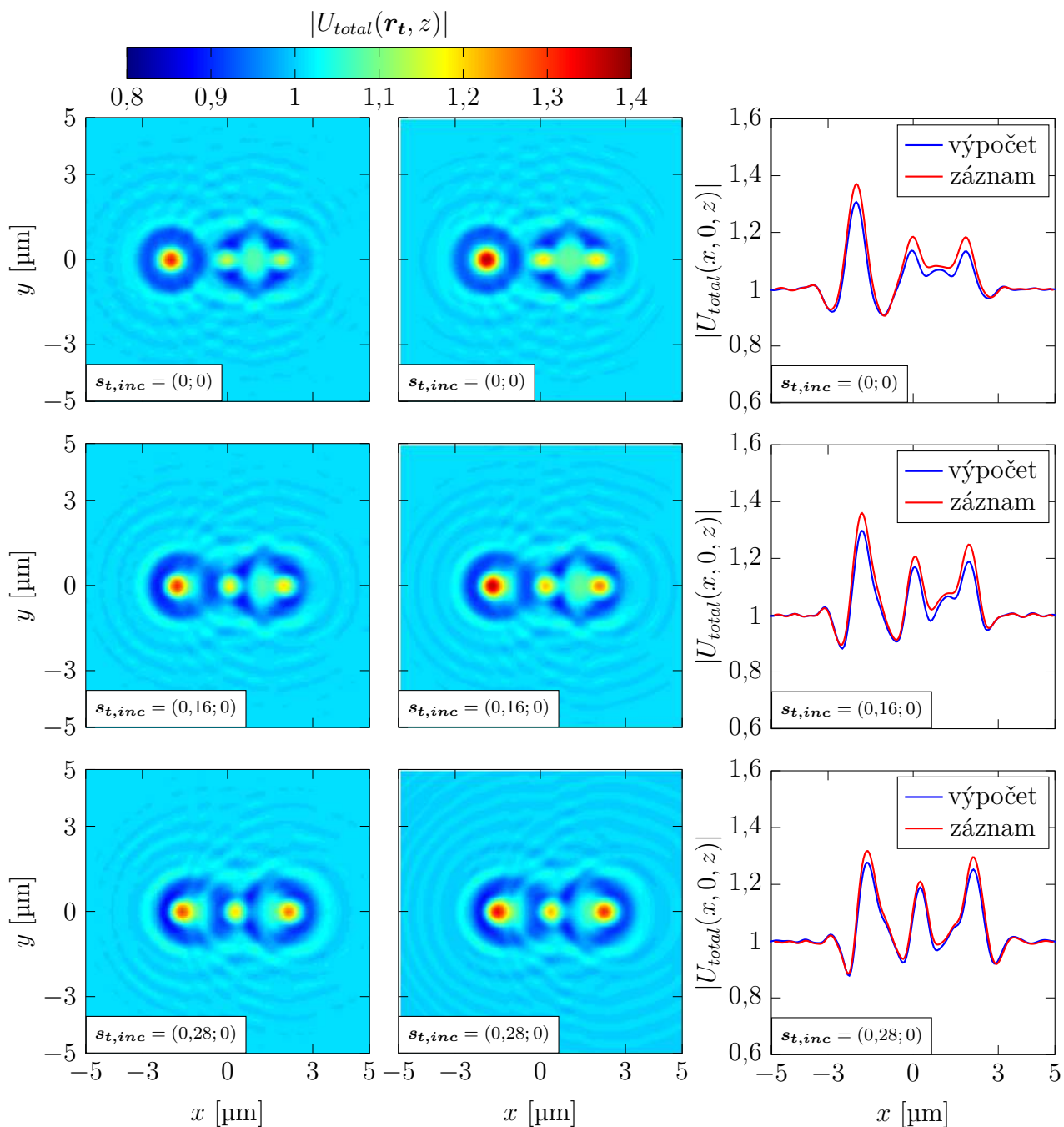
Na obr. 2.10 se v levém sloupci nachází ukázka tří dalekých rozptýlených polí $U_{scat,\infty}(\mathbf{s})$ pro různé směry vlnového vektoru dopadající vlny $\mathbf{s}_{t,inc} = \mathbf{K}_{t,inc}/K$. Na osách jsou vyneseny složky s_x, s_y jednotkového směrového vektoru \mathbf{s} (2.9). Maximální výkon je podle očekávání vyzařován ve směru $\mathbf{s}_{t,inc}$. V prostředím a pravém sloupci na obr. 2.10 je ukázka po řadě absolutních hodnot rozptýlených $U_{scat}(\mathbf{r}_t, 0)$ a celkových polí $U_{total}(\mathbf{r}_t, 0)$ vypočítaných z dalekých polí v levém sloupci podle postupu uvedeného v odst. 2.3.1.

Na obr. 2.11 se nachází srovnání vybraných blízkých celkových polí získaných výpočtem z dalekého pole (levý sloupec) se záznamem blízkých celkových polí na monitoru (prostřední sloupec) v rovině $z = 1,04 \mu\text{m}$. V pravém sloupci jsou vyneseny profily výpočtu a záznamu pole v ose $y = 0$. Je zřejmé, že profily se nepatrně liší. Bohužel, z časových důvodů a původně jiných cílů práce nemohl být přístup dalekého pole dostatečně verifikován. Hlubší verifikace přístupu pro různé vlnové délky, úhly dopadu či rozlišení výpočetního okna se proto přenechává na další projekt.

2.5. VERIFIKACE METODY FDTD PRO VÝPOČET ROZPTYLU



Obr. 2.10: Výsledky simulace rozptylu světla na organelách 2.1. Levý sloupec: absolutní hodnoty dalekého rozptýlené pole pro tři dopadající vlny $\mathbf{s}_{t,inc} = \mathbf{K}_{t,inc}/K$. Pro střední a pravý sloupec: absolutní hodnoty blízkých rozptýlených $U_{scat}(\mathbf{r}_t, 0)$ a celkových $U_{total}(\mathbf{r}_t, 0)$ polí v rovině $z = 0$ vypočítaných z dalekých polí v levém sloupci podle postupu uvedeného v odst. 2.3.1.



Obr. 2.11: Levý sloupec: vybrané výpočty blízkých celkových polí přístupem dalekého pole v rovině $z = 1,04\mu\text{m}$ pro tři dopadající vlny $\mathbf{s}_{t,inc} = \mathbf{K}_{t,inc}/K$. Prostřední sloupec: celková pole zaznamenaná na monitor v téže rovině. Pravý sloupec: srovnání profilů předchozích polí v ose $y = 0$.

3. Koherencí řízený holografický mikroskop

3.1. Princip CCHM

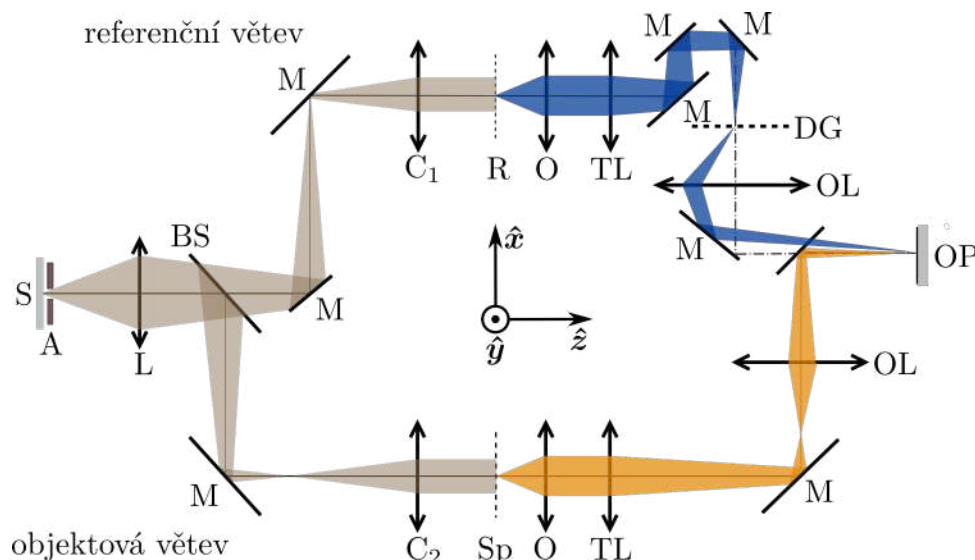
První holografický mikroskop vyvinutý na VUT [61] umožňoval díky použití prostorově nekoherentního zdroje osvětlení provádět optické řezy v konfokálním zobrazování bez nutnosti skenování. Koncepte koherencí řízeného holografického mikroskopu (CCHM) popsána v [62] pak významně potlačuje koherenční šum a parazitní interference a zvyšuje příšné rozlišení. Především model následně vylepšuje koherencí řízený holografický mikroskop nové generace [63]. Jeden z posledních výzkumů se věnoval využití nízké prostorové koherence CCHM k zobrazování přes rozptylující prostředí za vzorkem [64].

Poslední uvedený model CCHM na obr. 3.1 vychází z uspořádání mimoosového digitálního holografického mikroskopu (DHM) a používá časově i prostorově nekoherentního zdroje osvětlení. Světlo ze zdroje je rozděleno hranolovým děličem do referenční a objektové větve a zobrazeno do ohniskových kondenzorů C_1 a C_2 . Tím je dosaženo principu Köhlerova osvětlení objektového prostoru - každému bodu zdroje odpovídá rovinná vlna za kondenzorem.

Na výstupní rovině mikroskopu dochází k interferenci vln z obou větví. Interferenční jev je při použití koherentního zdroje charakterizován intenzitou i

$$i = |U_{obj} + U_{ref}|^2 = |U_{obj}|^2 + |U_{ref}|^2 + U_{obj}U_{ref}^* + U_{obj}^*U_{ref}, \quad (3.1)$$

kde U_{obj} , U_{ref} jsou komplexní amplitudy objektové a referenční vlny, v tomto pořadí. V případě DHM je intenzita (3.1) výstupním objektivem zvětšena na čip CCD kamery a zpětná rekonstrukce objektové vlny U_{obj} v (3.1) poté probíhá numericky [65].



Obr. 3.1: Schéma CCHM. S - zdroj světla, A - apertura, L - čočka, BS - hranolový dělič, M - zrcadlo, C - kondenzor, Sp - objektová rovina, R - referenční rovina, O - objektiv, TL - tubusová čočka, OL - výstupní čočka, DG - difrakční mřížka, OP - výstupní rovina. Převzato a upraveno z [66].

3.2. Teoretický popis zobrazování v CCHM

Matematický popis zobrazování CCHM zde vychází převážně z [66]. Ve veškerých úvahách a vztazích se omezuje na monochromatické (resp. kvazimonochromatické) světlo.

Intenzita při prostorově nekoherentním zdroji

Označí-li se $i(\mathbf{r}_t; \mathbf{K}_{t,inc})$ rozložení intenzity ve výstupní rovině mikroskopu dané vyzařováním jednoho bodu zdroje a splňuje-li osvětlení Abbeovu sinovou podmínku, je intenzita $I(\mathbf{r}_t)$ ve výstupní rovině spočítána podle Hopkinsovy formule [41, odst. 10.4.2] integrací přes plochu zdroje

$$I(\mathbf{r}_t) = \iint_{-\infty}^{+\infty} i(\mathbf{r}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) K^{-2} d^2 \mathbf{K}_{t,inc}, \quad (3.2)$$

kde faktor K^{-2} vyplývá z transformace mezi prostorovými souřadnicemi a prostorovými frekvencemi zdroje v případě monochromatického plošného zdroje. Po dosazení $i(\mathbf{r}_t; \mathbf{K}_{t,inc})$ z rov. (3.1) do (3.2) a záměně integrace se sčítáním, lze člen na pravé straně (3.1) obsahující objektovou vlnu U_{obj} zapsat ve tvaru integrálu

$$w(\mathbf{r}_t) = \iint_{-\infty}^{+\infty} U_{obj}(\mathbf{r}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) U_{ref}^*(\mathbf{r}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) K^{-2} d^2 \mathbf{K}_{t,inc}, \quad (3.3)$$

v němž je explicitně vyjádřená závislost rozložení komplexní amplitudy objektové U_{obj} a referenční U_{ref} vlny ve výstupní rovině na příčné souřadnici \mathbf{r}_t a vlnovém vektoru dopadající vlny $\mathbf{K}_{t,inc}$.

