

Revisión de técnicas en holografía
incoherente en la región de Fresnel.
Aplicación a superresolución en
microscopia holográfica incoherente

Manuel Genovés

Trabajo de fin de Grado en Física

Tutelada por:
Javier García Montreal
Vicente Micó

Universitat de València, València
Septiembre 2018

Abstract

FINCH (“Fresnel INcoherent Correlation Holography”) XXX

Table of Contents

Abstract

1 Introducción

- 1.1 Sobre la holografía, ventajas e inconvenientes
- 1.2 FINCH como alternativa a la holografía clásica

2 Sistemas formadores de imágenes

- 2.1 Sistemas fotográficos convencionales
- 2.2 Holografía convencional
- 2.3 Sistema FINCH

3 Estudio por etapas de la propagación de la luz

- 3.1 Esquema operativo
 - 3.1.1 Propagación de la fuente a la FZP
 - 3.1.2 Convolución con la FZP
 - 3.1.3 Propagación de la FZP al CCD
 - 3.1.4 Reconstrucción

4 Aliasing

4.1	Prevención	
4.2	Detección	
4.2.1	Matrices de convolución para detección de aliasing en una imagen	
5	Simulaciones realizadas	
5.1	Holograma y reconstrucción de un punto	
5.2	Pruebas de resolución	
5.3	Pruebas de profundidad	
5.4	Reconstrucción de una figura 3D	
6	Conclusion	
6.1	Thesis summary	
6.2	Future work	

Appendix 1: Some extra stuff

Appendix 2: Some more extra stuff

References

Chapter 1

Introducción

1.1 Sobre la holografía, ventajas e inconvenientes

La holografía es una técnica fotográfica que permite codificar de forma fidedigna una escena 3D en un medio 2D (ya sea este físico o digital), conservando y permitiendo reconstruir la escena original. En la holografía tradicional ésto se consigue conservando la información de la fase, información que se pierde en la fotografía convencional, que sólo registra la intensidad.

Para conservar información de la fase es indispensable utilizar una fuente de luz altamente coherente, lo que introduce una serie de inconvenientes frente a la fotografía tradicional:

- la necesidad de utilizar un láser convierte al proceso en inherentemente monocromático
- la alta sensibilidad del dispositivo dado su principio de operación interferométrico impone unas condiciones para la toma de imágenes que no siempre se pueden satisfacer, sobre todo en muestras que presentan movimiento (tejidos vivos, polen en agua, etc)
- la alta coherencia de la luz empleada produce efectos de difracción importantes en muestras pequeñas (microscopia holográfica)
- y por último imposibilita el uso de tinturas fluorescentes, ampliamente utilizadas en el ámbito de la biología.

1.2 FINCH como alternativa a la holografía clásica

FINCH (**F**resnel **I**ncoherent **C**orrelation **H**ologram) es un método descrito por primera vez en 2007 por Joseph Rosen y Gary Brooker que presenta frente a la holografía tradicional la ventaja de emplear luz incoherente, salvando así los inconvenientes antes mencionados. Si bien este método no permite conservar información de la fase, sí permite codificar la profundidad en el propio holograma, pudiendo reconstruirse una imagen 3D o bien una imagen 2D con un plano focal arbitrario. Al ser un proceso incoherente pueden utilizarse tinturas fluorescentes, lo que junto a su adaptabilidad a sistemas de microscopía, lo hace un candidato interesante para su uso en ramas relacionadas con la biología y la medicina.

Chapter 2

Sistemas formadores de imágenes

2.1 Sistemas fotográficos convencionales

En un sistema óptico ideal M existen un conjunto infinito de pares de planos llamados *planos conjugados*, para los que a cada punto en un plano objeto le corresponde unívocamente un punto en su plano conjugado imagen. Las figuras que conforman un plano objeto y la correspondiente figura de su plano conjugado imagen están directamente relacionadas por una transformación de escala.

Un sistema fotográfico es un sistema óptico en el que se sitúa un medio fotosensible (sales de plata para fotografía analógica, un CCD para fotografía digital) en un plano imagen, registrando la intensidad que llega a su correspondiente plano objeto. Variando el sistema M podemos ajustar dónde deseamos que esté el plano objeto para captarlo con fidelidad, ya que todos los planos que no sean el conjugado -fuera de foco- son registrados, pero desenfocados.

