VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

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

KOHERENCÍ ŘÍZENÁ HOLOGRAFICKÁ MIKROSKOPIE V OPTICKY ROZPTYLUJÍCÍCH PROSTŘEDÍCH

COHERENCE-CONTROLLED HOLOGRAPHIC MICROSCOPY IN DIFFUSE MEDIA

ZKRÁCENÁ VERZE DISERTAČNÍ PRÁCE
SHORT VERSION OF DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Ing. MARTIN LOŠŤÁK

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

prof. RNDr. RADIM CHMELÍK, Ph.D.

BRNO 2014

Abstrakt
Předkládaná práce se zabývá zobrazováním přes difuzní prostředí v koherencí řízeném holografickém mikroskopu (CCHM) vyvinutém na Ústavu fyzikálního inženýrství v Brně. Je v ní uveden výpočet vzájemné koherence světla v mikroskopu, výpočet signálu v závislosti na vzájemném laterálním posuvu obou větví a vzájemná souvislost obou výsledků. Poslední zmíněný výpočet je navíc podroben ověřovacím experimentům.

Pomocí jednoduchého geometrického modelu je zde vysvětlen princip zobrazení v CCHM přes difuzní prostředí balistickým i difuzním světlem a je doplněn příslušnými potvrzujícími experimenty. Na tento model dále navazují teoretické výpočty rozptylové funkce bodu (PSF) pro zobrazení přes difuzní prostředí. Výsledek modelu je potvrzen experimentem.

Summary
This thesis deals with imaging through diffuse media in coherence-controlled holographic microscope (CCHM) developed in IPE FME BUT. The mutual coherence function as well as the signal dependence on the lateral mutual shift between both arms of the CCHM are calculated. Both functions are related to each other. The latter dependence is measured experimentally.

A principle of imaging with CCHM through diffuse media with both ballistic and diffuse light is explained by a simple geometrical model. This model is then verified experimentally by imaging a sample through diffuse medium. The point spread function (PSF) of CCHM for imaging through diffuse media is then calculated. Results of PSF calculation are proved experimentally.

Klíčová slova
koherencí řízená holografická mikroskopie, vzájemná koherence, koherentní funkce přenosu, rozptylová funkce bodu, zobrazování přes difuzní prostředí, nízká koherence, difuzní světlo

Keywords
coherence-controlled holographic microscopy, mutual coherence, coherent transfer function, point spread function, imaging through diffuse media, low coherence, diffuse light

LOŠŤÁK, M.*Koherencí řízená holografická mikroskopie v opticky rozptylujících prostředích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2014. 23 s. Vedoucí disertační práce prof. RNDr. Radim Chmelík, Ph.D.

Obsah

1 Úvod **1**
1.1 Motivace a cíle dizertační práce 1

2 Holografický signál a vzájemná koherence v CCHM **3**
2.1 Teoretický výpočet 3
2.1.1 Holografický signál v CCHM pro kvazimonochromatický zdroj . . . 3
2.1.2 Signál při vzájemně posunutých větvích 3
2.1.3 Vzájemná koherence 4
2.2 Měření vzájemné koherence 5
2.2.1 Měření vzájemné koherence pro 1. generaci CCHM 5
2.2.2 Měření vzájemné koherence pro 2. generaci CCHM 7
2.2.3 Závěr k měření vzájemné koherence 7

3 Difuzní zobrazování v CCHM **9**
3.1 Experiment - ověření schopnosti CCHM zobrazovat přes difuzní prostředí . 9
3.1.1 Zobrazování balistickým světlem 9
3.1.2 Zobrazování difuzním světlem - posuv obrazu v referenční větvi . . 10

4 PSF pro zobrazení v CCHM přes difuzní prostředí **13**
4.1 Výpočet PSF mikroskopu CCHM v 2D modelu 13
4.1.1 Laterální posuv větví 14
4.1.2 Numerický výpočet PSF objektové větve a PSF mikroskopu 14
4.1.3 Výsledky numerické simulace 14
4.2 Experimentální výsledky 17
4.3 Závěrečné shrnutí simulace a měření PSF 18

Závěr **19**

Literatura **23**

Kapitola 1

Úvod

1.1 Motivace a cíle dizertační práce

Hlavní důvody, které nás vedly k sepsání této práce, lze rozdělit do třech nejdůležitějších:

1. Schopnost zobrazit přes difuzní prostředí při použití zdrojů s nízkou koherencí je známou vlastností interferenční mikroskopie, jak je popsáno například v publikacích [1, 2]. V uvedených publikacích navíc autoři experimentálně ukazují, že rozlišení se při takovémto zobrazení nezmění. Ačkoli je tento jev popsán na základě experimentu, neexistuje prozatím žádný jeho přesný matematický popis.

2. Při pozorování s koherencí řízeným holografickým mikroskopem (CCHM) jsme zjistili, že v případě zobrazení přes difuzor je možné rekonstruovat obraz i v konfiguraci s vzájemně posunutými větvemi o vzdálenost vyšší než odpovídá koherenční šířce v dané rovině. V takovéto konfiguraci již přitom není možné zobrazit s CCHM ani v případě zobrazení bez difuzoru. Toto pozorování nás přivedlo k objevu, že lze zobrazovat s CCHM i s využitím difuzního světla. Tento experiment jsme chtěli zopakovat a mechanismus zobrazení difuzním světlem řádně matematicky popsat.

3. Z výpočtů, které jsme provedli a které odpovídají i výsledkům z publikace [3], jsme zjistili, že měřením závislosti signálu na vzájemném posunutí větví ve výstupní rovině lze zároveň měřit funkci vzájemné koherence CCHM. Tento jev jsme chtěli prověřit a zároveň změřit vzájemnou koherenci CCHM, neboť koherenční vlastnosti CCHM úzce souvisejí s jeho možnostmi zobrazení přes difuzní prostředí.

Z vyjmenovaných důvodů byly pro práci vytyčeny tři hlavní cíle:

Cíle dizertační práce

1. Charakterizovat zobrazení v difuzním prostředí vytvářené difuzním a balistickým světlem.

2. Na základě experimentu navrhnout vhodný model pro objasnění mechanismu zobrazení v difuzním prostředí.

3. Popsat koherenční vlastnosti světla v mikroskopu v závislosti na velikosti zdroje a výsledek ověřit experimentem.

Kapitola 2

Holografický signál a vzájemná koherence v CCHM

V této kapitole se budeme zabývat popisem některých zobrazovacích vlastností CCHM. Zaměříme se zejména na vyjádření signálu a vzájemné koherence, v této práci vyjádřené pomocí vzájemné intenzity J_{12}. Tyto funkce pro CCHM budou v rámci celé kapitoly postupně odvozeny. V dizertační práci se věnujeme i odvození koherentní funkce přenosu (CTF) CCHM. K tomu využijeme model vytvořený v publikacích [4, 5, 6].

2.1 Teoretický výpočet

2.1.1 Holografický signál v CCHM pro kvazimonochromatický zdroj

V této práci se budeme zabývat výhradně případy s kvazimonochromatickým osvětlením (viz [7]) s vlnovým číslem osvětlení K a budeme navíc předpokládat rovnoměrné rozložení intenzity světla na zdroji. Holografický signál v CCHM je za daných předpokladů vyjádřen vztahem

$$w(\boldsymbol{q_t}) \;=\; \iint_{-\infty}^{\infty} u_o(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{K}) u_r^*(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{K}) K^{-2} \mathrm{d}^2 \boldsymbol{K_t}, \tag{2.1}$$

kde $u_o(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{K})$, respektive $u_r(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{K})$ značí komplexní amplitudy předmětové a referenční vlny. Vektor $\boldsymbol{q_t}$ značí příčnou složku polohového vektoru $\boldsymbol{q} = (\boldsymbol{q_t}, z)$ a popisuje polohu bodu ve výstupní rovině CCHM, v němž amplitudu určujeme. Pro jednoduchost uvažujeme zvětšení M mezi předmětovou a výstupní rovinou $M = 1$. Místu ve výstupní rovině popsanému polohovým vektorem $\boldsymbol{q_t}$ tak bude odpovídat opět $\boldsymbol{q_t}$ v rovině předmětové. Vektor $\boldsymbol{K}$ je přímo úměrný vlnovému vektoru popisujícímu vlnu v předmětovém prostoru mikroskopu a jeho velikost je rovna $|\boldsymbol{K}| = 1/\lambda = n/\lambda_v$, kde λ je vlnová délka osvětlení v médiu o indexu lomu n a λ_v je vlnová délka ve vakuu. Platí, že $\boldsymbol{K} = (\boldsymbol{K_t}, K_z)$, kde $\boldsymbol{K_t} = (K_x, K_y)$ je příčnou složkou vektoru $\boldsymbol{K}$.

