

# Instrukcja do programu PyHoLo v. 1.0

## A) Instalacja narzędzi potrzebnych do uruchomienia programu PyHoLo

Do uruchomienia programu wymagane są:

- system Windows Vista, 7, 8, 10 ( $\geq$  Vista),
- karta graficzna firmy Nvidia o architekturze CUDA i zdolności obliczeniowej (ang. compute capability)  $cc \geq 2.0$  (zdolność obliczeniową karty można sprawdzić na stronie: <https://developer.nvidia.com/cuda-gpus>),
- zestaw narzędzi CUDA Toolkit  $\geq 7.5$ ,
- interpreter języka Python w wersji 3.5 lub wyższej,
- biblioteki Numba i Accelerate pozwalające na przeprowadzanie obliczeń numerycznych z użyciem procesora graficznego GPU,
- biblioteka PyQt5 obsługująca interfejs graficzny programu.

1. Pobierz środowisko Anaconda ze strony <https://www.continuum.io/downloads>. Wybierz wersję środowiska współpracującą z Pythonem w wersji 3.5 lub wyższej.

2. Zainstaluj środowisko Anaconda, uruchamiając ściągnięty plik instalacyjny i postępując zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie. Zaleca się, aby zainstalować środowisko w katalogu docelowym sugerowanym przez instalator. W systemie Windows będzie to katalog 'C:\Użytkownicy\nazwa\_użytkownika\Anaconda3'.

3. Otwórz wiersz poleceń Anacondy (Anaconda Prompt). W systemie Windows można go uruchomić z menu Start, klikając na Wszystkie Programy → Anaconda → Anaconda Prompt.

4. W wierszu poleceń wpisz kolejno następujące komendy, aby zainstalować biblioteki wymagane do działania programu PyHoLo:

```
conda install numba  
conda install accelerate  
conda install pyqt
```

Po wpisaniu komendy użytkownik może być poproszony o potwierdzenie nazwy biblioteki, która ma być zainstalowana. W tym celu musi nacisnąć klawisz 'y'. Jeżeli instalacja wszystkich trzech bibliotek przebiegła pomyślnie, zamknij wiersz poleceń.

## B) Uruchamianie i korzystanie programu PyHoLo

1. Pobierz oprogramowanie PyHoLo ze strony:

<https://github.com/morawatur/PyHoLo>

2. Wypakuj pobrane archiwum do wybranego przez siebie katalogu na dysku lokalnym.

3. Otwórz interpreter Pythona. W systemie Windows można go uruchomić z menu Start, klikając na Wszystkie Programy → Anaconda → IPython.

4. Z poziomu interpretera przejdź do katalogu z wypakowanymi przez siebie plikami programu PyHoLo. Możesz to zrobić, wpisując w interpreterze poniższe polecenie:

```
cd ścieżka_do_katalogu_docelowego  
(np. cd C:\programy_pythona\PyHoLo)
```

5. Uruchom skrypt Main.py, wpisując w interpreterze następujące polecenie:

```
%run Main.py
```

W oknie dialogowym, które pojawi się po wpisaniu tej komendy, należy wskazać miejsce, w którym znajdują się hologramy elektronowe (obrazy w formacie dm3) do zrekonstruowania.

Uwaga1: Wczytywane zdjęcia muszą być w formacie dm3 (czyli w wewnętrznym formacie plików stosowanym w programie DigitalMicrograph). W celu wczytania serii hologramów należy zaznaczyć pierwszy obraz z serii i nacisnąć przycisk Otwórz.

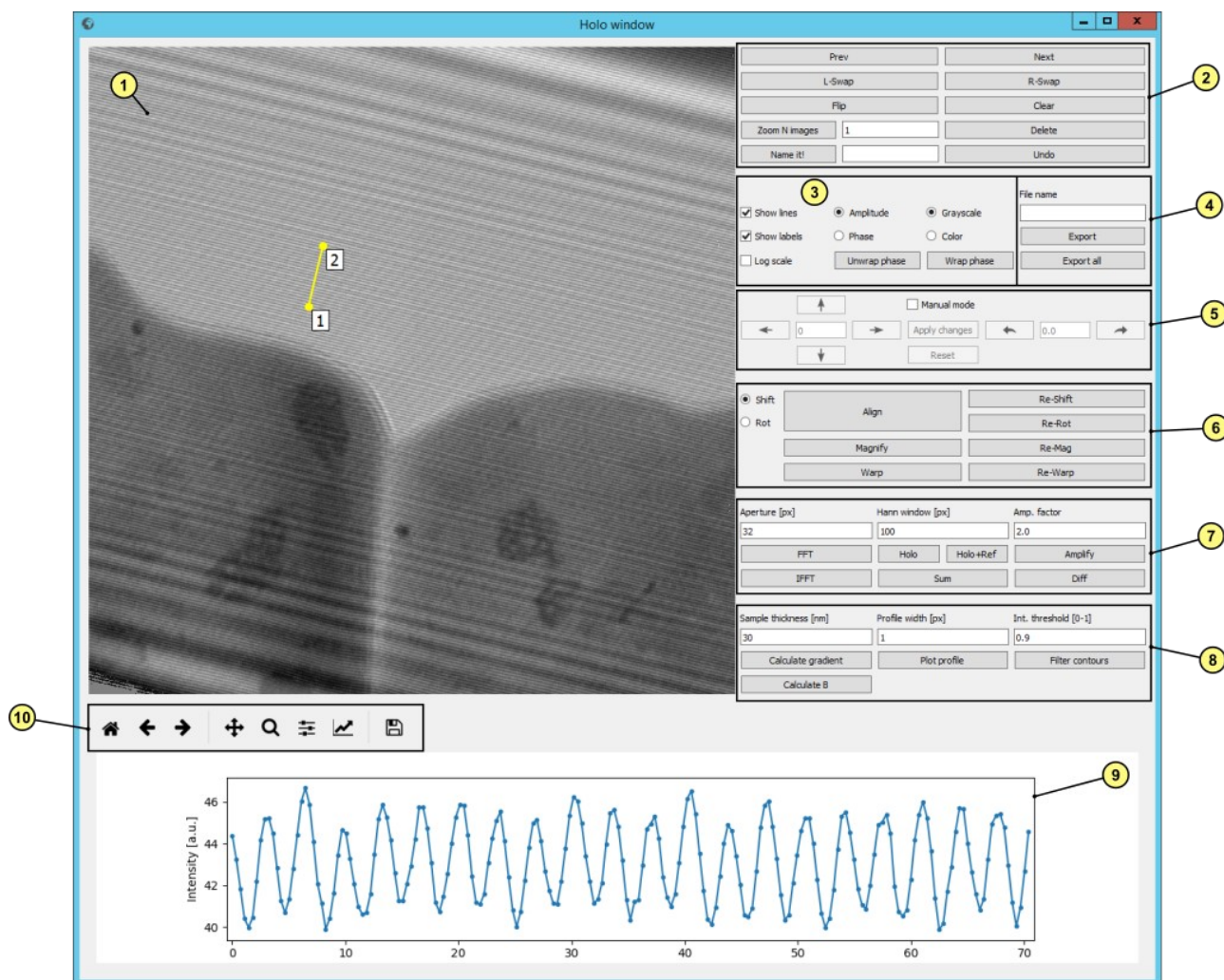
Uwaga2: Nazwy plików tworzących serię hologramów muszą posiadać wspólny zestaw znaków określający nazwę serii i muszą być ponumerowane według następującej konwencji:

holo01.dm3, holo02.dm3, holo03.dm3 itd.

gdzie 'holo' jest nazwą serii wspólną dla wszystkich wczytywanych obrazów (przed cyframi mniejszymi od 10 należy w nazwie pliku wstawić '0').

Uwaga3: Przykładowa seria hologramów została umieszczona w katalogu 'input' w folderze z plikami programu.

6. W oknie interpretera powinna pokazać się informacja o aktualnie wczytywanych zdjęciach. Po wczytaniu całej serii obrazów otworzy się główne okno programu PyHoLo (patrz: rys. 1).



Rys. 1. Interfejs graficzny programu PyHoLo

Poniżej znajduje się opis funkcji programu oznaczonych liczbami 1-10 na rys. 1.

(1) Okno do wyświetlania obrazów:

W tym oknie wyświetlają się również wyniki rekonstrukcji oraz innych operacji, takich jak FFT, suma, różnica, obliczanie gradientu itp.

(2) Panel nawigacyjny:

Prev, Next – idź do poprzedniego/następnego obrazu w serii (kolejce obrazów).