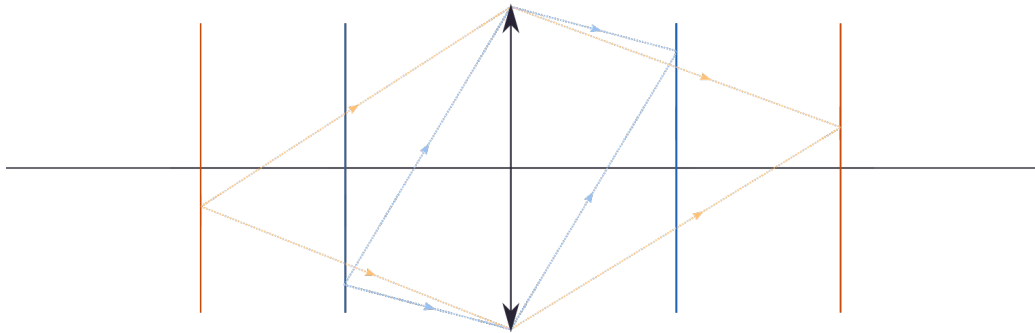
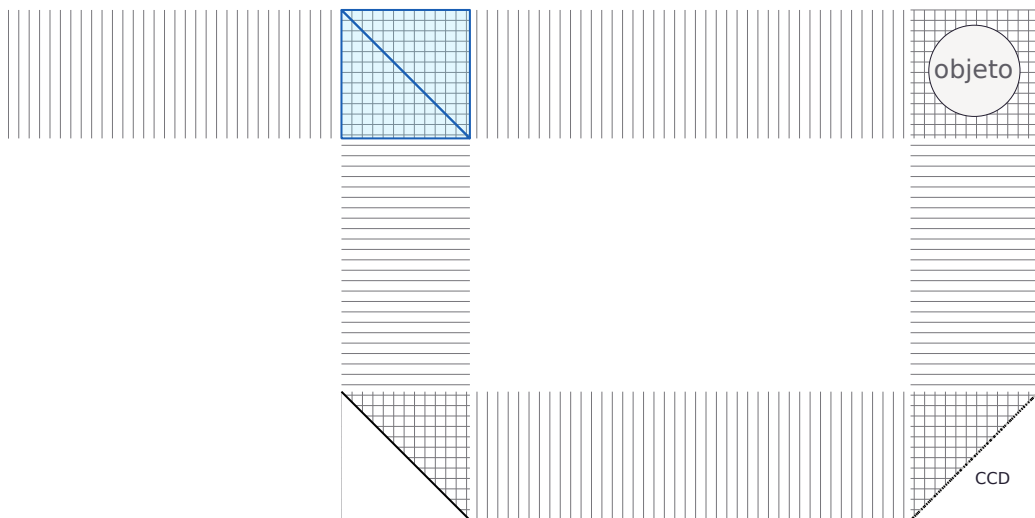


Figure 2.1: Planos conjugados del mismo color

2.2 Holografía convencional

Para registrar información de la fase -en vez de simplemente la intensidad- se registra en un medio fotosensible el patrón de interferencia producido por un haz de referencia con el haz que ilumina el objeto en cuestión. Ambos haces provienen de una fuente de luz altamente coherente -generalmente LASER- que es dividida en dos mediante un beam splitter



El patrón registrado no es inteligible por si mismo, es necesario reconstruir la imagen iluminando el holograma con -a ser posible- un haz idéntico al haz de referencia usado para producir el holograma. Si la luz usada para reconstruir el holograma no es idéntica a dicho haz de referencia se pierde

exactitud en la reproducción.

2.3 Sistema FINCH

El sistema FINCH busca generar un patrón holográfico como el anterior pero sin el uso de láseres en el proceso. Para ello, en FINCH a cada punto del objeto le corresponde la proyección de una placa zonal de Fresnel (FZP o placa zonal en adelante) en el plano imagen. Una placa zonal es una figura descrita por una fórmula del tipo

$$\frac{1 \pm \cos kr^2}{2}$$

donde k es una constante y r es la distancia desde el centro de la placa a un punto dado. De esta manera, la posición de la FZP proyectada en el plano imagen determina la posición transversal del punto objeto, y la escala de la FZP, su posición axial:

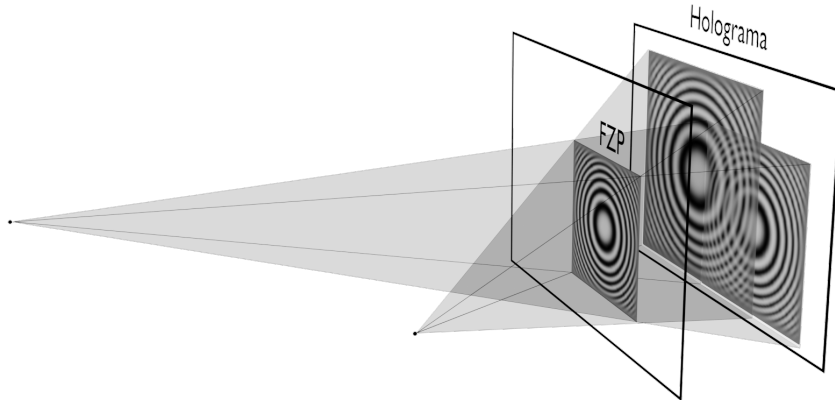


Figure 2.2: Esquema de funcionamiento de FINCH

Como en la holografía, y a diferencia de la fotografía convencional, donde el medio de registro proporciona directamente la imagen (o un negativo en fotografía analógica), para FINCH es necesario realizar una reconstrucción

