

## Trabajo de fin de Grado en Física

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

Alumno:

Manuel Genovés Monzó

Tutelada por:

Javier García Montreal

Vicente Micó

Universitat de València, València

Febrero 2019

# Abstract

FINCH (“Fresnel INcoherent Correlation Holography”) is a technique to produce holograms from incoherent light sources. This work reviews it and replicates with computer simulations both the process of producing the hologram and the reconstruction of it.

FINCH (“Fresnel INcoherent Correlation Holography”) es una técnica para producir hologramas a partir de fuentes de luz incoherentes. El presente trabajo es una revisión de dicha técnica, replicando mediante simulaciones por ordenador tanto la producción de hologramas como su posterior reconstrucción.

# Índice general

<b>Abstract</b>	<b>1</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Sobre la holografía, ventajas e inconvenientes . . . . .	1
1.2. FINCH como alternativa a la holografía clásica . . . . .	2
<b>2. Desarrollo teórico</b>	<b>3</b>
2.1. Sistemas formadores de imágenes . . . . .	3
Sistemas fotográficos convencionales . . . . .	3
Holografía convencional . . . . .	4
Sistema FINCH . . . . .	5
2.2. Esquema experimental . . . . .	7
Convolución con la FZP . . . . .	7
Propagación de la FZP al CCD . . . . .	8
Reconstrucción . . . . .	9
2.3. Aliasing . . . . .	9
2.3.1. Prevención . . . . .	10
2.3.2. Detección . . . . .	10
2.3.2.1. Matrices de convolución para detección de aliasing en una imagen . . . . .	10
<b>3. Simulaciones y resultados</b>	<b>12</b>
3.1. Holograma y reconstrucción de un punto . . . . .	12
3.2. Pruebas de resolución . . . . .	12
3.3. Pruebas de profundidad . . . . .	14
3.4. Reconstrucción de una figura 3D . . . . .	14
<b>4. Conclusions</b>	<b>16</b>

4.1. Summary . . . . .	16
4.2. Limitations . . . . .	16
4.3. Future work . . . . .	17
4.4. Conclusiones . . . . .	17
4.5. Limitaciones . . . . .	17
4.6. Posibles líneas de investigación . . . . .	17
<b>References</b>	<b>19</b>

# Capítulo 1

## Introducción

### 1.1. Sobre la holografía, ventajas e inconvenientes

La holografía es una técnica de registro que permite codificar de forma fidedigna una escena 3D en un medio 2D (ya sea este físico o digital), conservando y permitiendo reconstruir el frente de onda original al completo, siendo observable desde cualquier perspectiva.

La holografía requiere utilizar una fuente de luz altamente coherente, lo que introduce una serie de inconvenientes frente a la fotografía convencional:

- la necesidad de utilizar un láser suele implicar que el proceso sea 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 (Rosen & Brooker 2007c) 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 todo el frente de onda original, sí permite codificar la profundidad de la imagen 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.

# Capítulo 2

## Desarrollo teórico

### 2.1. Sistemas formadores de imágenes

#### 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. Esto implica que a un punto que esté fuera del plano objeto le corresponden múltiples puntos en el plano imagen: se registra desenfocado.

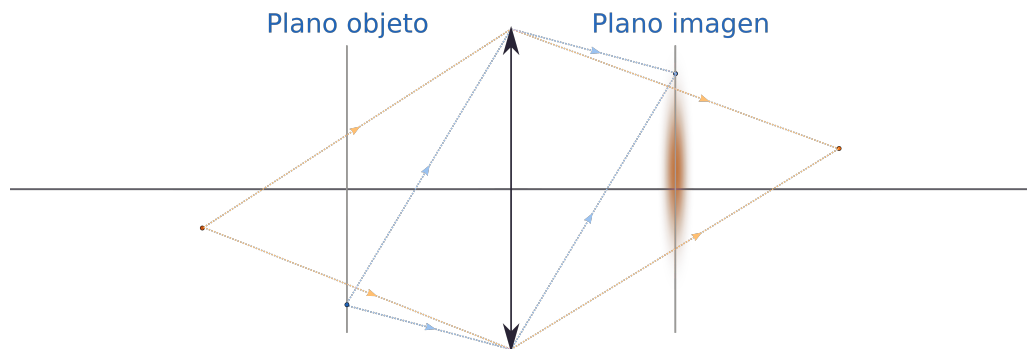


Figura 2.1: El punto azul (en el plano objeto) queda focalizado en el plano imagen, el punto naranja, fuera del plano objeto queda focalizado detrás del plano imagen, y desenfocado en éste