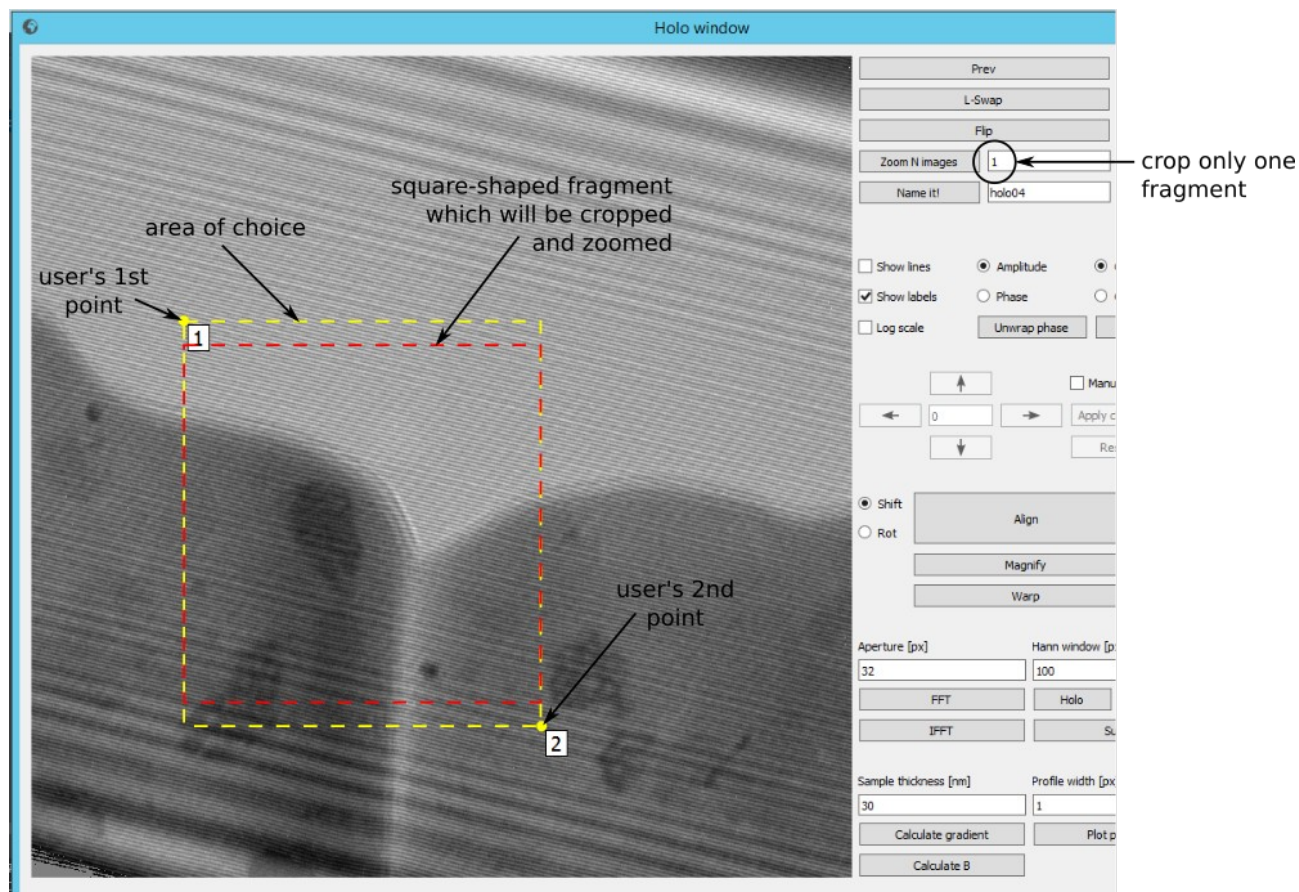
L-Swap, R-Swap – zamień miejscami aktualnie wyświetlane zdjęcie z tym, które w serii zajmuje miejsce przed nim lub za nim.

Flip – zastąp aktualny obraz (zarówno jego amplitudę, jak i fazę) jego lustrzanym odbiciem.

Clear – wyczyść zestaw punktów zaznaczonych na aktualnym obrazie.

Zoom N images – wytnij kwadratowy fragment obrazu określony przez dwa punkty zaznaczone na

aktualnie wyświetlanym obrazie. Użytkownik musi zaznaczyć kolejno dwa punkty: pierwszy odpowiadający lewemu-górnemu, a drugi prawemu-dolnemu wierzchołkowi prostokąta (patrz rys. 2). Wymiary utworzonego prostokąta zostaną automatycznie przekształcone w taki sposób, aby zaznaczony obszar miał kształt kwadratu o krawędzi równej krótszej krawędzi prostokąta. W polu tekstowym po prawej stronie przycisku Zoom N images użytkownik może wpisać liczbę kolejnych obrazów, spośród których ma być wycięty fragment o tych samych współrzędnych wierzchołków. Powiększone w ten sposób fragmenty zostaną umieszczone na końcu kolejki obrazów.



Rys. 2. Sposób zaznaczania fragmentu obrazu do wycięcia z N kolejnych zdjęć w kolejce (żółta przerywana linia została dodana jedynie dla wyjaśnienia, jaki obszar wyznaczają punkty 1 i 2; czerwony kwadrat określa z kolei, jaki obszar zostanie w rzeczywistości wycięty z N obrazów). W przypadku widocznym powyżej wycięty i powiększony zostanie tylko fragment aktualnie wyświetlanego obrazu, ponieważ w polu tekstowym oznaczonym czarnym okręgiem wpisano wartość N=1.

Delete – usunąć wyświetlany obraz z kolejki.

Name it! - nazwij wyświetlany obraz, aby ułatwić sobie nawigację po serii obrazów. Nazwę obrazu wpisz w polu tekstowym po prawej stronie przycisku. Nazwa zostanie zapamiętana po naciśnięciu przycisku Name it!. Jednocześnie nazwa ta zostanie użyta jako domyślna nazwa pliku z obrazem, który zostanie zapisany na dysku po naciśnięciu przycisku Export.

Undo – usunąć ostatni z zaznaczonych na obrazie punktów.

### (3) Panel opcji wyświetlania:

Show lines – zaznaczenie spowoduje wyświetlanie linii pomiędzy punktami umieszczanymi na obrazie.

Show labels – zaznaczenie spowoduje wyświetlanie etykiet z numeracją punktów umieszczanych na obrazie.

Log scale – zaznaczenie spowoduje wyświetlenie obrazu w skali logarytmicznej (odznaczenie – w skali liniowej).

Amplitude/Phase/Phase cosine – pozwala przełączać się pomiędzy amplitudą, fazą i kosinusem fazy wyświetlanego obrazu.

Grayscale/Color – przełącza między mapą kolorów w odcieniach szarości i mapą kolorów RGB.

Unwrap phase – wykonaj unwrapping przesunięcia fazowego, aby faza nie była ograniczona do zakresu  $(-\pi, +\pi)$  (algorytm automatycznie uciągli skoki między maksymalnymi wartościami  $+\pi$  i następującymi po nich spadkami do wartości minimalnej  $-\pi$ ).

Wrap phase – wykonaj wrapping przesunięcia fazowego, czyli operację modulo, która wartości  $+\pi+\Delta\pi$  (gdzie  $0 < \Delta\pi < 2\pi$ ) przekształci do wartości  $-\pi+\Delta\pi$ .

Normalize phase – pozwala znormalizować fazy wszystkich obrazów w taki sposób, aby wybrany piksel miał tę samą wartość fazową (równą 0) na każdym obrazie. Przed użyciem tej funkcji, na aktualnym obrazie, należy zaznaczyć jeden punkt, względem którego wszystkie pozostałe wartości fazowe zostaną przesunięte.

### (4) Panel zapisu danych:

File name – pole tekstowe, w którym należy wpisać ścieżkę wraz z nazwą pliku, w którym ma być zapisany aktualnie wyświetlany obraz. Obrazy są zapisywane w formacie PNG i program automatycznie dodaje do nazwy pliku rozszerzenie .png. Jeżeli obraz został nazwany poprzez funkcję Name it!, to program automatycznie podpowie nazwę pliku do zapisania (domyślną ścieżką będzie jednak katalog, w którym znajdują się pliki źródłowe programu).

Export – zapisz aktualnie wyświetlany obraz, używając ścieżki podanej w polu tekstowym File name.

Export all – używając nazw przypisanych poszczególnym zdjęciom, zapisz wszystkie obrazy z kolejki w katalogu z plikami źródłowymi programu. W zależności od wyboru opcji Amplitude/Phase wszystkie obrazy zostaną zapisane jako amplitudy/fazy. To samo dotyczy wyboru opcji Grayscale/Color.