2.1.2 Signál při vzájemně posunutých větvích

V této části odvodíme závislost holografického signálu ve výstupní rovině CCHM na vzájemném laterálním posunutí větví $\Delta\boldsymbol{q_t}$ v případě, že v předmětové větvi není umístěn

vzorek. Pak vyjádření amplitudy referenční vlny bude shodné s amplitudou předmětové vlny a signál, který v tomto případě nebude záviset na absolutní poloze $\boldsymbol{q_t}$, nýbrž pouze na vzájemném posunutí $\Delta\boldsymbol{q_t}$, označíme $w_\Delta(\Delta\boldsymbol{q_t})$ a vyjádříme jej ve tvaru

$$w_\Delta(\Delta\boldsymbol{q_t}) = \iint\limits_{K_t \leq \mathrm{NA_{ill}}/\lambda_v} K_z^{-2} \exp(i2\pi\boldsymbol{K_t}\cdot\Delta\boldsymbol{q_t})\mathrm{d}^2\boldsymbol{K_t}, \tag{2.2}$$

kde $\mathrm{NA_{ill}}$ značí numerickou aperturu osvětlovacího svazku v předmětovém prostoru před interakcí se vzorkem. Pro nízké osvětlovací apertury $\mathrm{NA_{ill}}$ lze aproximovat $K_z = (K^2 - K_t^2)^{1/2}$ aproximovat konstantou, neboť platí $|K_z| \approx |K_z + Z| \approx K$ (viz [6], kap. 6). Integrál 2.2 je pak roven

$$\begin{aligned} w_\Delta(\Delta\boldsymbol{q_t}) &= \frac{2J_1\left[\nu(\Delta\boldsymbol{q_t})\right]}{\nu(\Delta\boldsymbol{q_t})} \\ \nu(\Delta\boldsymbol{q_t}) &= \frac{2\pi\mathrm{NA_{ill}}}{\lambda_v}|\Delta\boldsymbol{q_t}|. \end{aligned} \tag{2.3}$$

Symbol J_1 zde označuje Besselovu funkci 1. stupně a 1. řádu. Závislost holografického signálu na vzájemném posunutí Δq_t je tedy vyjádřena Airyho funkcí ([8], s. 52) proměnné ν, která je přímo úměrná posunutí Δq_t a numerické apertuře $\mathrm{NA_{ill}}$ a nepřímo úměrná vlnové délce osvětlení. Experimentální ověření výsledku (2.3) je v kapitole 2.2.

2.1.3 Vzájemná koherence

Funkce vzájemné koherence je v případě kvazimonochromatického světla vyjádřena funkcí vzájemné intenzity. Nyní odvodíme, jak by vypadala funkce vzájemné intenzity pro CCHM v případě, že v mikroskopu není žádný vzorek. V takovém případě je vyjádření pro objektovou vlnu opět shodné s vyjádřením pro referenční vlnu, takže $u_o(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{K}) = u_r(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{K})$. Výraz pro vzájemnou intenzitu CCHM, který je podrobně odvozen v dizertační práci, označíme $J(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{q_t} + \Delta\boldsymbol{q_t})$ a vyjádříme jej ve tvaru

$$J(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{q_t} + \Delta\boldsymbol{q_t}) = \iint\limits_{-\infty}^{\infty} u_r(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{K}) u_r^*(\boldsymbol{q_t} + \Delta\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{K}) K^{-2}\mathrm{d}^2\boldsymbol{K_t}. \tag{2.4}$$

Dalším počítáním získáme vyjádření vzájemné intenzity ve tvaru

$$J(\boldsymbol{q_t}, \boldsymbol{q_t} + \Delta\boldsymbol{q_t}) = \iint\limits_{K_t \leq \mathrm{NA_{ill}}/\lambda_v} K_z^{-2} \exp(i2\pi\boldsymbol{K_t}\cdot\Delta\boldsymbol{q_t})\mathrm{d}^2\boldsymbol{K_t}. \tag{2.5}$$

Výsledek pro vzájemnou intenzitu v CCHM s prázdným předmětovým (2.5) polem je tedy stejný jako výsledek (2.2) pro signál v závislosti na vzájemném posunutí, což odpovídá i výsledku z publikací [3, 6]. Stejně jako v případě (2.3) jde i nyní pro nízké apertury $\mathrm{NA_{ill}}$ o Airyho funkci, která je navíc za předpokladu plného vysvícení apertury objektivu $\mathrm{NA_{ob}}$ (tj. $\mathrm{NA_{ill}} = \mathrm{NA_{ob}}$) shodná s funkcí popisující amplitudovou PSF mikroskopového objektivu. Z tohoto vztahu plyne výraz pro teoretickou hodnotu koherenční šířky W_c, která je rovna 1. kořenu Airyho funkce ze vztahu (2.3), tj. $W_c = 0,61\lambda/\mathrm{NA_{ill}}$. Proto v případě plně vysvícené apertury objektivu je koherenční šířka W_c rovna bodovému rozlišení mikroskopového objektivu.

2.2 Měření vzájemné koherence

V následujícím experimentu ověříme platnost vztahu (2.3) pro průběh signálu v CCHM v závislosti na vzájemném posunutí obrazů $\boldsymbol{\Delta q_t}$ při zobrazování s prázdným předmětovým polem a bez difuzoru. Jelikož je tento vztah totožný se vztahem pro vzájemnou intenzitu, lze toto měření považovat za měření vzájemné koherence mikroskopu CCHM. Srovnáme takto teoretické a naměřené hodnoty koherenčních šířek pro obě generace CCHM.

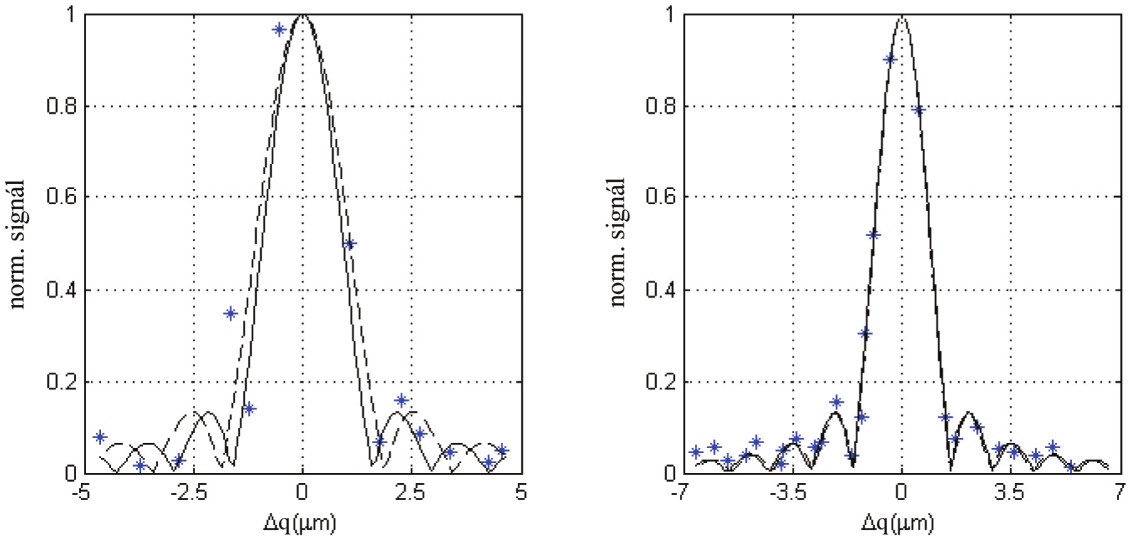
2.2.1 Měření vzájemné koherence pro 1. generaci CCHM

Experiment byl proveden na experimentální sestavě 1. generace CCHM popsané v dizertační práci. Použity byly kondenzorové a zobrazovací objektivy Lambda $20\times/\mathrm{NA} = 0,4$. Vlnová délka osvětlení byla $\lambda = 650\,\mathrm{nm}$. V grafech na obr. 2.1 jsou vyneseny hodnoty měřeného a teoreticky vypočítaného signálu (ze vztahu (2.3)) v závislosti na posuvu $\boldsymbol{\Delta q_t}$. V grafu je uvedena průměrná hodnota signálu z oblasti 3×3 pixely ležící ve středu zorného pole. Signál je navíc normován vůči maximální hodnotě, které nabývá ve střední poloze, tedy pro $\boldsymbol{\Delta q_t} = 0$. Experiment byl proveden pro několik velikostí zdroje, vyjádřených pomocí poměru $\mathrm{NA_{ill}}/\mathrm{NA_{ob}}$.

Výsledky experimentu, uvedené v obr. 2.1, ukazují velmi přesnou shodu s předpovězenou teoretickou závislostí ze vztahu (2.3). Relativní odchylka naměřených koherenčních šířek W_c od vypočítaných se neliší o více než 15%, většinou se však pohybuje pod 5%. Průběhy všech naměřených závislostí velmi dobře odpovídají závislostem vypočítaným.

Důležité je, že naměřené grafy nevyjadřují pouze závislosti průběhu signálu na vzájemném posunutí obrazů, nýbrž i vzájemnou koherenci ve výstupní rovině CCHM (viz poznámka pod vztahem (2.5)).

