

Instituto Nacional de Astrofísica, Optica y Electrónica.

Resolución de un Sistema Óptico a partir de la Función de Distribución de Wigner Discreta con Luz Coherente.

Por:

Ing. Sergio Mejía Romero.

Tesis sometida como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en la especialidad de Óptica en el Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica.

Supervisada por:

Dr. Luis Raúl Berriel Valdos.

Agosto del 2011.

©INAOE 2011 Derechos Reservados El autor otorga al INAOE el permiso de reproducir y distribuir copias de esta tesis en su totalidad o en partes mencionando la fuente.



Dedicatoria:

A Don Chavita† y Doña Catita†,

A mi madre, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitió ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre, por los ejemplos de perseverancia, la constancia que lo caracteriza y que me infundo siempre, por el amor que siempre me has brindado, por cultivar e inculcar ese sabio don de la responsabilidad. Por el valor mostrado para salir a delante.

Agradecimientos:

A mis profesores, gracias por su tiempo, por su apoyo así como la sabiduría que me transmitieron día con día y en el desarrollo de mi formación académica, en especial: al Dr. Luis Raúl Berriel Valdos, por haber guiado el desarrollo de este trabajo y motivarme a llegar a la culminación del mismo, gracias por las largas charlas y buenos consejos, algunas veces no necesariamente académicos; al Dr. Félix J. Aguilar por su apoyo ofrecido en los momentos difíciles de este trabajo.

También agradezco a todos los docentes del Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica por los conocimientos compartidos y enseñados para mi desarrollo profesional.

> "La libertad es la propiedad espiritual que tiene todo ser de elegir, de realizar la elección de su vida, que es la elección de su fin, pero la libertad nos perfecciona o nos hace esclavos: Todo depende de qué elijamos."

Entonces podemos decir: "El hombre no vale por lo que tiene o lo que es, sino por lo que decide."

Resumen.

Una característica deseable en los sistemas ópticos formadores de imágenes (SO), es que tenga una resolución espacial suficientemente alta, para resolver en la imagen detectada detalles del objeto. Hoy día la detección de la imagen se realiza con un CCD con lo cual un ruido aditivo se le suma a la imagen, consecuentemente los detalles de esta imagen se pierden.

Si el objeto tiene simetría circular binario y con ruido, entonces su imagen es asimétrica. Por consiguiente el espectro de la imagen es complejo y del modulo del espectro no se puede deducir si este tiene ceros a lo largo de su variable frecuencial.

Cuando tenemos un objeto binario resolverlo queda limitado por el ruido y en el caso de utilizar un microscopio es por su abertura numérica consecuentemente, el objetivo de esta tesis, es presentar resultados experimentales cuando el objeto es binario y aproximadamente circular de dimensiones del orden de la longitud de onda, este objeto lo iluminamos con dos diferentes tipos iluminación altamente conocidas; luz coherente (Laser) y comparar resultados con luz incoherente (luz blanca).

Para observar si existen ceros, en este trabajo se propone trabajar con la función de distribución de Wigner (*FDWD*) en el origen domino espacial. Esto se debe a que la FDWD es la autocorrelación del espectro de la imagen detectada y debe ser real, lo cual implica que los ceros de ésta en principio se pueden localizar por medio de una tabla numérica o una gráfica.

En este trabajo las imágenes se detectan con un CCD cuyo pixel pitch es suficientemente pequeño para asegurar que la frecuencia de corte de éste es mayor a la frecuencia de corte del sistema óptico.

Al promedio de imágenes detectadas se le aplica la función de distribución de Wigner discreta¹ [*DWDF*] para conocer si el objeto está resuelto por el sistema [parte óptica más detector (CCD)]. Si la *DWDF* es únicamente positiva en dos veces el ancho de banda de la función de transferencia coherente [FTC] decimos que el objeto no está resuelto; de otra forma, el objeto se resuelve. Asumimos que la imagen detectada tiene errores sistemáticos y no sistemáticos^{2 3}

Se presentan los resultados para 3 fuentes de luz coherente con diferentes longitudes de onda 532nm (azul), 547nm (verde) y 632.9nm (rojo). Como propósito se comparan los resultados obtenidos numéricamente con los resultados experimentales al aplicar la función de distribución de Wigner discreta (FDWD) para cada longitud de onda. Y de esta comparación inferir cuando el objeto está resuelto o no resuelto por el sistema óptico.

Los objetos que se utilizan son microagujeros de diámetro de 1 y 5µm con una tolerancia en su diámetro de $\pm 0.5 \mu m$; el objetivo de microscopio utilizado es 20X(0.40) y el CCD tiene un píxel pitch de $3.45 \mu m$.

Índice General

1 Introducción	. 6
2 Resolución de sistemas ópticos	. 8
2.1 Introducción	. 8
2.2 Resolución del Microscopio.	. 9
2.3 Resolución del CCD.	11
2.4 Teoría formación de imagen en luz coherente Resolución del sistema	14
2.5 Imagen calculada de un objeto en luz coherente.	16
2.6 Calculo de frecuencia de corte del corte del CCD y Sistema Óptico	18
3 Propuesta de positividad usando la Función de distribucion de Wigner Discreta	19
3.1 Introducción.	19
3.2 La FDWD como representación de espacio frecuencia de una imagen	19
3.3 FDW en x=y=0 de una objeto puntual	20
3.4 Propuesta de Positividad	21
4 Simulación de la FDWD aplicada a la imagen detectada de un objeto en luz coherente	23
4.1 Introducción	23
4.2 Imagen detectada simulada numéricamente de un punto en luz coherente	23
4.3 FDWD aplicada al promedio de la imagen	25
4.4 Resultados de la simulación	26
5 Descripción Experimental	31
5.1 Introducción.	31
5.2 Metodología Experimental	31
6 Resultados	33
6.1 Introducción	33
6.2 Resultados experimentales	33
7 Conclusiones	41
8 Bibliografía	43

Capítulo 1

Introducción.

Si consideramos un sistema óptico (SO) formador de imagen como un sistema lineal en amplitud, limitado por difracción, libre de aberraciones y con una pupila de dimensiones finitas, iluminado en luz coherente; y a este sistema lineal como objeto introducimos una función delta de Dirac en amplitud, entonces la imagen formada por este sistema es la trasformada de Fourier de la pupila, la cual es una distribución de amplitud circularmente simétrica conocida como función de punto extendido en amplitud (*apsf*). La transformada de Fourier de la *apsf* resulta ser la función de transferencia coherente (*CFT*).

En el caso de que la *apsf* se detecte y el detector es un CCD ideal (sin ruido, tamaño de pixel puntual y sensibilidad a un número infinito de niveles de intensidad) se obtiene la función de punto extendido en intensidad (*ipsf*). Por consiguiente, la transformada de Fourier de *ipsf* es la función de transferencia óptica (OTF) del sistema.

Esta aproximación es válida solo cuando el diámetro de la pupila es muy grande comparada con la longitud de onda (λ) con que se ilumina y el objeto es una delta. Además, la pupila no debe presentar aberraciones y su diámetro debe ser lo suficientemente grande como para recoger todas las ondas difractadas por la abertura⁴.

En la práctica, estas últimas aproximaciones no son posibles, dado que la pupila es de dimensiones finitas, por lo que ésta actúa como un filtro pasa bajos sobre la *ipsf*, el cual rechaza las frecuencias espaciales mayores a las determinadas por su radio permitiendo pasar solo las menores.

Se sabe que las frecuencias espaciales bajas dan información sobre detalles gruesos del objeto, mientras que las frecuencias altas sirven para definir detalles finos del objeto, entonces si se está limitado a la capacidad para reproducir las frecuencias espaciales altas contenidas en un objeto real iluminado con luz coherente. Por consiguiente, la imagen aparecerá con una pérdida de resolución.

Dado que la *ipsf* está en función puramente de la pupila esta introduce un ancho de banda limitado tanto en la resolución espacial, mientras que la OTF introduce un ancho de banda del sistema⁵.

En caso de un SO limitado por difracción y el objeto binario, ahora con simetría circular de radio muy pequeño, entonces la imagen calculada se asemeja al de un patrón de Airy. Es de esperarse que el espectro de esta imagen difiera numéricamente poco de la OTF numérica; en el caso de que el ancho de banda del espectro de esta imagen, sea igual al ancho de banda de la OTF, podemos considerar que el objeto es cuasi-puntual para el SO y podemos inferir que el objeto no se resuelve.

Si seguimos incrementando diámetro de este objeto existe un valor a partir del cual del espectro de la imagen calculada emergen ceros dentro del ancho de banda de la OTF ideal, en

este caso y para valores mayores del objeto diremos que ésta es una fuente extendida, resuelta por el SO.

En la práctica los objetos reales difícilmente tienen simetría circular y debido a los errores introducidos por el sistema y el detector, así que cuando la imagen se detecta, ésta resulta ser asimétrica. Por consiguiente el espectro de la imagen es complejo, y por definición éste siempre será positivo a lo largo de su domino frecuencial. Por lo que si se quiere hacer una analogía con la OFT numérica a partir de éste, resulta muy difícil llegar a la conclusión de que dicho objeto puede ser considerado como cuasi-puntual para el sistema, aun minimizando el ruido.