### (5) Panel ręcznego zsuwania obrazów:

Po zaznaczeniu opcji Manual mode uaktywnią się przyciski, służące do ręcznego przesuwania obrazu (amplitudy i fazy) w poziomie ( $\leftarrow \rightarrow$ ) i w pionie ( $\uparrow \downarrow$ ) oraz obracania go zgodnie i przeciwnie do ruchu wskazówek zegara ( $\curvearrowright \curvearrowleft$ ). W polu tekstowym pomiędzy strzałkami do przesuwania obraz w poziomie i w pionie należy wpisać liczbę pikseli, o którą obraz ma być przesunięty w danym kierunku. Analogicznie, w polu tekstowym między przyciskami do obrotu obrazu można wpisać kąt (w stopniach), o który obraz ma zostać obrócony.

Apply changes – zapisz zmiany wprowadzone do obrazu na skutek jego przesuwania i obrotu.

Reset – zresetuj wprowadzone zmiany.

#### (6) Panel automatycznego zsuwania obrazów:

Panel służy do zsuwania ze sobą dwóch obrazów naraz: aktualnego i następnego w kolejce.

Shift/Rot – jeżeli do zsunięcia obrazów wystarczy przesunięcie jednego obrazu do drugiego bez konieczności jego obrotu należy zaznaczyć opcję Shift. W przeciwnym wypadku powinno się wybrać opcję Rot. W obu przypadkach użytkownik musi na każdym z dwóch obrazów (aktualnym i następnym) zaznaczyć dowolny zestaw punktów, które oznaczają charakterystyczne elementy obrazów odpowiadające sobie nawzajem.

Uwaga 4: Oba zestawy punktów muszą posiadać tę samą liczbę punktów, a także muszą być oznaczone w dokładnie tej samej kolejności.

W przypadku zaznaczenia opcji Shift naciśnięcie przycisku Align (po uprzednim zaznaczeniu dwóch zestawów punktów) spowoduje obliczenie średniego przesunięcia między dwoma obrazami, a następnie dodanie do kolejki kopii drugiego obrazu przesuniętego o obliczoną wartość w pikselach. Analogicznie, w przypadku zaznaczenia opcji Rot naciśnięcie przycisku Align spowoduje obliczenie średniego położenia środka obrotu między dwoma obrazami oraz kąta obrotu między nimi. Następnie program doda do kolejki kopie obu obrazów – pierwszy z nich zostanie przesunięty w taki sposób, aby środek obrotu znajdował się w centrum okna wyświetlającego zdjęcia, a drugi zostanie zarówno przesunięty, jak i obrócony względem tego środka obrotu o obliczony kąt obrotu. W tej sytuacji pomocna może okazać się opcja wycinania fragmentów  $N=2$  obrazów, w taki sposób aby przesunięte i obrócone obrazy zajmowały większą część okna (patrz rys. 3).

Re-shift – po każdej operacji zsuwania obrazów, ostatnia wartość przesunięcia zostanie zapisana w pamięci programu. W ten sposób naciśnięcie przycisku Re-shift spowoduje przesunięcie aktualnie wyświetlanego obrazu o zapamiętaną wartość.

Re-rot – po każdej operacji obracania, ostatnia wartość kąta obrotu zostanie zapisana w pamięci programu. Klikając na przycisk Re-rot, można jej użyć ponownie do obracania dowolnego obrazu w kolejce.

Magnify – użyj dwóch zestawów zaznaczonych punktów do określenia różnicy skali między dwoma obrazami. Po naciśnięciu przycisku Magnify do kolejki zostaną dodane kopie obu obrazów w tej samej skali (jeden z nich zostanie odpowiednio zmniejszony).

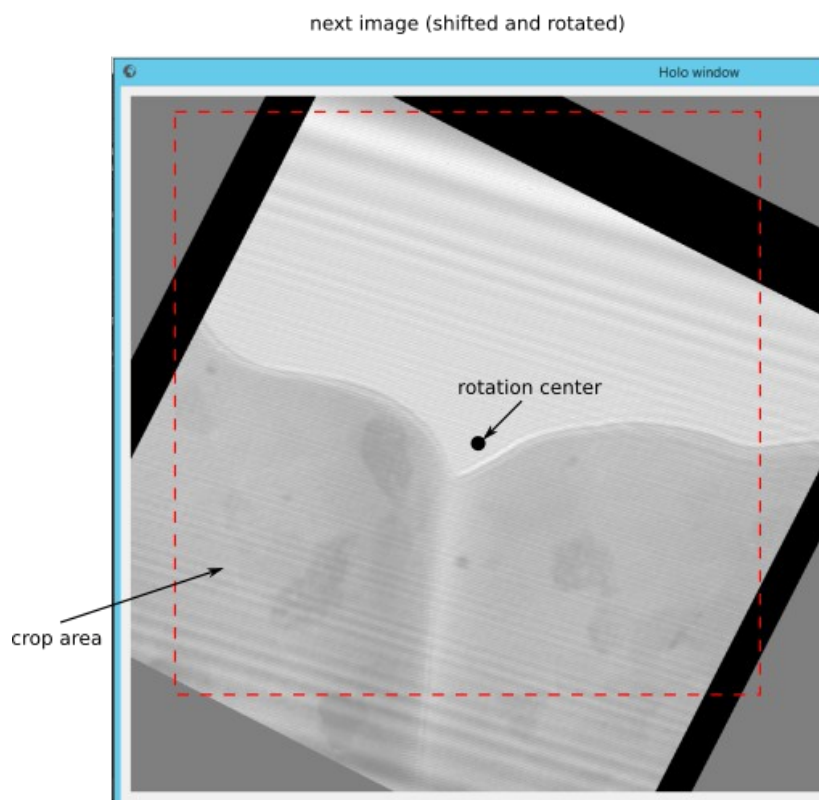
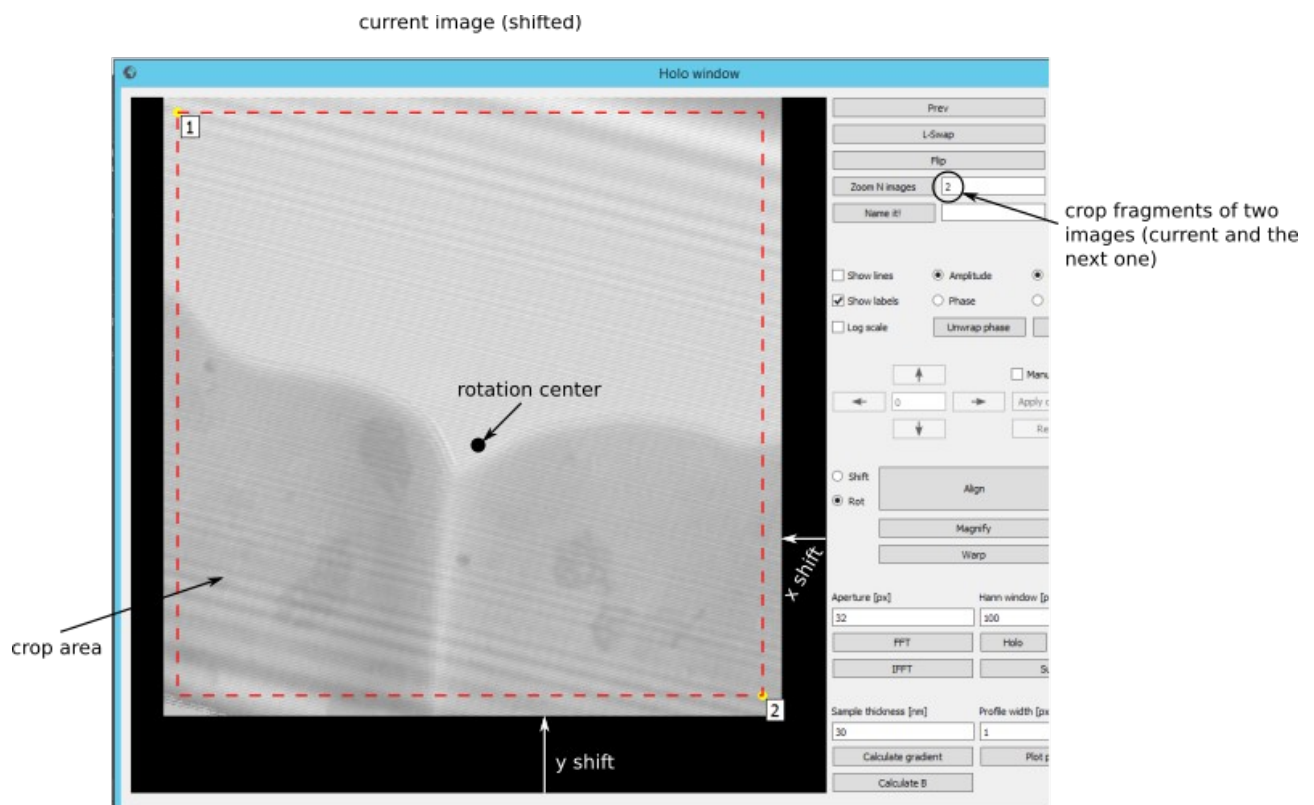
Re-mag – po każdej operacji skalowania jego współczynnik zostanie zapisany w pamięci i będzie mógł być użyty jeszcze raz na dowolnym obrazie z kolejki.

