

ПРОСТРАНСТВЕННЫЙ СПЕКТР СИГНАЛА КОГЕРЕНТНОСТИ ПРИ ДЕФОКУСИРОВКЕ ИЗОБРАЖЕНИЯ ОБЪЕКТА В ЦИФРОВОЙ ГОЛОГРАФИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ С ЧАСТИЧНО ПРОСТРАНСТВЕННО КОГЕРЕНТНЫМ ОСВЕЩЕНИЕМ

Д.М. Клычкова^{1,2}, В.П. Рябухо^{1,2}

¹ Институт проблем точной механики и управления РАН, Саратов, Россия,

² Саратовский государственный университет, Саратов, Россия

Аннотация

Рассматривается эффект уменьшения модуля пространственного спектра сигнала когерентности на высоких пространственных частотах при оптической дефокусировке изображения объекта в цифровой голографической микроскопии на пропускание с квазимонохроматическим частично пространственно когерентным освещением. Представлено теоретическое описание эффекта и результаты численного моделирования его проявления для точечного рассеивающего объекта. Проведено экспериментальное исследование эффекта в лазерном частично пространственно когерентном излучении, формируемом с использованием движущегося рассеивателя, для объекта в виде слоя квазиточечных рассеивателей. Представлено сравнение результатов эксперимента с результатами численного моделирования, выполненного на основании теории, и показана высокая степень сходства экспериментальных результатов с теоретическими.

Ключевые слова: интерференционная микроскопия, цифровая голографическая микроскопия, визуализация, численная фокусировка, пространственный спектр голограммы, частичная когерентность, частично пространственно когерентное освещение.

Цитирование: Клычкова, Д.М. Пространственный спектр сигнала когерентности при дефокусировке изображения объекта в цифровой голографической микроскопии с частично пространственно когерентным освещением / Д.М. Клычкова, В.П. Рябухо // Компьютерная оптика. – 2018. – Т. 42, № 3. – С. 414-423. – DOI: 10.18287/2412-6179-2018-42-3-414-423.

Введение

Цифровая голографическая микроскопия (ЦГМ) в настоящее время является одним из наиболее перспективных методов количественной фазовой визуализации и позволяет измерять оптическую толщину микрообъектов с точностью до долей длины волны, проводить численную фокусировку восстанавливаемых изображений, а также устранять искажения в изображениях, вызываемые другими аберрациями оптической системы [1 – 11].

В ЦГМ чаще всего используется квазимонохроматическое пространственно когерентное излучение с большой длиной продольной когерентности, что при наличии частиц пыли, царапин и т.п. на оптических элементах приводит к возникновению интермодуляционных когерентных шумов – спекл-модуляции – в регистрируемом интерференционном сигнале – в цифровой голограмме и, как следствие, в восстанавливаемом сигнале – в изображении визуализируемого объекта. Эффективное снижение когерентных шумов возможно при помощи использования на этапе записи голограммы частично пространственно когерентного освещения [12–15]. Однако, как показано теоретически в [16], при записи голограмм как в осевой, так и во внеосевой ЦГМ на пропускание использование частично пространственно когерентного освещения, в отличие от использования полностью пространственно когерентного освещения, должно приводить к уменьшению модуля пространственного спектра сигнала когерентности в цифровой голограмме на высоких пространственных частотах при увеличении оптической дефокусировки изображения объекта на этапе записи

голограммы. Это может приводить к снижению поперечного разрешения восстанавливаемых с голограммы численно сфокусированных изображений и, как следствие, к уменьшению возможного диапазона численной перефокусировки, который служит важным параметром при визуализации микрообъектов в объеме контролируемой среды (например, при визуализации биологических клеток в растворе).

Для подтверждения теоретических выводов, представленных в [16], в данной работе поставлена задача экспериментального обнаружения и исследования эффекта уменьшения модуля пространственного спектра сигнала когерентности на высоких пространственных частотах при оптической дефокусировке изображения объекта в ЦГМ на пропускание с квазимонохроматическим частично пространственно когерентным освещением и сравнения результатов эксперимента с результатами численного моделирования, выполненного на основании теории.

1. Подход к исследованию

В линейном режиме работы матричного фотодетектора сигнал ЦГМ (цифровую голограмму) можно считать пропорциональным пространственному распределению интенсивности $I(x, y)$ интерференционного поля, образовавшегося в результате наложения объектного $V_S(x, y)$ и опорного $V_R(x, y)$ полей в плоскости регистрации. Распределение интенсивности $I(x, y)$ можно записать в форме интерференционного уравнения [17, 18] в следующем виде [16, 19]:

$$I(x, y) = I_S(x, y) + I_R(x, y) + \Gamma(x, y) + \Gamma^*(x, y), \quad (1)$$

где $I_S(x, y)$, $I_R(x, y)$ – пространственные распределения интенсивностей объектного и опорного полей в плоскости регистрации, $\Gamma(x, y) = \langle V_S(x, y)V_R^*(x, y) \rangle$ – функция одновременной взаимной когерентности объектного и опорного полей [18],

$$I(x, y) = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty I(\omega; x, y) d\omega, \tag{2}$$

$$\Gamma(x, y) = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty \Gamma(\omega; x, y) d\omega, \tag{3}$$

$$I(\omega; x, y) = I_S(\omega; x, y) + I_R(\omega; x, y) + \Gamma(\omega; x, y) + \Gamma^*(\omega; x, y), \tag{4}$$

$$\langle V_R(\omega; x, y)V_R^*(\omega'; x, y) \rangle = 2\pi\delta(\omega - \omega')I_R(\omega; x, y), \tag{5}$$

$$\langle V_S(\omega; x, y)V_S^*(\omega'; x, y) \rangle = 2\pi\delta(\omega - \omega')I_S(\omega; x, y), \tag{6}$$

$$\langle V_S(\omega; x, y)V_R^*(\omega'; x, y) \rangle = 2\pi\delta(\omega - \omega')\Gamma(\omega; x, y), \tag{7}$$

ω или ω' – круговая временная частота, $\Gamma(\omega; x, y)$ – взаимная спектральная плотность объектного и опорного полей в точке (x, y) , $I_S(\omega; x, y)$ и $I_R(\omega; x, y)$ – спектральные плотности объектного и опорного полей в точке (x, y) , $V_S(\omega; x, y)$ и $V_R(\omega; x, y)$ пропорциональны распределениям комплексной амплитуды квазимонохроматических компонент объектного и опорного полей в плоскости регистрации, угловые скобки (...) означают усреднение по ансамблю реализаций полей, которое для эргодических полей эквивалентно усреднению по времени, реализуемому фотодетектором в силу его временной инерционности. Из формул (2) и (3) следует, что интенсивность квазимонохроматического поля можно считать пропорциональной спектральной плотности поля: $I(x, y) \sim I(\omega; x, y)$, а функцию одновременной взаимной когерентности объектного и опорного полей – пропорциональной взаимной спектральной плотности: $\Gamma(x, y) \sim \Gamma(\omega; x, y)$. В таком случае при анализе сигнала (1) можно перейти от интенсивности результирующего поля $I(x, y)$ к спектральной плотности $I(\omega; x, y)$, а от функции одновременной взаимной когерентности $\Gamma(x, y)$ – к взаимной спектральной плотности $\Gamma(\omega; x, y)$ [16, 19]. Такое представление интерференционного сигнала (1) дает возможность формального анализа сигнала ЦГМ в целом и его главной информационной составляющей – сигнала когерентности $\Gamma(x, y)$, при использовании как монохроматического, так и частотно широкополосного освещения, когда необходим учёт влияния различных спектральных компонент освещения.