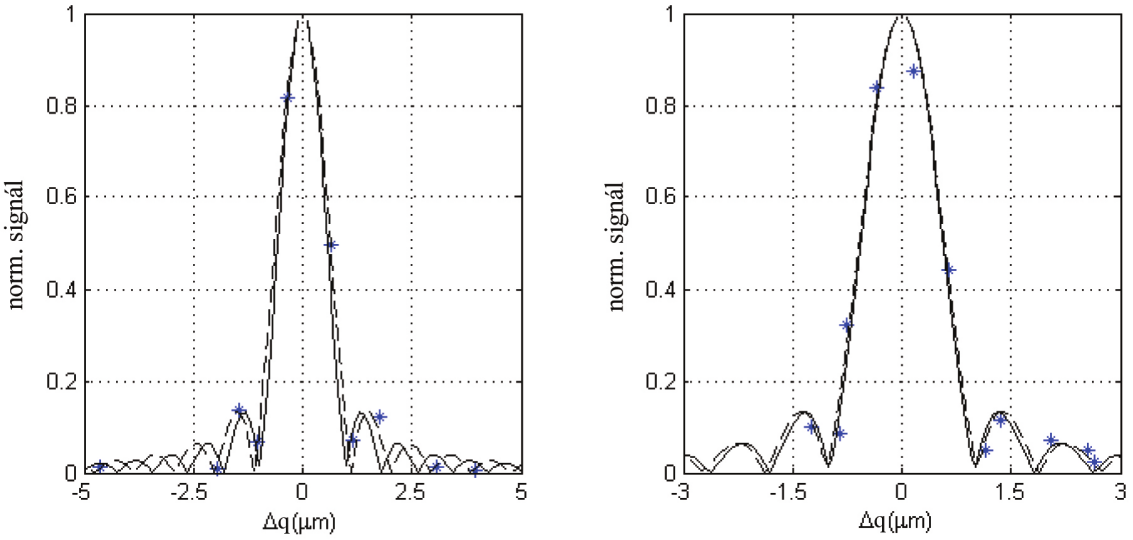
Posuv obrazů kolmo na proužky **Posuv obrazů rovnoběžně s proužky**



Naměřená koh. šířka = 1,86 +/- 0,05 μm **Naměřená koh. šířka = 1,55 +/- 0,20 μm**

Vypočítaná koh. šířka = 1,60 μm

NA_{ILL}/NA_{OB} = 0,62



Naměřená koh. šířka = 1,10 +/- 0,10 μm **Naměřená položířka = 1,01 +/- 0,16 μm**

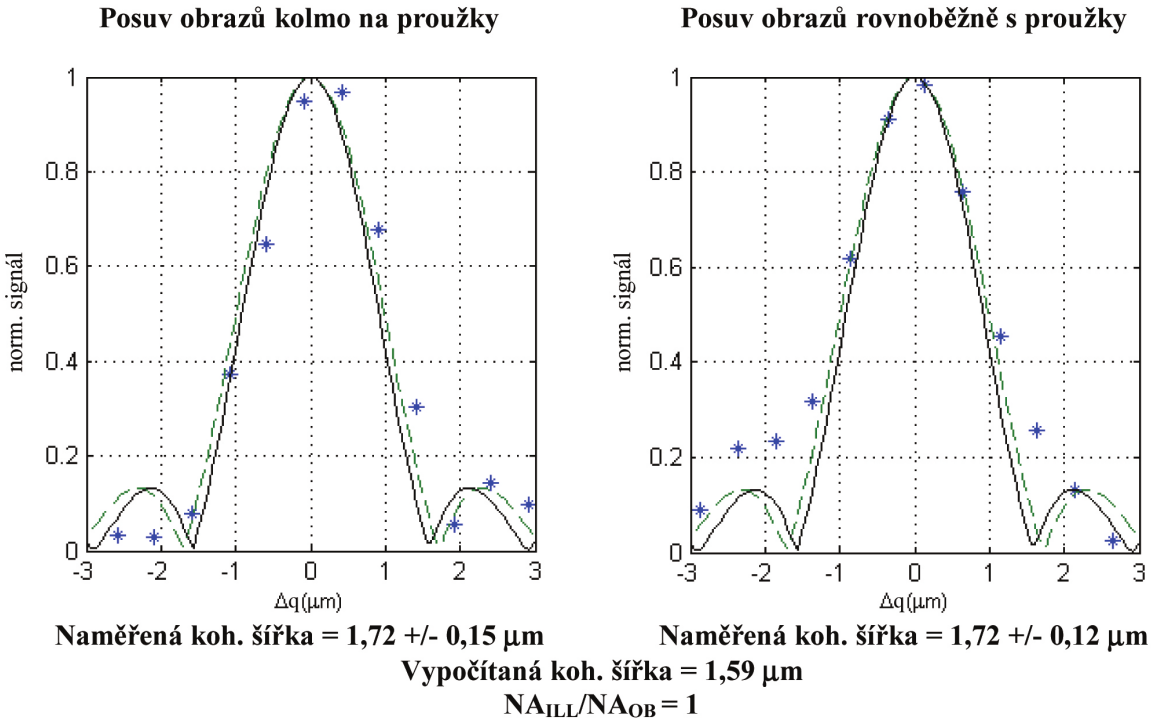
Vypočítaná koh. šířka = 0,99 μm

NA_{ILL}/NA_{OB} = 1

Obrázek 2.1: Průběh normovaného holografického signálu v 1. generaci CCHM v závislosti na vzájemném posuvu Δq_t, tj. zároveň průběh funkce vzájemné intenzity Pro experiment byly použity objektivy s numerickou aperturou $\mathrm{NA_{ob}} = 0,4$. v horním řádku $\mathrm{NA_{ill}} = 0,25$, tj. $\mathrm{NA_{ill}/NA_{ob}} = 0,62$ a v dolním řádku $\mathrm{NA_{ill}} = 0,4$, tj. $\mathrm{NA_{ill}/NA_{ob}} = 1,00$. $*$... naměřená data, - - -... fitovaná křivka, —... teoretický výpočet ze vztahu (2.3).

2.2.2 Měření vzájemné koherence pro 2. generaci CCHM

V případě měření vzájemné koherence 2. generace CCHM již uvádíme pouze měření pro plně vysvícenou aperturu objektivů, tj. kdy $\mathrm{NA_{ill}} = \mathrm{NA_{ob}}$. Experiment byl proveden s kondenzory Nikon s numerickou aperturou 0,52 a objektivy Nikon $10 \times /0,25$. Vlnová délka osvětlení $\lambda = 650\,\mathrm{nm}$. Vzájemný posuv byl narozdíl od experimentu s 1. generací CCHM proveden laterálním posuvem objektivu v referenční větvi. Teoretické hodnoty koherenčních šířek se liší o méně než 10% oproti naměřeným, což je vidět z grafu na obr. 2.2.



Obrázek 2.2: Průběh normovaného holografického signáluv 2. generaci CCHM v závislosti na vzájemném posuvu Δq_t, tj. zároveň průběh funkce vzájemné intenzity. Pro experiment byly použity objektivy s numerickou aperturou $\mathrm{NA_{ob}} = 0,25$. Numerická apertura osvětlovacího svazku $\mathrm{NA_{ill}} = 0,25$, tj. $\mathrm{NA_{ill}}/\mathrm{NA_{ob}} = 1$.∗... naměřená data, - - -... fitovaná křivka, —... teoretický výpočet ze vztahu (2.3).

2.2.3 Závěr k měření vzájemné koherence

Z naměřených výsledků funkce vzájemné intenzity, kterou jsme získali měřením závislosti holografického signálu v CCHM na vzájemném posunutí Δq_t, jsme získali hodnotu koherenční šířky W_c. Potvrdili jsme, že koherenční šířka W_c v CCHM při plném vysvícení pupily objektivu, tj. $\mathrm{NA_{ill}} = \mathrm{NA_{ob}}$, je přibližně rovna bodovému rozlišení mikroskopu $0,61\lambda/\mathrm{NA_{ob}}$. Navíc u první generace mikroskopu jsme zjistili, že naměřené a předpovězené hodnoty koherenční šířky si odpovídají, a to pro všechny rozsahy prostorové koherence. Od nejvíce až po nejméně prostorově koherentní nastavení mikroskopu, což bylo v experimentu provedeno změnou průměru aperturní clony od $\mathrm{NA_{ill}} = 0,12\mathrm{NA_{ob}}$ až po plně vysvícenou pupilu objektivu $\mathrm{NA_{ill}} = \mathrm{NA_{ob}}$.

Kapitola 3

Difuzní zobrazování v CCHM

V této kapitole se věnujeme názornému popisu zobrazení v CCHM přes difuzní prostředí pomocí geometrického modelu a demonstrujeme výsledky experimentů zobrazení přes difuzní prostředí v CCHM.