Warp – przekształć geometrycznie drugi z obrazów tak, aby zestaw punktów zaznaczonych na jednym obrazie pokrył się dokładnie z zestawem punktów zaznaczonych na drugim obrazie.

Re-warp – powtórz zapamiętane przekształcenie na dowolnym obrazie z kolejki.

Uwaga 5: Aby efekt warpingu był zadowalający, zaleca się zaznaczenie na obu obrazach odpowiednio dużej liczby (ponad czterech) punktów.





Rys. 3. Wynik zsuwania dwóch obrazów, które były przesunięte i obrócone względem siebie. Na rysunku zaznaczono środek obrotu, który nie pokrywa się ze środkiem pierwotnego obrazu oraz obszar, który zostanie wycięty zarówno z jednego, jak i z drugiego hologramu.

#### (7) Panel rekonstrukcji hologramów:

Aperture – średnica kołowej przysłony (w pikselach) do wycinania jednego z refleksów bocznych (ang. sideband) z transformaty Fouriera hologramu. Wielkość przysłony określa zakres częstotliwości przestrzennych, które będą uwzględnione w zrekonstruowanej fazie hologramu – mniejsza przysłona oznacza uwzględnienie tylko niższych częstotliwości, a więc mniejsze „zaszumienie” obrazu fazowego. Z drugiej strony szybsze zmiany przesunięcia fazowego mogą być uwidocznione tylko przy zastosowaniu odpowiednio dużej przysłony. Domyślna średnica przysłony numerycznej wynosi 32 px.

Hann window – wymiar kwadratowego okna Hanninga (w pikselach), które zostanie nałożone na wycięty obraz refleksu bocznego w celu „wygładzenia” nagłego spadku intensywności transformaty na krawędzi przysłony. Domyślna szerokość okna Hanninga wynosi 100 px.

FFT – oblicz i wyświetl transformatę Fouriera obrazu jako następną w kolejce.

Uwaga 6: Aby uwidocznić wszystkie szczegóły transformaty Fouriera użytkownik będzie musiał przełączyć program w tryb wyświetlania obrazu w skali logarytmicznej (opcja Log scale).

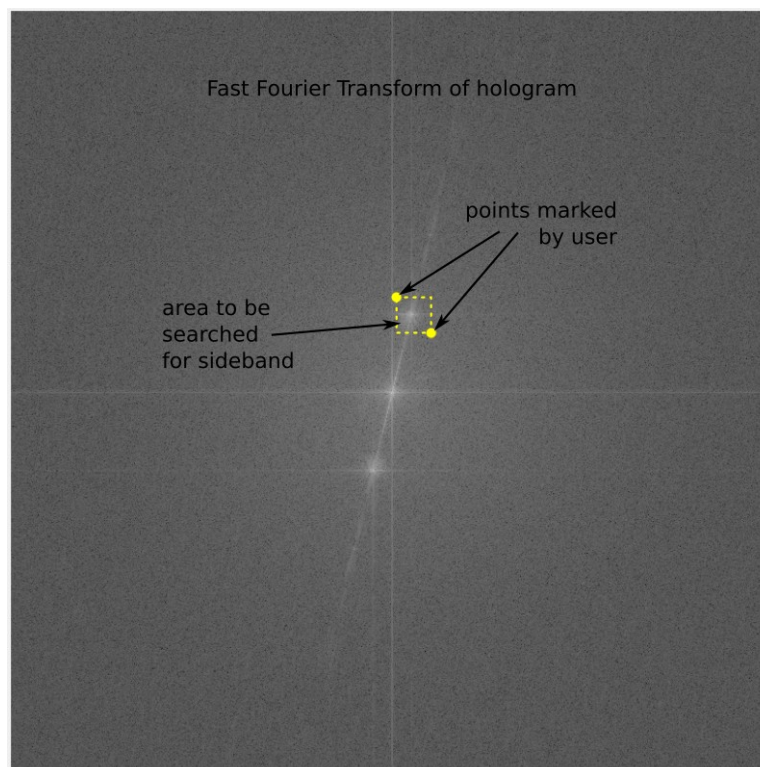
IFFT – oblicz i wyświetl odwrotną transformatę Fouriera obrazu jako następną w kolejce.

Holo – przed użyciem tej funkcji użytkownik musi obliczyć transformatę Fouriera hologramu (przycisk FFT), a następnie przy użyciu dwóch punktów zaznaczyć obszar, w którym program powinien szukać refleksu bocznego, który ma zostać użyty do rekonstrukcji hologramu (patrz rys. 4). Po naciśnięciu przycisku Holo program znajdzie położenie maksimum intensywności wewnątrz zaznaczonego obszaru, zakładając, że położenie to jest środkiem refleksu bocznego. W następnej kolejności refleks zostanie wycięty przysłoną o zadanej średnicy (pozostała część transformaty zostanie zasłonięta) i przesunięty na środek transformaty Fouriera. Dodatkowo obraz ten zostanie pomnożony przez okno Hanninga o zadanej wielkości w celu wygładzenia krawędzi przysłony. Obraz wyciętego refleksu zostanie dodany do kolejki zdjęć (najlepiej oglądać go w trybie Phase, gdyż widać wtedy wielkość zadanej przysłony). Wynik rekonstrukcji hologramu będzie widoczny dopiero po obliczeniu transformaty odwrotnej obrazu z wyciętym refleksem, a więc po naciśnięciu przycisku IFFT.

Holo+Ref – funkcja, która działa w sposób podobny do funkcji Holo, z tą różnicą, że w obliczeniach brany jest pod uwagę również hologram referencyjny. W tym przypadku użytkownik także musi obliczyć transformatę Fouriera, ale tym razem musi to zrobić na obrazie referencyjnym. Ważne przy tym, aby obrazy były ustawione w odpowiedniej kolejności – najpierw referencja, a dopiero potem właściwy hologram. Po obliczeniu transformaty użytkownik musi zaznaczyć obszar z refleksem bocznym (podobnie jak w przypadku opcji Holo). Po naciśnięciu przycisku Holo+Ref program zlokalizuje refleks, a następnie wytnie go przysłoną z transformaty obrazu referencyjnego, jak i z transformaty właściwego hologramu.

Uwaga 7: Użytkownik nie musi samodzielnie liczyć transformaty Fouriera drugiego (niereferencyjnego) hologramu – program zrobi to sam.





Rys. 4. Sposób określania pozycji refleksu bocznego na transformacie Fouriera (żółty kwadrat został dodany w celu zaznaczenia obszaru, w którym program będzie szukał środka refleksu, tzn. piksela o maksymalnej intensywności).

Dwa obrazy z wyciętymi refleksami zostaną umieszczone jako następne w kolejce. Aby obejrzeć wyniki rekonstrukcji użytkownik będzie musiał samodzielnie policzyć transformaty odwrotne z obu wyciętych refleksów. W ten sposób uzyska fazę referencyjną oraz całkowite przesunięcie fazowe wprowadzone do funkcji falowej przez preparat. Hologramy referencyjne stosuje się w celu usunięcia artefaktów związanych z charakterystyką kamery używanej do rejestracji hologramów. Aby pozbyć się artefaktów należy obliczyć różnicę między obrazem całkowitej fazy i obrazem fazy referencyjnej. Można to zrobić używając funkcji Diff – wówczas od fazy aktualnie wyświetlanego obrazu odjęta zostanie faza poprzedniego obrazu w kolejce.

Sum – oblicz sumę przesunięć fazowych aktualnego i poprzedniego obrazu. Obraz wynikowy zostanie umieszczony jako następny w kolejce. Jego faza będzie sumą faz dwóch poprzednich obrazów, natomiast amplituda będzie iloczynem amplitud poprzednich obrazów.

Diff – oblicz różnicę przesunięć fazowych aktualnego i poprzedniego obrazu. Obraz wynikowy zostanie umieszczony jako następny w kolejce. Jego faza będzie różnicą faz dwóch poprzednich obrazów, natomiast amplituda będzie iloczynem amplitud poprzednich obrazów.