Поскольку в данной работе рассматривается и в экспериментальной части используется высокомонохроматическое лазерное излучение, а режим работы фотодетектора предполагается линейным, то под сигналом когерентности подразумевается часть сигнала ЦГМ, пропорциональная взаимной спектральной плотности объектного и опорного полей $\Gamma(\omega; x, y)$.

В [15, 16, 19, 20] теоретически показано, что в интерференционной микроскопии на пропускание пространственный спектр $\tilde{\Gamma}(\omega; k_x, k_y)$ взаимной спек-

тральной плотности объектного и опорного полей $\Gamma(\omega; x, y)$ в плоскости регистрации голограммы определяется следующим выражением:

$$\tilde{\Gamma}(\omega; k_x, k_y) \sim \tilde{t}'_S(\omega; k_x, k_y)\Xi(\omega; k_x, k_y) \sim \tilde{t}'_S(\omega; -Mk_x, -Mk_y)\Xi(\omega; k_x, k_y), \tag{8}$$

где $\tilde{t}'_S(\omega; k_x, k_y)$ – пространственный спектр поля изображения объекта $t'_S(\omega; x, y)$, $\tilde{t}'_S(\omega; -Mk_x, -Mk_y)$ – масштабированный пространственный спектр комплексного коэффициента (функции) пропускания объекта $t_S(\omega; x_S, y_S)$; $\Xi(\omega; k_x, k_y)$ – пространственно спектральная функция, которая при тонком объекте с точечными элементарными рассеивателями и при совпадении задней фокальной плоскости линзы системы освещения (конденсора) с передними фокальными плоскостями микрообъективов объектного и опорного плеч голографического микроскопа задаётся следующим выражением [16]:

$$\begin{aligned} \Xi(\omega; k_x, k_y) &= \exp[-jk\Delta z(n_C - n_{im})] \times \\ &\times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} dx_S dy_S \exp[-jM(k_x x_S + k_y y_S)] \times \\ &\times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} A(\omega; x_3, y_3) \times \\ &\times \exp\left[jk\Delta z \left(\sqrt{n_{im}^2 - \frac{x_3^2 + y_3^2}{f^2}} - n_{im} \right) \right] \times \\ &\times \exp\left[-j \frac{k}{f'} (x_3 x_S + y_3 y_S) \right] dx_3 dy_3 \times \\ &\times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} A_i(\omega; x_0, y_0) \times \\ &\times \exp\left[-jk\Delta z \left(\sqrt{n_C^2 - \frac{x_0^2 + y_0^2}{f_C^2}} - n_C \right) \right] \times \\ &\times \exp\left[-j \frac{k}{f_C} (x_0 x_S + y_0 y_S) \right] dx_0 dy_0, \end{aligned} \tag{9}$$

где j – мнимая единица; $k = \omega/c$ – волновое число, (k_x, k_y) – круговые поперечные пространственные частоты – проекции волнового вектора \vec{k} на оси x и y ; M – увеличение изображающей системы микроскопа; (x_0, y_0) – координаты в плоскости апертуры системы освещения, (x_S, y_S) – координаты в плоскости объекта, (x_3, y_3) – координаты в плоскости апертуры микрообъектива, совпадающей с его задней фокальной плоскостью, $A(\omega; x_3, y_3)$ – функция апертуры микрообъектива (в данной работе под этой функцией подразумевается только амплитудная функция пропускания апертурной диафрагмы микрообъектива),

$$A_i(\omega; x_0, y_0) = I_0(\omega; x_0, y_0) A \left(\omega; -\frac{f'}{f_C} x_0, -\frac{f'}{f_C} y_0 \right) -$$

функция апертуры системы освещения, I_0 – интенсивность освещающего поля в плоскости апертуры системы освещения, умноженная на амплитудную

функцию пропускания апертурной диафрагмы системы освещения,

$$A\left(\omega; -\frac{f'}{f'_c}x_0, -\frac{f'}{f'_c}y_0\right) -$$

изображение поля по апертуре микрообъектива в плоскости апертуры системы освещения, f'_c – заднее фокусное расстояние конденсора, f' – заднее фокусное расстояние микрообъектива; Δz – величина дефокусировки; n_{im} – показатель преломления иммерсии микрообъектива, n_c – показатель преломления иммерсии конденсора.

Для пояснения выражения (9) на рис. 1 представлена развертка объектного плеча интерференционного микроскопа на пропускание. Развертка опорного плеча аналогична при отсутствии объекта.

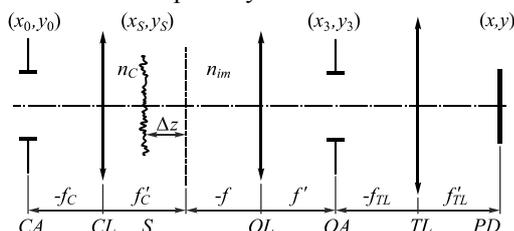


Рис. 1. Развертка объектного плеча интерференционного микроскопа на пропускание: CA – апертура конденсора, CL – линза конденсора, S – объект, OL – микрообъектив изображающей системы, OA – апертура микрообъектива изображающей системы, TL – тубусная линза, PD – матричный фотодетектор; f_c и f'_c , f и f' , f_{TL} и f'_{TL} – переднее и заднее фокусные расстояния конденсора, микрообъектива изображающей системы и тубусной линзы соответственно; (x_0, y_0) , (x_S, y_S) , (x_3, y_3) , (x, y) – координаты в плоскостях апертурной диафрагмы системы освещения, объекта, апертуры микрообъектива и регистрации соответственно

Если объект представляет собой одиночный точечный рассеиватель, расположенный на оптической оси ($x_S=0, y_S=0$), то коэффициент пропускания объекта может быть представлен в виде $t_S(\omega; x_S, y_S) = t_S(\omega)\delta(x_S, y_S)$, а соответствующий масштабированный пространственный спектр коэффициента пропускания, следовательно, равен $\tilde{t}_S(\omega; -Mk_x, -Mk_y) = t_S(\omega)$. Тогда, согласно (8), пространственный спектр $\tilde{\Gamma}(\omega; k_x, k_y)$ сигнала когерентности $\Gamma(\omega; x, y)$ пропорционален спектральной функции $\Xi(\omega; k_x, k_y)$:

$$\tilde{\Gamma}(\omega; k_x, k_y) \sim \Xi(\omega; k_x, k_y). \tag{10}$$

Таким образом, с помощью численного анализа модуля спектральной функции $\Xi(\omega; k_x, k_y)$ при различных величинах дефокусировки Δz можно теоретически установить влияние оптической дефокусировки на составляющие пространственного спектра сигнала когерентности [16]. Результаты такого моделирования при $k_y=0$, выполненного в данной работе, представлены в графической форме на рис. 2а-г.