Un sistema fotográfico es un sistema óptico en el que se sitúa un medio fotosensible (sales de plata para fotografía analógica, un CCD o CMOS para fotografía digital) en un plano imagen, registrando la intensidad que llega de 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.<sup>1</sup>

## 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 láser- que es dividida en dos mediante un beam splitter (figura 2.2)

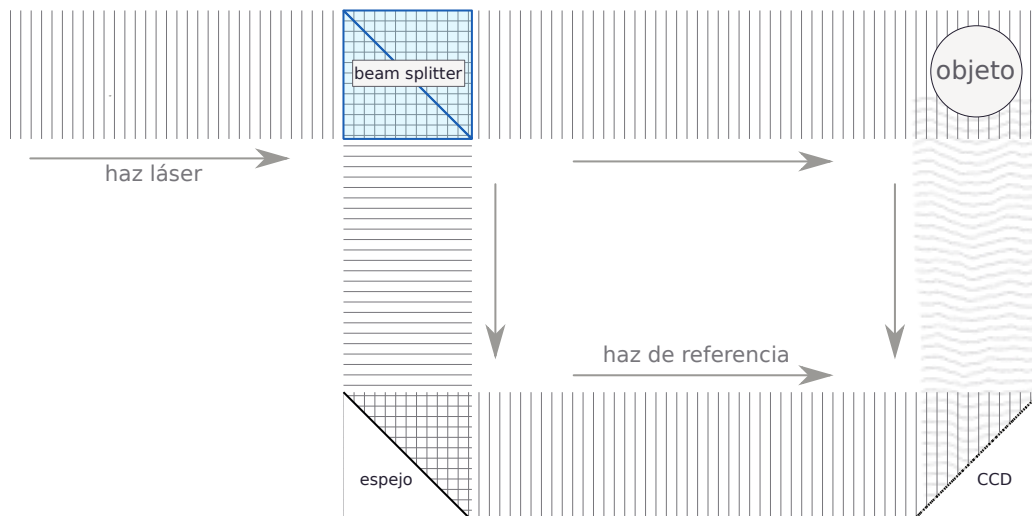


Figura 2.2: Creación de un holograma: el CCD registra las diferencias de camino óptico entre la luz que viene del objeto y un haz de referencia, idéntico al usado para iluminar el objeto a registrar

<sup>1</sup>Si se introducen otros elementos, como diafragmas, esto deja de ser del todo cierto y se hace necesario de hablar de conceptos como la profundidad de campo (de tener un único plano que queda focalizado pasamos a tener un rango de planos). En todo caso se pierde la información 3D de la imagen, y una vez tomada la fotografía es imposible cambiar la distancia focal.



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 usado para producir el holograma. Si la luz usada para reconstruir el holograma no es idéntica a dicho haz de referencia la reconstrucción se ve alterada.

## Sistema FINCH

El sistema FINCH busca generar un patrón holográfico como el anterior pero sin el uso de láseres en el proceso. Para ello se usan proyecciones de placas zonales de Fresnel (FZP o placas zonales en adelante), 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. Tienen la propiedad de focalizar la luz como si de un lente se tratase, pero en vez de por medio de refracción, lo hacen mediante difracción; en el punto focal<sup>2</sup> las interferencias son constructivas y en el resto del espacio, destructivas, como se puede apreciar en la figura 2.3

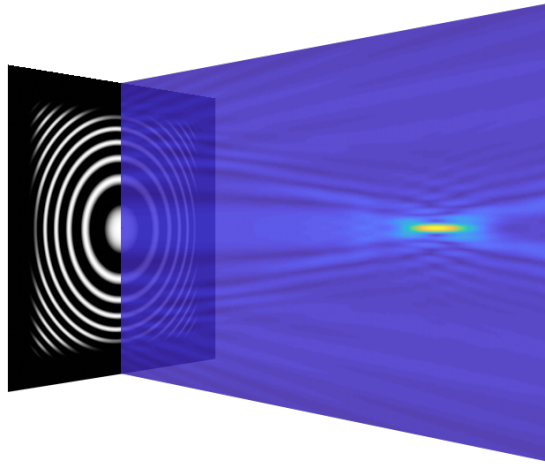


Figura 2.3: FZP y corte transversal de la propagación del frente de ondas. La luz converge por medio de difracción en un punto

<sup>2</sup>Según la construcción de la FZP puede tener un foco o infinitos, separados periódicamente en el eje perpendicular a la placa zonal.