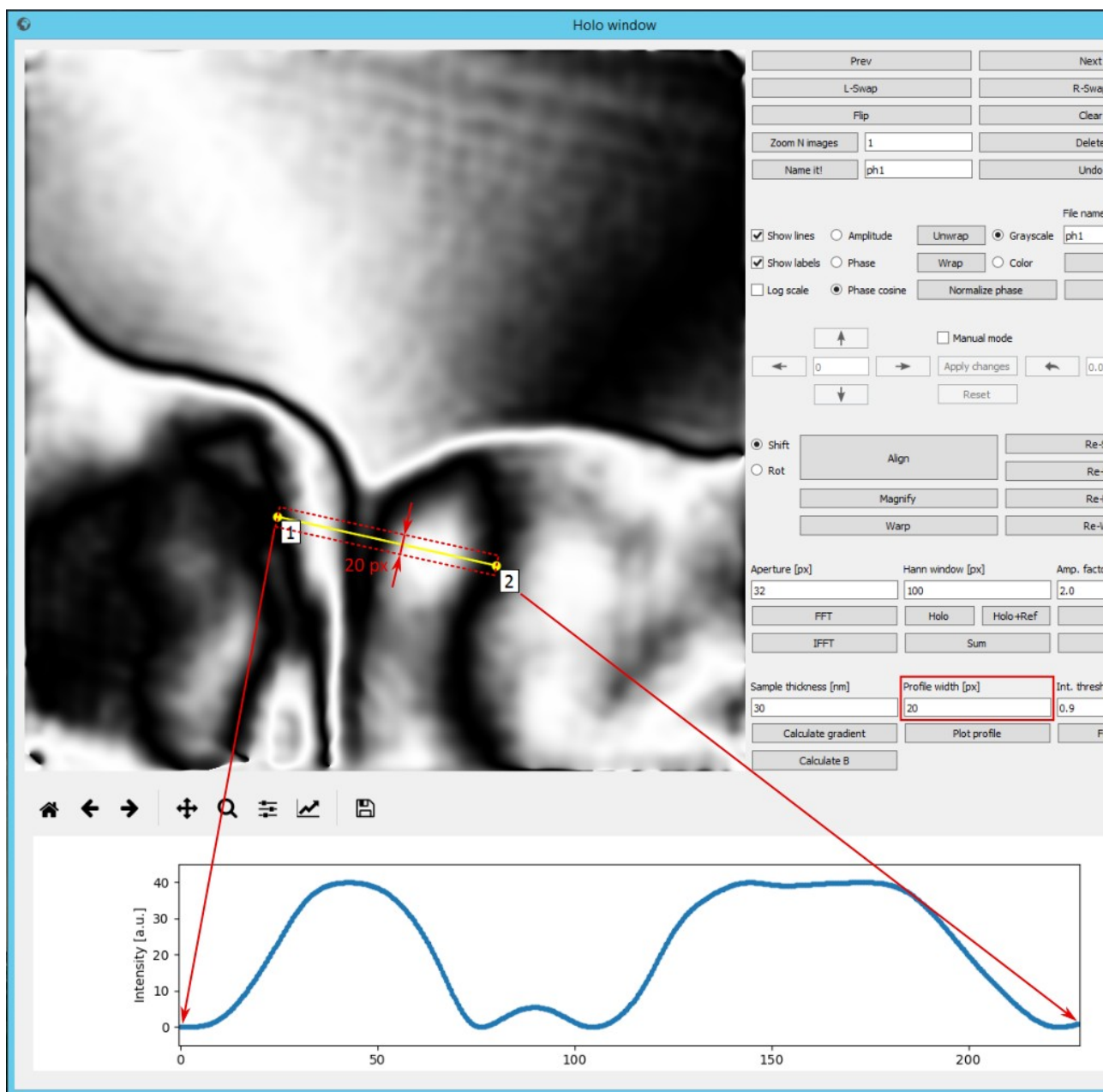
Amp. factor – współczynnik wzmocnienia obrazu fazowego  $\alpha$ .

Amplify – wzmocnij obraz fazowy  $\phi$ , używając wzoru  $\phi' = \sin(\alpha \cdot \phi)$ , gdzie wartość współczynnika  $\alpha$  należy podać w polu tekstowym Amp. factor.

(8) Panel do obliczeń pola magnetycznego:

Plot profile – wyświetl w panelu (9) wykres intensywności wzdłuż odcinka zaznaczonego na obrazie.

Profile width – szerokość profilu intensywności zaznaczonego na obrazie (patrz rys. 5). Każdy punkt wykresu intensywności wzdłuż zaznaczonego profilu jest sumą pikseli leżących na odcinku prostym do profilu z zakresu odległości  $(-d/2, +d/2)$  od tego profilu, gdzie  $d$  to zadana szerokość profilu w pikselach.



Rys. 5. Sposób wyznaczania profilu intensywności (o szerokości 20 pikseli).

Filter contours – odfiltruj elementy obrazu (np. kontury fazowe wzmocnionej fazy magnetycznej) o intensywności większej odadanego ułamka intensywności maksymalnej (Int. threshold).

Int. threshold – wartość cząstkowa z zakresu 0 - 1 (gdzie maksymalna intensywność na obrazie =

1,0), poniżej której wszystkie piksele zostaną wygaszone.

Calculate gradient – oblicz gradienty kierunkowe i gradient całkowity obrazu i umieść je za aktualnym obrazem.

Sample thickness – grubość preparatu (w nm) w miejscu, w którym ma być wyznaczona wielkość indukcji pola magnetycznego B.

Calculate B – oblicz wielkość indukcji magnetycznej na podstawie wyświetlonego w panelu (9) profilu intensywności oraz informacji o grubości preparatu. Aby określić wielkość pola B, należy najpierw wyznaczyć profil wartości przesunięcia fazowego wzdłuż odcinka zaznaczonego na obrazie fazy magnetycznej (więcej o tym, w jaki sposób wyznaczyć fazę magnetyczną, w dalszej części instrukcji). Następnie na profilu fazowym w panelu (9) należy zaznaczyć dwa punkty, pomiędzy którymi faza zmienia się w sposób jednostajny, tzn. jej gradient jest w przybliżeniu stały (patrz rys. 9). Tak naprawdę liczą się tylko współrzędne x-owe obu punktów, więc zaznaczone punkty nie muszą pokrywać się z profilem fazowym. Po naciśnięciu przycisku Calculate B obliczona wartość indukcji pola magnetycznego w jednostkach T zostanie wyświetlona w oknie interpretera.

(9) Panel wyświetlania profilu intensywności (patrz również przycisk Plot profile w panelu (8)).

(10) Panel z przyciskami do obsługi wykresu przedstawiającego profil intensywności.

Najbardziej przydatne funkcje:



– zresetuj sposób wyświetlania wykresu.



– ręczne przesuwanie wykresu. Naciśnięcie tego przycisku odblokowuje możliwość zaznaczania punktów na wykresie, które są potrzebne do ilościowych obliczeń pola magnetycznego.



– powiększ wybrany fragment wykresu.



– zmień parametry osi, etykiety na osiach, styl rysowania wykresu.



– zapisz wykres na dysku.

## C) Procedura rekonstrukcji pola magnetycznego

Poniżej znajduje się przykład procedury rekonstrukcji pól elektrycznego i magnetycznego na podstawie dwóch hologramów (i dwóch odpowiadających im referencji) wykonanych dla dwóch orientacji preparatu – „do dołu nogami” i do „góry nogami”:

'holo01.dm3' – obraz referencyjny dla preparatu „do dołu nogami”

'holo02.dm3' – hologram przedstawiający fragment preparatu „do dołu nogami”

'holo03.dm3' – obraz referencyjny dla preparatu „do góry nogami”

'holo04.dm3' – hologram przedstawiający ten sam fragment preparatu „do góry nogami”

1. Po uruchomieniu programu PyHoLo pojawi się okno dialogowe służące do wskazania miejsca, w którym znajduje się seria hologramów do zrekonstruowania. Przechodzimy więc do katalogu input, zaznaczamy pierwszy plik z serii – 'holo01.dm3' – i naciskamy przycisk Otwórz. W terminalu powinna wyświetlić się informacja o postępie wczytywania poszczególnych obrazów z serii. Po wczytaniu ostatniego zdjęcia na ekranie pojawi się główne okno programu (rys. 1). Klikając na