Из рис. 2а видно, что при $\Delta z=0$ функция Ξ и, согласно (10), пространственный спектр сигнала когерентности $\tilde{\Gamma}$ отличны от нуля при значениях норми-

рованных пространственных частот, удовлетворяющих следующему соотношению [14]:

$$k_x'^2 + k_y'^2 \leq (NA + NAi)^2. \tag{11}$$

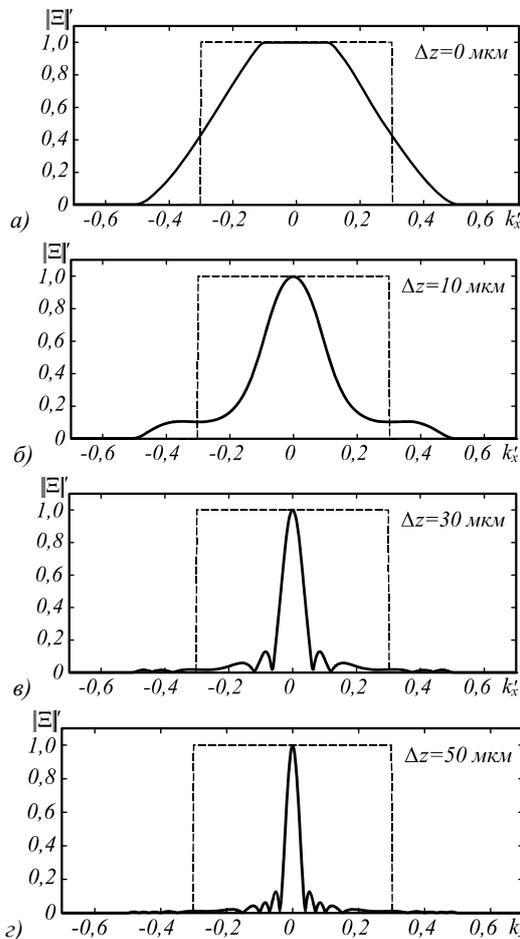


Рис. 2. Зависимость нормированного на единичный максимум модуля $|\Xi'|$ функции $\Xi(\omega; k_x, 0)$ от нормированной пространственной частоты $k_x' = Mk_x/k$ при $\omega = 2,98 \times 10^{15}$ рад/с ($\lambda = 632,8$ нм), $NA = 0,3$. Штриховая линия соответствует когерентному освещению ($NAi = 0$), сплошная линия – частично пространственно когерентному освещению ($NAi = 0,2$)

Чтобы сравнить результаты эксперимента и численного моделирования на основании выражения (8), необходимо использовать в эксперименте объект с известной функцией пропускания t_S . Поскольку найти такой объект довольно трудно, для объективного сравнения результатов численного моделирования и экспериментального исследования вместо выражения (8) может быть использовано следующее выражение, являющееся следствием (8) и не требующее знания функции пропускания объекта t_S :

$$\frac{|\tilde{\Gamma}(\Delta z; \omega; k_x, k_y)|}{|\tilde{\Gamma}(\Delta z = 0; \omega; k_x, k_y)|} = \frac{|\Xi(\Delta z; \omega; k_x, k_y)|}{|\Xi(\Delta z = 0; \omega; k_x, k_y)|}. \tag{12}$$

При малых величинах числовой апертуры освещения NAi эффект значителен лишь на высоких пространственных частотах. В этом случае для экспериментального наблюдения эффекта необходимо ис-

пользовать объект, функция пропускания которого удовлетворяет следующему условию:

$$\tilde{t}_S(\omega; k_x, k_y) \neq 0 \quad (13)$$

для k'_x, k'_y , подчиняющихся соотношению (11).

Т.е. используемый объект должен быть сильно-рассеивающим – должен иметь достаточно широкую индикатрису рассеяния.

$$\Xi(\Delta z = 0; \omega; k_x, k_y) \neq 0 \quad (14)$$

для k'_x, k'_y , подчиняющихся (11).

Согласно выражению (8) и (14), условие (13) эквивалентно следующему условию:

$$\tilde{\Gamma}(\Delta z = 0; \omega; k_x, k_y) \neq 0 \quad (15)$$

для k'_x, k'_y , подчиняющихся (11).

Если использовать слабо рассеивающий объект, то эффект может быть не обнаружен, поскольку при малых величинах числовой апертуры освещения NAi значительное уменьшение модуля функции Ξ будет только на высоких пространственных частотах, для которых $\tilde{t}_S = 0$ и, согласно (8), $\tilde{\Gamma} = 0$ для всех значений Δz .

2. Экспериментальная установка

Экспериментальное исследование проводилось при помощи ЦГМ на пропускание, собранного по схеме интерферометра Маха–Цендера, в режиме внеосевой голографии с квазимонохроматическим частично пространственно когерентным освещением. Схема микроскопа показана на рис. 3 и аналогична схеме, предложенной в [20, 21]. Частично пространственно когерентное поле освещения создавалось путем прохождения излучения гелий-неонового лазера LS через вращающийся тонкий рассеиватель, систему линз L_1, L_2, L_3 и апертурную диафрагму системы освещения IAS, расположенную в передней фокальной плоскости конденсорной линзы L_3 . Изменением радиуса апертурной диафрагмы IAS регулировалась угловая и, соответственно, числовая апертура освещения NAi , оцениваемая, примерно, как отношение радиуса отверстия апертурной диафрагмы системы освещения IAS к заднему расстоянию линзы L_3 . Изменением радиуса отверстия апертурной диафрагмы IAS варьировалась также и длина поперечной когерентности поля освещения $\rho_c \approx \lambda/2NAi$ [22]. При помощи идентичных микрообъективов MO_S и MO_R (с числовой апертурой $NA=0,75$) в каждом из плеч интерферометра и тубусной линзы TL, в плоскости сенсора матричного фотодетектора PD формировалась внеосевая картина интерференции объектного и опорного полей. Внеосевой режим записи голограмм был создан путем поперечного смещения светоделительного кубика BS_2 [20] в направлении, указанном стрелкой около BS_2 на рис. 3. Увеличение изображающей системы микроскопа, определяемое отношением фокусных расстояний тубусной линзы и микрообъектива, составляло $M \approx 45,5 \times$. В качестве фотодетектора PD использовалась монохромная КМОП-камера (1280×1024 пикселей).

