



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla



Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Extensión de la profundidad de campo en microscopía holográfica digital usando un filtro de fase cúbica.

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

LICENCIADO EN FÍSICA

por

María Guadalupe López Salomón

Asesorada por

Dra. Rosalinda Ortiz Sosa
Dr. Eduardo Moreno Barbosa

Puebla Pue.
Noviembre de 2023



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Extensión de la profundidad de campo en microscopía holográfica digital usando un filtro de fase cúbica.

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

LICENCIADO EN FÍSICA

por

María Guadalupe López Salomón

Asesorada por

Dra. Rosalinda Ortiz Sosa
Dr. Eduardo Moreno Barbosa

Puebla Pue.
Noviembre de 2023

Título: Extensión de la profundidad de campo en microscopía holográfica digital usando un filtro de fase cúbica.

Estudiante: MARÍA GUADALUPE LÓPEZ SALOMÓN

COMITÉ

Dr. Ricardo Agustín Serrano
Presidente

Dr. José Jacobo Oliveros Oliveros
Secretario

Dr. Heber Zepeda Fernández
Vocal

Vocal

Dra. Rosalinda Ortiz Sosa
Dr. Eduardo Moreno Barbosa
Asesor

Agradecimientos

La culminación de esta etapa, que en momentos parecía interminable en mi camino académico, no hubiera sido posible sin la contribución, el apoyo y la guía de numerosas personas a quienes agradezco profundamente.

En primer lugar, a mis padres, mi fuente de inspiración y fortaleza. Su amor incondicional, esfuerzo incansable y ejemplar dedicación han sido el faro que ha guiado mi travesía. Su confianza en mis capacidades me ha impulsado a perseguir mis sueños.

A mi hermana Isabel, mi compañera de vida y mejor amiga, a quien dedico este trabajo. Su presencia y apoyo han sido esenciales en cada paso que he dado. Sin su sabiduría y aliento constante, no estaría donde me encuentro hoy.

Mi sincero agradecimiento a mi asesora, Dra. Rosalinda, cuya paciencia parece no tener límites, y cuyo apoyo constante ha sido un pilar muy valioso en este proyecto. Su dedicación, amabilidad y el tiempo invertido han sido cruciales en cada etapa de esta investigación.

Al Dr. Eduardo Barbosa, quien ha creído en mí desde mis inicios en la Licenciatura y me ha brindado la oportunidad de tenerlo como asesor en este proyecto. Su confianza y guía han sido fundamentales en mi desarrollo académico.

Agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, que me ha acogido en sus aulas y ha sido esencial en la consolidación de mi educación.

Mis gracias también a la Universidad Nacional Autónoma de México y al Dr. Crescencio García Segundo, cuya influencia ha sido un factor determinante en la culminación exitosa de esta investigación.

A mi nueva familia en Monterrey -Alondra, Nicole, Alejandra, Sebastián, David, Sacbé, Luis David- y a todos los profesores y amigos que me han acompañado en este viaje: su apoyo ha sido indispensable. Cada uno de ustedes ha jugado un papel crucial en el cierre de este capítulo de mi vida y el comienzo de uno nuevo.

No existen palabras para expresar mi gratitud a todos ustedes. Su apoyo y afecto son tesoros invaluables que siempre llevaré conmigo.

Índice general

Resumen	XI
Objetivos	XIII
0.1. Objetivo general	XIII
0.1.1. Objetivos específicos y metas	XIII
Introducción	XV
1. Antecedentes	1
2. Formación de Imágenes	5
2.1. Frente de onda	5
2.2. Propagación de campos	7
2.3. Efectos de la difracción en la imagen	9
2.4. Sistema formador de imágenes como sistema lineal	11
2.5. Función de Transferencia en amplitud (ATF)	12
2.6. Aberraciones del frente de onda: desenfoque y su efecto en la respuesta de la frecuencia.	13
2.7. La función de pupila generalizada y la función de aberración.	13
2.8. Defoco o desenfoque de una imagen	15
2.9. Influencia del desenfoque en la ATF.	16
3. Extensión de la profundidad de campo	19
3.1. Codificación del frente de onda usando filtros de fase.	21
3.2. Placa de fase cúbica	22
3.3. Placa de fase cúbica modificada	23
3.4. Un proceso de restauración: Filtro de Wiener	24
4. Holografía	27
4.1. Interferencia entre la onda objeto y la onda de referencia	29
4.2. Coherencia	30
4.2.1. Coherencia Temporal	31
4.2.2. Coherencia Espacial	31
4.3. Grabado del holograma	32
4.3.1. Tipos de hologramas	32
4.3.2. Importancia del sensor de imagen y procesamiento de imágenes digitales	36
4.3.3. Demodulación de hologramas digitales	37
4.4. Modelos matemáticos	39
4.4.1. Ecuación de propagación de la luz	39
4.4.2. Función de transferencia de espectro angular	40
4.5. Reconstrucción numérica de hologramas digitales	42
4.5.1. Reconstrucción a través de la Aproximación de Fresnel	43
4.5.2. Reconstrucción por Convolución	47
4.5.3. Retropropagación al plano objeto con espectro angular	48

4.6. Microscopía Holográfica Digital (MHD): una aplicación	51
5. Metodología	53
5.1. Diseño del microscopio y objeto sintético	53
5.2. Pupilas generalizadas con desenfoque	54
5.3. Implementación del filtro de fase cúbica modificada	56
5.4. Convolución de pupila e imagen	57
5.5. Onda de referencia y campo propagado	59
5.6. Grabado del Holograma	59
5.7. Holograma modificado	59
5.8. Filtro de Butterworth	60
5.9. Retropropagación al plano objeto	62
5.10. Recuperación de amplitud y fase del objeto	62
6. Resultados	65
6.1. Criterio de máxima entropía	75
Conclusión	78
6.2. Trabajo a futuro...	80
Bibliografía	81

Índice de figuras

2.1. Frente de onda como una superficie en coordenadas cartesianas.	6
2.2. Rayos y frente de onda asociados a luz emitida por una fuente luminosa puntual en un medio homogéneo.	7
2.3. Difracción para un sistema en coordenadas rectangulares	8
2.4. Sistema formador de imágenes	10
2.5. Geometría que define a la función de aberración W	14
2.6. Frente de onda esférico desenfocado de radio R' y frente de onda de referencia R	15
3.1. Representación de la profundidad de campo δz_0 y profundidad de foco δz_i para una lente delgada.	20
3.2. Representación de la colocación de un filtro de fase que modifica a la función pupila.	22
3.3. Filtro de fase cúbica modificada para una pupila con abertura circular.	23
4.1. Geometría básica del grabado de un holograma digital	29
4.2. Geometría del registro de un holograma en línea	33
4.3. Reconstrucción de un holograma en línea	34
4.4. Geometría del registro de un holograma fuera de eje	35
4.5. Reconstrucción de un holograma fuera de eje	35
4.6. Distribución espectral de los tres órdenes y filtrado espectral	38
4.7. Sistema coordinado para la reconstrucción numérica del holograma.	44
4.8. Diagrama de la reconstrucción con la transformada discreta de Fresnel usando demodulación.	46
4.9. Diagrama de la reconstrucción del frente de onda del objeto retropropagando el holograma modificado al plano objeto.	51
5.1. Objetos diseñados computacionalmente	53
5.2. Diagrama de un sistema óptico formador de imágenes, cuando los objetos se encuentran a diferentes distancias del plano objeto. Como resultado de esta configuración, en el plano imagen obtenemos a la imagen con diferentes cantidades de desenfoque.	55
5.3. Arreglo óptico con el filtro de fase cúbica implementado en la pupila generalizada del microscopio óptico.	56
5.4. Arreglo óptico correspondiente al registro del holograma	60
5.5. Representación de un filtro ideal pasabajas y la sección transversal radial del filtro	61
5.6. Representación en imagen de un filtro Butterworth	61
6.1. Proceso computacional implementado para extender la profundidad de campo en microscopía holográfica digital usando un filtro de fase cúbica	66
6.2. Imágenes del objeto con la implementación del filtro de fase y sin filtro de fase	67
6.3. Amplitudes asociadas al objeto obtenidas con la implementación del filtro de fase cúbica y sin el filtro de fase cúbica	68
6.4. Fase del objeto enfocado	68
6.5. Propagación de las imágenes obtenidas con la implementación del filtro de fase cúbica y sin el filtro de fase cúbica	69
6.6. Proceso del registro del interferograma	69

6.7. Interferogramas registrados	70
6.8. Interferogramas modificados	70
6.9. Espectros de los hologramas modificados	71
6.10. Espectros filtrados de los hologramas modificados mediante el filtro de Butterworth	72
6.11. Retropropagación al plano objeto	72
6.12. Reconstrucción del objeto desenfocado	73
6.13. Reconstrucción del objeto enfocado	74
6.14. Objeto enfocado e histograma para la imagen binaria del objeto enfocado con entropía $S(r_k) = 5,52$	76
6.15. Objeto desenfocado e histograma para la imagen binaria del objeto desenfocado con entropía $S(r_k) = 6,14$	76

Resumen

El presente trabajo tiene el objetivo de extender la profundidad de campo de un sistema óptico utilizando un filtro de fase en un sistema holográfico. La motivación para llevarlo a cabo, es la necesidad creciente de técnicas que permitan recuperar la mayor cantidad de información tanto de amplitud como de fase de objetos cuya caracterización es complicada debido al tamaño microscópico que pueden presentar. La iniciativa surgió respondiendo a la necesidad de tener un sistema de microscopía holográfica, en donde se pueda tener mayor amplificación sin sacrificar la profundidad de campo, por lo que la propuesta de este trabajo, es utilizar una placa de fase para extender la profundidad de campo en un sistema microscópico holográfico sintético y de esa forma lograr una reconstrucción efectiva que proporcione imágenes del objeto enfocadas y de buena calidad.

En este proyecto, se busca explotar la capacidad de la holografía como técnica de imagen no invasiva y además, mejorar el rendimiento de su implementación. Al incluir la adición de un filtro de fase cúbica en la pupila del arreglo óptico, las imágenes que se analicen, serán invariantes ante el desenfoque. Incrementando así, la calidad de las imágenes reconstruidas. Este enfoque permite mejorar el tiempo de reconstrucción, aumentar la resolución de los objetos analizados y ahorrar recursos computacionales en la etapa de reconstrucción del holograma.

Palabras clave: *holografía, holografía digital, microscopio holográfico, profundidad de campo, profundidad de foco, filtro de fase cúbica, reconstrucción del holograma.*

Objetivos

0.1. Objetivo general

Extender la profundidad de campo a través del uso de un filtro de fase cúbica con la finalidad de inhibir el desenfoque de un conjunto de imágenes que se encuentran en diferentes planos con respecto al plano objeto. Del interferograma formado para estas imágenes, posteriormente se recupera la información de amplitud y fase de las imágenes iniciales, mejorando su calidad y nitidez con respecto a un sistema holográfico sin filtro de fase.

0.1.1. Objetivos específicos y metas

Este trabajo pretende alcanzar cinco objetivos importantes:

1. Simular un microscopio holográfico digital considerando tres objetos posicionados en diferentes planos con respecto al plano imagen.
2. Recuperar la información de fase y de amplitud de los objetos estudiados.
3. Implementar un filtro de fase cúbica para inhibir el desenfoque y extender la profundidad de campo del objeto que se analice.
4. Introducir el filtro de fase en el sistema del microscopio holográfico digital considerando tres objetos posicionados en diferentes planos con respecto al plano imagen.
5. Recuperar la información de fase y amplitud de los objetos de los objetos estudiados, de acuerdo al nuevo sistema implementado.

Introducción

Dentro del ámbito de la óptica y la microscopía, la profundidad de campo es una característica crucial que determina la claridad con la que se pueden observar objetos en diferentes planos de enfoque. En el contexto actual, con la creciente demanda de técnicas avanzadas para caracterizar objetos de tamaño microscópico, la necesidad de sistemas ópticos con una mayor profundidad de campo se ha vuelto imperativa. Específicamente, en aplicaciones como la microscopía holográfica, donde se busca capturar la mayor cantidad de información tanto de amplitud como de fase sin alterar las características físicas ni químicas de la muestra bajo estudio, la limitación en la profundidad de campo impone restricciones significativas.

Los sistemas de microscopía convencionales se enfrentan con el desafío de amplificar imágenes sin sacrificar la profundidad de campo ni la apertura numérica. Esta limitación es particularmente problemática en la microscopía holográfica, donde el objetivo es reconstruir imágenes detalladas y de alta calidad de objetos microscópicos.

Ante este escenario, el presente trabajo se enfoca en extender la profundidad de campo de un sistema óptico asociado a un microscopio óptico. El enfoque propuesto se centra en la utilización de un filtro de fase cúbica en un sistema holográfico digital diseñado sintéticamente. Se pretende exhibir que mediante el uso del filtro de fase cúbica, se puede lograr una mayor profundidad de campo donde el objeto aparezca en foco, sin comprometer la amplificación ni la apertura numérica del microscopio, facilitando así una reconstrucción efectiva y de alta calidad de las imágenes del objeto.

Para alcanzar este objetivo, se emplea una metodología que incluye la simulación de un microscopio holográfico digital, la implementación de un filtro de fase cúbica, el análisis de su impacto en la extensión de la profundidad de campo, así como el grabado del patrón de interferencia obtenido y la respectiva reconstrucción de la información asociada al objeto. Este enfoque permite no solo inhibir el desenfoque presente en el objeto, sino también mejorar la resolución y calidad de las imágenes reconstruidas, optimizando a su vez recursos computacionales en la etapa de reconstrucción del holograma.

La contribución de este estudio reside en su potencial para constituir una alternativa práctica ante la forma en que se observan y analizan objetos microscópicos, especialmente en campos donde la precisión y la calidad de la imagen son de suma importancia.

Capítulo 1

Antecedentes

La holografía digital constituye una técnica de imagen no invasiva, que se distingue por su capacidad para generar imágenes de alta resolución. En otras palabras, puede capturar detalles minuciosos con precisión, sin perturbar ni modificar el objeto bajo análisis. Esta característica es fundamental en aplicaciones donde es esencial mantener la integridad de la muestra y, al mismo tiempo, obtener una representación tridimensional de la información derivada de ella. Dicha representación tridimensional, permite la observación, identificación y medición de objetos microscópicos, como organismos, especímenes o células biológicas [19].

La microscopía holográfica, se volvió una realidad después de los avances en la tecnología. Inicialmente concebida, como la idea de un "microscopio de reconstrucción de ondas" por Gabor en 1947, se convirtió en una técnica poderosa cuando el primer láser funcional fue demostrado por Maiman en 1960 y se incorporó a la holografía en 1963. La holografía se reconoció entonces, como una técnica capaz de capturar imágenes tridimensionales de alta resolución de organismos y partículas microscópicas. La ventaja principal era que los planos individuales de la imagen podían aislarse, lo que permitía un enfoque selectivo de la imagen reconstruida. Lo que permitió el análisis preciso del tamaño, la forma, la distribución, la concentración y otras características físicas de las partículas microscópicas bajo estudio [19].

A medida que avanzaba el siglo XX, el desarrollo de sensores de imágenes electrónicos y el procesamiento computacional mejorado llevaron al surgimiento de la grabación holográfica digital (DH, por sus siglas en inglés) con reconstrucción numérica a través de una computadora, reemplazando así, el proceso de grabado físico y químico por procesos electrónicos y la reconstrucción óptica del holograma por reconstrucción numérica mediante una computadora. Posteriormente, se descubrió que el uso de haces de referencia no planos podría llevar a diversas manipulaciones de la salida holográfica, desde la magnificación de la imagen hasta el procesamiento de imágenes más complejas, como el cifrado, el reconocimiento de patrones, la memoria asociativa y las redes neuronales [28].

La grabación electrónica de la interferencia holográfica con el espaciado de píxeles del sensor electrónico y la creciente velocidad del cálculo holográfico hicieron posible la obtención de imágenes holográficas en tiempo real, proceso que resultaba sumamente complicado en la holografía clásica. Además, la representación completa y precisa del campo óptico como un arreglo de números complejos permitió muchas capacidades de procesamiento de imágenes que eran difíciles o imposibles de lograr en la holografía clásica. La imagen holográfica se reconstruye, mediante una simulación numérica de la propagación del campo óptico a través del espacio, lo que permite recuperar tanto la fase del campo óptico como su intensidad. Esto se asemeja al reenfoque de la imagen en la microscopía convencional, lo que facilita la extracción del tamaño, la forma, la localización, la identificación y la distribución de las partículas [19].

La reconstrucción digital, no depende de una disposición óptica específica, lo que permite la inclusión de técnicas especializadas como la reconstrucción de fase, así como el procesamiento previo y posterior de las imágenes [28], [19].

En la actualidad, la holografía se está expandiendo hacia otras regiones del espectro electromagnético, como la holografía de rayos X, que promete resolución atómica, y la microholografía de organismos vivos. Se han desarrollado numerosas técnicas para mejorar y ampliar las aplicaciones de la holografía. En particular, dentro de la microscopía holográfica digital, un solo holograma es necesario para enfocar numéricamente la imagen holográfica a cualquier distancia, lo que proporciona una mejora en la resolución nanométrica de objetos de fase transparentes o reflectantes, así como la capacidad de manipular y corregir aberraciones [28].

Dentro de las tareas que aborda la microscopía holográfica digital se encuentra la caracterización de las dimensiones de partículas (particle sizing). Los objetos de interés pueden variar en tamaño, desde micrómetros hasta milímetros, y es importante poder distinguir si se encuentran en el “campo lejano” (holograma de Fraunhofer) o en el “campo cercano” (holograma de Fresnel) con respecto al plano del sensor. Por lo general, se asume que el punto de transición entre estos dos regímenes se determina mediante la condición de campo lejano de Fraunhofer [19].

Los patrones de difracción de Fresnel, se registran a diferentes distancias del sensor, pero el uso de algoritmos adecuados permite enfocar las partículas. En la holografía clásica, se emplean lentes para reducir las implicaciones espaciales y aumentar la magnificación de la imagen. Sin embargo, es posible recrear imágenes de cualquier plano en el volumen de grabación a distancias específicas del sensor y obtener mediciones de alta resolución [19].

Los hologramas digitales de distribuciones de partículas, pueden grabarse a través de un arreglo holográfico “en línea”. Para grabar agregados de partículas grandes, opacas o densas, se utiliza la configuración holográfica “fuera de eje”. En ésta configuración, la condición de campo lejano no suele satisfacerse, por lo que los hologramas obtenidos son hologramas de Fresnel. La geometría de esta configuración requiere de una iluminación frontal o lateral del objeto con un haz de referencia angular. Una de las ventajas clave de dicha configuración “fuera de eje”, es la separación angular de los haces de referencia y del objeto. A diferencia de la holografía clásica, donde el ángulo de la onda de referencia suele ser oblicuo a 60 grados, mientras que en la holografía digital, debido al tamaño reducido de los píxeles del sensor electrónico, el ángulo de la onda de referencia se limita a 10 grados o menos [19].

Dentro de la microscopía holográfica, existen dos conceptos que frecuentemente se malinterpretan pero son de suma relevancia: la *profundidad de campo* y la *profundidad de foco*. La *profundidad de campo*, se refiere al rango axial en el espacio del objeto en el cual una imagen proporciona una resolución aceptable en un plano de imagen específico. Por otro lado, la *profundidad de foco* se refiere al rango axial correspondiente en el espacio de la imagen donde se considera que la escena del objeto está enfocada adecuadamente [19]. En la microscopía convencional basada en lentes, la *profundidad de campo* está limitada por $\frac{\lambda}{NA^2}$, donde λ , es la longitud de onda y NA , corresponde a la apertura numérica del objetivo del microscopio, la cual mide la capacidad del objetivo del microscopio (OM) de captar luz y definir detalles finos en la imagen formada [19].

Esta restricción en la *profundidad de campo*, representa uno de los principales desafíos dentro de la microscopía, ya que limita la capacidad de observar objetos gruesos y semi-transparentes con todas sus características enfocadas al mismo tiempo. A lo largo de los años, se han desarrollado diversos algoritmos para fusionar imágenes tomadas en diferentes planos de enfoque, lo que permite obtener una imagen completamente enfocada. Sin embargo, en la microscopía convencional, únicamente se puede realizar un ajuste limitado en el sistema mecánico para cambiar el plano de enfoque. En contraste, la holografía digital microscópica, supera esta limitación al permitir la reconstrucción de la imagen en cualquier plano paralelo al holograma original. Además, proporciona acceso no solo a la intensidad de la imagen, sino también, a la información de fase, lo que resulta valioso para la observación de estructuras internas en objetos biológicos transparentes [30], por lo tanto, el plano de reconstrucción puede ajustarse de forma arbitraria. La mayoría de los algoritmos utilizados para ampliar la *profundidad de campo* en la microscopía convencional, buscan fusionar múltiples imágenes del mismo objeto, cada una enfocada parcialmente según la distancia del objeto interno. Dentro de estos métodos, se destacan el Método de Tenengrad, la Búsqueda de los Extremos de la Amplitud, el Uso de Píxeles Cercanos para Definir la Nitidez, la Reconstrucción de Imagen Focalizada mediante Combinación Lineal de Píxeles, Métodos de Wavelets y Métodos de Fresnelets [30].

Otra problemática que ocurre frecuentemente dentro de la microscopía holográfica, es la limitación de la *profundidad de foco*, que está relacionada con la apertura numérica (NA) del objetivo del microscopio. Cuando la apertura numérica es baja, la *profundidad de foco* suele ser limitada, lo que significa que solo una capa muy delgada de la muestra está enfocada correctamente, y otras capas pueden aparecer borrosas. La holografía digital microscópica, tiene la capacidad única de cambiar numéricamente el plano de enfoque de un solo holograma sin necesidad de mover la muestra. Además, permite medir el frente de onda complejo reflejado o transmitido a través del objeto [31].

La Microscopía Holográfica Digital (MHD), puede investigar objetos mucho más grandes que la *profundidad de campo* del objetivo del microscopio (OM). Sin embargo, las áreas que se encuentran fuera de la *profundidad de campo*, proporcionan amplitudes fuera de foco y borrosas. Un método que soluciona esta problemática, es decir, permite reconstruir la imagen con una *profundidad de foco* extendida, se presenta en [31], en el cuál la validación se realiza comparándolo con otras técnicas de microscopía y midiendo muestras específicas tanto en reflexión como en transmisión.

En este trabajo de tesis, se propone un método dentro del marco de investigación de la microscopía holográfica digital, el cual, constituye una metodología alternativa a los métodos existentes disponibles, mencionados previamente. Los objetivos principales planteados a través de este proyecto, son extender la *profundidad de campo* del sistema óptico considerado, dejándolo invariante ante el desenfoque. Así como, mejorar la resolución de la imagen del objeto reconstruido, obtenido mediante la recuperación de la información de amplitud y fase del holograma reconstruido.

El enfoque adoptado en este proyecto, considera una configuración “fuera de eje” para el registro del holograma digital. A través de una simulación numérica en *MATLAB*, se implementa un filtro de fase cúbica, localizado en la función pupila del sistema formador de imágenes. El propósito de este filtro, es inhibir el desenfoque presente en los objetos estudiados, lo que permite extender la *profundidad de campo* del sistema óptico. Ésta implementación, posibilita la recuperación de la información del objeto a partir de la reconstrucción del holograma digital, mejorando significativamente la calidad y nitidez de la imagen reconstruida.

Además de obtener imágenes con mayor resolución y nitidez, este método tiene la ventaja de ahorrar recursos computacionales, ya que no requiere la implementación de algoritmos de reconstrucción que corrigen aberraciones ópticas de las imágenes estudiadas, es decir, no requiere algoritmos más complejos que prolonguen el tiempo de procesamiento computacional.

Con el objetivo de explicar la teoría involucrada en todos los procesos y fenómenos físicos, que ocurren dentro de la metodología propuesta en este proyecto, en los capítulos subsecuentes, se describirán los conceptos relacionados con la Formación de Imágenes, el Proceso de Extensión de la Profundidad de Campo, algunos antecedentes de Holografía y de Holografía Digital, así como, algunos algoritmos importantes para el Proceso de Reconstrucción Digital, detallando finalmente, el método de Reconstrucción implementado.

Es esencial tener en cuenta los antecedentes mencionados, para resaltar la contribución y la innovación que aporta el método de corrección de desenfoque y mejora de la resolución propuesto en este proyecto, en comparación con las técnicas existentes, en los que la corrección de aberraciones y extensión de la profundidad de campo para obtener mejores imágenes involucra el uso de algoritmos computacionales más complejos, así como, otro tipo de arreglos interferométricos que toman en cuenta la distancia de grabado y la distancia de reconstrucción.

Capítulo 2

Formación de Imágenes

La formación de imágenes representa una técnica utilizada en diversas áreas de la ciencia y de la tecnología para capturar y representar información visual de objetos y fenómenos. Desde la medicina hasta la ingeniería, la formación de imágenes ha revolucionado la manera en que comprendemos el mundo que nos rodea.

Por otro lado, se ha encontrado que muchos de los fenómenos físicos comparten la propiedad básica de linealidad, es decir, su respuesta a diversos estímulos que ocurren de manera simultánea, es igual a la suma de las respuestas de cada estímulo producido de manera individual. Esta propiedad nos permite describir de manera práctica estos fenómenos y constituye la base de la teoría de sistemas lineales. La mayor ventaja que se alcanza con la linealidad, es la capacidad de expresar la respuesta de un fenómeno físico a un estímulo, en términos de las respuestas de ciertos estímulos elementales [1].

En este contexto, los sistemas lineales son de suma importancia pues son una herramienta fundamental para describir el proceso de formación de imágenes.

En este capítulo, se describe la teoría básica para modelar el proceso de formación de imágenes. Para efectos prácticos y por los objetivos del presente trabajo, nos enfocaremos únicamente en la descripción del proceso de formación de imágenes con iluminación coherente.

2.1. Frente de onda

En el proceso de formación de imágenes, el concepto de *frente de onda* desempeña un papel fundamental y puede definirse a partir de la óptica geométrica o a partir de la óptica física. En cualquier caso, el *frente de onda* es una superficie que se puede representar matemáticamente como una función, cuya forma explícita dependerá del sistema coordenado empleado para su representación [7].

En el caso representado a través de la óptica geométrica, el conjunto de puntos $(x_0, y_0, z_0)^1$ en \mathbb{R}^3 , tales que para cada x_0 y y_0 (en el plano xy), $z_0 = f(x_0, y_0)$ con $-\infty < x_0 < \infty$, $-\infty < y_0 < \infty$ y f es una función arbitraria, forma una superficie a la cual se le llamará *frente de onda* [10], como se observa en la figura (2.1).

Es importante destacar que el frente de onda puede definirse en otros sistemas de coordenadas, haciendo la transformación pertinente de las mismas. Por otra parte, de acuerdo a la óptica física, el *frente de onda* se define a través del principio de Fermat, el cual establece que la luz, al viajar de un punto a otro, sigue la ruta con la menor longitud de camino óptico [2], donde la longitud de camino óptico o distancia óptica (*OPL*, *optical path length* por sus siglas en inglés) se define como:

$$OPL = n \times d. \tag{2.1}$$

es decir, la longitud de camino óptico es el producto del índice de refracción del medio n , a través del cual los rayos de luz o trayectorias que sigue la luz de un punto a otro [7], se propagan multiplicado por la distancia física de la trayectoria óptica seguida por la luz, d . En particular, en un medio isotrópico y

¹No debe confundirse (x_0, y_0, z_0) con (x_o, y_o, z_o)

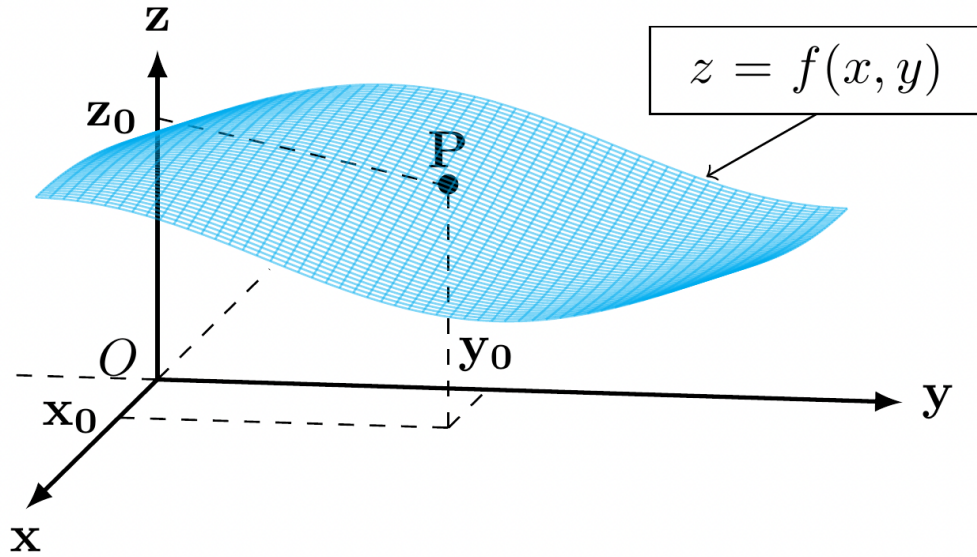


Figura 2.1: Frente de onda como una superficie en coordenadas cartesianas.

homogéneo el índice de refracción, n es constante y no depende de la dirección de la luz, además, la ruta que sigue la luz entre dos puntos será una línea recta. En contraste, en un medio isotrópico no-homogéneo el índice de refracción n varía de un punto a otro y la luz seguirá una trayectoria diferente a la línea recta, en general, será algún tipo de curva [7]. La forma de la trayectoria depende de la manera en cómo cambia el índice de refracción [2].

Supongamos que tenemos una fuente de luz puntual llamada S , en un medio uniforme con un índice de refracción n . Consideremos un rayo y seleccionemos un punto en ese rayo de manera que la distancia óptica entre S y ese punto sea nd . Ahora, teniendo en cuenta que la fuente emite infinitos rayos radiales en todas las direcciones, podemos encontrar un punto en cada rayo que también esté a una distancia d de S . De manera que podemos unir todos estos puntos para formar una superficie, que en este caso será una esfera, con todos los rayos siendo perpendiculares a ella como puede observarse en la figura (2.2).

Si ahora consideramos el caso en el que la fuente de luz se encuentra en un medio no uniforme, es decir, donde n no es constante, los rayos de luz emitidos por la fuente seguirán trayectorias curvas. Sin embargo, nuevamente podemos definir un frente de onda que está caracterizado por la distancia óptica nd . La diferencia en este caso, es que la superficie que conecta todos los puntos en los rayos que tienen la misma distancia óptica $nd = \text{constante}$ de S , no será una esfera, sino una superficie curva más compleja. Al igual que en el caso del medio uniforme, esta superficie será perpendicular a los rayos. Es importante destacar que, aunque todos los rayos desde S hasta el frente de onda tienen la misma distancia óptica, no necesariamente tienen la misma distancia física debido a la falta de uniformidad en el medio [7].

De manera que, tanto en el caso homogéneo como en el caso inhomogéneo y en cualquier instante, el *frente de onda* se define como la superficie que une todos los puntos de igual fase y que es ortogonal a los rayos de luz emitidos por una fuente luminosa S , cada uno de los cuales cumple que su intersección con dicha superficie (un punto) está separado de S a una distancia óptica constante, nd . Entonces, si el cambio en la distancia nd representa la propagación de la luz, podemos referirnos a la propagación de un frente de onda, la cual implica, en general, un cambio en la forma de la superficie [10] [7] [2].

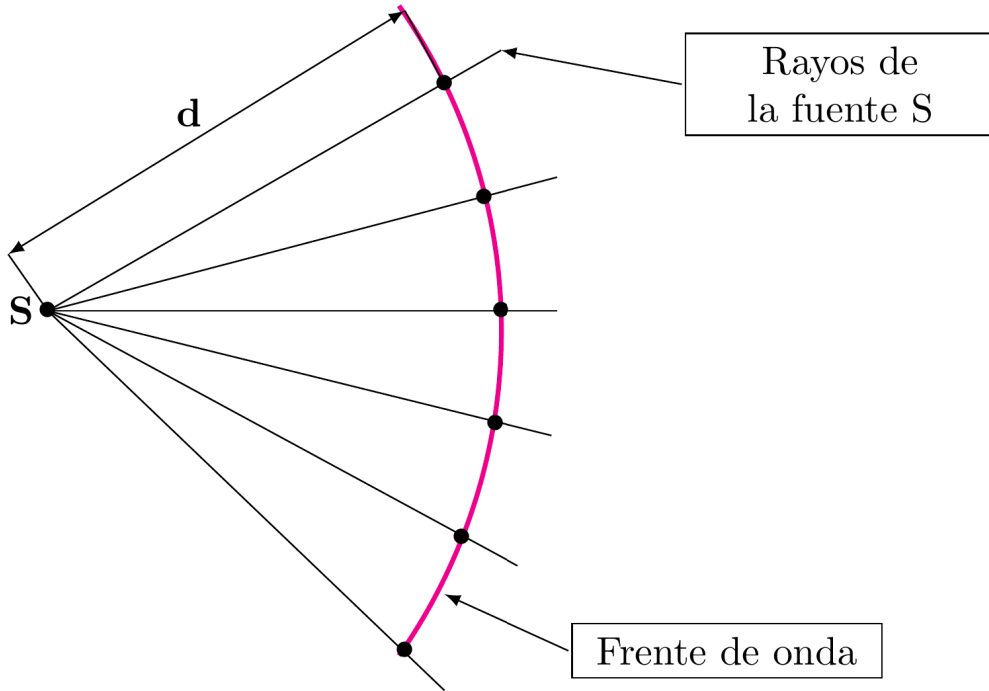


Figura 2.2: Rayos y frente de onda asociados a luz emitida por una fuente luminosa puntual en un medio homogéneo.

2.2. Propagación de campos

A partir de la teoría electromagnética, sabemos que un frente de onda cambia en fase y amplitud cuando este se va propagando en el espacio. Este fenómeno puede modelarse con diferentes teorías cuya implementación dependerán de las condiciones de propagación del frente de onda [5]. En particular, para la formación de imágenes y holografía digital, que es el objeto de estudio principal del presente trabajo, el modelo de la teoría escalar de difracción resulta bastante adecuado sin perder exactitud en el resultado final, pues consideramos además, que las dimensiones de los objetos y las franjas obtenidas en la difracción son significativamente más grandes que la longitud de onda del haz incidente [1].

Cuando una fuente de iluminación coherente incide sobre una abertura, el principio de Huygens-Fresnel establece que las ondas se superponen y se difractan, generando un campo difractado, el cual bajo coordenadas rectangulares se describe a continuación:

$$U(x, y) = \frac{z}{i\lambda} \int \int_{-\infty}^{\infty} U(x_p, y_p) \frac{e^{(ikr_{01})}}{r_{01}^2} dx_p dy_p \quad (2.2)$$

donde $U(x_p, y_p)$ representa el campo original en el punto de abertura (x_p, y_p) , $U(x, y)$ es el campo propagado o campo producido por la perturbación proveniente de la abertura en el punto (x, y) a la distancia z , λ es la longitud de onda y $k = 2\pi n \frac{z}{c} = \frac{2\pi}{\lambda}$ el número de onda. Note que z^2 representa la distancia medida a partir del plano de abertura y hasta el plano de observación. Además r_{01} representa la distancia entre un punto de observación P y el origen P_1 y se define como sigue:

$$r_{01} = \sqrt{z^2 + (x - x_p)^2 + (y - y_p)^2} \quad (2.3)$$

Este fenómeno se produce gracias a la naturaleza ondulatoria de la luz, y es esencial para comprender la propagación de la luz a través de diferentes medios y su interacción con objetos y aberturas de distintas formas y tamaños. De manera que, este modelo puede utilizarse para cualquier distancia de propagación, dependiendo de las restricciones que existan respecto a la distancia de propagación y al tamaño del objeto

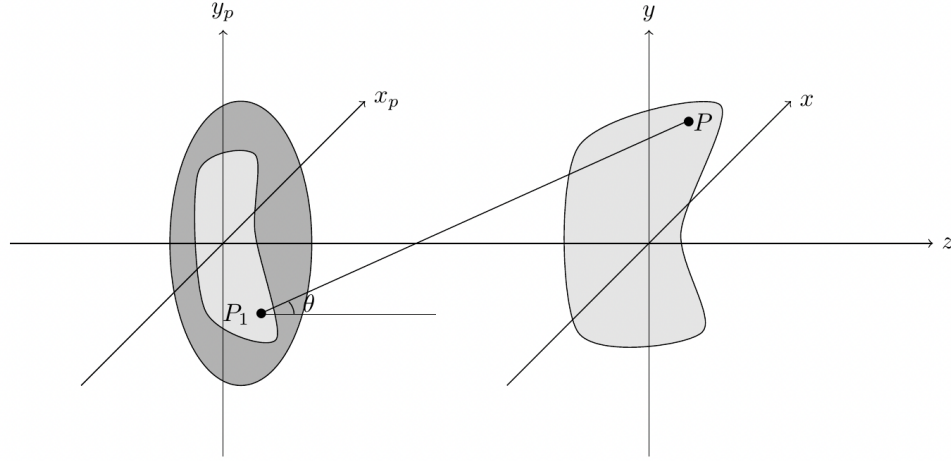


Figura 2.3: Difracción para un sistema en coordenadas rectangulares

es posible utilizar las aproximaciones de Fresnel o Fraunhofer para propagar el haz, las cuales se describen brevemente a continuación:

Aproximación de Fresnel

La difracción de Fresnel ocurre cuando una onda pasa a través de una abertura o se encuentra con un obstáculo y se propaga a una distancia corta del plano de observación, generando un patrón de interferencia y difracción. Si realizamos una expansión binomial a la ecuación (2.3), se puede realizar una aproximación paraxial para obtener la *aproximación de Fresnel* o *difracción de campo cercano* que es de la forma:

$$U(x, y) = \frac{e^{ikz}}{i\lambda z} e^{i\frac{k}{2z}(x^2+y^2)} \iint U(x_p, y_p) e^{i\frac{k}{2z}(x_p^2+y_p^2)} e^{-i\frac{2\pi}{\lambda z}(x_p x + y_p y)} dx_p dy_p \quad (2.4)$$

Aproximación de Fraunhofer

Cuando la fuente de ondas se encuentra muy lejos del obstáculo o de la pantalla de observación, las ondas se consideran prácticamente paralelas cuando llegan al obstáculo y, después de pasar por él, se expanden y se curvan en forma de patrones de difracción característicos en la pantalla de observación.