Rozptyl ve frekvenční doméně

Za předpokladu elastického a lineárního rozptylu je úhlové spektrum $A(\mathbf{K}_t)$ rozptýlené vlny dáno superpozicí spekter, které odpovídají rozptylu jednotlivých rovinných vln

$$A(\mathbf{K}_t) = \iint_{-\infty}^{+\infty} \mathcal{S}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) A_{inc}(\mathbf{K}_{t,inc}) d^2 \mathbf{K}_{t,inc}, \quad (3.4)$$

kde $A_{inc}(\mathbf{K}_{t,inc})$ je úhlové spektrum dopadajících vln a $\mathcal{S}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc})$ je tzv. rozptylová funkce, nazývaná také maticí rozptylu. Matice rozptylu se v případě slabě rozptylujícího objektu v rámci první Bornovy aproximace [41, odst. 13.1.2] získá Fourierovou transformací obecně trojrozměrného rozptylového potenciálu $F(\mathbf{r})$ (1.17)

$$\mathcal{S}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) = \iiint_{-\infty}^{+\infty} F(\mathbf{r}) \exp(-i2\pi \mathbf{Q} \cdot \mathbf{r}) d^3 \mathbf{r}, \quad (3.5)$$

kde $\mathbf{Q} = \mathbf{K} - \mathbf{K}_{inc}$ je tzv. rozptylový vektor. Je-li objekt v rámci skenování posunut o z_s ve směru osy z , je matice rozptylu $\mathcal{S}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc})$ ve (3.4) nahrazena[†]

$$\mathcal{S}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}; z_s) = \mathcal{S}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) \exp(i2\pi K_{z,inc} z_s) \exp(-i2\pi K_z z_s). \quad (3.6)$$

[†]Na základě věty o posunutí, např. [40, odst. 3.4] nebo [60, odst. 7.3].

Přenos spektra optickou soustavou

Přenos spektra pupilou lze popsat tzv. aperturní funkcí $P(\mathbf{K}_t)$. Zobrazuje-li soustava aplanaticky a je-li poloha bodu v obrazové rovině vyjadřována souřadnicovým vektorem \mathbf{r}_t opticky sdruženého bodu v rovině předmětové, budou spektra v předmětové rovině $A(\mathbf{K}_t)$ a ve výstupní rovině $A_{out}(\mathbf{K}_t)$ spolu souviset vztahem

$$A_{out}(\mathbf{K}_t) = P_T(\mathbf{K}_t)A(\mathbf{K}_t; z), \quad (3.7)$$

kde $P_T(\mathbf{K}_t)$ označuje aperturní funkci objektivu a T odkazuje na transmisní uspořádání mikroskopu na obr. 3.1.

V aproximaci malých apertur v případě difrakčně limitovaných systémů má $P_T(\mathbf{K}_t)$ tvar [38, odst. 6.2]

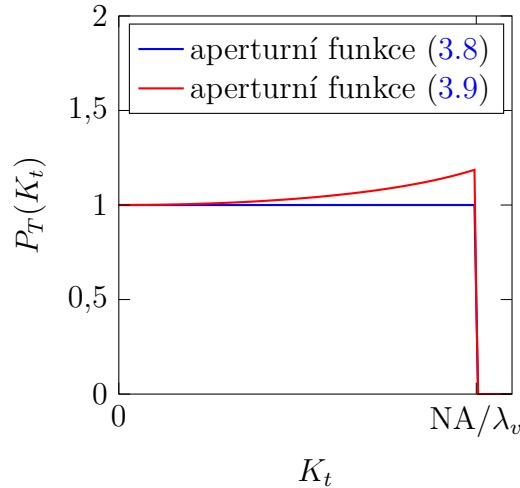
$$P_T(\mathbf{K}_t) = \text{circ}\left(\frac{K \cos \alpha}{K_z}\right) = \text{circ}\left(K_t \frac{\lambda_v}{\text{NA}}\right), \quad (3.8)$$

kde α označuje semi-úhlovou aperturu pupily a $\text{NA} = n \sin \alpha$ je numerická apertura. V případě rigoróznějšího popisu [67, 68] lze dospět ke tvaru aperturní funkce platného pro jakoukoliv aperturu [66]

$$P_T(\mathbf{K}_t) = \sqrt{\frac{K}{K_z}} \text{circ}\left(\frac{K \cos \alpha}{K_z}\right) = \frac{K^{1/2}}{(K^2 - K_t^2)^{1/4}} \text{circ}\left(K_t \frac{\lambda_v}{\text{NA}}\right). \quad (3.9)$$

Stejný vztah (3.8), resp. (3.9) platí pro aperturní funkci kondenzoru $P_C(\mathbf{K}_{t,inc})$ s numerickou aperturou osvětlení NA_S .

V kap. budou porovnány zobrazení CCHM pro oba tvary aperturních funkcí (3.8) a (3.9).



Obr. 3.2: Tvary aperturních funkcí $P_T(K_t)$ (3.8) a (3.9) pro $\alpha = 45^\circ$.

Rekonstrukce obrazu

V případě výpočtu metodou FDTD matice rozptylu rozptýleného pole $\mathcal{S}_{scat}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc})$ odpovídá spektru $A_{scat}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}; 0)$ vypočítaným podle (2.12) v rovině $z = 0$ při dopadu vlny s vlnovým vektorem $\mathbf{K}_{t,inc}$

$$\mathcal{S}_{scat}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) = A_{scat}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}; 0). \quad (3.10)$$

3.2. TEORETICKÝ POPIS ZOBRAZOVÁNÍ V CCHM

Matice rozptylu totálního pole $\mathcal{S}_{total}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc})$ pro dopadající rovinnou vlnu s vlnovým vektorem $\mathbf{K}_{t,inc}$ se získá přičtení Diracovy delta funkce

$$\mathcal{S}_{total}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) = \mathcal{S}_{scat}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) + \delta^2(\mathbf{K}_t - \mathbf{K}_{t,inc}). \quad (3.11)$$

Při diskrétních výpočtech se přičtení delta funkce provede podle (2.27). V případě Bornovy či Rytovovy aproximace se rovnou pokládá $\mathcal{S}_{total}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}; 0) = A_{total}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}; 0)$.

Rozptyl rovinné vlny s vlnovým vektorem $\mathbf{K}_{t,inc}$ na vzorku a přenos objektové vlny optickou soustavou ve frekvenční doméně se na základě předchozích úvah zapíše jako

$$A'(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) = \sqrt{i(\mathbf{K}_{t,inc})} P_C(\mathbf{K}_{t,inc}) \mathcal{S}_{total}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) \quad (3.12)$$

Komplexní amplituda objektové vlny na výstupní rovině mikroskopu je poté zpětnou Fourierovou transformací spektra (3.12)

$$U_{obj}(\mathbf{r}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) = \iint_{-\infty}^{+\infty} \sqrt{i(\mathbf{K}_{t,inc})} P_C(\mathbf{K}_{t,inc}) P_T(\mathbf{K}_t) \mathcal{S}_{total}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) \exp(i2\pi \mathbf{K}_t \cdot \mathbf{r}_t) d^2 \mathbf{K}_t \quad (3.13)$$

Na základě podobných úvah lze získat komplexní amplitudu referenční vlny na výstupní rovině mikroskopu

$$U_{ref}(\mathbf{r}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) = \sqrt{i(\mathbf{K}_{t,inc})} P_C(\mathbf{K}_{t,inc}) P_T(\mathbf{K}_{t,inc}) \exp(i2\pi \mathbf{K}_{t,inc} \cdot \mathbf{q}_t) \quad (3.14)$$

Výrazy (3.13) a (3.14) se dosadí do vztahu pro intenzitu $w(\mathbf{r}_t)$ (3.3). Amplitudu zdroje, aperturní funkci kondenzoru a aperturní funkci objektivu referenční větve je možné pro snadnější zápis sdružit do jedné funkce $P_S(\mathbf{K}_{t,inc})$

$$P_S(\mathbf{K}_{t,inc}) \equiv K^{-2} i(\mathbf{K}_{t,inc}) |P_C(\mathbf{K}_{t,inc})|^2 P_T^*(\mathbf{K}_{t,inc}) \quad (3.15)$$

Konečný teoretický vztah pro rekonstrukci obrazu pomocí CCHM na obr. 3.1 tedy je

$$w(\mathbf{r}_t) = \iint_{-\infty}^{+\infty} \iint_{-\infty}^{+\infty} P_S(\mathbf{K}_{t,inc}) P_T(\mathbf{K}_t) \mathcal{S}_{total}(\mathbf{K}_t; \mathbf{K}_{t,inc}) \times \\ \times \exp(i2\pi \mathbf{K}_t \cdot \mathbf{r}_t) \exp(-i2\pi \mathbf{K}_{t,inc} \cdot \mathbf{r}_t) d^2 \mathbf{K}_t d^2 \mathbf{K}_{t,inc}. \quad (3.16)$$

Skenováním podle (3.6) a rekonstrukcí (3.16) lze takto získat trojrozměrný obraz objektu $w(\mathbf{r}_t, z)$, kde poloha skenované roviny z je rovna

$$z = -z_s. \quad (3.17)$$

Obrazy rekonstruované ze získaných matic rozptylu pomocí Rytovovy aproximace a metody FDTD pro různé apertury zdroje a objektivu jsou uvedeny v kap. 4.

4. Simulace zobrazování v CCHM

Jak již bylo zmíněno v úvodu, práce navazuje na simulace zobrazování v CCHM z [9] a rozšiřuje je pro zobrazování v podélném směru. Pro účely simulace byla navržena struktura pěti buněčných organel 2.1. Jelikož podélná rozlišovací schopnost CCHM je vždy horší než rozlišovací schopnost příčná, bylo v práci pro obdržení reprezentativních výsledků simulováno zobrazování s numerickými aperturami osvětlení a objektivu až do 1,3, výrazně zvyšující hodnotu 0,8 v [9]. Protože v [9] bylo ukázáno, že Bornova aproximace výpočtu blízkých polí je již nevhodná i pro menší apertury v simulaci zobrazování v CCHM v příčném směru, zde se výsledky omezují na srovnání metod výpočtu Rytovovou aproximací a FDTD metodou.

Holografickým signálem nebo jen signálem $\phi(\mathbf{r})$ se dále v textu bude nazývat fáze rekonstrukce $w(\mathbf{r})$ (3.16) normovaná k π

$$\phi(\mathbf{r}) = \frac{\arg\{w(\mathbf{r})\}}{\pi}. \quad (4.1)$$

Simulace metodou FDTD v programu Lumerical byly prováděny na serveru se základní pamětí (ne však plně využitou) 755 GB RAM a procesorem CPU 16 Intel Xeon 2.4GHz cores. Bylo využito prostorové symetrie struktury organel na obr. 2.1 a počet simulovaných dopadajících vln se tak mohl zredukovat zhruba na polovinu. Celková doba simulace metodou FDTD včetně výpočtu dalekých polí činila přibližně jeden a půl dne.

Výpočty blízkých polí, resp. matic rozptylu \mathcal{S} Rytovovou aproximací byly prováděny ve vlastním skriptu napsaném v programu MATLAB. Celková doba výpočtu Rytovovou aproximací byla kratší než 16 hodin.