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 (figura 2.4):

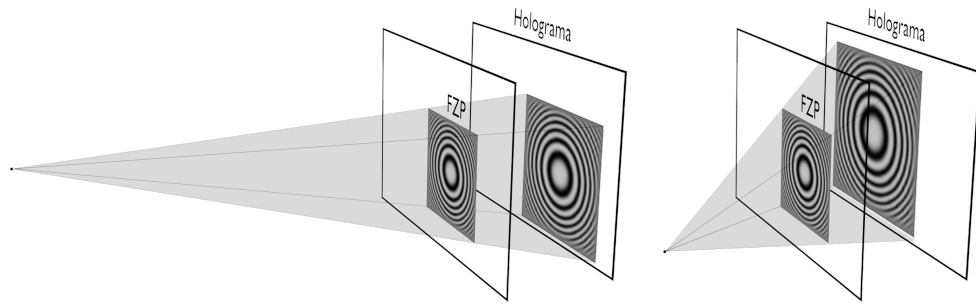


Figura 2.4: La posición de la fuente objeto queda codificada en la posición y tamaño de la FZP en el holograma FINCH

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:

## 2.2. Esquema experimental

Se han generado y reconstruido hologramas FINCH mediante simulaciones numéricas por ordenador. Hemos considerado el sistema descrito en la figura 2.5:

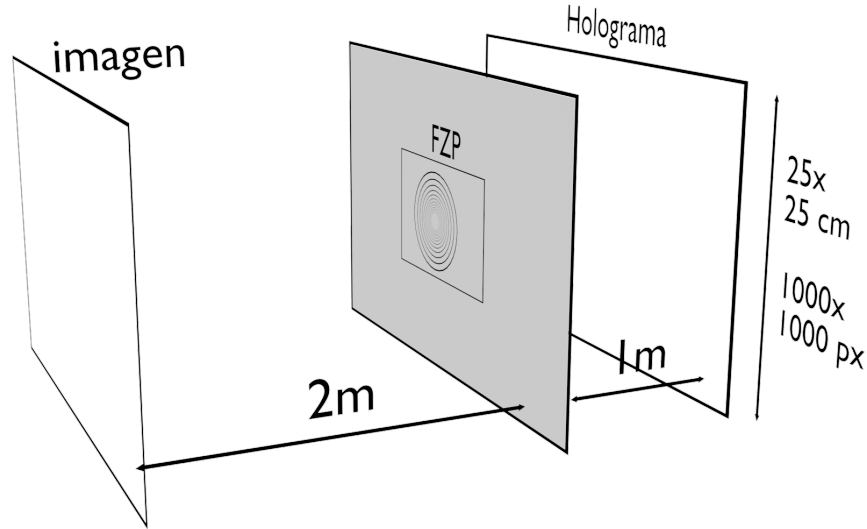


Figura 2.5

Detallamos a continuación ##### Propagación de la fuente a la FZP{.unnumbered}

Partimos de 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.

### Convolución con la FZP

La FZP utilizada fue definida como

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

Para evitar problemas de frontera se convoluciona con una ventana cuadrada a la que se ha aplicado desenfoque gaussiano (figura 2.6):

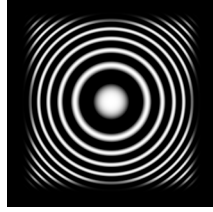


Figura 2.6: Fresnel Zone Plate

### 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:

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

Utilizamos el método numérico desarrollado por Sheng-Wangx; “Angular Spectrum propagation”, que permite calcular mediante transformadas rápidas de Fourier la propagación a una distancia  $z$ :

$$\begin{aligned} X &= DFT_{shift}(DFT_2(DFT(x))) \\ G &= \exp(iZ \sqrt{\left(\frac{2\pi}{\lambda}\right)^2 - x^2 - y^2}) \\ U &= DFT_{shift}(DFT_2^{-1}(DFT(XG))) \end{aligned}$$

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

## Reconstrucción

Usamos de nuevo el método de propagación por espectro angular para reconstruir el holograma en el plano deseado.