Para nosotros es esencial observar si existen ceros dentro de su espectro, en este trabajo se propone utilizar la Función de Distribución de Wigner Discreta (*FDWD*) en el origen del domino espacial. Esto porque la FDWD es la autocorrelación del espectro de la imagen detectada y debe ser real, lo cual implica que los ceros de ésta, en principio se pueden localizar por medio de una tabla numérica o una gráfica, los cuales no siempre se pueden obtener del modulo del espectro. En el caso de que la FDWD sea positiva el objeto puede considerarse no resuelto por el SO, de otra forma el objeto se resuelve.

El objetivo de esta tesis es utilizar la **función de distribución de Wigner discreta** (FDWD) de la imagen detectada de un objeto de dimensiones muy pequeñas, evaluada en el origen de coordenadas espaciales con el fin de discernir cuando el objetos resueltos o no resueltos por el sistema óptico.

Para poder lograr el objetivo de esta tesis; el trabajo fue organizado de la siguiente manera:

En el Capitulo 2 se explica la resolución del sistema, empezando con los objetivos de microscopio y describiendo la resolución del CCD; en la última sección de este capítulo se describen las frecuencias de corte de éstos.

En el capítulo 3 se introduce la DWDF y explica cómo funciona la propuesta de positivada de DWDF aplicada al promedio de imágenes detectadas para discernir entre objetos resueltos o no resueltos por el sistema óptico.

En el capítulo 4 se implementa la simulación numérica de la imagen, de un objeto binario, generada por el objetivo de microscopio y detectada por un CCD, tomando en cuenta 3 diferentes longitudes de onda de luz coherente, a esta imagen se le aplica la FDWD con el fin de observar los cambios generados a la respuesta del SO por la longitud de onda en cuanto la resolución del objeto.

En el capítulo 5 se describe la metodología que se utilizó para obtener las imágenes experimentales detectadas de los diferentes objetos binarios iluminados con 3 longitudes de onda distintas.

En el capítulo 6 se presentan los resultados experimentales, comparamos éstos con los resultados simulados. Al final de este capítulo se discute brevemente las diferencias que existen de los resultados experimentales en luz coherente con obtenidos en luz incoherente

El capitulo 7 presenta algunas las conclusiones y proposiciones de líneas de trabajo futuras.

Capítulo 2

Resolución de Sistemas ópticos.

2.1 Introducción.

La resolución de un Sistema óptico [SO] se encuentra determinada por la capacidad de distinguir, individualmente, dos puntos. Aproximadamente entre los años 1873 y 1896, Ernest Abbe y Lord Rayleigh⁶ reportaron que, aún con problemas de aberración corregidos, existía un mínimo teórico para la distancia de resolución entre dos puntos (δ), llamado límite de difracción de la luz. De acuerdo a lo reportado por Rayleigh y Abbe, con el fin de conseguir una mejor resolución en el sistema, es necesaria una combinación de altos índices de refracción con iluminación de longitudes de onda cortas.

Criterio de Rayleigh (iluminación incoherente): el límite de resolución de un instrumento formador de imágenes es la distancia δ_x , entre las imágenes de dos fuentes puntuales tal que el máximo central de la irradiancia en la imagen de una de ellas coincida con el primer mínimo de la irradiancia de la otra⁷, esto es igual a,

$$\delta_x = \frac{0.61\lambda}{n\sin\alpha} \tag{2.1}$$

donde,

- λ = longitud de onda de la fuente de iluminación con la cual se está iluminando el objeto.
- n = índice de refracción del espacio objeto enfrente del objetivo.
- α = semi-ángulo entre el objetivo y el objeto sobre el eje óptico; al factor $n\sin\alpha$ se le conoce como la abertura numérica del sistema.

Criterio de Abbe (iluminación coherente): para el límite de resolución se considera una rejilla como objeto con un periodo x, para tener una imagen fidedigna del objeto, es necesario colectar el orden cero y al menos uno de los órdenes difractados⁶. Por lo tanto, para iluminación sobre el eje óptico se tiene,

$$x_{\min} = \frac{\lambda}{NA} \tag{2.2}$$

donde,

 λ = longitud de onda de la fuente de iluminación con la cual se está iluminando el objeto. NA = $n \sin \alpha$ se le conoce como la abertura numérica del sistema.

Considerando las ecuaciones anteriores es evidente que existen tres maneras de modificar el límite de resolución de una lente; variando la longitud de onda, variando el índice de refracción, y el ángulo del cono de luz que incide sobre objeto a detectar. Trabajando con longitudes de onda cercanas al violeta, se logra el mejor poder de resolución, es decir valores del límite de resolución pequeños. Por lo tanto para modificar el ángulo del cono de luz que incide sobre la muestra puede variarse la distancia del condensador al objeto o el diseño del condensador. Para variar el índice de refracción, lo que se hace es modificar el elemento que está en contacto con el objetivo y el objeto.

La función de un sistema formador de imagen será entonces generar una imagen magnificada del objeto, esto es una imagen de mayor tamaño que el objeto real, y que permita apreciar los detalles del mismo, es decir que debe tener resolución. Generalmente a magnificaciones mayores, mayor será la resolución de la imagen, aunque esto no siempre es cierto.

Es importante comprender entonces las diferencias entre magnificación (tamaño de la imagen) y resolución (detalles en la imagen).

Sin resolución, no importa cuán aumentada esté la imagen del objeto, esta no aportará información al observador, la magnificación deja de aportar información útil para transformarse en "magnificación vacía".

2.2 Resolución del Microscopio.

El microscopio óptico consta fundamentalmente de dos sistemas ópticos en medio de los cuales se encuentra montada una platina que se utiliza para colocar el objeto. Uno de los sistemas ópticos produce una imagen aérea amplificada del objeto, y está compuesto por un conjunto de lentes instaladas en los extremos de un tubo, la lente Objetivo forma una imagen primaria aumentada del objeto, que luego se vuelve a amplificar por la lente ocular.

El segundo sistema óptico tiene como finalidad iluminar eficazmente el objeto y, al igual que un proyector o una ampliadora, consta de un condensador óptico y una fuente de iluminación.

El microscopio cuenta con mecanismos precisos de enfoca miento por medio de los cuales los dos sistemas ópticos pueden moverse con relación al objeto que se está observando.

Los objetivos de microscopio su única finalidad es el producir una imagen real y aumentada en el plano del diafragma del ocular. Además, es el responsable de la resolución de los detalles del objeto, el ocular solo incrementa la amplificación y hace visibles estos detalles.

Existen diferentes clases de objetivos, dependiendo del tipo de corrección efectuada al objeto esta influye en su clase y finalidad. Los objetivos para microscopio pueden clasificarse del siguiente modo:

Acromáticos: los rayos rojos y azules del objeto son conducidos a un foco común, mientras que los rayos de onda intermedia son enfocados solo a un aproximado, lo cual ocasiona falta de nitidez en la imagen.

Apocromáticos: a estos objetivos se les ha dotado de correcciones acromáticas de la más alta calidad, o sea que los rayos rojos, verdes y azules son conducidos a un foco común, mientras que los demás rayos ocasionan muy poca molestia, Se ha corregido la aberración esférica y tienen aberturas numéricas más altas que los acromáticos. Al igual que el número f de un objetivo de una cámara, la abertura numérica (*NA*) del objetivo de un microscopio es una característica que sirve para medir, entre otras cosas, su velocidad o su capacidad de captar la luz.

Los objetivos de microscopio de alta *NA* tienen una gran capacidad de captar la luz, además, a una mayor *NA* le corresponde una menor profundidad de campo, siempre que todas las demás condiciones se mantengan iguales.

La *NA* depende de dos parámetros: el ángulo de incidencia de la luz en la lente (2θ) , y el índice de refracción del medio que separa el objeto del objetivo (n), Figura 2.1



Figura 2.1 Apertura angular de un objetivo.

Si el objetivo es del tipo seco, o sea que no es de inmersión, el valor teórico máximo para $n\sin\alpha$ es de 1.0; esto se debe a que el valor máximo que puede alcanzar el ángulo α es de 90°, y el seno de 90°=1; además n para el aire también es igual a 1.