Note que, cuando la distancia de propagación z es de la forma $z \gg \frac{k(x_p^2+y_p^2)}{2}$, es decir, z es mucho más grande que el factor de fase, entonces:

$$k \frac{(x_p^2 + y_p^2)}{2z} \rightarrow 0 \Rightarrow e^{i\frac{k}{2z}(x_p^2+y_p^2)} = e^0 = 1 \quad (2.5)$$

por lo tanto, podemos aproximar el campo de propagación como sigue:

$$U(x, y) = \frac{e^{ikz}}{i\lambda z} e^{i\frac{k}{2z}(x^2+y^2)} \iint U(x_p, y_p) e^{-i\frac{2\pi}{\lambda z}(x_p x + y_p y)} dx_p dy_p \quad (2.6)$$

donde el factor de fase $e^{i\frac{k}{2z}(x^2+y^2)}$ se aproximó a la unidad, obteniendo la expresión (2.6) para la perturbación en el punto de observación (x, y) o *aproximación de Fraunhofer* o de *campo lejano*.

Podemos observar que esta expresión coincide con la transformada de Fourier de la amplitud compleja del punto (x_o, y_o) en el plano de la abertura, por lo que en el dominio de Fourier podemos reescribir a la ecuación (2.6) como:

$$U(x, y) = \frac{e^{ikz}}{i\lambda z} e^{i\frac{k}{2z}(x^2+y^2)} \iint U(u, v) e^{-i2\pi(ux+vy)} dudv \quad (2.7)$$

donde u, v , representan las *frecuencias espaciales* y se definen por: $u = \frac{x_p}{\lambda z}$ y $v = \frac{y_p}{\lambda z}$

2.3. Efectos de la difracción en la imagen

Para formar la imagen de un objeto, usualmente se emplea un sistema óptico formador de imágenes, el cual está formado por una o más lentes, las cuales permiten modificar el campo luminoso que ha sido perturbado al interactuar con un objeto, de tal forma que en el plano de detección tendremos una imagen que estará en función de las características de ese sistema óptico. La formación de imágenes puede representarse a través de la óptica geométrica que, como vimos, modela la propagación de la perturbación como rayos que se propagan en línea recta.

Un sistema óptico puede describirse mediante la *función de pupila*, la cual modela el comportamiento de la luz, si esta se enfoca, se desenfoca o se perturba, conforme atraviesa el sistema óptico en cuestión. Se utiliza en la teoría de difracción, que como vimos, describe cómo se modifica la trayectoria de la luz al pasar a través de aberturas y objetos de dimensiones comparables a la longitud de onda de la perturbación. Como se mencionó, las pupilas nos permiten modelar cualquier sistema óptico formador de imágenes, este modelo generalizado supone que [10]:

- Entre las pupilas de entrada y de salida el paso de la luz ocurre de acuerdo con las leyes de la óptica geométrica.
- La pupila de entrada no distorsiona el frente de onda esférico a su paso.
- La distorsión del frente de onda en el espacio imagen se genera en la pupila de salida.

Es importante señalar que un sistema óptico puede contener muchos dispositivos y elementos ópticos pero siempre contendrá una pupila de entrada y una de salida como se observa en la figura (2.4)

En donde tendremos el plano del objeto (x_o, y_o) separado una distancia z_o del plano de entrada y salida de la pupila representado con (x_p, y_p) , el cual se encuentra separado del plano de la imagen (x, y) una distancia z_i .

La pupila de entrada y la pupila de salida son imágenes de la misma abertura limitada dentro del sistema. Como consecuencia, existen diferentes maneras de visualizar el origen de la limitación espacial del frente de onda que origina la difracción. [1][7]

Un sistema óptico se considera que es *limitado por difracción* si una onda esférica divergente emana del objeto de fuente puntual y converge hacia un punto ideal en el plano de la imagen, donde la ubicación del punto de la imagen ideal se relaciona con la ubicación del punto objeto original a través de un factor de *amplificación*, el cual debe mantenerse constante en todos los puntos del campo de la imagen de interés si el sistema óptico es ideal [1]. Un factor de *amplificación* ($M = \frac{-z_i}{z_o}$) se refiere a la relación entre la amplitud de la imagen difractada y la amplitud del punto luminoso original. Este factor de amplificación está determinado por las propiedades de difracción de la abertura de la lente y la ubicación de la imagen en el plano de la imagen (u, v) .

Lo anterior implica que un sistema óptico limitado por difracción convierte las ondas esféricas divergentes incidentes, en la pupila de entrada, a ondas esféricas convergentes en la pupila de salida [7].

Cuando se tiene una fuente puntual formando una imagen en un sistema libre de aberraciones, en la pupila de salida se tiene una onda esférica la cual converge hacia el punto de una imagen ideal. Si en la presencia de un objeto de fuente puntual, el frente de onda deja la pupila de salida y se aparta significativamente de la forma ideal de una onda esférica, entonces se dice que el sistema óptico presenta *aberraciones* [1], en este caso tendremos un frente de onda deformado por las aberraciones. De manera que podemos asociar todas las limitaciones de difracción a las pupilas de entrada y salida respectivamente.

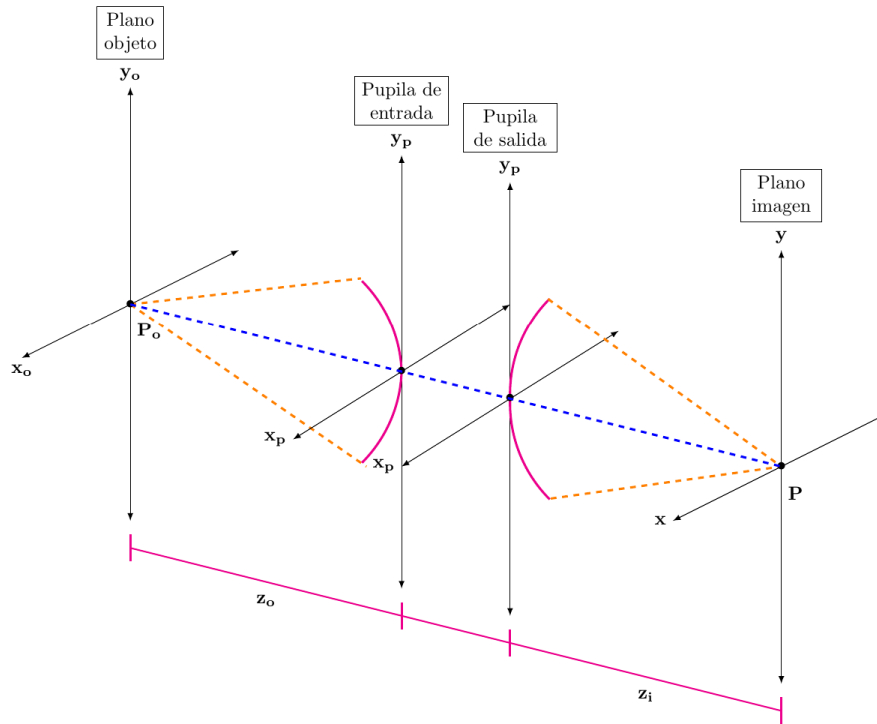


Figura 2.4: Sistema formador de imágenes

De la teoría de formación de imágenes propuesta por Ernst Abbe en 1873 para imágenes con iluminación coherente, sabemos que solo una porción de los componentes difractados pasan a través de la pupila y aquellos que no logran ser captados corresponden a los componentes de altas frecuencias de la amplitud de transmitancia del objeto ($o(x_o, y_o)$).

Recordemos que en la óptica de Fourier un objeto puede descomponerse en una serie de componentes de Fourier, las cuales son un conjunto de ondas sinusoidales de diferentes frecuencias y amplitudes, o dicho de otra forma, el objeto puede describirse mediante su función de transferencia de amplitud la cual especifica cómo cada componente de Fourier del objeto, modifica la amplitud de la perturbación de luz que lo atraviesa, estas componentes son las diferentes frecuencias espaciales que componen la estructura del objeto. La función de transferencia es importante debido a que determina la distribución de la intensidad de la luz que se observa en el plano de la imagen posteriormente a que la luz ha atravesado el sistema óptico.

Veamos nuevamente a partir de la integral de superposición, que podemos representar la amplitud de una imagen como:

$$U_i(x, y) = \iint \tilde{h}(x, y; x_o, y_o) U_o(x_o, y_o) dx_o dy_o \quad (2.8)$$

donde \tilde{h} es la amplitud compleja de la imagen en el punto (x, y) , producida por un punto luminoso en coordenadas del objeto (x_o, y_o) , U_o es la amplitud de la transmitancia del objeto y $U_i(x, y)$ representa la distribución compleja en el plano de la imagen. En ausencia de aberraciones, la respuesta por el punto luminoso \tilde{h} , surge de la onda esférica convergiendo de la pupila de salida hacia el punto de la imagen ideal.

En particular, la amplitud de la perturbación para la imagen ideal está dada por el patrón de difracción de Fraunhofer de la pupila de salida centrada en las coordenadas de la imagen donde $(u = Mx_o, v = My_o)$, siendo M el factor de amplificación, por lo tanto, la función de transferencia o función de respuesta al punto

luminoso introducida por la difracción es:

$$\tilde{h}(x, y; x_o, y_o) = \frac{1}{\lambda^2 z_o z_i} \int \int P(x_p, y_p) e^{-i \frac{2\pi}{\lambda z_i} [(x-u)x_p + (y-v)y_p]} dx_p dy_p \quad (2.9)$$

Donde P representa a la función de pupila, z_o y z_i representan las distancias ópticas involucradas en el sistema, es decir, z_o es la distancia a lo largo del eje óptico entre el objeto y la pupila de salida. z_i es la distancia desde el plano de la pupila de salida hasta el plano donde se forma la imagen. $M = \frac{-z_i}{z_o}$, como habíamos visto previamente, es el factor de amplificación, (x_p, y_p) son las coordenadas en la pupila de salida. Si la ley para lentes delgadas $\frac{1}{z_o} + \frac{1}{z_i} = f$ se cumple, la respuesta al punto luminoso está dada por la difracción de Fraunhofer [4].

Note que de (2.9), $\tilde{h}(x, y)$ corresponde a la transformada de Fourier de la función pupila $P(x_p, y_p)$, es decir:

$$\tilde{h}(x, y) = \int \int P(u, v) \exp[-i2\pi(ux + vy)] dudv \quad (2.10)$$

Donde (u, v) son las frecuencias espaciales y están en términos de las coordenadas del plano de la pupila. Entonces de manera general, para un sistema de difracción limitada la imagen formada puede representarse como la convolución de la imagen predicha por la óptica geométrica con una función de respuesta al impulso que corresponde a la difracción de Fraunhofer de la pupila de salida [1].

2.4. Sistema formador de imágenes como sistema lineal

Cuando una perturbación óptica atraviesa una abertura finita produce una distribución en el plano de observación, en el caso de perturbaciones coherentes, el tratamiento se realiza en amplitud compleja [4]. En particular, un sistema de imágenes lineal puede caracterizarse por sus respuestas a impulsos unitarios y la entrada y salida de este sistema de imágenes se puede representar a través de la integral de superposición siguiente:

$$g(x, y) = \int \int_{-\infty}^{\infty} o(x_o, y_o) \tilde{h}(x - x_o, y - y_o) dx_o dy_o \quad (2.11)$$

Donde la función \tilde{h} representa la respuesta al impulso de la función de pupila o la función de punto extendido del sistema óptico como habíamos visto previamente, o es la función de entrada [1] y representa la amplitud compleja del plano objeto en el punto (x_o, y_o) , transmitancia del objeto o dicho de otra forma, el estímulo producido por un punto luminoso en el plano del objeto [4] y $g(x, y)$ es la función o plano de salida del sistema óptico en amplitud compleja en el punto (x, y) .

Es decir que el proceso de formación de imágenes para una iluminación coherente puede describirse a través de la expresión en (2.11).

Note que podemos relacionar esta expresión (2.11), con la obtenida para la respuesta al impulso de la pupila de salida (2.9). Por lo tanto, se puede inferir que los sistemas ópticos que generan imágenes mediante iluminación coherente presentan una propiedad fundamental de linealidad en cuanto a la amplitud compleja se refiere. Esto significa que, si se aplican ciertas modificaciones en la entrada del sistema, la salida se verá afectada en proporción directa y constante, sin distorsionar la información original.

Es importante destacar que un sistema lineal de imágenes es invariante espacialmente o, equivalentemente, es isoplanático [1] si su respuesta al impulso depende solo de las distancias $(x - x_o, y - y_o)$. En la práctica, esto requiere que las aberraciones del sistema óptico sean proporcionales a una pequeña fracción de la longitud de onda para todos los puntos en la región de la imagen geométrica, la cual es grande comparada con la extensión de una imagen difractada de una fuente puntual [3].

La ecuación (2.11) representa la convolución del objeto con la respuesta impulso del sistema isoplanático, es decir:

$$g(x, y) = o(x, y) \otimes \tilde{h}(x, y) \quad (2.12)$$

Donde \otimes corresponde al operador de convolución. Note que al aplicar la transformada de Fourier y por el teorema de convolución [1] tenemos que:

$$\mathcal{F}\{g(x, y)\} = G(u, v) \quad (2.13)$$

y

$$\mathcal{F}\{o(x, y)\} = O(u, v); \quad \mathcal{F}\{\tilde{h}(x, y)\} = H(u, v) \quad (2.14)$$

de manera que:

$$\mathcal{F}\left\{\int\int_{-\infty}^{\infty} o(x_o, y_o)\tilde{h}(x - x_o, y - y_o)dx_o dy_o\right\} = H(u, v)O(u, v) \quad (2.15)$$

$$\Rightarrow G(u, v) = H(u, v)O(u, v) \quad (2.16)$$

La multiplicación de espectros en (2.16) representa la relación entre el espectro de la imagen de salida y el objeto. Donde u, v son las frecuencias espaciales en el dominio de Fourier y H es la transformada de Fourier de la respuesta del impulso o función de punto extendido (*psf*, *point spread function* por sus siglas en inglés), es decir:

$$H(u, v) = \int\int_{-\infty}^{\infty} \tilde{h}(x, y)\exp[-i2\pi(ux + vy)]dxdy \quad (2.17)$$

la función H se denomina *función de transferencia en amplitud (ATF)* y representa los efectos del sistema en el dominio de frecuencias para el caso coherente, es decir, la respuesta en frecuencia del caso coherente para el sistema de imágenes.

2.5. Función de Transferencia en amplitud (ATF)

Habíamos visto previamente en (2.17) que la función de transferencia en amplitud H (ATF), es una función isoplanática de respuesta al impulso en amplitud y por (2.16) los efectos de la difracción limitada del sistema óptico pueden expresarse en el dominio de frecuencias. Podemos reescribir (2.17) tomando en cuenta que la función de punto extendido \tilde{h} corresponde a la difracción de Fraunhofer, como se vio previamente:

$$\tilde{h}(x, y) = \int\int P(u, v)\exp[-i2\pi(ux + vy)]dudv \quad (2.18)$$

que se obtiene al considerar la difracción de una onda en una abertura lejana en la zona de Fraunhofer y que representa la respuesta al impulso en amplitud del sistema óptico. Sustituyendo la función de difracción de Fraunhofer $\tilde{h}(x, y)$ en la ecuación (2.14) se obtiene:

$$H(u, v) = \mathcal{F}\{\tilde{h}(x, y)\} \quad (2.19)$$

$$H(u, v) = \mathcal{F}\left\{\int\int P(u, v)\exp[-i2\pi(ux + vy)]dudv\right\} \quad (2.20)$$

La expresión anterior nos proporciona información sobre el comportamiento de los sistemas ópticos limitados por difracción en el dominio de frecuencias. De manera que la función de pupila limita contunentemente el rango de componentes de Fourier que pueden pasar a través del sistema como se había mencionado previamente.

2.6. Aberraciones del frente de onda: desenfoque y su efecto en la respuesta de la frecuencia.

De manera formal, la *esfera de referencia* es la que representa al frente de onda en la pupila de salida cuando la formación de imágenes de una fuente puntual es ideal. En un sistema óptico formador de imágenes, no todos los rayos convergerán al mismo punto en el plano imagen. La forma del frente de onda dependerá del sistema óptico debido a distintas deformaciones en el frente de onda producidas por posibles aberraciones del sistema óptico.

0.

La deformación de un frente de onda ideal, puede surgir por diferentes motivos, desde aberraciones esféricas en lentes del sistema óptico o por desenfoque. En un SO formador de imágenes las aberraciones suelen medirse en el plano de pupila de salida o en el plano de la imagen.

2.7. La función de pupila generalizada y la función de aberración.

Habíamos visto que cuando el *SO* es limitado por difracción, la respuesta al impulso de amplitud consiste en el patrón de difracción de Fraunhofer de la pupila de salida centrada en la imagen de un punto ideal. Esto sugiere que las aberraciones que se encuentran en el sistema se pueden incluir en la expresión obtenida para representar a la función de transferencia óptica en amplitud *ATF* [13].

En situaciones donde se presentan errores en el frente de onda de un sistema óptico, como mencionamos previamente, es posible visualizar el efecto que estos errores tienen sobre la salida de la pupila como si ésta estuviera siendo iluminada por una onda esférica ideal, pero con una placa desfasadora colocada en la abertura que altera el frente de onda que emerge de la pupila.

De esta manera, la placa desfasadora produce una deformación en el frente de onda, lo que afecta la calidad de la imagen formada por el sistema óptico. Esta situación es común en sistemas ópticos imperfectos y puede ser corregida produciendo aberraciones en la imagen, mediante técnicas de corrección de aberraciones, tales como la utilización de lentes correctoras o la modificación de la geometría de las superficies ópticas. Esta diferencia de fase entre el frente de onda ideal y el frente de onda aberrado se describe en la función generalizada de la pupila [1] [3]:

$$P_d(\rho) = P(\rho)\exp[ikW(\rho)] \quad (2.21)$$

La expresión anterior (2.21) representa a la función de pupila de salida bajo la influencia de aberraciones cuando la geometría de la pupila es circular.

En donde ρ es la coordenada radial normalizada respecto al radio de la abertura circular R , dada por $\rho = \frac{\sqrt{x_p^2 + y_p^2}}{R}$, k el número de onda $k = \frac{2\pi}{\lambda}$. En particular, para una geometría circular, la función de pupila sin defoco, $P(\rho)$ está dada por [3] [1]:

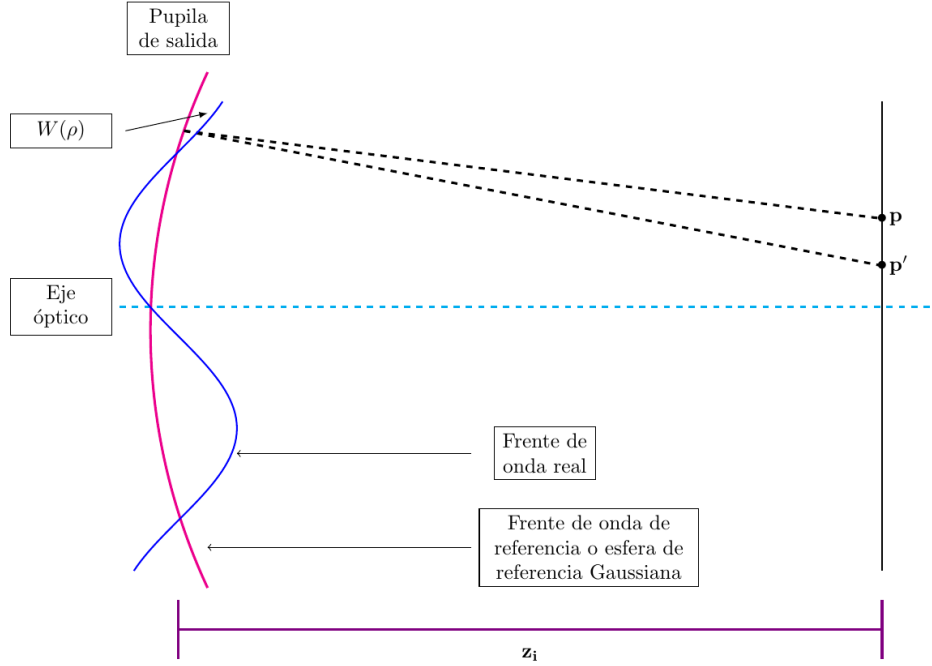
$$P(\rho) = \begin{cases} 1 & \rho \leq R \\ 0 & \rho > R \end{cases} \quad (2.22)$$

El término $W(\rho)$ en (2.21), representa la función de aberración de frente de onda que describe la diferencia de camino óptico entre el frente de onda real y la esfera de referencia. Y, por lo tanto, se denota como $kW(\rho)$ que mide el cambio de fase en el punto (ρ) de la esfera de referencia [3] [10].

La función de aberración W es el error de la longitud de trayectoria acumulada por el rayo de la perturbación mientras este pasa de la esfera de referencia al frente de onda y puede representarse geoméricamente como se exhibe en la figura (2.5) [1].

Una primera aproximación para modelar la aberración de frente de onda fue dada por Kingslake (1925-1926) por medio de la siguiente expresión, la cual está dada en coordenadas rectangulares [7]:

$$W(x_p, y_p) = A(x_p^2 + y_p^2)^2 + B y_p(x_p^2 + y_p^2) + C(x_p^2 - y_p^2) + D(x_p^2 + y_p^2) + E x_p + F y_p + G \quad (2.23)$$

Figura 2.5: Geometría que define a la función de aberración W

Donde cada coeficiente determina los siguientes tipos de aberraciones primarias:

- $A \rightarrow$ aberración esférica
- $B \rightarrow$ coma
- $C \rightarrow$ astigmatismo
- $D \rightarrow$ defoco
- $E \rightarrow$ distorsión con respecto al eje x_p
- $F \rightarrow$ distorsión con respecto al eje y_p
- $G \rightarrow$ pistón

Aprovechando la forma circular de la abertura podemos pasar del sistema de coordenadas rectangulares a coordenadas polares haciendo uso de las siguientes relaciones: $x_p = r \cos \phi$ y $y_p = r \sin \phi$, de manera que la expresión (2.23) se convierta en:

$$W(r, \phi) = Ar^4 + Br^3 \cos \phi + Cr^2 \cos 2\phi + Dr^2 + Er \cos \phi + Fr \sin \phi + G. \quad (2.24)$$

y de la expresión para la coordenada radial normalizada tenemos que:

$$W(r, \phi) = b_s \rho^4 + b_c \rho^3 \cos \phi + b_a \rho^2 \cos 2\phi + b_d \rho^2 + b_{x_p} \rho \cos \phi + b_{y_p} \rho \sin \phi + b_0. \quad (2.25)$$

que evidentemente resulta ser una expresión más simple y compacta, donde el coeficiente b_d está asociado al *defoco* o *desenfoque de la imagen* [7][10].

Finalmente, el frente de onda real puede tener cualquier tipo de distorsión, de modo que la aberración total del frente de onda será la suma de los diferentes términos de aberración como queda señalado en la expresión anterior (2.25).

2.8. Defoco o desenfoque de una imagen

Resulta bastante frecuente que, al utilizar una cámara, telescopio, microscopio u otro tipo de sistema óptico, la imagen obtenida presente poco contraste y agudez: dicho fenómeno se denomina *desenfoque de la imagen* y representa una aberración que surge debido a que alguno de los planos conjugados (plano objeto y plano imagen), no se encuentran posicionados de acuerdo a las distancias focales predichas por la óptica geométrica $\frac{1}{z_o} + \frac{1}{z_i} = \frac{1}{f}$.

Supongamos que el sistema óptico es capaz de generar una imagen ideal, sin embargo, si el punto donde se forma la imagen no coincide con el plano imagen gaussiano de referencia, puede que alguna de las lentes del sistema se haya desplazado axialmente o que el plano imagen se haya colocado en una posición diferente [7]. Para ilustrar este concepto, podemos pensar en que estamos capturando una fotografía con una cámara. Si enfocamos el objetivo en un objeto cercano y luego cambiamos el enfoque hacia un objeto lejano, notaremos que la imagen que se forma en la película o el sensor de la cámara cambian su posición. De manera similar, en un sistema óptico, un cambio en el enfoque puede producir un desplazamiento del punto imagen en el plano imagen.

En la figura (2.6) se muestra la geometría que describe al defoco:

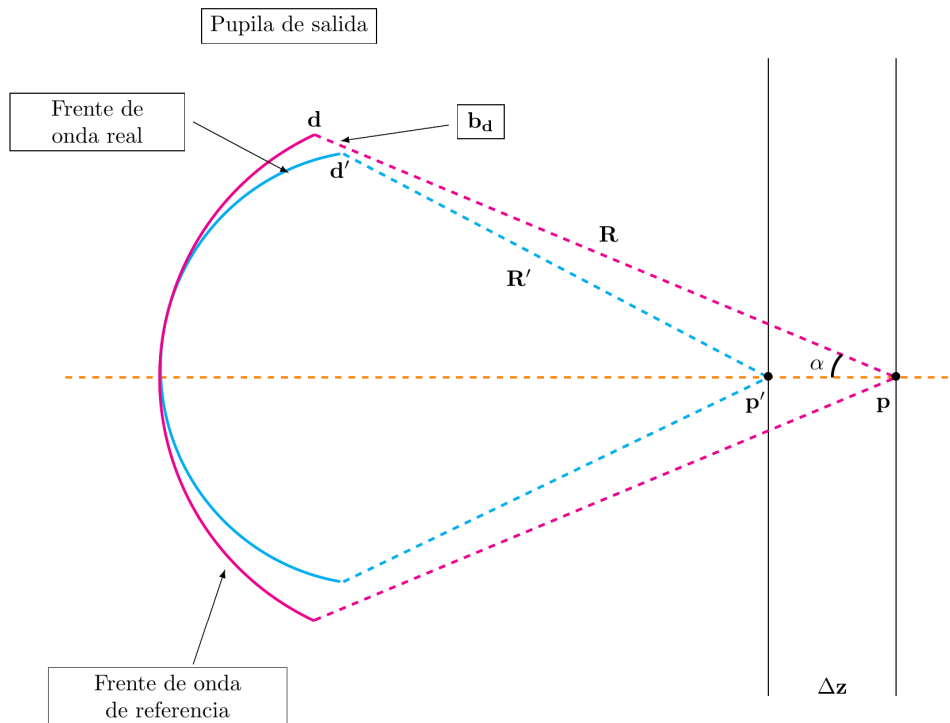


Figura 2.6: Frente de onda esférico desenfocado de radio R' y frente de onda de referencia R

Como podemos ver a partir de la figura (2.6), el radio de la esfera de referencia será igual a la distancia que separa al plano de la pupila de salida del plano imagen. El frente de onda de referencia se enfocará en el punto p . Por otro lado, como el sistema es capaz de formar una imagen ideal, el frente de onda real será una esfera de radio igual a R , y se enfocará en el punto p' . Decimos entonces que la imagen está desenfocada y la longitud axial de desenfoque es igual a $\Delta z = pp'$, en donde p es un punto posicionado en el plano focal predicho por la óptica geométrica [3]. Como resultado, en el plano imagen se observará una mancha circular cuyo diámetro es proporcional a la longitud de desenfoque.

Mediante un análisis óptico y trigonométrico podemos conocer la relación entre b_d y Δz . A través de la figura (2.6) podemos ver que:

$$b_d = dd' = dp' - d'p' \quad (2.26)$$

Si se forma α entre $dp = R$ y el eje óptico, entonces:

$$dp' = \sqrt{\Delta z^2 + R^2 + 2\Delta z R \cos\alpha} \quad (2.27)$$

donde α representa un semiángulo que abarca la pupila desde el eje óptico en el espacio objeto. Ahora, usando una aproximación binomial podemos aproximar dp' como sigue:

$$dp' \approx R + \frac{\Delta z^2 - 2\Delta z R \cos\alpha}{2R} \quad (2.28)$$

Note que el término $\frac{\Delta z^2}{2R}$ es muy pequeño y puede omitirse, luego:

$$dp' \approx R - \Delta z \cos\alpha \quad (2.29)$$

luego, el radio de la nueva onda emergente es $d'p' = Ap \approx R - \Delta z$, de manera que si sustituimos esta expresión en b_d tendremos que:

$$b_d \approx R - \Delta z \cos\alpha - (R - \Delta z)b_d \approx \Delta z(1 - \cos\alpha) \quad (2.30)$$

note que por la identidad de ángulo medio tenemos que: $(1 - \cos\alpha) = 2\text{sen}^2(\alpha/2)$, entonces la expresión anterior (2.30) se vuelve:

$$b_d \approx 2\Delta z \text{sen}^2\left(\frac{\alpha}{2}\right) \quad (2.31)$$

y considerando que para ángulos pequeños $\text{sen}\frac{\alpha}{2} \approx \frac{\text{sen}(\alpha)}{2}$, entonces el coeficiente de defecto de foco (b_d) es:

$$b_d \approx \frac{1}{2} n \Delta z \text{sen}^2 \alpha \quad (2.32)$$

donde $n \text{sen} \alpha$ representa la abertura numérica del sistema óptico multiplicada por el índice de refracción del medio, la cual mide la capacidad del sistema óptico para recolectar y enfocar la luz incidente, esta determina su resolución, n representa el índice de refracción del medio de propagación. Si consideramos que la perturbación se propaga en el aire, el índice de refracción es de 1, por lo tanto, para un sistema óptico con desenfoque y abertura circular podemos añadir el efecto de desenfoque a la función de pupila generalizada descrita anteriormente de la siguiente manera [12] [3]:

$$P_d(\rho) = P(\rho) \exp\left[\frac{i2\pi}{\lambda} b_d \rho\right] \quad (2.33)$$

$$\Rightarrow P_d(\rho) = P(\rho) \exp[ik b_d \rho] \quad (2.34)$$

2.9. Influencia del desenfoque en la ATF.

Como se mencionó anteriormente, la función de punto extendido en amplitud, (\tilde{h}) , de un sistema óptico coherente afectado por aberraciones o sistema aberrado con desenfoque, puede ser descrita en términos del patrón de difracción de Fraunhofer de una abertura, con una amplitud de transmitancia específica. En particular, amplitud de transmitancia P en el plano de la pupila de salida.

Dado que la función de punto extendido es el módulo cuadrado de la transformada de Fourier de la función pupila, podemos expresar la función de punto extendido en términos del desenfoque (h_d) y retomando la expresión encontrada en (2.34) [3]:

$$h_d(x, y) = \mathcal{F}^{-1} \{P_d(u, v)\} \quad (2.35)$$

Finalmente, retomando la ecuación (2.12) podemos reescribirla para describir la formación de imágenes, en amplitud compleja, de un sistema aberrado con desenfoque h_d y función de transmitancia del objeto $o(x, y)$ en amplitud compleja. Por lo que la expresión para definir la distribución en amplitud compleja con desenfoque, nos queda de acuerdo a la ecuación (2.36):

$$g_d(x, y) = o(x, y) \otimes h_d(x, y) \quad (2.36)$$

luego, en el dominio de frecuencias la expresión anterior se vuelve:

$$G_d(u, v) = H_d(u, v)O(u, v) \quad (2.37)$$

Capítulo 3

Extensión de la profundidad de campo

Previamente, abordamos el proceso de formación de imágenes y cómo la teoría de sistemas lineales es útil para describir este fenómeno. Se analizó la función de transferencia en amplitud (*ATF*) para el caso de iluminación coherente, y cómo esta función posee toda la información necesaria para describir al sistema formador de imágenes, un microscopio en el caso particular de este trabajo, incluso cuando el sistema se encuentra aberrado por la presencia de desenfoque.

Como se discutió previamente, cuando existe desenfoque las imágenes formadas tendrán poca nitidez y baja definición, esto implica una considerable pérdida de la información del objeto. Para resolver este problema, se ha propuesto modificar la función pupila, introduciendo un filtro de fase, con el propósito de modificar el frente de onda para poder extender la profundidad de campo de tal forma que se inhiba el desenfoque [4].

El concepto de *profundidad de campo* (*Depth of Field*), por sus siglas en inglés, se define como la distancia medida sobre el eje óptico a partir del plano del objeto hasta donde las imágenes aparecen nítidas y enfocadas, es decir, tienen buen contraste y la intensidad no decrece más allá del 20% [3]. La profundidad de campo (*DOF*) se define de acuerdo a la siguiente ecuación [4]:

$$\delta z_0 = \mp \left[\frac{\lambda}{2(NA)^2 M^2} \right] \quad (3.1)$$

donde el factor NA corresponde a la apertura numérica del objetivo del microscopio. La apertura numérica se utiliza para describir la capacidad de un objetivo para recoger luz y formar una imagen de alta resolución. Se define como $NA = n \sin \theta_0$, que es el producto del índice de refracción del medio de inmersión adyacente al objetivo, n , y el seno del ángulo θ_0 que forma un rayo marginal con respecto al eje del objetivo. El índice de refracción n es una propiedad del medio de inmersión adyacente al objetivo y representa cuánto se desvía la luz al pasar a través de ese medio en comparación con el vacío. El ángulo θ_0 se refiere al ángulo que forma un rayo marginal con respecto al eje del objetivo.

Un rayo marginal es un rayo de luz que ingresa al objetivo en el límite del ángulo más amplio posible. En otras palabras, es un rayo que se acerca al límite de aceptación del objetivo [2] [18].

La apertura numérica, por lo general, oscila entre 0,07 para objetivos de baja potencia y aproximadamente 1,4 para los de alta potencia (100X). Naturalmente, si el objeto se encuentra en el aire, la NA no puede ser superior a 1,0. Fue Ernst Abbe quien introdujo el concepto de la apertura numérica y quien reconoció que la distancia transversal mínima entre dos puntos objeto que se puede resolver en la imagen, es decir, el *poder de resolución*, variaba directamente como λ e inversamente como NA [2].

Análogamente, a partir de la expresión (3.1) observamos que la *profundidad de campo* también se encuentra descrita por λ que es la longitud de onda y M , que representa la amplificación transversal óptica, la cual describe la capacidad del *SO* (*microscopio*) de aumentar la intensidad de la luz en el cual los objetos aparecen nítidos y su intensidad no decrece más allá del 20% [3], es decir, representa la relación entre el tamaño de la imagen proyectada y el tamaño del objeto real.

De acuerdo con la ecuación (3.1), podemos notar que la relación entre la profundidad de campo y la apertura numérica es inversa. Debido a que la amplificación de un sistema óptico está en función directa de la apertura numérica, significará que a mayor amplificación, menor será la profundidad de campo.