(de nuevo, analógica o digital) para recuperar la imagen deseada. Para ello se ilumina el holograma con una fuente de luz plana y coherente. La propia propagación reconstruye la imagen principal plano a plano:

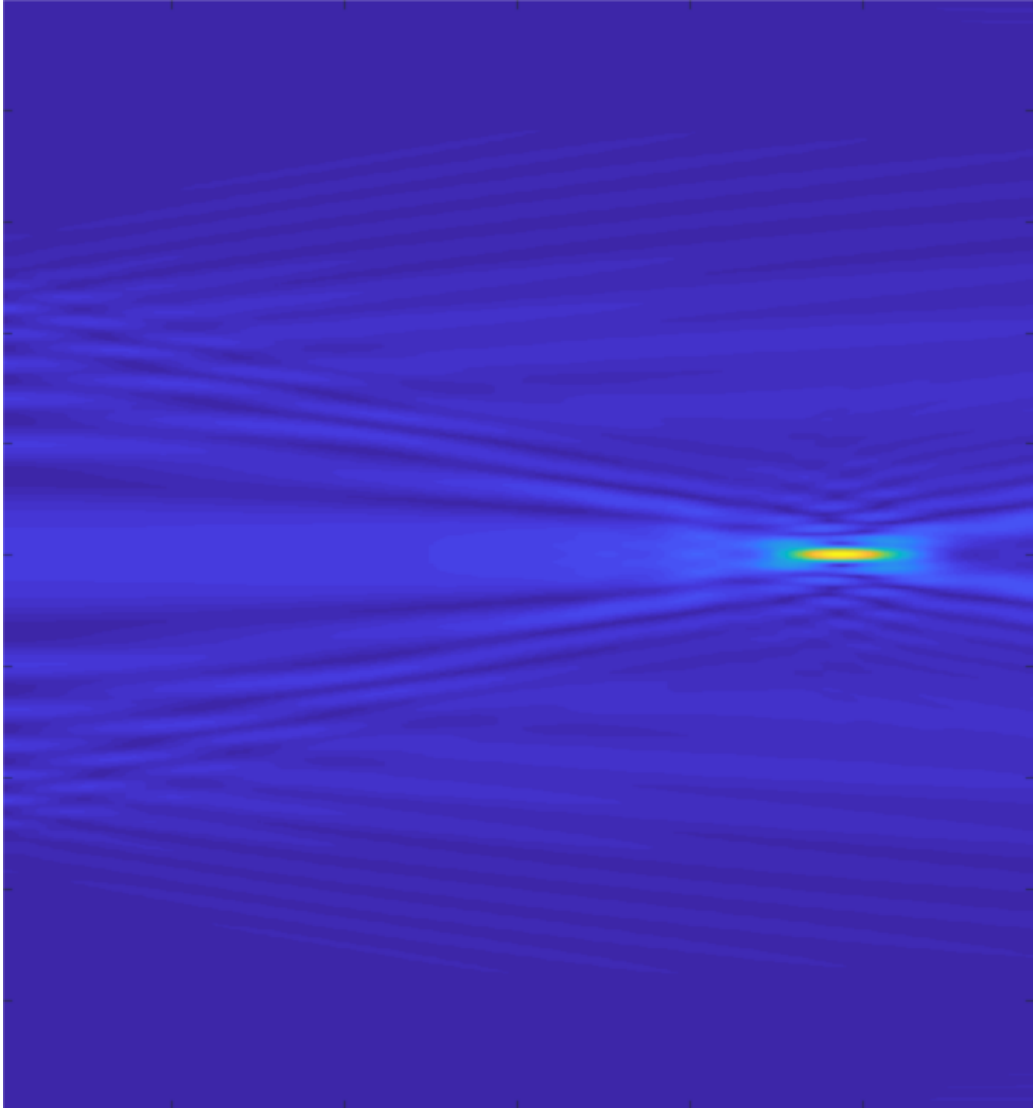


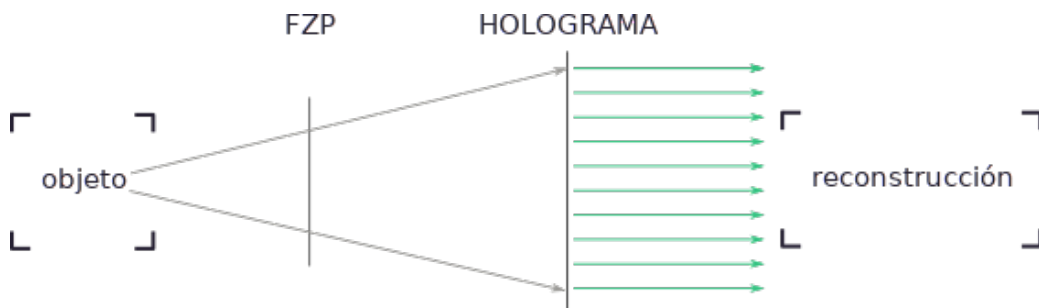
Figure 2.3: Sección transversal de la propagación del holograma FINCH de un punto

Chapter 3

Estudio por etapas de la propagación de la luz

3.1 Esquema operativo

Las simulaciones realizadas han seguido el siguiente esquema general:



3.1.1 PROPAGACIÓN DE LA FUENTE A LA FZP

Tenemos una serie de fuentes puntuales e incoherentes entre sí. Cada fuente puntual es una fuente esférica:

$$u(r) = \frac{A}{r} e^{\pm ikr}$$

Al ser incoherentes entre sí podemos propagarlas independientemente hasta la FZP.

3.1.2 CONVOLUCIÓN CON LA FZP

La FZP utilizada fue definida como

$$real \left[\exp\left(-i\frac{\pi}{a}(x^2 + y^2)\right) \right]$$

Para evitar problemas de frontera se convoluciona con un perfil gaussiano:

¿Y si ponemos una máscara circular en vez de cuadrada?

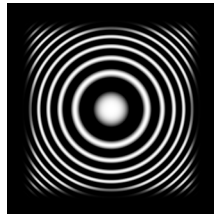


Figure 3.1: Fresnel Zone Plate

3.1.3 PROPAGACIÓN DE LA FZP AL CCD

Puesto que el frente de ondas a propagar no es trivial no podemos resolver analíticamente la integral de difracción de Rayleigh-Sommerfeld Fraunhofer:

$$U(x, y, z) = -\frac{i}{\lambda} \int U(x', y', 0) \frac{z}{l^2} \exp(ikl) \partial x' \partial y'$$

Utilizamos el método numérico desarrollado por Sheng-Wangx; “Angular Spectrum propagation”:

$$X = \mathcal{F}_{shift}(\mathcal{F}_2(\mathcal{F}(x)))$$

$$G = \exp(iZ \sqrt{\left(\frac{2\pi}{\lambda}\right)^2 - x^2 - y^2})$$

$$U = \mathcal{F}_{shift}(\mathcal{F}_2^{-1}(\mathcal{F}(XG)))$$

Permite calcular mediante transformadas rápidas de Fourier la propagación a una distancia z si

Condición!

Sumamos las intensidades de cada frente de onda -por cada fuente puntual del objeto- propagado; obteniendo así el holograma FINCH

Holograma

3.1.4 RECONSTRUCCIÓN

Usamos de nuevo el método de propagación por espectro angular para reconstruir el holograma

Chapter 4

Aliasing

Cuando una señal periódica se muestrea con una frecuencia menor al doble de la frecuencia máxima de la señal a muestrear (también conocida como frecuencia de Nyquist), no se puede reconstruir unívocamente la señal original. Este fenómeno se conoce como *aliasing* y una vez producido no se puede corregir.

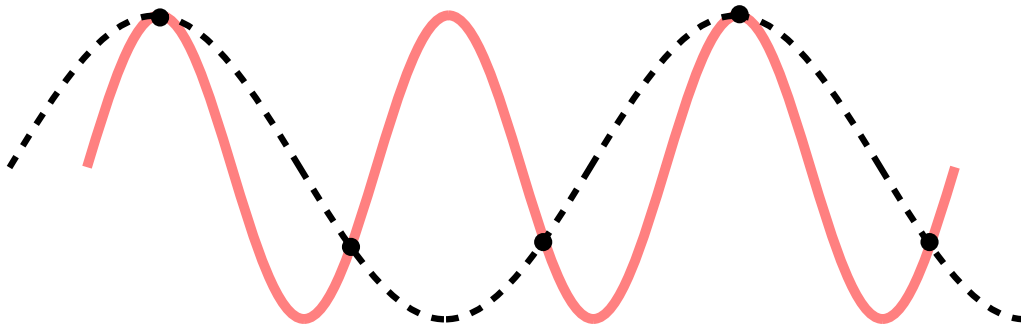


Figure 4.1: Si la señal original (roja) no se muestrea correctamente, la reconstrucción es incorrecta (línea de puntos)

Siendo un fenómeno que se suele dar en la conversión de señales analógico-digital, hemos tenido que prevenirlo y detectarlo. Los hologramas son aliasados con suma facilidad -propagamos señales con frecuencias muy altas, la FZP también puede llegar a tener frecuencias altas con respecto a la densidad de píxeles con que se muestrea la imagen-, y un holograma aliasado no sólo es erróneo, no se puede reconstruir.