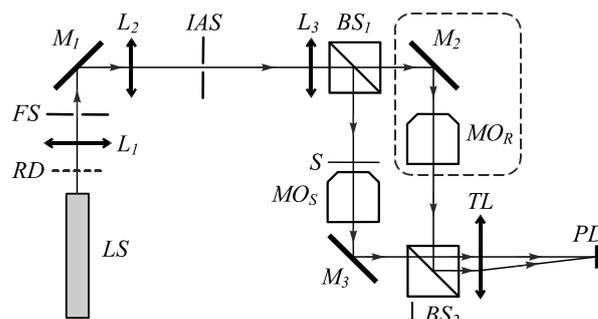


Рис. 3. Схема цифрового голографического микроскопа на пропускание в режиме внеосевой голографии с квазимонохроматическим частично пространственно когерентным освещением: LS – гелий-неоновый лазер; RD – вращающийся рассеиватель; L_1, L_2, L_3 – линзы системы освещения; FS – полевая диафрагма системы освещения; IAS – апертурная диафрагма системы освещения; M_1, M_2, M_3 – плоские зеркала; BS_1, BS_2 – светоделительные кубики; S – объект; MO_S, MO_R – идентичные микрообъективы; TL – тубусная линза; PD – матричный фотодетектор

Для формирования интерференционного изображения с высоким контрастом несущих интерференционных полос в частично пространственно когерентном свете – с малыми длинами поперечной и продольной пространственной когерентности, необходима достаточно высокая степень взаимной когерентности $\gamma(x, y) = \Gamma(x, y) / [I_S(x, y)I_R(x, y)]^{1/2}$ объектного $V_S(x, y)$ и опорного $V_R(x, y)$ полей. В рассматриваемом голографическом микроскопе это обеспечивается прецизионной настройкой интерференционной системы, при которой взаимное смещение $\Delta r(\Delta x, \Delta y, \Delta z)$ интерферирующих полей в отсутствие объекта в системе должно быть существенно меньше длины когерентности каждого поля в направлении смещения: $\Delta x \ll \rho_{cx}, \Delta y \ll \rho_{cy}, \Delta z \ll \rho_{cz}$. Продольный сдвиг объектного поля Δz_s , вносимый относительно толстым предметным стеклом с объектом, может быть компенсирован соответствующим смещением в опорном плече блока зеркала M_2 и микрообъектива MO_R .

3. Эксперимент и обработка экспериментальных данных

Экспериментальное исследование эффекта уменьшения модуля пространственного спектра сигнала когерентности на высоких пространственных частотах при оптической дефокусировке изображения объекта в ЦГМ на пропускание с квазимонохроматическим частично пространственно когерентным освещением состояло из следующих процедур:

1. Запись фоновой голограммы (голограммы, записанной в отсутствие объекта) и объектных голограмм при различных величинах дефокусировки ($\Delta z = 0, 10, 20, 30, 40, 50 \pm 5$ мкм) и при различных величинах числовой апертуры освещения ($NAi \approx 0,004; 0,008; 0,012; 0,016$) (измеренных с погрешностью $\Delta NAi_1 \approx 0,002$). В качестве объекта с необходимой для эксперимента шириной индикатрисы рассеяния была использована нанесенная тонким слоем на предметное стекло, а затем вы-

сушенная суспензия мела. В пространственном спектре сигнала когерентности для такого объекта наблюдаются достаточно интенсивные высокочастотные составляющие, необходимые для анализа.

2. Обработка полученных цифровых голограмм.

2.1. Получение центрированного пространственного спектра сигнала когерентности $\tilde{\Gamma}(\Delta z; \omega; k_x, k_y)$ согласно следующему алгоритму цифровой обработки голограмм, предложенному в [20]:

2.1.1. Получение сигнала когерентности фоновой голограммы при помощи пространственной Фурье-фильтрации.

2.1.2. Устранение фазовой модуляции сигнала когерентности, обусловленной внеосевым режимом записи голограмм, путем деления голограммы объекта на сигнал когерентности фоновой голограммы.

2.1.3. Переход к пространственному спектру результата деления, полученного в п. 2.1.2, при помощи быстрого преобразования Фурье (рис. 4а).

2.2. Выделение центрированного пространственного спектра сигнала когерентности и вычисление его модуля (рис. 4б).

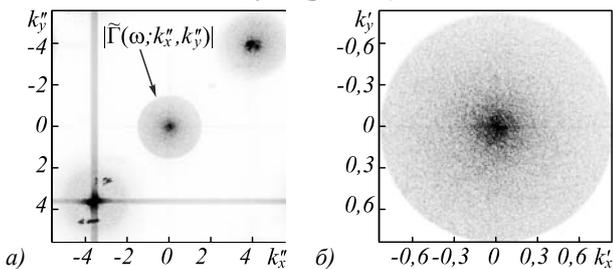


Рис. 4. Модуль пространственного спектра голограммы объекта, делённой на сигнал когерентности фоновой голограммы, в шкале нормированных пространственных частот $k_x'' = 100k_x/k$ и $k_y'' = 100k_y/k$ (а); модуль центрированного пространственного спектра сигнала когерентности в шкале нормированных пространственных частот $k_x' = Mk_x/k$ и $k_y' = Mk_y/k$ (б)

2.3. Построение массива, состоящего из двух столбцов. В первом столбце в порядке возрастания – значения радиальных поперечных пространственных частот $k_r = \sqrt{k_x^2 + k_y^2}$, соответствующих различным пикселям массива пространственного спектра сигнала когерентности. Во втором столбце – значения модуля пространственного спектра сигнала когерентности $|\tilde{\Gamma}(\Delta z; \omega; k_r)|$, соответствующие значениям радиальных поперечных пространственных частот k_r из первого столбца массива.

2.4. Вычисление среднего значения $\overline{|\tilde{\Gamma}(\Delta z; \omega; k_r)|}$ совокупности значений модуля пространственного спектра сигнала когерентности $\{|\tilde{\Gamma}(\Delta z; \omega; k_r)|\}$, соответствующих одной радиальной пространственной частоте k_r .

2.5. Сглаживание фильтром скользящего среднего [23] зависимости $|\tilde{\Gamma}(\Delta z; \omega; k_r)| = \overline{|\tilde{\Gamma}(k_r)|}$.

2.6. Вычисление нормированного модуля пространственного спектра сигнала когерентности $\alpha^{exp}(k_r)$ в зависимости от величины дефокусировки Δz (рис. 5).

$$\alpha^{exp}(k_r) = \frac{|\tilde{\Gamma}(\Delta z; \omega; k_r)|}{|\tilde{\Gamma}(\Delta z = 0; \omega; k_r)|} \tag{16}$$

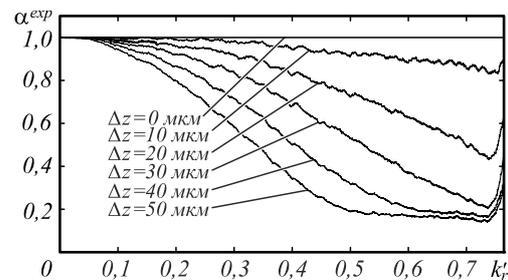


Рис. 5. Зависимость α^{exp} от нормированной радиальной пространственной частоты $k_r' = Mk_r/k$ при различных величинах дефокусировки Δz (0, 10, 20, 30, 40, 50 мкм) и при числовой апертуре освещения $NAi \approx 0,016$

На графиках, представленных на рис. 5, отчетливо наблюдается эффект уменьшения модуля пространственного спектра сигнала когерентности на высоких пространственных частотах. Величина этого эффекта существенно возрастает с увеличением оптической дефокусировки Δz .