La habilidad de observar detalles finos en él objeto (resolución lateral) es fijada por la habilidad del objetivo en recolectar órdenes de interferencia altos (frecuencias espaciales altas) presentes en el objeto analizado⁸. El límite de resolución lateral en el microscopio sólo depende de la longitud de onda de iluminación y de la abertura numérica y está dada según el criterio de Rayleigh por:

$$r = \frac{0.61\lambda}{NA} \tag{2.3}$$

La ecuación 2.3 corresponde al radio del disco de Airy o dicho de otra forma es la distancia donde la *ipsf* tiene su primer cero, está función es muy importante ya que contiene toda la información necesaria para caracterizar el microscopio, por ejemplo esta función se ha utilizado clásicamente para caracterizar los microscopios ópticos con respecto a su resolución lateral, por

lo que han surgido criterios de resolución tales como el de Rayleigh⁹, entre otros, que se basan en la separación de dos idénticas *ipsf*. Para un microscopio óptico la *ipsf* está dada por:

$$ipsf(r) = \left[\frac{2J_1(v)}{v}\right]^2$$
(2.4)

Donde: $r = \sqrt{x^2 + y^2}$ y x, y son coordenadas espaciales en el plano imagen, J₁ es la función Bessel de primer orden, $v = \frac{2\pi}{\lambda} rsen\beta$, λ es la longitud de onda, $sen\beta = \frac{nsen\alpha}{M_o}$ es la llamada abertura numérica en el plano imagen (ver figura 2.2), y M₀ es la amplificación del objetivo. Esta abertura numérica puede relacionarse con la abertura numérica del objetivo, por la condición de los senos quedando como $sen\beta = \frac{N.A}{M_o}$, por lo que ahora la fpei(r) se puede expresar como:

$$ipsf(r) = \left(\frac{2J_{1}(\frac{2\pi NA}{\lambda M_{o}}r)}{\frac{2\pi NA}{\lambda M_{o}}r}\right)^{2}$$
(2.5)

La ecuación anterior es el caso más general para describir la fpei de un microscopio en el plano imagen, ya que en ésta se incluyen todos los factores que intervienen en la formación de la imagen de un punto, tales como la longitud de onda de iluminación, la abertura numérica y la amplificación del objetivo.

La *OTF* trasformada de Fourier de la *ipsf*, es otra de las funciones que se utilizan para caracterizar al microscopio, ésta describe el comportamiento del microscopio en el dominio frecuencial, y dicta hasta qué punto el objetivo puede observar frecuencias espaciales altas, presentes en el objeto analizado, es decir el microscopio contiene un ancho de banda limitado (ρ_{so}) el cual solo depende, de la longitud de onda y de la abertura numérica y está dada por:

$$\rho_{so} = \frac{2NA}{\lambda} \tag{2.6}$$

2.3 Resolución del El CCD.

La resolución de un CCD está dada en función del número de píxeles y su tamaño en relación con la imagen proyectada. La tendencia en las cámaras es disminuir el tamaño del sensor, con píxeles tan pequeños como de 3 x 3 micras. Antes de considerar el tamaño de píxel más adecuado para una aplicación particular, es importante tener en cuenta el tamaño relativo de la imagen proyectada con el tamaño de píxeles para obtener una reproducción satisfactoria de la imagen Figura 2.2.



Figura 2.2 Imagen de un objeto circular detecta por CCD

Considere la posibilidad de detectar una imagen proyectada de un objeto circular que tiene un diámetro más pequeño que un pixel. Si la imagen cae directamente en el centro de un píxel, la cámara reproduce el objeto como un cuadrado de 1 píxel. Incluso si el objeto es reflejado en los vértices de 4 píxeles del objeto entonces se reproduce una imagen que se amortigua en los extremos, y ésta no es una imagen fiel del objeto.

Si el diámetro de la imagen proyectada es equivalente a uno o incluso dos píxeles, la reproducción de la imagen no es fiel al objeto y además varía si el centro de la proyección de la imagen cae ya sea en el centro de un pixel o en el vértice de píxeles.

Es sólo cuando la imagen del objeto abarca tres píxeles empezamos a obtener una imagen que se reproduce con mayor fidelidad, y claramente representa un objeto circular. La calidad de la imagen también es ahora independiente del lugar donde se centra la imagen del objeto, en un centro de pixel o en el vértice de píxeles.

El teorema de Nyquist, que establece que la frecuencia de la muestra digital debe ser el doble de la frecuencia analógica, se suelen citar para recomendar una "tasa de muestreo" de 2 píxeles en relación con el tamaño de la imagen objeto. El teorema de Nyquist sobre las señales de 2 dimensiones, tales como señales de audio y eléctrica no es adecuado para una imagen, que tiene tres dimensiones, intensidad en función de [x y] en las dimensiones espaciales.

Además de los píxeles discretos, otros factores como las aberraciones del SO, ruido del CCD son limitantes para la reproducción exacta de un objeto.

La resolución y el rendimiento de una CCD dentro de un SO se caracteriza por la función de transferencia de modulación⁴ (MTF), que es la capacidad del SO para transferir el objeto al plano de la imagen en una resolución específica. Entonces el uso de CCD que permitan una frecuencia de corte mayor, esto es un pixel pitch pequeño, mejorara considerable del poder de resolución.

En los manuales de los CCD, el fabricante siempre proporciona el valor nominal del "pixelpitch" el cuál es la distancia de separación de centro a centro entre dos píxeles vecinos, un valor pequeño de "pixel pitch" significa tener en el CCD píxeles pequeños y una separación corta entre estos. Este valor junto con el teorema de muestreo de Whittaker–Shannon¹⁰ dicta hasta qué punto podemos obtener un muestreo correcto de la imagen aérea y se puede enunciar como sigue para el caso que estamos tratando:

Para poder muestrear adecuadamente la imagen área la frecuencia de corte de la CCD debe ser igual o mayor al doble de la frecuencia máxima presente en el plano imagen es decir:

$$f_{CCD} \ge 2\rho_{ci}.\tag{2.7}$$

Donde $\rho_{ci} = \frac{2NA}{\lambda M_o}$ es la frecuencia máxima presente en plano imagen, mientras que *f*_{CCD} es la

frecuencia de corte de la CCD y está dada por:

$$f_{CCD} = \frac{1}{pixel - pitch}.$$
(2.8)

Mientras que la separación entre cada frecuencia espacial de la CCD Δu y Δv en las direcciones u y v está dada por:

$$\Delta u = \frac{1}{N(pixel - pitch)}, \qquad \Delta v = \frac{1}{M(pixel - pitch)}.$$
(2.9)

En general al proceso total de registrar la información de la imagen aérea digitalmente por medio de una CCD se puede escribir analíticamente como sigue

$$gn(x_i, y_j) = \left\lfloor g(x, y) \bullet \left(P(x, y) \otimes Comb(x, y; \Delta x, \Delta y) \right) \right\rfloor + n(x_i, y_j),$$
(2.10)

donde:

• $gn(x_i, y_j)$ es la imagen detectada y digitalizada con coordenadas espaciales discretas (i,j) de la imagen área g(x, y) con coordenadas espaciales continuas (x,y).

• P(x, y) representa la forma del píxel, sensibilidad a la intensidad y el proceso de promediar la intensidad que llega al píxel.

•
$$Comb(x, y; \Delta x, \Delta y) = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} \delta(x - i\Delta x, y - j\Delta y)$$
 representa a la función de muestreo, donde

 Δx y Δy es el valor nominal del píxel-pitch en las direcciones *x*,*y*.

• n(x, y) es el ruido aditivo que se introduce debido a los errores sistemáticos y no sistemáticos del sistema microscopio-CCD.

2.4 Teoría de formación de imagen en luz coherente (Resolución del sistema).

El modelo más sencillo para describir la formación de imágenes, es desde el punto de vista de la óptica geométrica¹¹ Figura 2.3, régimen paraxial. Este modelo deja de ser útil al considerar los fenómenos de interferencia y difracción del sistema. Dado que nuestro sistema formador de imagen es iluminado en luz coherente podemos tomar en cuenta el siguiente esquema para describir el sistema formador de imagen:



Figura 2.3 Sistema formador de imágenes.

Por lo cual una idea bastante aceptable es la de considerar el análisis de sistemas lineales⁴ Figura 2.4.



Figura 2.4 Esquema de un sistema óptico (SO) formador de imagen en luz coherente.

El modelo de sistemas lineales describe el comportamiento de sistemas ópticos, iluminado con luz coherente y con una pupila circular, a partir de una función impulso asociada a la imagen de un punto luminoso; la función característica se denota como la *amplitude point spread* function [apsf(x,y)]. La función *apsf* tiene propiedades bien conocidas, entre otras, que depende del tamaño de la función de pupila [P(u,v)], de su abertura numérica (NA) y de la longitud de onda de iluminación (λ) Ec2.11

$$apsf(x, y) = \left| \Im \{ P(u, v) \} \right|$$
(2.11)

La *apsf* la cual es una distribución de amplitud circularmente simétrica conocida. La transformada de Fourier de la *apsf* resulta ser la función de transferencia en amplitud ATF(u,v) para una pupila circular está dada por la Ec2.12.

$$ATF(fx, fy) = circ\left(\frac{\sqrt{f^2 x + f^2 y}}{w/\lambda z_i}\right)$$
(2.12)

Esta última función tiene la característica de ser una función, positiva y de ancho de banda limitado (ρ_{so}), y al igual que la *apsf* dependen de la P(u, v) y λ .