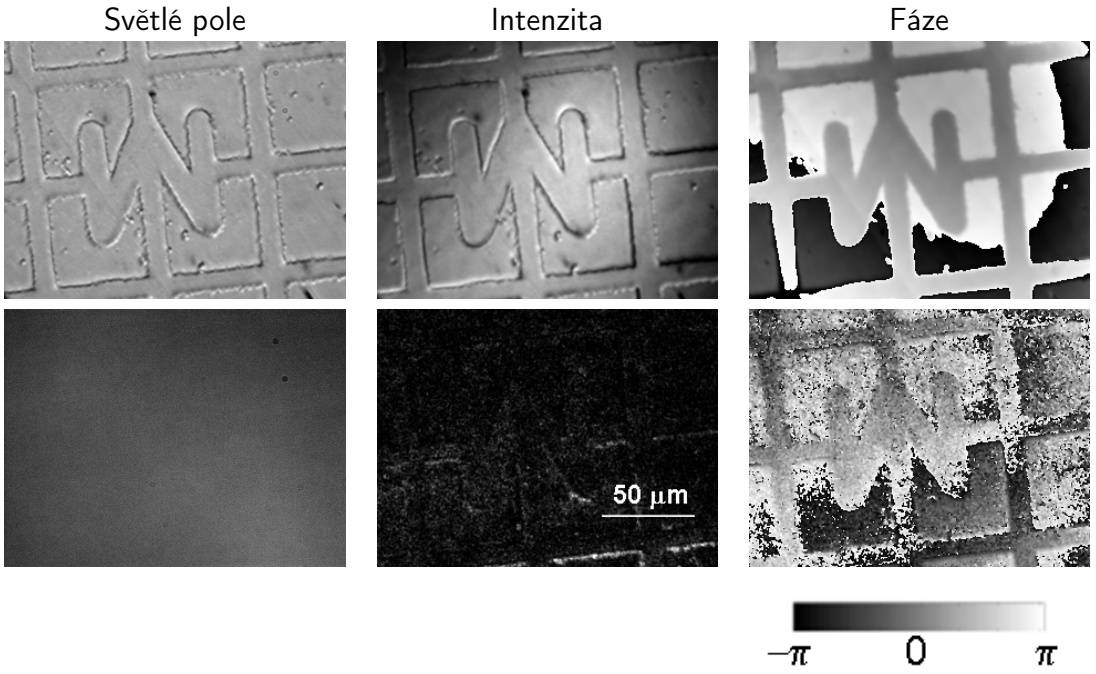
3.1 Experiment - ověření schopnosti CCHM zobrazovat přes difuzní prostředí

V následující části uvedeme experimentální ověření schopnosti mikroskopu zobrazovat v CCHM v difuzním prostředí jak světlem balistickým, tak difuzním. Měření probíhalo na mikroskopu CCHM 1. generace. V experimentech byly použity nejprve objektivy i kondenzory Lambda $10\times/\mathrm{NA}{=}0,25$ v experimentu z části 3.1.1 a 3.1.2. Jako vzorek je použito krycí sklíčko CELLocate o tloušťce $170\,\mu$m s vyleptaným reliéfem hloubky cca 360 nm. Sklíčko CELLocate je určeno pro detekci polohy buněk v zorném poli mikroskopu. Jako difuzor jsme aplikovali oboustranně zmatněné krycí sklíčko o tloušťce $(150 \pm 20)\,\mu$m. Difuzor byl vložen 3 mm za vzorek směrem k objektivu. Zdrojem světla byla halogenová lampa s použitím interferenčního filtru propuštějícího na vlnové délce 650 nm s položířkou 10 nm.

3.1.1 Zobrazování balistickým světlem

V této části budeme demonstrovat schopnost CCHM v režimu nízké prostorové koherence zobrazovat přes difuzor světlem balistickým. Pro vzájemné posunutí větví tedy platí $\Delta\boldsymbol{q_t} = \mathbf{0}$. Nejprve byl experiment proveden bez a posléze s difuzorem (viz obr. 3.1). Protože sklíčko CELLocate je fázový objekt, obraz rekonstruované fáze je mnohem kontrastnější než intenzitní. V případě bez difuzoru dostáváme ostrý obraz jak v intenzitě, tak ve fázi.

Pro názornou demonstraci toho, jak by daný difuzor znehodnotil obraz v klasickém mikroskopu, jsou v prvním sloupci obr. 3.1 uvedeny snímky ve světlém poli. Zatímco zobrazení bez difuzoru poskytuje klasický mikroskopický snímek vzorku, v případě s difuzorem je struktura vzorku při zobrazení ve světlém poli již zcela neviditelná, přesto však z rekonstruovaného hologramu dostáváme obraz intenzity a fáze jako v případě s difuzorem, tak bez něj. Snímky z obr. 3.1 tedy potvrzují schopnost zobrazovat vzorek přes difuzní prostředí balistickým světlem v CCHM díky efektu koherenční brány.

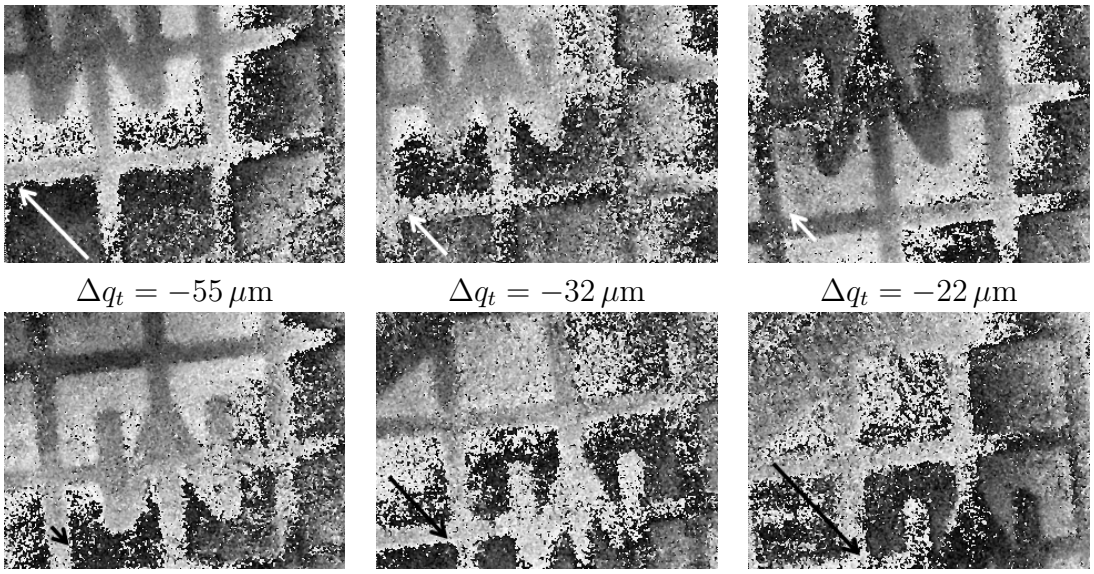


Obrázek 3.1: Zobrazení balistickým světlem. Horní řádek reprezentuje zobrazení bez difuzoru. Dolní řádek zobrazení s difuzorem. v prvním sloupci jsou obrázky pořízené pouze objektovou větví, referenční větev byla blokována, což tedy odpovídá zobrazení v klasickém mikroskopu ve světlém poli. Druhý a třetí sloupec ukazují zobrazení v holografickém módu mikroskopu. v prostředním sloupci je zobrazena absolutní hodnota signálu w a v posledním sloupci jeho fáze.

3.1.2 Zobrazování difuzním světlem - posuv obrazu v referenční větvi

Abychom prokázali schopnost CCHM v režimu nízké prostorové koherence zobrazovat i světlem difuzním, postupně jsme přitom zvyšovali velikost vektoru $\boldsymbol{\Delta q_t}$ ve směru podél interferenčních proužků.

Ačkoli jsme natáčeli zrcátkem ve větvi referenční, ve výsledku se posuv projeví příčným posuvem obrazu v zorném poli taktéž o $\boldsymbol{\Delta q_t}$, měřeno souřadnicemi v předmětové rovině. Na obrázku 3.2 jsou uvedeny snímky rekonstruované nenavázané fáze pro různé posuvy $\boldsymbol{\Delta q_t}$ podél směru interferenčních proužků. Je patrné, že fázové snímky lze zrekonstruovat i při vzájemném posunutí obrazů o $71\,\mu$ m, což několikanásobně převyšuje hodnotu koherenční šířky pro daný objektiv $W_c = 1,6\,\mu$m. V případě bez difuzoru totiž interference mizí při vzdálenosti $\Delta q_t > W_c$ velmi rychle. Slabý signál je možné naměřit i pro hodnoty vyšší než je koherenční šířka, ovšem ne pro vzdálenost asi čtyřicetkrát vyšší. V uvedeném případě se již podílí na vytváření signálu výhradně světlo difuzní. Tímto experimentem je tedy potvrzena schopnost mikroskopu zobrazovat difuzním světlem.



Obrázek 3.2: Snímky rekonstruované fáze vzniklé difuzním světlem při natáčení zrcadla v referenční větvi. Jsou zde uvedeny snímky pro jednotlivé posuny Δq_t ve směru podél proužků.

Kapitola 4

PSF pro zobrazení v CCHM přes difuzní prostředí

K odvození PSF v difuzním světle a přes difuzní prostředí provedeme na zjednodušenou 2D modelu CCHM. Jednak je tento přístup názorný, navíc jej lze snadněji interpretovat výsledky, které získáme následným numerickým modelem (část 4.1.2). V případě 3D modelu mikroskopu je numerický výpočet pro běžně dostupnou výpočetní techniku příliš náročný. Budeme tedy nyní mikroskop nahrazovat modelem, čímž příčná souřadnice y zmizí.