Simulace zobrazování v CCHM neboli rekonstrukce intenzity (3.16) z matic \mathcal{S} získaných metodou FDTD nebo Rytovovou aproximací byla rovněž prováděna v programu MATLAB.

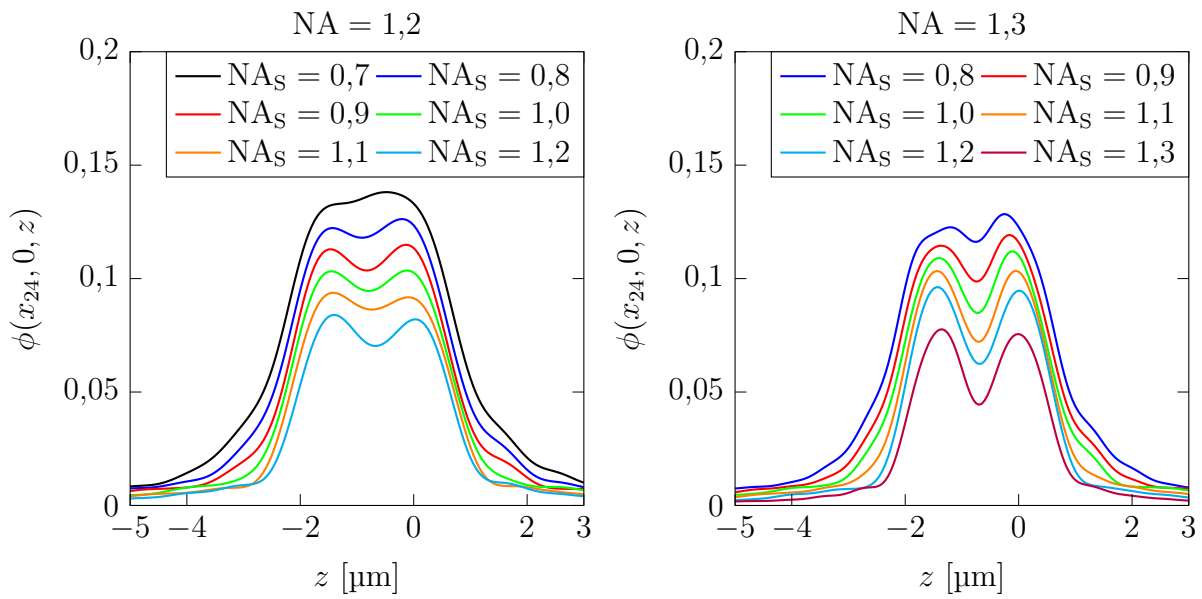
4.1. FDTD metoda

Na obr. 4.2 se nacházejí výsledky simulace zobrazování soustavy organel v CCHM metodou FDTD (viz obr. 2.1) pro různé apertury objektivu NA a apertury osvětlení NA_S v příčném směru. S rostoucím NA a NA_S lze organely podle očekávání lépe rozlišit v příčném směru. Při nízkých NA_S lze zřetelně pozorovat interferenční artefakty kolem organel způsobené vysokou prostorovou koherencí osvětlení. V případě $NA = \text{konst.}$ a rostoucího NA_S se signál organel vyrovnává a jeho rozdíl oproti signálu pozadí zmenšuje. Použití malých apertur NA a NA_S může vést ke špatným závěrům při vyhodnocování pozorování, kdy se organely jeví s odlišným indexem lomu n , jako je zřejmé ze signálů v levém a prostředním sloupci na obr. 4.2.

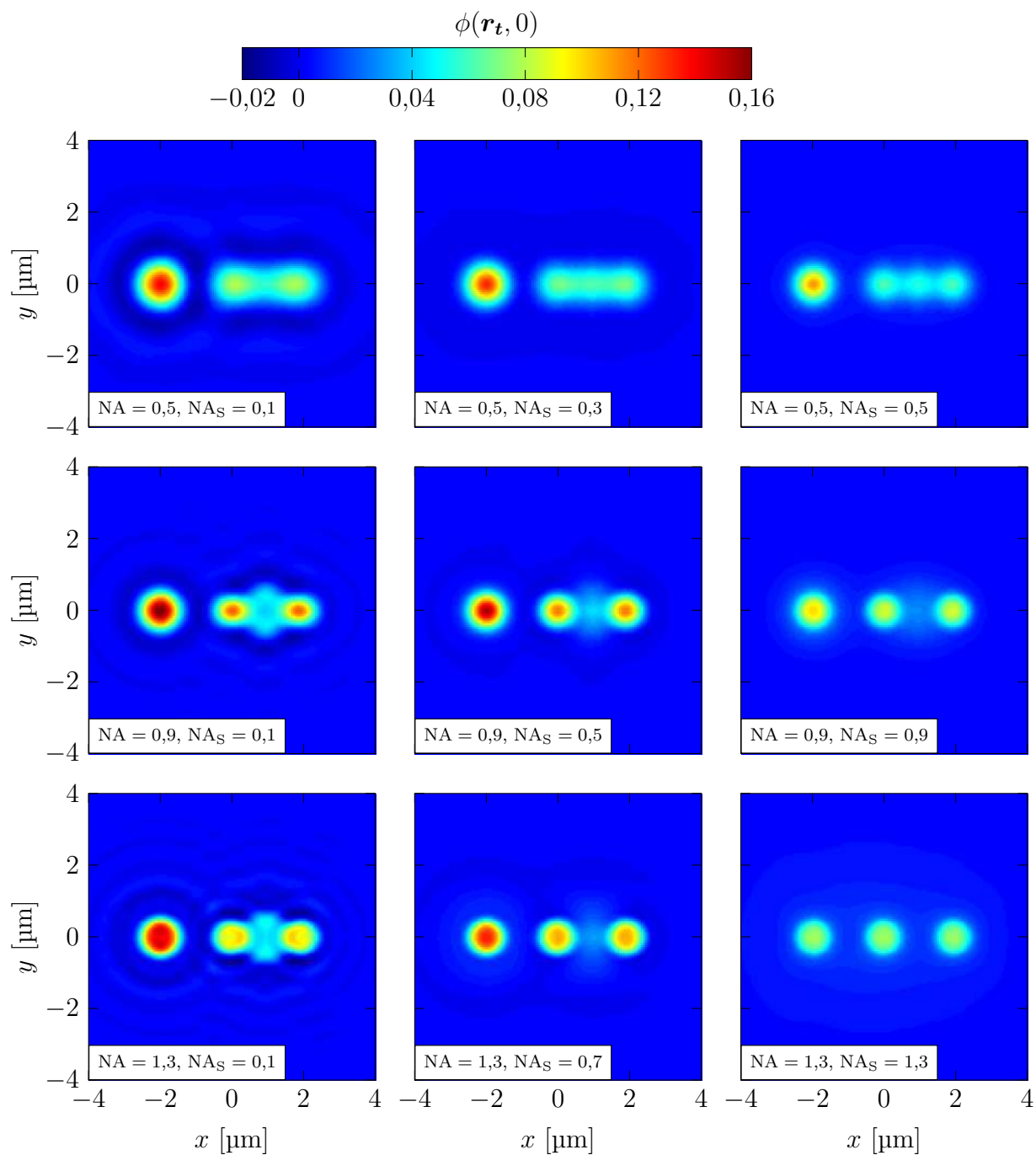
Na obr. 4.3 se nachází výsledky simulací zobrazování organel v podélném směru. Podobně jako pro příčný směr, signály pro nízké NA_S vykazují interferenční artefakty. Zdá se, že organely nacházející se nad sebou silně ovlivňují výsledný signál (což může vést ke špatným závěrům zmíněným výše) a pokud se aplikuje Rayleighovo kritérium pro jejich rozlišení [41, odst. 7.6.3], lze je rozlišit až při $NA = 1,2$, $NA_S = 1,2$ nebo $NA = 1,3$, $NA_S = 0,9$, viz vynesené podélné profily na obr. 4.1.

Simulace na obr. 4.2 a 4.3 byly prováděny s tvarem aperturní funkce (3.9).

4.1. FDTD METODA

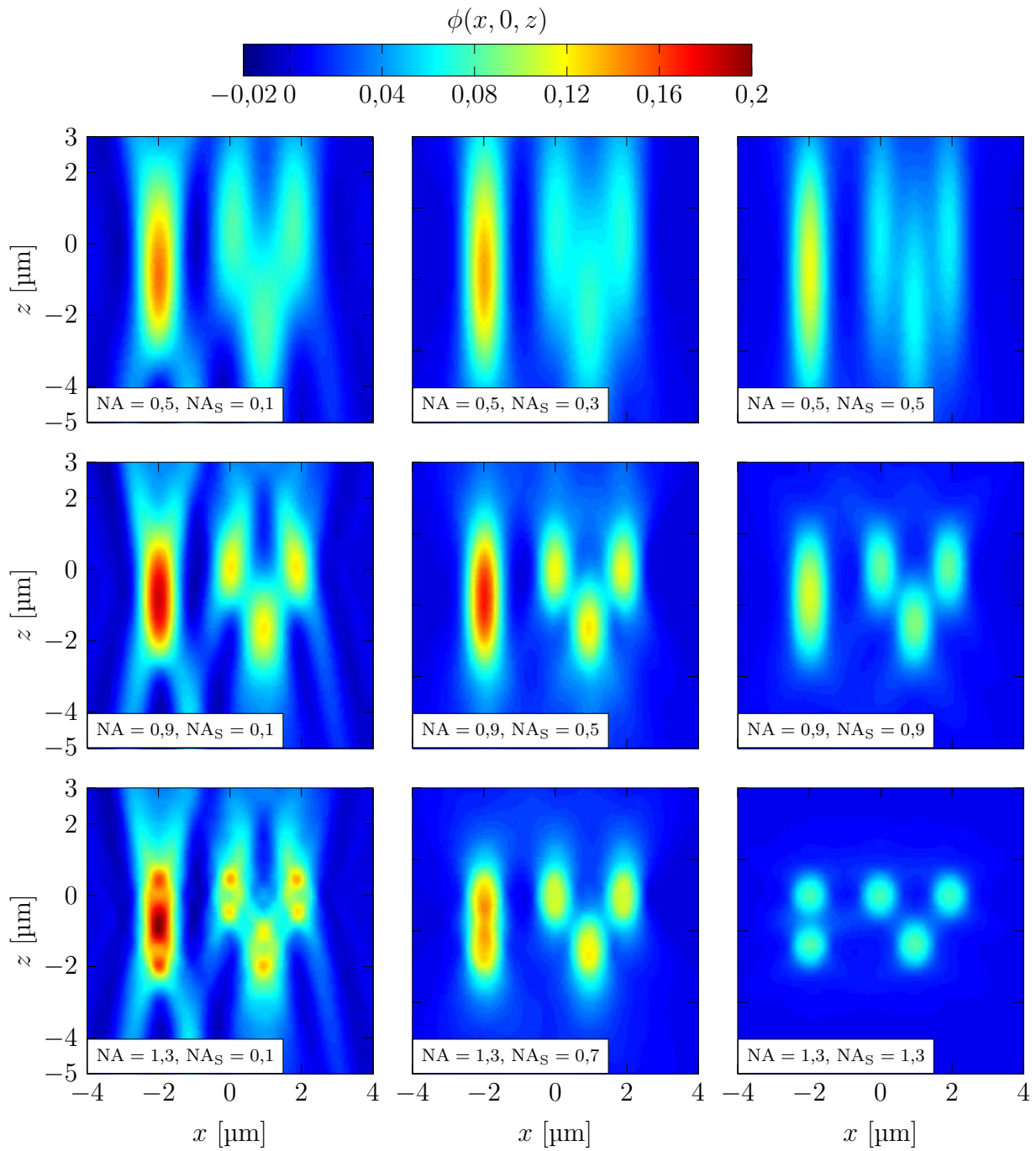


Obr. 4.1: Profily signálů v axiálním směru v ose organel 2 a 4 $x_{24} = -1,95 \mu\text{m}$ (viz obr. 2.1) pro $NA = 1,2$ a $NA = 1,3$.