### 2.3. 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* (figura 2.7) y una vez producido no se puede corregir.

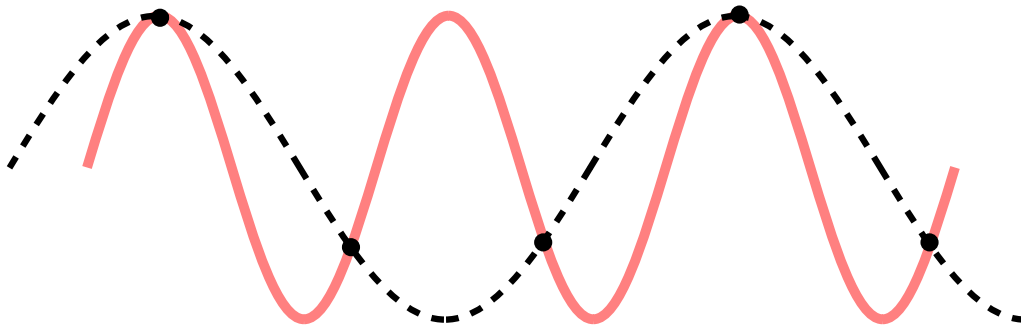


Figura 2.7: Si la señal original (roja) no se muestrea correctamente, la reconstrucción es incorrecta (línea de puntos)

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.

### 2.3.1. Prevención

Puesto que FINCH está orientado a ser aplicado en sistemas reales conviene introducir las mismas restricciones 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

El hecho de estar haciendo simulaciones por ordenador también introduce sus propias limitaciones en este aspecto, principalmente debido a los límites de precisión que tiene una variable en coma flotante.

### 2.3.2. 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.

#### 2.3.2.1. 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  $\sim 0$  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.

# Capítulo 3

## Simulaciones y resultados

### 3.1. Holograma y reconstrucción de un punto

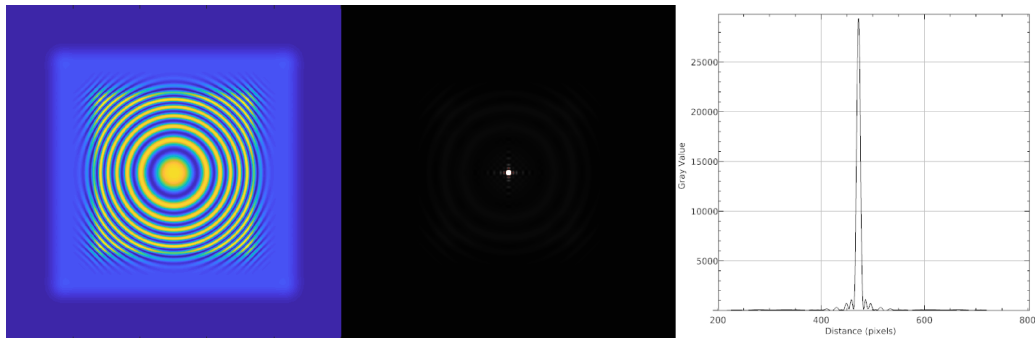


Figura 3.1: Holograma, reconstrucción, y su perfil

### 3.2. Pruebas de resolución

Logramos resolver hasta un máximo de 0.6 mm a una distancia de 3 m en las condiciones experimentales descritas.