Esto resulta en una problemática dentro del campo de la microscopía pues la profundidad de campo está limitada por el alto grado de amplificación que es requerido la mayoría de las veces, conocida como la relación entre la resolución y la profundidad de campo [19]. En el caso de una alta amplificación se logra un mayor nivel de detalle y resolución en la imagen observada. Sin embargo, la profundidad de campo se va reduciendo conforme la amplificación aumenta. Esto significa que, solo una pequeña porción de la muestra u objeto a observar estará enfocada a la vez, mientras que las regiones por delante y por detrás de esa porción estarán fuera de foco. Esto puede dificultar la visualización y análisis de estructuras tridimensionales completas que se encuentren fuera del plano focal exacto. Dicha problemática tiene implicaciones en la pérdida de detalles importantes, así como en la capacidad de obtener una imagen clara y bien enfocada en muestras con superficies irregulares o estructuras en relieve, ya que diferentes partes de la muestra estarán a diferentes distancias del objetivo del microscopio y, por lo tanto, estarán fuera de foco [18][21]. Por lo que, para abordar esta problemática la extensión de la profundidad de campo juega un papel fundamental como solución para mejorar la claridad y el enfoque en la imagen final. Además, como se verá en el siguiente capítulo, la Holografía Digital facilita la corrección del desenfoque, es decir, el enfoque en diferentes planos de objetos. Aunado a esto, las imágenes finales estarán libres de aberraciones ópticas generadas en el proceso de la formación de la imagen [19].

En contraste, llamamos *profundidad de foco* (*Depth of focus*), por sus siglas en inglés, a la distancia medida sobre el eje óptico a partir del plano de la imagen dentro del cual las imágenes formadas tienen buena resolución, puede moverse el plano del objeto, y la intensidad en las imágenes detectadas no decrece más allá del 20% con respecto a las detectadas en el plano objeto, se describe con la siguiente expresión que está dada por [4]:

$$\delta z_i \approx \left[\frac{\lambda}{2(NA)^2} \right] \quad (3.2)$$

En la figura (3.1) podemos observar las regiones dentro del eje óptico donde se encuentran la profundidad de campo y la profundidad de foco para una lente delgada, tal y como se definieron respectivamente en los párrafos anteriores. Donde o_1 y o_2 representan las posiciones en las cuales se puede colocar un objeto y que se obtenga una imagen clara de este. Por otra parte, i_1 e i_2 representan las imágenes enfocadas, nítidas y bien contrastadas que se forman del objeto.

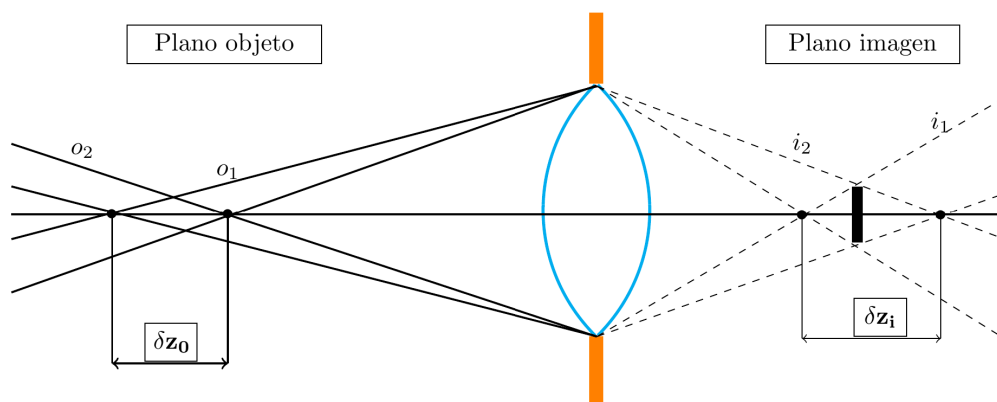


Figura 3.1: Representación de la profundidad de campo δz_0 y profundidad de foco δz_i para una lente delgada.

En este capítulo, se presenta un método para extender la profundidad de campo de un *SO* aberrado con desenfoque por medio de una máscara o filtro de fase y de un procesamiento digital de la imagen intermedia resultante del sistema para recuperar la información codificada. Lo cual produce que la función de punto

extendido (*psf*) y la función de transferencia óptica en amplitud (ATF) sean invariantes al desenfoque [11][14][13].

3.1. Codificación del frente de onda usando filtros de fase.

A través de los años se ha estudiado el problema del desenfoque en la formación de imágenes y la modificación de la función de pupila para la extensión de la profundidad de campo. Como solución a esta problemática, se ha propuesto el uso de filtros de fase colocados en la pupila para extender la profundidad de campo, los cuales pueden ser del tipo cúbico, logarítmico, exponenciales, de alto orden, polinómicos, etc. [14]. Dicho filtro, modifica la función de pupila, y en consecuencia la imagen a la salida de la pupila. Si evaluamos la respuesta del sistema compuesto con la placa de fase, utilizando una fuente puntual, podemos notar que la ATF del sistema óptico no tiene regiones de ceros dentro de su región pasa banda. El pasabanda es la región del espectro de frecuencia en la cual se permite el paso de señales sin una atenuación significativa.

Esta poderosa técnica es conocida como el *método de codificación de frente de onda (Wavefront coding)* [11][4][13]. Dicha tecnología ha sido ampliamente estudiada desde que el concepto de *codificación de frente de onda* fue introducido por Dowsky y Cathey en 1995.

El punto clave para la codificación del frente de onda reside en el diseño de filtros o máscaras de fase apropiadas que vuelvan al SO formador de imágenes invariante al desenfoque [14]. Es importante destacar que conocer el filtro de fase o función de fase determina la función de punto extendido (*psf*) y la función de transferencia óptica (*OTF*) para todos los valores de desenfoque [11].

Un *filtro de fase* es un dispositivo óptico utilizado para modificar la fase de la perturbación incidente, preservando generalmente su amplitud y un esquema general de cómo colocar el filtro es el que se muestra en la figura (3.2), donde el filtro que se encuentra justo después de la lente es el que modificará la función de pupila.

La fase de las perturbaciones determina cómo se retrasa o adelanta la luz en diferentes puntos del frente de onda. De manera que, al cambiar la fase de la luz, se pueden lograr varios efectos, como la modificación del frente de onda, la corrección de aberraciones o la generación de patrones de interferencia controlados que redistribuyen la energía de la luz en la imagen, lo que puede resultar en una mayor profundidad de campo y una mayor capacidad de enfoque en un rango más amplio de distancias.

Hasta ahora, se han diseñado diversas placas de fase para extender la profundidad de campo, algunas pueden ser expresadas en funciones matemáticas separables y otras no separables. En el trabajo de Dowsky y Cathey, la solución que se propone para extender la profundidad de campo se basa en la teoría de la función de ambigüedad y el método de fase estacionaria [11]. La función de ambigüedad es una herramienta analítica que permite observar y diseñar funciones de transferencia óptica *OTF's* para todos los valores de desenfoque al mismo tiempo. El método de fase estacionaria proporciona la flexibilidad analítica necesaria para considerar únicamente filtros o máscaras de fase en este proceso de diseño[11]. Este último método, permite el diseño de filtros de fase cuyas funciones de ambigüedad correspondientes tienen propiedades deseadas de la extensión de campo, como por ejemplo, la invarianza ante el error de foco [13].

Cada tipo de placa de fase tiene un rango operable, α , sobre el cual se tendrá una extensión de la profundidad de campo [13]. Este parámetro de control o desviación de fase [11] inhibe el desenfoque, por lo tanto, su representación mediante la función de transferencia óptica no presenta ceros al evaluar al *SO* con una fuente puntual fuera de foco [4], es decir, no presenta ceros en su región pasa banda, o dicho de otra forma la respuesta en frecuencia del filtro no tiene puntos de anulación o cancelación dentro de la banda de frecuencias deseada. Cuando el *SO* no tiene un filtro de fase presenta ceros en la región pasa banda, los cuales pueden ser problemáticos debido a que pueden causar distorsiones o pérdidas de señal en ciertas frecuencias. Esto provoca que el sistema sea susceptible al desenfoque, afectando la calidad y la fidelidad de la señal procesada. Al eliminar los ceros en la región pasa banda se hace posible la extensión de la profundidad de campo con lo cual se evitan distorsiones no deseadas.

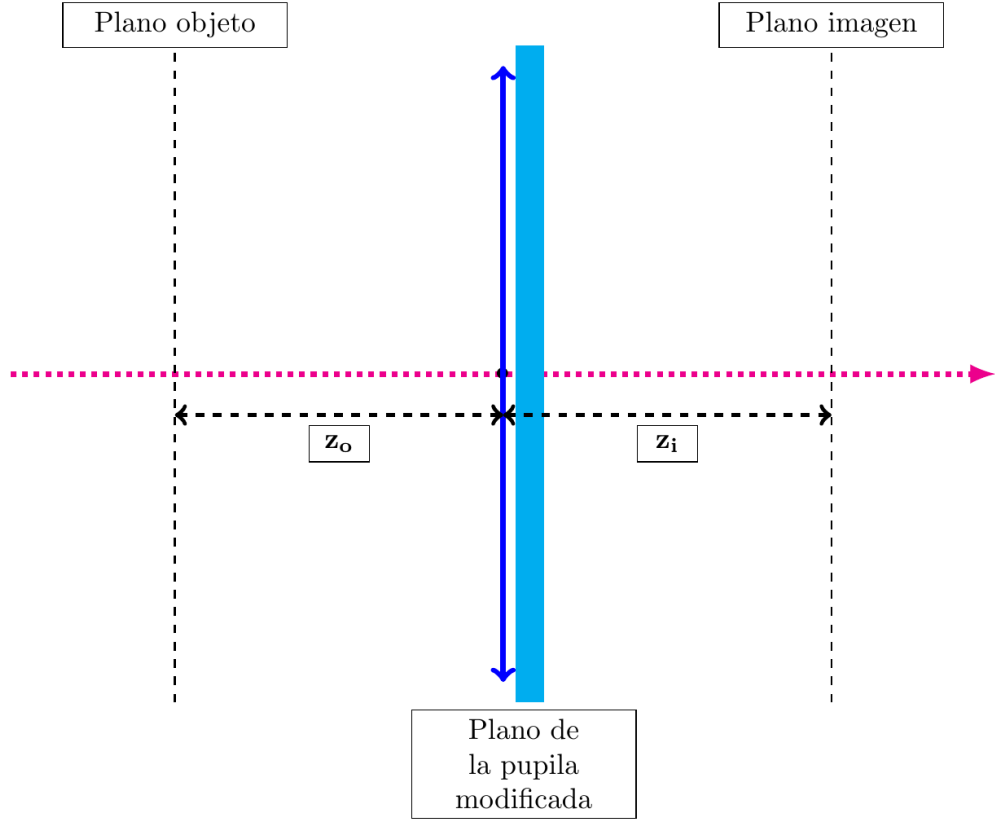


Figura 3.2: Representación de la colocación de un filtro de fase que modifica a la función pupila.

3.2. Placa de fase cúbica

Dowsky y Cathey propusieron el uso de una *placa de fase cúbica* en la pupila de un *SO* formador de imágenes limitado por difracción para codificar un objeto tridimensional el cual puede restaurarse digitalmente [11].

La *placa de fase cúbica* propuesta en [4], para una abertura circular está dada por :

$$P_{cc}(u, v) = \text{circ} \left(\frac{\sqrt{u^2 + v^2}}{\rho_c} \right) e^{ik\alpha \left(\frac{u^3 + v^3}{\rho_c^3} \right)} \quad (3.3)$$

donde $\rho_c = \frac{R}{\lambda z_i}$ es la frecuencia de corte del sistema, de manera que (3.3) puede escribirse como:

$$P_{cc}(u, v) = \text{circ} \left(\sqrt{\frac{(u^2 + v^2)(\lambda z_i)^2}{R^2}} \right) e^{ik\alpha \left(\frac{(u^3 + v^3)(\lambda z_i)^3}{R^3} \right)} \quad (3.4)$$

con u, v las frecuencias espaciales y P_{cc} la función de pupila.

En particular, la modificación del *SO* a través de un filtro de fase cúbica produce una *imagen intermedia* insensible al error de foco. A estas imágenes intermedias se les puede aplicar técnicas de filtraje digital para obtener un sistema de imágenes con alta resolución y una gran profundidad de campo [11] [13].

De manera que, la codificación adecuada de la fase de las imágenes ópticas en el plano de la pupila y posteriormente su respectiva restauración digital puede mejorar en gran medida su calidad. Sin el filtraje digital las imágenes intermedias son irreconocibles [11] pues pueden presentar distorsiones o aberraciones causadas por la modificación de fase introducida por la placa de fase.

3.3. Placa de fase cúbica modificada

Con el objetivo de eliminar el desplazamiento lateral que introduce la expresión $(u^3 + v^3)$ de la placa de fase cúbica, Palillero propone en [4], una nueva placa de fase modificada, en la que se considera la expresión completa del binomio cúbico. De manera que la placa de fase cúbica modificada está descrita por:

$$P_{cg}(u, v) = \text{circ} \left(\sqrt{\frac{(u^2 + v^2)\lambda z_i}{R}} \right) e^{ik\alpha \left(\frac{(u^3 - 3uv^2 - 3u^2v + v^3)(\lambda z_i)^3}{R^3} \right)} \quad (3.5)$$

$P_{cg}(u, v)$ es la nueva función de pupila, al considerar esta expresión de fase se toma en cuenta el polinomio completo de $(u + v)^3$. Con esto, se pretende evitar el desplazamiento lateral observado al usar la expresión (3.4) [4], y es por esto que los términos cruzados se colocaron considerando signos negativos. En adelante, consideraremos la expresión anterior (3.5) para describir al filtro de fase cúbica. En la figura (3.3), se exhibe el arreglo óptico usando la placa de fase cúbica modificada.

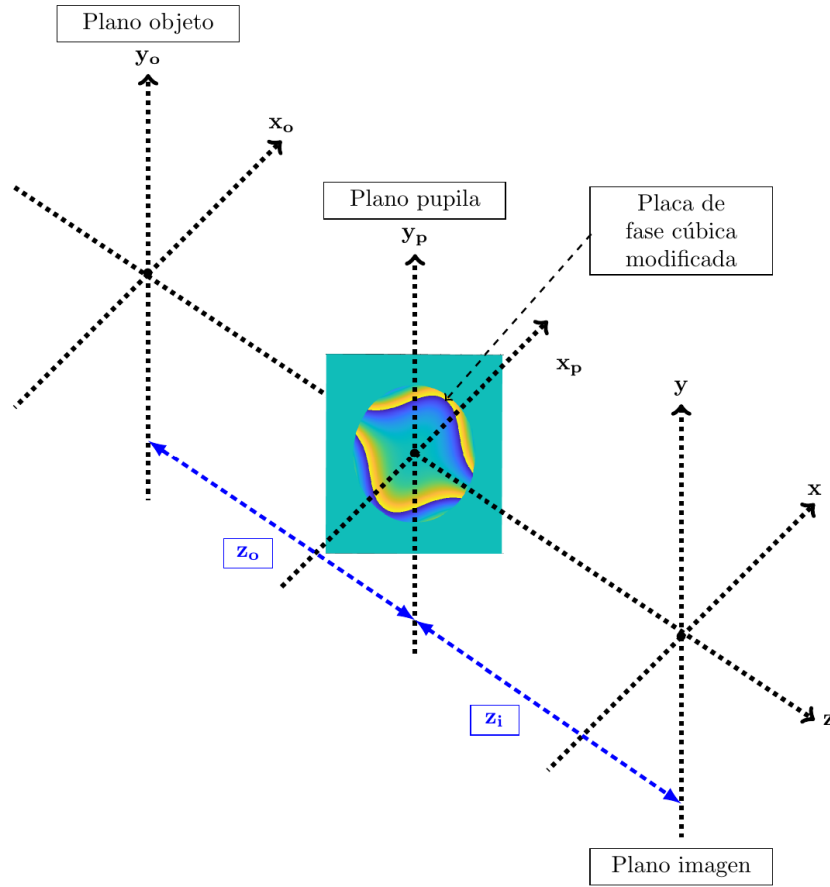


Figura 3.3: Filtro de fase cúbica modificada para una pupila con abertura circular.

Con la nueva función pupila que incluye la placa de fase cúbica modificada para inhibir el desenfoque (3.5) tenemos que la función de punto extendido (*psf*) será de la forma

$$h_{di}(x, y) = \mathcal{F}^{-1} \{P_{cg}(u, v)\} \quad (3.6)$$

Luego, la distribución en amplitud compleja inihibida al desenfoque (imagen intermedia insensible al desenfoque) estará dada por la siguiente expresión:

$$g_{di}(x, y) = o(x, y) \otimes h_{di}(x, y) \quad (3.7)$$

$$\Rightarrow G_{di}(u, v) = H_{di}(u, v)O(u, v) \quad (3.8)$$

Ahora que ya conocemos el filtro de fase, es necesario realizar el filtraje digital para la obtención de la imagen final. Para obtener la imagen final y corregir estas distorsiones, se utiliza un filtro inverso en un proceso conocido como deconvolución. La deconvolución es una técnica de procesamiento de imágenes que busca recuperar la imagen original a partir de la imagen distorsionada o afectada por aberraciones [4].

El filtro inverso utilizado en la deconvolución está diseñado para contrarrestar los efectos de la placa de fase y corregir las distorsiones introducidas en la imagen intermedia. Al aplicar la deconvolución con el filtro inverso, se busca obtener una imagen final corregida y más nítida, que se acerque más a la imagen original del objeto.

Es importante destacar que el proceso de deconvolución puede ser desafiante y depende de varios factores, como la calidad de la codificación de pupila, la precisión del modelo de aberración utilizado y la robustez del algoritmo de deconvolución empleado.

3.4. Un proceso de restauración: Filtro de Wiener

Desde la década de 1960 hasta el presente, el campo del procesamiento de imágenes ha crecido vigorosamente. Los procedimientos de restauración y mejoramiento de imágenes se usan para procesar imágenes degradadas de objetos irrecuperables o cuyos resultados experimentales requieren de un gran costo para recrear. Dentro de la Física y campos relacionados, habitualmente se emplean técnicas computacionales para mejorar imágenes de experimentos en áreas como plasmas de altas energías, microscopía de electrones, etc [22].

Una imagen degradada se refiere a la pérdida de la calidad de una imagen debido a diversas razones. Cuando ocurre el deterioro de una imagen, la calidad de esta disminuye significativamente y se vuelve difusa.

El objetivo del proceso de restauración es obtener un estimado de la imagen original. Este intenta recuperar una imagen que ha sido degradada usando conocimiento a priori del fenómeno de degradación. Por lo que, las técnicas de restauración están orientadas hacia modelar la degradación y aplicar el proceso inverso de manera que se recupere la imagen original. El enfoque utilizado en la restauración está basado en filtros de restauración o recuperación de imágenes.

En contraste, las técnicas de mejoramiento son procedimientos diseñados para manipular una imagen de tal forma que se tome ventaja de los aspectos psicofísicos del sistema visual humano [22].

En el capítulo de Formación de imágenes, habíamos encontrado la expresión que describe a una imagen desenfocada en el dominio espacial (2.36), $g_d(x, y) = o(x, y) \otimes h_d(x, y)$. De [22], [3] sabemos que las principales fuentes de ruido en las imágenes digitales se originan durante la adquisición y transmisión de la imagen. El desempeño de los sensores de imágenes se puede comprometer debido a diversos factores, como condiciones ambientales, fluctuaciones en la fuente de iluminación, etcétera. Por lo que, se puede adicionar el término de ruido $\eta(x, y)$ a la expresión (2.36) ($g_d(x, y) = o(x, y) \otimes h_d(x, y)$), haciendo las consideraciones de que el ruido tiene un valor promedio de cero y que para cada par de coordenadas espaciales (x, y) no está correlacionado. Esto quiere decir que el ruido es independiente de las coordenadas espaciales (no existe correlación entre los valores de los píxeles o elementos de la imagen digital y los valores de los componentes del ruido). Sin embargo, para los propósitos del presente trabajo asumiremos que el ruido es despreciable y el valor de $\eta(x, y) = 0$.

En la práctica, la restauración de la imagen intermedia a través de filtrado digital alterará las propiedades del ruido de la imagen final [11]. El enfoque más simple para recuperar una imagen es el filtrado inverso directo, en el cual se hace un estimado de la transformada de la imagen original al dividir la transformada de la imagen degradada entre la función de degradación [22]. No obstante, este proceso de recuperación no considera el manejo del ruido.

El *Filtro de Wiener* o *Error cuadrático medio mínimo* es un método basado en considerar a las imágenes y al ruido como variables aleatorias y cuyo objetivo es encontrar un estimado de la imagen incorrupta, tal

que el error cuadrático medio entre ellos sea mínimo. Este error se describe como el valor esperado de la diferencia al cuadrado de la imagen no corrompida menos el estimado de esta [22].

A partir de la imagen intermedia obtenida, la cual presenta distorsión debido al uso de la placa de fase cúbica, se debe realizar la deconvolución del objeto utilizando un filtro de Wiener, el cual está dado en el dominio de frecuencias por la siguiente expresión (3.9):

$$\hat{G}(u, v) = \frac{H_{di}^*(u, v)G_{di}(u, v)}{|H_{di}(u, v)|^2 + \frac{S_{\eta}(u, v)}{S_g(u, v)}} \quad (3.9)$$

en donde:

- $\hat{G}(u, v)$ =Espectro estimado de la imagen restaurada (imagen incorrupta)
- H_{di} =ATF del SO con desenfoque y filtro de fase cúbico
- H_{di}^* =Complejo conjugado de $H_{di}(u, v)$
- $|H_{di}(u, v)|^2 = H_{di}(u, v)H_{di}^*(u, v)$
- $G_{di}(u, v) = H_{di}(u, v)O(u, v) =$ Imagen intermedia
- $S_{\eta}(u, v) =$ Densidad espectral del ruido
- $S_g(u, v) =$ Densidad espectral de la imagen original del objeto (undegraded image)

De manera que, la imagen restaurada en el dominio espacial (\hat{g}) estará dada por la transformada inversa de Fourier del espectro estimado de la imagen restaurada en el dominio de frecuencias ($\hat{G}(u, v)$).

De la expresión anterior (3.9) podemos observar que si el ruido es cero, entonces la densidad espectral del ruido desaparece y el filtro de Wiener se reduce al filtro inverso [22]. Usualmente en el proceo de restauración de una imagen se desconocen los valores para $\frac{S_{\eta}(u, v)}{S_g(u, v)}$. Cuando los valores de la razón señal a ruido son desconocidos, se ajustan diferentes heurísticas para obtener una mejor calidad de la imagen [4][3][22].

Capítulo 4

Holografía

Fue Denis Gabor quien acuñó el término *holograma* en 1948 y lo utilizó para describir el registro del patrón de interferencia entre dos haces en un microscopio electrónico [19] [20]. La palabra procede del griego *holos* que significa grabado o registro completo. De manera que, *holograma* representa el grabado completo de algo.

La propuesta de Gabor, sobre el proceso de formación de imágenes sin la necesidad del uso de lentes, conocido como reconstrucción de frente de onda, le otorgó el premio Nobel de Física en 1971 [6].

Sabemos que el comportamiento de la luz puede ser modelado ya sea como una onda electromagnética que se propaga o como un grupo de partículas sin masa conocidas como fotones. Ambos modelos son necesarios aunque parezcan contradictorios entre sí, y el empleo de cada uno dependerá del fenómeno que se quiera describir o del experimento bajo investigación.

En particular, los fenómenos que se estudian en este trabajo como la *Difracción e Interferencia*, constituyen las bases de la holografía y pueden describirse a través del modelo de ondas electromagnéticas, en el cual la amplitud y la fase son los elementos más importantes de un haz.

Cuando un campo electromagnético que se propaga interactúa con un objeto, su amplitud y fase se modifican. Esto permite que al estudiar la amplitud y fase de un haz en un plano dado, sea posible obtener información de los objetos con los que ha interactuado, siempre que se conozca la forma original de su frente de onda [5]. En este sentido, podemos clasificar a los objetos de acuerdo a la forma en la que el campo de propagación con el que interactúan se modifica. Decimos que un objeto es de *amplitud*, si éste absorbe parte de la energía del haz que interactúa con él, modificando así su amplitud. Por otro lado, denominamos *objeto de fase* al objeto que al interactuar con un haz de luz, no modifica la energía del haz, es decir, ésta se conserva, no obstante, si modifica la fase de diversos puntos del frente de onda. Introduciendo así, diversos retrasos en la vibración de cada punto del haz con el que ha interactuado [5]. Esta característica, está relacionada con los objetos opacos.

Hay que tener en cuenta que en la práctica, la mayoría de los objetos tienen un porcentaje de ambas características, pero esta generalización nos sirve para entender cómo es que cada una de estas características contribuye en la modificación del campo de luz que interactúa con los objetos de manera particular.

Existen muchos especímenes biológicos y microorganismos (parásitos, bacterias, microalgas, etc..) que al ser transparentes se consideran objetos de fase debido a que cuando una onda de luz interactúa con ellos, su amplitud permanece constante pero su fase se altera. Cabe señalar, que el espesor físico también introduce características de fase, aún cuando el objeto no es transparente. Podemos encontrar diversas técnicas desarrolladas para estudiar objetos de fase, tales como: el contraste de fase, la holografía digital, la microscopía confocal, la tomografía de difracción óptica, etc.. [25] [26]. Sin embargo, la principal problemática que presenta el estudio de objetos de fase es la pérdida de información de la fase debido a que los medios de registro fotosensibles (como películas fotográficas, la retina, las cámaras, fotodiodos, CCD's, entre otros) responden únicamente a variaciones de amplitud y solo son capaces de almacenar la *intensidad*, (I), del frente de onda, la cual es proporcional al cuadrado de la amplitud [19]. Por esta razón, resulta interesante tener una metodología que permita registrar la información de fase en un patrón de intensidad.

La detección de información de la fase de especímenes biológicos, debe abordarse a partir de técnicas no invasivas que mejoren la visibilidad de los objetos de fase, sin alterarlos químicamente introduciendo algún colorante u otra sustancia al objeto. Las técnicas no invasivas, no modifican el objeto de ninguna forma y son altamente deseables, pues permiten el estudio de muestras biológicas vivas o el estudio de deformaciones de objetos en tiempo real [5]. Dentro de estas técnicas se destaca la *Holografía*. La cual permite grabar o capturar toda la información óptica que emana de una fuente en un dispositivo fotosensible para la posterior recreación o reconstrucción del objeto original [19]. Una imagen holográficamente almacenada u *holograma*, es la codificación del patrón de interferencia entre un campo de ondas, dispersado desde un objeto y que lleva la información de interés, y un fondo coherente, denotado como *onda de referencia*, de la cual se conocen sus características fundamentales, amplitud y fase [19].

La holografía, en lo que se refiere a los aspectos prácticos, se resume en dos etapas fundamentales: el registro y la reconstrucción [24]. De manera clásica, un holograma se registra de manera bidimensional en algún medio fotosensible, sin embargo, este contiene toda la información del campo de onda tridimensional. Dicha información, se codifica en forma de franjas de interferencia, las cuales no son fácilmente visibles para el ojo humano debido a sus elevadas frecuencias espaciales.

La *onda objeto*, posee la información de interés y puede recuperarse fácilmente al iluminar el holograma con la *onda de referencia* (ambas coherentes) original. La onda reconstruida, es ópticamente indistinguible de la onda objeto original [19]. Un observador, ve una imagen virtual tridimensional con todas las características de perspectiva y profundidad de foco. De manera que, si este observador cambiara de ubicación, notaría otra perspectiva de la imagen virtual, tal y como ocurriría con cualquier otro objeto verdadero. El único requerimiento que tiene ésta técnica, es usar luz coherente para el grabado del holograma, aunque también es posible obtener hologramas a partir de luz parcialmente coherente [19][20].

La evolución y constante desarrollo de tecnología computacional, ha permitido trasladar los procesos de registro y reconstrucción a la computadora. La idea de reconstruir digitalmente el frente de onda óptico, apareció por primera vez en la década de 1960 y tenía como propósito reemplazar el registro “análogo” del objeto por un registro digital, simulando la difracción de una rejilla digital que consiste en la imagen grabada [20].

Fue en 1990, que Schnars y Jüpter [19] desarrollaron el registro directo de hologramas de Fresnel con dispositivos de carga acoplados (CCD). Lo que permitió el registro y procesamiento de hologramas de manera totalmente digital, sin necesidad de hacer uso de algún tipo de grabación fotográfica como paso intermedio. El nombre que se le dio a esta técnica, inicialmente fue “holografía directa” para enfatizar el camino directo desde la grabación óptica hasta el procesamiento numérico. Más tarde, se acuñó el nombre de *Holografía digital* [19].

El principio físico de la *holografía digital*, es similar al de la holografía tradicional. Sin embargo, se deben considerar otras restricciones tales como el tamaño de los píxeles en el detector de imagen, el área de los píxeles, número de píxeles y la distancia entre píxeles o *pixel pitch*. En este sentido, podemos definir al *holograma digital* como la mezcla interferométrica entre una onda de referencia y una onda perteneciente al objeto de interés [20].

En este capítulo, se presentan los fundamentos teóricos para describir a los fenómenos físicos detrás de la formación de un holograma, los procesos fundamentales de grabado y reconstrucción, así como los tipos de hologramas y los modelos matemáticos apropiados para describir la propagación de campos una vez que se ha grabado el interferograma. Finalmente, se mencionan algunos algoritmos y métodos numéricos para la reconstrucción de hologramas digitales, así como una breve discusión sobre una aplicación práctica de la holografía digital: la Microscopía Holográfica Digital.

4.1. Interferencia entre la onda objeto y la onda de referencia

Como hemos mencionado anteriormente, el interés fundamental en holografía, reside en recuperar la información del objeto al incidir una onda que será igual, en amplitud y fase a la onda de referencia, sobre el patrón de interferencia obtenido u holograma. Es necesario entonces, analizar qué es el fenómeno de interferencia.

La superposición de dos o más ondas en el espacio, se conoce como *interferencia*. Un patrón de *interferencia* o *interferograma*, codifica la información de fase y amplitud de los frentes de onda analizados en un solo patrón de intensidad. Este patrón, puede ser grabado en un medio de registro convencional o bien, ser digitalizado en una computadora como una matriz de datos [19][5].

Dado que un holograma es un patrón de interferencia, éste debe satisfacer las siguientes restricciones de interferencia [19]:

- Las ondas que interfieren entre sí, para formar el holograma deben ser monocromáticas, es decir, que solo interfieren haces con igual frecuencia y longitud de onda λ .
- Los haces que interfieren deben tener la misma polarización.
- Los haces que interfieren deben ser mutuamente coherentes entre sí, y en algunos casos, parcialmente coherentes.

En particular, para la formación de un holograma ocurre que la *onda objeto*, la cual contiene la información de amplitud y fase que nos interesa registrar y luego recuperar completamente, se mezcla coherentemente con una *onda de referencia*, $U_r(x, y)$, y sus interferencias se graban en un plano de registro H . En holografía digital, el registro se realiza usando un sensor de matriz de pixeles [20]. La figura (4.1) ilustra la geometría básica del proceso de grabado.

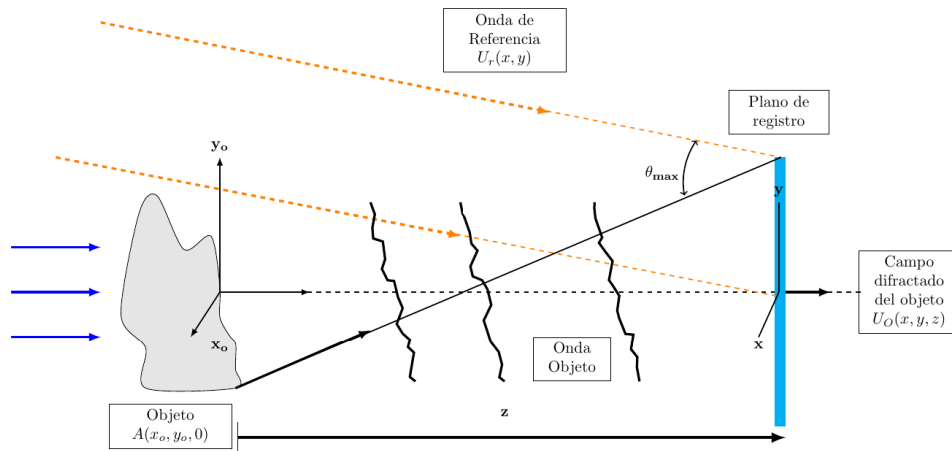


Figura 4.1: Geometría básica del grabado de un holograma digital

De la figura anterior (4.1), podemos notar que cuando una onda monocromática ilumina a un objeto, posteriormente, este objeto difractará un campo, $U_O(x, y, z)$, hacia el plano de observación, el cual se encuentra a una distancia z del objeto.

En el plano de observación, se encuentra el plano de difracción U_O , dado por la propagación de la onda objeto al plano de grabado, así como la amplitud compleja de la onda de referencia, U_r , los cuales podemos describir a partir de las siguientes expresiones respectivamente:

$$U_O(x, y, z) = a_O(x, y) \exp(i\phi_O(x, y)) \quad (4.1)$$

y

$$U_r(x, y) = a_r(x, y) \exp(i\phi_r(x, y)) \quad (4.2)$$

donde a_O representa la amplitud compleja de la onda objeto y ϕ_O es su fase óptica. De la misma manera, a_r representa la amplitud compleja de la onda de referencia y ϕ_r su fase óptica. Generalmente, como los parámetros de la onda de referencia son conocidos, se ajusta la amplitud de ésta para que sea uniforme y constante. De manera que, al interactuar ambas ondas, la iluminación o intensidad total, denotada por H , estará dada por la suma de las amplitudes individuales y por lo tanto, la amplitud compleja resultante estará dada por:

$$H = |U_r + U_O|^2 \quad (4.3)$$

$$= (U_r + U_O)(U_r + U_O)^* \quad (4.4)$$

$$= (U_r U_r^*) + (U_r U_O^*) + (U_O U_r^*) + (U_O U_O^*) \quad (4.5)$$

$$\Rightarrow H = |U_r|^2 + |U_O|^2 + U_r^* U_O + U_r U_O^* \quad (4.6)$$

donde $*$ denota al complejo conjugado. Note que podemos reescribir la expresión anterior considerando las intensidades de U_r y U_O en (4.1) y (4.2), esto es:

$$H = a_r^2 + a_O^2 + 2a_r a_O \cos(\phi_r - \phi_O) \quad (4.7)$$

$$= I_r + I_O + 2\sqrt{I_r I_O} \cos \Delta\phi \quad (4.8)$$

donde I_r y I_O son las intensidades individuales asociadas a la onda de referencia y a la onda objeto y la diferencia de fase entre las dos ondas es $\Delta\phi = \phi_r - \phi_O$.

La intensidad resultante, H , es la suma de las intensidades individuales más el término de interferencia $2\sqrt{I_r I_O} \cos \Delta\phi$, el cual depende de la diferencia de fase de las ondas.

Note que se produce *interferencia constructiva*, cuando H alcanza su máximo, esto ocurre cuando la diferencia de fase es múltiplo de 2π , esto es: $\Delta\phi = 2n\pi$ para $n = 0, 1, 2, \dots$

En contraste, tenemos *interferencia destructiva*, cuando H alcanza su mínimo, lo cual ocurre cuando $\Delta\phi = (2n + 1)\pi$ para $n = 0, 1, 2, \dots$, donde n representa el orden de interferencia. De manera que, la serie de franjas claras y oscuras observables son el resultado de la interferencia constructiva y destructiva [19].

Las ecuaciones (4.6) y (4.7) constituyen lo que se denomina clásicamente como *holograma digital*, el cual está conformado por *tres órdenes* [20]:

- Orden 0, el cual está compuesto por los términos $|U_r|^2 + |U_O|^2$. La información de estos dos términos, se conoce como fondo del holograma, la luz que es difractada por estos términos viaja siguiendo el mismo eje de propagación del haz de iluminación.
- Orden +1 que corresponde al término $U_r^* U_O$ y que generalmente, es el orden de interés debido a que está relacionado con el objeto inicial, estos es, incluye la onda objeto.
- Orden -1 asociado al término $U_r U_O^*$ también conocido como *twin image* o imagen gemela, el cual exhibe cierta geometría debido al operador de Fourier.

La microestructura de un holograma digital, está compuesta por micro franjas y por granos de luz o *speckles*, formados debido a la dureza natural del objeto y a las fluctuaciones aleatorias en intensidad de la luz dispersada desde la superficie de éste, lo que genera una serie de puntos claros y oscuros cuyo tamaño es mayor que la longitud de onda de la luz [19][20].