Obr. 4.2: Vybrané výsledky simulace zobrazování organel v CCHM v rovině $z = 0$ (viz obr. 2.1) metodou FDTD pro různé hodnoty apertury objektivu NA a apertury osvětlení NA_S .

4.1. FDTD METODA



Obr. 4.3: Vybrané výsledky simulace zobrazování organel v CCHM v rovině $y = 0$ (viz obr. 2.1) metodou FDTD pro různé hodnoty apertury objektivu NA a apertury osvětlení NA_S .

4.2. Rytovova aproximace

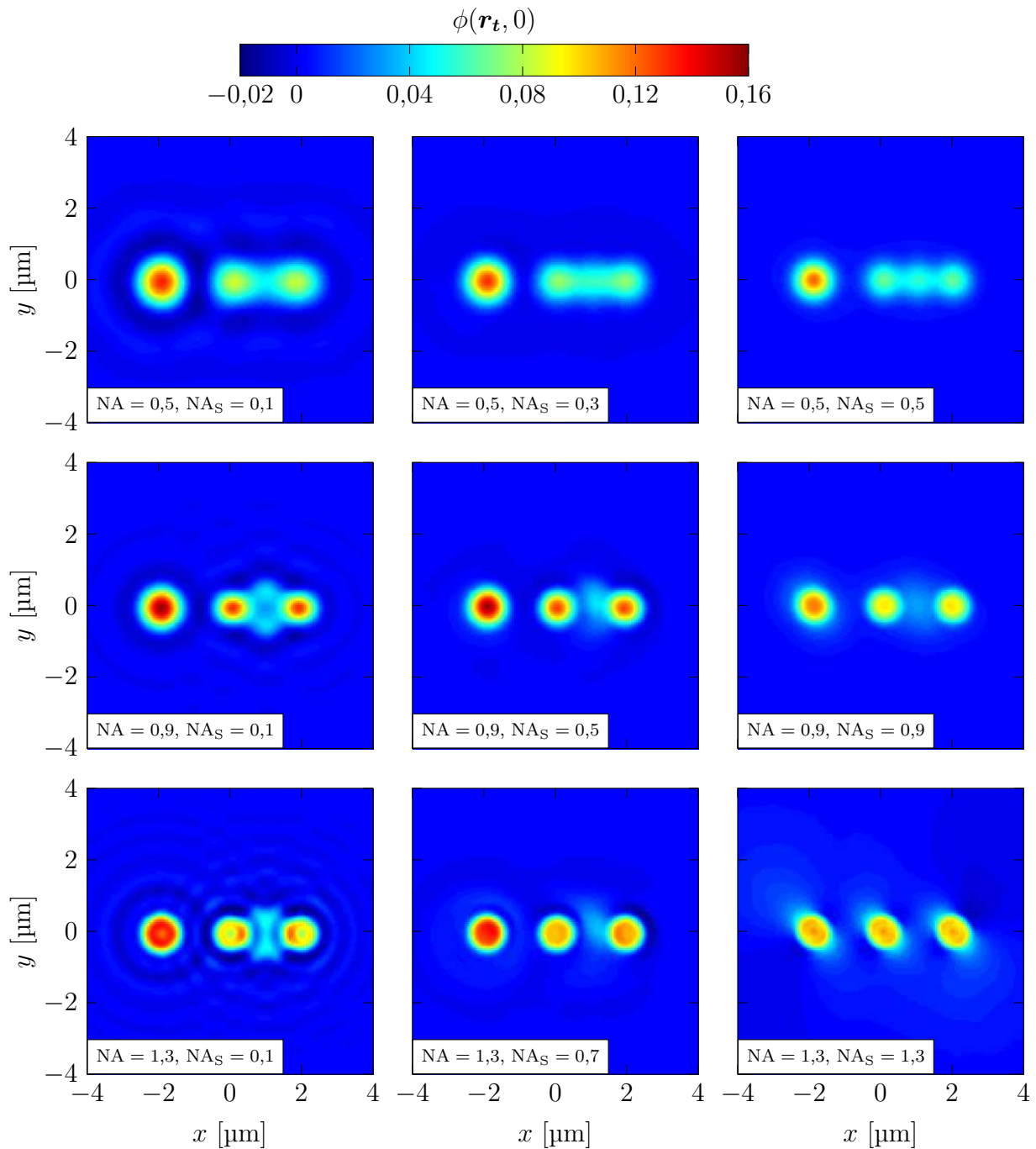
Na obr. 4.4 a 4.5 jsou uvedeny výsledky simulace zobrazování soustavy organel v CCHM Rytovovou aproximací pro různé apertury objektivu NA a apertury osvětlení NA_S v příčném a podélném směru. Pro výsledky platí stejné závěry jako pro výsledky metodou FDTD 4.1. Simulace na obr. 4.4 a 4.5 byly prováděny s tvarem aperturní funkce (3.9).

Pro srovnání výsledků simulací zobrazování v CCHM metodou FDTD a Rytovovou aproximací byly vyneseny profily signálů v ose $y = 0$ z obr. 4.2 a 4.4. Vynesené profily lze pozorovat na obr. 4.6. Za účelem kvantifikace míry odlišnosti profilů byla použita veličina součet druhých mocnin rozdílů SSE (z anglického *sum of squared errors*) počítána jako

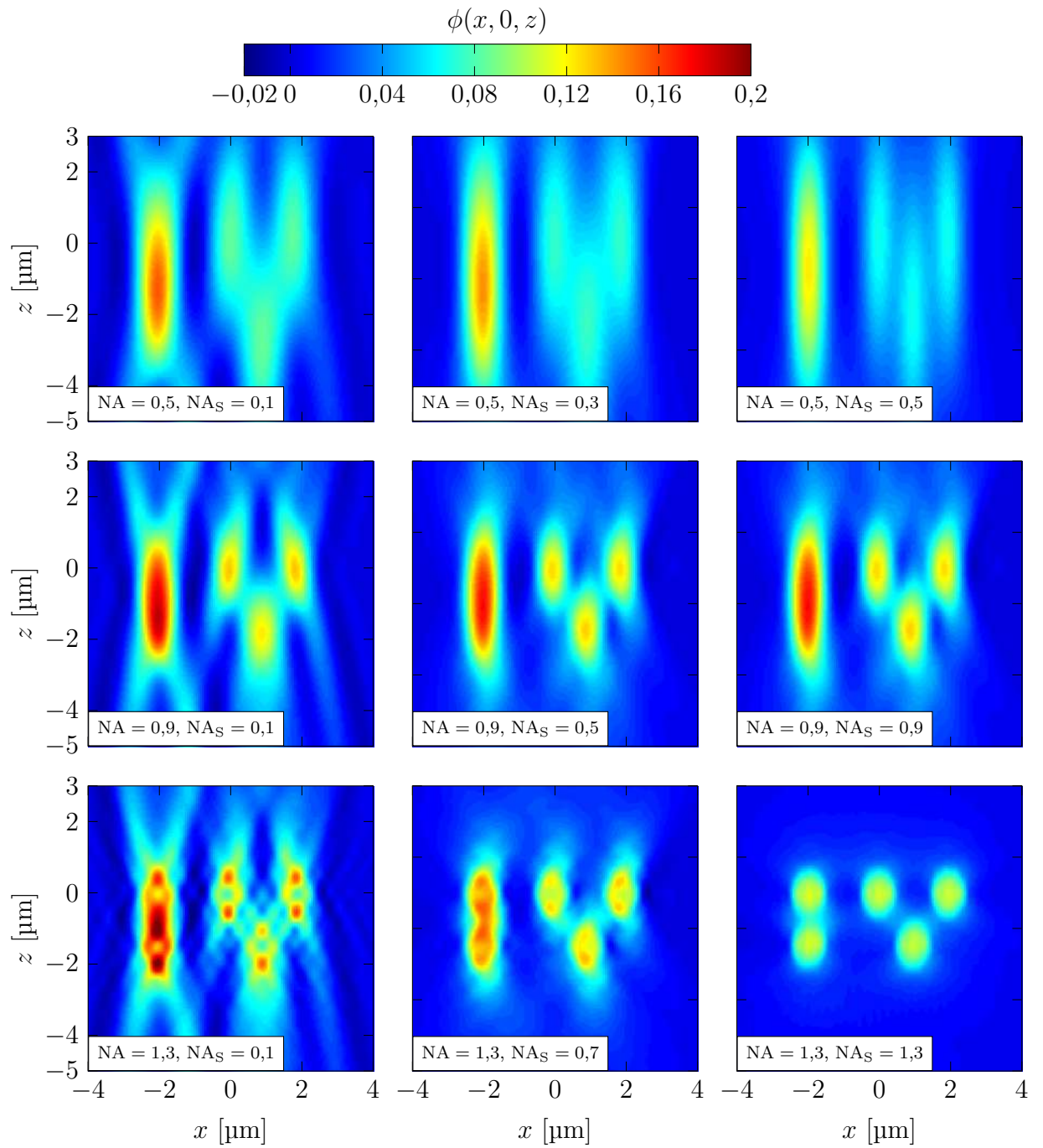
$$SSE = \sum_i (p_1(i) - p_2(i))^2, \quad (4.2)$$

kde p_1 a p_2 jsou profily signálů získané metodou FDTD a Rytovovou aproximací. Zřejmě vyšší hodnota SSE udává větší odlišnost mezi profily. Hodnoty SSE jsou uvedeny i u profilů na obr. 4.6. SSE profilů v závislosti na NA_S pro různé NA se nachází na grafu 4.8. S rostoucím NA je zřejmý nárůst hodnot SSE. To lze zdůvodnit klesající přesností Rytovovy aproximace pro větší apertury. Pro NA = konst. a rostoucí NA_S lze pozorovat mírný pokles hodnot SSE, poté hodnoty rostou. Příčina tohoto trendu se přisuzuje redukci interferenčních artefaktů s klesající prostorovou koherencí osvětlení. Například případ NA = 1,3, $NA_S = 0,1$ na obr. 4.6 ukazuje na větší náchylnost Rytovovy aproximace na interferenční artefakty oproti metodě FDTD. V případě NA = 1,3, $NA_S = 0,7$ nižší prostorová koherence profily „vyhladí“ - SSE poklesne. Pro NA = 1,3, $NA_S = 1,3$ se poté opět projevuje nepřesnost Rytovovy aproximace pro větší NA a NA_S - SSE vzroste.