En el caso de que la *apsf* se detecte y el detector es un CCD ideal (sin ruido, tamaño de pixel puntual y sensibilidad a un número infinito de niveles de intensidad) se obtiene la función de punto extendido en intensidad (*ipsf*).

$$ipsf(x, y) = |\Im\{P(u, v)\}|^2$$
 (2.13)

Por consiguiente, la transformada de Fourier de *ipsf* que se define como el modulo al cuadrado de la transformada de Fourier de la pupila (Ec2.5) es la función de transferencia óptica (*OTF*) del sistema.

La *OTF* es una función que tiene la característica de ser una función monótona decreciente, positiva y de ancho de banda limitado (ρ so), y al igual que la *ipsf* dependen de la *P*(*u*,*v*), *NA* y λ . Por definición, la OTF(*u*,*v*) es la autocorrelación de la función de pupila definida en el dominio espectral (Ec. 2.6)⁴.

$$OTF(u,v) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} P(u',v') P^{*}(u'+u,v'+v) du' dv'$$
(2.14)

Donde x',y'; x,y son coordenadas espaciales en el plano objeto e imagen respectivamente, u,v son coordenadas fracuenciales y * indica el complejo conjugado.

Ambas funciones, se relacionan con la resolución espacial del SO, ya que si el radio (r) del disco de Airy es pequeño [Ec. (1.3)] y la frecuencia de corte ρ_{so} de la OTF(u,v) es grande [Ec. (1.4)], se dice que el SO cuenta con una resolución espacial alta, ambas funciones son mostradas en gráficas 3D, en la Figura 2.5.



Figura 2.5 Gráficas en 3D de las funciones de merito.

$$r = \frac{0.61\lambda}{NA} \tag{2.15}$$

$$\rho_{so} = \frac{2NA}{\lambda} \tag{2.16}$$

2.5 Imagen calculada de un objeto en luz coherente.

En óptica física, la imagen calculada de un objeto bajo iluminación coherente g(x,y), se forma a partir del hecho de considerar al objeto cómo un conjunto de fuentes puntuales localizadas en el plano objeto, de tal manera qué cada una de estas fuentes puntuales es remplazada por una apsf escalada y trasladada en el plano imagen está operación es definida como la convolución entre la apsf(x,y) del SO con la función de transmitancia del objeto o(x,y), el cual da como resultado la llamada imagen calculada¹².

$$g(x, y) = apsf(x, y) \otimes o(x, y)$$
(2.17)

Donde^{\otimes} es la operación de convolución. Su contraparte, el espectro de la imagen calculada G(u,v) se define como un producto de la CTF(u,v) con la trasformada de Fourier de la función de transmitancia del objeto O(u,v).

$$G(u,v) = CTF(u,v) \bullet O(u,v) \tag{2.18}$$

Para el caso de la imagen calculada de un objeto, en este trabajo se define como:

$$circ(x, y; d) = 1$$
 si $\sqrt{x^2 + y^2} \le 0.5d; = 0$ si $\sqrt{x^2 + y^2} > 0.5d$ (2.19)

Se ha analizado teóricamente la condición de hasta qué punto éste puede producir una imagen ligeramente diferente a la *ipsf*, o en su contraparte una función espectral ligeramente diferente a la OTF. Lo anterior, con el fin de poder caracterizar¹³ o estimar la resolución de sistemas ópticos, a los objetos que cumplen con esta condición se les nombra objetos o fuentes cuasi puntuales *[FCP]*¹⁴.

La imagen calculada [g(x,y)] y su espectro [G(u,v)] para tales FCP se pueden escribir como:

$$g(x, y; d) = ipsf(x, y) * circ(x, y; d) \cong ipsf(x, y; d)$$
(2.20)

$$G(u, v; d) = OTF(u, v) \bullet B \sin c(u, v; d) \cong OTF(u, v; d)$$
(2.21)

donde: circ(x,y) representa a la función de transmitancia de la fuente cuasi-puntual.

Bsinc(u,v) corresponde a la función que representa el espectro de la FCP con su primer cero dado por:

$$\rho_{cero} = \frac{1.22}{d}.\tag{2.22}$$

Donde el diámetro (d) determina el valor del cero.

Mientras que la expresión analítica de la OTF para un microscopio óptico está dada por:

$$FTO(\rho) = \frac{2}{\pi} \left[\cos^{-1} \left(\frac{\rho}{\rho_{ci}} \right) - \left(\frac{\rho}{\rho_{ci}} \right) \sqrt{1 - \left(\frac{\rho}{\rho_{ci}} \right)^2} \right]$$
(2.23)

Donde: $\rho = \sqrt{u^2 + v^2}$, con *u* y *v* como coordenadas frecuenciales en el plano imagen, y

$$\rho_{ci} = \frac{2NA}{\lambda M_{o}} \tag{2.24}$$

es la *frecuencia de corte presente en el plano imagen*. De tal forma que la *OTF* resulta ser igual a cero cuando $\rho \leq \rho_{ci}$.

En el proceso de generar la imagen de un objeto por medio del microscopio, el objeto se considera como un conjunto de fuentes puntuales localizadas en el plano objeto de tal manera que cada una de estas fuentes puntuales es remplazada por una escalada y trasladada *ipsf* en el plano imagen, este proceso se puede expresar matemáticamente como una *convolución* entre la *ipsf* del microscopio con la función de transmitancia del objeto (ver ecuación 1.5), su contraparte, el espectro de la imagen, se define como un producto de la *OTF* con la trasformada de Fourier de la función de transmitancia del objeto. Ambas operaciones describen la habilidad del microscopio óptico en reproducir detalles presentes en el objeto como sigue:

1.-Debido a que la formación de la imagen está dada por una convolución, la imagen del objeto representará mejor al objeto si el radio del disco de Airy es pequeño.

2.- Si el radio de disco de Airy es pequeño entonces el ancho de banda es grande por lo que el objetivo captará frecuencias espaciales altas presentes en el espectro del objeto⁹.

2.6 Calculo de frecuencia de corte del CCD y Sistema Óptico..

Cálculo de frecuencia de corte del CCD

El CCD utilizado en la parte experimental es un CCD comercial de la marca Sony modelo XCL-5000 con un pixel pitch = $3.45 \mu m$. Y por definición la frecuencia de corte del CCD es el inverso de pixel pitch y su valor queda por:

$$f_{CCD} = \frac{1}{\text{pixel pitch}} = 289 \ mm^{-1}.$$
 (2.25)

Cálculo de frecuencia de corte del objetivo

En el plano del detector la frecuencia de corte teórica de un objetivo es:

$$\rho_c = \frac{NA}{M\lambda} \tag{2.26}$$

donde M es la amplificación del objetivo, NA abertura numérica y λ la longitud de onda de la fuente de iluminación.

Para los tres casos de λ diferentes tendremos

Caso 1: 20X(0.50) y $\lambda = 450 nm$, tenemos: $\rho_c = 111.10 mm^{-1}$.

Caso 2: 20X(0.50) y $\lambda = 530 nm$, tenemos: $\rho_c = 94.33 mm^{-1}$.

Caso 3: 20X(0.50) y $\lambda = 632.8nm$, tenemos: $\rho_c = 79.01 mm^{-1}$.

Capítulo 3

Propuesta de positividad usando la Función de distribución de Wigner Discreta.

3.1 Introducción.

En este capítulo se explicarán las generalidades para establecer la propuesta de positividad usando la Función de Distribución de Wigner Discreta *[FDWD]*, los resultados al aplicarse a la imagen de un punto y de una imagen detectada, con el fin de visualizar mejor la posibilidad de tener valores negativos y positivos y definimos la propuesta de positividad para conocer si el objeto está resuelto por el SO.

3.2 La FDWD como representación de espacio frecuencia de una imagen.

Los sistemas ópticos son capaces de formar y procesar imágenes, es decir, información. Estas imágenes (señales) son de naturaleza espacial y pueden también ser descritas por formalismos matemáticos tales como el análisis de Fourier. Esto es posible, gracias a la propiedad de linealidad e invariancia del SO, por tal motivo, éste puede ser caracterizado en términos de su respuesta a un impulso (dominio espacial) y función de transferencia óptica (dominio de las frecuencias espaciales). Para este caso la integral del modulo al cuadrado de la *ipsf* o de la OTF dan una *distribución global* de la energía de la señal. Pero en ciertos casos es deseable tener una *distribución local* de la energía de la señal como función de la frecuencia, es decir considerar a las frecuencias espaciales localizadas en una pequeña área del espacio. Esta consideración implica una representación 1D de la señal en un espacio (x,u), para el caso de señales 2D está dada por una representación en 4D es decir (x,y;u,v), donde (x,y) y (u,v) son coordenadas espaciales y frecuenciales de la señal respectivamente.

Las representaciones espectrales locales son llamadas comúnmente como representaciones *espacio-frecuencia* por analogía con la mecánica, en la que la posición y la cantidad de movimiento de una partícula están dadas simultáneamente. Debido a que estas representaciones dan una descripción de las señales (información), la cual es intermedia entre una puramente espacial y una puramente frecuencial, este tipo de descripciones pueden ser aplicadas teóricamente y experimentalmente en la óptica.

