

Entrega 03: Microscopía Óptica

STEVEN NACIR OLIVARES ARAQUE¹ AND DIEGO ALCIDES PEREZ PINEDA^{2,*}

¹Instrumentos Opticos 2025-2

*solivares@unal.edu.co, diperezp@unal.edu.co

Compiled November 19, 2025

La microscopía óptica sigue siendo una herramienta fundamental para el análisis de estructuras microscópicas en física, biología e ingeniería, gracias a su capacidad para transformar variaciones espaciales de amplitud y fase en información observable. En particular, los microscopios compuestos modernos en configuración de conjugado infinito, combinados con objetivos PLAN y lentes de tubo, permiten un control preciso de la formación de imágenes y de parámetros clave como la resolución, el contraste y el campo de visión. Cuando el sistema opera con iluminación coherente, la descripción de su desempeño requiere un tratamiento difractivo, donde la función de respuesta al impulso (PSF) y la función de transferencia óptica (OTF) se relacionan directamente con la función pupila efectiva del sistema.

En este trabajo se desarrolla y analiza un modelo teórico y computacional de un microscopio óptico coherente en configuración de conjugado infinito. A partir del formalismo de matrices de transferencia de rayos (ABCD), combinado con la teoría de difracción para aperturas finitas, se determina la función de respuesta al impulso del sistema y se evalúa su capacidad de resolución empleando un test de resolución estándar, comparando los resultados numéricos con el límite teórico dado por el criterio de Abbe. Adicionalmente, se diseña y prueba una función pupila modificada orientada a mejorar el contraste en la imagen de una muestra biológica traslúcida, explorando cómo la manipulación de la pupila permite resaltar información de fase. El informe presenta el desarrollo del modelo, la implementación computacional y el análisis de resultados, destacando el vínculo entre el diseño óptico y el desempeño real en la formación de imágenes. © 2025 Optica Publishing Group

<http://dx.doi.org/10.1364/ao.XX.XXXXXX>

1. FUNCIÓN DE RESPUESTA AL IMPULSO:

Se considera un microscopio compuesto moderno en configuración de conjugado infinito. En esta configuración, el objetivo

(MO) se dispone de manera que el objeto se encuentra en su plano focal F_{MO} . Como consecuencia, los rayos emergen del objetivo paralelos (espacio imagen intermedio en el infinito) y son enfocados por la lente de tubo (TL), de distancia focal f_{TL} , bajo iluminación coherente, como se muestra en la Fig. 1.

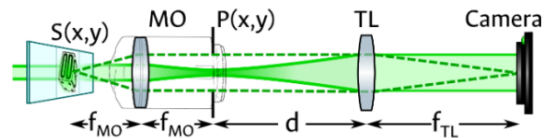


Fig. 1. Esquema óptico de un microscopio compuesto moderno.

Para determinar la función de respuesta al impulso (PSF) del sistema se emplea la formulación mediante matrices ABCD. El sistema se modela como dos bloques principales de propagación, descritos por las matrices M_1 y M_2 , que representan la propagación antes y después de la pupila $P(x,y)$, respectivamente:

$$\text{Objeto } (\xi, \eta) \xrightarrow{M_1} \text{Pupila } (x, y) \xrightarrow{P(x, y)} \text{Pupila modulada } (x, y) \xrightarrow{M_2} \text{Imagen } (u, v)$$

La etapa denominada *pupila modulada* (x, y) corresponde al campo complejo resultante tras la modulación introducida por la función pupila $P(x, y)$.

1.1. Matriz M_1 : Propagación desde el Objeto hasta el plano pupila:

La matriz M_1 describe la transformación óptica desde el plano objeto (ξ, η) hasta el plano de la pupila (x, y) e incorpora la acción del objetivo de distancia focal f_{MO} . De acuerdo con la Fig. 1, el objeto se ubica a una distancia f_{MO} del objetivo, mientras que la pupila se sitúa a una distancia d de éste, donde d corresponde a la distancia variable/arbitraria indicada en el enunciado.