En concreto en las simulaciones realizadas hay que controlar no sólo que no se produzca aliasing en el muestreo del holograma, si no en todas y cada una de las fases de la simulación.

4.1 Prevención

Análisis máxima frecuencia permitida

Fine tuning de parámetros de simulación

Parámetros ajustables y no ajustables. Limitaciones prácticas

Puesto que FINCH está orientado a ser aplicado en sistemas reales conviene introducir los mismos constraints que aplican en la vida real en la simulación. Esto implica que algunos parámetros no podremos ajustarlos arbitrariamente, a saber:

- La frecuencia de la luz
- Los tamaños de la FZP y la imagen
- La resolución de la FZP y la imagen
- Las distancias de propagación

4.2 Detección

No es trivial detectar que un holograma está aliasado, así que se hace necesario desarrollar una herramienta que permita descartar imágenes aliasadas para no hacer reconstrucciones a partir de ellas y atribuir a otros tipos de errores los que son puramente de aliasing.

Para ello se ha diseñado un kernel de convolución para detectar altas frecuencias en la imagen:

4.2.1 MATRICES DE CONVOLUCIÓN PARA DETECCIÓN DE ALIASING EN UNA IMAGEN

En nuestro contexto hablamos de la convolución de una matriz kernel (generalmente de 3x3) con una matriz imagen. Para cada elemento de la matriz imagen tomamos una submatriz centrada en éste y del tamaño del kernel. Asignaremos a este elemento la suma de las multiplicaciones elemento a elemento de la submatriz y el kernel, es decir, si R_{ij} es el elemento i, j de la matriz resultante de la convolución, I es la matriz imagen, S la submatriz del tamaño del kernel centrada en I_{ij} y K la matriz kernel:

$$R_{ij} = \sum_{i,j} K_{i,j} * S_{i,j}$$

Al ser una operación que modifica el valor de un elemento en función de los valores de los elementos adyacentes (en un menor o mayor radio) es una buena candidata para el caso que nos ocupa, en el que queremos detectar variaciones altas de valores en píxeles adjuntos, indicadoras de aliasing.

Existen muchos kernels indicados para diferentes propósitos, para el caso que nos ocupa diseñamos el siguiente, que ofrece resultados consistentes y precisos:

$$\begin{bmatrix} 0 & -1 & 0 \\ -1 & 4 & -1 \\ 0 & -1 & 0 \end{bmatrix}$$

La convolución de este kernel con una imagen realza los patrones “de ajedrez” indicadores de aliasing (variaciones de muy alta frecuencia píxel a píxel) y promedia a ~ 0 las variaciones de baja frecuencia entre píxeles adyacentes. Contando la proporción de píxeles con valores por encima de un cierto umbral con respecto al número total de píxeles podemos determinar con un alto grado de fiabilidad si la imagen está aliasada o no.