4.1 Výpočet PSF mikroskopu CCHM v 2D modelu

V práci jsme odvodili, že PSF h_{CCHM} celého mikroskopu lze vypočítat dle předpisu

$$h_{\mathrm{CCHM}}(x_0) = h_{\mathrm{obj}}(x_0) h^*_{\mathrm{ref}}(x_0), \tag{4.1}$$

kde $h_{\mathrm{obj}}(x_0)$ označuje PSF objektové větve a $h_{\mathrm{ref}}(x_0)$ PSF referenční větve. Zatímco funkce $h_{\mathrm{obj}}(x_0)$ je předmětem složitého výpočtu, jenž vyžaduje i numerické řešení a je součástí dizertační práce, tvar funkce $h_{\mathrm{ref}}(x_0)$ lze vyjádřit jednoduše jako

$$h_{\mathrm{ref}}(x_0) = \frac{\sin\left[\mathrm{NA}_{\mathrm{ill}}(x_0 - x_{0\mathrm{N}})2\pi/\lambda\right]}{\mathrm{NA}_{\mathrm{ill}}(x_0 - x_{0\mathrm{N}})2\pi/\lambda}. \tag{4.2}$$

Souřadnice x_0 označuje polohu ve výstupní rovině, kde hodnotu PSF zjišťujeme, přičemž předpokládáme že zvětšení mezi výstupní rovinou a předmětovou rovinou je rovno $M = 1$. $x_{0\mathrm{N}}$ označuje polohu zobrazovaného bodu v předmětové rovině. Rovnice 4.2 je rovna výrazu pro amplitudu obrazu bodového otvoru zobrazeného objektivem s numerickou aperturou $\mathrm{NA}_{\mathrm{ill}}$ při osvětlení bodovým zdrojem. Zde je však důležité zmínit, že h_{ref} není PSF v pravém slova smyslu. Podobným označením se však můžeme setkat i v dřívějších publikacích, např. [9, 10] a i my považujeme takové označení za velmi ilustrativní, zejména pro účely teoretického rozboru obsaženého v této práci.

Použití komplexní konjugace pro $h^*_{\mathrm{ref}}(x_0)$ je zbytečné, neboť $h_{\mathrm{ref}}(x_0)$ je reálná funkce tudíž $h_{\mathrm{ref}}(x_0) = h^*_{\mathrm{ref}}(x_0)$. V následujícím textu ji budeme tedy označovat pouze $h_{\mathrm{ref}}(x_0)$.

Pokud v objektové větvi není difuzor a zároveň osvětlovací svazek má stejnou nebo větší numerickou aperturu než objektiv, tedy pokud $\mathrm{NA}_{\mathrm{ill}} \geq \mathrm{NA}_{\mathrm{ob}}$, pak

$$h_{\mathrm{CCHM}}(x_0) = |h_{\mathrm{obj}}(x_0)|^2 = |h_{\mathrm{ref}}(x_0)|^2. \tag{4.3}$$

4.1.1 Laterální posuv větví

Při zobrazování s CCHM v difuzním světle budeme využívat různé laterální vzájemné posuvy mezi objektovou a referenční větví tak, jak je to popsáno výše, v části 3.1.2. Vzájemný posuv je proveden pomocí posouvání mikroobjektivu v referenční větvi ve směru kolmo k optické ose. Pokud posuvem objektivu způsobíme vzájemný posuv obrazů Δx_0 ve výstupní rovině, pak PSF mikroskopu bude vyjádřeno jako

$$h_{\mathrm{CCHM}}(x_0, \Delta x_0) = h_{\mathrm{obj}}(x_0) h_{\mathrm{ref}}(x_0 - \Delta x_0). \tag{4.4}$$

4.1.2 Numerický výpočet PSF objektové větve a PSF mikroskopu

Difuzor používaný v experimentech pro tuto práci bylo zmatněné sklo, jehož funkci propustnosti lze (dle [11, 12]) zapsat funkcí propustnosti $t_d(x_d) = \exp[ik\Phi(x_d)]$. $\Phi(x_d)$ je rozdíl optických drah způsobený průchodem světla v místě o souřadnici x_d a k je zde velikost vlnového vektoru. Předpokládáme přitom, že sklon svazku dopadajícího do x_d nebude mít vliv na fázové zpoždění způsobené průchodem přes difuzor. Náhodnou spojitou funkci $\Phi(x_d)$ jsme nahradili ve výpočtech diskrétní funkcí, jejíž hodnoty v jednotlivých bodech mají gaussovské rozdělení se střední hodnotou $\mu = 0$ a variancí σ. Variance σ zároveň definuje i maximální rozpětí těchto diskrétních hodnot. Souřadnice x_d je pro účel numerické simulace taktéž diskretizována a rozdělena do malých úseků délky $0,1\,\mu$m, což odpovídá zhruba $1/6$ vlnové délky $\lambda = 650\,$nm, pro niž jsme simulace počítali. Tyto úseky jsou tedy dostatečně malé v porovnání s rozlišením mikroskopu. Změna variance σ souvisí se změnou schopnosti difuzoru rozptylovat dopadající světlo. Čím vyšší je σ, tím více difuzor rozptyluje dopadající světlo. Hodnoty variance σ se v simulacích pohybovaly v intervalu $0,00 - 0,84\lambda$. Ve všech numerických výpočtech a stejně tak v experimentech byl pro osvětlení vybrán vždy mód s minimální prostorovou kohererencí, tj. kdy $\mathrm{NA_{ill}}$ je rovnou numerické apertuře objektivu $\mathrm{NA_{ob}} = 0,25$. Za účelem výpočtu PSF mikroskopu a PSF objektové větve byly výše uvedené parametry vloženy do modelu odvozeného v dizertační práci.

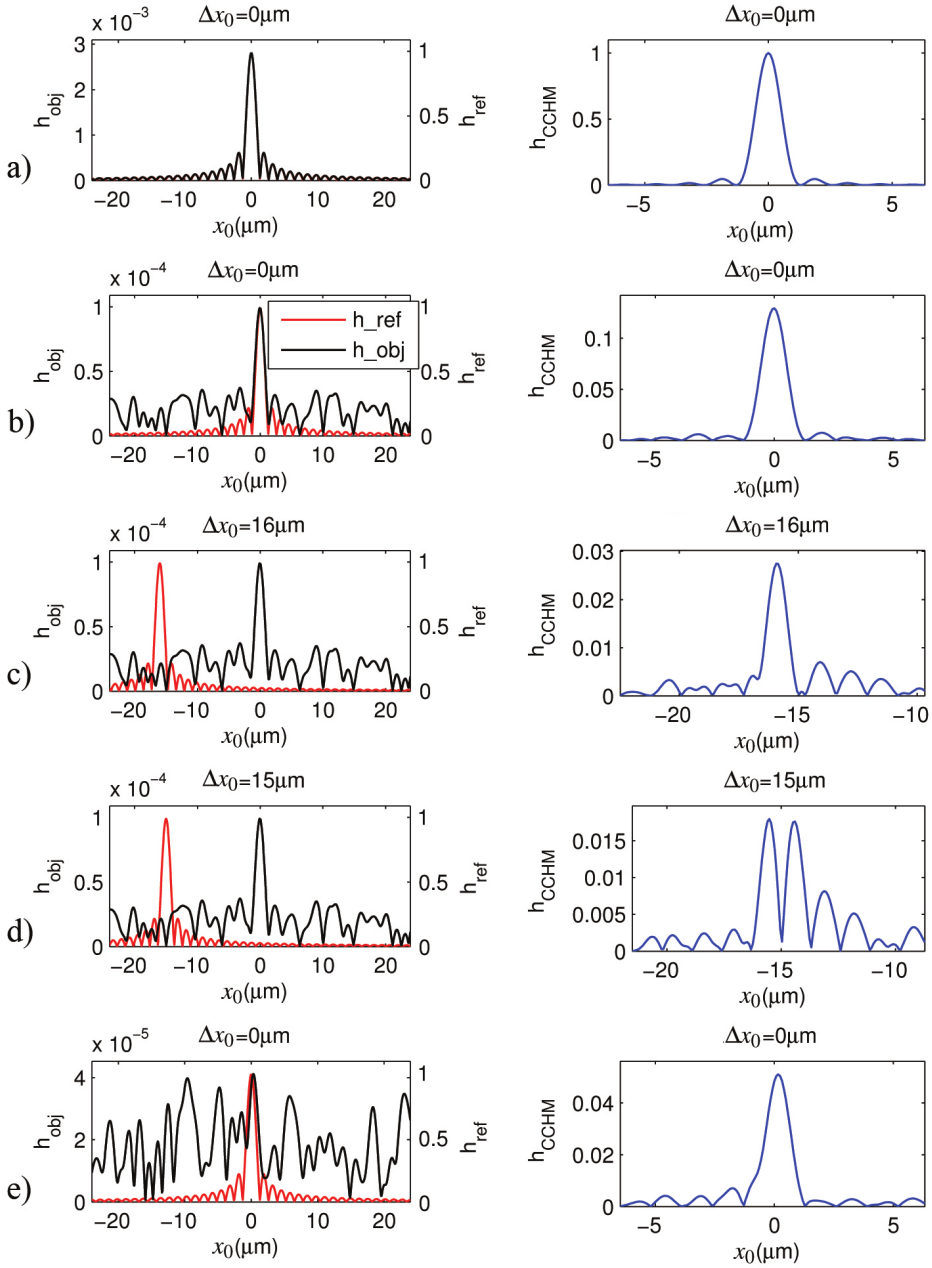
4.1.3 Výsledky numerické simulace

Parametry modelu byly nastaveny tak, aby odpovídaly experimentu popsanému v části 4.3. Výsledky modelu pro osový bod $x_{0\mathrm{N}} = 0$ jsou v obr. 4.1, kde v levém sloupci je vykreslena absolutní hodnota PSF objektové větve $|h_{\mathrm{obj}}(x_0)|$ spolu s $|h_{\mathrm{ref}}(x_0)|$ či $|h_{\mathrm{ref}}(x_0 - \Delta x_0)|$. V pravém sloupci je absolutní hodnota PSF mikroskopu $|h_{\mathrm{CCHM}}(x_0)| = |h_{\mathrm{obj}}(x_0) h_{\mathrm{ref}}(x_0 - \Delta x_0)|$.