Las representaciones *espacio-frecuencia* más usadas en óptica moderna son: La función de distribución de Wigner (*FDW*), la función de ambigüedad de Woodward, el espectro complejo, y su módulo al cuadrado, y el espectro local. En esta tesis la representación *espacio-frecuencia* utilizada es la *FDW* la cual ha encontrado en los últimos años diversas aplicaciones¹⁵⁻¹⁶ y en ésta tesis se utiliza como una forma alternativa, a la ya presenta en el capítulo anterior, para definir *FCP* para un SO.

3.3 FDW en x=y=0 de un objeto puntual.

La *ipsf* y la *OTF* son funciones bidimensionales, mientras que sus respectivas FDW resultarán ser funciones de cuatro dimensiones, dos espaciales y dos frecuenciales esto es $FDW_{ipsf}(x, y; u, v)$ y $FDW_{OTF}(u, v; x, y)$ respectivamente, por tal motivo, su representación gráfica no es clara, pero ya que estas tienen la cualidad de mostrar simultáneamente información espacial y frecuencial relacionada al SO, tal como la resolución espacial [radio del disco de Airy (r)] y la frecuencia de corte (ρ_{so}), resulta de interés evaluar las FDW de éstas funciones, además se puede deducir la misma información si se analiza solamente la FDW_{ipsf} o la FDW_{OTF} , esto debido a su propiedad de simetría, es decir:

$$FDW_{ipsf}(x, y; u, v) = FDW_{OTF}(u, v; x, y)$$
(3.1)

Ahora bien si evaluamos ambas FDW en x=y=0 y por simplicidad tomamos en cuenta solamente a la variable u para un análisis, la FDW también se pueden igualar, es decir

$$FDW_{ipsf}(0,u) = FDW_{OTF}(u;0), \qquad (3.2)$$

Donde:

$$FDW_{ipsf}(0;u) = \int ipsf(\frac{x'}{2})ipsf(-\frac{x'}{2})\exp(-2\pi i u x')dx'$$
(3.3)

у

$$FDW_{OTF}(u;0) = \int OTF(u + \frac{u'}{2})OTF(u - \frac{u'}{2})du'$$
(3.4)

Donde el complejo conjugado en ambas ecuaciones son omitidos, debido a que las funciones reales no contienen parte imaginaria. Ahora bien, Si $u_1 = u + \frac{u'}{2}$ obtenemos que $\frac{u'}{2} = u_1 - u$ y por consiguiente $du' = 2du_1$, así que la ecuación (3.4) puede escribirse de la siguiente manera:

$$FDW_{OTF}(2u;0) = \int OTF(u_1)OTF(u_1 + 2u)du_1$$
(3.5)

Esta última ecuación es la autocorrelación de la OTF(u), y resulta ser una función monótona decreciente, positiva y de ancho de banda (ρ_{FDW}) del doble de la OTF, el perfil de esta función y de la OTF se muestra en la Figura 3.1.



Figura 3.1. Simulación numérica de: (a) La FTO(u) con frecuencia de corte igual a $1l/\mu m$ (l=líneas), y (b) $FDW_{FTO}(2u;0)$ con el doble de la frecuencia de corte de la FTO.

3.4 Propuesta de Positividad.

En este apartado definiremos si un objeto cuya imagen es formada por un SO es resuelto por éste, a partir de la *FDW* del espectro de la imagen calculada, evaluada en x=0, de un objeto $FDW_G(u;0)$, la cual como ya se mencionó es igual a la *FDW* de la imagen calculada, $FDW_g(0;u)$. En primera instancia rescribiremos las expresiones matemáticas de la imagen calculada y de su espectro debido a un objeto como:

$$g(x;d) = ipsf(x) \otimes o(x), \tag{3.6}$$

donde o(x) representa la función de transmitancia del objeto circular de diámetro d. y \otimes indica la operación de convolución.

Mientras que el espectro de la imagen calculada en el dominio espectral se puede expresar como

$$G(u) = OTF(u) \bullet O(u), \tag{3.7}$$

donde O(u) representa el espectro de la función de transmitancia del objeto. Y el símbolo (•) indica la operación de multiplicación.

Podemos calcular la $FDW_G(u,x)$ para toda x, u, la cual está dada por la siguiente ecuación:

$$FDW_{G}(x;u) = \int G(u + \frac{u'}{2})G(u - \frac{u'}{2})\exp(2\pi i u' x)du'$$
(3.8)

Al evaluar la ecuación anterior en el origen de coordenadas espaciales observamos que:

$$FDW_{G}(0;u) = \int G(u + \frac{u'}{2})G(u - \frac{u'}{2})du'$$
(3.9)

Es decir la ecuación anterior es la autocorrelación del espectro de la imagen del objeto [G(u)] y podemos decir que su positividad o negatividad dependerá al igual que G(u), del diámetro del objeto.

Con el propósito de ilustrar lo mencionado, es decir observar cuando la $FDW_G(0;u)$ es una función positiva o negativa, dependiendo del diámetro del objeto, se realizó un simulación numérica de esta función, en donde comparamos la positividad de G(u) y de la $FDW_G(0;u;d)$, para el caso de cuatro objetos cuyos diámetros son d=0, d=D/4, d=D/2, d=D dónde D es él diámetro del disco de Airy dado en micras, tales objetos son iluminados con una longitud de onda de $0.55\mu m$ y observados por un SO limitado por difracción en foco, y cuya abertura numérica es de 0.275 y amplificación unitaria, para tal SO el diámetro del disco de Airy es igual a 2.44 μ m y la frecuencia de corte es igual a una línea sobre micrómetro (ver Figura 3.2).



Figura 3.2. Espectro de la imagen G(u;d) y su $FDW_G(0,u;d)$ para cuatro objetos de diámetro igual a d=0, d=D/4, d=D/2, d=D donde D es el diámetro del disco de Airy.

Esta simulación muestra claramente como la $FDW_G(0;u;0)$ puede ser utilizada para observar si la imagen del objeto parece ser una FCP o una fuente extendida para un SO en particular; de esta simulación podemos observar los siguientes casos:

Cuando el objeto es no resuelto (d=0) para el SO la FDW_G(0;u;0) es una función monótona decreciente y positiva.

Cuando el objeto es resuelto (d=D) para el SO la $FDW_G(0;u;d=D)$ resulta ser una función positiva y negativa, donde su primer cero estará ligeramente desplazado de lado derecho con respecto a primer cero de G(u).

Cuando el objeto es de diámetros d=D/4 y limite d=D/2) para el SO la $FDW_G(0;u;d/2)$ y la $FDW_G(0;u;d/4)$ son funciones monótonas decrecientes y positivas.

Capítulo 4

Simulación de la Función de distribución de Wigner Discreta aplicada a la imagen detectada de un objeto en luz coherente.

4.1 Introducción.

Un objeto es un elemento óptico a estudiar, puede ser de cualquier simetría pero preferentemente de dimensiones microscópicas. Un objeto puede irradiar luz de sí mismo o puede ser iluminado por una fuente de luz.

En la naturaleza los objetos se dicen ser iluminados por luz incoherente, pero la invención del laser hace que la iluminación de un objeto pueda ser con luz coherente. Pero hoy en día no existen fuentes de luz totalmente incoherentes o totalmente coherentes, éstas fuentes generalmente son coherentes parcialmente o incoherentes parcialmente.

Un sistema óptico formador de imagen como se dijo en el capítulo 2 su función es la de formar una imagen de un objeto, en formación de imágenes con teoría lineal espacialmente invariante, un sistema óptico limitado por difracción queda caracterizado por:

Diámetro de la pupila de entrada, distancia focal del sistema óptico, longitud de onda que emerge del objeto y el tipo de fuente con que se está iluminando.

El sistema forma una imagen que es la información espacial del objeto que se forma en el plano imagen y se mide en unidades de energía (intensidad), mientras esta imagen no se detecta ésta es aérea, la detección de imagen puede realizarse a través del ojo o un detector, en nuestro caso un CCD.

4.2 Imagen detectada simulada numéricamente de un punto en luz coherente. .

En esta sección usamos simulamos una imagen, partiendo del conocimiento a priori que nuestro objeto es una abertura con simetría circular y éste se ilumina uniformemente con una fuente de luz coherente monocromática. El sistema óptico es un microscopio ideal sin errores y óptica limitada por difracción, la imagen calculada en amplitud $[\tilde{g}(x_i, y_j)]$ es la convolución de la función de esparcimiento de un punto en amplitud (*apsf*) con el objeto también en amplitud. Por consiguiente, esta imagen se puede expresar como:

$$\tilde{g}(x_i, y_j) = \tilde{h}(x_i, y_j) * \tilde{o}(x_i, y_j).$$
(4.1)

La función $\tilde{g}(x_i, y_j)$ es, en general, compleja y no tiene ruido, $\tilde{h}(x_i, y_j)$ es la (apsf), $\tilde{o}(x_i, y_j)$ es el objeto en amplitud y el símbolo * representa la convolución discreta. El modulo al cuadrado de esta imagen forma un patrón de Airy, siempre y cuando la pupila del sistema óptico sea

circular y el objeto se considere puntual. Las coordenadas espaciales x_i, y_j se localizan en el plano imagen¹⁷.