Chapter 5

Simulaciones realizadas

5.1 Holograma y reconstrucción de un punto

5.2 Pruebas de resolución

Logramos resolver hasta un máximo de 0.6 mm a una distancia de 3 m

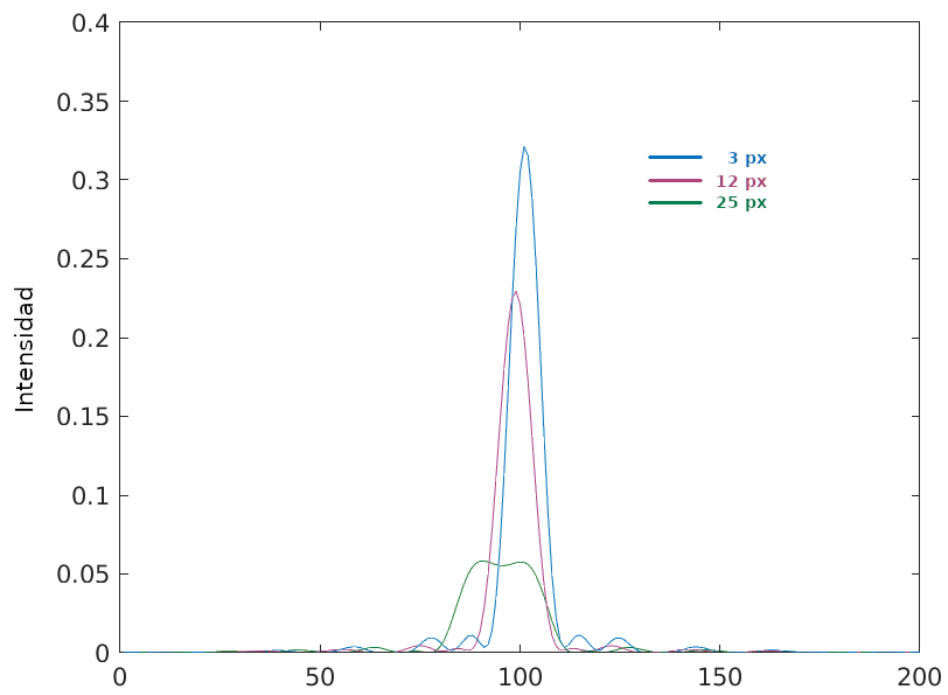


Figure 5.1: Diferentes perfiles de la reconstrucción para diferentes separaciones iniciales entre los dos puntos

5.3 Pruebas de profundidad

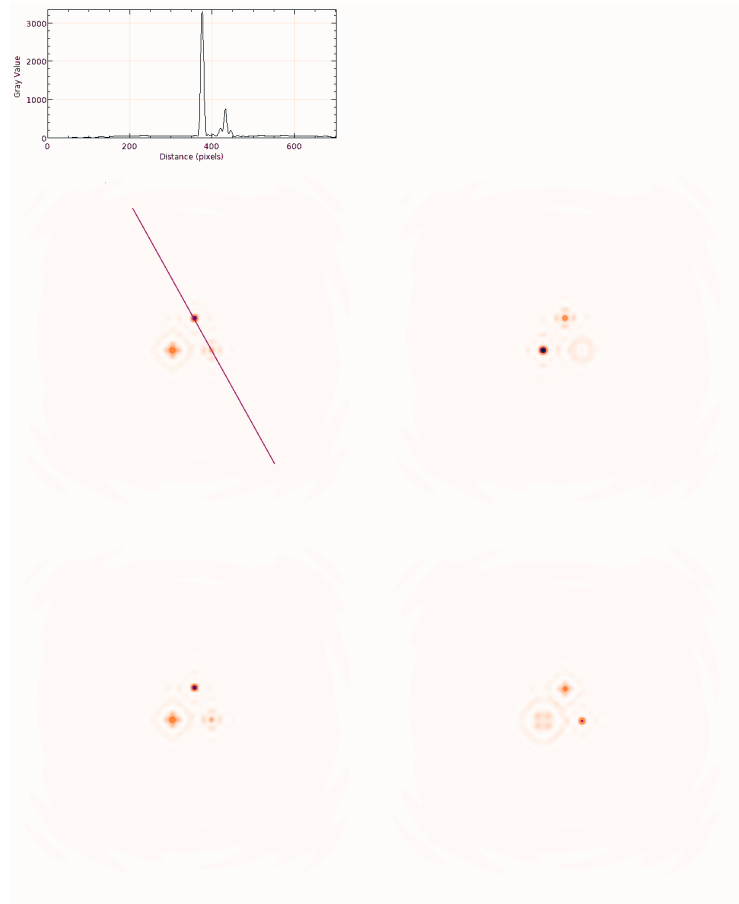


Figure 5.2: Reconstrucción en tres planos diferentes y sección de uno de ellos

5.4 Reconstrucción de una figura 3D

Utilizamos como fuente un conjunto de 335 puntos alineados en 5 de las 12 aristas de un cubo. Podemos reconstruir diferentes planos del cubo con éxito y con considerable rapidez (menos de 1 segundo por plano a la hora de reconstruir), si bien a la hora de generar el holograma alcanzamos rápidamente límites de memoria, teniendo que renunciar a simulaciones más complejas y bien muestreadas.

