

"Contraste de Fase No Lineal"

Por

M. C. Luis Ignacio Olivos Pérez

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

Supervisada por:

Dr. Julián David Sánchez de la Llave

У

Dr. Marcelo David Iturbe Castillo

Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica

Tonanzintla, Pue. 2010.

© INAOE 2010 Todos los derechos reservados. El autor otorga al INAOE el permiso de reproducir y distribuir copias impresas o electrónicas de esta tesis en su totalidad o en partes.



DEDICATORIAS

A Arcadio Olivos González †

Mi padre y mi mejor amigo, por mucho, el mejor hombre que he conocido. Con profundo agradecimiento y respeto. Por tus esfuerzos, desvelos y sacrificios. Te brindo este tributo, que es un logro nuestro. Te pienso, extraño y lloro todos los días.

A Elvia Ríos González

Mi esposa, amiga, cómplice y compañera de vida. Por su amor, comprensión, constante estímulo y regaños. Eres mi razón para seguir. Te amo.

A mis hermanas María del Rocío y María Eugenia.

Las mejores madres que pude tener. Agradezco con respeto y admiración su amor, apoyo y la motivación para superarme día a día.

A mis tíos Judith y César †

Ella mi tercera mamá, él el segundo mejor hombre que he conocido. Por su gran apoyo moral y la confianza depositada en mí.

A Shareni.

Con todo cariño.

A mis amigos Enrique, Lya, David, Alejandra, Betty, Norma y Gil.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, Dr. Julián David Sánchez de la Llave y Dr. Marcelo David Iturbe Castillo, por el tiempo invertido, la ayuda desinteresada, las respuestas brindadas en el desarrollo de este trabajo y sobre todo por la oportunidad de ayudar a mi padre cuando más lo necesitaba.

A mis sinodales, Dr. Alejandro Cornejo Rodríguez, Dr. Luis Raúl Berriel Valdós, Dr. Máximo Luis Arroyo Castro, Dr. Francisco Javier Renero Carrillo y Dr. Carlos Gerardo Treviño Palacio; por la dedicación que tuvieron al revisar y mejorar este trabajo.

Al pueblo de México, quien a través del CONACyT, me brindó el apoyo económico para mi educación.

Al Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica, por brindarme el apoyo y la preparación para esta aventura científica.

A la coordinación de óptica: al Dr. Sergio Vázquez y Montiel, a las señoritas Patricia Sampedro, Liliana Huesca y Eicela Huepa.

A la Universidad Politécnica de Puebla, por el apoyo en la impresión de la tesis.

Muy especialmente a Alecita, Lorena y Liliana por su gran ayuda desinteresada.

A la familia óptica: Lizbeth, Carlos, Jorge, Sergio, Alejandro, Aldo y Melquíades por compartir conmigo esta maravillosa aventura. Y a la familia óptica extendida: Paz, Elsa, Sandra, Luisa y Mauro, por los buenos tiempos.

A mis suegros, por su apoyo. Personas maravillosas que me confiaron lo más valioso que tienen.

A los Paredes, por ser amigos de vida.

RESUMEN

La técnica de contraste de fase se utiliza para convertir cambios de fase en cambios de intensidad. Para implementarla, es necesario iluminar un objeto de fase y utilizar un sistema óptico formador de imagen que conste de dos lentes de distancia focal f separadas una distancia 2f y con plano objeto e imagen a una distancia f antes y después de cada lente, respectivamente. Con este sistema se puede lograr separar la luz que no es afectada por el objeto y aquélla que sí lo es. Además se requiere de un filtro de fase para dar el desplazamiento adecuado a la luz no afectada. Tradicionalmente, el filtro se logra colocando en el plano de Fourier del sistema formador de imagen un disco de un material transparente con un cierto índice de refracción cuyo espesor óptico proporcione el retraso de un cuarto de la longitud de onda con la que se ilumina. Por lo que la implementación de tal técnica en sistemas comerciales no es común y es por lo general costosa.