4.2. Coherencia

Como se había mencionado previamente, una de las condiciones para que ocurra el fenómeno de interferencia, es la correlación entre las fases de las ondas que interfieren. Llamamos *coherencia*, a la capacidad

de la luz para formar patrones de interferencia, la cual determina cómo las ondas se combinan, interfieren y se comportan cuando interactúan entre sí. Posee dos aspectos fundamentales: la *coherencia temporal* y la *coherencia espacial* [19].

4.2.1. Coherencia Temporal

Experimentos como el interferómetro de Michelson, han mostrado que el fenómeno de interferencia solo puede ocurrir si la diferencia de camino óptico no excede cierta longitud L . Si el camino óptico es mayor que esta medida L , las franjas de interferencia desaparecen y solo se observa un brillo uniforme en la pantalla de observación. Las franjas de interferencia, solo se forman cuando las ondas que se superponen tienen una relación de fase bien definida y constante entre ellas, cuando la diferencia de fase entre las ondas varía aleatoriamente, estas no interfieren [19].

La diferencia de la longitud de camino crítico, también conocido como longitud de tren de onda es la *longitud de coherencia* L de la onda. El tiempo correspondiente durante el cual se emite el tren de ondas es su *tiempo de coherencia* [19], es decir, representa al intervalo de tiempo durante el cual dos ondas electromagnéticas mantienen una relación de fase significativa y por lo tanto, pueden interferir constructiva o destructivamente. El tiempo de coherencia está descrito por la siguiente expresión:

$$\tau = \frac{L}{c} \quad (4.9)$$

donde L corresponde a la longitud finita de un tren de onda con ancho espectral finito Δf :

$$L = \frac{c}{\Delta f} \quad (4.10)$$

donde c es la velocidad de la luz y de acuerdo a la expresión anterior, la longitud de coherencia es por lo tanto, una medida para el ancho de línea espectral de una fuente a una frecuencia específica f [19]. La luz con una gran longitud de coherencia posee en contraste, un ancho de línea estrecho y por lo tanto, es altamente monocromática, como por ejemplo la luz proveniente de un láser.

La visibilidad de franjas en un patrón de interferencia, es una medida de nitidez o contraste y mide cómo las franjas de interferencia son distintas entre sí, en términos de su intensidad luminosa, está dada por la expresión [19]:

$$V = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \quad (4.11)$$

La *coherencia temporal*, garantiza que la fase de la luz se mantenga constante durante el proceso de grabado de un holograma, lo que proporciona estabilidad al holograma. Cualquier fluctuación en la fase o la frecuencia de la luz utilizada para el proceso de registro, puede afectar negativamente la calidad y la claridad del patrón de interferencia formado.

En el proceso de reconstrucción, si la *coherencia temporal* de la fuente no coincide con la *coherencia temporal* de la fuente empleada en el proceso de grabado, la calidad de la imagen puede verse afectada [19].

4.2.2. Coherencia Espacial

El interferómetro de Young (1801), es un experimento que permite medir la *coherencia espacial* de la luz, la cual se refiere a la correlación entre partes del campo de ondas de luz que están separadas espacialmente. En el interferómetro de Young, la luz incide sobre una abertura que tiene dos agujeros, lo que crea dos fuentes de luz que emiten ondas que se propagan y se superponen en una pantalla. Si la luz es coherente en las aberturas del interferómetro, las ondas de las dos fuentes se combinan y forman patrones de interferencia en la pantalla [2][18][19].

La *distancia coherente*, a_k , es un parámetro crítico en este experimento. Representa la máxima distancia a la que las ondas de las dos fuentes de luz todavía mantienen una correlación significativa. Si la distancia a entre los agujeros del interferómetro es mayor que a_k , las ondas de las fuentes ya no están lo suficientemente

correlacionadas, y los patrones de interferencia desaparecen. Este fenómeno sucede, debido a que las ondas de diferentes partes de la fuente de luz extendida ya no se combinan coherentemente en la pantalla [19]. En contraste a la coherencia temporal, la coherencia espacial depende no solo de las propiedades de la fuente de luz, sino también, de la geometría del interferómetro [19].

En holografía, la coherencia espacial es esencial para la formación de un holograma de alta calidad, ésta determina la formación de patrones de interferencia claros y nítidos que contienen la información tridimensional del objeto. La longitud de coherencia debe ser mayor que las diferencias de camino óptico entre los puntos del objeto y el holograma, para garantizar que la interferencia sea significativa y permita registrar información tridimensional [19][20].

Una vez que se han explicado los fenómenos ópticos relacionados con la holografía, en adelante, describiremos los procesos fundamentales para la obtención de un holograma, que son: el *registro o grabado* o el proceso de *reconstrucción digital*.

4.3. Grabado del holograma

Al proceso de obtener un patrón de interferencia a partir de la superposición de la onda objeto y la onda de referencia, para posteriormente grabarlo en un medio de registro, se le denomina *grabación del holograma* [1][19][20].

En holografía fotográfica clásica, el patrón de interferencia se registra en un material foto sensible, como películas o placas de haluro de plata y se reproducen permanentemente a través del desarrollo químico de la película [19].

En contraste, en holografía digital el patrón de interferencia es registrado directamente en un fotosensor electrónico tal como un CCD o un arreglo CMOS (semiconductor complementario de óxido metálico). De esta manera, la información digitalizada del holograma pasa directamente a la computadora [19]. Es importante señalar que, es posible generar un holograma a través de una simulación computacional de los frentes de onda, para lo cual, se obtiene un arreglo con la información del patrón de interferencia que puede ser impreso, o bien, manipulado computacionalmente dependiendo del objetivo que se tenga [5][23].

4.3.1. Tipos de hologramas

En la práctica, podemos encontrar hologramas de *amplitud* y hologramas de *fase* [5].

Llamamos *holograma de amplitud* al patrón de franjas claras y oscuras que afecta principalmente a la amplitud del haz de reconstrucción, obstruyendo parte del mismo de acuerdo al patrón de franjas generado en la etapa de grabación. En particular, durante la etapa de reconstrucción generan tres frentes de onda diferentes que corresponden al orden cero, orden +1 o imagen real y al orden -1 o imagen virtual del objeto. Los frentes de onda generados tendrán un ángulo de inclinación respecto al eje del sistema, el cual dependerá del ángulo entre la onda objeto y la onda de referencia en el proceso inicial de grabación o registro del holograma digital [5][20].

En contraste, denominamos *holograma de fase* a aquéllos que introducen un desplazamiento de fase en diversos puntos de la onda de reconstrucción y modifican ligeramente su amplitud. El desplazamiento o corrimiento de fase introducido en cada punto, está relacionado con el patrón de franjas generado en el proceso de registro [5][20].

De manera general, los principales tipos de configuraciones interferométricas usadas en holografía digital son: [27][5][20]:

Tipos de configuraciones interferométricas: {

- Holografía en línea
- Holografía de Fresnel fuera de eje
- Holografía de Fourier
- Holografía en el plano imagen
- Holografía de Gabor

Algunos hologramas dependen de la geometría del arreglo, esto es, que dependen del ángulo existente entre la onda objeto y la onda de referencia. En particular, para los hologramas en línea y fuera de eje, las franjas de sus patrones de interferencia se forman en la superficie del medio de registro. Por lo tanto, este tipo de hologramas se pueden grabar sobre películas delgadas y representarse por medio de matrices de dos dimensiones [19].

Hologramas en línea

Un *holograma en línea* u *holograma de transmisión en línea*, se produce cuando la onda de referencia y la onda objeto se encuentran en un ángulo de cero grados, lo que significa que sus direcciones de propagación son paralelas, como puede verse en la figura (4.2):

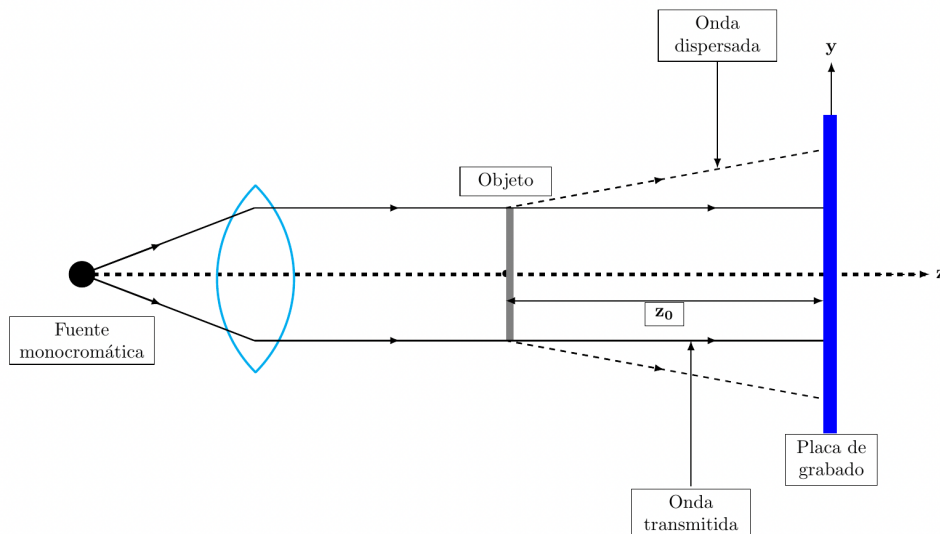


Figura 4.2: Geometría del registro de un holograma en línea

Originalmente, en el diseño de Gabor, iluminó el holograma con un haz de luz paralelo sobre un objeto predominantemente transparente. Tanto la onda objeto como la onda de referencia tenían ejes paralelos en su disposición [19]. De manera que, un único haz actúa simultáneamente como haz de referencia y como haz objeto. Como resultado, al reconstruir este holograma (figura (4.3)), se generó una imagen real que se superpuso en la parte no difractada de la onda de reconstrucción, junto con una imagen “gemela” o virtual en el mismo eje óptico. Esto es lo que se conoce como un holograma en línea de tipo Gabor. Esta configuración resulta particularmente útil cuando se desea obtener un holograma de un objeto transparente, el cual, al ser iluminado, modifica la estructura de la luz difractándola. La parte de la onda que atraviesa la transparencia sin difractarse es la onda de referencia. Luego, la onda difractada y la de referencia interfieren en el medio de registro [24]. En este tipo de hologramas pueden utilizarse fuentes de iluminación de baja coherencia o parcialmente coherentes [5].

Debido a que ambos haces se encuentran en línea, disminuye la frecuencia de las franjas de interferencia, como consecuencia a que el periodo de dichas franjas depende del ángulo entre la onda objeto y la onda de referencia [5].

En los hologramas de amplitud en línea, los tres frentes de onda generados por el holograma se

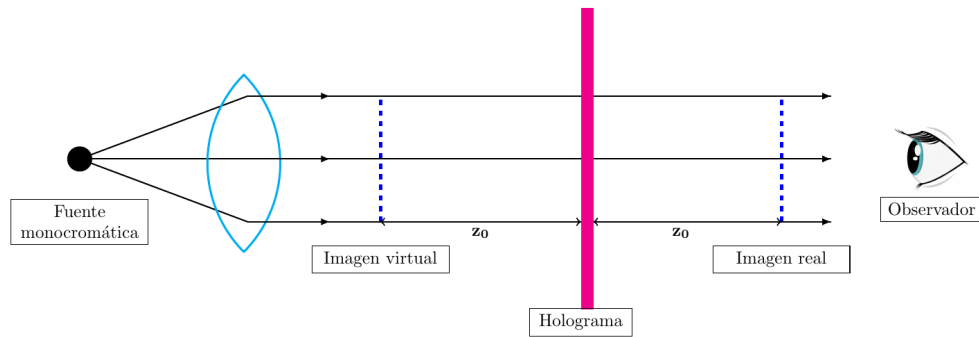


Figura 4.3: Reconstrucción de un holograma en línea

propagan sobre el mismo eje, lo que dificulta separar la información de cada término durante el proceso de reconstrucción del holograma. Lo anterior, provee de ruido y calidad deficiente a los objetos reconstruidos [5].

Hologramas fuera de eje

Cuando el arreglo geométrico que se tiene para la generación de un holograma produce un ángulo mayor que 0° y menor a 90° entre la onda objeto y la onda de referencia tenemos un *holograma fuera de eje*, figura (4.4). En 1962, Leith y Upatnieks [19] introdujeron una onda de referencia fuera de eje a un determinado ángulo oblicuo que no pasa a través del objeto. Este enfoque, separa espacialmente las dos imágenes y la onda de referencia permite la captura de objetos opacos [19]. Las franjas de interferencia, se forman en la superficie del medio de registro, de modo que se comportan como una rejilla de difracción plana y el espacio entre las franjas de interferencia es mucho mayor que el espesor del medio de registro [5].

Durante el proceso de reconstrucción (figura (4.5)), los frentes de onda o términos generados se propagarán con diferentes direcciones cada uno, lo que facilita la recuperación de la información del objeto, la cual será libre de ruido. En la reconstrucción de hologramas de amplitud fuera de eje, los vectores de dirección de cada frente de onda se encuentran en el mismo plano, sin embargo, forman un ángulo entre sí, que está directamente relacionado con el ángulo formado entre la onda de referencia y la onda objeto en el proceso de registro [5]. Para ángulos suficientemente grandes, los órdenes de difracción aparecerán completamente separados en el plano de reconstrucción del objeto [5] [20].

Durante el proceso de grabado o registro, la onda objeto es generada por una iluminación que se refleja o se transmite en un objeto, en donde cada punto del objeto actúa como una fuente puntual con un vector de dirección propio. Como hemos visto en capítulos anteriores, el frente de onda de la onda objeto se propagará, cambiando su estructura dependiendo de la distancia entre el objeto hasta el plano de detección [5]. De manera que, dependiendo de la distancia a la que se encuentre el plano de registro, se formarán diferentes tipos de hologramas, cada uno de los cuales con diferentes requerimientos de coherencia, muestreo y criterios de reconstrucción [5]. Dentro de esta característica de clasificación podemos encontrar a los siguientes hologramas:

Hologramas de Fresnel

La holografía de Fresnel se refiere a la configuración en donde el objeto se encuentra a una distancia finita desde el plano del holograma, es decir, la distancia existente entre el objeto y el plano de registro cumple con la condición de Fresnel para la propagación de campos y la onda de referencia es usualmente una onda plana. Posteriormente, las imágenes se forman en la posición del objeto y su posición espejo, con respecto al holograma. Para evitar la sobreposición o traslape de la onda de referencia y las imágenes, las ondas de referencia y objeto, se desplazan un determinado ángulo, como lo hicieron originalmente Leith y Upatnieks [19] [28]

En los hologramas de Fresnel, la expansión del campo aumenta en proporción a la distancia creciente entre el objeto y el holograma. La dispersión del campo difractado está influenciada por el ancho angular del objeto y la distancia de propagación del haz. Particularmente, el ancho angular del objeto se refiere

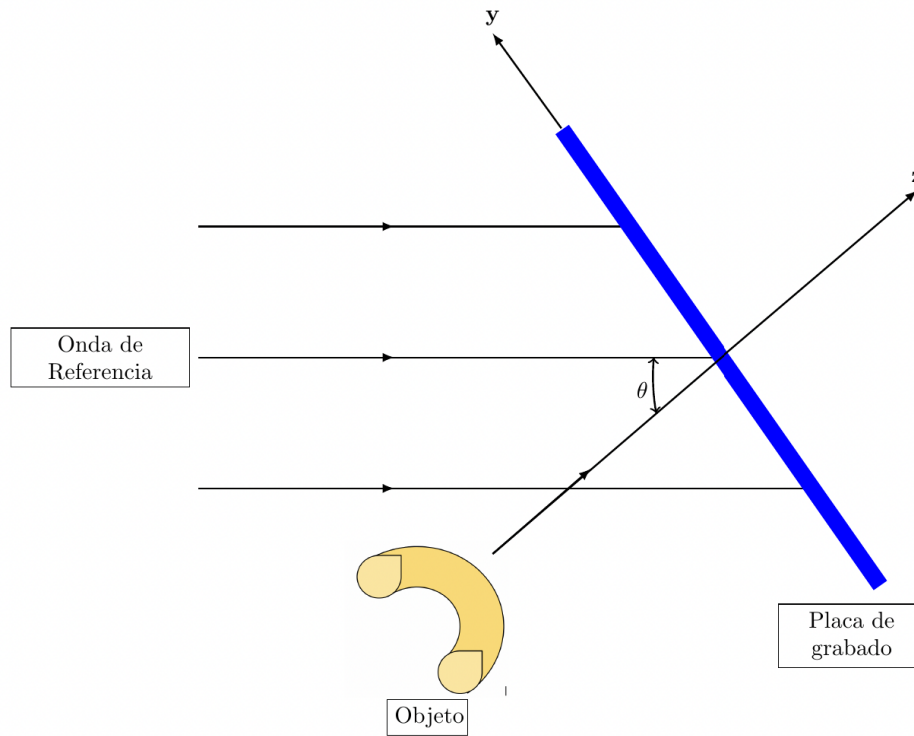


Figura 4.4: Geometría del registro de un holograma fuera de eje

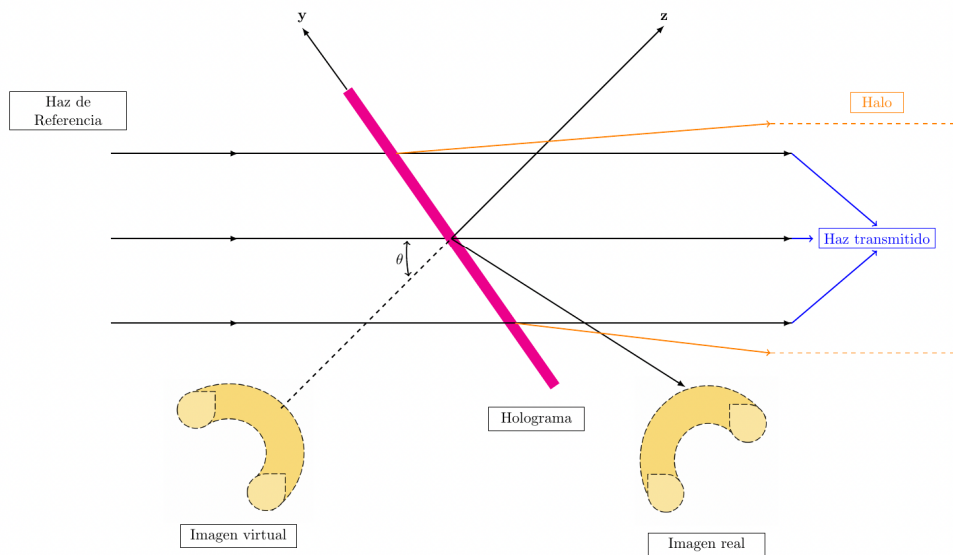


Figura 4.5: Reconstrucción de un holograma fuera de eje

al tamaño angular del cono de luz que es difractado por el objeto. El ancho de banda del objeto, está determinado por la longitud de onda de la luz empleada y el ancho angular del objeto en cuestión. En el proceso de grabación y reconstrucción de hologramas de este tipo, se requiere el uso de una fuente de iluminación altamente coherente. Los hologramas de Fresnel pueden generarse y reconstruirse en un rango

de distancias que dependen de las dimensiones del objeto y del medio de registro del holograma [5].

Hologramas de Fourier Una configuración de grabado interesante es aquella en la cual las amplitudes complejas de las ondas que interfieren en el holograma se transforman en las amplitudes complejas de las ondas originales del objeto y de referencia a través de una transformada de Fourier. Esto, generalmente se aplica cuando el objeto en cuestión tiene un grosor limitado, como una transparencia[27].

Para crear un holograma de Fourier, la transparencia del objeto se posiciona en el plano focal frente a una lente, y se ilumina con un haz de luz de una sola longitud de onda. El haz de referencia proviene de una fuente puntual ubicada también en el plano frontal focal de la lente. El registro del holograma se realiza en una placa fotográfica colocada en el plano focal posterior de la lente [27].

Para reconstruir la imagen, el holograma procesado se coloca nuevamente en el plano frontal focal de la lente y se ilumina con un haz de luz monocromática. En esta etapa, es esencial realizar una transformación de Fourier inversa en el holograma. Estos hologramas requieren un amplio rango dinámico durante el proceso de grabación para capturar de manera precisa toda la información de la transformada de Fourier del objeto. Esto es necesario, debido a que la mayor parte de la energía del espectro de Fourier de un objeto se concentra en su región central, lo que puede saturar rápidamente el medio de registro [27] [?]

Un rasgo característico de los hologramas de Fourier, es que la imagen reconstruida permanece inalterada cuando el holograma se desplaza en su propio plano. Esto se debe a que cualquier cambio en una función en el dominio espacial se traduce en una multiplicación por un factor de fase en su transformada de Fourier, lo cual no afecta la distribución de intensidad. Los hologramas de Fourier se consideran válidos en un solo plano, el de imagen o en el infinito, respectivamente [27][5].

Hologramas en el plano imagen En esta categoría de hologramas, una imagen real compuesta por rayos convergentes se genera en el mismo plano en el que se encuentra el medio de registro. En este escenario, cada punto del holograma recibe la luz difractada de una sección pequeña de la imagen del objeto, en lugar de capturar toda la imagen completa. Para su posterior reconstrucción, se necesita un nivel de coherencia mínimo, lo que posibilita el uso de luz blanca o luz extendida, especialmente para objetos que sean predominantemente planos [5] [27].

4.3.2. Importancia del sensor de imagen y procesamiento de imágenes digitales

Capturar una imagen a través de sensores es un proceso directo. En este método, la energía que entra, como la luz, se convierte en señales eléctricas utilizando una combinación de energía eléctrica y un material especial en el sensor. Este material está diseñado para responder a un tipo específico de energía detectada.

Cuando la luz golpea el sensor, se genera una señal eléctrica que refleja su intensidad y se presenta como una onda de voltaje, una especie de registro de la energía luminosa que impactó el sensor.

Posteriormente, es necesario transformar las señales analógicas de voltaje en una forma digital. Esta conversión digitaliza la respuesta del sensor, convirtiéndola en números que representan niveles precisos de voltaje. Cada uno de estos números corresponde a un sensor específico en el arreglo [22].

Frecuentemente, numerosos dispositivos de detección electromagnéticos y algunos ultrasónicos, están diseñados en un formato de matriz, en los cuales, la respuesta de cada sensor es proporcional a la integral de la energía de la luz proyectada en la superficie del sensor [22].

Dentro del procesamiento de imágenes digitales, una imagen se define como una función bidimensional, $g(x, y)$ donde x, y representan las coordenadas espaciales y la amplitud de g en cualquier par de coordenadas, se le conoce como *intensidad* o *nivel de grises* de una imagen en ese punto. El valor o amplitud de g en un punto (x, y) , es una cantidad escalar positiva diferente de cero, cuyo significado físico está determinado por la fuente de la imagen. Cuando una imagen es generada a través de un proceso físico, los valores de su intensidad son proporcionales a la energía radiada o emitida por una fuente física como por ejemplo, ondas electromagnéticas. Cabe destacar, que una imagen digital está compuesta por un número finito de elementos, cada uno de los cuales tiene un valor y ubicación particulares. Estos elementos se conocen como *elementos de la imagen* o *píxeles* (*picture elements*) [22].

La función $g(x, y)$ puede caracterizarse a través de dos componentes: la cantidad de iluminación de la fuente incidente en el arreglo y la cantidad de iluminación reflejada por el objeto en el arreglo. Estos componentes se conocen como *iluminación* y *reflectancia*, los cuales se denotan por $i(x, y)$ y $r(x, y)$ respectivamente. De manera que, las dos funciones se combinan para formar $g(x, y)$ [22]:

$$g(x, y) = i(x, y)r(x, y) \quad (4.12)$$

donde $0 < i(x, y) < \infty$ y $0 < r(x, y) < 1$. Note que la reflectancia está acotada entre 0 y 1, donde 0 representa absorción total y 1 reflectancia total. La naturaleza de $i(x, y)$ está determinada por la fuente de iluminación y $r(x, y)$ está determinada por las características de los objetos representados. Cuando las imágenes se forman vía transmisión de la iluminación a través de un medio, reemplazamos el término de reflectividad por el de *transmisividad*, el cual posee el mismo dominio [22].

La salida de la mayoría de sensores es una onda de voltaje continua cuya amplitud y comportamiento espacial están relacionados con el fenómeno físico que se está detectando. Para crear una imagen digital, es necesario convertir los datos detectados en una forma digital, lo cual involucra dos procesos: *muestreo* o *sampling* y *cuantización* o *quantization*, por sus siglas en inglés [22].

Para convertir una imagen que es continua con respecto a sus coordenadas x, y y también en amplitud, a su forma digital, debemos muestrear la función en ambas coordenadas y en amplitud. Llamamos *muestreo*, al proceso de digitalizar los valores de las coordenadas y *cuantización*, al proceso de digitalizar los valores de amplitud. En la práctica, el método de muestreo está determinado por el arreglo del sensor usado para generar la imagen y los límites de la precisión del muestreo estarán determinados por factores como la calidad de los componentes ópticos del sistema. La calidad de una imagen está determinada ampliamente por el número de muestras y niveles discretos de intensidad usados en el muestreo y cuantización, sin embargo, el contenido de la imagen es una consideración igualmente importante para elegir estos parámetros. [22].

4.3.3. Demodulación de hologramas digitales

Hemos visto que el holograma digital puede describirse a través de las expresiones (4.6) y (4.7), donde el término $+1$ es el término de interés pues incluye la onda objeto a través del término $U_r^*U_O$. El término -1 , $U_rU_O^*$, es el complejo conjugado de $U_r^*U_O$, y este también incluye la información completa de la onda objeto. La *demodulación del holograma digital* consiste en recuperar el orden $+1$ del registro de H , para lo cual existen diversos métodos para llevar a cabo la *demodulación*, como lo son: usar geometría ligeramente fuera de eje en el proceso de grabado, *cambio de fase* o *phase shifting*, por sus siglas en inglés, *cambio de fase paralela* y *holografía digital heterodina* o *heterodyne digital holography* por sus siglas en inglés[20]. A continuación describiremos los primeros dos métodos.

Hologramas fuera de eje. Los hologramas fuera de eje introducen una frecuencia espacial y la demodulación permite recuperar el contenido de la frecuencia espacial completa del frente de onda, es decir, el término correspondiente al orden $+1$, $U_r^*U_O$. Cuando $(u_0, v_0) \neq (0, 0)$ existe una ligera inclinación entre las dos ondas y el holograma está fuera de eje. De manera práctica, los diferentes términos de difracción codificados en el holograma (la onda correspondiente al término cero, la imagen real y la imagen virtual) se propagan en diferentes direcciones, permitiendo su separación para la respectiva reconstrucción [20]. Este tipo de métodos, es decir, aquellos basados en una configuración de hologramas fuera de eje, están basados en la teoría de Fourier y sus métodos que les permite filtrar uno de los términos de difracción contenidos en el holograma, esto es, $U_r^*U_O$ o $U_rU_O^*$.

A partir de la ecuación (4.7), en el espectro de la frecuencia espacial, una distribución trimodal está relacionada con los tres órdenes de difracción del holograma FT y FT^{-1} , esto es, la transformada de Fourier y su inversa. De manera que, al aplicarle una Transformada de Fourier a la ecuación (4.10), estará expresada en el dominio de frecuencias a través de:

$$FT[H](u, v) = C_0(u, v) + C_1(u - u_0, v - v_0) + C_1^*(-u - u_0, -v - v_0) \quad (4.13)$$

donde C_0 es la transformada de Fourier del orden cero ($|U_r|^2 + |U_O|^2$) y C_1 es la transformada de Fourier del orden $+1$. Si los tres órdenes estuvieran bien separados en el plano de Fourier, el orden $+1$ podría extraerse

del espectro de Fourier, como puede verse a partir de la figura (4.6), donde se ilustra la distribución espectral en el dominio de Fourier del holograma digital. Las frecuencias espaciales (u_0, v_0) , localizan la información

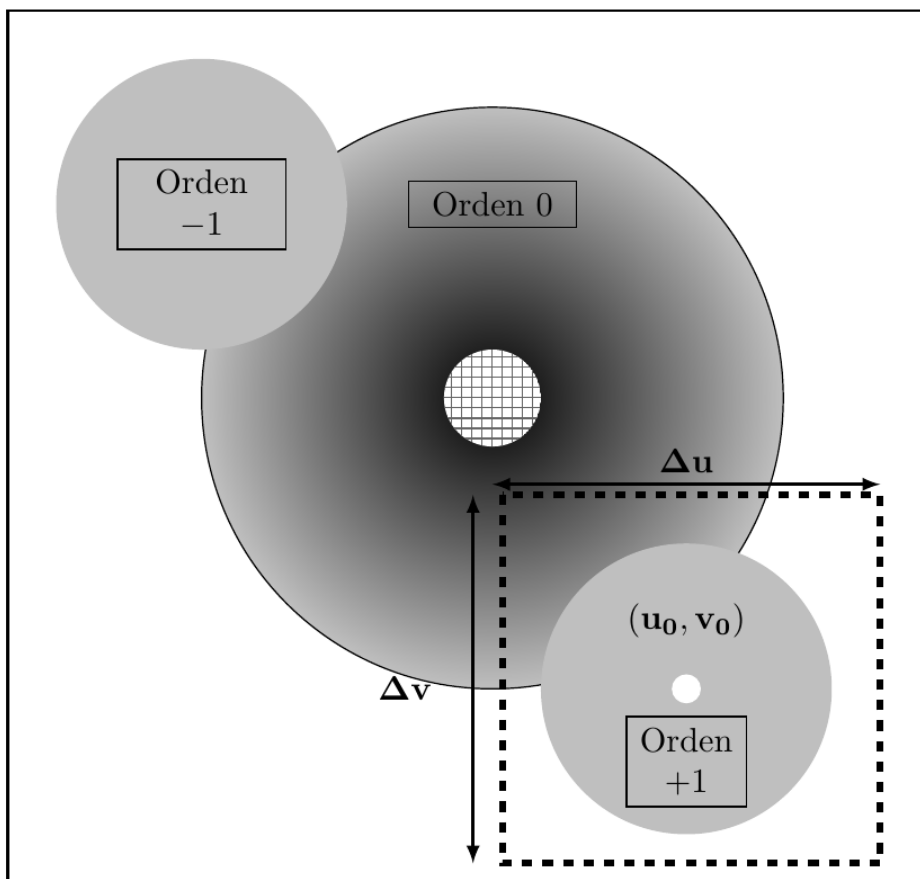


Figura 4.6: Distribución espectral de los tres órdenes y filtrado espectral

de interés y deben ajustarse para minimizar la superposición de los tres órdenes de difracción [20]. Al aplicar un filtro de ancho de banda limitado $(\Delta u \times \Delta v)$, alrededor de la frecuencia espacial (u_0, v_0) , y después de filtrar y aplicar la transformada de Fourier inversa bidimensional, podemos obtener la amplitud compleja del objeto:

$$O_{+1}(x, y) = FT^{-1} [C_1(u - u_0, v - v_0)] \quad (4.14)$$

$$\cong a_r \{a_O(x, y) \exp[i\phi_O(x, y)] \exp[2i\pi(u_0x + v_0y)]\} \otimes h(x, y) \quad (4.15)$$

donde \otimes es el operador de convolución y $h(x, y)$ es la respuesta al impulso correspondiente al filtrado aplicado en el dominio de Fourier.

La respuesta al impulso del filtro es tal que:

$$h(x, y) = \Delta u \Delta v \exp[2i\pi(u_0x + v_0y)] \text{sinc}(\pi \Delta u x) \text{sinc}(\pi \Delta v y) \quad (4.16)$$

La *resolución espacial* está relacionada entonces a $1/\Delta u$ y $1/\Delta v$, respectivamente, en el eje xy . Además, la fase recuperada con (4.16) incluye la modulación espacial que debe ser removida. Lo cual puede alcanzarse si multiplicamos O_{+1} por $\exp[-2i\pi(u_0x + v_0y)]$

Note que un filtro que posee un ancho de banda circular, en lugar de uno rectangular, puede ser usado. En ese caso, la respuesta al impulso del filtro es proporcional a una J_0 función de Bessel [19]. De manera que, la fase óptica del objeto en el plano del holograma puede ser estimada a través de la siguiente relación:

$$\phi_O(x, y) = \tan^{-1} \left(\frac{\Im_m [O_{+1}(x, y)]}{\Re_e [O_{+1}(x, y)]} \right) \quad (4.17)$$

y la amplitud del objeto a través de la siguiente expresión:

$$a_O(x, y) = \sqrt{\Im_m^2 [O_{+1}(x, y)] + \Re_e^2 [O_{+1}(x, y)]} \quad (4.18)$$

en ambas expresiones, estamos considerando las partes reales e imaginarias, \Re_e , \Im_m , de valores complejos, respectivamente [20].

La principal ventaja de este enfoque es su capacidad para recuperar la onda compleja del objeto a través de una sola adquisición. Por lo tanto, no existe una pérdida de tiempo al mover espejos o realizando el proceso de heterodinización¹ y la influencia de las vibraciones se reduce significativamente. No obstante, a pesar de que los términos de difracción están espacialmente codificados en el holograma, esta capacidad de un solo disparo, potencialmente tiene el costo del ancho de banda de banda utilizable, esto es, el filtro con ancho $(\Delta u \times \Delta v)$. Además, la modulación de frecuencia, inducida por el ángulo entre la onda de referencia y la onda objeto, garantiza la separación de la información contenida en los diferentes términos de difracción que están codificados en el holograma, mientras que porta una frecuencia compatible con la capacidad de muestreo de los detectores digitales [20].

Sin embargo, dentro de la microscopía, el objetivo del microscopio usualmente permite adaptar apropiadamente el campo de la onda objeto a la capacidad de muestreo de la cámara. Los componentes laterales del vector de onda k_{xoy} , se dividen entre el factor de amplificación M del objetivo del microscopio. En la práctica, cuando se emplea una cámara estándar con pixeles de unas cuantas micras, el objetivo del microscopio con una amplificación más grande que $\times 20$, hace posible obtener una resolución limitada por difracción aún cuando se consideran aperturas numéricas (NA) muy altas [20]. También debemos mencionar que la reconstrucción numérica del frente de onda, particularmente su propgación, representa un gran avance en el campo de la óptica moderna, específicamente en el campo de la microscopía [20]. De hecho, es posible no solo alcanzar un autoenfoco fuera de eje sino también extender la profundidad de foco. Estos procedimientos numéricos de reconstrucción nos permiten no solo imitar sistemas ópticos complejos, sino también compensar aberraciones, distorsiones y ruido experimental, llevando al desarrollo de configuraciones de SO robustas y simplificadas que sean capaces de medir cuantitativamente longitudes de camino óptico con gran resolución [20].

En particular, el objetivo del presente trabajo es corregir este tipo de aberraciones, desenfoque, extendiendo la profundidad de campo al usar un filtro de fase cúbica.

4.4. Modelos matemáticos

Previamente, discutimos la teoría básica del grabado de un holograma digital, así como su demodulación. El objetivo de esta sección es complementar la teoría escalar de difracción de la luz que abordamos en capítulos anteriores para poder discutir acerca del proceso de reconstrucción digital del holograma.

Algunos algoritmos usados para retropropagar el campo objeto estimado en el plano del sensor, están basados en modelos de la teoría escalar de difracción de la luz [20].

4.4.1. Ecuación de propagación de la luz

En el capítulo uno, mencionamos que el campo propagado producido por una perturbación proveniente de una abertura circular, en el punto de observación $P = (x, y)$, a la distancia z , con una longitud de onda

¹La heterodinización es un proceso que analiza señales, amplificando señales débiles y separa componentes de frecuencia en una señal compleja. Es una técnica útil para obtener información detallada sobre una muestra o un objeto mediante la generación de un holograma y la manipulación de la señal obtenida [22][20].

λ y un número de onda $k = \frac{2\pi}{\lambda}$, se denota a través de $U(x, y)$. Mencionamos previamente que, para una onda que se propaga en un medio homogéneo, el frente de onda es una superficie ortogonal a la dirección de propagación. En particular, una onda plana que se propaga en un medio homogéneo puede escribirse como:

$$U(x, y, z) = A_0 \exp[ik(x \cos \alpha + y \cos \beta + z \cos \gamma)] \quad (4.19)$$

La dirección de propagación puede definirse a través de los cosenos directores $\cos \alpha, \cos \beta$ y $\cos \gamma$. De manera que, para un número real C , la expresión $x \cos \alpha + y \cos \beta + z \cos \gamma = C$ describe la fase plana cuya normal se encuentra en la dirección dada por los cosenos $\cos \alpha, \cos \beta$ y $\cos \gamma$. Diferentes valores de C están asociados a planos paralelos diferentes, por lo que la expresión (4.19) representa a una onda que se propaga en dirección ortogonal a estos planos [20].