Obrázky 4.1(a), 4.1(b)-4.1(d), a 4.1(e) reprezentují tři různé realizace difuzoru. Každá realizace přísluší k různé funkci $\Phi(x_d)$, a tedy i k různé funkci $h_{\mathrm{obj}}(x_0)$. Různé realizace se vzájemně liší, i pokud σ a μ zůstávají konstantní, neboť σ a μ jsou pouze statistickými parametry funkce $\Phi(x_d)$.

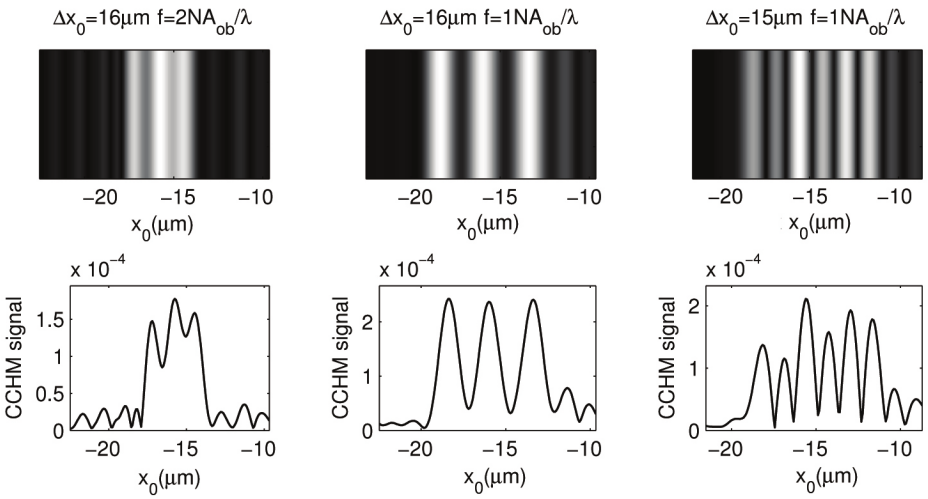
Obrázek 4.1(a) ukazuje situaci bez difuzoru, tj $\sigma = 0$. Numerická simulace funkce h_{obj} a h_{CCHM} v obr 4.1(a) odpovídá jejich analytickému vyjádření. Ve všech třech obrázcích 4.1(b)-4.1(d) je zachycena pouze jediná realizace $\sigma = 0,42\,\lambda$. Jediný rozdíl mezi obr 4.1(b)-4.1(d) je pouze ve vzájemném posunutí Δx_0. Obrázek 4.1(e) zachycuje realizaci silnějšího difuzoru charakterizovaného variancí dvakrát vyšší, tedy $\sigma = 0,84\,\lambda$.

Z výsledků v obr. 4.1 můžeme usuzovat, že difuzor s $\sigma = 0,42\,\lambda$ poskytuje nejlepší zobrazovací vlastnosti v balistickém světle,



Obrázek 4.1: V levém sloupci jsou absolutní hodnoty funkce h_{obj} spolu s h_{ref} vzájemně posunuté dle relevantního Δx_0, v pravém sloupci je absolutní hodnota jejich součinu $|h_{\mathrm{CCHM}}| = |h_{\mathrm{obj}} h_{\mathrm{ref}}|$ normována k maximální hodnotě $|h_{\mathrm{CCHM}}|$ bez difuzoru. Řádek a) ukazuje simulaci bez difuzoru, řádky b)-d) a e) reprezentují dvě různé realizace difuzoru. Řádky b)-d) reprezentují různá vzájemná posunutí Δx_0 pro tutéž realizaci difuzoru, konkrétně danou rozptylem $\sigma = 0,42\,\lambda$. v poledním řádku e) je výsledek difuzoru s realizací s vyšším rozptylem $\sigma = 0,84\,\lambda$, což znamená silněji rozptylující difuzor.

zatímco při zobrazení se silnějším difuzorem s $\sigma = 0,84\,\lambda$ vykazuje signál v difuzním světle o porovnatelné kvalitě se zobrazením v balistickém světle. Pro každý difuzor ovšem platí, že tvar výsledné funkce PSF mikroskopu je možné výrazně měnit i malou změnou vzájemného posunutí Δx_0. Hodnoty nejvhodnějších posunutí vedoucích k nejlepším PSF však lze těžko obecně předpovídat, neboť jsou velmi individuální pro každou reprezentaci difuzoru. z tohoto důvodu v práci tedy neuvádíme žádnou rovnici, z níž by bylo možné ideální posuv odvodit. Ze stejného důvodu tedy ani neuvádíme charakteristiku závislosti rozlišení nebo RMS na vzájemném posunutí.



Obrázek 4.2: Numerická simulace zobrazení tří nekonečných identických rovnoběžných ekvidistantně rozložených štěrbin. v horním řádku je vypočítaný signál ve stupních šedi. Ve spodním řádku je příčný řez horním řádkem. v levém sloupci je prostorová frekvence štěrbin $f = 2\mathrm{NA}_{\mathrm{ob}}/\lambda$ a vzájemný posuv $\Delta x_0 = 16,0\,\mu\mathrm{m}$, v prostředním sloupci $f = \mathrm{NA}_{\mathrm{ob}}/\lambda$, $\Delta x_0 = 16,0\,\mu\mathrm{m}$ a v pravém sloupci $f = \mathrm{NA}_{\mathrm{ob}}/\lambda$, $\Delta x_0 = 15,0\,\mu\mathrm{m}$.

Vypočítané funkce PSF, jejichž závislost je vynesena v obr. 4.1, byly použity pro model zobrazování nebodového objektu (obr. 4.2). Protože lze h_{CCHM} považovat za invariantní, využili jsme ji k výpočtu zobrazení 2D objektu, a to konkrétně tří identických rovnoběžných nekonečně dlouhých ekvidistantních štěrbin. Výsledek výpočtu tohoto 2D objektu je na obr. 4.2. Funkce propustnosti objektu $t(x_0)$ nabývá pouze hodnot 1 a 0. Propustnost $t = 1$ uvnitř štěrbiny a $t = 0$ mimo štěrbinu. Obrázky 4.2 ukazují vypočítaný holografický signál $w(x_0)$ získaný konvolucí funkce propustnosti $t(x_0)$ se simulovanou PSF mikroskopu h_{CCHM}:

$$w(x_0) = \int_{-\infty}^{\infty} t(x_0')h_{\mathrm{CCHM}}(x_0 - x_0')\mathrm{d}x_0'. \tag{4.5}$$

Horní řádek obr. 4.2 ukazuje vypočtený signál w vykreslený ve stupních šedi, zatímco spodní řádek obsahuje řezy horními obrazy. Pro celý obr. 4.2 se jedná o jedinou realizaci difuzoru shodnou s realizací na obr. 4.1(b)-4.1(d). V prvních dvou sloupcích obr. 4.2 jsou simulované štěrbiny rozmístěny s prostorovou frekvenci $f_{\mathrm{incoh}} = 2\mathrm{NA}_{\mathrm{ob}}/\lambda$ (limit rozlišení pro klasický mikroskop i CCHM s plně prostorově nekoherentním osvětlením, tj. při plně vysvícené pupile objektivu $\mathrm{NA}_{\mathrm{ob}} = \mathrm{NA}_{\mathrm{ill}}$ [13]) a $f_{\mathrm{coh}} = \mathrm{NA}_{\mathrm{ob}}/\lambda$ (limit rozlišení pro klasický mikroskop i CCHM s koherentním osvětlením, tj. při osvětlení bodovým zdrojem umístěným na optické ose, kdy $\mathrm{NA}_{\mathrm{ill}}/\mathrm{NA}_{\mathrm{ob}} \to 0$ [13]). Vzájemné posunutí obou větví je $\Delta x_0 = 16,0\,\mu\mathrm{m}$, což odpovídá PSF z obr. 4.1(c). Třetí sloupec zachycuje simulaci štěrbin rozmístěných s frekvencí f_{coh}, ovšem vzájemný posuv větví $\Delta x_0 = 15,0\,\mu\mathrm{m}$, což odpovídá PSF v obr. 4.1(d). Z obr. 4.2 můžeme tedy usuzovat, že při vzájemném posunutí $\Delta x_0 = 16,0\,\mu\mathrm{m}$ lze při této realizaci difuzoru pozorovat štěrbiny s frekvencí f_{incoh}, zatímco při vzájemném posunutí $\Delta x_0 = 15,0\,\mu\mathrm{m}$ není rozlišena ani frekvence dvakrát nižší, tedy f_{coh}.