La matriz M_1 es obtenida como el producto de la matriz de propagación en una distancia d , la matriz de la lente objetivo y la matriz de propagación en una distancia f_{MO} :

$$M_1 = M_{\text{Prop}, d} \cdot M_{\text{Lente}, f_{MO}} \cdot M_{\text{Prop}, f_{MO}}$$

$$M_1 = \begin{pmatrix} 1 & d \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\frac{1}{f_{MO}} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & f_{MO} \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$$

El resultado de la multiplicación matricial puede escribirse como

$$M_1 = \begin{pmatrix} A_1 & B_1 \\ C_1 & D_1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 - \frac{d}{f_{MO}} & f_{MO} \\ -\frac{1}{f_{MO}} & 0 \end{pmatrix}. \quad (1)$$

La consistencia del resultado puede verificarse observando que $D_1 = 0$, lo cual indica que la matriz está transformando el objeto en un haz de rayos paralelos (en la relación de propagación $\alpha_2 = C_1 y_1 + D_1 \alpha_1$). Cuando la pupila se encuentra en el plano focal posterior del objetivo (esto es, para $d = f_{MO}$), se cumple además que $A_1 = 0$ y M_1 se reduce a la matriz asociada a una transformada de Fourier.

2. Matriz M_2 : Propagación desde el plano pupila hasta la imagen

La trayectoria óptica desde el plano de la pupila (x, y) hasta el plano imagen (u, v) es descrita por la matriz M_2 , la cual incorpora la acción de la lente de tubo de distancia focal f_{TL} . De acuerdo con la Fig. 1, la pupila se encuentra a una distancia d_{TL} de la lente de tubo, mientras que el plano imagen se localiza a una distancia f_{TL} de dicha lente, como corresponde a un sistema de conjugado infinito.

La matriz M_2 se obtiene mediante la multiplicación de la matriz de propagación en la distancia f_{TL} , la matriz de la lente de tubo y la matriz de propagación en la distancia d_{TL} :

$$M_2 = M_{\text{Prop}, f_{TL}} \cdot M_{\text{Lente}, f_{TL}} \cdot M_{\text{Prop}, d_{TL}}$$

$$M_2 = \begin{pmatrix} 1 & f_{TL} \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\frac{1}{f_{TL}} & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & d_{TL} \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$$

El resultado de la multiplicación matricial puede escribirse como

$$M_2 = \begin{pmatrix} A_2 & B_2 \\ C_2 & D_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & f_{TL} \\ -\frac{1}{f_{TL}} & 1 - \frac{d_{TL}}{f_{TL}} \end{pmatrix}. \quad (2)$$

En esta expresión d_{TL} representa la distancia entre el plano de la pupila $P(x, y)$ y la lente de tubo de distancia focal f_{TL} .

3. Kernel de Propagación general (desde la Formula ABCD):

Siguiendo la formulación difractiva basada en matrices de transferencia de rayos presentada en clase, el núcleo de propagación $h(y_1, y_2)$ para un sistema descrito por una matriz ABCD puede expresarse, en notación unidimensional, como

$$h(y_1, y_2) = \frac{1}{i\lambda B} \exp \left[i \frac{k}{2B} (Ay_1^2 - 2y_1 y_2 + Dy_2^2) \right], \quad (3)$$

donde $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ es el número de onda y B corresponde al elemento B de la matriz de transferencia asociada al tramo de propagación considerado..

4. Matriz de la función de Respuesta al Impulso (PSF) del Microscopio:

La función de respuesta al impulso (PSF) o kernel de transmisión del sistema completo, $h(\xi, \eta; u, v)$, es obtenida integrando sobre el plano de la pupila $P(x, y)$ el producto de los dos kernels de propagación h_1 y h_2 , dado que la pupila modula la amplitud del campo en dicho plano. El campo complejo en el plano imagen $U_i(u, v)$ queda entonces determinado por la superposición de

las contribuciones de cada punto del objeto $U_o(\xi, \eta)$, filtradas por la función pupila $P(x, y)$, de manera que

$$h(\xi, \eta; u, v) = \iint P(x, y) h_1(x, y; \xi, \eta) h_2(u, v; x, y) dx dy.$$

Al expresar los kernels en términos de sus matrices ABCD asociadas, se obtiene

$$h(\xi, \eta; u, v) = \iint P(x, y) \exp \left\{ \frac{ik}{2B_1} \left[A_1((\xi^2 + \eta^2) - 2(\xi x + \eta y)) + D_1(x^2 + y^2) \right] \right\} \\ \times \exp \left\{ \frac{ik}{2B_2} \left[A_2(x^2 + y^2) - 2(xu + yv) + D_2(u^2 + v^2) \right] \right\} dx dy. \quad (4)$$

donde:

- $P(x, y)$: función pupila finita arbitraria.
- (ξ, η) : coordenadas del plano objeto.
- (x, y) : coordenadas del plano pupila (variables de integración).
- (u, v) : coordenadas del plano imagen.
- $k = 2\pi/\lambda$ (con $\lambda = 533$ nm en este caso).