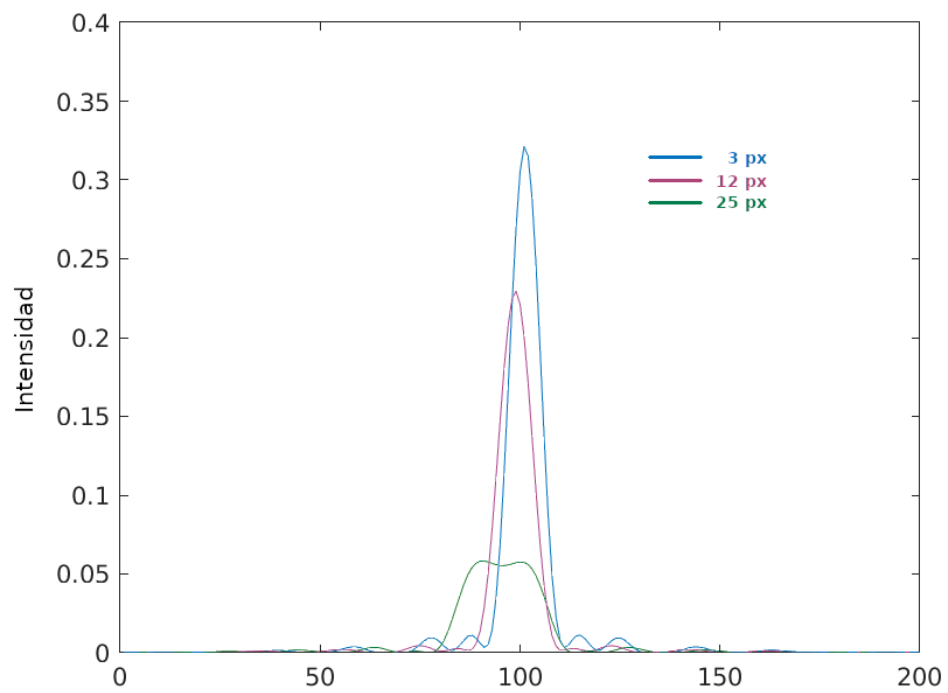


Figura 3.2: Diferentes perfiles de la reconstrucción para diferentes separaciones iniciales entre los dos puntos