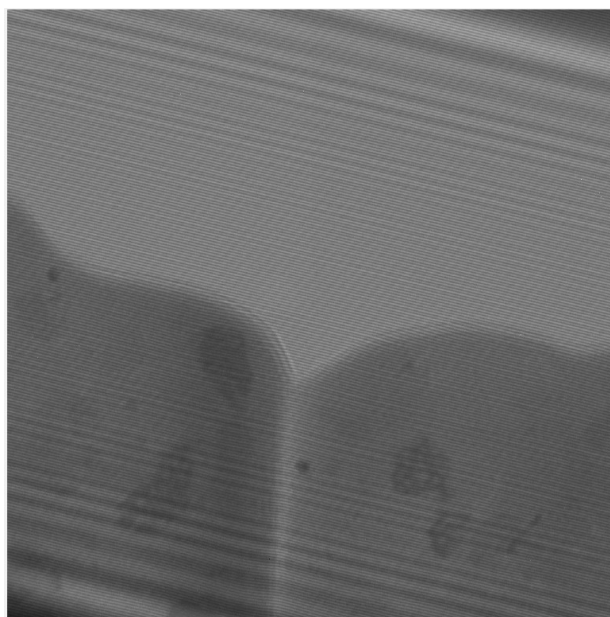
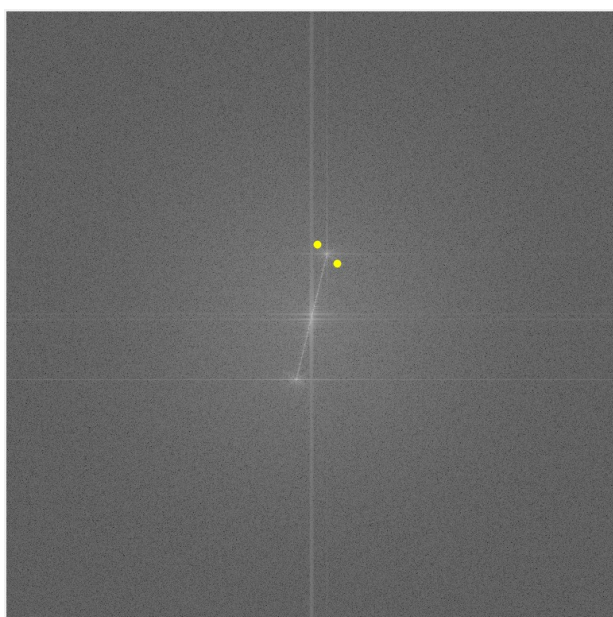
przyciski Next i Prev możemy obejrzeć wszystkie cztery hologramy. Domyślnie obrazy dm3 są traktowane jako obrazy amplitudowe, a więc ich faza jest równa zero i przełączenie trybu wyświetlania na tryb Phase spowoduje wyświetlenie pustego (ciemnego) obrazu.

2. Dla ułatwienia poruszania się pomiędzy obrazami dobrym pomysłem jest nazwanie każdego z nich. Obrazy pierwszy i trzeci są obrazami referencyjnymi. Nazwijmy je więc odpowiednio 'ref1' i 'ref2'. W tym celu musimy wpisać wybraną nazwę w polu tekstowym po prawej stronie przycisku Name it! i potwierdzić wybór naciśnięciem przycisku Name it! Analogicznie, nazwijmy obrazy drugi i czwarty odpowiednio 'holo1' i 'holo2'.

3. Należy zwrócić uwagę, że hologramy wykonane po obu stronach preparatu przedstawiają odbity względem siebie obraz próbki. Aby zsunąć ze sobą oba obrazy musimy więc najpierw odbić jeden z nich (oraz jego referencję) przy użyciu przycisku Flip. Wykonajmy operację Flip na drugiej parze hologramów (ref2 i holo2).

4. Dla obu hologramów przedstawiających obraz próbki wykonano po jednym hologramie referencyjnym, co oznacza, że do ich zrekonstruowania będziemy mogli użyć funkcji Holo+Ref. W pierwszej kolejności wybierzmy pierwszy z obrazów referencyjnych (ref1) i obliczmy jego transformatę Fouriera, klikając na przycisk FFT. Po obliczeniu FFT możemy przełączyć się w tryb wyświetlania obrazu w skali logarytmicznej (Log scale), aby uwidocznić na transformacie dwa pasma boczne.

5. Następnie przychodzi kolej na zaznaczenie jednego z dwóch symetrycznych pasm bocznych. Ważne jest, aby być konsekwentnym w wyborze pasma bocznego w przypadku wszystkich hologramów. W tym przykładzie będziemy zaznaczać refleksy położone „po stronie próżni”, czyli te, które na hologramach holo2 i holo4 położone są po przeciwnej stronie od preparatu (patrz rys. 6).



Rys. 6. Wybrany sposób zaznaczania refleksu bocznego na transformacie Fouriera hologramu ref1 (a) względem położenia preparatu na hologramie holo1 (b).

Uwaga 8: Szerokość okna Hanninga nie powinna być mniejsza od średnicy zastosowanej przystony numerycznej (w tym przykładzie mamy  $2 \cdot 32 = 64 < 100$ ).

6. Przed naciśnięciem przycisku Holo+Ref musimy dobrać odpowiednie wartości promienia przystony numerycznej i szerokości okna Hanninga. W tym przykładzie zastosujemy domyślne wartości, czyli odpowiednio 32 i 100 pikseli. Po zaznaczeniu refleksu bocznego naciskamy przycisk Holo+Ref. W ten sposób do kolejki zostają dodane dwa nowe obrazy, z których pierwszy przedstawia wycentrowany refleks boczny pochodzący z transformaty obrazu ref1, a drugi – odpowiadający mu refleks boczny pochodzący z transformaty hologramu holo1. W ten sposób, dla obu hologramów – referencyjnego i właściwego – bierzemy pod uwagę dokładnie te same zakresy częstotliwości przestrzennych. Aktualnie na ekranie powinien wyświetlać się refleks boczny pochodzący z drugiej transformaty, wycentrowany, wycięty przysłoną o zadanym promieniu i wygładzony oknem Hanninga o zadanej szerokości.

Uwaga 8: Szerokość okna Hanninga nie powinna być mniejsza od średnicy zastosowanej przystony numerycznej.

7. Klikając na Prev, przejdźmy do obrazu z refleksem referencyjnym. Naciskając teraz przycisk IFFT, uzyskujemy odfiltrowany obraz próżni uwzględniający tylko niskokątowe częstotliwości przestrzenne wokół wycentrowanego refleksu bocznego. W ten sposób uzyskujemy referencyjne obrazy amplitudy i fazy dla próżni.

8. W następnej kolejności musimy wykonać te same czynności dla refleksu bocznego drugiej transformaty. W tym celu naciskamy przycisk Next, a następnie znowu przycisk IFFT. Tym razem uzyskujemy obrazy amplitudy i fazy całkowitej dla próbki. Aby zachować porządek, warto usunąć z kolejki niepotrzebne już obrazy przedstawiające transformaty Fouriera i wycentrowane refleksy.

9. Wracając do zrekonstruowanych obrazów próżni i próbki, musimy zastosować „unwrapping” obrazów fazowych, tak aby wartości fazy nie były ograniczone tylko do zakresu  $(-\pi, +\pi)$ . Efektem „unwrappingu” jest znikanie charakterystycznych konturów fazowych w miejscach skokowej zmiany wartości fazy (patrz rys. 8). Aby wykonać „unwrapping”, musimy przejść w tryb wyświetlania fazy (Phase), a następnie nacisnąć przycisk Unwrap phase. Po chwili na ekranie powinien pojawić się nowy obraz fazowy. Jeżeli „unwrapping” nie skutkuje zmianą wyglądu obrazu, oznacza to, że dla każdego piksela wartość fazy mieści się w zakresie  $(-\pi, +\pi)$ . „Unwrapping” powtarzamy zarówno dla obrazu fazowego próżni, jak i próbki.