Al sustituir en Eq. (4) los elementos de las matrices M_1 y M_2 del sistema, la PSF puede escribirse explícitamente como

$$h(\xi, \eta; u, v) = \iint P(x, y) \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{MO}} \left[\left(1 - \frac{d}{f_{MO}}\right) ((\xi^2 + \eta^2) - 2(\xi x + \eta y)) \right] \right\} \\ \times \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{TL}} \left[-2(xu + yv) + \left(1 - \frac{d_{TL}}{f_{TL}}\right) (u^2 + v^2) \right] \right\} dx dy. \quad (5)$$

Las constantes de fase de propagación y los prefactores de normalización $\frac{1}{i\lambda B_1}$, $\frac{1}{i\lambda B_2}$ y la fase global e^{ikL_0} han sido omitidos en las expresiones anteriores para facilitar su visualización, pero son tenidos en cuenta en los cálculos posteriores de esta práctica.

Ahora considerando el caso en el que $d = f_{TL}$ tenemos como resultado la siguiente expresión.

$$h(\xi, \eta; u, v) = \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{MO}} \left(1 - \frac{d}{f_{MO}}\right) ((\xi^2 + \eta^2)) \right\} \iint_{-\infty}^{\infty} P(x, y) \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{MO}} \right\} \\ \times \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{TL}} [-2(xu + yv)] \right\} dx dy. \quad (6)$$

separando para las variables $(u, v)y(\xi, \eta)$ tenemos que

$$h(\xi, \eta; u, v) = \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{MO}} \left(1 - \frac{d}{f_{MO}}\right) ((\xi^2 + \eta^2)) \right\} \iint_{-\infty}^{\infty} P(x, y) \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{MO}} \right\} \\ \times \iint_{-\infty}^{\infty} P(x, y) \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{TL}} [-2(xu + yv)] \right\} dx dy. \quad (7)$$

De manera practica podemos considerar que la PSF del sistema para $d = f_{TL}$ es la transformada de Fourier de la función pupila.

$$h(\xi, \eta; u, v) \propto \iint_{-\infty}^{\infty} P(x, y) \exp \left\{ \frac{ik}{2f_{TL}} [-2(xu + yv)] \right\} dx dy \quad (8)$$

$$h(\xi, \eta; u, v) \propto \text{Funcion Airy}. \quad (9)$$

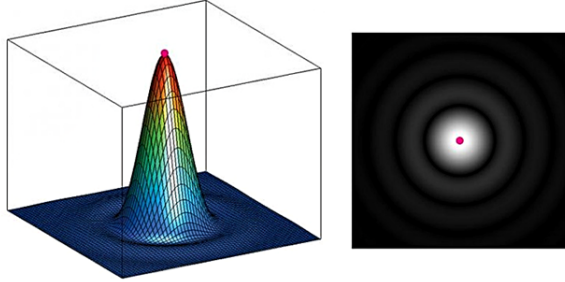


Fig. 2. PSF(Funcion de Airy).

donde el radio del primer disco esta relacionado con las propiedades del sistema con la siguiente relacion.

$$r_1 = 1.22 \frac{\lambda f}{D} \quad (10)$$

- $D \rightarrow$ diametro de la pupila
- $f \rightarrow$ foco del lente anterior

2. MODELO COMPUTACIONALMENTE DEL MICROSCOPIO ÓPTICO:

A. Objetivos del análisis

En este punto se modela computacionalmente el microscopio en configuración afocal ($d = f_{TL}$), operando bajo iluminación coherente ($\lambda = 533 \text{ nm}$, $NA = 0.5$). Con dicho modelo se busca:

- Estimar la capacidad de resolución transversal del sistema mediante un test de resolución estándar USAF 1951 (véase la Fig. 3).
- Comparar el límite experimental obtenido con el límite teórico previsto por el criterio de Abbé.

B. Límite de resolución transversal

La capacidad de un microscopio para distinguir detalles finos (resolución espacial) queda intrínsecamente limitada por la difracción. En el sistema considerado, la resolución está gobernada por la longitud de onda λ de la iluminación y por la apertura numérica NA del objetivo.