Вклад высокочастотных пространственных структур объектного поля уменьшается при визуализации объекта, оптически дефокусированного на этапе записи голограммы. С увеличением дефокусировки расширяется диапазон подавляемых пространственных частот в сторону меньших значений – чем больше величина дефокусировки, тем более низкочастотные структуры объектного поля подавляются.

4. Сравнение результатов экспериментального исследования и численного моделирования

Теоретические зависимости α^{th} :

$$\alpha^{th}(k_r) = \frac{|\Xi(\Delta z; \omega; k_r)|}{|\Xi(\Delta z = 0; \omega; k_r)|}, \tag{17}$$

необходимые для сравнения результатов теории и эксперимента, получены при помощи численного моделирования на основании выражения (9) при $\omega = 2,98 \times 10^{15}$ рад/с ($\lambda = 632,8$ нм), $n_{im} = n_C = 1$, $M = 45,5$, $NA = 0,75$.

На рис. 6а–г представлено сравнение результатов экспериментального исследования и численного моделирования при различных величинах оптической дефокусировки Δz с использованием экспериментальных величин числовой апертуры освещения NAi .

Из рис. 6а видно, что при малой числовой апертуре освещения $NAi = 0,004$ на нормированных пространственных частотах $k_r' < 0,4$ наблюдается достаточно высокая степень сходства экспериментальных зависимо-

стей α^{exp} с теоретическими α^{th} . Зависимости α^{th} , полученные при больших значениях числовой апертуры освещения NAi , имеют сравнительно низкую степень сходства с экспериментальными зависимостями α^{exp} почти на всем интервале частот k_r' (рис. 6б-г).

Возможно, это обусловлено тем, что при численном моделировании распределение интенсивности освещающего поля по апертуре системы освещения принималось равномерным – функция апертуры освещения $A_i(\omega; x_0, y_0)$ полагалась круговой [24]. Однако в эксперименте распределение средней интенсивности освещающего поля по отверстию апертурной диафрагмы системы освещения было достаточно неравномерным из-за относительно узкой индикатрисы рассеяния лазерного пучка на движущемся рассеивателе. Поэтому эффективная экспериментальная величина числовой апертуры освещения NAi^{ef} оказывалась меньше экспериментально определенной NAi . Исходя из этого, можно оценить ин-

тервал, в котором находится эффективная величина числовой апертуры освещения NAi^{ef} , как:

$$NAi - \Delta NAi_1 - \Delta NAi_2 < NAi^{ef} < NAi + \Delta NAi_1, \quad (18)$$

где ΔNAi_1 – погрешность определения эффективной величины числовой апертуры освещения NAi^{ef} , которая определяется точностью измерительного средства и, по оценкам в нашем эксперименте, примерно равна 0,002, ΔNAi_2 – погрешность измерения эффективной величины числовой апертуры освещения NAi^{ef} , определяемая неравномерностью распределения средней интенсивности освещающего поля по апертуре системы освещения.

С учетом возникающих погрешностей определения числовой апертуры освещения было проведено сравнение экспериментальных зависимостей α^{exp} с теоретическими α^{th} , полученными при эффективных значениях числовой апертуры освещения NAi^{ef} (рис. 7).

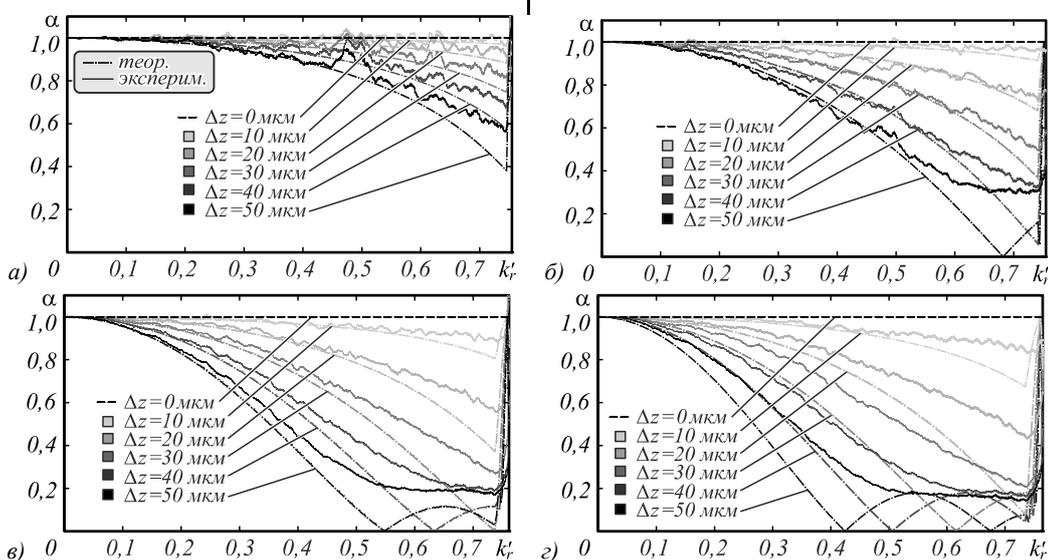


Рис. 6. Сравнение экспериментальных (сплошные) и теоретических (штрихпунктирные) зависимостей α при различных величинах дефокусировки Δz : $NAi = 0,004$ (а); $NAi = 0,008$ (б); $NAi = 0,012$ (в); $NAi = 0,016$ (г)