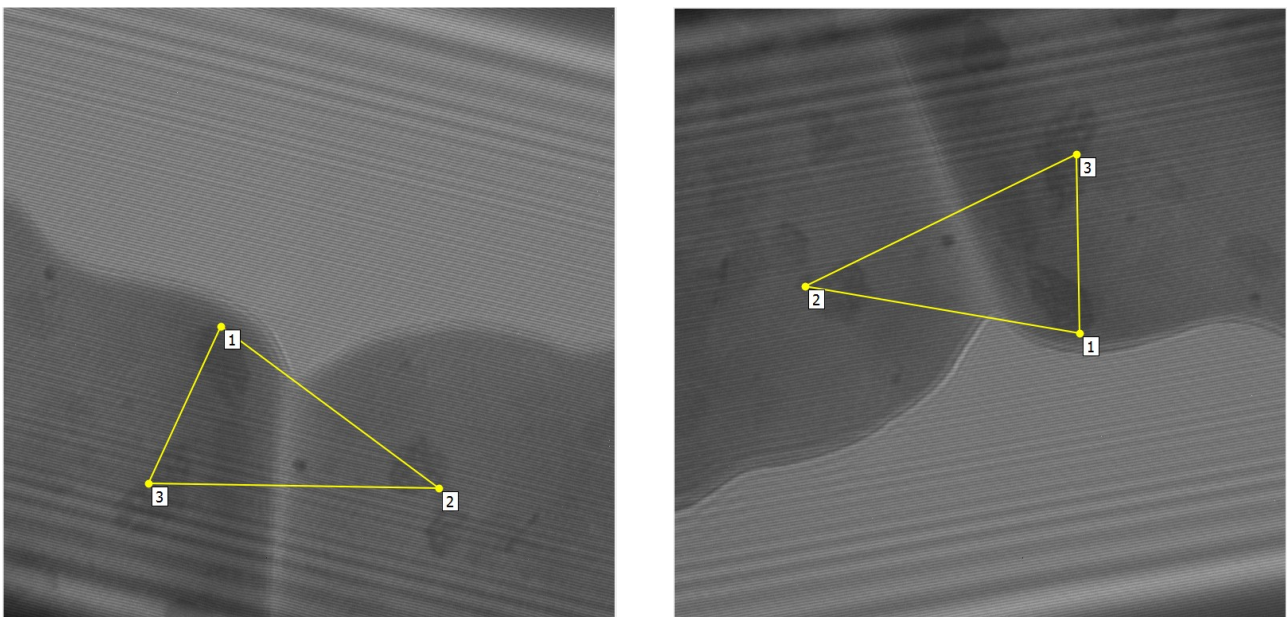
10. Teraz, posługując się fazą referencyjną, możemy usunąć tło fazy właściwej. W tym celu przechodzimy do obrazu fazowego z próbką i upewniając się, że obrazem poprzedzającym go, jest obraz fazowy próżni, naciskamy przycisk Diff. W ten sposób otrzymujemy nowy obraz, którego faza jest równa różnicy faz  $\phi' = \phi - \phi_{ref}$  natomiast amplituda jest równa iloczynowi  $A' = A \cdot A_{ref}$ .

11. Kroki 5-10 powtarzamy dla drugiej pary hologramów (ref2 i holo2).



12. Zróbmy porządek, aby w kolejce pozostały nam tylko cztery obrazy: holo1, holo2 oraz phase1 i phase2.

13. Aby móc obliczyć sumę („fazę elektryczną”) oraz różnicę („fazę magnetyczną”) obu wyznaczonych obrazów fazowych (faz całkowitych), musimy je najpierw odpowiednio przesunąć i obrócić względem siebie. W tym celu możemy posłużyć się oryginalną parą hologramów holo1 i holo2 lub amplitudami obrazów phase1 i phase2. W tym przykładzie użyjemy obrazów holo1 i holo2. Aby zsunąć je ze sobą, zaznaczymy na każdym z nich po trzy punkty, określające trzy charakterystyczne miejsca na próbce – punkt „1” na pierwszym hologramie musi odpowiadać punktowi „1” na drugim hologramie itd. (patrz rys. 7). Moglibyśmy zaznaczyć większą liczbę punktów na obu hologramach, ale w tym przykładzie wystarczą nam trzy.



Rys. 7. Sposób wyznaczania przesunięcia i obrotu między dwoma hologramami na podstawie dwóch zestawów punktów.

Po zaznaczeniu trzech par punktów na obrazach, w panelu (6) wybieramy opcję Rot, aby podczas procedury zsuwania uwzględnić zarówno przesunięcie, jak i obrót między obrazami. Po tej czynności naciskamy przycisk Align i po chwili zsuwanie powinno być zakończone. Efektem będą dwa nowe obrazy dodane do kolejki, tuż za obrazami z zaznaczonymi trzema punktami. Pierwszy z dodanych obrazów to obraz phase1 przesunięty w taki sposób, aby jego środek pokrywał się z wyznaczonym środkiem obrotu. Drugi obraz odpowiada obrazowi phase2 przesuniętemu w taki sam sposób i obróconemu względem środka obrotu o wyznaczony kąt obrotu. Jeżeli nie jesteśmy zadowoleni z efektu zsuwania obu obrazów, możemy powtórzyć całą procedurę, tj. usunąć dwa nowe obrazy, zaznaczyć nowe zestawy punktów na oryginalnych obrazach i ponownie nacisnąć przycisk Align.

14. Jeżeli jesteśmy zadowoleni z efektu zsuwania obrazów holo1 i holo2, to możemy usunąć je z kolejki (nie będą już nam potrzebne), a nowe obrazy opisać wybranymi przez siebie nazwami, np. holo1\_new i holo2\_new. Teraz będziemy mogli użyć informacji o użytym przesunięciu i obrocie do



analogicznego zsunięcia obrazów phase1 i phase2. W tym celu najpierw wybieramy obraz phase1 i naciskamy przycisk Re-Shift, dzięki czemu phase1 zostaje przesunięty analogicznie, jak holo1 w poprzednim kroku. Dla porządku usuwamy oryginalny obraz phase1 i przypisujemy nowemu (przesuniętemu) obrazowi nazwę phase1\_new. Następnie wybieramy drugi z obrazów fazowych – phase2 – i ponownie naciskamy Re-Shift. Po przesunięciu obrazu naciskamy Re-Rot, dzięki czemu obraz zostaje obrócony o kąt wyznaczony w poprzednim kroku. Wynik obrotu nazywamy phase2\_new, a dwa poprzedzające go zdjęcia usuwamy z kolejki. W rezultacie w kolejce zostają nam cztery zsunięte obrazy: holo1\_new, holo2\_new, phase1\_new, phase2\_new.

15. Zauważmy, że przesuwanie zdjęć spowodowało, że oryginalne obrazy zostały odpowiednio zmniejszone, tak aby z jednej strony zmieściły się one na ekranie, a z drugiej aby środek obrotu pokrywał się ze środkiem ekranu. Aby obrazy zajmowały jak największy obszar ekranu, możemy wyciąć je tak, aby pozbyć się czarnych pasów dookoła zdjęć. W tym celu, na pierwszym obrazie zaznaczamy dwa punkty, które będą odpowiadać lewemu-górnemu i prawemu-dolnemu wierzchołkowi prostokąta określającego obszar do wycięcia. Następnie w panelu (2), w polu tekstowym znajdującym się obok przycisku Zoom N images, wpisujemy naszą liczbę obrazów, czyli 4. Oznacza to, że chcemy, aby z czterech kolejnych obrazów (wliczając aktualnie wyświetlany) wycięte zostały te same fragmenty, określone przez dwa punkty zaznaczone na pierwszym obrazie. Po naciśnięciu przycisku Zoom N images do kolejki zostaną dodane cztery wycięte (i powiększone) fragmenty. Obrazy, z których je wycięto, możemy usunąć.

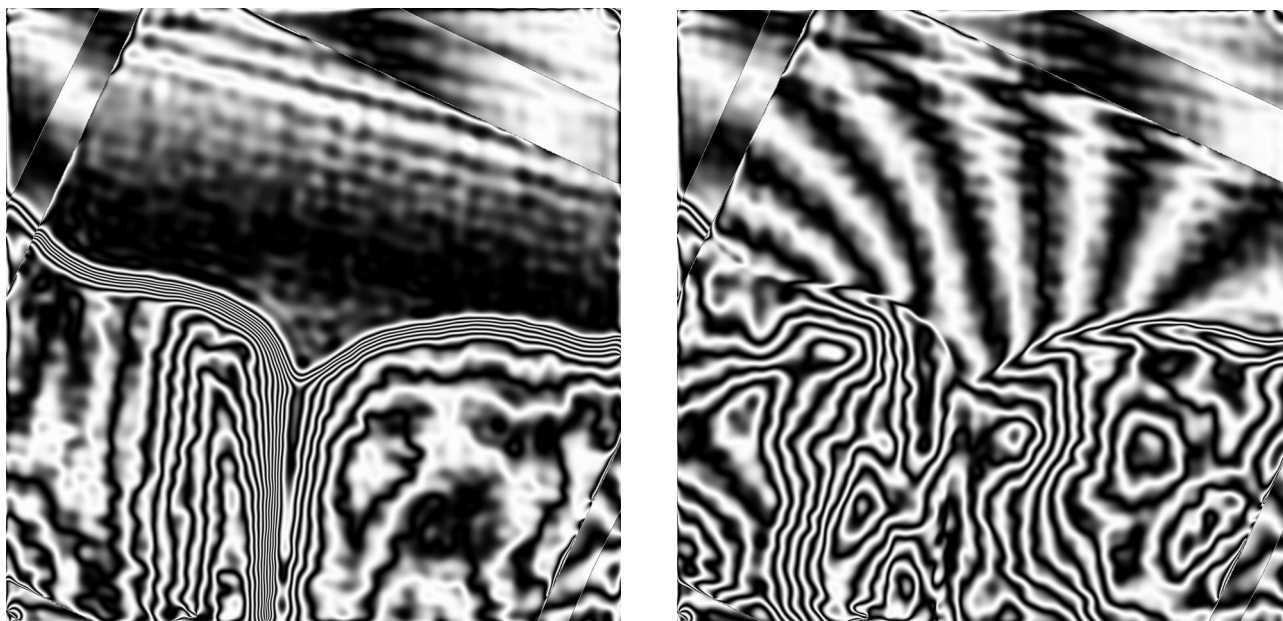
16. Wycięte fragmenty nazwijmy skrótowno h1, h2, ph1, ph2. Hologramy h1 i h2 mogą się przydać, jeżeli będziemy chcieli później, w innym programie graficznym, nałożyć wyznaczone kontury fazowe na obraz preparatu. W tym miejscu możemy je więc wyeksportować, tj. zapisać na dysku. W tym celu wybieramy po kolei każdy z hologramów i naciskamy przycisk Export. Domyślnie zostaną one zapisane jako „h1.png” i „h2.png” w katalogu z plikami źródłowymi programu PyHoLo. Po wyeksportowaniu można usunąć hologramy z kolejki obrazów.