### 3.3. Pruebas de profundidad

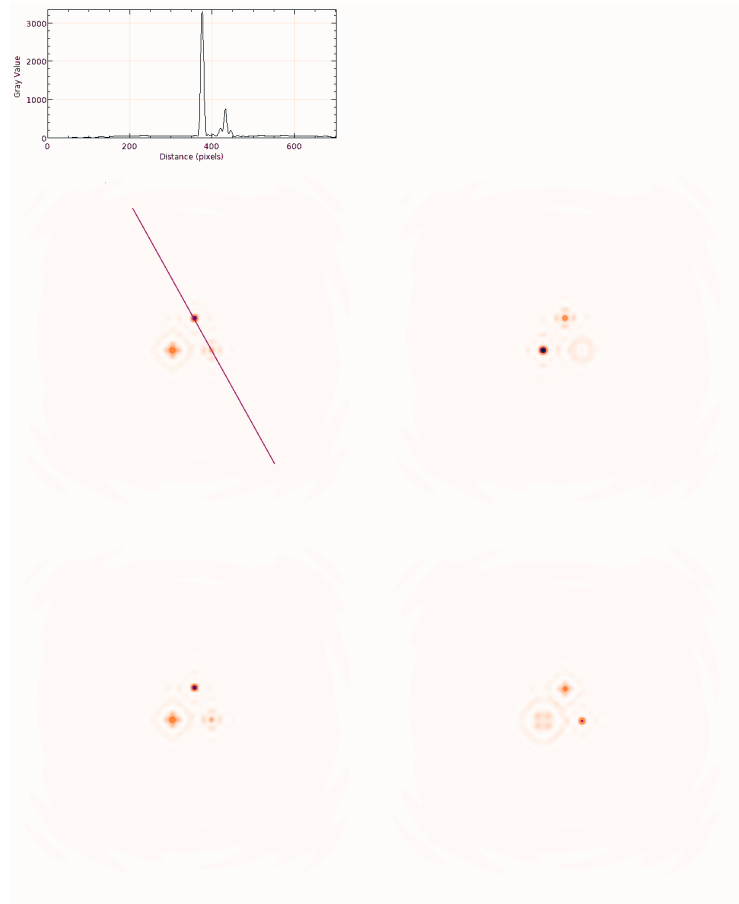


Figura 3.3: Reconstrucción en tres planos diferentes y sección de uno de ellos

### 3.4. 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.

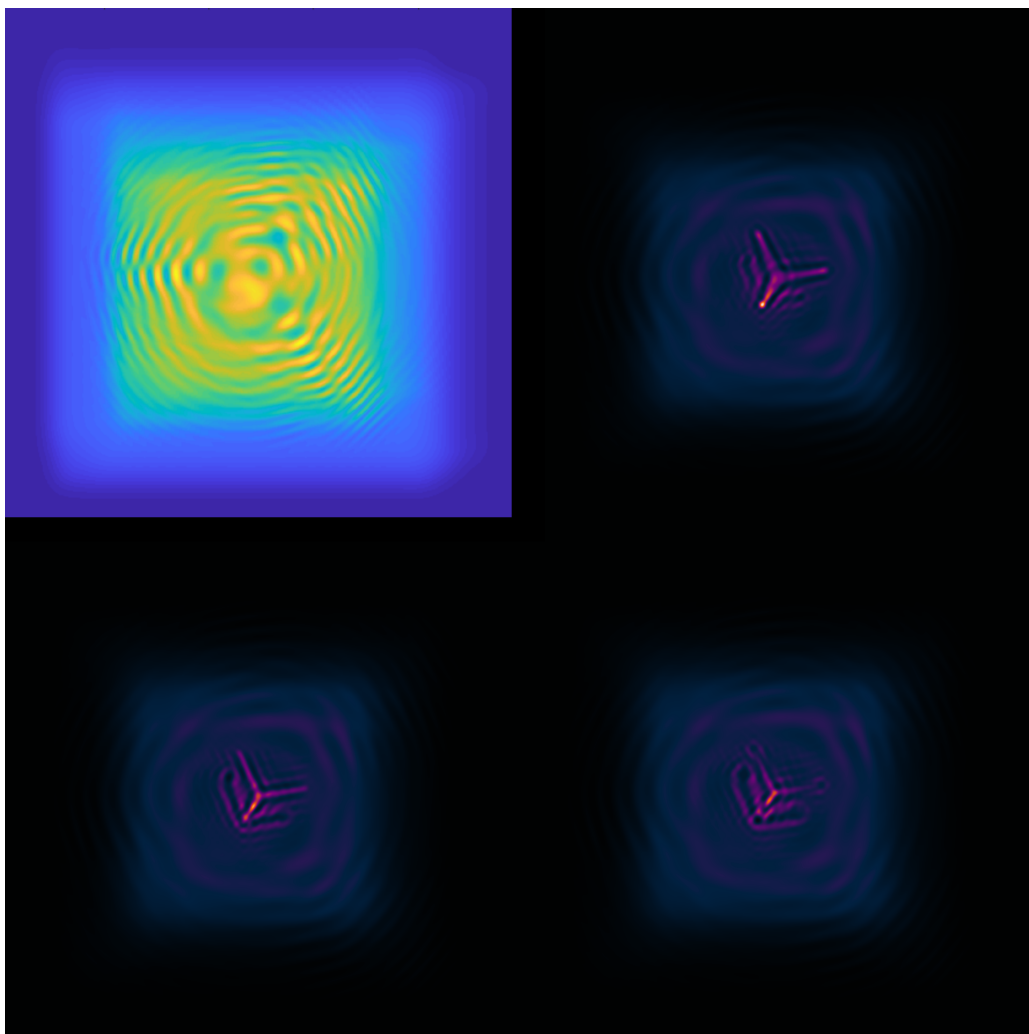


Figura 3.4: Holograma y tres reconstrucciones de medio cubo

# Capítulo 4

## Conclusions

### 4.1. Summary

We could replicate successfully the FINCH principles in computer simulations. It proves itself as an interesting alternative to coherent holography, but with some drawbacks that have to be taken into account:

### 4.2. Limitations

Currently one of the main limitations of FINCH is the resolution, and while one of the objectives of this work was to study possible applications of super-resolution techniques to it, it was not possible and felt out of scope. Another issue we faced was the big depth of field. While usually it's desirable to have a big one to not lose information from out of focus planes, here we can arbitrarily choose what the “in focus” plane is *after* recording the hologram, so having a smaller depth of field carries some advantages, being having an effective z-resolution the main one.

### 4.3. Future work

Hence, further development of this work could go on the lines of:

- Improving the z-resolution via optical systems (lenses, etc)
- Studying how superresolution could be applied to this system
- Considering different Fresnel Zone Plates (circular masks, FZP with broken axial symmetry)

### 4.4. Conclusiones

Hemos podido reproducir con éxito los fundamentos de la técnica FINCH en simulaciones por ordenador. Es una alternativa interesante a la holografía coherente convencional, con claras ventajas pero también con desventajas significativas:

### 4.5. Limitaciones

Actualmente, una de las principales limitaciones de FINCH es la resolución, y si bien uno de los objetivos del presente trabajo era estudiar posibles aplicaciones de técnicas de superresolución, no ha sido posible y finalmente no se ha realizado. Otro problema que hemos encontrado es una gran profundidad de campo. Si bien se suele considerar una ventaja, ya que hay menos información que se pierde por caer “fuera de plano”, siendo éste un sistema en el que puedes reconstruir un plano arbitrario, tener una menor profundidad de campo se traduce en una mayor resolución en profundidad.

### 4.6. Posibles líneas de investigación

Futuras líneas de investigación podrían versar sobre:

- Mejorar la resolución en profundidad mediante sistemas ópticos (lentes y similares)
- Estudiar cómo se puede aplicar superresolución a esta técnica
- Considerar el uso de Fresnel Zone Plates diferentes (máscaras circulares, FZPs sin simetría axial...)

(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](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].