4.2 Experimentální výsledky

Experiment byl proveden na mikroskopu CCHM 2. generace, jehož optické schéma je v dizertační práci. Použili jsme objektivy Nikon 10×/0, 25 s nekonečnou tubusovou vzdáleností. Aperturní úhel osvětlovacího svazku byl nastaven natolik velký, aby geometrický obraz zdroje zcela vyplnil aperturu objektivu, tj. ($\mathrm{NA_{ill}} = \mathrm{NA_{ob}}$). Osvětlovací svazek je přitom kvazimonochromatický, což jsme zajistili použitím interferenčního filtru propouštějícího na střední vlnové délce $\lambda_0 = 650\,\mathrm{nm}$ a majícího položířku FWHM=10 nm).

Vzorkem zobrazovaným v rámci tohoto experimentu je rozlišovací USAF test, který byl vytvořen leptáním do tenké Cr vrstvy nanesené na povrchu podložního skla. Mezi vzorek a pozorovací objektiv jsme vložili difuzor, kterým bylo zmatněné krycí sklo tloušťky $0,17\,\mathrm{mm}$ ležící ve vzdálenosti $a_d = 4,0\,\mathrm{mm}$ od vzorku směrem k objektivu.

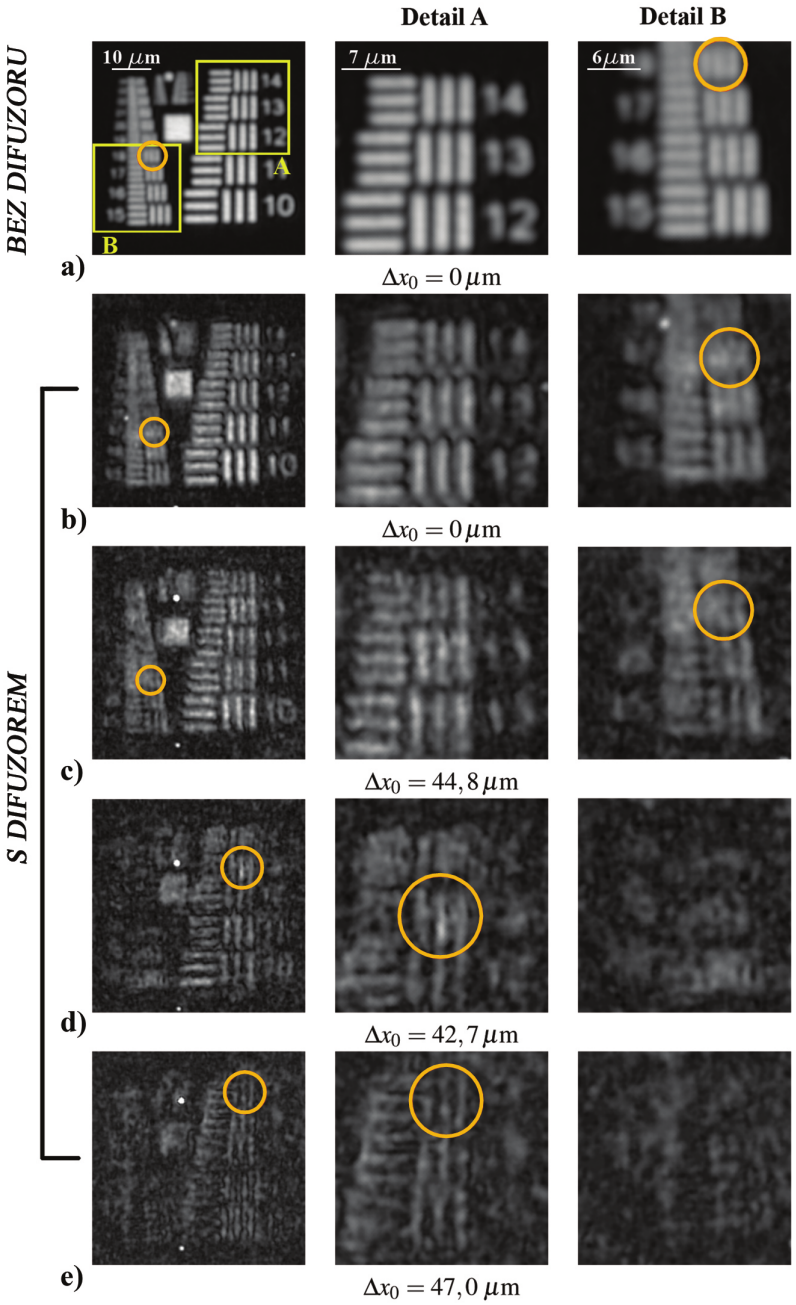
Nyní srovnejme výsledky simulace obrazu čarového objektu z obr. 4.2 s výsledky experimentu. Obrázek 4.3 ukazuje naměřený holografický signál w při zobrazení USAF testu ve stupních šedi. Původní hologramy zde neuvádíme zejména z důvodu jejich nízkého kontrastu. v prvním sloupci obr. 4.3 je obraz celého testu zatímco v dalších sloupcích jsou zobrazeny pouze jeho detaily. Ty jsou v obrázku viditelně vyznačeny čtvercovými oblastmi A resp. B.

Oranžové kroužky pak označují v každém zobrazení skupinu čar, jejichž frekvence je již na mezi rozlišení pro danou konfiguraci. Obrázek 4.3(a) ukazuje zobrazení USAF testu bez difuzoru, naproti tomu obr. 4.3(b)-4.3(e) zachycují obraz pořízený přes difuzor. Obrázky v jednotlivých řádcích 4.3(b)-4.3(e) se liší pouze vzájemným posunutím Δx_0, které bylo provedeno laterálním posuvem mikroskopového objektivu O_2. Zatímco v obr. 4.3(b) je obraz vytvořen balistickým světlem, zbylé řádky ukazují zobrazení difuzním světlem. Konkrétní hodnoty posuvů pro jednotlivé řádky jsou tyto: $\Delta x_0 = 44,8\,\mu\mathrm{m}$ - obr. 4.3(c), $\Delta x_0 = 42,7\,\mu\mathrm{m}$ - obr. 4.3(d) a $\Delta x_0 = 47,0\,\mu\mathrm{m}$ - obr. 4.3(e).

Variance σ ve fázi funkce propustnosti difuzoru $t_d(x_d)$ je podobná varianci difuzoru ze simulace z obr. 4.1(b)-(d). v každém z těchto obrázků je mez rozlišení různá a je vyznačena v každém řádku oranžovou značkou. V obr. 4.3(a) je rozlišení rovno $f_{\mathrm{lim}} = 0,81 f_{\mathrm{incoh}}$ kde $f_{\mathrm{incoh}} = \frac{2\mathrm{NA_o b}}{\lambda}$, dále pak $f_{\mathrm{lim}} = 0,73 f_{\mathrm{incoh}}$ pro $\Delta x_0 = 44,8\,\mu\mathrm{m}$, $f_{\mathrm{lim}} = 0,48 f_{\mathrm{incoh}}$ pro $\Delta x_0 = 42,7\,\mu\mathrm{m}$ a $f_{\mathrm{lim}} = 0,53 f_{\mathrm{incoh}}$ pro $\Delta x_0 = 47,0\,\mu\mathrm{m}$.

Teoreticky je pro obr. 4.3 očekávána hodnota $f_{\mathrm{lim}} = f_{\mathrm{incoh}}$. Experimentálně toho však nebylo dosaženo, což má více důvodů. Jedním z nich je fakt, že pro frekvence blízké f_{incoh} je hodnota CTF velmi nízká, což znamená velmi nízký kontrast pro frekvence blížící se mezní. Dalším činitelem zhoršujícím rozlišení jsou taktéž optické vady objektivů, zejména otovorová vada. Zde je důležité poznamenat, že k podobným výsledkům bychom dospěli i při pozorování klasickým mikroskopem. Dosažení teoretické meze v experimentu není úplně možné.¨Zobrazení přes difuzor je navíc zhoršeno nízkou hodnotou podílu signálu vůči šumu (SNR - signal-to-noise ratio).

Na kvalitu zobrazení má vliv, zejména při zobrazování přes difuzor, dlouhá expozice neboli průměrování více snímků. Průměrování více snímků z různých posuvů bylo provedeno taktéž, ovšem prozatím bez významných výsledků. v současnosti se však pracuje na metodě, která by umožnila skládat obrazy vzniklé v různých pozicích vzájemného posunutí Δx_0 za účelem vzniku obrazu s vyšší kvalitou a rozlišením.