Si el *SO* es un microscopio ideal cuyo objetivo de microscopio tiene una abertura numérica baja, el objeto es binario y circular, de radio del orden de la longitud de onda promedio, la distribución de irradiancia que se forma en el plano de la imagen es parecida al de un patrón de Airy. Conocidos la amplificación, la abertura numérica del objetivo de microscopio, la longitud de onda de la fuente de iluminación, el tipo de objeto y las características del CCD la imagen detectada en luz coherente⁴ se puede expresar de la siguiente manera:

$$\overline{gn}_{c}(x_{i}, y_{j}; d, p) = \left[\left|\tilde{h}(x_{i}, y_{j}) * \tilde{o}(x_{i}, y_{j}; d)\right|^{2} + \left\langle n(x_{i}, y_{j})\right\rangle\right] P(x_{i}, y_{j}; p),$$

$$(4.2)$$

donde el objeto es circular de diámetro d, el CCD cuenta con un tamaño de píxel p.

 $\tilde{o}(x_i, y_i; d)$ el objeto en amplitud con un diámetro *d*.

 $\tilde{h}(x_i, y_i)$ es la función de esparcimiento de un punto en amplitud.

 $n(x_i, y_j)$ es el ruido sistemático y no sistemático en intensidad.

 $P(x_i, y_j; p)$ es la función que describe al CCD.

*

 (x_i, y_j) son las coordenadas espaciales en el plano de la imagen del pixel (i, j).

representa la operación de convolución discreta.

 $\langle \rangle$ representa el valor promedio de un conjunto de datos.

Ahora, considerando que $W_{\overline{gn}_c}(x_i, y_j; u_k, v_m) = W_{\overline{Gn}_c}(x_i, y_j; u_k, v_m)$ entonces se cumple la relación:

$$DW_{\overline{gn}_{c}} = W_{\overline{gn}_{c}}(0, 0, u_{k}, v_{m}; d, p) = W_{\overline{Gn}_{c}}(0, 0, u_{k}, v_{m}; d, p).$$
(4.3)

Donde $\overline{G\eta}_c(u_l, v_m)$ es la trasformada discreta de Fourier de $\overline{gn}_c(x_l, y_j; d, p)$, y donde $W_{\overline{gn}_c}$ se define como:

$$DW_{\overline{gn}_{c}} = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} \overline{gn_{c}}(\frac{x_{i}'}{2}, \frac{y_{j}'}{2}; d, p) \overline{gn_{c}}(-\frac{x_{i}'}{2}, -\frac{y_{j}'}{2}; d, p) \cos[2\pi(u_{k}x_{i}' + v_{m}y_{j}')].$$
(4.4)

Las letras mayúsculas M y N representan el número de píxeles en dirección horizontal y vertical respectivamente, l=0... M-1 y m=0...N-1.

De la ecuación (3.3) se implica que también podemos calcular $DW_{\overline{gn}_c}$ como la correlación discreta del espectro $\overline{G\eta}_c(u_k, v_m; d, p)$ con su complejo conjugado.

Utilizando el programa Matlab se puede simular numéricamente para cada objeto la $DW_{\overline{gn}_c}$ de sus respectivas imágenes promedio detectadas, dada por la ecuación (3.2), tomando en cuenta los siguientes parámetros:

1). Objetos circulares binarios de diámetros de 1.0 µm y 5.0 µm.

2). Píxel pitch del CCD de 3.45µm (con una frecuencia de corte de 289mm⁻¹) con ruido aditivo tipo Poisson y ruido de fondo del orden del 5% del valor máximo normalizado a 255 niveles de intensidad.

3). El tipo de iluminación son tres diferentes longitudes de onda diferentes las cuales son: $\lambda = 435nm$, $\lambda = 532nm$ y $\lambda = 632.8nm$.

4). Objetivo de microscopio 20X(0.50) con una pupila cuya frecuencia de corte, en el plano del espectro de la imagen, es de $\rho_{azul} = 111.10 \text{ mm}^{-1}$. $\rho_{verde} = 94.33 \text{ mm}^{-1}$. $\rho_{rojo} = 79.01 \text{ mm}^{-1}$. dependiendo de la longitud de onda con que se está iluminando.

6). Sistema óptico libre de aberraciones y sin errores sistemáticos².

4.3 FDWD aplicada al promedio de la imagen.

Se ha logrado desplegar la FDWD de señales ópticas continuas, con ayuda de procesadores ópticos¹⁸. Sin embargo, para el caso de señales ópticas discretas (imágenes digitales), esto no es inmediato, ya que el tratamiento computacional es tedioso, la FDWD duplica el dominio de la señal y además se lleva a cabo una trasformada de Fourier sobre todos los "pixeles" de la misma. Pero dado que la FDWD posee propiedades interesantes para el procesado de señales ópticas, surgió la necesidad de desarrollar una FDWD¹⁹ que cumpliera con las propiedades de la FDWD continua y que se pudiera calcular computacionalmente para imágenes digitales.

Para el caso de la imagen detectada de un objeto $[gn(x_i, y_j)]$ su FDWD para toda coordenada espacial y frecuencial discreta (x_i, y_j, u_l, v_m) está dada por:

$$FDWD_{gn}(x_i, y_{j;}u_l, v_m) = \sum_{i'=0}^{N-1} \sum_{j'=0}^{M-1} P(x_i, y_i; x'_{i'}, y'_{j'}) \exp\left[-j2\pi(u_l x'_{i'} + v_m y'_{j'})\right]$$
(4.5)

donde la función producto $P(x_i, y_i; x'_{i'}, y'_{i'})$ es igual a:

$$gn(x_i + \frac{x'_{i'}}{2}, y_j + \frac{y'_{j'}}{2})gn(x_i - \frac{x'_{i'}}{2}, y_j - \frac{y'_{j'}}{2}).$$
(4.6)

Sí se evalúa a la ecuación 3.6 en el origen de coordenadas espaciales, ésta resulta ser:

$$FDWD_{gn}(0,0,u_{l},v_{m}) = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} P(x_{i}',y_{i}') \exp\left[-j2\pi(u_{l}x_{i}'+v_{m}y_{j}')\right]$$
(4.7)

donde ahora la función producto es

$$P(x'_i, y'_i) = gn(\frac{x'_i}{2}, \frac{y'_j}{2})gn(-\frac{x'_i}{2}, -\frac{y'_j}{2}).$$
(4.8)

En la ecuación anterior $x'_i/2$ y $y'_i/2$ son valores intermedios de intensidad medidos por dos píxeles vecinos, los cuáles en la práctica no se tienen, en realidad lo que se tiene son los valores de intensidad de los pixeles y dado que en esta tesis nos interesa calcular la *FDWD* de la imagen detectada se realiza un cambio de variable en la ecuación 3.8, de la siguiente manera:

$$x_i = \frac{x'_i}{2}, \qquad y_j = \frac{y'_j}{2}.$$
 (4.9)

resultando la *FDWD* como:

$$FDWD_{gn}(0,0;u_{l},v_{m}) = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} P(x_{i},y_{j}) \cos\left[2\pi\left((2u_{l})x_{i}+(2v_{m})y_{j}\right)\right]$$
(4.10)

donde ahora la función producto resulta ser la imagen detectada por ella misma pero rotada 180° es decir:

$$P(x_i, y_j) = gn(x_i, y_j)gn(-x_i, -y_j)$$
(4.11)

La ecuación 4.11 es una función discreta par y simétrica, por lo que la parte imaginaria del Kernel en la ecuación 4.10 se ignora.

Como se puede notar este cambio de variable resulta en un escalamiento al doble a las coordenadas frecuenciales u_l , v_m , por lo qué la *FDWD* evaluada en el origen de coordenadas espaciales la podemos escribir en general como:

$$FDWD_{gn}(0,0;\tilde{u}_{l},\tilde{v}_{m}) = \sum_{i=0}^{N-1} \sum_{j=0}^{M-1} P(x_{i},y_{j}) \cos\left[2\pi(\tilde{u}_{l}x_{i}'+\tilde{v}_{m}y_{j}')\right]$$
(4.12)

donde $\tilde{u}_l = 2u_l y \tilde{v}_m = 2v$

Esta última ecuación se puede observar que la función producto $P(x_i, y_j)$ es la autocorrelación de la OTF(u), y resulta ser una función monótona decreciente, positiva y de <u>ancho de banda en</u> <u>la función de Wigner[BWDW]</u> será el doble de la la frecuencia de corte de la OTF Ec.2.26. Para nuestro caso para cada BWDW tendremos:

$$BWDW_{Azul} = 2\rho_{Azul} = 222.2 \ mm^{-1}. \qquad BWDW_{verde} = 2\rho_{verde} = 188.67 \ mm^{-1}. \\BWDW_{rojo} = 2\rho_{rojo} = 153.84 \ mm^{-1}.$$
(4.13)

4.4 Resultados de la simulación.

Los siguientes resultados corresponden a la simulacion de la imagen de un objeto de diametro de 1 micra, la simulacion se realizó con las especificaciones que se describen en la seccion 4.2 y posteriormente se le aplica su correspondiente *FDWD* como se explica en la seccion 4.3.