4.2. RYTOVOVA APROXIMACE

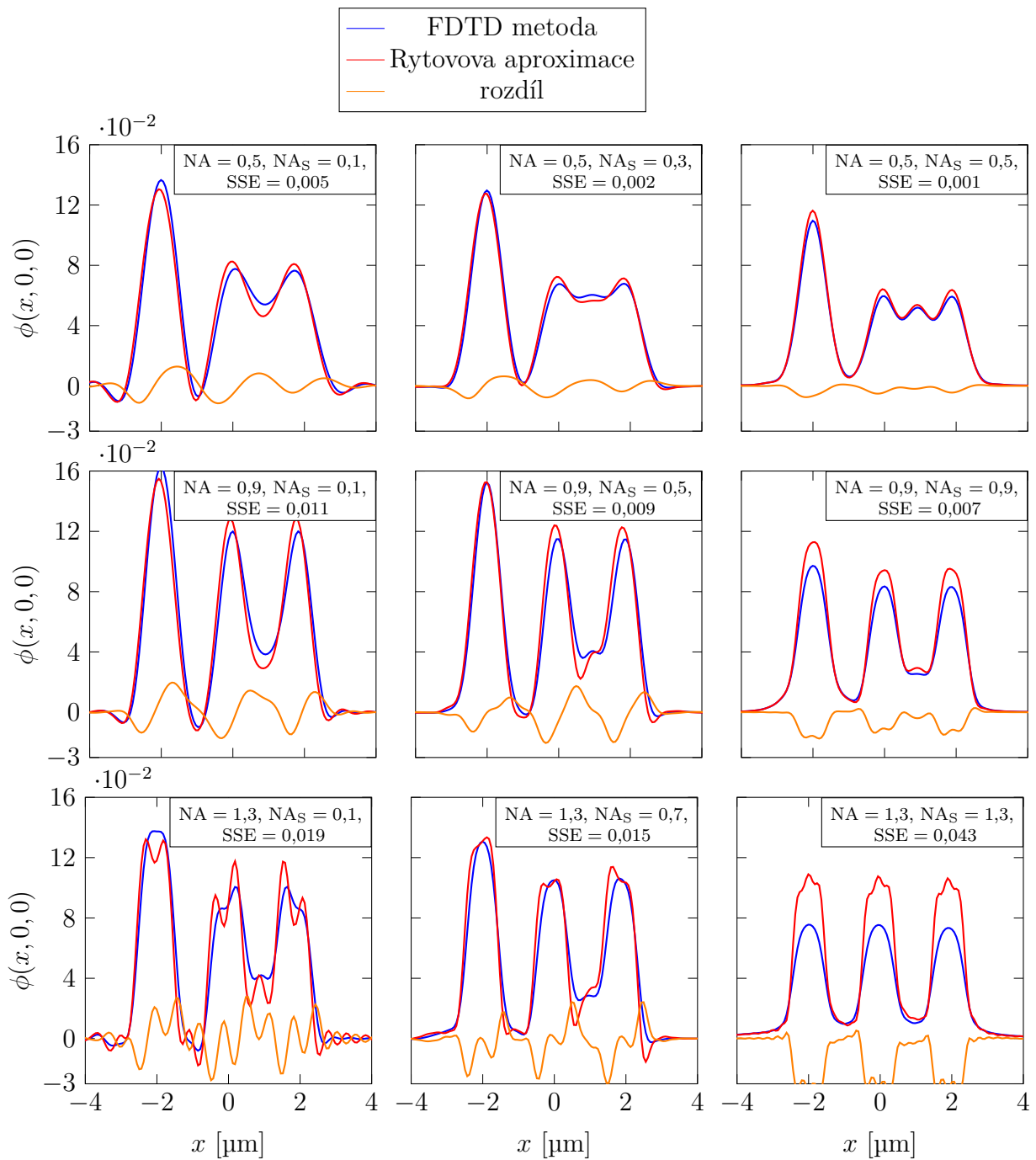


Obr. 4.4: Vybrané výsledky simulace zobrazování organel v CCHM v rovině $z = 0$ (viz obr. 2.1) Rytovou aproximací pro různé hodnoty apertury objektivu NA a apertury osvětlení NA_S.



Obr. 4.5: Vybrané výsledky simulace zobrazování organel v CCHM v rovině $y = 0$ (viz obr. 2.1) Rytovou aproximací pro různé hodnoty apertury objektivu NA a apertury osvětlení NA_S.

4.2. RYTOVOVA APROXIMACE

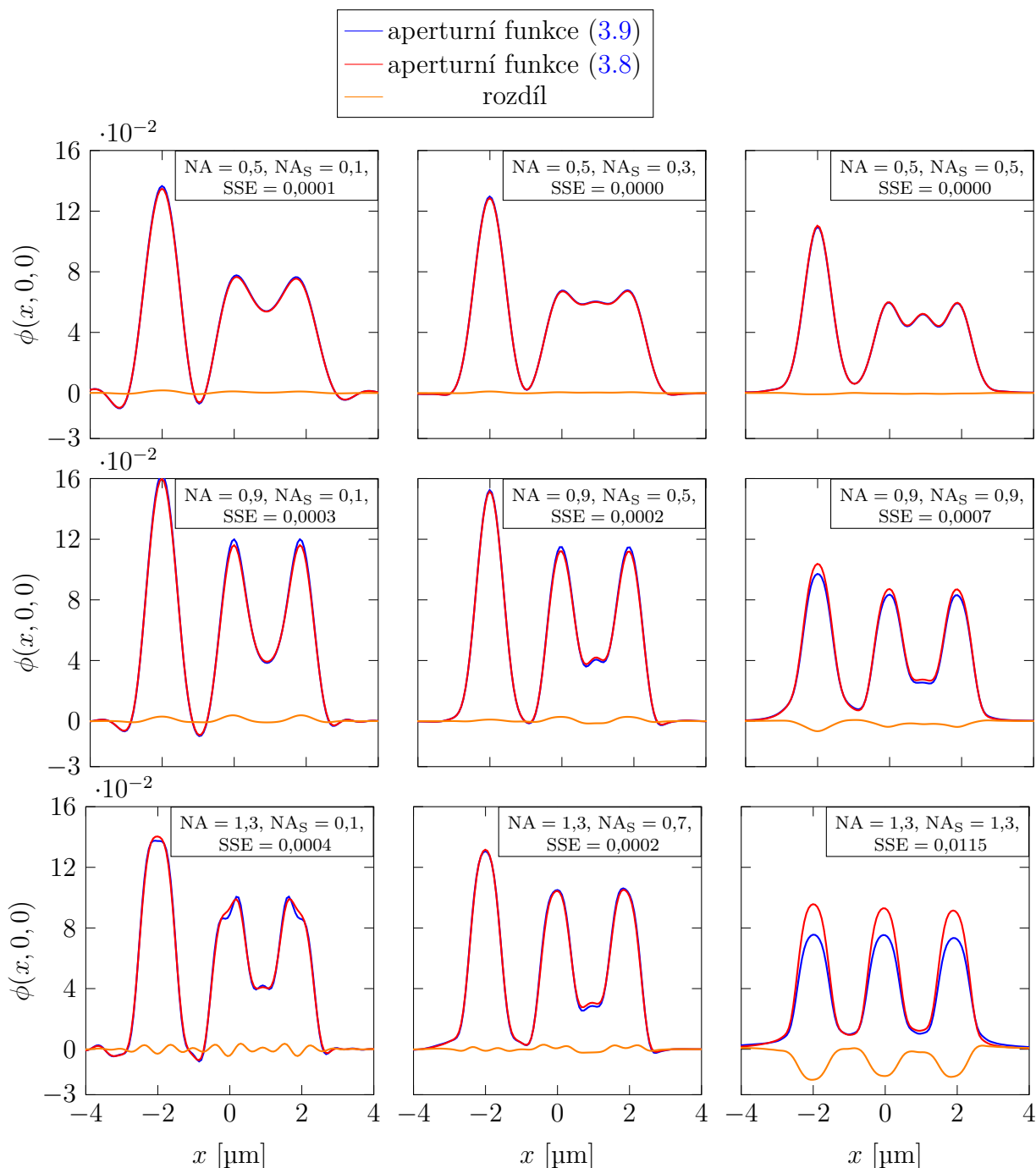


Obr. 4.6: Vybrané profily výsledků simulace zobrazování organel v CCHM v ose $y = 0$ (viz obr. 2.1) metodou FDTD a Rytovovou aproximací pro různé hodnoty apertury objektivu NA a apertury osvětlení NA_S.

4.3. Vliv tvaru aperturní funkce

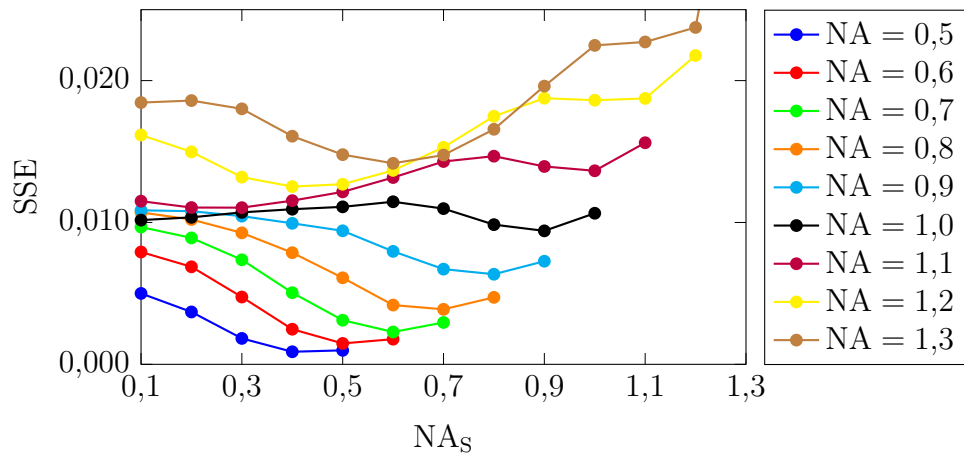
Byl rovněž prozkoumán vliv tvarů aperturních funkcí (3.8) a (3.9) na simulaci zobrazování v CCHM. Srovnání bylo opět provedeno na profilech v ose $y = 0$ na obr. 4.7 získaných metodou FDTD. Případné rozdíly byly opět kvantifikovány pomocí veličiny SSE (4.2) na grafu 4.9 pro různé NA a NA_S . I když podle výsledků na grafu s rostoucím NA i NA_S roste i SSE, kromě limitního případu $NA = 1,3$, $NA_S = 1,3$ na obr. 4.7 jsou profily signálů vizuálně shodné a samotné SSE hodnoty jsou v tomto případě zhruba řádově nižší než při srovnávání výsledků FDTD metodou a Rytovovou aproximací. Až na speciální případ $NA = 1,3$, $NA_S = 1,3$ lze tedy rozdíly při použití „méně rigorózní“ aperturní funkce (3.8) v simulacích zobrazování v CCHM považovat za zanedbatelné.

4.3. VLIV TVARU APERTURNÍ FUNKCE

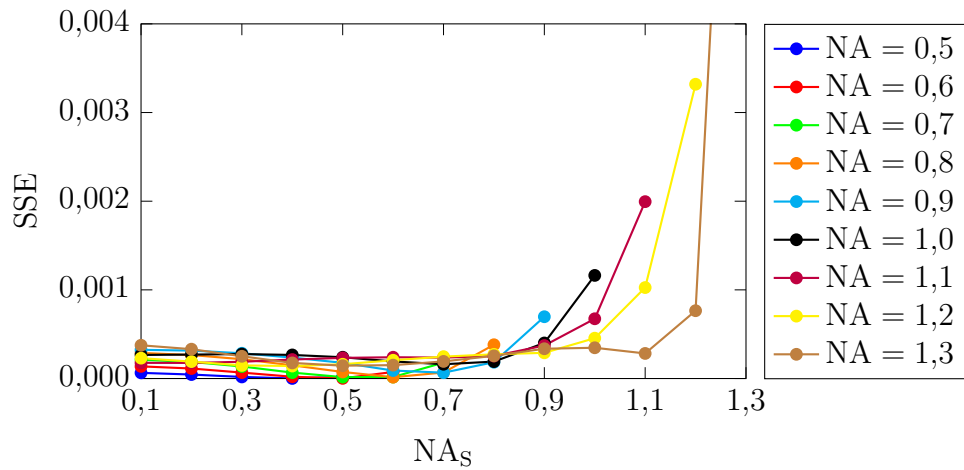


Obr. 4.7: Vybrané profily výsledků simulace zobrazování organel v CCHM v ose $y = 0$ (viz obr. 2.1) pro dva tvary aperturních funkcí (3.8) a (3.9) pro různé hodnoty apertury objektivu NA a apertury osvětlení NA_S.