Obrázek 4.3: Výsledky experimentu - zobrazení rozlišovacího testu USAF. Obrázky byly pořízeny s objektivy $10\times/0,25$, interferenčním filtrem $\lambda = 650\,\text{nm}$, 10 nm FWHM. a) zobrazení bez difuzoru, b) zobrazení s difuzorem - balistické světlo, c)-e) zobrazení s difuzorem - difuzní světlo. Vzájemná posunutí jsou postupně c)$\Delta x_0 = 44,8\,\mu\text{m}$ d) $\Delta x_0 = 42,7\,\mu\text{m}$, e) $\Delta x_0 = 47,0\,\mu\text{m}$. v druhém a třetím sloupci jsou zvětšené detaily oblastí a resp. B. Oranžové kroužky označují limit rozlišení obrazů v příslušném řádku.

4.3 Závěrečné shrnutí simulace a měření PSF

Byl vytvořen jedoduchý model pro zobrazování v CCHM přes tenké difuzní vzorky, a to na základě 2D modelu CCHM ve Fresnelově paraxiální aproximaci. Ačkoli CCHM je achromatický, omezili jsme se v modelu a stejně tak i v experimentech pouze na monochromatické světlo. Tím se experimentální výsledky stávají snáze interpretovatelnými a lze je jednodušeji srovnat s výsledky výpočtů.

Obecné řešení pro tvar rovnice PSF bylo odvozeno analytickým výpočtem, ovšem

pro získání konkrétního kvantitativního řešení již však bylo nutné využít numerické simulace. Funkce propustnosti difuzoru je totiž definována jako soubor náhodných fázorů. Pro ověření správnosti numerického modelu jsme srovnávali výsledky modelu s výsledkem analytického výpočtu pro limitní případ, že funkce propustnosti difuzoru je rovna jedné.

Výsledkem simulace PSF pro zobrazení přes slabě rozptylující difuzor v balistickém světle byl velmi výrazný pík. Jak dále ukázaly výsledky, výrazný pík, ačkoli ne tak silný, jsme obdrželi i v případě difuzního světla, což prokázalo možnost zobrazovat v CCHM i v difuzním světle. PSF v případě difuzního světla ovšem silně závisí na parametru Δx_0 vyjadřujícímu vzájemné laterální posunutí větví ve výstupní rovině CCHM.

Vliv silnějšího difuzoru na PSF mikroskopu byl taktéž studován. Ve srovnání se slabším difuzorem zde již není tak velký rozdíl mezi pík em v balistickém a difuzním světle. Až na změnu hladiny signálu vůči šumu zůstavají ovšem ostatní vlastnosti zobrazení v difuzním světle stejné jako v případě slabšího difuzoru.

V experimentální části jsme prokázali, že vypočítané výsledky pro slabší difuzor jsou platné, a to na zobrazení rozlišovacího USAF terče přes zmatněné krycí sklo. Taktéž jsme experimentálně prokázali silný vliv vzájemného posunutí Δx_0 na PSF. Zvolením vhodné hodnoty Δx_0 jsme byli schopni zobrazit předměty s prostorovou frekvencí blízkou teoretickému limitu rozlišení pro CCHM $2\mathrm{NA}/\lambda$. Nicméně této teoretické hranice jsme plně nedosáhli, a to zejména díky nízké hodnotě SNR. Při změně parametru Δx_0 ze správné hodnoty se PSF rapidně změnila, což mělo za následek výsledný obraz s horší kvalitou i rozlišením.

Závěr

Shrnutí dosažených cílů

Cíle dizertační práce byly splněny. Zde předkládáme jejich závěrečné shrnutí.

- Koherenci světla v CCHM v závislosti na velikosti zdroje jsme popsali pomocí funkce vzájemné intenzity, jejíž tvar jsme v práci odvodili. Zjistili jsme, že tuto funkci lze v případě CCHM ztotožnit s funkcí pro holografický signál v závislosti na vzájemném laterálním posunutí referenční a objektové větve. Funkci jsme následně naměřili pro 1. i 2. generaci CCHM pro více velikostí zdroje. Experimentální výsledky velmi přesně odpovídají teoretickým výpočtům.

- Při pozorování s CCHM jsme zjistili, že v případě, kdy objekty jsou překryty difuzním sklem, jsme schopni rekonstruovat obraz i při vzájemných posunutích daleko větších, než při kterých to bylo možné bez difuzoru. Na základě tohoto experimentu jsme navrhli základní geometrický model vysvětlující tento jev. Ukazujeme zde mechanismus vzniku obrazu přes difuzní prostředí balistickým i difuzním světlem. Zobrazení přes difuzní prostředí balistickým světlem vzniká v CCHM v případě, kdy vzájemné laterální posunutí větví je nulové nebo velmi malé. Naproti tomu pro zobrazení v CCHM přes difuzní prostředí difuzním světlem je zapotřebí vytvořit vzájemné posunutí větší, než je koherenční šířka mikroskopu v místě, kde vzájemný posuv měříme.

- Na základě úvah provedených v publikacích [9] a [10] jsme vytvořili teoretický model pro rozptylovou funkci PSF charakterizující zobrazení v difuzním prostředí vzniklé balistickým, respektive difuzním světlem v CCHM. Tento model byl podroben ověřovacím experimentům, pomocí nichž jsme zjistili skutečné hodnoty rozlišení pro zobrazení v difuzním prostředí v CCHM.

- Výpočet teoretického modelu PSF je v práci předveden na 2D modelu CCHM. Jeho obecné řešení je zde uvedeno analyticky. Pro získání konkrétního řešení jsme ovšem využili numerickou simulaci pro realizaci funkce propustnosti simulovaného difuzoru. Tato funkce je v práci modelována jako suma fázorů s náhodným rozdělením fáze. z výsledků modelu jsme zjistili, že při zobrazení v CCHM balistickým světlem je rozlišení shodné jako při zobrazení zcela bez difuzoru. Limitujícím je zejména množství balistického světla, které difuzorem projde. Rozptyluje-li difuzor natolik, že holografický signál tvořený interferencí balistických fotonů je již překryt šumem, zobrazení je nemožné. Tento závěr byl potvrzen i následným experimentem a je navíc v souladu s pozorováním provedeným v publikacích [1] a [2]. Stejný teoretický model jako pro zobrazení balistickým světlem jsme využili i pro model PSF při zobrazení difuzním světlem. z tohoto modelu jsme numerickou simulací zjistili, že rozlišení při

zobrazení difuzním světlem je silně závislé na hodnotě vzájemného posunutí referenční a předmětové větve. Při vhodném posunutí je možné získat stejné rozlišení jako v balistickém světle, při nevhodném posunutí je naopak zobrazení takřka nemožné. Všechny vyjmenované závěry z modelu byly navíc potvrzeny experimenty provedenými s CCHM, kde vzorkem byl rozlišovací USAF terč a difuzorem bylo zmatněné krycí sklo.

Literatura

[1] Tamano, S.; Hayasaki, Y.; Nishida, N. Phase-shifting digital holography with a low-coherence light source for reconstruction of a digital relief object hidden behind a light-scattering medium Applied optics, 2006, 45.5, s. 953-959.

[2] Kempe, M.; Rudolph, W.; Welsch, E. Comparative study of confocal and heterodyne microscopy for imaging through scattering media, JOSA A, 1996, 13.1, s. 46-52.

[3] Weingartner, I. Measurement of Mutual Coherence Functions by Image Holography, JOSA, 1970, 60.4, s. 572-573.

[4] Chmelík, R. Three-dimensional scalar imaging in high-aperture low-coherence interference and holographic microscopes, Journal of Modern Optics, 2006, 53.18, s. 2673-2689.

[5] Chmelík, R. Trojrozměrné zobrazení v mikroskopii, ÚFI FSI VUT v Brně, 2003.

[6] Chmelík R., Slabá M., Kollárová V, Slabý T., Lošťák M., Čolláková J., Dostál Z. The role of coherence in image formation in holographic microscopy, 59.1, s. 267-336.

[7] Born, M.; Wolf, E. Principles of Optics, seventh expanded edition, Cambridge: Cambridge university press, 2002.

[8] Komrska, J. Vlnová optika: část Difrakce světla, Brno: CERM, 2004.

[9] Leith, E.; Chen, C.; Chen, H.; Chen, Y.; Dilworth, D.; Lopez, J.; Rudd, J.; Sun, P.; Valdmanis, J. and Vossler, G. Imaging through scattering media with holography, JOSA A, 1992, 9.7, s. 1148-1153.

[10] Leith, E. Broad-source image plane holography as a confocal imaging process, Applied Optics, 1994, 33.4, s. 597-602.

[11] Kurtz, C. N. Transmittance characteristics of surface diffusers and the design of nearly band-limited binary diffusers, JOSA, 1972, 62.8, s. 982-989.

[12] Crane, R. B. Use of a laser-produced speckle pattern to determine surface roughness. JOSA, 1970, 60.12, s. 1658-1663.

[13] Slabý, T., Kolman, P., Dostál, Z., Antoš, M., Lošťák, M., Chmelík, R. Off-axis setup taking full advantage of incoherent illumination in coherence-controlled holographic microscope, Optics Express, 2013, 21.12, s. 14747-14762.