Los medios cuyas propiedades ópticas cambian con la intensidad de la luz se conocen como medios ópticos no lineales. Una de las propiedades que cambia en los medios no lineales es el índice de refracción. Al iluminar este tipo de materiales con una distribución de intensidad no constante, se obtiene una distribución de índice de refracción también no constante. La magnitud del cambio en el índice de refracción depende de la sensibilidad del medio no lineal a la intensidad de la luz, produciendo diferentes retrasos en la fase del campo óptico que lo atraviesa. Aprovechando estas propiedades, es posible inducir, bajo ciertas condiciones, un filtro con las mismas características al requerido por la técnica de contraste de fase. En esta tesis se hace un estudio del uso de medios ópticos no lineales, en particular la bacteriorrodopsina (BR), para fotoinducir un filtro tipo Zernike utilizando luz laser en un arreglo de contraste de fase utilizando una sola lente para obtener la transformada de Fourier y la imagen del objeto. En este tipo de medio se pueden producir cambios de índice de refracción proporcionales a la intensidad de un haz de luz que incida en él, por lo que, al colocar la BR en el plano donde se forma la transformada de Fourier de un objeto de fase, las regiones iluminadas con mayor intensidad inducirán un cambio de índice de refracción mayor al que inducen aquellas de menor intensidad. Así, bajo ciertas condiciones, se fotoinducirá un filtro similar al requerido por la técnica de contraste de fase, es decir, un filtro tipo Zernike.

Se presenta el tratamiento matemático tradicional de contraste de fase y una descripción general de la técnica, donde se eliminan las restricciones que generalmente se suponen. Esto ayuda a comprender mejor el uso de medios no lineales para fotoinducir el filtro.

También se realiza una caracterización numérica de la técnica de contraste de fase. En ella se muestra la importancia que tiene la razón entre el tamaño del objeto y el tamaño del campo con el que se ilumina para la visualización del objeto.

Se presentan resultados experimentales utilizando objetos de fase típicos como la distribución de temperatura inducida por un cautín o una secadora de pelo, así como algunos elementos ópticos típicos en un laboratorio. En ellos se pueden observar las diferentes distribuciones de fase generadas mediante imágenes con franjas brillantes y oscuras.

Finalmente, se propone la implementación de la técnica de contraste de fase no lineal en un microscopio óptico común, cambiando la fuente de iluminación blanca por una fuente de luz laser y la introducción de la BR en el lugar adecuado para ver especímenes de fase.

iv

ABSTRACT

The Phase Contrast Technique, developed by Fritz Zernike, is a powerful method that allows converting phase variations into intensity variations of an optical field. In general, the phase variation cannot be directly viewed and a method must therefore be sought to extract information about the wave front of the optical field from an indirect measurement. The technique implementation consists of two lenses with a phase changing plate, called Zernike filter, placed in the lenses common focal plane. The phase plate usually is a small circular region or disk that introduces a phase shift to the focused wave. The radius of the disk is typically chosen smaller than the diffraction-limited radius, of a focused undistorted input wave. The implementation of this technique in commercial systems is not common and usually very expensive.

On the other hand, the materials that change their optical characteristics when are illuminated are call nonlinear. One of these properties that changes in the nonlinear media is the refractive index. The change in refractive index is proportional to the light intensity and the magnitude of change depends on the sensitivity of the nonlinear medium to the light intensity. Taking advantage of these properties, a filter with the same characteristics as the required by phase-contrast technique can be induced under certain conditions. In this thesis we study the use of nonlinear optical media, such as bacteriorhodopsin (BR) to photo induce a Zernike type filter using coherent light in a single-lens image processor. A BR film is placed at the system focal plane, and the output intensity distribution is observed at the image plane of the system. On the geometrical focal plane of the lens the field distribution is given by the complex Fourier transform of the input field distribution. At this point the BR film is placed producing a nonlinear phase delay correspondent to the amplitude of the Fourier spectrum. Therefore, under certain conditions, a self-aligned phase filter is photo induced.

We present the phase contrast traditional mathematical treatment and a technique overview, which does remove the restrictions that are generally considered. This helps to a better understanding of the use of photo-induced nonlinear media for the filter.

We also performed a numerical characterization of the phase contrast technique. It shows the importance of the ratio of the object support area over the illuminating area to visualize the phase object.

Experimental results using typical phase objects as the temperature distribution induced by a soldering tip or a hairdryer and some typical optical elements in a laboratory are shown. The different phase distributions generated by these objects are seen by bright and dark fringes in their images.

Finally, we present a nonlinear phase contrast microscope that can be implemented with a conventional optical microscope using a low power cw coherent light source to illuminate the specimen. The intensity dependent refractive index material is a BR film where it is possible to produce a phase shift depending on the incident light intensity. Therefore, the aligning procedure is greatly simplified. Due to these characteristics the resulting setup is relatively inexpensive, easy to implement, and extremely robust.