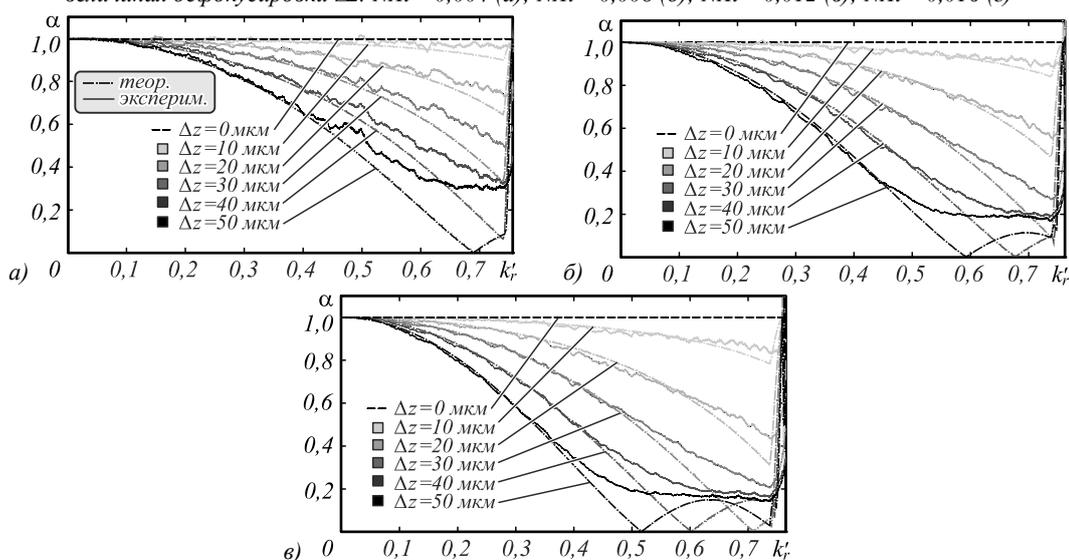


Рис. 7. Сравнение экспериментальных и теоретических зависимостей α при различных величинах дефокусировки Δz : $NAi = 0,008, NAi^{ef} = 0,0085$ (а); $NAi = 0,012, NAi^{ef} = 0,011$ (б); $NAi = 0,016, NAi^{ef} = 0,013$ (в)

Из рис. 7а–в видно, что теоретические зависимости α^{th} , полученные при эффективных величинах числовой апертуры освещения NAi^{ef} , имеют существенно большую степень сходства с экспериментальными зависимостями α^{exp} , чем теоретические зависимости, полученные при измеренных величинах числовой апертуры освещения NAi . Но все же на высоких частотах теоретические и экспериментальные зависимости заметно отличаются. Вероятно, отличие связано с тем, что теоретическое выражение (8), полученное в паракиальном приближении, справедливо для малых углов (низких частот), тогда как часть анализируемого пространственного спектра находится за пределами паракиальной области. Наличие в теоретических зависимостях осцилляций на высоких частотах и их отсутствие в экспериментальных зависимостях может быть объяснено отличием формы распределения интенсивности освещающего поля по апертуре системы освещения, используемой при численном моделировании, от наблюдаемой в эксперименте.

Обсуждение и заключение

Экспериментальное исследование и теоретический анализ показывают, что при оптической дефокусировке изображения объекта в цифровой голографической микроскопии на пропускание с квазимонохроматическим частично пространственно когерентным освещением наблюдается эффект уменьшения модуля пространственного спектра сигнала когерентности. Сравнение нормированных зависимостей модуля пространственного спектра сигнала когерентности, полученных экспериментально при различных величинах числовой апертуры освещения NAi и оптической дефокусировки Δz , с теоретическими зависимостями, полученными при помощи численного моделирования функции Ξ , показало высокую степень соответствия.

Если в ЦГМ на пропускание в качестве сигнала системы служит сигнал когерентности, то рассмотренная в работе функция Ξ фактически является оптической передаточной функцией (ОПФ) системы. Поведение данной функции имеет сходство со свойствами ОПФ в светлопольной оптической микроскопии. В [17] показано, что в светлопольной оптической микроскопии с пространственно некогерентным (δ -коррелированным) освещением ОПФ системы равна автокорреляционной функции зрачка системы и при оптической дефокусировке спадает на высоких пространственных частотах. В ЦГМ на пропускание с пространственно некогерентным освещением $\Xi(\Delta z=0)=A \otimes A$. В [25] установлено, что в светлопольной оптической микроскопии с частично пространственно когерентным освещением для объекта со слабым контрастом ОПФ системы равна свертке функции распределения энергии на зрачке конденсора и функции зрачка изображающей системы. В ЦГМ на пропускание с частично пространственно когерентным освещением имеем $\Xi(\Delta z=0)=A \otimes A_i$. В [17] показано, что в светлопольной оптической микроскопии с когерентным освещением ОПФ системы равна функции зрачка изо-

бражающей системы. В ЦГМ на пропускание с пространственно когерентным освещением $\Xi(\Delta z=0)=A$.

Рассмотренные в настоящей работе эффекты показывают, что в цифровой голографической микроскопии на пропускание использование частично пространственно когерентного освещения, кроме положительного влияния – снижения уровня когерентных шумов в сигнале микроскопа, при определенных условиях может оказывать и отрицательное влияние, заключающееся в снижении поперечного пространственного разрешения восстанавливаемых численно сфокусированных изображений – в частности, при оптической дефокусировке изображения поверхности объекта или при визуализации объемной структуры объекта.

Благодарности

Авторы выражают благодарность А.А. Гребенюку за плодотворные консультации по теоретическим и экспериментальным вопросам работы.

Исследования выполнены за счёт гранта Российского научного фонда (проект №16-19-10528).

Литература

1. Holography: Research and technologies / ed. by J. Rosen. – Rijeka: InTech, 2011. – 466 p. – ISBN: 978-953-307-227-2.
2. Lee, K.R. Quantitative phase imaging techniques for the study of cell pathophysiology: From principles to applications / K.R. Lee, K. Kim, J. Jung, J.H. Heo, S. Cho, S. Lee, G. Chang, Y.Ju. Jo, H. Park, Y.K. Park // Sensors. – 2013. – Vol. 13, Issue 4. – P. 4170-4191. – DOI: 10.3390/s130404170.
3. Schnars, U. Digital holography and wavefront sensing / U. Schnars, C. Falldorf, J. Watson, W. Jueptner. – Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2015. – 225 p. – ISBN: 978-3-662-44692-8.
4. Dohet-Eraly, J. Quantitative assessment of noise reduction with partial spatial coherence illumination in digital holographic microscopy / J. Dohet-Eraly, C. Yourassowsky, A. El Mallahi, F. Dubois // Optics Letters. – 2016. – Vol. 41, Issue 1. – P. 111-114. – DOI: 10.1364/OL.41.000111.
5. Claus, D. Accuracy enhanced and synthetic wavelength adjustable optical metrology via spectrally resolved digital holography / D. Claus, G. Pedrini, D. Buchta, W. Osten / Journal of the Optical Society of America A. – 2018. – Vol. 35, Issue 4. – P. 546-552. – DOI: 10.1364/JOSAA.35.000546.
6. Mann, Ch.J. High-resolution quantitative phase-contrast microscopy by digital holography / Ch.J. Mann, L. Yu, Ch.-M. Lo, M.K. Kim // Optics Express. – 2005. – Vol. 13, Issue 22. – P. 8693-8698. – DOI: 10.1364/OPEX.13.008693.
7. Minetti, Ch. Digital holographic microscopy as a tool to study the thermal shape fluctuations of lipid vesicles / Ch. Minetti, V. Vitkova, F. Dubois, I. Bivas // Optics Letters. – 2016. – Vol. 41, Issue 8. – P. 1833-1836. – DOI: 10.1364/OL.41.001833.
8. Kalenkov, G.S. Hyperspectral holography: an alternative application of the Fourier transform spectrometer / S.G. Kalenkov, G.S. Kalenkov, A.E. Shtanko // Journal of the Optical Society of America B. – 2017. – Vol. 34, Issue 5. – P. B49-B55. – DOI: 10.1364/JOSAB.34.000B49.
9. Каленков, С.Г. Пространственно-спектральная цифровая голография микрообъектов в низкокогерентном свете / С.Г. Каленков, Г.С. Каленков, А.Е. Штанько // Радиотехника и электроника. – 2013. – Т. 58, № 12. – С. 1243-1248. – DOI: 10.7868/S0033849413120097.