4. SIMULACE ZOBRAZOVÁNÍ V CCHM



Obr. 4.8: SSE míra (4.2) pro srovnání výsledků simulace zobrazování v CCHM metodou FDTD a Rytovovou aproximací.



Obr. 4.9: SSE míra (4.2) pro srovnání výsledků simulace zobrazování v CCHM při použití tvaru aperturní funkce (3.8), nebo (3.9).

4.4. Podélné rozlišení CCHM a závislost signálu na indexu lomu

Profily signálů na obr. 4.1 ukázaly, že organely bylo možné podélně rozlišit až při poměrně vysokých numerických aperturách objektivu 1,2 a 1,3. Jelikož v práci [9] byly provedeny simulace zobrazování v CCHM pouze v příčném směru a mohla být tak vyhodnocována pouze příčná rozlišovací schopnost, úkolem v tomto odstavci bude prozkoumat, jakým způsobem na parametrech zobrazování závisí podélná rozlišovací schopnost CCHM.

Podle schématu CCHM na obr. 3.1 na výstupní rovině mikroskopu spolu interferují vlny z referenční a objektové větve. Zřejmě vyšší hodnoty indexu lomu vzorku způsobí větší fázový rozdíl mezi oběma vlnami a tím i silnější holografický signál. Dalším úkolem v tomto odstavci bude otestovat hypotézu o existenci přímé lineární závislosti mezi signálem a indexem lomu zkoumaného vzorku.

Pro úkoly stanovené výše bylo metodou FDTD a s tvarem aperturní funkce (3.9) simulováno zobrazování tří organel o stejném průměru jako organely na obr. 2.1, ležících v jedné rovině a o různém indexu lomu. Organely 1, 2 a 3 na obr. 4.10a) mají po řadě indexy lomu $n_1 = 1,37$, $n_2 = 1,39$ a $n_3 = 1,41$. Důvodem volby takovéto struktury bylo zajistit, aby signál organel 1, 2 a 3 nebyl ovlivňován signálem objektů nacházejících se v jiných rovinách z , viz například obr. 4.1 a 4.3, a zjistit, zda podélná rozlišovací schopnost CCHM závisí i na indexu lomu vzorku, zde organely. K vyjádření vlivu indexu lomu organely bude používán rozdíl

$$\Delta n_i = n_i - n_{back}, \quad (4.3)$$

kde n_i je index lomu organely i a n_{back} je index lomu pozadí, zde $n_{back} = 1,336$ (voda).

Zkoumání rozlišovací schopnosti mikroskopu lze převést na ekvivalentní úlohu měření šířky $w_{1/e}$ definované jako šířka v $1/e$ hodnotě maxima signálu v podélném směru organely, viz obr. 4.10d). Zřejmě menší hodnoty $w_{1/e}$ odpovídají vyšší rozlišovací schopnosti CCHM. Nejprve byla zkoumána možnost, zda má $w_{1/e}$ šířka spojitost s podélným rozlišením $r_{z,opt}$ konvenčního optického mikroskopu [69, odst. 28.3]

$$r_{z,opt} = 2 \frac{\lambda_v n_{back}}{NA^2}. \quad (4.4)$$

Závislost $w_{1/e}$ na $r_{z,opt}$ pro různé NA_S a Δn ukazuje levý sloupec grafů na obr. 4.11. Podle očekávání, $w_{1/e}$ nezávisí na Δn (resp. indexu lomu organely). Pro $NA_S = \text{konst.}$ šířka $w_{1/e}$ s $r_{z,opt}$ klesá zhruba lineárně až je dosaženo difrakčního limitu, kdy se měřená šířka $w_{1/e}$ pro menší NA_S od určité NA již dále nezmenšuje. V hrubém přiblížení lze tedy rozlišovací schopnost CCHM popsat pomocí (4.4), resp. $w_{1/e} \sim 1/NA^2$.

Rov. (4.4) popisuje podélné rozlišení intenzitního zobrazování konvenčního optického mikroskopu a proto byla snaha nalézt vztah, který by lépe popisoval podélné rozlišení CCHM zobrazujícího fázi. Na základě numerické optimalizace byl odhadnut vztah, resp. závislost pro podélné rozlišení CCHM [70]

$$r_{z,num} \sim \left(\frac{NA + NA_S}{NA^2 + NA_S^2} \right)^2 \left(1 - \frac{NA - NA_S}{2} \right) \quad (4.5)$$

Závislosti $w_{1/e}$ na $r_{z,num}$ pro různé NA_S a Δn ukazuje pravý sloupec na obr. 4.11. Pro tyto výsledky platí stejné závěry jako v případě zkoumané závislosti $w_{1/e}$ na $r_{z,opt}$, závislost

$w_{1/e}$ na $r_{z,num}$ se však jeví více lineární. Optimalizace (4.5) tedy lépe popisuje rozlišovací schopnost CCHM než původní přiblížení (4.4).

Pro otestování hypotézy o přímé obecné lineární závislosti mezi signálem a indexem lomu objektu se vycházelo z jednoduchého předpokladu, že v hrubém přiblížení platí [71]

$$\phi \approx K \Delta n, \quad (4.6)$$

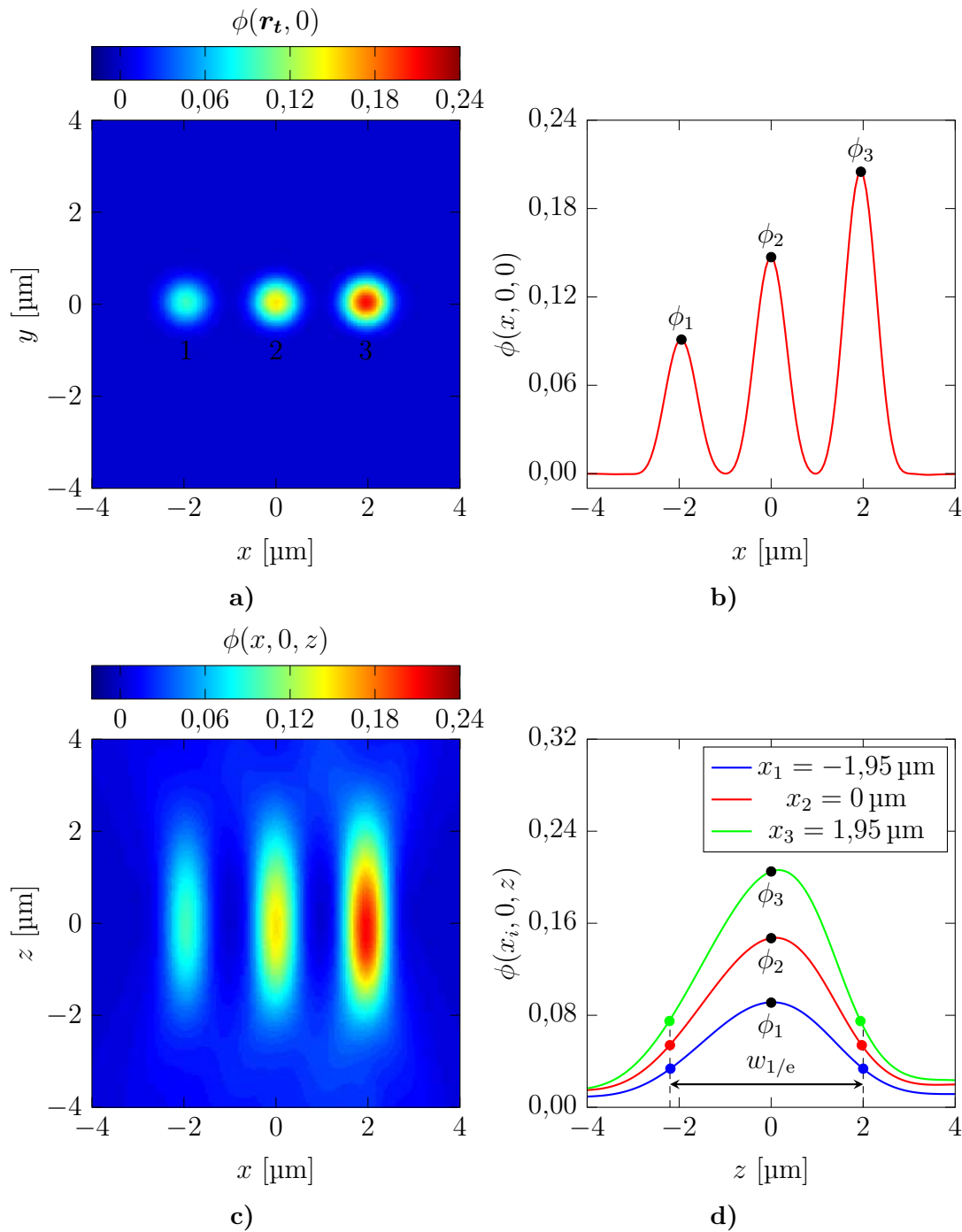
kde K je předpokládaná konstanta úměrnosti. Úkolem bylo ověřit platnost vztahu (4.6) a dále zjistit zda K má stejnou hodnotou pro všechny dvojice NA, NA_S. Pro ověření byly vybrány hodnoty signálu ve středech organel ϕ_1, ϕ_2, ϕ_3 na obr. 4.10b) a 4.10d) a pro každou zkoumanou dvojici NA, NA_S byla provedena lineární regrese [43, odst. 25.9] body $(\Delta n_1, \phi_1), (\Delta n_2, \phi_2), (\Delta n_3, \phi_3)$. Hodnoty sklonu lineární regrese jsou poté rovny hledané konstantě úměrnosti K v (4.6). Příklad regrese pro NA = 0,9 a různé NA_S je na grafu 4.12. Typické hodnoty korelačních koeficientů regrese byly 0,999 a svislého posunu řádově 10^{-3} .

Hodnoty K , resp. sklonu lineárních regresí pro všechny zkoumané dvojice NA, NA_S jsou vyneseny na grafu 4.13. Je zřejmé, že K se mění jak s aperturou objektivu NA tak i s aperturou osvětlení NA_S.