Debido al aspecto electromagnético de la luz, ésta puede ser descrita por la teoría clásica de electromagnetismo a través de las ecuaciones de Maxwell. En particular, para un medio homogéneo, las ecuaciones de Maxwell pueden reducirse para obtener la *ecuación de propagación de la luz* o ecuación de onda, la cual está dada por:

$$\nabla^2 \mathbf{E} - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} = 0 \quad (4.20)$$

donde $\nabla^2 \mathbf{E}$ es el operador Laplaciano del campo eléctrico que representa la tasa de cambio de la luz en el espacio y c es la velocidad de la luz en el medio. En lo que sigue, consideramos la dependencia temporal del frente de onda óptico de manera implícita y no la incluiremos en las ecuaciones descritas por la teoría de difracción escalar.

4.4.2. Función de transferencia de espectro angular

Dado que estamos considerando una dependencia no explícita del tiempo t , si sustituimos $U(x, y)$ en la ecuación de propagación de la luz (4.20), obtenemos la ecuación de Helmholtz, la cual describe la propagación de la luz en un medio estacionario, esto es:

$$-\omega U(x, y) + c^2 \nabla^2 U(x, y) = 0 \quad (4.21)$$

$$\nabla^2 U(x, y) - \frac{\omega^2}{c^2} U(x, y) = 0 \quad (4.22)$$

$$\Rightarrow \nabla^2 U(x, y) - k^2 U(x, y) = 0 \quad (4.23)$$

donde el número de onda $k = \frac{\omega}{c}$ está relacionado con la frecuencia angular, ω [20]. La ecuación (4.23) puede escribirse como:

$$(\nabla^2 + k^2) U(P) = 0 \quad (4.24)$$

expresión que es independiente del tiempo y que puede resolverse en el dominio de Fourier.

Previamente, mencionamos que la distancia z es la distancia de separación entre el plano inicial o plano objeto, $U(x_o, y_o, 0)$, y el plano de observación o plano imagen de nuestro sistema óptico $U(x, y, z)$ (el campo propagado). Ambas expresiones representan la amplitud compleja de estos dos planos pues son las que llevan consigo la información de amplitud y fase.

En el espacio de frecuencias o dominio de Fourier, los espectros de ambos planos pueden describirse a través de $G_0(u, v)$, espectro en el plano objeto, y $G_z(u, v)$, espectro en el plano de observación. Recordemos que (u, v) son las frecuencias asociadas a las coordenadas espaciales. Luego, podemos describir a ambos espectros de la siguiente forma [20]:

$$G_0(u, v) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U(x_p, y_p, 0) \exp[-2i\pi(ux + vy)] dx dy \quad (4.25)$$

$$G_z(u, v) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U(x, y, z) \exp[-2i\pi(ux + vy)] dx dy \quad (4.26)$$

Ahora, se propone la siguiente solución a la ecuación de Helmholtz, expresada en términos de los componentes de Fourier de $U(x_o, y_o, 0)$ y $U(x, y, z)$ tal que:

$$G_z(u, v) = G_0(u, v) \exp \left[\frac{2i\pi}{\lambda} z \sqrt{1 - (\lambda u)^2 - (\lambda v)^2} \right] \quad (4.27)$$

La expresión anterior es conocida como la *ecuación de propagación del espectro angular* y representa el espectro del campo propagado. Donde $G_0(u, v)$ es la Transformada de Fourier del campo original (espectro en el plano inicial) y el término (4.28):

$$G(u, v) = \exp \left[\frac{2i\pi}{\lambda} z \sqrt{1 - (\lambda u)^2 - (\lambda v)^2} \right] \quad (4.28)$$

es un factor de retraso de fase conocido como *factor de propagación del espectro angular* [20].

De acuerdo al Teorema de la convolución, sabemos que el espectro o Transformada de Fourier de una convolución es igual a la multiplicación de los espectros de las funciones que convolucionan [1], de manera que:

$$G_z = \mathcal{F} \{U(x, y, z)\} \quad (4.29)$$

$$= \mathcal{F} \{U(x_p, y_p, 0) \otimes g\} \quad (4.30)$$

$$= (\mathcal{F} \{U(x_p, y_p, 0)\}) * (\mathcal{F} \{g\}) \quad (4.31)$$

$$\Rightarrow G_z = G_0 * G \quad (4.32)$$

Donde $\mathcal{F}, \mathcal{F}^{-1}$ denotan a la Transformada de Fourier y la Transformada de Fourier inversa, \otimes es el operador de convolución y $*$ la multiplicación usual. Además, de acuerdo a la teoría de sistemas lineales, $U(x_o, y_o, 0)$ representa el frente de onda original o campo inicial, que posee la información del objeto y g es la función de respuesta al impulso o (psf) [1], que en este caso, representa la Transformada de Fourier inversa del factor de propagación.

De manera que, si obtenemos el espectro de $U(x_o, y_o, 0)$, es decir $G_0(u, v)$ y tomamos la Transformada de Fourier inversa de $G_z(u, v)$ (4.32), podemos recuperar el campo complejo en el plano de observación a la distancia z , luego, el proceso de difracción puede ser calculado de la siguiente manera:

$$\mathcal{F}^{-1} \{G_z(u, v)\} = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} G_z(u, v) \exp[2i\pi(ux + vy)] dudv \quad (4.33)$$

$$U(x, y, z) = \mathcal{F}^{-1} \{G_0 * G\} \quad (4.34)$$

$$\Rightarrow U(x, y, z) = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \mathcal{F} \{U(x_p, y_p, 0)\} \exp \left[\frac{2i\pi}{\lambda} z \sqrt{1 - (\lambda u)^2 - (\lambda v)^2} \right] \right\} \quad (4.35)$$

Podemos notar que el campo $U(x, y, z)$ se puede considerar como la superposición de ondas planas de amplitud $G_z(u, v) dudv$ que se propagan en la dirección cuyos cosenos son

$$\{\cos\alpha, \cos\beta, \cos\gamma\} = \left\{ \lambda u, \lambda v, \sqrt{1 - (\lambda u)^2 - (\lambda v)^2} \right\}.$$

Esta expresión (4.35), puede escribirse como una convolución:

$$U(x, y, z) = U(x_p, y_p, 0) \otimes \mathcal{F}^{-1} \{G(u, v)\} \quad (4.36)$$

La propagación del espectro angular puede describirse mediante la Transformada de Fourier pues esta permite relacionar la amplitud y fase en el espectro angular antes y después de la propagación a través del

sistema óptico, como puede observarse en (4.35).

En el plano de frecuencias, esta relación muestra una variación espectral en amplitud compleja causada por la propagación de la luz sobre la distancia z , la cual puede caracterizarse a través del *factor de propagación del espectro angular*, $G(u, v)$ [20].

Podemos conectar este factor de propagación $G(u, v)$, con la teoría de sistemas lineales, bajo la cual este factor de propagación puede entenderse como una función de transferencia en el espacio de frecuencias debido a que como hemos descrito anteriormente, el fenómeno de difracción es una transformación del campo electromagnético a través de un sistema óptico [1] [20].

Una observación interesante es que en la difracción de espectro angular, si las ondas satisfacen $1 - (\lambda v)^2 - (\lambda u)^2 < 0$, entonces estas son atenuadas por la propagación, es decir que todos los componentes que satisfacen esta condición solo puedan existir en una zona muy cercana al plano inicial. Por otra parte si se satisface la condición $1 - (\lambda v)^2 - (\lambda u)^2 > 0$, es decir que la suma de frecuencias cuadradas $u^2 + v^2 < \frac{1}{\lambda^2}$, entonces en el espacio de frecuencias la propagación en el espacio libre se considera como un filtro pasa bajas de radio $1/\lambda$ [20].

Esta interpretación en particular, de la propagación de la luz vista a través de la teoría de sistemas lineales, se conoce como *propagación del espectro angular*. Y su función de transferencia asociada se conoce como *función de transferencia del espectro angular* para la propagación de un campo en el espacio libre [20][5]. Lo que se busca con esta interpretación, es describir el cambio de las características del campo electromagnético que se propaga a través del SO. Y como consecuencia, entender las diferentes longitudes de onda y fases del campo electromagnético que se propaga, pues este modelo considera a cada frecuencia del espectro del campo como una onda plana que se va propagando con un vector de dirección dado. Al utilizar el método de propagación por espectro angular preservamos el sistema de coordenadas tanto en el campo propagado como en el campo original [5].

4.5. Reconstrucción numérica de hologramas digitales

El último proceso fundamental en holografía es la reconstrucción, que tiene como objetivo recuperar la información del haz objeto codificado en el holograma.

Habíamos obtenido la expresión que describe al holograma o interferograma dada por (4.6), donde:

$$H = |U_r + U_o|^2 \quad (4.37)$$

usando la representación en amplitud compleja de cada onda tenemos que:

$$H = |U_r|^2 + |U_o|^2 + 2|U_r||U_o|\Delta\phi \quad (4.38)$$

$$= |U_r|^2 + |U_o|^2 + 2|U_r||U_o|\cos(\phi_o - \phi_r) \quad (4.39)$$

$$(4.40)$$

aplicando la identidad de Euler al tercer término de la expresión anterior podemos escribir la diferencia de fases de la siguiente forma:

$$2|U_r||U_o|\cos(\phi_o - \phi_r) = |U_r||U_o| \left[e^{i(\phi_o - \phi_r)} + e^{-i(\phi_o - \phi_r)} \right] \quad (4.41)$$

$$= |U_o|e^{i\phi_o}|U_r|e^{-i\phi_r} + |U_r|e^{i\phi_r}|U_o|e^{-i\phi_o} \quad (4.42)$$

$$= U_o U_r^* + U_o^* U_r \quad (4.43)$$

De manera que:

$$H = |U_r|^2 + |U_o|^2 + U_o U_r^* + U_o^* U_r \quad (4.44)$$

Podemos notar a partir de la expresión anterior que si multiplicamos el holograma por un haz igual al de referencia se puede recuperar completamente el campo complejo del objeto modulado por el cuadrado de la amplitud de la onda de referencia [19] [5], esto es, :

$$U_r H = U_r(|U_r|^2 + |U_O|^2) + U_r(U_O U_r^*) + U_r(U_O^* U_r) \quad (4.45)$$

$$U_r H = U_r(|U_r|^2 + |U_O|^2) + |U_r|^2 U_O + U_r^2 U_O^* \quad (4.46)$$

Y si elegimos una amplitud constante o igual a 1 para la onda de referencia el campo complejo permanecerá invariante ante la modulación y por lo tanto podrá recuperarse completamente.

En la reconstrucción óptica clásica, una vez que se tiene el patrón de interferencia grabado, la onda objeto original se reconstruye al iluminar el holograma con la misma onda de referencia con la que se grabó el interferograma, sin embargo, la única consideración que se hace para ello, es que el haz de iluminación debe propagarse en sentido opuesto respecto a la placa del holograma, es decir, este haz debe ser el complejo conjugado del haz de referencia para poder formar una imagen real del objeto [5]. De manera que la expresión (4.46) se vuelve:

$$U_r^* H = U_r^*(|U_r|^2 + |U_O|^2) + (U_r^*)^2 U_O + U_O |U_r|^2 \quad (4.47)$$

Una vez incidida la réplica de la onda de referencia sobre el interferograma, se forma una imagen virtual o primaria a una distancia z_0 atrás del plano del sensor vista por un observador. La imagen real o secundaria también se forma a una distancia z_0 del sensor pero en frente de él, entre éste y el observador, ver figura (4.3) [19].

Digitalmente, se puede reconstruir el holograma a través de una simulación computacional, particularmente, el holograma debe ser digitalizado e introducido en la computadora como una matriz de datos a la cual se le aplicarán los modelos matemáticos de propagación de la luz, como el modelo de propagación del espectro angular. Posteriormente, y en contraste a la reconstrucción en holografía clásica, no se forma una imagen física ni en el espacio real ni en el virtual. La reconstrucción digital numérica a través de una computadora en un plano dado, produce una imagen real o una virtual en el monitor [19][5].

A continuación describiremos algunos enfoques para realizar el proceso de reconstrucción numérica, así como el proceso de retropropagación implementado en este trabajo.

4.5.1. Reconstrucción a través de la Aproximación de Fresnel

La reconstrucción numérica con la transformada discreta de Fresnel está basada en la integral de difracción de Fresnel que analizamos en el primer capítulo, la cual describe el proceso de un campo cuando se difracta y se propaga a una distancia corta del plano de observación, ver(2.4). Usando el sistema coordenado de la figura (4.7), una onda electromagnética que se difracta en una abertura, en este caso, un holograma H , y es perpendicular a un haz incidente, puede describirse a través de la integral de Fresnel-Kirchhoff. El patrón de difracción se calcula a una distancia z_0 detrás del plano del sensor, de tal forma que reconstruya la amplitud compleja de la onda en el plano real de la imagen [19] [20]. Esto constituye una característica relevante de la Holografía Digital sobre la técnica clásica, pues a través de la representación compleja es posible recuperar la información completa del objeto y no solo su intensidad.

De manera que para reconstruir numéricamente una imagen real no distorsionada consideraremos la expresión (4.47) en la integral de difracción de aproximación de Fresnel, esto es [19]:

$$\Gamma(x, y) = \frac{i}{\lambda z_0} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} z_0\right) \times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U_r^*(x_p, y_p) H(x_p, y_p) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda z_0} ((x - x_p)^2 + (y - y_p)^2)\right] dx_p dy_p \quad (4.48)$$

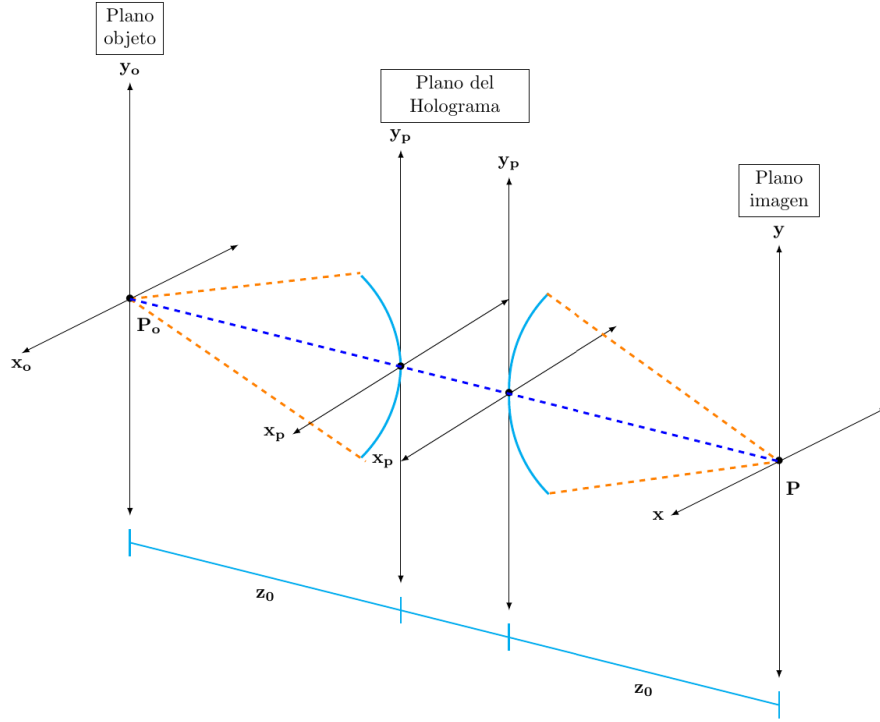


Figura 4.7: Sistema coordinado para la reconstrucción numérica del holograma.

que puede reescribirse como:

$$\begin{aligned} \Gamma(x, y) = & \frac{i}{\lambda z_0} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} z_0\right) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda z_0} (x^2 + y^2)\right] \times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U_r^*(x_p, y_p) H(x_p, y_p) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda z_0} (x_p^2 + y_p^2)\right] \\ & \times \exp\left[i \frac{2\pi}{\lambda z_0} (x_p x + y_p y)\right] dx_p dy_p \end{aligned} \quad (4.49)$$

La expresión (4.49) se conoce como *Aproximación de Fresnel* y permite la reconstrucción del campo de ondas en el plano real de la imagen. Luego, su intensidad está dada por [19]:

$$I(x, y) = |\Gamma(x, y)|^2 \quad (4.50)$$

y su fase:

$$\phi(x, y) = \arctan \frac{\Im_m [\Gamma(x, y)]}{\Re_e [\Gamma(x, y)]} \quad (4.51)$$

donde \Re_e y \Im_m denotan a la parte real y a la parte compleja de la onda respectivamente.

Para digitalizar la transformada de Fresnel (4.49), sustituimos en esta expresión a las frecuencias espaciales $u = \frac{x}{\lambda z_0}$ y $v = \frac{y}{\lambda z_0}$. Luego, :

$$\begin{aligned} \Gamma(u, v) = & \frac{i}{\lambda z_0} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp\left[-i \pi \lambda d (u^2 + v^2)\right] \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U_r^*(x_p, y_p) H(x_p, y_p) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda z_0} (x_p^2 + y_p^2)\right] \\ & \times \exp[i 2\pi (x_p u + y_p v)] dx_p dy_p \end{aligned} \quad (4.52)$$

Note que la expresión anterior (4.52) corresponde a la transformada inversa de Fourier de la función

$$U_r^*(x_p, y_p)H(x_p, y_p)\exp[-i\pi/\lambda z_0(x_p^2 + y_p^2)]$$

por lo que la *aproximación de Fresnel*, también recibe el nombre de *Transformada de Fresnel* [20] [19].

Es importante destacar que la función Γ puede digitalizarse si la función del holograma es muestreada en un mapa de bits de $N \times N$ puntos con espaciado de muestreo Δx_p y Δy_p a lo largo de las coordenadas. Esto significa que la distancia entre píxeles vecinos en el arreglo del sensor sobre las direcciones horizontales y verticales estarán dadas por Δx_p y Δy_p . Por lo que se sustituyen las integrales por sumas finitas y los valores discretos antes mencionados en la expresión (4.52), es decir:

$$\begin{aligned} \Gamma(m, n) = & \frac{i}{\lambda z_0} \exp\left(-i\frac{2\pi}{\lambda} z_0\right) \exp[-i\pi\lambda z_0(m^2 \Delta u^2 + n^2 \Delta v^2)] \sum_{k=0}^{N-1} \sum_{l=0}^{N-1} U_r^*(k, l)H(k, l) \\ & \times \exp\left[-i\frac{\pi}{\lambda z_0}(k^2 \Delta x_p^2 + l^2 \Delta y_p^2)\right] \exp[i2\pi(k\Delta x_p m \Delta u + l\Delta y_p n \Delta v)] \end{aligned} \quad (4.53)$$

para $m = 0, 1, \dots, N-1$ y $n = 0, 1, \dots, N-1$.

De acuerdo con los procedimientos de la Transformada de Fourier podemos reescribir Δu y Δv , en términos de Δx_p y Δy_p , tal que [19]

$$\Delta u = \frac{1}{N\Delta x_p}; \quad \Delta v = \frac{1}{N\Delta y_p} \quad (4.54)$$

Luego, sustituyendo nuevamente estos valores:

$$\Delta x = \frac{\lambda z_0}{N\Delta x_p}; \quad \Delta y = \frac{\lambda z_0}{N\Delta y_p} \quad (4.55)$$

Finalmente, sustituyendo estos nuevos valores en (4.53) tenemos:

$$\begin{aligned} \Gamma(m, n) = & \frac{i}{\lambda z_0} \exp\left(-i\frac{2\pi}{\lambda} z_0\right) \exp\left[-i\pi\lambda z_0\left(\frac{m^2}{N^2\Delta x_p^2} + \frac{n^2}{N^2\Delta y_p^2}\right)\right] \sum_{k=0}^{N-1} \sum_{l=0}^{N-1} U_r^*(k, l)H(x_p, y_p) \\ & \times \exp\left[-i\frac{\pi}{\lambda z_0}(k^2 \Delta x_p^2 + l^2 \Delta y_p^2)\right] \exp\left[i2\pi\left(\frac{km}{N} + \frac{ln}{N}\right)\right] \end{aligned} \quad (4.56)$$

Esta expresión es la *aproximación discreta de Fresnel* o *Transformada discreta de Fresnel*. La función Γ se evalúa multiplicándola por $U_r^*(k, l)$ con $H(k, l)$ y $\exp[-i\pi/(\lambda z)(k^2 \Delta x^2 + l^2 \Delta y^2)]$, seguida de la aplicación de una transformada inversa discreta de Fourier al producto. Si se aplica el algoritmo de la Transformada de Fourier Rápida (FFT) este cálculo puede realizarse más eficientemente [19].

Debido a la geometría fuera de eje, la imagen está espacialmente separada del término de orden cero. Cabe destacar que otra de las propiedades interesantes que se observan con este método es que cada parte del holograma contiene toda la información sobre el objeto completo, de manera que si se aplicara una máscara al holograma, el objeto sería visible aún en la reconstrucción y la máscara o filtro aparecería como sombras en los términos de orden cero. Sin embargo, esto ocasionaría una pérdida considerable del número de píxeles efectivos y por lo tanto, una resolución reducida en las imágenes reconstruidas [19].

Existe una forma alternativa de obtener la aproximación discreta de Fresnel que es, el algoritmo de la Transformada de Fresnel con demodulación [20].

Transformada Discreta de Fresnel con Demodulación

La reconstrucción numérica con la Transformada discreta de Fresnel con demodulación es un algoritmo que está basado en la versión discreta de la ecuación aproximada de difracción para la propagación de campos de Fresnel y considera al plano del holograma como plano de entrada. El muestreo espacial en el plano del holograma está dado por: $(x_p, y_p) = (np_x, mp_y)$ donde $(m; n) \in (-M/2, +M/2 - 1; -N/2, +N/2 - 1)$. Para cualquier distancia z_0 desde el plano de grabado, el campo del objeto reconstruido puede calcularse a través de la siguiente expresión [20]:

$$A_r(x, y, z_0) = -\frac{i}{\lambda z_0} \exp\left(\frac{2i\pi z_0}{\lambda}\right) \exp\left[\frac{i\pi}{\lambda z_0}(x^2 + y^2)\right] \times \sum_{l=-L/2}^{l=+L/2} \sum_{k=-K/2}^{k=+K/2} U_O(lp_x, kp_y) \exp\left[\frac{i\pi}{\lambda d_r}(l^2 p_x^2 + k^2 p_y^2)\right] \times \exp\left[-\frac{2i\pi}{\lambda d_r}(lp_x x + kp_y y)\right] \quad (4.57)$$

El campo del objeto, U_O en el plano del sensor debe ser estimado previamente a través del proceso de demodulación, ver sección (4.3.3). El objetivo de la demodulación es recuperar el orden $+1$, de los órdenes de difracción codificados en el holograma, pues este es el que lleva la información del objeto. Las frecuencias espaciales (u, v_0) deben ajustarse correctamente para evitar la superposición de los términos de difracción. Posteriormente, se aplica un filtro de ancho de banda limitado $(\Delta u \times \Delta v)$ alrededor de las frecuencias espaciales (u, v_0) . Luego, después del filtrado, se usa la Transformada de Fourier para localizarnos en el espectro de frecuencias y se selecciona el orden $+1$ y usando la Transformada de Fourier inversa podemos obtener la amplitud compleja del objeto, así como su amplitud (4.17) y su fase (4.18) [20].

Una característica importante de este enfoque es que tanto U_O como el holograma completo, H (4.7) pueden usarse en (4.57) para calcular el campo propagado a la distancia z_0 , debido a que en la holografía fuera de eje, los diferentes órdenes de difracción codificados se propagan en direcciones diferentes, permitiendo su separación para su posterior reconstrucción [20].

La localización espacial está relacionada con las frecuencias espaciales portadoras del holograma, $(x_0, y_0) = (\lambda z_0 u_0, \lambda z_0 v_0)$. Una de las restricciones para este enfoque es que las frecuencias portadoras espaciales estén correctamente ajustadas para que no exista superposición entre los órdenes de difracción. Además, dado que el procesador no puede calcular indefinidamente, se debe tomar en cuenta el muestreo espacial en el plano reconstruido, el cual puede ser muestreado considerando $(K, L) \geq (M, N)$ píxeles. Donde el espacio de muestreo es igual a $\Delta\eta = \lambda z_0 / L p_x$ y $\Delta\xi = \lambda z_0 / K p_y$ [20]. De manera que el muestreo espacial en el plano de la imagen es simplemente $x = l\Delta\eta$ y $y = k\Delta\xi$ con l y k variando desde $-L/2$ a $L/2 - 1$ y desde $-K/2$ a $K/2 - 1$. En la figura (4.8) se observa el diagrama esquemático de este algoritmo para una distancia z_0 de reconstrucción.

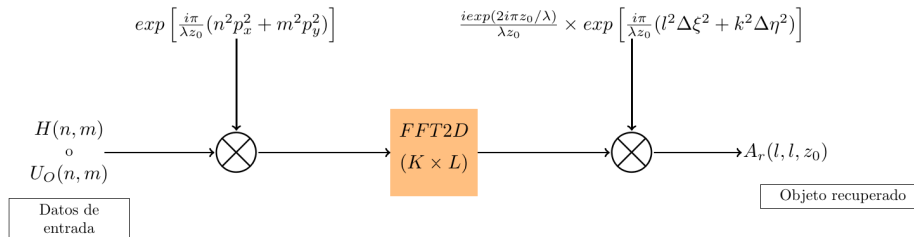


Figura 4.8: Diagrama de la reconstrucción con la transformada discreta de Fresnel usando demodulación.

Finalmente, el muestreo de la fase cuadrática que se multiplica por los datos de entrada, ya sea H o U_O

deben satisfacer las condiciones de Shannon [20]. Esto significa que la distancia mínima z_0^{min} que puede ser considerada para que este algoritmo pueda ser empleado debe satisfacer la siguiente relación [20]:

$$z_0^{min} \geq \max \left\{ \frac{Np_x^2}{\lambda}, \frac{Mp_y^2}{\lambda} \right\} \quad (4.58)$$

En este algoritmo se recomienda restringir el número de píxeles por el área de detección y no por el número de puntos del campo reconstruido con el objetivo de no modificar la resolución [20]. Si la resolución se reduce el aspecto granular del objeto se harán visibles en gran medida para el observador.

En la práctica, los métodos de reconstrucción basados en la configuración fuera de eje dependen de los métodos de Fourier para filtrar uo de los términos de difracción contenidos en el holograma ($U_r^*U_O$ o $U_rU_O^*$) [20].

4.5.2. Reconstrucción por Convolución

El procesamiento numérico de las integrales de Fresnel sin la aplicación de aproximaciones puede ser muy costoso computacionalmente, por lo que para un procesamiento numérico más rápido y eficiente se propone el enfoque de *reconstrucción por convolución*, el cual como su nombre lo indica, emplea el Teorema de la Convolución como herramienta principal [19].

La reconstrucción numérica con el algoritmo de convolución está basada en la versión discreta de la expresión (4.57) y de manera análoga a la Transformada de Fresnel, considera al plano del holograma como el plano de entrada[20].

Emplea la siguiente formula de reconstrucción [19]:

$$\Gamma(x, y) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} H(x_p, y_p) U_r^* g(x, y, x_p, y_p) dx_p dy_p \quad (4.59)$$

Este enfoque también se denota como *Método del Espectro Angular* (ASM), pues considera el muestreo de la función de transferencia del espectro angular (4.28). La integral de superposición (4.59) puede considerarse como una convolución y por lo tanto el Teorema de convolución puede aplicarse.

Luego, bajo este Teorema tenemos que la Transformada de Fourier de la convolución de $H\dot{U}_r^*$ con g es el producto de las transformadas individuales $\mathcal{F}\{H\dot{U}_r^*\}$ y $\mathcal{F}\{g\}$. De manera que $\Gamma(x, y)$, puede calcularse si primero transformamos el producto de $H\dot{U}_r^*$, seguido de la multiplicación con la Transformada de Fourier individual de la función de respuesta al impulso g , y finalmente, se aplica una Transformada inversa de Fourier al producto completo [19]. Note que es el mismo procedimiento que se describió en el capítulo anterior, en la expresión (4.35) [19].

Ahora, haciendo $\Gamma(x, y, z) = U(x, y, z)$, (ver expresión (4.35)), notamos que:

$$H(x_p)U_r^*(x_p, y_p) = U(x_p, y_p, 0) \quad (4.60)$$

con g como la función de respuesta al impulso en ambos casos.

Puede verse que para realizar el proceso completo son necesarias tres Transformadas de Fourier.

En el dominio de frecuencias o dominio de Fourier, las frecuencias espaciales se muestrean de tal forma que: $(u, v) = (n\Delta u, m\Delta v)$, donde $n = 1, \dots, N - 1$; $m = 1, \dots, N - 1$ y $(\Delta_u, \Delta_v) = (1/N\Delta_x, 1/N\Delta_y)$. Luego el factor de propagación o función de transferencia del espectro angular es de la forma [20] [19]:

$$G(n, m) = \exp \left[\frac{-2i\pi}{\lambda} z \sqrt{1 - \left(\frac{\lambda n}{N\Delta x} \right)^2 - \left(\frac{\lambda m}{N\Delta y} \right)^2} \right] \quad (4.61)$$

Por lo tanto, ahora tenemos:

$$\Gamma(x, y) = \mathcal{F}^{-1} \{ \mathcal{F}(H \cdot U_r^*) \cdot G \} \quad (4.62)$$

El espacio entre píxeles correspondiente a las imágenes reconstruidas por el enfoque de convolución son iguales a la distancia entre los puntos del holograma [19]. Además, la separación de píxeles en las imágenes reconstruidas correspondientes al enfoque de convolución difieren de las que ocurren con la aproximación de Fresnel (4.55). Contrariamente a lo que se podría pensar, el enfoque por convolución no mejora la resolución, incluso si la separación entre píxeles es suficientemente pequeña. La resolución física de una imagen está determinada por el límite de difracción, (4.55), esto también aplica para el límite de resolución correspondiente al enfoque por convolución, sin embargo, en contraste con la reconstrucción usando la aproximación de Fresnel, en el enfoque por convolución se tiene el doble de píxeles disponibles para el campo del objeto, la resolución de muestreo es igual a la resolución del campo original [5]. Aunado a esto, e el costo computacional para realizar la reconstrucción por convolución es menos costoso [19].

4.5.3. Retropropagación al plano objeto con espectro angular

Previamente, hemos mencionado y descrito algunos de los diferentes métodos que existen para reconstruir un holograma digital. A continuación, describiremos un último método de reconstrucción digital, en el cual hacemos hincapié debido a su importancia en la realización de este trabajo.

Una vez que se obtiene el holograma digitalizado en una matriz numérica, es posible llevar a cabo la simulación de la reconstrucción del holograma haciendo uso de los modelos de propagación ya descritos. La reconstrucción digital del holograma digital que se propone mediante retropropagación al plano objeto está basada en el enfoque de convolución (4.61) o *método del espectro angular*, el cual conserva la resolución del campo original y no impone restricciones en la distancia de reconstrucción pero requiere de dos Transformadas de Fourier para recuperar la información de interés [5].

En este sentido, consideramos la expresión que describe al holograma o interferograma, dada por la expresión (4.6), la cual codifica tanto la información de la onda de referencia como la onda objeto:

$$H = |U_r + U_o|^2 \quad (4.63)$$

esta expresión describe a la intensidad del patrón de interferencia u holograma, que digitalmente se observará en el monitor o pantalla. Denotemos a la intensidad del interferograma como $H = |\Psi_t(x, y)|^2$, que en el plano de observación puede decomponerse como la suma de la onda de referencia denotada por

$$\Psi_R(x, y) \quad (4.64)$$

y el campo propagado a la distancia z denotado por:

$$\Psi_z(x, y, z) \quad (4.65)$$

En nuestra simulación, consideraremos una onda de referencia plana y con amplitud igual a 1, es decir que:

$$\Psi_R(x, y) = \exp\left[i2\pi\frac{\sin\theta}{\lambda}\right] \quad (4.66)$$

$$\Psi_R(x, y) = \exp[i2\pi V_r x] \quad (4.67)$$

esta consideración se hace con el objetivo de retropropagar la información del interferograma directamente al plano objeto para reconstruirlo. Como se mencionó previamente, un valor diferente de 1 para la amplitud de la onda de referencia implicaría que el objeto reconstruido esté modulado por la onda de referencia, tanto en fase como en amplitud. Dicha modulación, puede ser removida al multiplicar el holograma por un modelo matemático adecuado de la onda de referencia antes de retropropagarlo [19][5].

Ahora, sustituimos ambas expresiones (4.65) y (4.64) en el interferograma (4.6), esto es:

$$|\Psi_t(x, y)|^2 = |\Psi_z(x, y, z) + \Psi_R(x, y)|^2 \quad (4.68)$$

De acuerdo con la teoría de sistemas lineales y a la propagación de campos con espectro angular, sabemos que el campo propagado a una distancia z en el plano de observación puede obtenerse a través de la expresión (4.36):

$$\Psi_z(x, y, z) = \mathcal{F}\mathcal{F}\mathcal{T}^{-1} \left\{ \mathcal{F}\mathcal{F}\mathcal{T} \{ \Psi_o(x, y, 0) \} \exp \left[ikz \sqrt{1 - \lambda^2 (u^2 + v^2)} \right] \right\} \quad (4.69)$$

donde $\Psi_o(x, y, 0)$ representa a $U(x_p, y_p, 0)$, es decir, la información del objeto multiplicado por el factor de propagación del espectro angular o función de Transferencia (4.28). Los operadores $\mathcal{F}\mathcal{F}\mathcal{T}$ y $\mathcal{F}\mathcal{F}\mathcal{T}^{-1}$ representan los algoritmos de la Transformada de Fourier rápida o (Fast Fourier Transform) y la Transformada de Fourier rápida inversa respectivamente [19]. Note que el campo propagado también puede escribirse en su representación compleja como:

$$\Psi_z(x, y, z) = A(x, y) \exp [i\phi_z(x, y)] \quad (4.70)$$

Sustituyendo (4.67) y (4.70) en (4.68):

$$\begin{aligned} |\Psi_t(x, y)|^2 &= \{ A(x, y) \exp [i\phi_z(x, y)] \cdot A(x, y) \exp [-i\phi_z(x, y)] \} \\ &\quad + 2\Re_e [A(x, y) \exp [i\phi_z(x, y)] \cdot \exp [-i2\pi V_r x]] + \{ \exp [i2\pi V_r x] \cdot \exp [i2\pi V_r x] \} \end{aligned} \quad (4.71)$$

aplicando propiedades de números complejos y la identidad de Euler podemos simplificar la expresión anterior para obtener:

$$|\Psi_t(x, y)|^2 = |A(x, y)|^2 + 2\Re_e \{ A(x, y) [\cos(\phi_z - 2\pi V_r x) + i \sin(\phi_z - 2\pi V_r x)] \} + 1 \quad (4.72)$$

$$|\Psi_t(x, y)|^2 = |A(x, y)|^2 + 2A(x, y) \cos(\phi_z - 2\pi V_r x) + 1 \quad (4.73)$$

Note que la expresión $2A(x, y) \cos(\phi_z - 2\pi V_r x)$ puede reescribirse como:

$$\begin{aligned} 2A(x, y) \cos(\phi_z - 2\pi V_r x) &= A(x, y) \cos(\phi_z - 2\pi V_r x) + A(x, y) \cos(\phi_z - 2\pi V_r x) \\ 2A(x, y) \cos(\phi_z - 2\pi V_r x) &= A(x, y) [\cos(\phi_z) + i \sin(\phi_z) + \cos(-2\pi V_r x) - i \sin(2\pi V_r x)] \\ &\quad + A(x, y) [\cos(-\phi_z) - i \sin(\phi_z) + \cos(2\pi V_r x) + i \sin(2\pi V_r x)] \\ \Rightarrow 2A(x, y) \cos(\phi_z - 2\pi V_r x) &= A(x, y) \exp [i\phi_z] \exp [-i2\pi V_r x] + A(x, y) \exp [-i\phi_z] \exp [i2\pi V_r x] \end{aligned} \quad (4.74)$$

Ahora, sustituimos esta expresión (4.74) en (4.73), por lo que tendremos la siguiente expresión simplificada:

$$|\Psi_t(x, y)|^2 = |A(x, y)|^2 + 1 + A \exp [i\phi_z] \exp [-i2\pi V_r x] + A \exp [-i\phi_z] \exp [i2\pi V_r x] \quad (4.75)$$

$$= |A(x, y)|^2 + 1 + \Psi_z \Psi_R^* + \Psi_z^* \Psi_R \quad (4.76)$$

que es la expresión análoga a (4.6), donde los dos primeros términos representan al orden de difracción 0, y los dos últimos al orden +1 y -1 respectivamente. De acuerdo con los métodos de reconstrucción vistos en este capítulo, sabemos que es necesario incidir una onda igual en fase y amplitud a la onda de referencia sobre el interferograma, para recuperar la información de interés [19]. Además de que no debemos olvidar que tanto el término +1 y -1 contienen la información del objeto [19][20].