10. **Kim, M.K.** Principles and techniques of digital holographic microscopy / M.K. Kim // SPIE Reviews. – 2010. – Vol. 1. – 018005. – DOI: 10.1117/6.0000006.
11. **Гребенюк, А.А.** Дефокусировка и численная фокусировка в интерференционной микроскопии с широким временным спектром поля освещения / А.А. Гребенюк, В.П. Рябухо // Компьютерная оптика. – 2016. – Т. 40, № 6. – С. 772-780. – DOI: 10.18287/2412-6179-2016-40-6-772-780.
12. **Dubois, F.** Improved three-dimensional imaging with a digital holography microscope with a source of partial spatial coherence / F. Dubois, L. Joannes, J.-C. Legros // Applied Optics. – 1999. – Vol. 38, Issue 34. – P. 7085-7094. – DOI: 10.1364/AO.38.007085.
13. **Dubois, F.** Partial spatial coherence effects in digital holographic microscopy with a laser source / F. Dubois, M.-L.N. Requena, C. Minetti, O. Monnom, E. Istasse // Applied Optics. – 2004. – Vol. 43, Issue 5. – P. 1131-1139. – DOI: 10.1364/AO.43.001131.
14. **Slabý, T.** Off-axis setup taking full advantage of incoherent illumination in coherence-controlled holographic microscope / T. Slabý, P. Kolman, Z. Dostál, M. Antoš, M. Lošťák, R. Chmelík // Optics Express. – 2013. – Vol. 21, Issue 12. – P. 14747-14762. – DOI: 10.1364/OE.21.014747.
15. **Гребенюк, А.А.** Numerical focusing in digital holographic microscopy with partially spatially coherent illumination in transmission / A.A. Grebenyuk, V.P. Ryabukho // Proceedings of SPIE. – 2014. – Vol. 9031. – 903119. – DOI: 10.1117/12.2052837.
16. **Гребенюк, А.А.** Формирование сигнала и свойства визуализации в интерференционной микроскопии : дис. ... канд. физ.-мат. наук : 01.04.21 / Гребенюк Антон Александрович. – Саратов, 2014. – 165 с.
17. **Борн, М.** Основы оптики / М. Борн, Э. Вольф; пер. с англ. – М.: Наука, 1973. – 2-е изд. – 720 с.
18. **Мандель, Л.** Оптическая когерентность и квантовая оптика / Л. Мандель, Э. Вольф; пер. с англ. – М.: Физматлит, 2000. – 896 с. – ISBN: 5-9221-0073-4.
19. **Гребенюк, А.А.** Theory of imaging and coherence effects in full-field optical coherence microscopy / A.A. Grebenyuk, V.P. Ryabukho. – In: Handbook of full-field optical coherence microscopy. Technology and applications / ed. by A. Dubois. – Singapore: Pan Stanford Publishing, 2016. – Chapter 2. – P. 53-89. – ISBN: 978-981-4669-16-0.
20. **Гребенюк, А.А.** An off-axis digital holographic microscope with quasimonochromatic partially spatially coherent illumination in transmission / A.A. Grebenyuk, Y.V. Tarakanchikova, V.P. Ryabukho // Journal of Optics. – 2014. – Vol. 16, Issue 10. – 105301. – DOI: 10.1088/2040-8978/16/10/105301.
21. **Гребенюк, А.А.** Численная фокусировка и поле зрения в интерференционной микроскопии / А.А. Гребенюк, Д.М. Клычкова, В.П. Рябухо // Компьютерная оптика. – 2018. – Т. 42, № 1. – С. 28-37. – DOI: 10.18287/2412-6179-2018-42-1-28-37.
22. **Ryabukho, V.P.** Wiener-Khinchin theorem for spatial coherence of optical wave field / V.P. Ryabukho, D.V. Lyakin, A.A. Grebenyuk, S.S. Klykov // Journal of Optics. – 2013. – Vol. 15, Issue 5. – 025405. – DOI: 10.1088/2040-8978/15/2/025405.
23. **Гонсалес, Р.С.** Цифровая обработка изображений / Р. Гонсалес, Р.Е. Вудс; пер. с англ. – М.: Техносфера, 2005. – 1072 с. – ISBN: 978-5-94836-331-8.
24. **Гудмен, Дж.** Введение в фурье-оптику / Дж. Гудмен; пер. с англ. – М.: Мир, 1970. – 364 с.
25. **Марешаль, А.** Структура оптического изображения. Дифракционная теория и влияние когерентности света / А. Марешаль, М. Франсон; пер. с франц. – М.: Мир, 1964. – 295 с.

Сведения об авторах

Клычкова Дарья Михайловна, магистрант кафедры оптики и биофотоники физического факультета Саратовского государственного университета, стажер-исследователь лаборатории проблем когерентно-оптических измерений в точной механике Института проблем точной механики и управления РАН. Область научных интересов: оптическая микроскопия, интерферометрия, цифровая голография. E-mail: daryaklychkova@mail.ru.

Рябухо Владимир Петрович, доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры оптики и биофотоники Саратовского государственного университета и заведующий лабораторией проблем когерентно-оптических измерений в точной механике Института проблем точной механики и управления РАН. Область научных интересов: интерферометрия, голография, интерференционная микроскопия, когерентность. E-mail: rvp-optics@yandex.ru.

ГРНТИ: 29.31.29

Поступила в редакцию 28 марта 2018 г. Окончательный вариант – 11 мая 2018 г.

SPATIAL SPECTRUM OF COHERENCE SIGNAL FOR A DEFOCUSSED OBJECT IMAGE IN DIGITAL HOLOGRAPHIC MICROSCOPY WITH PARTIALLY SPATIALLY COHERENT ILLUMINATION

D.M. Klychkova^{1,2}, V.P. Ryabukho^{1,2}

¹ Institute of Precision Mechanics and Control of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

² Saratov State University, Saratov, Russia

Abstract

We study the effect of a decrease in the magnitude of the coherence signal in high-frequency spatial spectrum for a defocused object image in transmission digital holographic microscopy with quasimonochromatic partially spatially coherent illumination. A theoretical description and results of the numerical simulation of the effect for a point scattering object are presented. The effect is experimentally studied by illuminating layered quasi-point scatterers with partially spatially coherent light.

ent laser light obtained using a moving scatterer. The comparison of the experimental and theory-based numerical results shows them to be in good agreement.

Keywords: interference microscopy, digital holographic microscopy, imaging, numerical focusing, spatial spectrum of hologram, partial coherence, partially spatially coherent illumination.