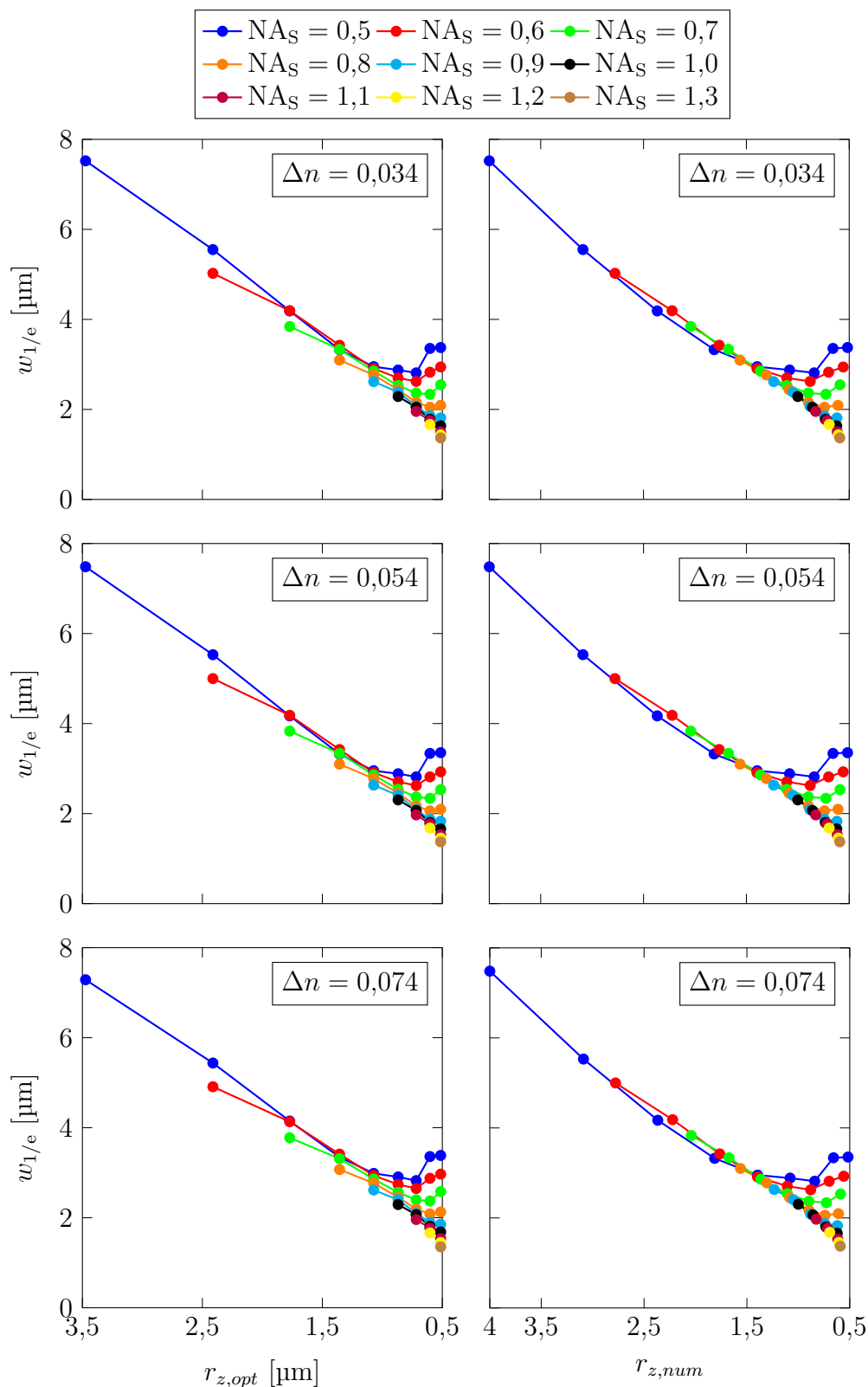
Závěr

Bylo ukázáno, že podélnou rozlišovací schopnost CCHM lze v hrubém přiblížení popsat vztahem pro rozlišení konvenčního optického mikroskopu. I když optimalizace (4.5) odpovídá podélné rozlišovací schopnosti lépe, neposkytuje hlubší teoretický pohled do zobrazování v CCHM. Lokální maxima na obr. 4.10a) velmi přesně vyhovují lineárnímu vztahu (4.6), avšak K závisí komplikovaným způsobem na NA a NA_S. Studium této závislosti již však přesahuje rámec práce.

4.4. PODÉLNÉ ROZLIŠENÍ CCHM A ZÁVISLOST SIGNÁLU NA INDEXU LOMU

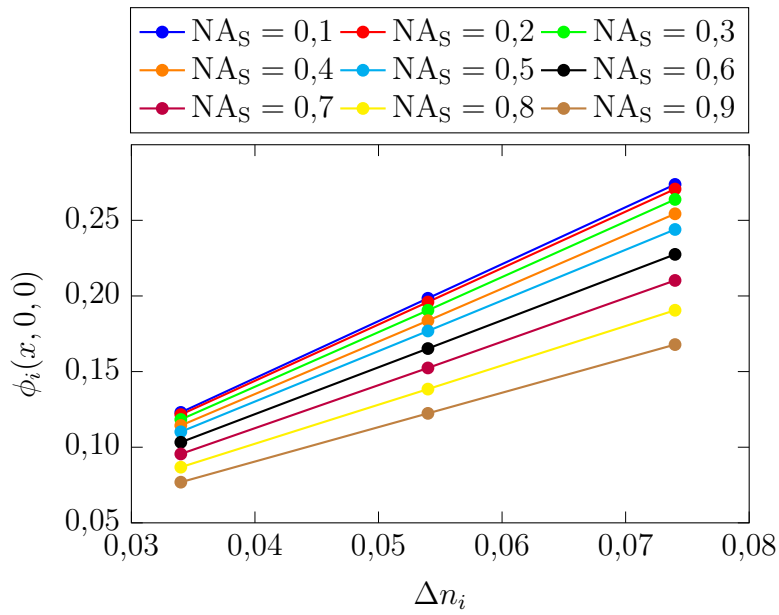


Obr. 4.10: Vybraný výsledek simulace zobrazování v CCHM pro $NA = 0,7$, $NA_S = 0,5$ pro zkoumání podélné rozlišovací schopnosti a závislosti signálu na indexu lomu. **a)** Signál v rovině $z = 0$. **b)** Profil signálu v ose $y = 0$ s vyznačenými signály ϕ_1 , ϕ_2 , ϕ_3 ve středech organel 1, 2 a 3 v **a)**. **c)** Signál v rovině $y = 0$. **d)** Profily signálu v osách $x_1 = -1,95$ μm , $x_2 = 0$ μm , $x_3 = 1,95$ μm s vyznačenými signály ϕ_1 , ϕ_2 , ϕ_3 a podélnou šířkou $w_{1/e}$.

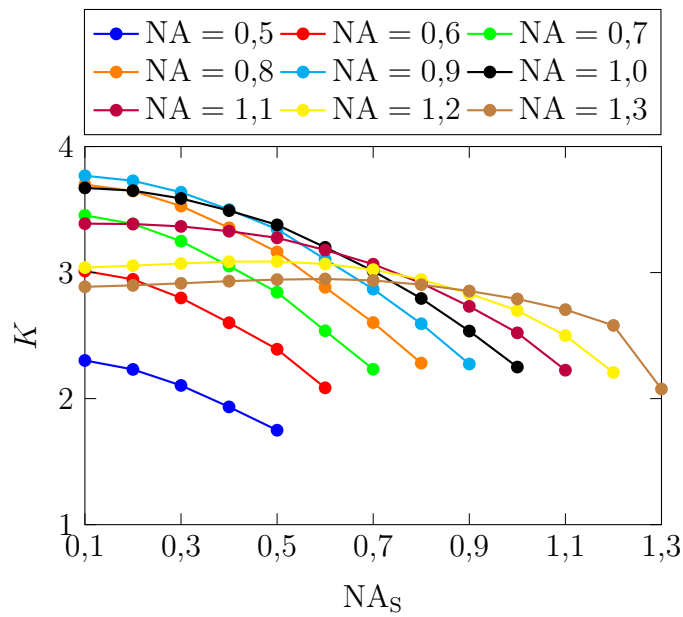


Obr. 4.11: Levý sloupec: závislost podélné šířky $w_{1/e}$ na rozlišení $r_{z,opt}$ (4.4) konvenčního optického mikroskopu. Pravý sloupec: závislost podélné šířky $w_{1/e}$ na numerické optimalizaci $r_{z,num}$ (4.5).

4.4. PODÉLNÉ ROZLIŠENÍ CCHM A ZÁVISLOST SIGNÁLU NA INDEXU LOMU



Obr. 4.12: Závislost holografického signálu ve středech organel ϕ_i (viz obr. 4.10b), 4.10d) na Δn pro $NA = 0,9$ a různé NA_S .



Obr. 4.13: Hodnoty konstanty úměrnosti K v rov. (4.6) pro různé NA a NA_S .

Závěr

Cílem práce bylo ověřit praktickou využitelnost Rytovovy aproximace a metody FDTD pro simulaci zobrazování v holografickém mikroskopu. Práce z velké části navazovala na simulace v [9], které se omezili na zobrazování přibližně rovinné struktury pouze v příčném směru, a rozšířila je i pro zobrazování v podélném směru. Pro účely simulace byla navržena prostorová struktura buněčných organel. Aby bylo možné dosáhnout reprezentativních výsledků v podélném směru, byla hodnota zkoumaných numerických apertur objektivu a osvětlení navýšena až na 1,3, výrazně přesahující hodnotu 0,8 v [9].

Simulace vycházely ze skalární teorie zobrazování v CCHM založené na znalosti matice rozptylu \mathcal{S} . Proto byly v práci nejprve podrobně vyhodnocovány různé způsoby výpočtu \mathcal{S} pomocí metody FDTD. Pro srovnání byly také provedeny výpočty pomocí analytické metody založené na Rytovově aproximaci. Přímý způsob výpočtu \mathcal{S} , který je založen na rozkladu blízkého pole do úhlového spektra, se ukázal být výhodným při využití Rytovovy aproximace (samozřejmě v případě, kdy jsou splněny podmínky této aproximace). V případě výpočtu metodou FDTD vzhledem k velkým požadovaným aperturám a tedy vysokým prostorovým harmonickým složkám není možné získávat blízká pole záznamem na jeden monitor, aniž by nebylo nutné výrazně zvětšovat rozměry výpočetního okna anebo ztrácet podstatnou oblast blízkého pole. Proto bylo použito přístupu výpočtu matice \mathcal{S} dalekého pole. Daleké pole bylo počítáno z boxu monitorů zcela obklopující zkoumanou strukturu a tedy vždy obsahovalo úplnou informaci o rozptylové události bez ohledu na úhlu dopadající vlny. Navržený přístup byl podrobně popsán v kap. 2 včetně návodu jakým způsobem lze získat blízká pole při použití tohoto přístupu. Vzhledem k časové náročnosti simulací v programu Lumerical a původnímu cíli práce ovšem nebyl tento nekonvenční přístup dostatečně kvantitativně prověřen. Hlubší verifikace přístupu výpočtu matice rozptylu \mathcal{S} , resp. blízkého pole z pole dalekého pro různé parametry výpočetního okna může být například náplní dalšího projektu.

Kap. 3 představila holografický mikroskop vyvinutý na VUT s stručně shrnula výsledky skalární teorie zobrazování v CCHM

Kap. 4 se věnovala vlastním simulacím zobrazování v CCHM. Byla demonstrována snadná praktická aplikovatelnost metody FDTD. V porovnání s výpočtem založeným na Rytovově aproximaci, který byl prováděn v programu MATLAB, výpočet metodou FDTD v programu Lumerical nevyžaduje výraznější výpočetní časy, ovšem pouze za předpokladu možnosti provádět výpočty na výkonných serverech. Podle očekávání, rozdíly mezi Rytovovou aproximací a metodou FDTD výrazně rostly s aperturou objektivu NA. Lze však konstatovat, že Rytovovu aproximaci je možné oprávněně použít přibližně do hodnot NA 0,9 až 1,0. Simulace ukázaly i významný vliv apertur na rozlišovací schopnost CCHM. Potvrdily tak pozorování v [9] týkající se příčného rozlišení, která v této práci byla doplněna o pozorování podélného rozlišení.

Dále byly prozkoumány dvě formulace aperturních funkcí a jejich vliv na simulace zobrazování v CCHM. Ukázalo se, že pro běžné hodnoty numerických apertur osvětlení a objektivu je možné použít aperturní funkci bez korekce pro velké apertury s nevýznamným vlivem na výsledný holografický signál.

Pomocí numerické optimalizace byla nalezena přibližná závislost podélné rozlišovací schopnosti na numerické apertuře osvětlení a objektivu. Měřením podélné šířky organel se ověřilo, se rozlišení popsané touto závislostí odpovídá lépe CCHM než vztah pro podélné rozlišení konvenčního optického mikroskopu.

ZÁVĚR

Nakonec byl v práci zkoumán vztah mezi signálem a indexem lomu struktury. Bylo prokázáno, že maxima signálu velmi přesně vyhovují lineárnímu vztahu, avšak konstanta úměrnosti závisí komplikovaným způsobem na použitých numerických aperturách objektivu i osvětlení.