B.1. Criterio de Abbé (límite teórico)

El límite teórico de resolución transversal d_{Abbe} se fija a partir de la apertura numérica. En un sistema coherente, la máxima frecuencia espacial f_c que el objetivo puede transferir está dada por la frecuencia de corte coherente:

$$f_{c,\text{coherente}} = \frac{NA}{\lambda}. \quad (11)$$

Para un objetivo PLAN 20 \times /0.5 operando a $\lambda = 533 \text{ nm}$ se tiene:

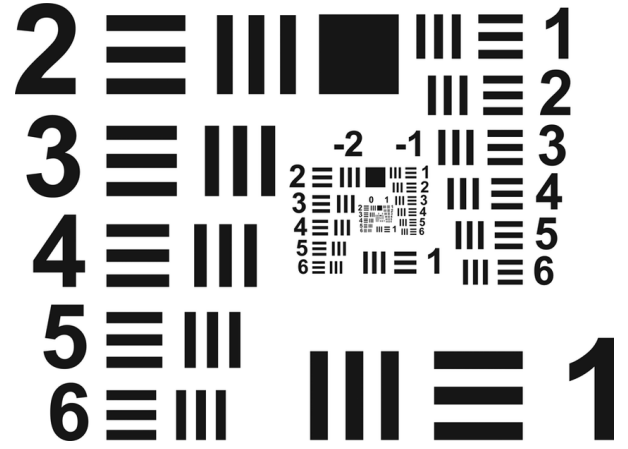


Fig. 3. Target de calibración USAF 1951 utilizado como prueba de resolución.

- $NA = 0.5$,
- $\lambda = 533 \times 10^{-9} \text{ m}$.

El sistema sólo transmite frecuencias espaciales hasta f_c . La distancia mínima resoluble asociada (d_{min}), es decir, el periodo espacial límite para la transferencia de información de la muestra, corresponde al recíproco de dicha frecuencia:

$$d_{\text{min}} = \frac{1}{f_c} = \frac{\lambda}{NA}. \quad (12)$$

La comparación entre este valor teórico y los resultados de la simulación resulta crítica para validar el desempeño del modelo computacional.

B.2. Formación de imagen coherente (CTF)

La simulación se apoya en la Óptica de Fourier, tratándose el microscopio como un sistema lineal e invariante en el espacio (LSI).

- **Objeto y campo complejo.** La muestra se modela mediante una transmitancia compleja $s(\xi, \eta)$ que, bajo iluminación por una onda plana, genera un campo complejo en el plano objeto $U_{\text{objeto}}(\xi, \eta)$.
- **Transformada de Fourier (espectro de difracción).** La luz difractada por la muestra y recogida por el objetivo se concentra en el plano focal posterior (plano pupila o *diffraction plane*). El campo en dicho plano corresponde a la Transformada de Fourier del campo del objeto, $G_{\text{objeto}} = \mathcal{F}\{U_{\text{objeto}}\}$.
- **Filtrado por la pupila (CTF).** El objetivo actúa como un filtro óptico limitado por su apertura numérica. En iluminación coherente, la respuesta en frecuencia del sistema viene dada por la Función de Transferencia Coherente (CTF), $H_{\text{CTF}}(f_x, f_y)$. Para un objetivo limitado por difracción, la CTF se modela como un filtro de paso bajo circular de radio f_c en el dominio de Fourier (su obtención a partir de la PSF se discute en una sección posterior):

$$G_{\text{imagen}}(f_x, f_y) = G_{\text{objeto}}(f_x, f_y) H_{\text{CTF}}(f_x, f_y). \quad (13)$$

- **Formación de la imagen.** La imagen compleja en el plano del sensor se obtiene aplicando la Transformada Inversa de Fourier al espectro filtrado: $U_{\text{imagen}} = \mathcal{F}^{-1}\{G_{\text{imagen}}\}$.

- **Intensidad detectada.** Puesto que los detectores digitales (por ejemplo, el sensor Alvium) sólo registran intensidad, el resultado medido corresponde al módulo cuadrado de la amplitud del campo complejo: $I_{\text{imagen}} = |U_{\text{imagen}}|^2$.

B.3. La función de Transferencia Coherente (CTF) H :

En el contexto de la óptica de Fourier y de los sistemas lineales invariantes en el espacio (LSI) bajo iluminación coherente, el dominio espacial y el dominio de frecuencias se encuentran relacionados mediante la transformada de Fourier \mathcal{F} :

$$H(f_x, f_y) = \mathcal{F}\{h(u, v; \xi, \eta)\}. \quad (14)$$

donde:

- $h(u, v; \xi, \eta)$ corresponde a la función de respuesta al impulso (PSF),
- $H(f_x, f_y)$ corresponde a la función de transferencia coherente (CTF).