Figura 4.1 Las imágenes son un acercamiento (100X100píxeles)de la imágen simulada 2D(1024X1024píxeles), en escala de gris, de un objeto de 1micra, el cuel es iluminado con tres diferentes longitudes de onda coherentes: (a) $\lambda = 435nm$, (b) $\lambda = 532nm$ y (c) $\lambda = 632.8nm$.



Figura 4.2 Son las imágenes 2D de $|\overline{G\eta}_c(u_k, v_m)|$ en 1024X1024 píxeles y en pseudocolor, de las correspondieste imágenes de las figura 4.1



Figura 4.3 Se muestra $\left| DW_{\frac{1}{gn_c}}(0,0;u_k,v_m) \right|$ de sus correspondientes imágenes en 1024X1024 píxeles y pseudocolor; el circulo en linea punteada delimita el ancho de banda de wigner discreta dependiendo de la longitud de onda con la que se esta trabajando, serán (a) $BWDW_{Azul} = 222.2 \ mm^{-1}$, en (b) $BWDW_{verde} = 188.67 \ mm^{-1}$. y (c) $BWDW_{rojo} = 153.84 \ mm^{-1}$.



Figura 4.4 las graficas (a), (b) y (c) presentan un perfil de $DW_{\hat{g}n_c}(0,0;u_k,0)$ donde los ceros o valores pequeños sean facilmente localizados las lineas verticales limitan su correspondiente BWDW.

Los siguientes resultados corresponden a la simulación de la imagen de un objeto de diametro 5 micras con las especificaciones que se explicaron en la sección 4.2 y posteriormente se le aplica su correspondiente *FDWD* como se explica en la sección 4.3



Figura 4.5 Las imágenes son un acercamiento (100X100pixeles)de la imágen simulada 2D(1024X1024pixeles), en escala de gris, de un objeto de 5micras, el cuel es iluminado con tres diferentes longitudes de onda coherentes: (a) $\lambda = 435nm$, (b) $\lambda = 532nm$ y (c) $\lambda = 632.8nm$.



Figura 4.6 Son las imágenes 2D de $|\overline{G\eta}_c(u_k, v_m)|$ en 1024X1024 píxeles y en pseudocolor, de las correspondieste imágenes de las figura 4.1;



Figura 4.7 Se muestra $\left| DW_{gn_c}(0,0;u_k,v_m) \right|$ de sus correspondientes imágenes en 1024X1024 píxeles y pseudocolor; el circulo en linea punteada delimita el ancho de banda de wigner discreta dependiendo de la longitud de onda con la que se esta trabajando, serán (a) $BWDW_{Azul} = 222.2 \ mm^{-1}$, en (b) $BWDW_{verde} = 188.67 \ mm^{-1}$. y (c) $BWDW_{rojo} = 153.84 \ mm^{-1}$.



Figura 4.8 las graficas (a), (b) y (c) presentan un perfil de $DW_{gn_c}(0,0;u_k,0)$ donde los ceros o valores pequeños sean facilmente localizados, las lineas verticales punteadas, limitan su correspondiente BWDW.

Capítulo 5

Descripción Experimental.

5.1 Introducción.

En este capítulo explicamos la metodología y el arreglo experimental que se ocupo para este trabajo. Tanto la metodología como el arreglo experimental, se desarrollaron de acuerdo a las necesidades de obtener los resultados de forma confiable, los objetos son iluminados por transmitancia con 3 diferentes longitudes de onda de luz laser para verificar a partir de la *FDWD* de la imagen detectada con el CCD, la diferencia en resolución del objeto variando la longitud de onda y la respuesta de sistema para saber si es resuelto por el sistema óptico.

5.2 Metodología Experimental.

Para poder validar experimentalmente el concepto de si un objeto está resuelto por el sistema se desarrolló una metodología experimental la cuál fue pensada para de detectar imágenes en foco de un objeto de forma adecuada y para que el experimento sea repetitivo bajo condiciones ambientales normales. La imagen del objeto es generada por un microscopio óptico y detectada por un CCD, a esta imagen se le calcula su respectiva *FDWD* para validar si efectivamente el objeto se comporta como una FCP "no resuelto" o como una fuente extendida "resuelto" para el sistema óptico.

El SO es un microscopio convencional de la marca Olympus modelo BX51 trabajando por transmisión con las siguientes fuentes de iluminación:

	Laser Led con $\lambda = 435nm$
Coherente	Laser Led con $\lambda = 532nm$
	Laser de He-Ne con $\lambda = 632.8nm$
	Filtro azul con $\overline{\lambda} = 450 nm$
Incoherente	Filtro verde con $\overline{\lambda} = 550 nm$
	Filtro rojo con $\overline{\lambda} = 650 nm$

Los objetos binarios son microagujeros de diámetro nominal de $1.0\pm0.5\mu$ m y $5.0\pm0.5\mu$ m no necesariamente con simetría circular. La imagen se forma usando el objetivo de microscopio apocromático de 20X(0.50) y ésta se detecta mediante el CCD, donde éste tiene un píxel pitch cuadrado de dimensiones de 3.45µm.

En el arreglo experimental se toma en cuenta que la detección de las imágenes del objeto están dentro de una incertidumbre de intensidad (de antemano fijada por el ruido generado por el

CCD) y en tiempo real se verifica, a partir de $DW_{\hat{s}n_c}$, si el objeto cumple con la condición de positividad.

El mejor foco se establece mediante el cálculo del criterio de entropía mínima^{20,21} de cada imagen, ésta entropía puede cambiar en forma con la temperatura, fluctuaciones en el voltaje y la corriente que alimentan al láser²².

La imagen detectada por el CCD del objeto se observa en tiempo real por medio de un monitor; posteriormente, se desplaza la plataforma del microscopio en las direcciones +z y -z con el propósito de calcular en tiempo real cuál de las imágenes detectadas contiene la menor entropía. Ésta es calculada por medio de un programa realizado en el software LabView 7.1.

Se captura un conjunto de 20 imágenes (cada una de las cuales cumple con el principio de mínima entropía), se toma el promedio de éstas imágenes \overline{gn}_c (con el fin de minimizar el ruido no sistemático), se calcula numéricamente tanto el espectro de \overline{gn}_c como su $DW_{\overline{gn}_c}(0,0;u_k,v_m)$ y finalmente, se obtiene un estimado (\hat{gn}_c) de la imagen promedio \overline{gn}_c para obtener la $DW_{\hat{gn}_c}(0,0;u_k,v_m)$ y presentar un perfil dado por $DW_{\hat{gn}_c}(0,0;u_k,0)$. Con ayuda de un programa realizado con software MatLab y se verifica la presencia de ceros en la FDWDgn

Capítulo 6

Resultados.

6.1 Introducción.

En este capítulo se presentan los resultados experimentales obtenidos con el *SO* antes descrito, se muestran los objetos (los más significativos), con el fin de hacer visible como responde el *SO* a diferentes diámetros de los objetos, así como la diferencia que se presenta al ser iluminados con diferente longitud de onda. Los resultados se presentan en imágenes y graficas en la siguiente secuencia, Resultados de la simulación numérica, comparándolos con los obtenidos experimentalmente. Posteriormente se realiza una comparación de los resultados en luz coherente con los obtenidos en luz incoherente utilizando filtros de longitud de onda promedio aproximadamente igual al utilizado con luz coherente.

6.2 Resultados experimentales.

Los siguientes resultados experimenteles de un objeto de 1 micra de valor nominal, obtenidos con el microscopio Olympus y un objetivo de 20X(0.50), cuando se ilumniana con luz incoherente y luz coherente.



Figura 6.1 Las imágenes son un acercamiento (100X100píxeles)de la imágen capturada por el CCD de (1024X1024píxeles), en escala de gris, de un objeto de $1\pm 0.5\mu m$, el cuel es iluminado con cuatro diferentes longitudes de onda una incoherente(a) $\overline{\lambda} = 550nm$ y tres coherentes:(b) $\lambda = 435nm$, (c) $\lambda = 532nm$ y (d) $\lambda = 632.8nm$.



Figura 6.2 Son las imágenes 2D de $|\overline{G\eta}_c(u_k, v_m)|$ en 1024X1024 píxeles y en pseudocolor, de las correspondieste imágenes de las figura 6.1;



Figura 6.3 Se muestra $\left| DW_{\overline{sn}_{c}}(0,0;u_{k},v_{m}) \right|$ de sus correspondientes imágenes en 1024X1024 píxeles y pseudocolor; el circulo en linea punteada delimita el ancho de banda de wigner discreta dependiendo de la longitud de onda con la que se esta trabajando, serán (a) $BWDW_{promedio} = 181.8 \ mm^{-1}$. (b) $BWDW_{Azul} = 222.2 \ mm^{-1}$, en (c) $BWDW_{verde} = 188.67 \ mm^{-1}$. y (d) $BWDW_{rojo} = 153.84 \ mm^{-1}$.