Literatura

- [1] TUCHIN, V. V.: *Handbook of Photonics for Biomedical Science*. Boca Raton: CRC Press, 2010.
- [2] LAGALI, N.: *Confocal Laser Microscopy: Principles and Applications in Medicine, Biology, and the Food Sciences*. IntechOpen, 2013.
- [3] SANBORN, W. R., *et al*: *Fluorescence microscopy for disease diagnosis and environmental monitoring*. World Health Organization, Regional Office for the Eastern Mediterranean, 2005.
- [4] AL-MUJAINI, A., WALI, U. K., AZEEM, S.: Optical Coherence Tomography: Clinical Applications in Medical Practice. *Oman medical journal*, 2013, **28**(2), 86-91.
- [5] EL-SCHICH, Z., *et al*: Holography: The Usefulness of Digital Holographic Microscopy for Clinical Diagnostics. V KIM, N., PIAO, Y., WU, H.: *Holographic Optical Elements and Application*. IntechOpen, 2017.
- [6] ČOLLÁKOVÁ, J., *et al*: Coherence-controlled holographic microscopy enabled recognition of necrosis as the mechanism of cancer cells death after exposure to cytopathic turbid emulsion. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, **20**(11), 111213.
- [7] GÁL, B., *et al*: Distinctive behaviour of live biopsy-derived carcinoma cells unveiled using coherence-controlled holographic microscopy. *PLOS ONE*, 2017, **12**(8), 1-14.
- [8] TOLDE, O., *et al*: Quantitative phase imaging unravels new insight into dynamics of mesenchymal and amoeboid cancer cell invasion. *Scientific Reports*, 2018, **8**, 1-13.
- [9] VENGH, M.: *Simulations of light scattering from living cells*. Brno, 2018. VUT, FSI.
- [10] KOMRSKA, J.: *Vlnová optika: část Difrakce světla*. Brno: CERM, 2015.
- [11] HECHT, E.: *Optics*. 5th ed.. Pearson, 2016.
- [12] HAMMES, G. G.: *Spectroscopy for the Biological Sciences*. Wiley-Interscience, 2005.
- [13] DOORNBOS, R. M., *et al*: Elastic light-scattering measurements of single biological cells in an optical trap. *Applied Optics*, 1996, **35**(4), 729-734.
- [14] PUPPELS, G. J., *et al*: Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman microspectroscopy. *Nature*, 1990, **347**(3290), 301-303.
- [15] VESPERINAS, M. N.: *Scattering and diffraction in physical optics*. 2nd ed.. World Scientific, 2006.
- [16] MIE, G.: Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physics*, 1908, **25**(3), 377-445.
- [17] DING, H., *et al*: Fourier Transform Light Scattering of Inhomogeneous and Dynamic Structures. *Physical Review Letters*, 2008, **101**(23), 2381025.

LITERATURA

- [18] LIM, J., *et al*: Born approximation model for light scattering by red blood cells. *Biomedical Optics Express*, 2011, **2**(10), 2784–2791.
- [19] MULLER, P. F. X., SCHURMANN, M., GUCK, J. R.: The Theory of Diffraction Tomography. *Quantitative Methods*, 2015.
- [20] DEVANEY, A. J.: Inverse-scattering theory within the Rytov approximation. *Optics Letters*, 1981, **6**(8), 374-376.
- [21] KELLER, J. B.: Accuracy and Validity of the Born and Rytov Approximations. *Journal of the Optical Society of America*, 1969, **59**(8), 1003-1004.
- [22] DRAINE, B. T., FLATAU, P. J.: Discrete-Dipole Approximation For Scattering Calculations. *Journal of the Optical Society of America*, 1994, **11**(4), 1491-1499.
- [23] KARLSSON, A., *et al*: Numerical Simulations of Light Scattering by Red Blood Cells. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2005, **52**(1), 13-18.
- [24] YURKIN, M. A., *et al*: Experimental and theoretical study of light scattering by individual mature red blood cells by use of scanning flow cytometry and a discrete dipole approximation. *Applied Optics*, 2005, **44**(25), 5249-5256.
- [25] TAFLOVE, A.: *Computational Electrodynamics - The Finite-Difference Time-Domain Method*. Boston: Artech House, 1995.
- [26] GEDNEY, S.: *Introduction to the Finite-Difference Time-Domain (FDTD) Method for Electromagnetics*. Morgan & Claypool, 2011.
- [27] YEE, K. S.: Numerical solution of initial boundary value problems involving maxwell's equations in isotropic media. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 1966, **14**(3), 302-307.
- [28] LONGMIRE, C. L.: State of the Art in IEMP and SGEMP Calculations. *IEEE Transactions on Nuclear Science*, 1975, **22**(6), 2340-2344.
- [29] GILLAN, C. J., FUSCO, V. F.: High Performance Distributed FDTD Electromagnetic Field Computation for Electronic Circuit Design. ALLAN, R. J., *et al*: *High-Performance Computing*. Boston: Springer, 1999.
- [30] TAFLOVE, A., UMASHANKAR, K.: Radar Cross Section of General Three-Dimensional Scatterers. *IEEE Transactions on Electromagnetic Compatibility*, 1983, **25**(4), 433-440.
- [31] LUEBBERS, R., HUNSBERGER, H.: FDTD for Nth-order dispersive media. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 1992, **40**(11), 1297-1301.
- [32] STEELMAN, Z. A., *et al*: Light-scattering methods for tissue diagnosis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2019, **6**(4), 479-489.
- [33] SULLIVAN, D. M., BORUP, D. T., GANDHI, P. O.: Use of the Finite-Difference Time-Domain Method in Calculating EM Absorption in Human Tissues. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1987, **34**(2), 148-157.

- [34] DUNN, A., RICHARDS-KORTUM, R.: Three-dimensional computation of light scattering from cells. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 1996, **2**(4), 898-905.
- [35] SCHLAGER, K. R., SCHNEIDER, J. B.: A selective survey of the finite-difference time-domain literature. *IEEE Antennas and Propagation Magazine*, 1995, **3**(4), 39-57.
- [36] WRIEDT, T.: Light scattering theories and computer codes. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 2009, **110**(11), 833-843.
- [37] DIEDERICH, B., *et al*: Using machine-learning to optimize phase contrast in a low-cost cellphone microscope. *Public Library of Science One*, 2018, **13**(3), 39-57.
- [38] GOODMAN, J. W.: *Introduction to Fourier Optics*. 2nd ed.. New York: McGraw-Hill, 1996.
- [39] WOLF, E.: Scalar Representation of Electromagnetic Fields: II. *Proceedings of the Physical Society*, 1959, **74**(3), 269-280.
- [40] BRIGHAM, E. O.: *The Fast Fourier Transform and Its Applications*. Prentice Hall, 1988.
- [41] BORN, M., WOLF., E.: *Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light*. 7th ed.. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.
- [42] ARFKEN, G. B., WEBER, H. J., HARRIS, F. E.: *Mathematical Methods for Physicists: A Comprehensive Guide*. 7th ed.. Academic Press, 2012.
- [43] KREYSZIG, E.: *Advanced Engineering Mathematics*. 10th ed.. Wiley, 2011.
- [44] NIKOLOVA, N. K.: *Introduction to Microwave Imaging*. Cambridge University Press, 2017.
- [45] TAFLOVE, A., BRODWIN, M.: Numerical Solution of Steady-State Electromagnetic Scattering Problems Using the Time-Dependent Maxwell's Equations. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 1975, **23**(8), 623-630.
- [46] INAN, U. S., MARSHALL, R. A.: *Numerical Electromagnetics: The FDTD Method*. Cambridge University Press, 2011.
- [47] BOHREN, C. F., HUFFMAN, D. R.: *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. New York: Wiley, 1983.
- [48] KVAPIL, M.: *Plasmonic antennas*. Brno, 2015. VUT, FSI.
- [49] HOLTZMAN, R., KASTNER, R.: The time-domain discrete Green's function method (GFM) characterizing the FDTD grid boundary. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 2001, **49**(7), 1079-1093.
- [50] MA, W., RAYNER, M. R., PARINI, C. G.: Discrete Green's function formulation of the FDTD method and its application in antenna modeling. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 2005, **53**(1), 339-346.

LITERATURA

- [51] ENGQUIST, B., MAJDA, A.: Absorbing boundary conditions for numerical simulation of waves. *Mathematics of Computation*, 1977, **31**, 629-651.
- [52] BERGEN, J. P.: A perfectly matched layer for the absorption of electromagnetic waves. *Journal of Computational Physics*, 2019, **114**(2), 185-200.
- [53] GEDNEY, S. D.: An anisotropic perfectly matched layer-absorbing medium for the truncation of FDTD lattices. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 1996, **44**(12), 1630-1639.
- [54] <https://www.lumerical.com/products/fdtd/>
- [55] <https://support.lumerical.com/hc/en-us/articles/360034394234>
- [56] <https://support.lumerical.com/hc/en-us/articles/360034382674-PML-boundary-conditions-in-FDTD-and-MODE>
- [57] NOVOTNÝ, L., HECHT, B.: *Principles of Nano-Optics*. Cambridge University Press, 2006.
- [58] MANDEL, L., WOLF., E.: *Optical Coherence and Quantum Optics*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.
- [59] VOELZ, D. G.: *Computational fourier optics: a MATLAB tutorial*. SPIE Press, 2011.
- [60] GASKILL, J. D.: *Linear systems, Fourier transforms, and optics*. New York: Wiley, 1978.
- [61] CHMELÍK, R., HARNA, Z.: Parallel-mode confocal microscopy. *Optical Engineering*, 1994, **38**(10), 1635-1639.
- [62] KOLMAN, P., CHMELÍK, R.: Coherence-controlled holographic microscope. *Optics Express*, 2010, **18**(20), 21990–22003.
- [63] SLABÝ, T.: *Koherencí řízený holografický mikroskop nové generace*. Brno, 2014. VUT, FSI.
- [64] KOLLAROVA, V.: Quantitative phase imaging through scattering media by means of coherence-controlled holographic microscope. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, **20**(11), 111206.
- [65] KREIS, T., JÜPTNER, W.: Digital processing of holographic interference patterns using Fourier-transform methods. *Measurement*, 1988, **6**(1), 37-40.
- [66] CHMELÍK, R., *et al*: The role of coherence in image formation in holographic microscopy. *Progress in Optics*, 2014, **59**, 267-335.
- [67] WOLF, E.: Electromagnetic diffraction in optical systems - I. An integral representation of the image field. *Proceedings of the Royal Society*, 1959, **253**(1274), 349–357.
- [68] RIACHRDS, B., WOLF, E.: Electromagnetic Diffraction in Optical Systems - II. Structure of the Image Field in an Aplanatic System. *Proceedings of the Royal Society*, 1959, **253**(1274), 358-379.

- [69] OLDENBOURG, R., SHRIBAK, M.: Microscopes. V BASS, M., *et al*: *Handbook of Optics, Volume I: Geometrical and Physical Optics, Polarized Light, Components and Instruments*. 3rd ed.. McGraw-Hill Education, 2009.
- [70] SLABÁ, M.: *ústní sdělení*. Brno, 2020. VUT, FSI.
- [71] CHMELÍK, R.: *ústní sdělení*. Brno, 2020. VUT, FSI.

Seznam použitých zkratek

FDTD	<i>finite-difference time-domain</i>
CCHM	<i>coherence-controlled holographic microscope</i>
DDA	<i>discrete dipole approximation</i>
FTLS	<i>Fourier transform light scattering</i>
FEM	<i>finite element method</i>
MOM	<i>method of moments</i>
ABC	<i>absorbing boundary condition</i>
PML	<i>perfectly matched layer</i>
TFSF	<i>total field/scattered fields</i>
TFSF	<i>digital holographic microscope</i>
SSE	<i>sum of squared errors</i>