A partir de la PSF obtenida en el Punto 1, y considerando que la pupila se ubica en el foco posterior del objetivo y que el sensor se sitúa en el foco de la lente de tubo, se anulan varios términos de fase. En particular, desaparecen los términos cuadráticos en ξ, η y en u, v , lo que conduce a

$$h(u, v) \equiv h(0, 0; u, v) \propto \iint P(x, y) \exp\left[-i \frac{2\pi}{\lambda f_{\text{TL}}} (xu + yv)\right] dx dy. \quad (15)$$

Esta expresión es formalmente equivalente a una transformada de Fourier de la pupila. Definiendo las frecuencias espaciales

$$f_x = \frac{u}{\lambda f_{\text{TL}}}, \quad f_y = \frac{v}{\lambda f_{\text{TL}}}, \quad (16)$$

puede escribirse

$$h(u, v) \propto \iint P(x, y) e^{-i2\pi(f_x x + f_y y)} dx dy = \mathcal{F}\{P(x, y)\}(f_x, f_y). \quad (17)$$

Es decir, la PSF resulta ser, salvo factores constantes, la transformada de Fourier de la pupila evaluada en las frecuencias espaciales (f_x, f_y) .

En formación de imagen coherente, la función de transferencia se define como la transformada de Fourier de la PSF:

$$H(f_x, f_y) = \mathcal{F}\{h(u, v)\}(f_x, f_y). \quad (18)$$

Sin embargo, dado que h ya es la transformada de Fourier de $P(x, y)$, la aplicación sucesiva de la transformada se describe mediante la propiedad

$$\mathcal{F}\{\mathcal{F}\{P\}\} \propto P(-x, -y). \quad (19)$$

Para una pupila simétrica (por ejemplo, un diafragma circular centrado) se cumple $P(-x, -y) = P(x, y)$. En consecuencia, salvo factores de escala que no alteran el soporte espacial, se obtiene

$$H(f_x, f_y) \propto P(\text{coordenadas escaladas}). \quad (20)$$

En otras palabras, la función de transferencia coherente es, esencialmente, la pupila del objetivo expresada en coordenadas de frecuencia espacial del objeto.

Geoméricamente, el objetivo sólo acepta rayos hasta un ángulo máximo θ_{max} tal que

$$NA = n \sin \theta_{\text{max}} \approx n \theta_{\text{max}}. \quad (21)$$

Para una onda de longitud de onda λ , la máxima frecuencia espacial en el objeto que puede transmitirse en el caso coherente es

$$f_c = \frac{NA}{\lambda}. \quad (22)$$

Esto implica que la pupila en el espacio de frecuencias se representa como un disco de radio f_c . Por lo tanto, la CTF puede expresarse finalmente como

$$H(f_x, f_y) = \begin{cases} 1, & \sqrt{f_x^2 + f_y^2} \leq f_c = \frac{NA}{\lambda}, \\ 0, & \text{en otro caso.} \end{cases} \quad (23)$$

C. Conclusiones y resultados

En el siguiente enlace [código](#) se encuentra disponible el programa utilizado para la simulación numérica del Punto 2, a partir del cual se obtuvieron los resultados que se presentan a continuación.

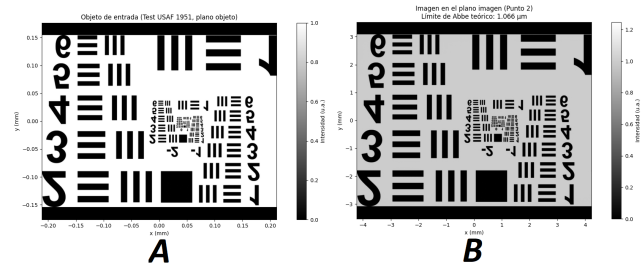


Fig. 4. (a) Objeto de entrada: tarjeta de prueba USAF 1951 mostrada en la Fig. 3. (b) Imagen simulada en el plano imagen mediante la CTF coherente.

En la Fig. 4 se observa que todas las barras del test USAF 1951 resultan resolubles, en el sentido de que la separación entre líneas sigue siendo distinguible. Este resultado es coherente con el límite frecuencial teórico del sistema: la frecuencia de corte coherente calculada es $f_c \approx 938.1$ líneas/mm, mientras que el estándar *USAF-1951 Standard Layout Specifications* alcanza, en el grupo 9 elemento 6, aproximadamente 912.3 líneas/mm. En consecuencia, el test de resolución no sobrepasa el límite de Abbe, sino que se aproxima a él por debajo.