Tomando lo anterior en consideración, es necesario extraer las frecuencias y amplitudes de los órdenes de difracción de interés (órdenes +1 y -1) y remover aquellas que no nos aportan información como lo es el orden 0.

El orden cero, representa la suma de las autoconvoluciones del haz objeto y el haz de referencia, por lo que tiende a ser una función suave que varía muy lentamente, éste distorsiona la imagen porque oscurece las partes del objeto que se encuentran detrás de él [19] [5]. En este contexto, el orden cero es considerado ruido, por lo que es deseable eliminarlo.

Existen diversos métodos para eliminar este término como: restar el promedio del holograma digital al holograma original, restar las intensidades del haz objeto y el haz de referencia al holograma original y filtrar la transformada de Fourier del holograma [5].

En este sentido, para realizar la reconstrucción numérica sin la distorsión que aporta el orden cero y considerando la onda de referencia incidente necesaria para la reconstrucción numérica, definiremos un *holograma modificado*, hm , a partir de la expresión que describe al holograma, esto es:

$$|\Psi_t(x, y)|^2 - |A(x, y)|^2 - 1 = (\Psi_z \Psi_R^* + \Psi_z^* \Psi_R) \quad (4.77)$$

$$\Rightarrow hm(x, y) = \Psi_R (|\Psi_t(x, y)|^2 - |A(x, y)|^2 - 1) \quad (4.78)$$

Luego, para localizarnos en el dominio de frecuencias, aplicamos una Transformada de Fourier a la expresión (4.78), entonces tenemos que:

$$\mathcal{FFT} \{hm(x, y)\} = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} hm \cdot \exp[-i2\pi(ux + vy)] dx dy \quad (4.79)$$

donde (u, v) representan las frecuencias espaciales.

En el dominio de frecuencias, para los hologramas fuera de eje, los términos de difracción aparecerán separados entre sí, por lo que es posible aplicar un filtro espacial a la Transformada de Fourier del holograma modificado para eliminar las frecuencias no deseadas, sin afectar la información del espectro del objeto. El filtro se define utilizando las frecuencias espaciales (u, v) del dominio de Fourier y se multiplica por el espectro del holograma modificado [5][19]. Supongamos que $\beta(u, v)$ representa el espectro del filtro definido, entonces:

$$Hm'(u, v) = \mathcal{FFT} \{hm\} \cdot \beta(u, v) \quad (4.80)$$

$Hm'(u, v)$ representará al holograma modificado filtrado que ya no contiene al orden cero, en el dominio de frecuencias, por lo que bastará con retropropagar a $Hm'(u, v)$ al plano objeto para recuperar el frente de onda del objeto.

Por lo que nuevamente, hacemos uso de la teoría escalar de difracción para la propagación de campos y a través de la propagación del espectro angular, multiplicamos el espectro del holograma modificado filtrado por el complejo conjugado del factor de propagación o Función de Transferencia del espectro angular 4.28, $G^*(u, v)$, con el objetivo de retropropagar la información del holograma filtrado al plano objeto para obtener su reconstrucción numérica y poder recuperar el frente de onda del objeto. Para lo cual, es necesario aplicar una Transformada inversa de Fourier al producto de espectros, esto es [5]:

$$\Psi_o(x, y) = \mathcal{FFT}^{-1} \{Hm'(u, v) \cdot G^*(u, v)\} \quad (4.81)$$

$$\Rightarrow \Psi_o(x, y) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} Hm'(u, v) \cdot G^*(u, v) \exp[i2\pi(xu + yv)] dudv \quad (4.82)$$

Finalmente la amplitud y fase del objeto reconstruido estarán dados por:

$$\phi_o(x, y) = \tan^{-1} \left(\frac{\Im_m [\Psi_o(x, y)]}{\Re_e [\Psi_o(x, y)]} \right); \quad a_o(x, y) = \sqrt{\Im_m^2 [\Psi_o(x, y)] + \Re_e^2 [\Psi_o(x, y)]} \quad (4.83)$$

El algoritmo que describe la retropropagación al plano objeto antes descrita, se exhibe en la figura (4.9).

Es importante destacar que, para la implementación de este algoritmo es muy importante tomar en cuenta el muestreo correcto de frecuencias, la resolución espacial y el tamaño de píxel. Elementos que dependen del dispositivo de carga acoplado o tipo de sensor que se utilice. En particular, para la implementación de este algoritmo, emplearemos el muestreo sugerido en la subsección anterior (*Reconstrucción por Convolución*) (4.61).

Tras haber examinado exhaustivamente diversos algoritmos y técnicas para la reconstrucción digital de hologramas digitales, nos dirigimos ahora hacia la esfera de la microscopía holográfica digital. Estos dos campos están vinculados entre sí en gran medida, ya que la habilidad para realizar reconstrucciones precisas de hologramas desempeña un papel central en la metodología y capacidad de la microscopía holográfica digital contemporánea. Al aplicar los principios y métodos previamente abordados, la Microscopía Holográfica Digital se erige como una herramienta poderosa para la obtención de imágenes tridimensionales de alta resolución.

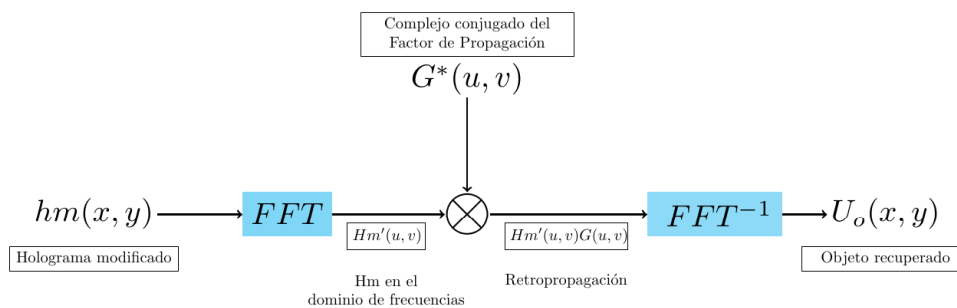


Figura 4.9: Diagrama de la reconstrucción del frente de onda del objeto retropropagando el holograma modificado al plano objeto.

4.6. Microscopía Holográfica Digital (MHD): una aplicación

Tradicionalmente, el estudio de objetos microscópicos se ha llevado a cabo, bajo el microscopio óptico compuesto, el cual hace uso de la luz visible para crear una imagen aumentada del objeto. Está conformado por un arreglo de lentes delgadas y convergentes, denominadas *objetivo*, cuya distancia focal es muy corta y está caracterizado por la magnificación y la apertura numérica; y *ocular* (lente más próxima al observador) del microscopio. Ambos lentes, se montan en extremos opuestos de un tubo cerrado. La imagen formada del objeto o espécimen a través del objetivo, se usa como objeto para el ocular [24]. Éste tipo de arreglo fundamental, es altamente útil en diversas áreas científicas pues permite el estudio y análisis de una amplia variedad de microespecímenes [24][28].

Una de las desventajas de los microscopios convencionales, es que a mayor aumento en la amplificación del objeto, la profundidad de campo del frente de onda disminuye. De manera que, solo pueden enfocarse los objetos que se encuentran en planos muy cercanos entre sí. Esto implica que, para estudiar objetos con volúmenes de varias decenas de micras, es necesario realizar enfoques manuales en diversos planos de las muestras, así como capturar imágenes de cada plano. Aunado a esto, para el estudio de los objetos de fase, es necesario agregar algún colorante o pigmento a la muestra para poder visualizarla, lo que puede incurrir en alterar químicamente las características del objeto de estudio [5].

Dentro de las diversas aplicaciones que tiene la holografía digital, podemos encontrar a la Microscopía Holográfica Digital (MHD), técnica que surgió, a partir de la introducción de un Objetivo de Microscopio al montaje experimental para la grabación de un holograma [24][20]. Lo que le otorgó a la holografía, nuevos e interesantes campos de aplicación. Esta técnica, permite recuperar la información de varios planos de la muestra, a partir del análisis de los datos capturados en un solo plano, y dado que no necesita alterar las propiedades de la muestra para analizarla, constituye una técnica no invasiva y eficiente, pues permite obtener información cuantitativa de la amplitud y fase de la muestra bajo estudio en diversos planos. En este sentido, la MHD soluciona la problemática asociada a la microscopía convencional [24][5].

La MHD consiste del registro del holograma de un objeto microscópico para su posterior reconstrucción numérica, a través de una computadora, haciendo uso de la teoría escalar de Difracción para la propagación de campos. Frecuentemente, diversos tipos de láseres son empleados para la iluminación coherente, necesaria para producir interferencia, desde los ubicuos láseres HeNe (Helio-Neón), láseres de diodo hasta los láseres de estado sólido y láseres de pigmento sintonizables. Existen también técnicas parcialmente coherentes, cuyo propósito es reducir el speckle o granularidad y el ruido espurio de interferencia. Incluso la luz LED, que posee típicamente una longitud de onda de $10\mu m$ puede ser suficiente para la microscopía holográfica [28], Sin embargo, el empleo de fuentes parcialmente coherentes en MHD sale del objetivo y alcance de este trabajo.

En particular, en MHD, a partir de un solo holograma se puede recuperar el campo complejo del objeto

en el plano del holograma, pues la onda del objeto es simplemente proyectada por el objetivo del microscopio hacia el plano del detector [20]. Este campo, puede ser retropropagado a diversas distancias usando algún modelo de propagación de campos. De manera que, las distancias se eligen para poder obtener la imagen enfocada del objeto complejo en diferentes planos. Por lo tanto, ya no es necesario realizar el enfocamiento manual del sistema. Una de las características más importantes de este método, es que el holograma se forma con el campo propagado del objeto, y no con una imagen enfocada del mismo. Esto, con el fin de poder utilizar la retropropagación del campo y poder reconstruir diversos planos del objeto. Y dado que la reconstrucción se hace digitalmente, es posible analizar fenómenos dinámicos tridimensionales, lo cual no es posible con la microscopía convencional [20]. Particularmente, para muestras microscópicas, el campo difractado aumenta rápidamente de tamaño, por lo que se puede muestrear de mejor forma en un plano alejado de la muestra que en el plano original [5]. La fase óptica de la luz, transmitida a través de objetos transparentes puede brindar información cuantitativa sobre el objeto, como su espesor físico y su índice de refracción, que a su vez son funciones de la densidad física o las propiedades de concentración química. Por lo tanto, las mediciones de alta precisión de la fase óptica, pueden revelar cambios sutiles en estos parámetros que acompañan a los procesos celulares. Para obtener imágenes de fase cuantitativas, se puede realizar una medición interferométrica de un haz de luz enfocado sobre un objeto y grabar el haz sobre el objeto en forma de rejilla [28].

Existen diversas configuraciones interferométricas que pueden emplearse para generar hologramas [5], [28] y para la magnificación, sin embargo, en la práctica, la magnificación alcanzable está limitada, por lo que el uso de la lente del objetivo del microscopio es preferentemente necesaria [28].

Podemos encontrar otras técnicas de microscopía muy similares, pero que difieren en el nombre, como microscopía interferencial, tomografía de coherencia óptica y microscopía de fase de difracción. Cada uno de estos métodos tiene en común el uso de la combinación coherente de un objeto y una onda de referencia, lo que permite la obtención final de una imagen de amplitud y una imagen de fase del objeto. Las configuraciones MHD implementadas con fuentes de luz parcialmente coherente espacialmente, han permitido reducir y mejorar la precisión de las imágenes de fase e intensidad. En la microscopía tradicional, la imagen del objeto se proyecta en el detector y, como no hay una onda de referencia, se pierde la información de fase esencial. MHD facilita la obtención de lo que se conoce como “microscopía de fase cuantitativa” [20].

Existen dos configuraciones principales dentro de MHD: por transmisión o por reflexión. En la configuración de transmisión, el objeto es iluminado por un haz colimado y difracta la luz hacia el cono de apertura del objetivo del microscopio. En la configuración de reflexión, el objeto es iluminado por un haz colimado que primero pasa a través del objetivo del microscopio y luego difracta/refleja la luz hacia el cono de apertura del objetivo del microscopio. La luz, por lo tanto, cruza dos veces el objetivo del microscopio [20].

Debido a su sensibilidad y versatilidad técnica, MHD es un área de investigación activa y muy importante dentro de las aplicaciones de la Holografía Digital y el procesamiento de imágenes. Actualmente, se trabaja en el desarrollo de técnicas que permitan aumentar la resolución de los objetos que se pueden analizar, así como la calidad de las imágenes generadas, que sean adaptables al empleo de la MHD.

La mejora e investigación de las técnicas de imagen empleadas en MHD constituyen un área que puede beneficiarse significativamente de las nuevas capacidades de la Holografía Digital, al proporcionar métodos sin etiquetas, mínimamente invasivos y altamente sensibles para obtener imágenes de cambios sutiles en los estados físicos y fisiológicos de células y tejidos, así como en la caracterización y análisis de diversos materiales y estructuras [28].

Capítulo 5

Metodología

En este capítulo se abordan los detalles del trabajo en el diseño experimental generado de forma sintética que se realizó, complementando a su vez, el método de reconstrucción del holograma digital propuesto en el capítulo anterior.

Las simulaciones realizadas para la implementación de este proyecto de tesis se llevaron a cabo en MATLAB (2023), versión *R2023a(9,14,0,2206163)*.

5.1. Diseño del microscopio y objeto sintético

Con la finalidad de tener distintos objetos ubicados en diferentes planos con respecto al plano objeto, consideramos los siguientes objetos binarios (figuras (5.1)): A_1, A_2, A_3 , que son rotaciones del mismo objeto, son del tipo *uint8* y su resolución corresponde a 512×512 píxeles para cada imagen asociada a cada uno de los objetos.

Al realizar una transformación a nuestros objetos, trabajamos con matrices en dos dimensiones que tienen valores de píxeles normalizados en escala de grises.

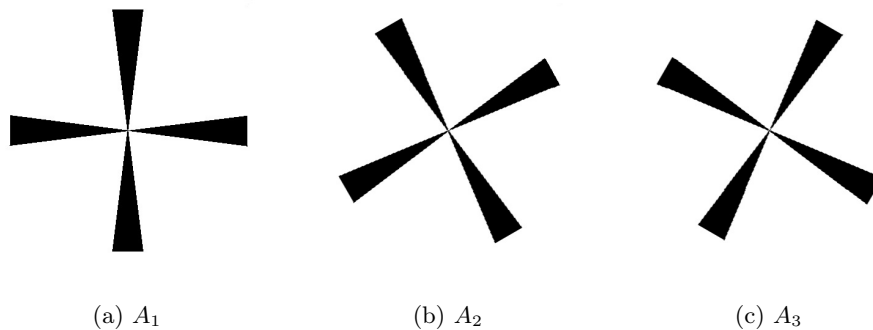


Figura 5.1: Objetos diseñados computacionalmente

Haciendo uso de la teoría descrita en el capítulo de Formación de imágenes (2), sabemos que es necesario definir a la función pupila, quien caracteriza y describe a nuestro sistema formador de imágenes (2.3). Para lo cual, primero definiremos algunos parámetros importantes. Dado que el número de píxeles en una dimensión, para cada imagen, es de $N = 512$ píxeles, consideraremos a la resolución espacial o ancho del píxel (en μm) en nuestro SO de:

$$dx = 1,7 \tag{5.1}$$

Ahora, para caracterizar a las coordenadas espaciales (x_1, y_1) , consideramos el siguiente muestreo espacial el cual tiene la misma cantidad de muestras en cada eje[20]:

$$(n, n) \in \left(-\frac{N}{2}, \frac{N}{2} - 1; -\frac{N}{2}, \frac{N}{2} - 1\right) \quad (5.2)$$

donde n representa las muestras en el dominio espacial, particularmente los índices de píxeles en cada imagen. A través del muestreo anterior o rango donde se encuentra definida n , podemos discretizar a las coordenadas espaciales en las imágenes analizadas, pues como hemos visto anteriormente, será útil para aplicar el análisis de frecuencias que describiremos posteriormente. De manera que, el valor discretizado para cada coordenada espacial es:

$$x_1 = n \cdot dx \quad (5.3)$$

y

$$y_1 = x_1^T \quad (5.4)$$

donde x_1^T representa la matriz transpuesta del vector de filas de la coordenada espacial x_1 , es decir que, $y_1 = (n \cdot dx)^T$. Note que para obtener las coordenadas espaciales x_1, y_1 , se multiplicó el índice discreto n por el ancho de píxel dx . Relación utilizada para traducir entre las coordenadas discretas (índices de píxeles) y las coordenadas continuas (posiciones espaciales) en las imágenes analizadas.

Por lo tanto, el rango total en el dominio espacial Dx , será de la forma:

$$Dx = N \cdot dx \quad (5.5)$$

$$\Rightarrow du = \frac{1}{Dx} \quad (5.6)$$

Donde N es el número total de píxeles, dx el ancho de píxel. Además, du representa la resolución en el dominio de Fourier o la distancia entre muestras en el dominio de frecuencias y Dx representa el rango total en el dominio espacial. Cuanto mayor sea el valor de du , mayor será la resolución en el dominio de Fourier, lo que significa que se pueden representar componentes de alta frecuencia con mayor detalle. Ambos están relacionados con la capacidad del sistema para representar los detalles finos de una imagen y evitar distorsiones en las imágenes analizadas. En este sentido, podemos describir a las frecuencias espaciales como:

$$u_1 = n \cdot du \quad (5.7)$$

luego, la frecuencia asociada a y_1 , será de la forma $v_1 = u_1^T$. Dado que ya conocemos la caracterización de las coordenadas espaciales y de las frecuencias espaciales, podemos crear a la matriz u , de tal modo que nos quede una cuadrícula de frecuencias espaciales discretizadas a lo largo de una dimensión.

Tomando en cuenta que el interés principal de este trabajo es corregir el desenfoque al incrementar la profundidad de campo en el sistema formador de imágenes al emplear el filtro de fase cúbica descrito en capítulos anteriores.

5.2. Pupilas generalizadas con desenfoque

Una vez que hemos definido los parámetros del muestreo discreto para el diseño digital de nuestro microscopio, podemos continuar con la caracterización del SO través de la función pupila para una abertura circular. En particular, usaremos la expresión (2.21), la cual es la representación de la función pupila generalizada para luz coherente con presencia de aberraciones.

$$P(x_p, y_p) = P(x_p, y_p) \exp[ikW(x_p, y_p)] \quad (5.8)$$

Podemos describir a la función de aberración (2.25), $W(x_p, y_p) = b_d \rho^2$, con coeficiente de defoco, b_d , de la siguiente manera:

- Suponemos una fuente de iluminación coherente con longitud de onda $\lambda = 632,8nm$, es decir, la luz coherente de la fuente proviene de un láser He-Ne.
- Número de onda $k = \frac{2\pi}{\lambda}$
- Consideraremos a la distancia focal f asociada al lente del objetivo del microscopio (OM), $f = 1$
- Y a la apertura numérica del objetivo del microscopio como $NA = 0,5$, la cual es la capacidad del objetivo del microscopio para recoger y enfocar la luz en la muestra u objetos. Entre más grande sea NA mayor será la resolución y claridad de la imagen.

Previamente, encontramos la expresión que describe al coeficiente de aberración asociado al desenfoque y lo relaciona con la abertura numérica del SO, en este caso, del microscopio, (ver (2.32)). De manera que b_d es de la forma:

$$b_d \approx \frac{1}{2}n\Delta z \sin^2(\alpha) \tag{5.9}$$

$$\Rightarrow b_d = \frac{1}{2}NA^2\Delta z \tag{5.10}$$

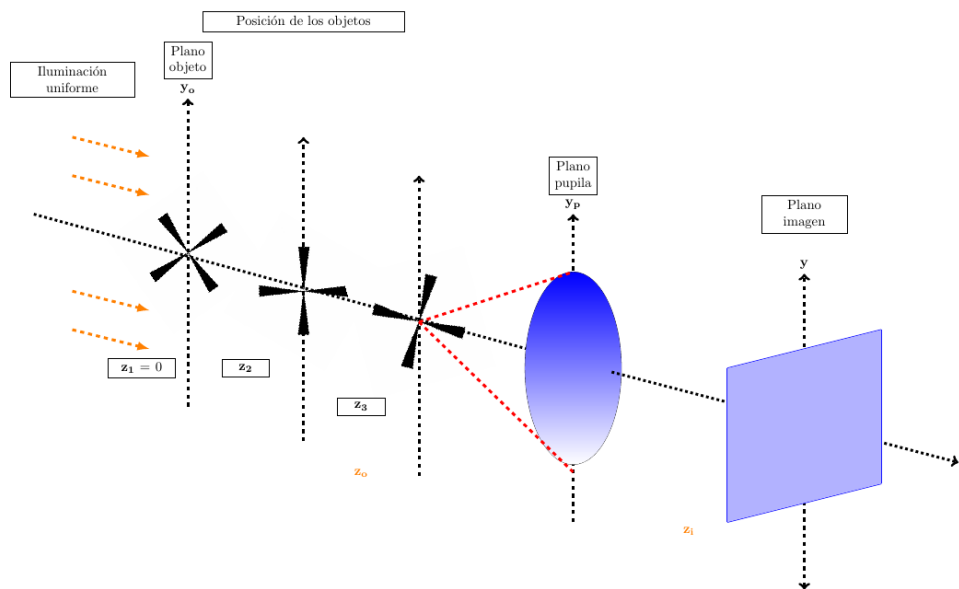


Figura 5.2: Diagrama de un sistema óptico formador de imágenes, cuando los objetos se encuentran a diferentes distancias del plano objeto. Como resultado de esta configuración, en el plano imagen obtenemos a la imagen con diferentes cantidades de desenfoque.

Ahora bien, consideramos tres distancias en micrómetros, a partir de las cuales las imágenes desenfocadas de los objetos fueron detectadas: $z_1 = 0$, $z_2 = 100$ y $z_3 = 300$, como se exhibe en la figura (5.2). Considerando estas distancias, podemos obtener tres coeficientes asociados al desenfoque , esto es:

$$b_{d1} = \frac{1}{2}(z_1 \cdot NA^2)/2 \tag{5.11}$$

$$b_{d2} = \frac{1}{2}(z_2 \cdot NA^2)/2 \tag{5.12}$$

$$b_{d3} = \frac{1}{2}(z_3 \cdot NA^2)/2 \tag{5.13}$$

luego, recordando que las frecuencias espaciales son $u = \frac{x_p}{\lambda z_i}$ y $v = \frac{y_p}{\lambda z_i}$ podemos describir a las expresiones que representan a la función de aberración $W(\lambda z_i u, \lambda z_i v)$ (ver (2.23)) para los diferentes coeficientes de desenfoque que son:

$$W_1 = b_{d1}(u^2 + v^2) \tag{5.14}$$

$$W_2 = b_{d2}(u^2 + v^2) \tag{5.15}$$

$$W_3 = b_{d3}(u^2 + v^2) \tag{5.16}$$

y por lo tanto, la expresión que describe a la pupila generalizada con desenfoque que caracteriza a nuestro microscopio para una apertura circular en el dominio de frecuencias está dada por:

$$P_{di}(u, v) = P(\lambda z_i u, \lambda z_i v) \exp[ikW_i(\lambda z_i u, \lambda z_i v)] \quad \forall \quad i = 1, 2, 3. \tag{5.17}$$

donde $P(\lambda z_i u, \lambda z_i v) = \text{circ}\left(\frac{\sqrt{u^2+v^2}}{R/\lambda z_i}\right)$, que corresponde a la función pupila para una apertura circular en término de las frecuencias espaciales.

5.3. Implementación del filtro de fase cúbica modificada

Como se discutió en secciones anteriores, la profundidad de campo y la profundidad de foco están ampliamente relacionadas con la apertura numérica asociada al objetivo del microscopio óptico y por lo tanto, relacionadas con la resolución y nitidez de las imágenes formadas. En particular, si la NA es muy grande la profundidad de campo δz_0 y la profundidad de foco δz_i disminuirán y obtendremos imágenes desenfocadas y con poca resolución.

Para solucionar la problemática anteriormente mencionada, nuestra propuesta es inhibir el desenfoque y extender la profundidad de campo sin alterar la apertura numérica NA , para lo cual, se implementó el filtro de fase cúbica modificada en la función pupila generalizada, descrito en (3.5), como se puede ver en la figura (5.3) y el cual tiene la forma:

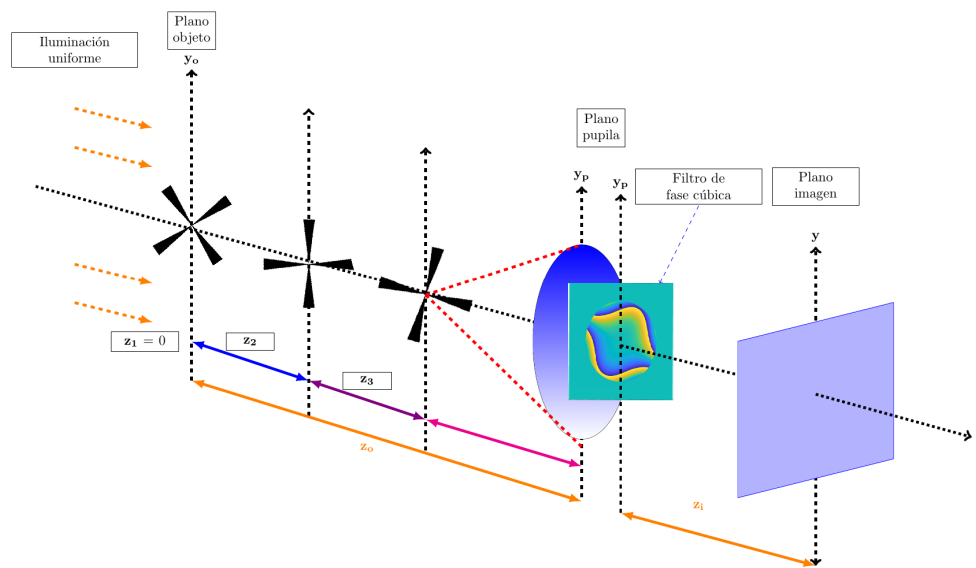


Figura 5.3: Arreglo óptico con el filtro de fase cúbica implementado en la pupila generalizada del microscopio óptico.

$$P_{cg_i}(u, v) = \text{circ} \left(\sqrt{\frac{(u^2 + v^2)(\lambda z_i)^2}{R^2}} \right) e^{ik\alpha \left(\frac{(u^3 - 3uv^2 - 3u^2v + v^3)(\lambda z_i)^3}{R^3} \right)} \quad (5.18)$$

donde el parámetro de control de desviación de la fase α , está definido por $\alpha = 75 \cdot \left(\frac{1}{f}\right)$, donde k es el número de onda, $\lambda = 632nm$, la longitud de onda que corresponde al láser He-Ne y f es la distancia focal del objetivo del microscopio, definida previamente como $f = 1$.

5.4. Convolución de pupila e imagen

Una vez definido el filtro de fase cúbica en el dominio de frecuencias espaciales, éste se debe implementar en la función de pupila generalizada con desenfoque que caracteriza a nuestro microscopio óptico formador de imágenes, con lo cual se pueden obtener las imágenes intermedias. Sin embargo, para ello es preciso obtener primero la función de punto extendido (*psf*) de los espectros de las pupilas generalizadas con desenfoque (5.17).

Con el propósito de exhibir que efectivamente el filtro de fase cúbica inhibe el desenfoque de nuestros objetos, consideraremos dos simulaciones, la primera en la que no se implementa el filtro en la función de pupila generalizada con desenfoque, y la segunda, donde si se implementa. Ambos procesos se explican a continuación.

1. Simulación de objetos con desenfoque detectados sin filtro de fase:

- Obtenemos la función de punto extendido, al aplicar la transformada inversa de Fourier a través de la función *IFFT* (*Inverse Fast Fourier Transform*), a los espectros de las pupilas generalizadas con desenfoque, dadas por (5.17), esto es:

$$pw_i = \text{IFFT}(P_{di}) \quad (5.19)$$

Cuando se emplea la transformada rápida de Fourier o *FFT*, es importante reorganizar las frecuencias de la imagen en el rango adecuado, desplazando el contenido de las frecuencias para que el punto central represente a las frecuencias bajas, y los valores alrededor del centro y hacia afuera, representen las frecuencias altas (de menor a mayor). Esto es útil para visualizar y analizar el espectro de frecuencia de manera más intuitiva [22]. Muchas plataformas de programación ya tienen implementadas funciones que cumplen con este fin, en el caso de MATLAB la función que realiza esta acción es `fftshift`. Note que al usar la función `fftshift`, la componente de frecuencia cero se desplazará al centro del espectro, así como el resto de las frecuencias del espectro, es decir, los órdenes positivos y los órdenes negativos estarán ubicados en el centro de la matriz de Fourier, debido a la propiedad de simetría en el dominio de Fourier. Por ejemplo si consideramos el siguiente vector $X_{ej} = [0, 1, 2, \dots, -3, -2, -1]$, aplicando la función `fftshift` tendremos: `fftshift`(X_{ej}) = $-3, -2, -1, 0, 1, 2, 3$ o si consideramos el siguiente vector $X_{odd} = [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]$, entonces `fftshift`(X_{odd}) = $5, 6, 7, 1, 2, 3, 4$. De manera que el uso de la función `fftshift` asegura que tanto los órdenes negativos como los órdenes positivos, y de hecho, todos los órdenes simétricos en el patrón de difracción, estén ubicados en el centro de la matriz de Fourier [22].

- Sabemos que a través de la función de transferencia óptica (*OTF*) podemos especificar las propiedades de un sistema óptico que presenta diferentes tipos de aberraciones. En particular, la función de transferencia óptica nos describe el comportamiento del sistema óptico en el dominio de frecuencias. Una manera de obtener las funciones de transferencia en amplitud (*ATF*) (para iluminación coherente) (2.17), es obteniendo el espectro de las funciones de punto extendido, esto es, aplicando la transformada rápida de Fourier o *FFT* a la función de punto extendido (5.19)

$$\text{ATF}_i = (\text{FFT}(pw_i)) \quad \forall i = 1, 2, 3 \quad (5.20)$$

- Ahora, obtenemos el espectro de cada uno de los objetos implementando la transformada de Fourier rápida FFT :

$$O_i = (FFT(As_i)) \quad \forall i = 1, 2, 3 \quad (5.21)$$

- Retomando la teoría de sistemas lineales, sabemos que por el teorema de la convolución, dos funciones que convolucionan en el dominio espacial son equivalentes a considerar la multiplicación de sus transformadas de Fourier o espectros individuales. De modo que para obtener las imágenes resultantes de la implementación de la función pupila generalizada con desenfoque y los objetos originales, tendremos (ver (2.36, 2.37)):

$$I_i = (IFFT(O_i \cdot ATF_i)) \quad \forall i = 1, 2, 3. \quad (5.22)$$

note que la expresión (5.22) representa a las imágenes desenfocadas en el dominio espacial (5.8).

- Ahora en lugar de considerar las imágenes de los tres objetos, consideraremos la imagen de un solo objeto desenfocado, esto es:

$$IC = (I_1 \cdot I_2 \cdot I_3) \quad (5.23)$$

expresión que es equivalente a convolucionar los espectros de cada imagen en el dominio de frecuencias, es decir, convolucionar las funciones de punto extendido correspondientes a I_i .

- Finalmente, obteniendo el valor absoluto al cuadrado de IC (5.23), visualizamos la amplitud del objeto desenfocado sin filtro de fase cúbica.

2. Simulación de objetos con desenfoque detectados con filtro de fase cúbica modificada:

- Inicialmente, se implementó el filtro de fase cúbica en la función de pupila generalizada con desenfoque, por el teorema de la convolución sabemos que la multiplicación del espectro de la función de pupila generalizada (5.17) con el espectro del filtro de fase cúbica modificada (5.18) es equivalente a convolucionar las funciones de punto extendido psf de cada uno, luego:

$$P_{WF_i} = P_{di} \cdot P_{cg_i} \quad \forall i = 1, 2, 3. \quad (5.24)$$

donde P_{di} es la función pupila generalizada con desenfoque (5.17) y P_{cg_i} es el filtro de fase cúbica modificado

- Una vez que se ha definido el espectro de la función pupila generalizada con desenfoque y el filtro de fase cúbica modificada (5.24), podemos obtener la función de punto extendido (psf) (3.6) de este espectro:

$$p_{wffi} = IFFT(P_{WF_i}) \quad \forall i = 1, 2, 3. \quad (5.25)$$

- Ahora obtenemos las funciones de transferencia óptica en amplitud como en (5.8):

$$ATF_{ffi} = FFT(p_{wffi}) \quad \forall i = 1, 2, 3. \quad (5.26)$$

- Ya que tenemos la función de transferencia óptica en amplitud del SO (5.26), podemos convolucionar con los objetos (5.21) para obtener las imágenes intermedias, esto es:

$$IC_{ffi} = IFFT(ATF_{ffi} \cdot O_i) \quad (5.27)$$

- De manera que si definimos una sola imagen intermedia con desenfoque y filtro de fase, ésta será de la forma:

$$IC_{ff} = (IC_{ff1} \cdot IC_{ff2} \cdot IC_{ff3}) \quad (5.28)$$

- Finalmente se visualiza la amplitud y fase de la imagen intermedia IC_{ff} .

5.5. Onda de referencia y campo propagado

Al implementar el filtro de fase cúbica en nuestra función de pupila generalizada desenfocada, obtenemos la imagen intermedia IC_{ff} que en el procesamiento de imágenes con filtros de fase suele ser codificada digitalmente para la obtención de la imagen final.

Para el caso de nuestra propuesta, consideraremos a la imagen intermedia IC_{ff} en la etapa final de la restauración como el nuevo objeto del cual registraremos su patrón de interferencia.

Suponemos que la imagen intermedia IC_{ff} se propaga en el espacio una distancia $z = 1000(\mu m)$, con el siguiente factor de propagación o función de transferencia del espectro angular (4.28):

$$F_P = \exp[ikz\sqrt{1 - \lambda^2(u^2 + v^2)}] \quad (5.29)$$

Entonces el campo propagado en el dominio espacial estará dado por la transformada de Fourier de la imagen por la función de transferencia o factor de propagación del espectro angular, por lo que en el dominio espacial tenemos que el campo propagado está dado por:

$$F_s = IFFT(F_P \cdot (FFT(IC_{ff}))) \quad (5.30)$$

Note que en la expresión anterior estamos multiplicando el espectro de la imagen intermedia por el factor de propagación de espectro angular definida en el dominio de frecuencias, el cual es en sí una función de transferencia.

Podemos visualizar la imagen intermedia propagada obteniendo la intensidad de F_s , esto es:

$$I_m = |F_s|^2 \quad (5.31)$$

Además de obtener su intensidad, el patrón de difracción obtenido se normaliza dividiendo I_m entre el valor máximo de la matriz de intensidad I_m con el objetivo de obtener valores entre 0 y 1 únicamente.

Ahora, supondremos una fuente coherente que produce la siguiente onda de referencia :

$$P_{z_1} = \exp[i2\pi(\sin(\frac{\pi}{10}))x_1] \quad (5.32)$$

esta expresión describe a una onda plana de amplitud 1, la cual está fuera de eje.

5.6. Grabado del Holograma

Sabemos de (4.5) que el patrón de interferencia entre la onda de referencia y el campo propagado del objeto estará dado por:

$$H = |F_s + P_z|^2 \quad (5.33)$$

el cual podemos visualizar después de obtener su valor absoluto y elevarlo al cuadrado, y posteriormente normalizarlo dividiéndolo entre su valor máximo. El arreglo óptico asociado al registro del holograma es el que se observa en la figura (5.4):

Note que el plano del objeto, corresponde al plano donde se forma la imagen intermedia.