Fugura 6.4 Las graficas (a), (b), (c) y (d) son los perfiles de amplitud $DW_{\hat{s}n_c}(0,0;u_k,0)$, siendo $\hat{g}n$ un estimado de la imagen donde . los ceros o valores pequeños sean facilmente localizados las lineas punteadas verticales limitan su correspondiente BWDW para cada diferente λ de la fuente de iluminacion.

Resultados experimenteles de un objeto de $5\pm0.5\mu m$, obtenidos con el microscopio Olympus y un objetivo de 20X(0.50), cuando se ilumniana con luz incoherente y luz coherente.



Figura 6.5 Las imágenes son un acercamiento (100X100píxeles) de la imágen capturada por el CCD de (1024X1024píxeles), en escala de gris, de un objeto de $5\pm0.5\mu m$, el cuel es iluminado con cuatro diferentes longitudes de onda una incoherente (a) $\overline{\lambda} = 550nm$ y tres coherentes:(b) $\lambda = 435nm$, (c) $\lambda = 532nm$ y (d) $\lambda = 632.8nm$.



Figura 6.6 Son las imágenes 2D de $|\overline{G\eta}_c(u_k, v_m)|$ en 1024X1024 píxeles y en pseudocolor, de las correspondieste imágenes de las figura 6.5;



Figura 6.3 Se muestra $\left| DW_{\overline{gn}_{c}}(0,0;u_{k},v_{m}) \right|$ de sus correspondientes imágenes en 1024X1024 píxeles y pseudocolor; el circulo en linea punteada delimita el ancho de banda de wigner discreta dependiendo de la longitud de onda con la que se esta trabajando, serán (a) $BWDW_{promedio} = 181.8 \ mm^{-1}$. (b) $BWDW_{Azul} = 222.2 \ mm^{-1}$., en (c) $BWDW_{verde} = 188.67 \ mm^{-1}$. y (d) $BWDW_{rojo} = 153.84 \ mm^{-1}$.



Fugura 6.4 Las graficas (a), (b), (c) y (d) son los perfiles de amplitud $DW_{\hat{g}n_c}(0,0;u_k,0)$, siendo $\hat{g}n$ un estimado de la imagen donde . los ceros o valores pequeños sean facilmente localizados las lineas punteadas verticales limitan su correspondiente BWDW para cada diferente λ de la fuente de iluminacion.

Capítulo 7

Conclusiones.

En los resultados tanto experimentales como los simulados, se aprecian claramente grandes diferencias, éstas, causadas por los diferentes efectos de difracción, debido a la longitud de onda con la cual la imagen detectada se encuentra iluminada.

Diferente forma y cambios en el objeto por los cambios de la difracción y los diferentes tipos de iluminación de objeto.

Existencia de diferencias en el patrón de Wigner para cada diferente longitud de onda, independiente de la fuente de luz empleada ya sea luz laser o luz blanca cuando se emplea un filtro de color.

Para cada longitud de onda ya sea luz parcialmente coherente o parcialmente incoherente la FDWD será diferente.

Se espera que empleando diferentes longitudes de onda, sus funciones Wigner de un objeto no sean tan diferentes y sigan una línea de un patrón.

No se espera que las funciones de Wigner sean iguales para todas las longitudes de onda y los dos tipos de iluminación.

Se observa que al ser un objeto tan pequeño, este produce una imagen pero también produce un patrón de difracción diferente para cada longitud de onda, por lo que al obtener la imagen tendremos algunos efectos de difracción que modificaran la imagen detectada.

Teniendo un objetivo de microscopio 20X tenemos mayor resolución, por lo que tenemos menos fuentes cuasi-puntuales. Al tener un objetivo de microscopio de 4X este por su menor resolución, es más probable encontrar fuentes cuasi-puntuales para este objetivo. Por lo que la diferencia de resolución que nos arroja el sistema se ve reflejada en la función de Wigner cumpliendo la propuesta de positividad y en el ancho de la cintura de la FDWD.

El perfil de la FDWD se ve afectado por 3 variables controlables, que son:

Por la longitud de onda del tipo de luz empleada.

Por la longitud de onda de cada filtro empleado.

Por el cambio del tipo de microscopio empleado.

Si en general tenemos un objeto no resuelto (fuente cuasi-puntual), para un sistema óptico y una longitud de onda dada, además de un tipo de iluminación definido, no quiere decir que sea una fuente cuasi-puntual para todos los sistemas y todas las longitudes de onda y objetivos, esto quiere decir que no hay generalidad; pero se puede decir que en general que cuando un objeto es una fuente cuasi-puntual y respeta la propuesta de positividad, para un sistema óptico cuando se ilumina luz coherente o incoherente pero en todas sus longitudes de onda en el espectro visible, entonces podemos decir que si se cumple la condición y que es un objeto NO RESUELTO y es una fuente cuasi-puntual para dicho sistema.

Los filtros de color empleados son filtros de banda ancha determinado, por lo que aun al ser filtros de color no se asemejan al ancho de banda de un laser el cual su ancho de banda esta determinado muy estrechamente.

Al tener una fuente de iluminación parcialmente coherente y descrita en un ancho de banda estrecha y determinada los efectos de difracción son menores y por consiguiente se encuentra una mejor imagen del objeto, además de tener una forma mejor de filtrar el ruido asociado a los efectos de difracción para su análisis con la FDWD.

La FDWD en luz coherente parece más estable y corresponder a una relación continua que nos demuestra que los resultados son contundentes y esperados

Bibliografía.

[3] A. J. den Dekker and A. van den Bos, "Resolution reconsidered-conventional approaches and an alternative," Advances in Imaging and Electron Physics, **117**, 241-360 (2001).

[4] Joseph W. Goodman, "Introduction to Fourier Optics", McGraw-Hill, U.S.A., (2004).

[5] Linfoot and Edward Hubert, "Fourier methods in optical image evaluation" London, New York, Focal Press [1964].

[6] Lord Rayleigh, .On the theory of Optical Images, with Reference to the microscope. Phil. Mag. 1896, 42, 167-195.bE. Abbe, .Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der Mikroskopishen Wahrnehmung., Archiv f. Mikroskop. 1873. Anat. 9, 413-468.

[7] M. Born, E. Wolf, "Principles of Optics", Pergamon Press, 418-422 6° Ed. (1984)

[8] Lord Rayleigh, 1902, Collected Papers (Cambridge University Press)3,84

[9] M.E.Barnett Imagen Formation in Optical and electron transmission microscopy, Journal of Microscopy, Vol.102, Pr 1, September 1974, pp. 1-28

[10] C.E. Shannon, "A Mathematical Theory of Communication", Bell System Technical Journal, vol. 27, pp. 379-423, 623-656, July, October, 1948.

[11] R. S. Longhurst, "Geometrical and Physical Optics". Longman, Great Britain, (1970).

[12] Gaskill, Jack D. "Linear systems, fourier transforms", and optics." New York, NY : John Wiley Sons, Inc., 1978, c1978

[13] W.T.Welford, "Star Test in Optical Shop Testing" John Wiley and Son, Chap11 [1978].

[14] H. Gross, [Handbook of Optical Systems], Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2 (24), 399-407 (2005).

[15] M.J.Bastiaans, "The Wigner Distribution Function of partially coherent light" Opt.Acta,28,(1981),1215.

[16] Walter Daniel Furian, "Formalismos Duales Espacio-Face en optica" Tesis 1988.

[17] C. Obermüller and K. Karri, "Far field characterization of diffracting circular apertures", Appl. Phys. Letts. **67** (23), 3408-3410 (1995).

^[1] M. J. Bastiaans, "The Wigner distribution function to optical signals and systems", Opt. Comm. 25, 26-30 (1978).

^[2] V. Ronchi, "Resolving power of calculated and detected images," J. Opt. Soc. Am. Vol. 51, [2]8V45Ronghi, "Resolving power of calculated and detected images," J. Opt. Soc. Am. Vol. 51,

[18] C.J.Román-Moreno and Ortega-Martínez "The Wigner function in paraxial optics II. Optical diffraction pattern representation" Revista Mexicana de Física 49(3)290-295.

[19] Claasen, T.A.C.M., Mecklenbrauker, W.F.G., "The Wigner distribution - a tool for time-frequency signal analysis - Part II: Discrete-time signals", *Philips J. Res.*, Vol. 5 pp.276-300 (1980).

[20] Dähne F. Lanzl, "A microscope focusing technique for a digital image analyzing system", Optik, **55** (4), 437-448 (1980).

[21] Ch. Thum, "Measurement of the entropy of an image with the application to image focusing", Opt. Acta. **31** (2), 203-211, (1984).

[22] A J den Dekker and A van den Bos, "*Resolution reconsidered-conventional approaches and an alternative*", Advances in imaging and Electron Physics, **117** 241-360 (2001).