Con el propósito de explorar el comportamiento del sistema más allá del límite propuesto por Abbe, se simuló adicionalmente un patrón sinusoidal unidimensional con frecuencia espacial superior a la frecuencia de corte, siguiendo la discretización en pasos basada en la raíz sexta de dos (consistente con la progresión de frecuencias del USAF 1951). El caso representativo de $f_{\text{test}} = 1024.0$ líneas/mm se ilustra en la Fig. 12.

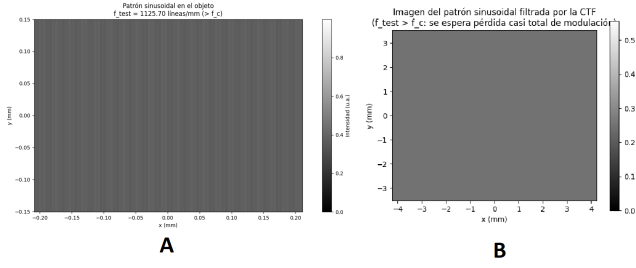


Fig. 5. (a) Patrón sinusoidal en el plano objeto con $f_{\text{test}} = 1024.0$ líneas/mm $> f_c$. (b) Imagen simulada tras la CTF coherente, donde se observa una pérdida prácticamente total de modulación, de modo que el patrón no resulta resoluble.

3. DISEÑO DE LA FUNCIÓN PUPILA $P'(x, y)$ PARA UNA MUESTRA BIOLÓGICA TRASLÚCIDA:

Para el cumplimiento del objetivo de este numeral se utilizó el uso de un filtro de contraste de fase del cual se habla en el recurso [7].

El objetivo del contraste de fase es convertir variaciones de fase en variaciones de intensidad en la imagen registrada en el sensor

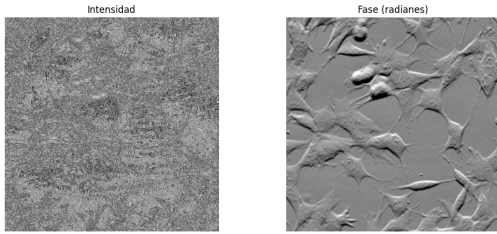


Fig. 6. amplitud y fase de una muestra biológica iluminada con una onda plana

Consideremos una onda de fase débil* dada por la siguiente expresión

$$O(x, y) = A_0(x, y)e^{i\phi(x, y)} \quad (24)$$

donde $*\phi(x, y) \ll 1 \forall (x, y)$ entonces tenemos que Eq. (24).

$$O(x, y) = A_0(x, y)(1 + i\phi(x, y)) \quad (25)$$

Suponiendo la Eq. (25) es $S(x, y)$ de la fig 1, entonces en el plano de Fourier tenemos:

$$\begin{aligned} F\{O\} &= \hat{O}(u, v) \\ \hat{O}(u, v) &= A(u, v) + iA(u, v) * \Phi(u, v) \end{aligned} \quad (26)$$

y ahora, puesto que la muestra solo altera en gran medida la fase de la onda y no su distribución dado que la muestra es translúcida entonces podemos considerar que $A_0(x, y)$ es uniforme por lo tanto

$$\begin{aligned} A(u, v) &= A_0\delta(u, v) \\ \hat{O}(u, v) &= A_0\delta(u, v) + iA_0\delta(u, v) * \Phi(u, v) \\ \hat{O}(u, v) &= A_0\delta(u, v) + iA_0\Phi(u, v) \end{aligned} \quad (27)$$

Ahora sigue lo más importante generar un cambio en la Eq. (29) de tal manera que podamos generar un cambio de fase en la iluminación de fondo de tal manera que el módulo al cuadrado no "oculte" la fase.

$$\hat{O}(u, v) = A_0 \{ \delta(u, v) \mu + i\Phi(u, v) \} \quad (28)$$

Cabe recordar que nosotros en el plano de Fourier podemos acceder de manera selectiva y física a la composición espectral de la onda. es decir, podemos eliminar o modificar la fase de la onda para cierto rango espectral.