Citation: Klychkova DM, Ryabukho VP. Spatial spectrum of coherence signal for a defocused object images in digital holographic microscopy with partially spatially coherent illumination. *Computer Optics* 2018; 42(3): 414-423. DOI: 10.18287/2412-6179-2018-42-3-414-423.

Acknowledgements: The authors express their gratitude to A.A. Grebenyuk for the valuable discussion of theoretical and experimental aspects of the work. This research was funded by a grant of the Russian Science Foundation (project No. 16-19-10528).

References

- [1] Rosen J, ed. *Holography: Research and technologies*. Rijeka: InTech; 2011. ISBN: 978-953-307-227-2.
- [2] Lee KR, Kim K, Jung J, Heo JH, Cho S, Lee S, Chang G, Jo YG, Park H, Park YK. Quantitative phase imaging techniques for the study of cell pathophysiology: From principles to applications. *Sensors* 2013; 13(4): 4170-4191. DOI: 10.3390/s130404170.
- [3] Schnars U, Falldorf C, Watson J, Jueptner W. *Digital holography and wavefront sensing*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2015. ISBN: 978-3-662-44692-8.
- [4] Dohet-Eraly J, Yourassowsky C, El Mallahi A, Dubois F. Quantitative assessment of noise reduction with partial spatial coherence illumination in digital holographic microscopy. *Opt Lett* 2016; 41(1): 111-114. DOI: 10.1364/OL.41.000111.
- [5] Claus D, Pedrini G, Buchta D, Osten W. Accuracy enhanced and synthetic wavelength adjustable optical metrology via spectrally resolved digital holography. *J Opt Soc Am A* 2018; 35(4): 546-552. DOI: 10.1364/JOSAA.35.000546.
- [6] Mann ChJ, Yu L, Lo Ch-M, Kim MK. High-resolution quantitative phase-contrast microscopy by digital holography. *Opt Express* 2005; 13(2): 8693-8698. DOI: 10.1364/OPEX.13.008693.
- [7] Minetti C, Vitkova V, Dubois F, Bivas I. Digital holographic microscopy as a tool to study the thermal shape fluctuations of lipid vesicles. *Opt Lett* 2016; 41(8): 1833-1836. DOI: 10.1364/OL.41.001833.
- [8] Kalenkov SG, Kalenkov GS, Shtanko AE. Hyperspectral holography: an alternative application of the Fourier transform spectrometer. *J Opt Soc Am B* 2017; 34(5): B49-B55. DOI: 10.1364/JOSAB.34.000B49.
- [9] Kalenkov SG, Kalenkov GS, Shtan'ko AE. Spatiospectral digital holography of microobjects in low-coherence light. *Journal of Communications Technology and Electronics* 2013; 58(12): 1200-1204. DOI: 10.1134/S1064226913120097.
- [10] Kim MK. Principles and techniques of digital holographic microscopy. *SPIE Reviews* 2010; 1: 018005. DOI: 10.1117/6.0000006.
- [11] Grebenyuk AA, Ryabukho VP. Defocus and numerical focusing in interference microscopy with wide time-varying spectrum of illumination field [In Russian]. *Computer Optics* 2016; 40(6): 772-780. DOI: 10.18287/2412-6179-2016-40-6-772-780.
- [12] Dubois F, Joannes L, Legros J-C. Improved three-dimensional imaging with a digital holography microscope with a source of partial spatial coherence. *Appl Opt* 1999; 38(34): 7085-7094. DOI: 10.1364/AO.38.007085.
- [13] Dubois F, Requena M-LN, Minetti C, Monnom O, Istasse E. Partial spatial coherence effects in digital holographic microscopy with a laser source. *Appl Opt* 2004; 43(5): 1131-1139. DOI: 10.1364/AO.43.001131.
- [14] 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. *Opt Express* 2013; 21(12): 14747-14762. DOI: 10.1364/OE.21.014747.
- [15] Grebenyuk AA, Ryabukho VP. Numerical focusing in digital holographic microscopy with partially spatially coherent illumination in transmission. *Proc SPIE* 2014; 9031: 903119. ISBN: 10.1117/12.2052837.
- [16] Grebenyuk AA. Signal formation and imaging properties in interference [In Russian]. The Dissertation for the Candidate's degree of Physical-Mathematical Sciences. Saratov; 2014.
- [17] Born M, Wolf E. *Principles of optics: Electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*. 7th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1999. ISBN: 978-0521642224.
- [18] Mandel L, Wolf E. *Optical coherence and quantum optics*. Cambridge: Cambridge University Press; 1995. ISBN: 978-0-521417112.
- [19] Grebenyuk AA, Ryabukho VP. Theory of imaging and coherence effects in full-field optical coherence microscopy. In Book: Dubois A, ed. *Handbook of full-field optical coherence microscopy: Technology and applications*. Chap 2. Singapore: Pan Stanford Publishing; 2016: 53-89. ISBN: 978-981-4669-16-0.
- [20] Grebenyuk AA, Tarakanchikova YV, Ryabukho VP. An off-axis digital holographic microscope with quasimono chromatic partially spatially coherent illumination in transmission. *J Opt* 2014; 16(10): 105301. DOI: 10.1088/2040-8978/16/10/105301.
- [21] Grebenyuk AA, Klychkova DM, Ryabukho VP. Numerical focusing and the field of view in interference microscopy [In Russian]. *Computer Optics* 2018; 42(1): 28-37. DOI: 10.18287/2412-6179-2018-42-1-28-37.
- [22] Ryabukho VP, Lyakin DV, Grebenyuk AA, Klykov SS. Wiener-Khinchin theorem for spatial coherence of optical wave field. *J Opt* 2013; 15(5): 025405. DOI: 10.1088/2040-8978/15/2/025405.
- [23] Gonzalez RC, Woods RE. *Digital image processing*. 3rd ed. Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall; 2008. ISBN: 978-0-13-168728-8.
- [24] Goodman JW. *Introduction to Fourier optics*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 1996. ISBN: 978-0-07-024254-8.
- [25] Maréchal A, Françon M. *Diffraction, structure des images: Influence de la cohérence de la lumière*. Paris: Revue d'Optique Theorique et Instrumentale, 1960.

Author's information

Daria Mikhailovna Klychkova is a master student of Optics and Biophotonics department of Saratov State University and an Intern Researcher at the Laboratory of Problems of Coherent-Optical Measurements in Precision Mechanics of the Institute of Precision Mechanics and Control of the Russian Academy of Sciences. Research interests: optical microscopy, interferometry, digital holography. E-mail: daryaklychkova@mail.ru.

Vladimir Petrovich Ryabukho, Doctor of Physical-Mathematical Sciences, Professor, is a Professor of Optics and Biophotonics department of Saratov State University and the Head of the Laboratory of Problems of Coherent-Optical Measurements in Precision Mechanics of the Institute of Precision Mechanics and Control of the Russian Academy of Sciences. Research interests: interferometry, holography, interference microscopy, coherence. E-mail: ryp-optics@yandex.ru.

Received March 28, 2018. The final version – May 11, 2018.