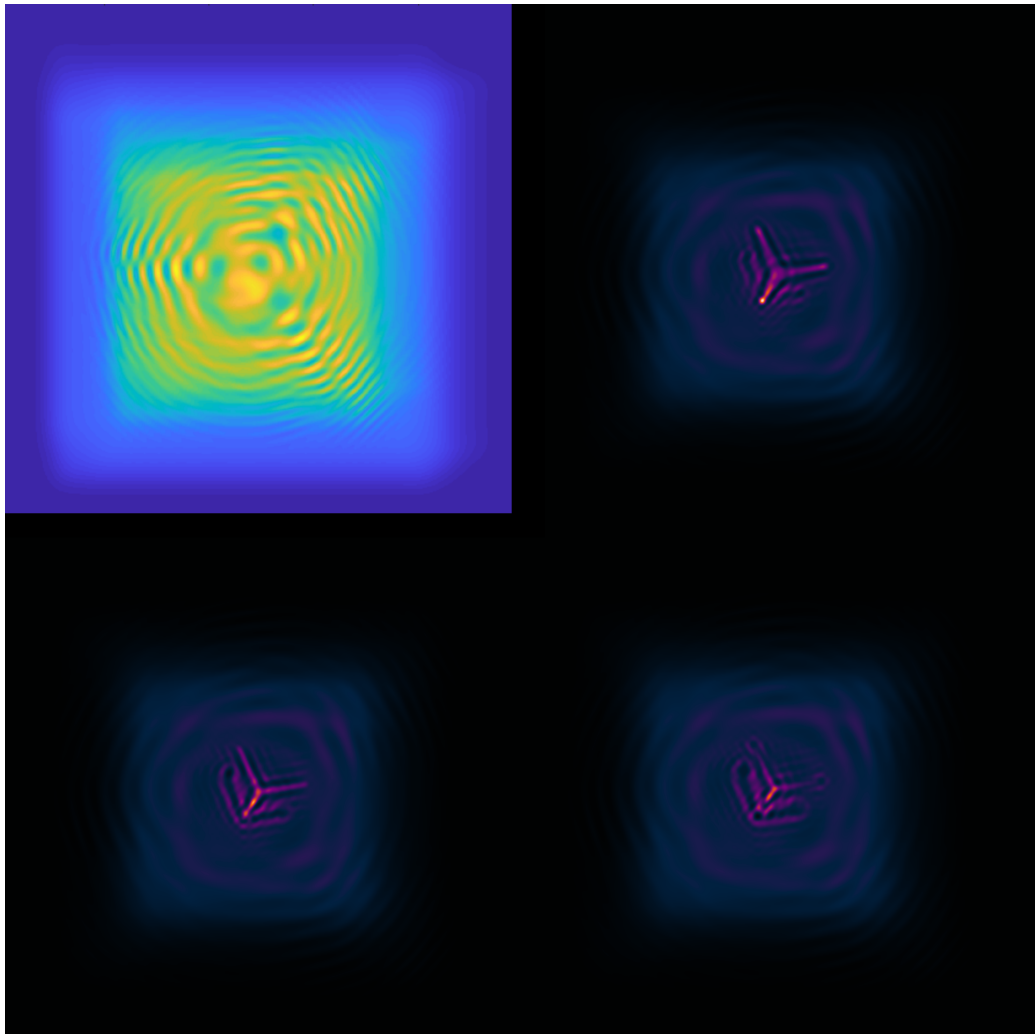


Figure 5.3: Holograma y tres reconstrucciones de medio cubo

Chapter 6

Conclusion

6.1 Thesis summary

In summary, pellentesque habitant morbi tristique senectus et netus et malesuada fames ac turpis egestas. Nunc eleifend, ex a luctus porttitor, felis ex suscipit tellus, ut sollicitudin sapien purus in libero. Nulla blandit eget urna vel tempus. Praesent fringilla dui sapien, sit amet egestas leo sollicitudin at.

6.2 Future work

There are several potential directions for extending this thesis. Lorem ipsum dolor sit amet, consectetur adipiscing elit. Aliquam gravida ipsum at tempor tincidunt. Aliquam ligula nisl, blandit et dui eu, eleifend tempus nibh. Nullam eleifend sapien eget ante hendrerit commodo. Pellentesque pharetra erat sit amet dapibus scelerisque.

Vestibulum suscipit tellus risus, faucibus vulputate orci lobortis eget. Nunc varius sem nisi. Nunc tempor magna sapien, euismod blandit elit pharetra sed. In dapibus magna convallis lectus sodales, a consequat sem euismod. Curabitur in interdum purus. Integer ultrices laoreet aliquet. Nulla vel dapibus urna. Nunc efficitur erat ac nisi auctor sodales.

Appendix 1: Some extra stuff

Add appendix 1 here. Vivamus hendrerit rhoncus interdum. Sed ullamcorper et augue at porta. Suspendisse facilisis imperdiet urna, eu pellentesque purus suscipit in. Integer dignissim mattis ex aliquam blandit. Curabitur lobortis quam varius turpis ultrices egestas.

Appendix 2: Some more extra stuff

Add appendix 2 here. Aliquam rhoncus mauris ac neque imperdiet, in mattis eros aliquam. Etiam sed massa et risus posuere rutrum vel et mauris. Integer id mauris sed arcu venenatis finibus. Etiam nec hendrerit purus, sed cursus nunc. Pellentesque ac luctus magna. Aenean non posuere enim, nec hendrerit lacus. Etiam lacinia facilisis tempor. Aenean dictum nunc id felis rhoncus aliquam.