5.7. Holograma modificado

En la expresión (4.78), caracterizamos al holograma modificado, de manera que:

$$hm = P_z \cdot (H - |F_s|^2 - 1) \quad (5.34)$$

Aplicando una transformada de Fourier al holograma modificado hm nos trasladamos al dominio de frecuencias, esto es:

$$Hm = FFT(hm) \quad (5.35)$$

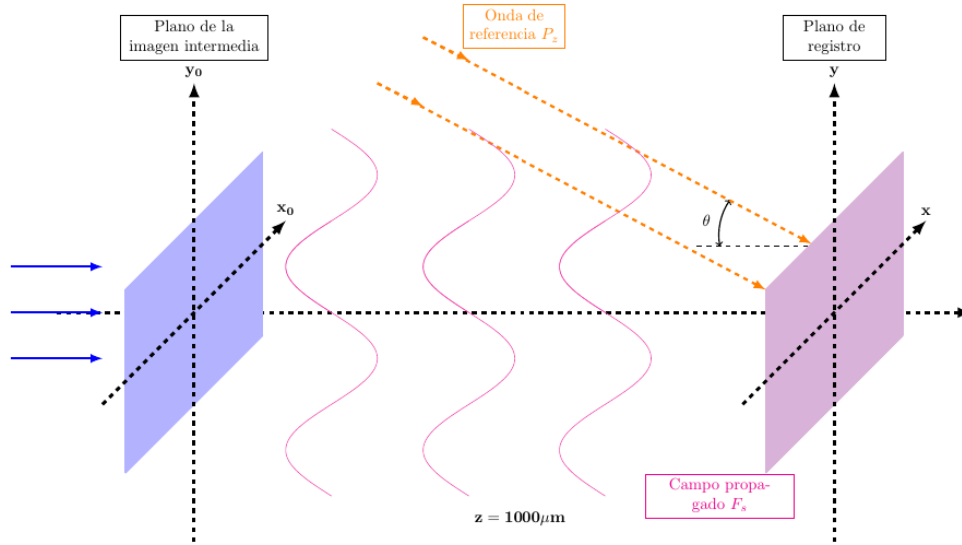


Figura 5.4: Arreglo óptico correspondiente al registro del holograma

5.8. Filtro de Butterworth

El filtrado en el dominio de frecuencias consiste en modificar la transformada de Fourier de una imagen y posteriormente, calcular la transformada inversa de Fourier para obtener el resultado procesado [22]. Por lo tanto, dada una imagen digital $f(x, y)$ de tamaño $M \times N$, la ecuación de filtrado básico está dada por:

$$g(x, y) = \mathcal{F}^{-1}[H(u, v)F(u, v)] \quad (5.36)$$

donde $F(u, v)$ es la transformada de Fourier de la imagen digital de entrada $f(x, y)$, $H(u, v)$ es la función de filtro, también conocida como *filtro* o *función de transferencia de filtro* y $g(x, y)$ es la imagen de salida filtrada. La *función de transferencia de filtro* modifica la transformada de la imagen de entrada que nos conduce a una imagen de salida procesada $g(x, y)$. La especificación de $H(u, v)$ se simplifica considerablemente al usar funciones que son simétricas respecto a su centro, lo que requiere que $F(u, v)$ se encuentre centrada también [22].

Podemos notar que el enlace entre el filtrado en los dominios espaciales y de frecuencias es a través del teorema de convolución. En la práctica, los conceptos de filtrado son más intuitivos en el dominio de frecuencias, aunque también es posible realizar filtrados en el dominio espacial. Dentro de los diferentes tipos de filtros que podemos encontrar se encuentran los *filtros pasabajas*, los cuales son útiles para filtrar bordes, transiciones de intensidad bruscas como el ruido y otros elementos que contribuyen significativamente al contenido de altas frecuencias en la transformada de Fourier de una imagen [22]. Por lo tanto, el *suavizamiento* o *blurring* se alcanza en el dominio de frecuencias al atenuar las frecuencias altas al implementar un filtrado *pasabajas* [22]. Todas las funciones de filtro $H(u, v)$ son funciones discretas de tamaño $P \times Q$, esto significa que las variables de frecuencias discretas se encuentran en el rango $u = 0, 1, 2, \dots, P - 1$ y $v = 0, 1, 2, \dots, Q - 1$ [22].

El filtro *Butterworth* es un filtro pasabajas que tiene un parámetro denominado el *orden de filtrado*. La función de transferencia de un filtro de Butterworth pasabajas de orden n y con frecuencia de corte a una distancia D_0 del origen, se define como:

$$H_B(u, v) = \frac{1}{1 + [D(u, v)/D_0]^{2n}} \quad (5.37)$$

donde $D(u, v)$ es la distancia entre un punto (u, v) en el dominio de frecuencias y el centro de un rectángulo de frecuencias, esto es [22]:

$$D(u, v) = [(u - P/2)^2 + (v - Q/2)^2]^{1/2} \quad (5.38)$$

y D_0 es una constante positiva que representa la frecuencia de corte y es la cota bajo la cual se considera que las frecuencias, que se encuentran en o dentro de un círculo cuyo radio es D_0 , pasan sin atenuarse mientras que todas las frecuencias fuera del círculo se atenúan completamente (son filtradas) [22].

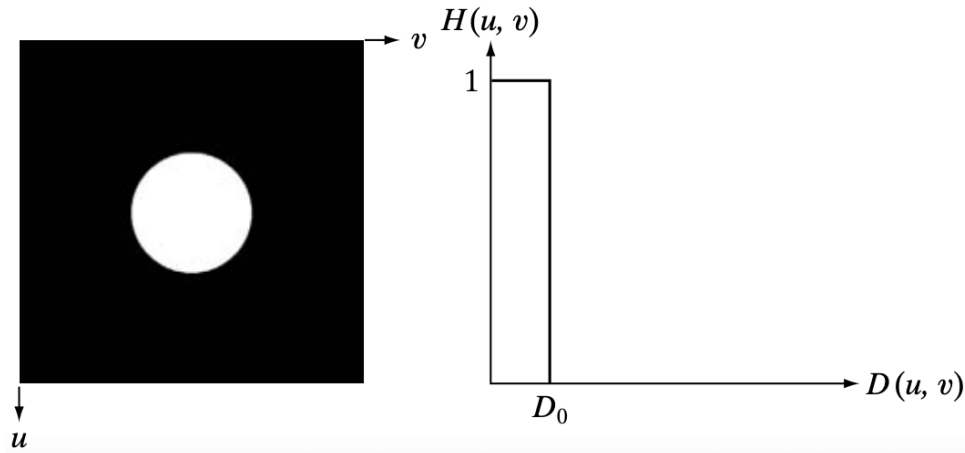


Figura 5.5: Representación de un filtro ideal pasabajas y la sección transversal radial del filtro

En la figura (5.5) el punto de transición entre $H(u, v) = 1$ y $H(u, v) = 0$ se llama *frecuencia de corte* [22]. La función de transferencia del filtro de Butterworth, no tiene discontinuidades agudas, lo que proporciona una frecuencia de corte despejada entre frecuencias pasadas y filtradas. Para filtros con funciones de transferencia suaves, el lugar de la frecuencia de corte se define en puntos para los que $H(u, v)$ disminuye a una fracción de su valor máximo. Por ejemplo, en (5.38), cuando $D(u, v) = D_0$, $H(u, v)$ disminuye a un 50% de su valor máximo que es 1 [22].

No debe confundirse la notación empleada en esta sección para describir a los filtros de Butterworth, con la empleada en capítulos y secciones previas.

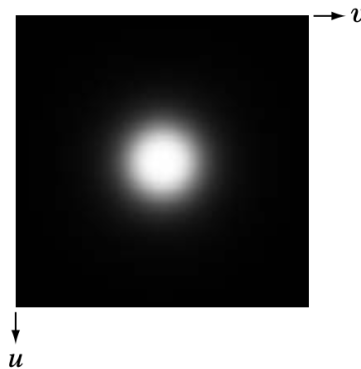


Figura 5.6: Representación en imagen de un filtro Butterworth

Ahora que tenemos el holograma modificado en el dominio de frecuencias, podemos filtrar las frecuencias no deseadas implementando un filtro de Butterworth, el cual modificará al espectro de entrada que en este

caso es el espectro del holograma modificado Hm .

Definimos una matriz denominada `height` que contendrá el número de filas de la matriz F_s , otra matriz denominada `width` que contendrá el número de columnas de la matriz F_s . Posteriormente, generamos dos matrices 2D que contienen las coordenadas X y Y correspondientes a cada punto en una cuadrícula, la cual se crea utilizando los rangos desde $(-\text{width}/2)$ hasta $(\text{width} - 1/2)$ para las coordenadas X y desde $(-\text{height}/2)$ hasta $(\text{height} - 1/2)$ para las coordenadas Y. Posteriormente, definimos el filtro Butterworth de la siguiente forma:

$$H_B(u, v) = \frac{1}{1 + [X^2 + Y^2/d]^2(4)} \quad (5.39)$$

El orden del filtro $H_B(u, v)$ se eligió como $n = 4$, dado que para valores de orden grandes, el filtro de Butterworth se aproxima al filtro ideal donde [22]:

$$H(u, v) = \begin{cases} 1 & \text{si } D(u, v) \leq D_0 \\ 0 & \text{si } D(u, v) > D_0 \end{cases} \quad (5.40)$$

En particular, para $n = 4$ se obtiene una transición más rápida desde la banda de paso a la banda de parada, esto es, $D(u, v)$ converge más rápido a D_0 . Lo que resulta en una atenuación más rápida de las frecuencias no deseadas, preservando así las frecuencias de interés [22].

De manera que, una vez implementado el filtro de Butterworth y definiendo la frecuencia de corte d , en torno a 9000 (μm), se tiene que:

$$G_B(u, v) = Hm(u, v) \cdot H_B(u, v) \quad (5.41)$$

donde $G_B(u, v)$ es el espectro filtrado que solo posee las frecuencias relacionadas a la información del objeto, es decir, el orden +1 y -1. Bastará con retropropagar al plano objeto para recuperar la información en amplitud y fase del objeto.

5.9. Retropropagación al plano objeto

Ahora que conocemos el espectro filtrado de la imagen intermedia, podemos retropropagar al plano objeto, para reconstruir su amplitud y fase. Para ello, haremos uso nuevamente del teorema de la convolución y seguiremos la metodología presentada en la sección (4.5.3), de acuerdo al diagrama de la figura (4.9). Donde para realizar la retropropagación del espectro filtrado, lo multiplicaremos por el complejo conjugado del factor de propagación del espectro angular, esto es:

$$o_f = IFFT(F_P^* \cdot G_B) \quad (5.42)$$

donde o_f representa al objeto retropropagado y F_P^* denota el complejo conjugado del factor de propagación, note que debemos considerar el complejo conjugado dado que cuando propagamos una onda, la llevamos desde el plano objeto al plano de Fourier, ahora en la retropropagación, el complejo conjugado del factor de propagación se utiliza para llevar la onda desde el plano de Fourier nuevamente al plano objeto. El factor de propagación toma en cuenta la dirección en la que la onda se propaga desde el plano objeto al plano de Fourier. Este factor de propagación tiene en cuenta la fase y la dirección de propagación, por lo que en la retropropagación, se invierte la dirección, y por lo tanto, se utiliza el complejo conjugado del factor de propagación para que los términos de fase se ajusten adecuadamente para la dirección opuesta.

5.10. Recuperación de amplitud y fase del objeto

Ahora que ya conocemos la información del objeto o_f , podemos reconstruir fácilmente su amplitud y fase de la siguiente manera:

$$a_{O_f}(x, y) = \sqrt{\Im_m^2[o_f(x, y)] + \Re_e^2[o_f(x, y)]} \quad (5.43)$$

y la fase:

$$\phi_{O_f}(x, y) = \tan^{-1} \left(\frac{\Im_m[o_f(x, y)]}{\Re_e[o_f(x, y)]} \right) \quad (5.44)$$

Hemos recuperado así la información de amplitud y fase del objeto a partir de su interferograma modificado, de manera que ahora el objeto puede reconstruirse totalmente ya que conocemos toda la información que lo caracteriza.

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos en la implementación de este trabajo.

Capítulo 6

Resultados

Con el propósito de exhibir la mejora significativa que obtenemos en la resolución de las imágenes finales al implementar el filtro de fase cúbica, exhibiremos las imágenes obtenidas en dos simulaciones. La primera, donde se implementa el filtro de fase cúbica, y la segunda donde no se corrige el desenfoque, es decir, no se usa el filtro de fase cúbica.

Para una visión general del proceso completo de este trabajo experimental realizado, presentamos el diagrama de flujo (6.1), en el que se resumen los pasos implementados.

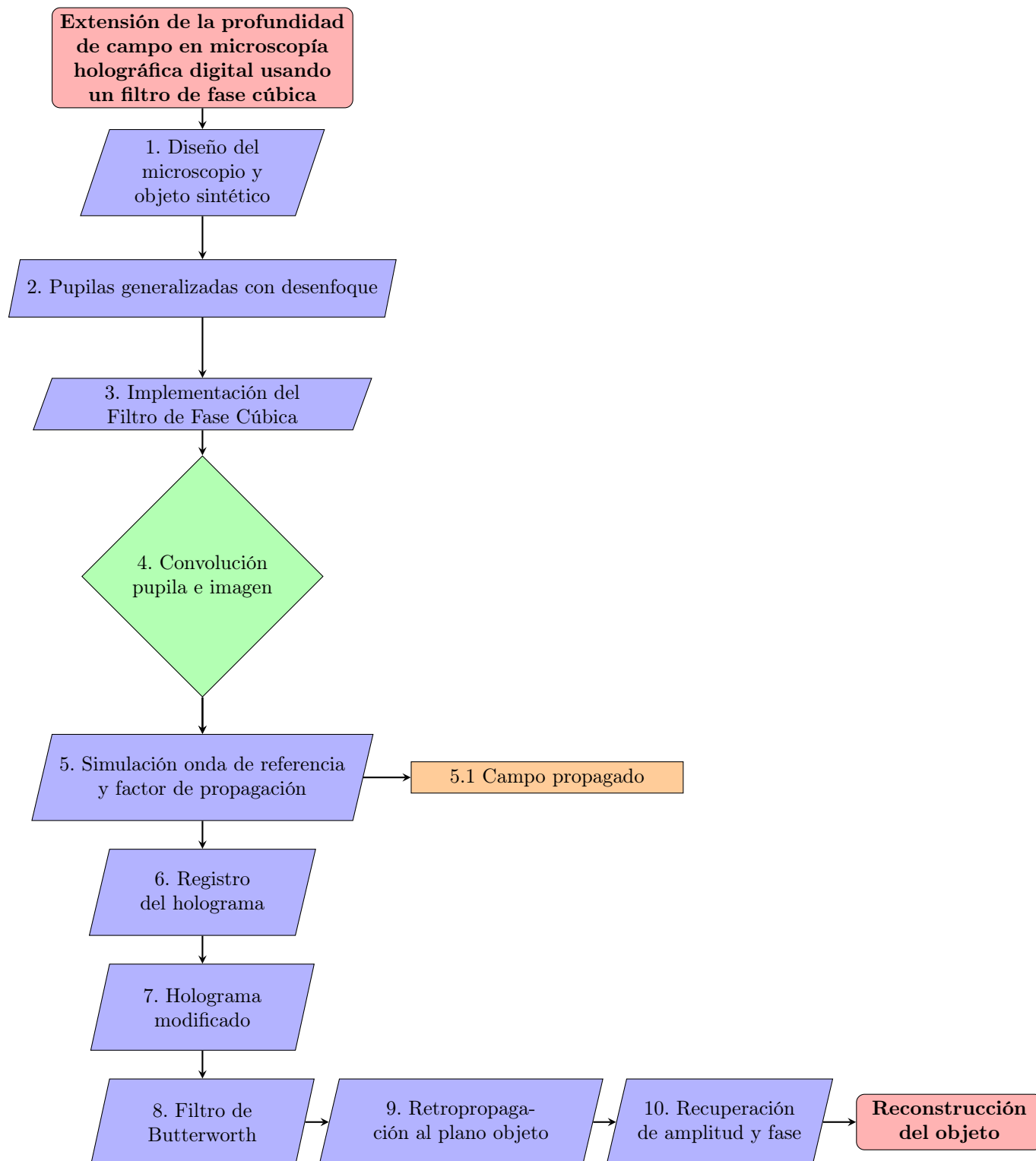


Figura 6.1: Proceso computacional implementado para extender la profundidad de campo en microscopía holográfica digital usando un filtro de fase cúbica

1. Una vez implementados el microscopio óptico, así como los objetos sintéticos y la función pupila generalizada con desenfoque, se desenfocaron los objetos sintéticos a diferentes distancias.

Posteriormente, se obtuvo la imagen del objeto desenfocado, es decir, el objeto obtenido sin la implementación del filtro de fase cúbica (6.2b). Es posible notar que solo un aspa puede apreciarse con suficiente contraste, en particular, el aspa colocada en $z_1 = 0$, es decir, la que estaba en foco. Para las otras aspas que conforman a nuestro objeto, no es posible distinguir los detalles que las conforman pues no presentan suficiente resolución, se observan borrosas. Así mismo, la unión de las puntas de las aspas no es distinguible, es evidente la presencia del desenfoque y la poca resolución en la imagen obtenida.

En contraste, al implementar el filtro de fase cúbica en la función pupila, se obtuvo la figura (6.2a), producto de la convolución de la función pupila generalizada con el filtro de fase cúbica y el objeto sintético desenfocado. Podemos notar que se observan los detalles de todas las puntas y partes laterales de las aspas, la resolución se incrementa considerablemente, no se observan detalles borrosos y el contraste y definición son muy buenos, permitiendo distinguir con facilidad a los objetos que conforman a la imagen. El filtro de fase cúbica implementado, ha inhibido exitosamente el desenfoque que se encontraba presente en nuestro objeto sintético.

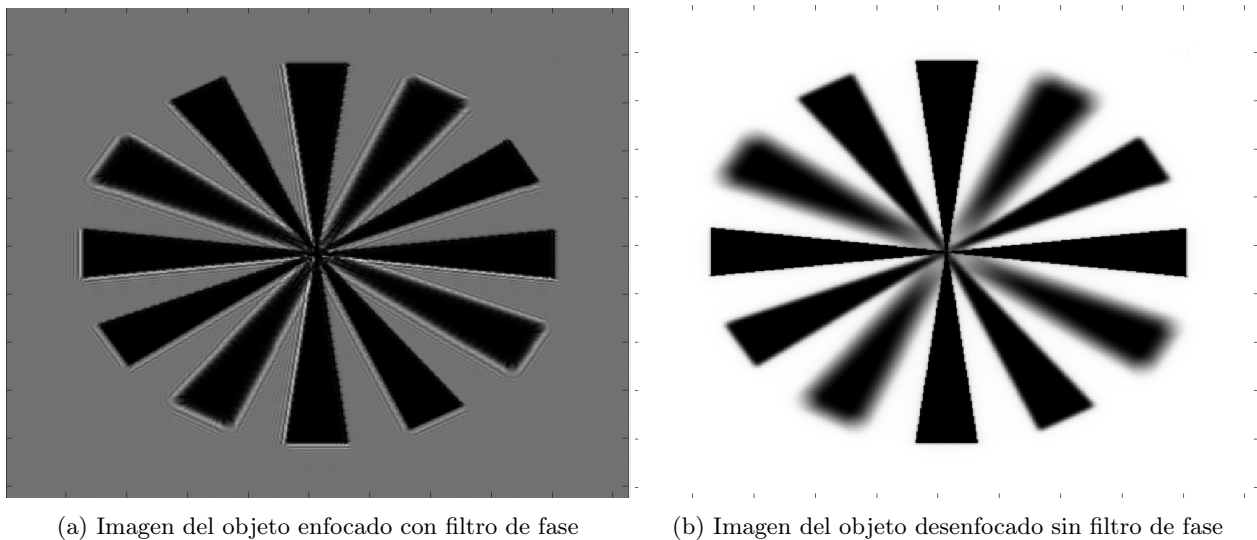
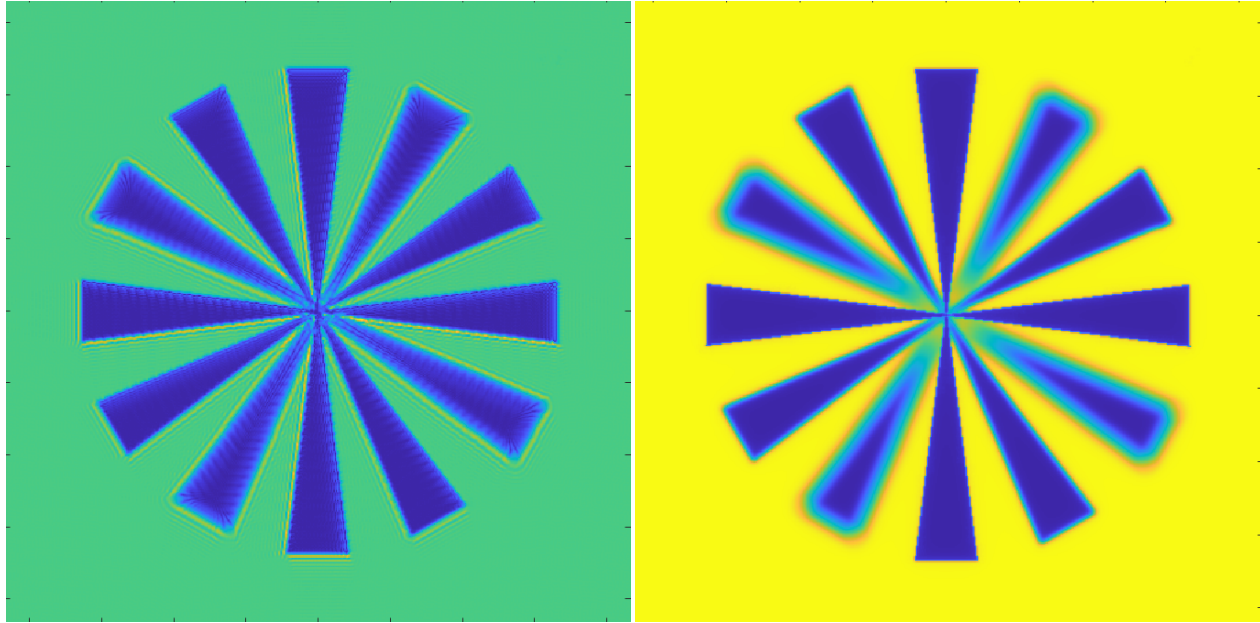


Figura 6.2: Imágenes del objeto con la implementación del filtro de fase y sin filtro de fase

2. Posteriormente, obtuvimos la amplitud y fase del objeto enfocado (6.2a), las cuales se exhiben en 6.3a y (6.4). Se pueden apreciar los detalles de los objetos sintéticos que conforman al objeto total. Cada uno de los bordes de las aspas se aprecian con suficiente contraste y tanto en la amplitud como en la fase es fácil distinguir a cada una de las aspas que conforman el objeto sintético. Podemos notar que en la amplitud del objeto las aspas del objeto se observan aparentemente iguales y se observan rangos de color uniformes con poca distorsión que brindan una buena calidad a la imagen. En la fase del objeto podemos notar que las aspas que se observarían desenfocadas si no se implementara el filtro de fase cúbica presentan cierta granularidad y una transición de colores así como un contorno particular en los bordes con respecto al aspa que se encuentra en foco inicialmente, en $z = 0$, ésta presenta una transición de color más acentuada y no posee el contorno en los bordes.

Adicionalmente, como se ilustra en la Figura (6.3b), hemos logrado capturar la amplitud correspondiente al objeto desenfocado. Esta muestra parcialmente algunos detalles de las aspas del objeto; no obstante, la definición de los bordes es limitada y ciertas aspas se perciben borrosas y con bajo contraste. Las únicas aspas que se pueden apreciar con detalle son las que se encuentran en foco, en $z = 0$. Es importante señalar que no se consiguió obtener la fase del objeto desenfocado (6.2b), esta limitación se debe a la ausencia de un interferómetro, a la falta de datos complejos sobre el objeto desenfocado

hasta ahora y a las aberraciones de fase provocadas por el desenfoque presentes en el objeto desenfochado. Podemos notar que el filtro de fase cúbica no solo inhibe la aberración de desenfoque sino que también permite capturar la fase del objeto al corregir la aberración de fase que se introduce durante la formación de la imagen. Al compensar estas aberraciones, el filtro de fase puede restaurar la nitidez de la imagen así como potenciar la resolución como se pudo observar previamente.



(a) Amplitud del objeto enfocado

(b) Amplitud del objeto desenfocado

Figura 6.3: Amplitudes asociadas al objeto obtenidas con la implementación del filtro de fase cúbica y sin el filtro de fase cúbica

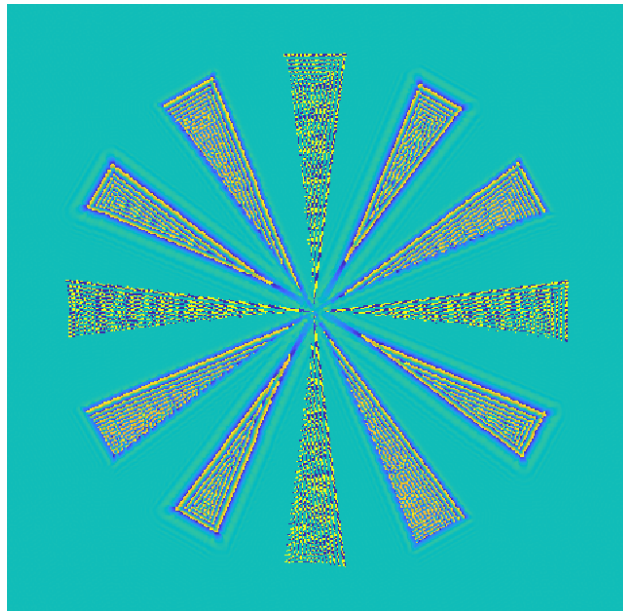
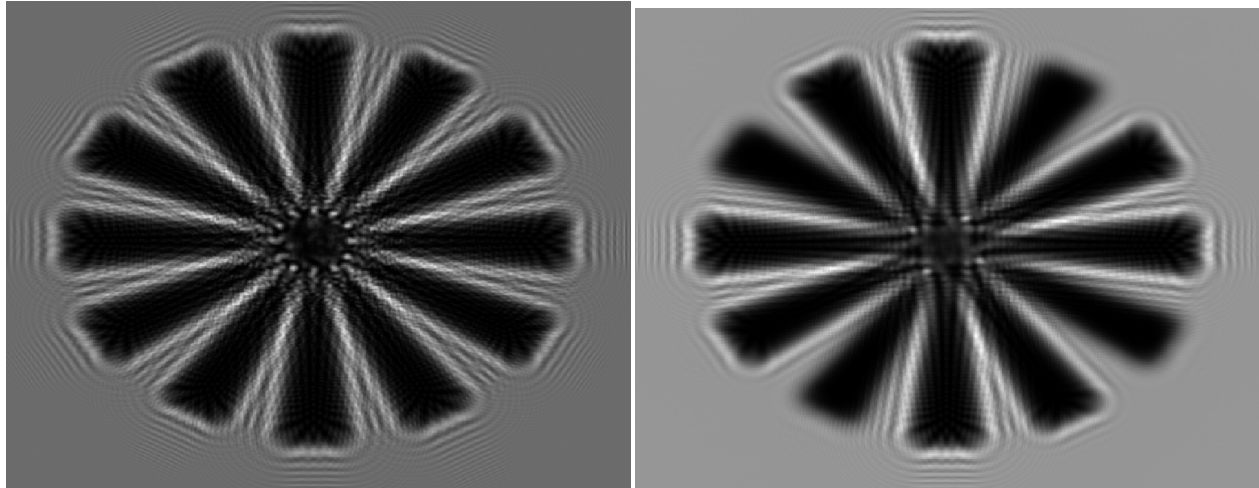


Figura 6.4: Fase del objeto enfocado

3. Las imágenes de los objetos propagados a una distancia $z = 1000\mu\text{m}$, se exhiben en (6.5). Podemos

observar que en (6.5a) se observan con menor detalle los bordes de las aspas, el contraste de la imagen ha disminuido, sin embargo, es posible apreciar en el centro algunos detalles de las puntas de las aspas. Por otra parte notamos que en (6.5b) no se observan todos los bordes de las aspas, en el centro de la imagen no se presenta el mismo detalle de las puntas de las aspas como en la imagen del objeto enfocado. Así mismo, el contraste y resolución han disminuido también.



(a) Imagen propagada del objeto enfocado

(b) Imagen propagada del objeto desenfocado

Figura 6.5: Propagación de las imágenes obtenidas con la implementación del filtro de fase cúbica y sin el filtro de fase cúbica

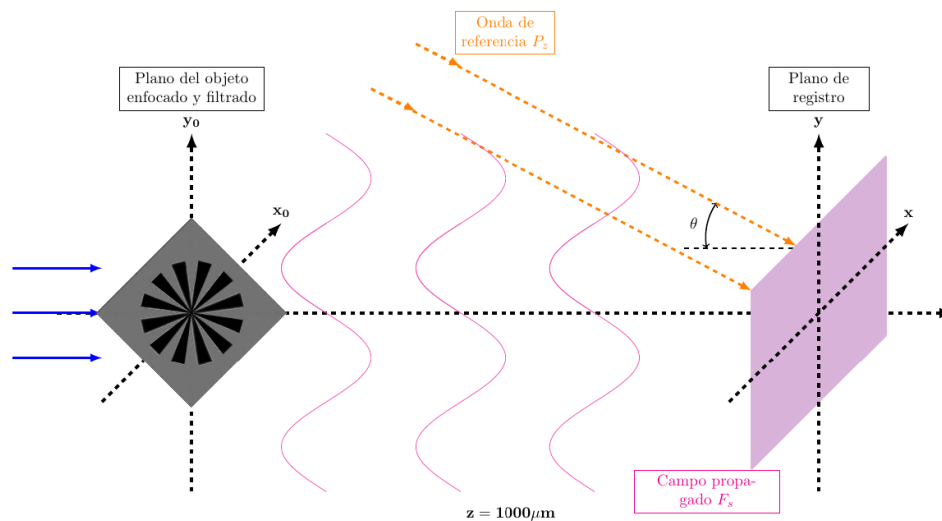
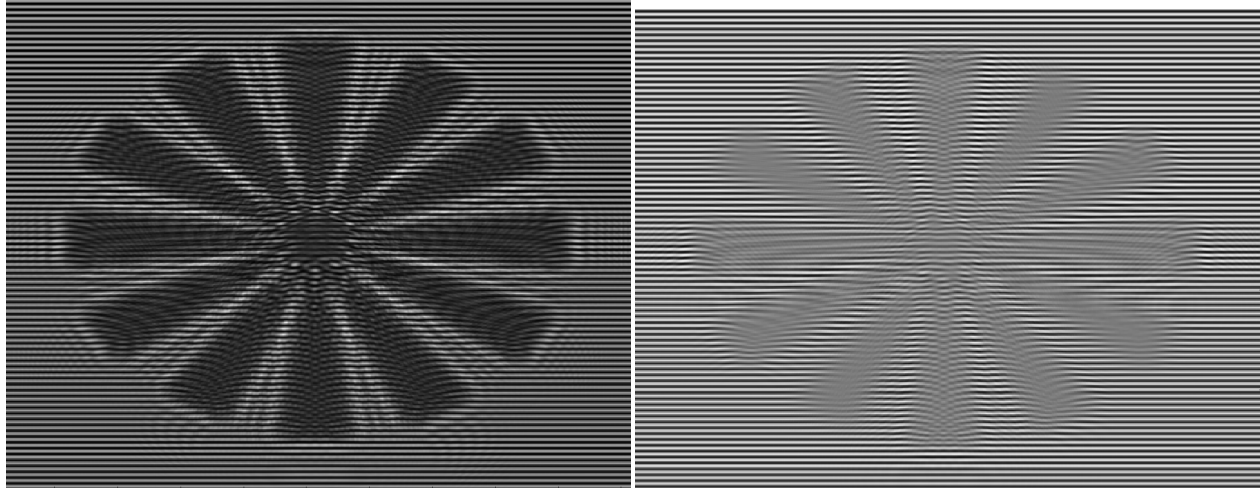


Figura 6.6: Proceso del registro del interferograma

- Al considerar la interferencia de una onda de referencia simulada con el objeto, tanto para el objeto desenfocado como para el objeto enfocado, como se muestra en (6.6), se obtuvo el registro de los siguientes hologramas digitales (6.7):

Podemos notar que aunque el interferograma asociado al objeto enfocado (6.7a) tiene menos contraste y definición, aún se pueden apreciar algunos detalles asociados a las aspas del objeto, se puede notar



(a) Interferograma con el objeto filtrado y enfocado

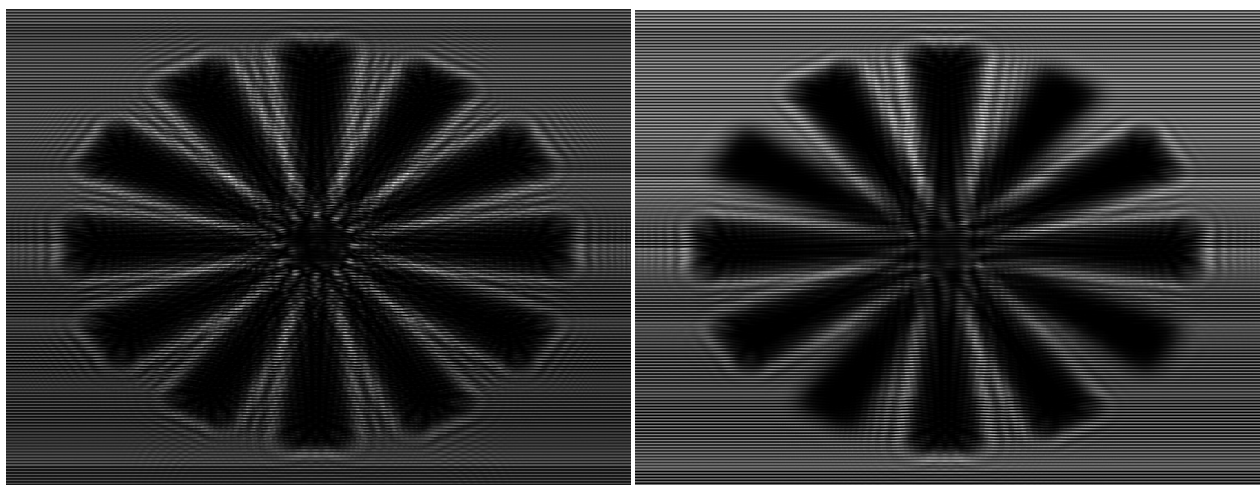
(b) Interferograma con el objeto desenfocado

Figura 6.7: Interferogramas registrados

la posición en la que se encuentran cada uno de los bordes y en la parte central se observan algunos detalles de las puntas de las aspas, sin embargo, se observa un fondo constante y la resolución no es suficiente para distinguir con facilidad a los elementos que conforman la imagen.

Para el caso del holograma asociado al objeto desenfocado (6.7b) se observa que no es posible distinguir con exactitud la posición de los bordes de las aspas. Se observa con dificultad la forma aparente de las aspas que conforman al objeto y no es posible distinguir los detalles de las puntas de las aspas en la parte central de la imagen, la resolución ha disminuido considerablemente.