La estrategia de esta práctica es modificar la onda en fase en la frecuencia de fondo, es decir crear un **elemento óptico** que solo modifique en fase el fondo. Eq. (29) $\mu = \alpha e^{i\frac{\pi}{2}}$ donde α

$$\hat{O}(u, v) = A_0 \{ \delta(u, v) \alpha e^{i\frac{\pi}{2}} + i\Phi(u, v) \} \quad (29)$$

Ahora si propagamos el campo modificado en el plano de Fourier hasta el sensor en el sistema dado por la fig 1. obtenemos lo siguiente.

$$\begin{aligned} O'(x', y') &= A_0 \{ \alpha e^{i\frac{\pi}{2}} + i\phi(x', y') \} \\ I'(x', y') &= -A_0^2 \{ \alpha^2 + 2\alpha\phi(x', y') + \phi^2(x', y') \} \end{aligned} \quad (30)$$

Ahora puesto que:

- $\phi(x', y') \gg \phi^2(x', y')$
- $\alpha \gg \alpha^2$

Entonces, en mayor parte la iluminación registrada en el sensor estará dada por:

$$I'(x', y') \approx -2\alpha A_0^2 \phi(x', y') \quad (31)$$

Para lograr esto se simuló el microscopio de la fig 1 del numeral anterior y en la función pupila se aplicó un filtro de fase $\frac{\pi}{2}$ con radio r donde r es: si consideramos que la respuesta a una onda plana del sistema anterior al plano de Fourier es la función de respuesta al impulso dada por la Eq. (8), donde la mayor parte de la contribución de la intensidad del fondo se encuentra dentro del primer disco de la función de Airy. por lo tanto si queremos modificar algo de la iluminación de fondo es en esa porción del espectro donde en mayor parte se encuentra la información de la iluminación de fondo.

$$r = r_1 = 1.22 \frac{\lambda f}{D} \quad (32)$$

Para las características del sistema óptico encontradas en el numeral anterior se encontró que el radio tiene que ser de:

$$r = 0.65 \mu\text{m} \quad (33)$$

Sin embargo por razones de eficiencia de la simulación se simuló con un $r = 100 \mu\text{m}$ en el plano de Fourier

A. Desarrollo de la simulacion

A.1. Plano Inicial

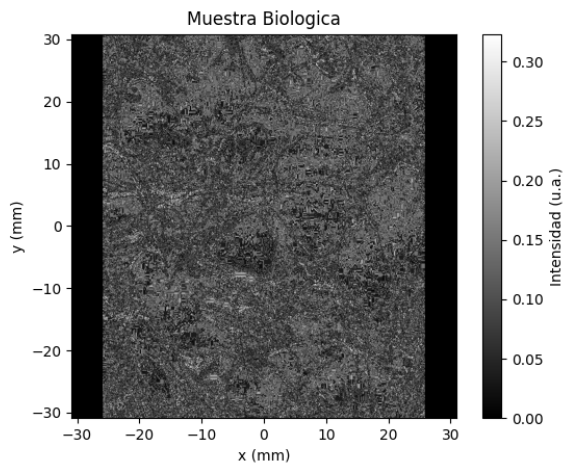


Fig. 7. Intensidad, muestra biológica iluminada con una onda plana

Se hace pasar por la lente objetivo del cual resulta en el plano de *Fourier* 8.