(Rosen & Brooker 2007c) (Rosen et al. 2011a) (Schilling et al. 1997a) (Mudanyali et al. 2010a) (Rosen & Brooker 2007a) (Rosen & Brooker 2007d) (Rosen & Brooker 2008a) (Rosen et al. 2011b) (Schilling et al. 1997b) (Mudanyali et al. 2010b) (Rosen & Brooker 2007b) (Rosen & Brooker 2007e) (Rosen & Brooker 2008b) (Anon 2018c) (Anon 2018d) (Anon 2018b) (Anon 2018a)

References

- Anon, 2018a. DeepLoco: Dynamic Locomotion Skills Using Hierarchical Reinforcement Learning. Available at: <http://www.cs.ubc.ca/~van/papers/2017-TOG-deepLoco/index.html> [Accessed May 31, 2018].
- Anon, 2018b. Visual Computing @ IST Austria. Available at: <http://visualcomputing.ist.ac.at/publications/2018/WSW/> [Accessed May 31, 2018].
- Anon, 2018c. WarpDriver: Context-Aware Probabilistic Motion Prediction for... Available at: https://www.researchgate.net/publication/309955258_WarpDriver_Context-Aware_Probabilistic_Motion_Prediction_for_Crowd_Simulation [Accessed May 31, 2018].
- Anon, 2018d. Xbpeng/DeepLoco. Available at: <https://github.com/xbpeng/DeepLoco> [Accessed May 31, 2018].
- Mudanyali, O. et al., 2010a. Compact, light-weight and cost-effective microscope based on lensless incoherent holography for telemedicine applications. *Lab on a Chip*, 10(11), p.1417. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c000453g> [Accessed May 28, 2018].
- Mudanyali, O. et al., 2010b. Compact, light-weight and cost-effective microscope based on lensless incoherent holography for telemedicine applications. *Lab on a Chip*, 10(11), p.1417. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c000453g> [Accessed May 28, 2018].
- Rosen, J. & Brooker, G., 2007a. Digital spatially incoherent Fresnel holography. *Optics Letters*, 32(8), p.912. Available at: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=ol-32-8-912> [Accessed May 28, 2018].
- Rosen, J. & Brooker, G., 2007b. Digital spatially incoherent Fresnel holography. *Optics Letters*, 32(8), p.912. Available at: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=ol-32-8-912> [Accessed May 28, 2018].
- Rosen, J. & Brooker, G., 2007c. Fluorescence incoherent color holography. *Optics Express*, 15(5), p.2244. Available at: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-15-5-2244> [Accessed May 28, 2018].

Rosen, J. & Brooker, G., 2007d. Fluorescence incoherent color holography. *Optics Express*, 15(5), p.2244. Available at: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-15-5-2244> [Accessed May 28, 2018].

Rosen, J. & Brooker, G., 2007e. Fluorescence incoherent color holography. *Optics Express*, 15(5), p.2244. Available at: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-15-5-2244> [Accessed May 28, 2018].

Rosen, J. & Brooker, G., 2008a. Non-scanning motionless fluorescence three-dimensional holographic microscopy. *Nature Photonics*, 2(3), pp.190–195. Available at: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nphoton.2007.300> [Accessed May 28, 2018].

Rosen, J. & Brooker, G., 2008b. Non-scanning motionless fluorescence three-dimensional holographic microscopy. *Nature Photonics*, 2(3), pp.190–195. Available at: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nphoton.2007.300> [Accessed May 28, 2018].

Rosen, J., Katz, B. & Brooker, G., 2011a. FINCH: Fresnel Incoherent Correlation Hologram. In J. Rosen, ed. *Holography, Research and Technologies*. InTech. Available at: <http://www.intechopen.com/books/holography-research-and-technologies/finch-fresnel-incoherent-correlation-hologram> [Accessed May 28, 2018].

Rosen, J., Katz, B. & Brooker, G., 2011b. FINCH: Fresnel Incoherent Correlation Hologram. In J. Rosen, ed. *Holography, Research and Technologies*. InTech. Available at: <http://www.intechopen.com/books/holography-research-and-technologies/finch-fresnel-incoherent-correlation-hologram> [Accessed May 28, 2018].

Schilling, B.W. et al., 1997a. Three-dimensional holographic fluorescence microscopy. *Optics Letters*, 22(19), p.1506. Available at: <https://www.osapublishing.org/ol/abstract.cfm?uri=ol-22-19-1506> [Accessed May 28, 2018].

Schilling, B.W. et al., 1997b. Three-dimensional holographic fluorescence microscopy. *Optics Letters*, 22(19), p.1506. Available at: <https://www.osapublishing.org/ol/abstract.cfm?uri=ol-22-19-1506> [Accessed May 28, 2018].