5. Posteriormente, se modificaron ambos interferogramas, restando el orden 0 o fondo del holograma y filtrando parcialmente el orden +1, atenuándolo, de modo que únicamente resta filtrar el orden -1 y alguna frecuencia adicional presente en el espectro, resultante del filtrado parcial del orden +1 que puede dejar pasar algunas de las frecuencias más altas. Los hologramas modificados se exhiben en (6.8):



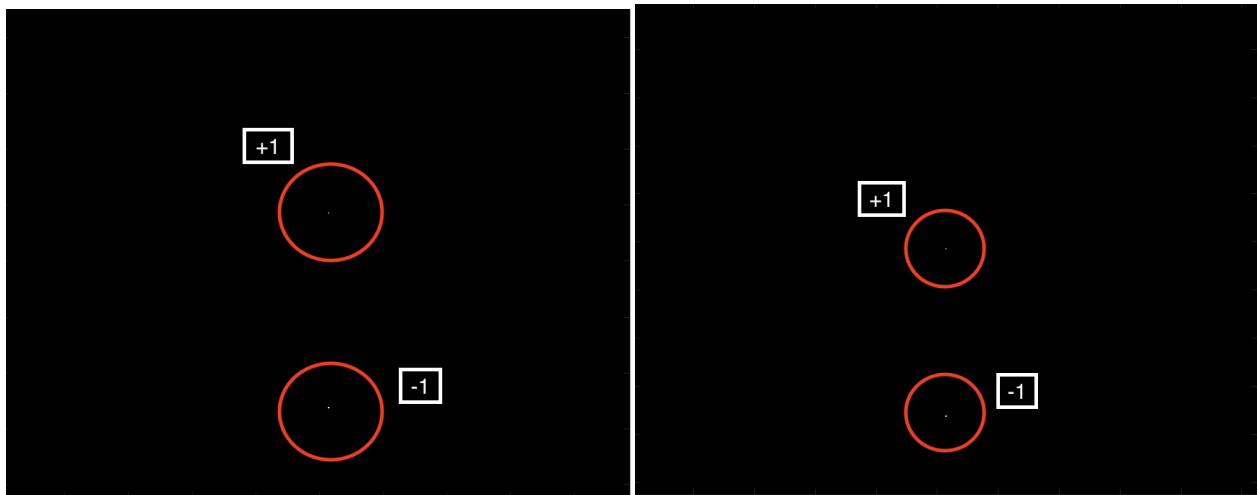
(a) Interferograma modificado del objeto filtrado y enfocado y la onda de referencia

(b) Interferograma modificado del objeto desenfocado y la onda de referencia

Figura 6.8: Interferogramas modificados

En el interferograma modificado del objeto filtrado y enfocado (6.8a), se observa una mayor intensidad en los niveles de gris y una mejor resolución, pues es posible distinguir con mayor facilidad los detalles de los bordes de las aspas que lo conforman. En la parte central del interferograma modificado se observan algunos detalles asociados a las puntas de las aspas. Para el caso del objeto desenfocado (6.7b), notamos que aunque mejora la resolución, no son visibles los bordes de todas las aspas y aunque el nivel de detalle de las puntas de las aspas mejora, no es posible visualizarlas con claridad. Asimismo, se observa un aumento en la intensidad de niveles de grises en la imagen y una mayor resolución que en (6.7b). Es evidente la reducción del ruido y la mejora en la visibilidad de las características del objeto al considerar el holograma modificado.

- Una vez que se modificaron los interferogramas, nos localizamos en el dominio de frecuencias empleando una transformada de Fourier, de manera que los espectros asociados a los hologramas modificados son:



(a) Interferograma modificado enfocado en el dominio de Fourier (b) Interferograma modificado desenfocado en el dominio de Fourier

Figura 6.9: Espectros de los hologramas modificados

La figura (6.9) ilustra la eliminación efectiva de la frecuencia correspondiente al orden cero o término DC tras modificar el holograma. Al centrar el espectro, las frecuencias bajas se ubican en el núcleo de la imagen, mientras que las de mayor orden se disponen hacia los extremos, creando un gradiente ascendente de frecuencias. En el centro, ahora predominan las frecuencias del orden $+1$, atenuadas durante el proceso de modificación del holograma. Por otro lado, el orden -1 y ciertas frecuencias altas adicionales se manifiestan en los bordes como parte de la información de la imagen conjugada. Esta última aparece como una versión espejada o invertida y alterada del orden $+1$ debido a la inclusión de altas frecuencias que no fueron eliminadas cuando se atenuó el término correspondiente al orden $+1$. Así, estas frecuencias complementarias se posicionan justo por debajo del orden $+1$ en la visualización. Notamos que en los espectros de ambos interferogramas modificados no es posible distinguir las características de los objetos, sin embargo, bastará con filtrar el orden -1 y las frecuencias altas que están presentes en los espectros para realizar la retropropagación al plano objeto y realizar la reconstrucción digital.

- Situados en el dominio de Fourier podemos filtrar a los hologramas modificados de las frecuencias no deseadas. En particular, estamos interesados en recuperar únicamente las frecuencias asociadas al orden $+1$, pues son las que contienen la información del objeto, que se encuentran en el centro del espectro. Así, al implementar el filtro de Butterworth (5.36, 5.37) obtenemos los siguientes espectros filtrados (ahora sin el orden -1 y las frecuencias altas) (Figura 6.10):

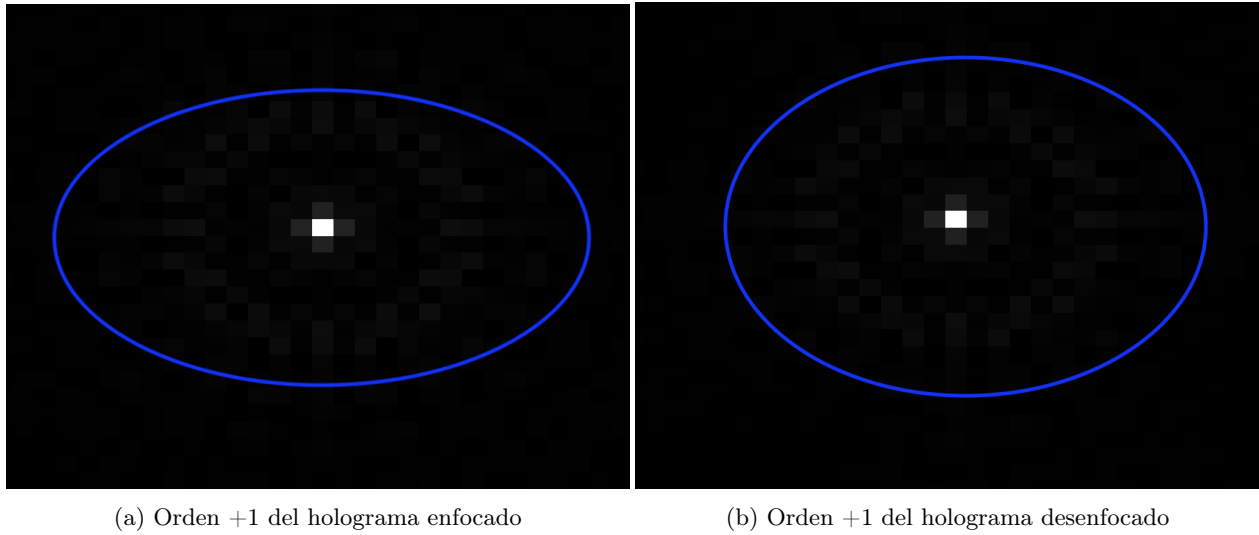


Figura 6.10: Espectros filtrados de los hologramas modificados mediante el filtro de Butterworth

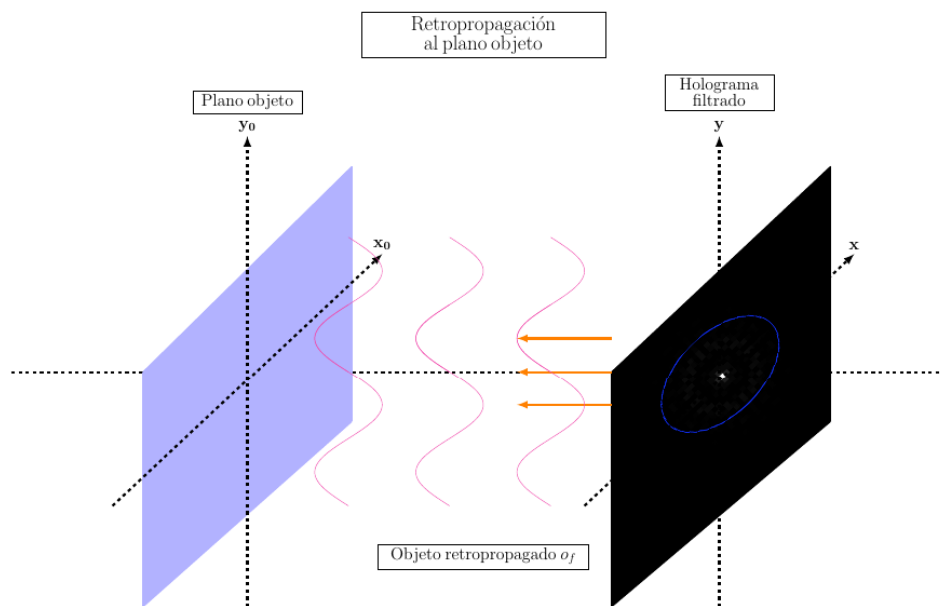
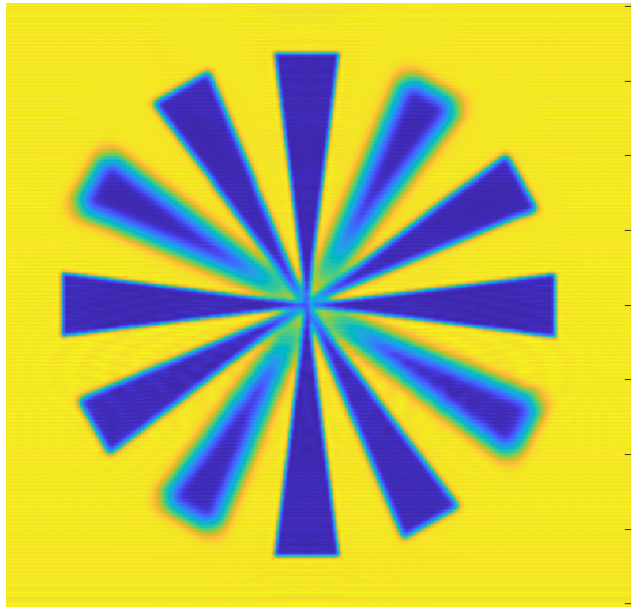
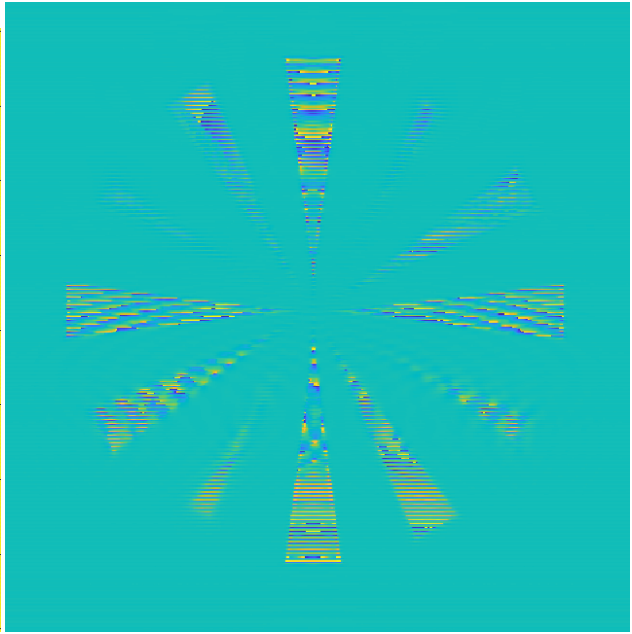


Figura 6.11: Retropropagación al plano objeto

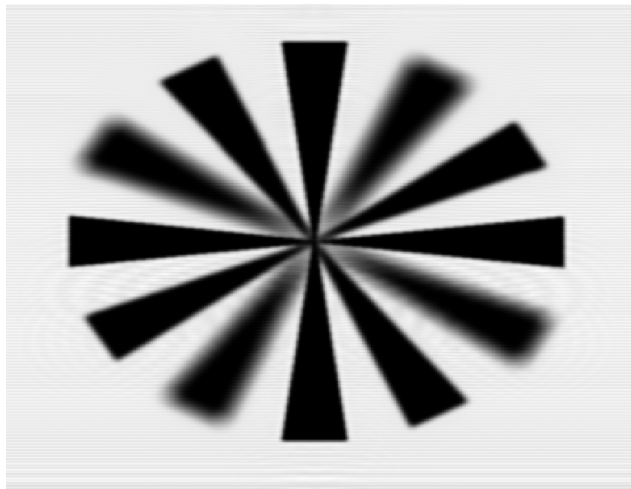
8. Una vez recuperados los órdenes de interés (orden +1), se retropropagó el holograma modificado y filtrado al plano objeto como se muestra en (6.11) y aplicando una transformada de Fourier inversa regresamos al dominio espacial. Finalmente, se recuperó la amplitud y fase del objeto enfocado con el filtro de fase cúbica y la amplitud y fase del objeto desenfocado. A continuación se muestran las imágenes obtenidas para cada uno. Para el objeto desenfocado tenemos (Figura 6.12):



(a) Amplitud recuperada del objeto desenfocado



(b) Fase recuperada del objeto desenfocado



(c) Objeto recuperado

Figura 6.12: Reconstrucción del objeto desenfocado

Y para el objeto enfocado (Figura 6.13):

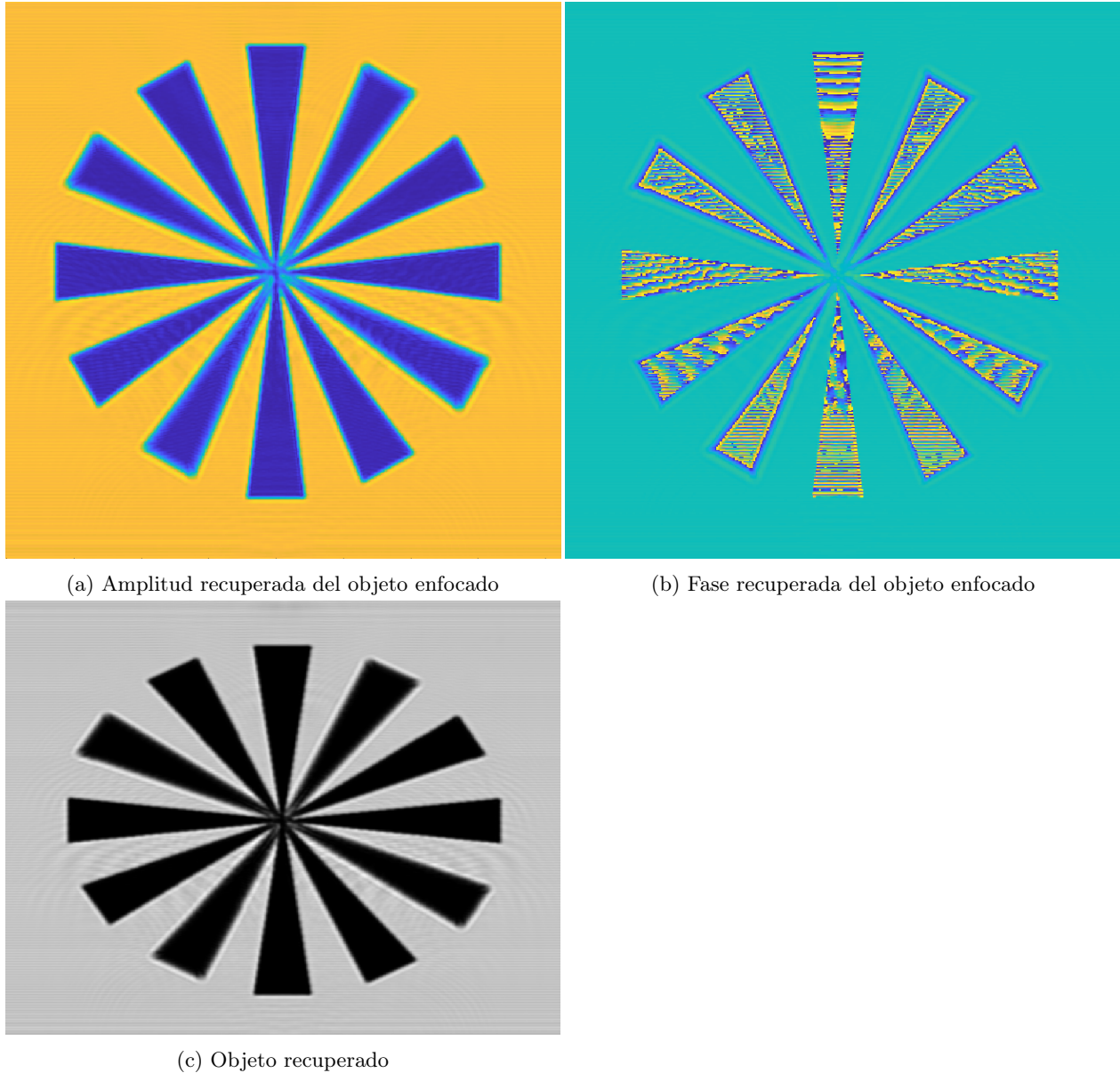


Figura 6.13: Reconstrucción del objeto enfocado

Podemos observar que para el objeto desenfocado recuperado (6.12) se observa un suavizamiento en la imagen, aunque el desenfoco sigue estando presente en las aspas que integran al objeto. Se observa que en la amplitud del objeto, no todas las aspas que lo conforman se aprecian con detalle. Así mismo, debido a la interferencia registrada es posible visualizar una parte de la fase del objeto, sin embargo, el desenfoco sigue estando presente en la imagen por lo que por ello, no es posible capturar completamente la fase del objeto. Podemos notar que las zonas que se visualizan mejor en la fase, corresponden a las aspas del objeto que se encuentran en foco, para las aspas que se observan borrosas y desenfocadas se observan patrones poco claros y definidos en la fase del objeto que denotan alteraciones en la estructura general de la imagen.

Por otro lado, para el caso del objeto enfocado (Figura 6.13) observamos que se ha retirado el fondo inicial que teníamos en el objeto, la forma de las aspas es clara y bien contrastada. Se observan con detalle las formas y bordes de las aspas, así como las características de sus puntas en

la parte central. El filtro de Butterworth implementado o filtro pasabajos ha suavizado la imagen del objeto eliminando las altas frecuencias que no aportaban a mejorar la resolución de la imagen. Podemos observar en (6.13a) y en (6.13b) que tanto en la amplitud como en la fase del objeto, las características y detalles de las aspas del objeto son fácilmente distinguibles y se encuentran bien contrastadas. En la fase recuperada notamos que los bordes de las aspas están bien definidos aunque presenta una apariencia más granulada, con más distorsiones y transiciones de color más pronunciadas en comparación con la fase inicial del objeto (6.4), variaciones que pueden interpretarse como resultado de la retropropagación y la reconstrucción de solo un orden de difracción del holograma.

6.1. Criterio de máxima entropía

Con el propósito de corroborar que la imagen recuperada del objeto se encuentra en foco, es decir, en la posición $\Delta z = 0$, utilizaremos el criterio de *máxima entropía* (Shannon, C.E. 1948), el cual es una medida de la información y la incertidumbre transferida [22].

En particular, la entropía mide la aleatoriedad de los píxeles de la imagen y se define como:

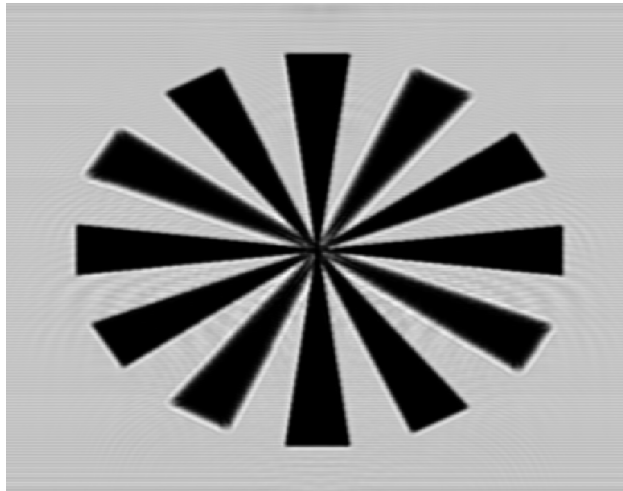
$$S(r_k) = - \sum p_r(r_k) \log p_r(r_k) \quad (6.1)$$

donde p_r representa la frecuencia relativa de los niveles de gris y es un estimado de la probabilidad de ocurrencia del nivel de intensidad r_k ($\forall k = 0, 1, 2, \dots, L - 1$) en una imagen digital. La frecuencia relativa está definida como: $p_r(r_k) = \frac{n_k}{MN}$ donde n_k es el número de píxeles que tienen intensidad r_k , L es el número posible de niveles de intensidad en la imagen y el producto MN es el número total de píxeles en la imagen [22][3].

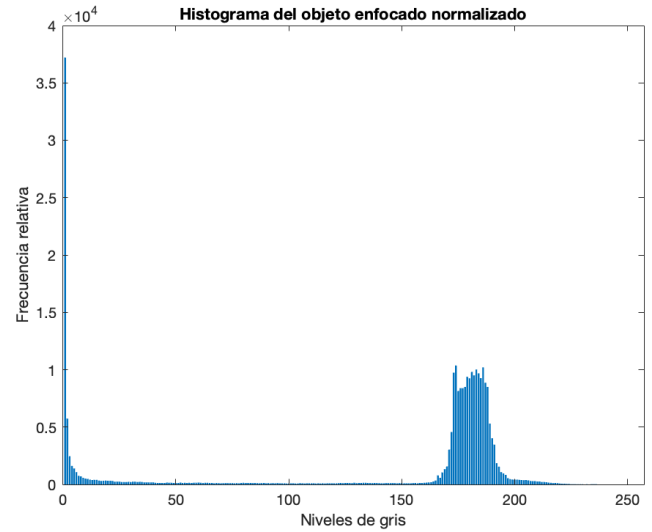
En imágenes que se encuentran en escala de grises la entropía toma el valor de 0 cuando cuando las frecuencias relativas son cero y alcanza su valor máximo cuando todos los niveles de gris de la imagen tienen la misma frecuencia [3].

Particularmente, en el caso de imágenes binarias limitadas por difracción ocurre el caso contrario, la entropía disminuye debido a que las frecuencias relativas se concentran en dos eventos: 0 y 1. Al añadir desenfoque a la imagen, aparecerán nuevos niveles de gris, y como consecuencia el valor de la entropía crecerá. En otras palabras esto significa que en una imagen binaria, a menor valor de entropía menor será el desenfoque [3][22].

Note que podemos considerar a las imágenes recuperadas obtenidas en (6.13c, 6.12c) como imágenes binarias, puesto que sus frecuencias relativas se concentran dentro de dos eventos 0,1. Al calcular la entropía para el objeto recuperado enfocado y para el objeto recuperado desenfocado, obtuvimos lo siguiente:

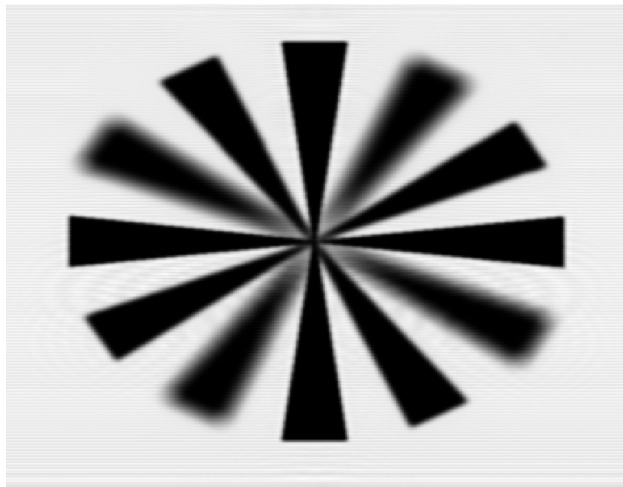


(a) Objeto recuperado enfocado

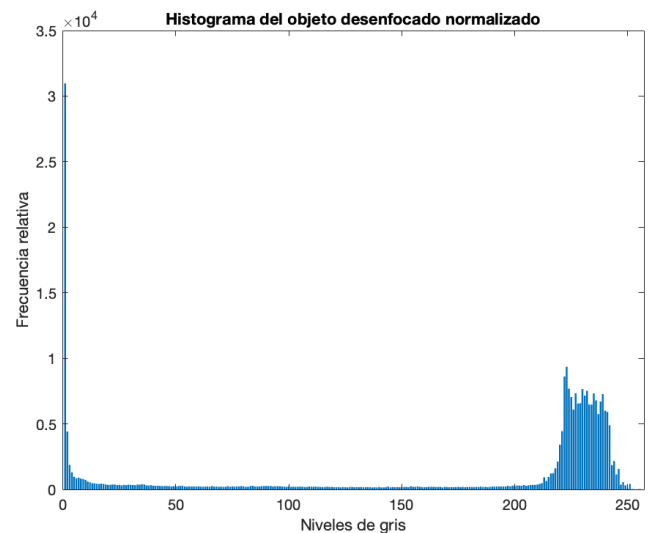


(b) Histograma para la imagen binaria del objeto recuperado

Figura 6.14: Objeto enfocado e histograma para la imagen binaria del objeto enfocado con entropía $S(r_k) = 5,52$



(a) Objeto recuperado desenfocado



(b) Histograma para la imagen binaria del objeto recuperado

Figura 6.15: Objeto desenfocado e histograma para la imagen binaria del objeto desenfocado con entropía $S(r_k) = 6,14$

Podemos notar que en el caso de la imagen enfocada, la intensidad de sus niveles de gris toma valores entre 0 y 200 aproximadamente, exhibiendo picos de frecuencias relativas significativos en los niveles de gris entre 150 y 200, valores asociados a una imagen binaria. El valor de entropía obtenido fue de $S(r_x) = 5,52$.

Por otro lado, para la imagen desenfocada notamos que las frecuencias relativas de la imagen se incrementan notablemente, en contraste con la imagen enfocada. Además, notamos que los niveles de gris aumentan y se exhiben frecuencias relativas significativas asociadas a mayores niveles de grises

en comparación con la imagen recuperada enfocada, lo que tiene sentido dado que al desenfocar una imagen binaria se añaden nuevos niveles de gris, como se había mencionado previamente. Para el caso enfocado se obtuvo un valor de entropía de $S(r_x) = 6,14$.

Podemos observar que la entropía de la imagen fuera de foco es mayor que la entropía asociada a la imagen enfocada lo que es consistente con la entropía para imágenes binarias y por lo tanto podemos reafirmar que la imagen recuperada del objeto está en foco. Es importante señalar que el criterio de máxima entropía y el histograma de frecuencias relativas de la imagen constituyen herramientas importantes para determinar la presencia de desenfoco en una imagen además del análisis de amplitud y fase del objeto.

Por lo anteriormente expuesto, podemos concluir que el proceso de reconstrucción de los hologramas digitales ha sido exitoso y hemos podido recuperar la información del objeto tanto en amplitud como en fase. Además, es clara la mejora en la resolución, contraste y nitidez que se observa en (6.13), la cual se ha alcanzado gracias a la implementación del filtro de fase cúbica implementado en la función pupila generalizada.

Conclusiones

Este trabajo se enfocó en la extensión de la profundidad de campo en la microscopía holográfica digital, utilizando un filtro de fase cúbica para mejorar la resolución y nitidez de imágenes situadas en diferentes planos.

El objetivo general de esta investigación fue mejorar la calidad de imágenes holográficas mediante la implementación de un filtro de fase cúbica, que inhibe el desenfoque y extiende la profundidad de campo. Esto se complementó con objetivos específicos enfocados en simular un microscopio holográfico digital, recuperar información de fase y amplitud de objetos, e implementar el filtro de fase cúbica en el sistema.

Los resultados obtenidos demuestran que la implementación del filtro de fase cúbica es efectiva en la mejora de la resolución y nitidez de las imágenes. Las simulaciones mostraron un contraste y detalle significativamente mejorados en las imágenes procesadas con el filtro, en comparación con las que no lo usaban. La implementación del filtro de fase cúbica en la función pupila generaliza del SO asociada al microscopio óptico, aumentó la profundidad de campo y la profundidad de foco sin alterar la apertura numérica NA del microscopio, permitiendo obtener imágenes bien contrastadas y manteniendo constantes la amplificación y la capacidad del objetivo del microscopio de recoger luz para formar imágenes de alta resolución y con buen nivel de detalle. En este sentido, resulta posible obtener a la muestra total enfocada y no solo porciones de ellas, lo que puede facilitar la visualización y análisis de estructuras tridimensionales con superficies irregulares.

Además, la recuperación de la información de fase y amplitud de los objetos estudiados a partir del holograma modificado fue exitosa, lo que demuestra la eficacia del método propuesto, de manera que podemos considerarlo como una metodología no invasiva y eficaz para registrar y recuperar la información de fase e intensidad, que son elementos fundamentales para determinar las características de la forma de los objetos, especímenes biológicos y microorganismos bajo estudio.

Es importante destacar que la metodología propuesta no solo nos permite recuperar la información de fase y de amplitud del objeto, sino que también se hace evidente que la modificación del holograma constituye una técnica que permite mejorar la resolución de la imagen reconstruida pues filtra todas aquellas frecuencias innecesarias y que no aportan información. Además el empleo de filtros pasabajos como el filtro de Butterworth implementado, proporciona una imagen restaurada libre de ruido y de frecuencias y elementos que distorsionen y no aporten detalle y contraste a la información de la imagen asociada al objeto.

En conclusión, este trabajo ha demostrado que el uso de un filtro de fase cúbica en la microscopía holográfica digital es una estrategia viable y efectiva para mejorar la calidad de las imágenes. Esto no solo representa un avance en la técnica de la microscopía holográfica sino que también abre nuevas posibilidades para su aplicación en campos donde se requiere una alta resolución y nitidez, como en el análisis biológico y la investigación de materiales. Además, la eficiencia del método propuesto en términos de recursos computacionales y la capacidad para procesar imágenes sin requerir algoritmos complejos para corregir aberraciones son ventajas adicionales significativas.

Dentro de los desafíos y limitaciones que se pueden explorar, se encuentran las distancias bajo las que el filtro de fase cúbica implementado no inhibe el desenfoque, así como el empleo de diferentes imágenes

desenfocadas a diversas distancias. Consideraciones que nos pueden brindar mayor información sobre las métricas de rendimiento, así como el planteamiento de nuevos retos para la mejora y evolución de la metodología propuesta.

Este trabajo, por lo tanto, contribuye al campo de la microscopía holográfica digital ofreciendo una metodología alternativa, no invasiva y mejorada para la extensión de la profundidad de campo y la mejora de la resolución de imágenes que además, permite recuperar la información completa del objeto bajo estudio, lo que podría tener un impacto significativo en diversas áreas de investigación y aplicaciones prácticas, como en el análisis médico de imágenes, aplicaciones industriales y biológicas, entre otras.

6.2. Trabajo a futuro...

Con el reciente avance en la automatización del diseño de arquitecturas de redes neuronales, se vislumbra una oportunidad prometedora para aplicar estas tecnologías en la mejora del rendimiento de algoritmos de restauración en el procesamiento de imágenes, como en el contexto de este proyecto. Esta integración no solo permitiría trabajar con bases de datos de imágenes más extensas, sino que también podría reducir el error humano y los tiempos de procesamiento. Este enfoque tiene el potencial de mejorar significativamente la precisión y eficiencia en aplicaciones como el análisis médico de imágenes, promoviendo así una investigación más ágil y detallada. Sin embargo, se deben considerar los desafíos asociados, como la necesidad de grandes conjuntos de datos y una interpretación precisa de los resultados automatizados. La colaboración interdisciplinaria será clave para explorar plenamente estas posibilidades, abriendo nuevas vías para investigaciones más avanzadas y accesibles en el campo de la microscopía holográfica digital y el procesamiento de imágenes.

Bibliografía

- [1] GOODMAN J. W. (1996). *Introduction to Fourier Optics*. Segunda edición, McGraw-Hill College.
- [2] HECHT, E. (2000). *Óptica*. Tercera edición, Addison Wesley.
- [3] ORTIZ SOSA, R.(2016). *Fuentes quasi-puntuales en la restauración del desenfoque de imágenes en microscopía*[Tesis de Doctorado, Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica].
- [4] PALILLERO SANDOVAL, O.(2015). *Codificación de la función de pupila para extender la profundidad de campo usando fuentes cuasi-puntuales*[Tesis de Doctorado, Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica].
- [5] CRUZ LÓPEZ, M.L (2009). *Recuperación de objetos de fase con microscopía holográfica digital y algoritmos iterativos*[Tesis de Doctorado, Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica].
- [6] VILLA HERNÁNDEZ, J.M.(2016). *Implementación de tramas binarias en hologramas generados por computadora*[Tesis de Maestría, Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica].
- [7] MEJÍA BARBOSA Y. (2011). *El frente de onda y su representación con polinomios de Zernike*. Cienc Technol Salud Ocul.
- [8] JARQUÍN GONZÁLEZ D. C. (2007). *Procesamiento de interferogramas para obtener las aberraciones de una lente adaptativa*[Tesis de Licenciatura, Universidad Tecnológica de la Mixteca].
- [9] GÓMEZ VIEYRA A. (2006). *Reconstrucción de Frentes de Onda con Datos Interferométricos Utilizando Polinomios de Cuasi-Zernike* [Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones en Óptica, A.C].
- [10] BELLO GONZÁLEZ J. T. (2017). *Polinomios de Zernike para el estudio de la aberración de superficies* [Tesis de Licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla].
- [11] DOWSKI, E. R. & CATHEY, W. T. (1995) *Extended Depth of Field Through Wavefront Coding*[Applied Optics. Vol. 34, No. 11, pp. 1859-1866].
- [12] FITZGERREL, A. R., DOWSKY, E. R., & CATHEY, W.T (1997) *Defocus transfer function for circularly symmetric pupils*.[Applied Optics. Vol. 36, No.23, pp. 5756-5804].
- [13] ARAIZA DURÁN J. A.(2012) *Desarrollo de un sistema óptico simple con codificador del frente de onda para extender la profundidad de campo* [Tesis de Maestría, Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica].
- [14] ZHAO, H., & LI, Y.(2010) *Optimized sinusoidal phase mask to extend the depth of field of an incoherent system*[Optic Letters, Vol. 35, No.2, pp. 267-269].
- [15] LIU, M., DONG, L., ZHAO, Y., HUI, M., & JIA, W. (2013) *Stationary phase analysis of generalized cubic phase mask wavefront coding*[Optics Communications 298-299, pp.67-74].
- [16] PRASAD, S., TORGERSEN, T.C., PAUCA, V. P., PLEMMONS, R. J., & VAN DER GRACHT, J. (2003) *Engineering the Pupil Phase to Improve Image Quality*[Proceedings of SPIE. SPIE, Vol. 5108].

- [17] O'CALLAGHAN, M., MCNEIL, J.J., WALKER, C.,K., & HANDSCHY, M. A. (2007). *Spatial light modulators with integrated phase masks for holographic data storage*[Proceedings of SPIE. SPIE.].
- [18] BORN, M., BORN, L. N. L. M., WOLF, E., BORN, M. A., & BHATIA, A. B. (1999). *Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light*. [Cambridge University Press.].
- [19] SCHNARS, U., FALLDORF, C., WATSON, J., & JÜPTNER, W. (2005). *Digital Holography: Digital Hologram Recording, Numerical Reconstruction, and Related Techniques*. [Springer].
- [20] PICART, P., (2015) *New Techniques in Digital Holography* [Wiley].
- [21] WILSON, T., & SHEPPARD, C. (1985) *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy* [Academic Press Inc. (London) LTD].
- [22] GONZALEZ, C. R., & WOODS E., R. (2008) *Digital Image Processing*. [Pearson. Prentice Hall].
- [23] AGUILERA, R., J., A. (2017) *Microscopía Holográfica Digital y Sus Aplicaciones*. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de San Luis Potosí].
- [24] MONALDI, A., C. (2015) *Microscopía Holográfica Digital: Aplicaciones a la caracterización de microorganismos* [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de la Plata].
- [25] SWOGER, J., MARTÍNES-CORRAL, M., HUISKEN, J., & STELZER, H., K., E. (2002). *Optical scanning holography as a technique for high-resolution three-dimensional biological microscopy*[J. Opt. Soc. Am. 19, 1910-1918].
- [26] WEDBERG, J., S., & STAMNES, J., J. (1995) *Experimental examination of the quantitative imaging properties of optical diffraction tomography*[J. Opt. Soc. Am. A 12, 493].
- [27] P. HARIHARAN. (2002) *Basics of Holography*[Cambridge University Press].
- [28] M., K., KIM (2010) *Principles and techniques of digital holographic microscopy*[University of South Florida, Department of Physics. SPIE].
- [29] WU, Y., RIVENSON, Y., ZHANG, H., WEI, Z., GÜNAYDIN, H., LIN, X., & OZCAN, A. (2018). *Extended depth of field in holographic imaging using deep-learning based autofocus and phase recovery*. [Optica, 5(6), 704. <https://doi.org/10.1364/OPTICA.5.000704>]
- [30] BERGOËND, I., COLOMB, T., PAVILLON, N., EMERY, Y., & DEPEURSINGE, C. *Extended depth of field and 3D information extraction in digital holographic microscopy*. [Optical Society of America, <https://doi.org/10.1364/OPTICA.5.000704>]
- [31] COLOMB, T., PAVILLON, N., KÜHN, J., CUCHE, E., DEPEURSINGE, C., & EMERY, Y. (2010) *Extended depth of focus by digital holographic microscopy*. [Optics Letters, 35(11), 1840. <https://doi.org/10.1364/ol.35.001840>]