A.2. Plano de Fourier

espectro completo en el espacio de las frecuencias

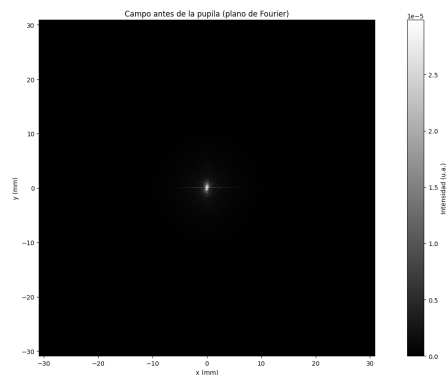


Fig. 8. Campo en el plano de *Fourier* sin aplicar filtro

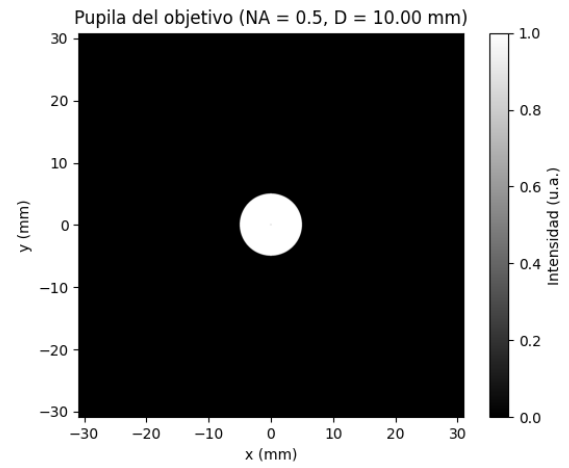


Fig. 9. Pupila en el plano de *Fourier*

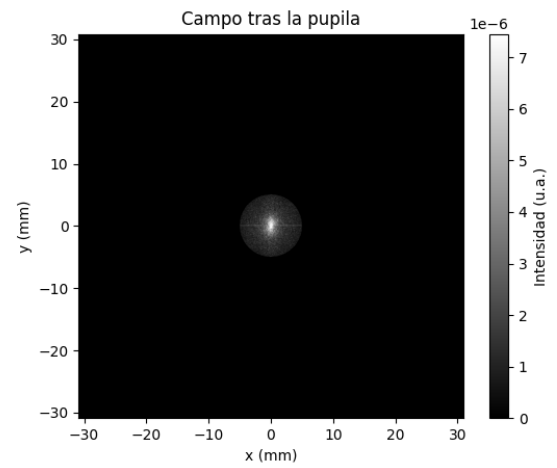


Fig. 10. Campo con el filtro aplicado

A.3. Campo registrado por el sensor

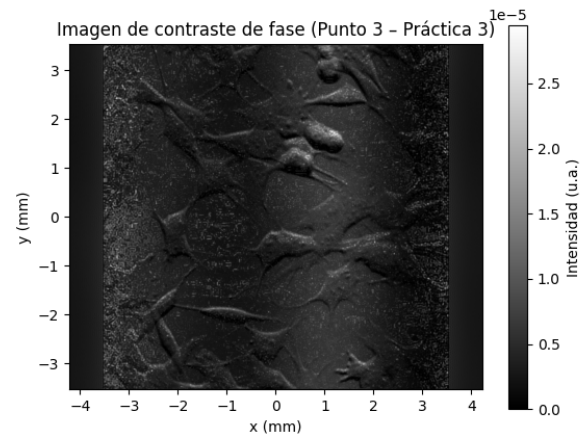


Fig. 11. Contraste de fase obtenido

pupila del sistema

287 si comparamos con la fase del campo en la entrada, se nota que
288 se logra obtener en gran medida las características de la fase
289 utilizando el microscopio con el filtro de fase.

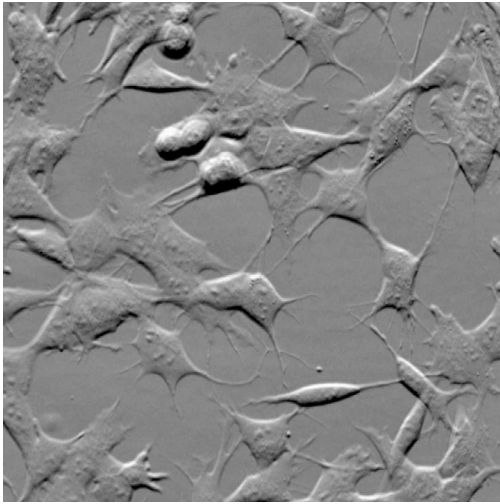


Fig. 12. fase del campo de entrada

4. REFERENCIAS

REFERENCES

1. Hecht, E. (2017). *Optics* (5th ed.). Pearson Education Limited.
2. Goodman, J. W. (1996). *Introduction to Fourier Optics* (2nd ed.). McGraw-Hill.
3. Cristobal, G., Schelkens, P., & Thienpont, H. (Eds.). (2011). *Optical and Digital Image Processing: Fundamentals and Applications*. Wiley-VCH.
4. Murphy, D. B., & Davidson, M. W. (2013). *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
5. Orozco, L. A. (2024). *Matrices ABCD, difracción, polarización y aberraciones: Un repaso de óptica* [Apuntes de clase]. Departamento de Física, Universidad de Concepción.
6. Applied Image Inc. (n.d.). *USAF 1951 chart (standard layout): Product specifications (T-20)* [Hoja de datos técnica]. Applied Image Inc.
7. Históptica, "Microscopio de contraste de fase." Disponible en: <https://histoptica.wordpress.com/de-contraste-de-fase/>. Accedido: 14-Nov-2025.

REFERENCES