17. Dysponując obrazami fazowymi ph1 i ph2, możemy w końcu wyznaczyć fazę związaną z polem elektrycznym (sumę) i fazę związaną z polem magnetycznym (różnicę). Wybierając obraz ph2 i naciskając przycisk Sum, otrzymujemy „fazę elektryczną”. Wybierając ponownie obraz ph2 i naciskając przycisk Diff, otrzymujemy „fazę magnetyczną”. Nazwijmy dwa nowe obrazy odpowiednio sum (lub el) i diff (lub mag).

18. Znaną praktyką jest przedstawianie wyznaczonych pól fazowych poprzez ich funkcje kosinus. Uzyskane w ten sposób obrazy można z kolei wzmocnić, aby uzyskać kontury fazowe. Wzmacnianie (funkcja Amplify) działa według następującego wzoru:

$$\Phi = \cos(\alpha \cdot \phi)$$

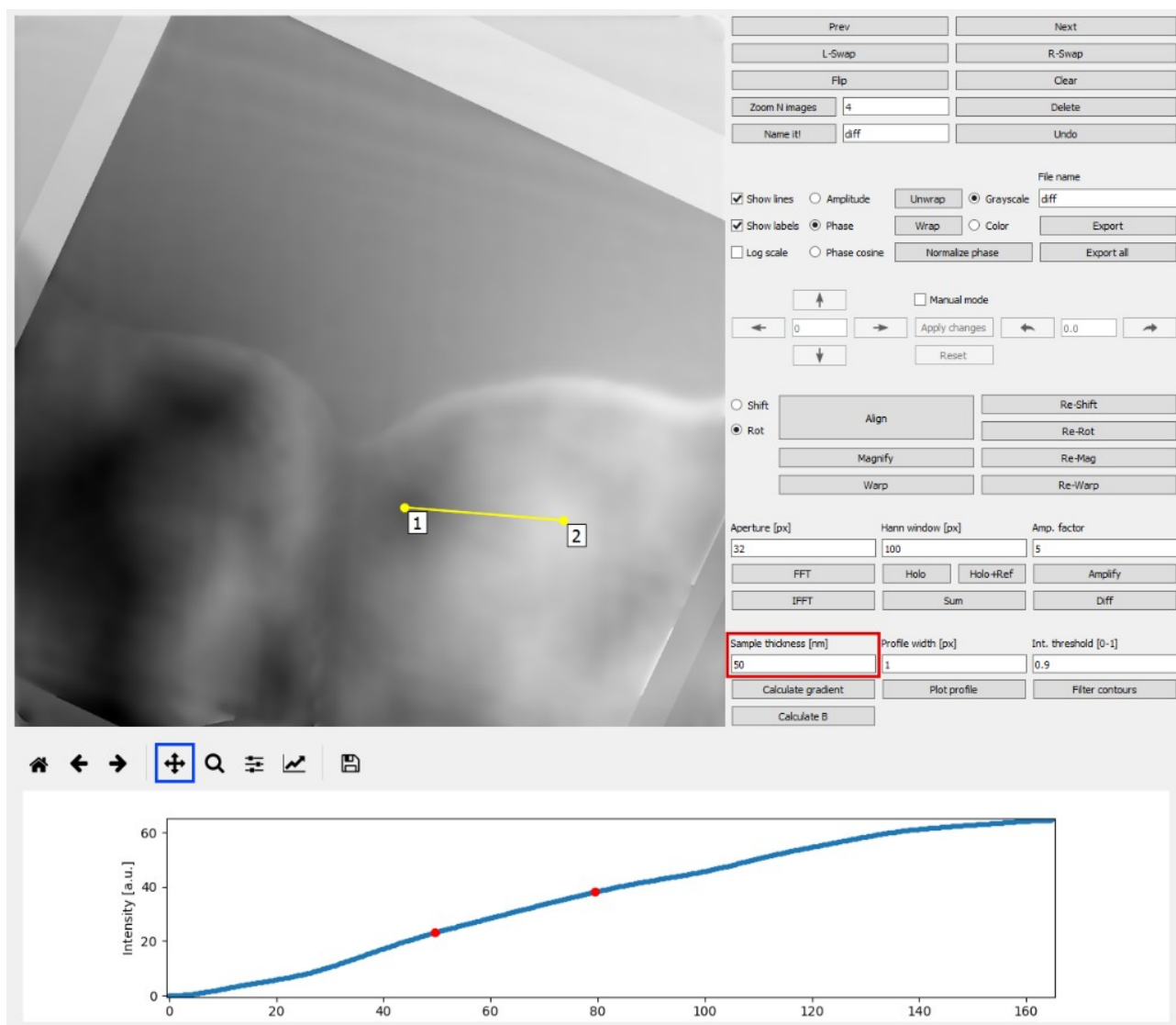
gdzie  $\alpha$  to współczynnik wzmocnienia, który możemy zdefiniować w polu tekstowym Amp. Factor. W tym przykładzie użyliśmy takiego samego współczynnika wzmocnienia dla sumy i różnicy:  $\alpha = 4$ . Uzyskane wyniki powinny przypominać te widoczne na rys. 8.



Rys. 8. Kontury fazowe pola elektrycznego (a) i pola magnetycznego (b) uzyskane na podstawie przykładowej serii hologramów przy użyciu programu PyHoLo.

19. Aby uzyskać ilościowy wynik określający wielkość pola magnetycznego w danym obszarze, należy posłużyć się narzędziem do rysowania profilu. Przechodzimy do obrazu diff i w trybie Phase zaznaczamy dwa punkty tworzące odcinek przechodzący wzdłuż interesującej nas zmiany fazy. Upewniając się, że szerokość profilu (Profile width) jest równa jednemu pikselowi, naciskamy przycisk Plot profile. W panelu (8) powinien ukazać się profil przedstawiający wzrost lub spadek fazy na określonej odległości. Wielkość pola magnetycznego możemy uzyskać licząc gradient fazy, czyli współczynnik nachylenia krzywej  $\phi(x)$ . Aby obliczyć gradient, musimy zaznaczyć na profilu dwa punkty określające początek i koniec obszaru, na którym faza zmienia się w przybliżeniu liniowo (czerwone markery na rys. 9). Opcję zaznaczania punktów na profilu można odblokować, klikając na ikonę krzyżyka zaznaczonego na rys. 9 niebieskim kwadratem. Po zaznaczeniu punktów, musimy jeszcze podać przewidywaną grubość preparatu w danym miejscu preparatu (czerwony prostokąt na rys. 9). W tym przykładzie użyto wartości 50 nm. W końcu naciskamy przycisk Calculate B, co powoduje wyświetlenie w terminalu wartości pola magnetycznego w teslach.

20. Na koniec nie pozostaje nic innego jak wyeksportowanie uzyskanych wyników. W tym celu zaznaczamy po kolei obrazy, które chcemy wyeksportować i naciskamy przycisk Export. Obraz będzie zapisany w aktualnie wybranym trybie wyświetlania Amplitude/Phase i Grayscale/Color. Jego ścieżkę na dysku można z kolei zdefiniować w polu tekstowym nad przyciskiem Export. Analogicznie, jeżeli będziemy chcieli zapisać wszystkie obrazy naraz, możemy użyć funkcji Export All. Wówczas każdy z obrazów zostanie zapisany w tym samym trybie wyświetlania. Przykładowo, jeżeli mamy wybrane opcje Phase i Color, to dla każdego obrazu zostanie zapisana jego faza w kolorze. Wyeksportowane pliki będą miały nazwy przypisane obrazom przez użytkownika.



Rys. 9. Sposób wyznaczania wartości pola magnetycznego na podstawie wykresu fazy „magnetycznej”.