ÍNDICE

DEDICATORIAS	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	v
ÍNDICE	vii
CAPÍTULO 1	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2	
REVISIÓN HISTÓRICA	
2.1 Introducción	5
2.2 Contraste de fase tradicional	6
2.3 Contraste de fase no lineal	11
2.4 Aplicaciones de contraste de fase	12

CAPÍTULO 3

CONTRASTE DE FASE TRADICIONAL	
3.1 Introducción	15
3.2 Descripción de la técnica propuesta por Zernike	16
3.3 Contraste de fase sin restricciones en la fase del filtro y la fase	
del objeto	18
3.3.1. Objetos con variación pequeña de fase	20
3.3.2. Fase del filtro igual a $\pi/2$ rad	21
3.3.2.1 Fase del filtro igual a $\pi/4$ rad	22
3.3.2.2 Contraste del interferograma resultante	22
3.3.3 Objetos con variación grande de fase	24
3.4 Influencia del factor de llenado en objetos binarios de fase	24

3.5 Contraste de fase con filtros de tamaño finito	25
3.5.1 Onda sintética de referencia con factor de llenado unitario	25
3.5.2 Onda sintética de referencia con factor de llenado pequeño	27
3.6 Simulaciones numéricas	28

CAPÍTULO 4

CONTRASTE DE FASE NO LINEAL

4.1 Introducción	44
4.2 Óptica no lineal	45
4.3 Bacteriorrodpsina	47
4.4 Contraste de fase usando un medio no lineal	50
4.5 Simulaciones numéricas	53
4.6 Resultados experimentales	67
4.7 Microscopio de fase no lineal	72

CAPÍTULO 5	
CONCLUSIONES	75
LISTA DE FIGURAS	81
REFERENCIAS	88
PUBLICACIONES Y TRABAJOS PRESENTADOS	100
RELACIONADOS CON EL PRESENTE TRABAJO	

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Existen objetos que al iluminarlos con luz visible no modulan la amplitud de la luz que incide en ellos, no pudiendo detectarlos. Estos objetos, llamados objetos de fase, producen una variación en el camino óptico de la luz que se transmite a través de ellos, dejando inalterada su amplitud. Esta variación se le conoce también como variación de fase del objeto. Se han desarrollado diferentes técnicas, como las interferométricas [1]. En otras técnicas, se modifica de alguna manera el campo de la transformada de Fourier del objeto de fase para obtener una modulación de la intensidad de la luz en el plano imagen de un sistema óptico. Ejemplo de ellas son las schlieren [2]. A éstas pertenece el método de la navaja, en donde se bloquea la mitad del espectro de Fourier del objeto de fase [3]; también el método del campo oscuro, en donde se dejan pasar todas las frecuencias de su transformada de Fourier a excepción de la central. Este principio se ha aplicado en microscopía. El campo inmediatamente después del objeto consiste de luz difractada por el objeto y de luz no difractada. La luz no difractada es enfocada por el objetivo del sistema en la frecuencia cero del espectro de Fourier. En ausencia de objeto, la frecuencia cero es expandida por el ocular para producir un campo uniforme en el plano imagen. Al eliminar la frecuencia cero del espectro de Fourier, toda la luz que forma la imagen proviene únicamente de la luz difractada [4], visualizando el objeto en un fondo oscuro.

La técnica más importante para la visualización de objetos de fase es la Técnica de Contraste de Fase (TCF), inventada por el químico holandés Frits Zernike en 1934 [5]. Inicialmente, Zernike propuso su técnica como una mejora a la técnica de la navaja para evaluar la calidad óptica de espejos en astronomía. Posteriormente sugirió su aplicación para la visualización de microorganismos transparentes en un microscopio [6].

A continuación se describe en qué consiste la TCF. Supongamos un objeto de fase iluminado uniformemente con luz monocromática, con una lente positiva delgada se obtiene su transformada de Fourier e imagen. Zernike sugirió colocar en el plano de Fourier de este sistema, un filtro consistente de un disco de algún material transparente y de un radio pequeño para modificar, idealmente, sólo la frecuencia cero de la transformada de Fourier del objeto. Con un espesor adecuado, la luz incidente en el filtro sufrirá un desplazamiento en fase de $\pi/2$ rad con respecto a la luz que no incida en él, permitiendo obtener una imagen del objeto como variaciones de intensidad. Si las variaciones de fase del objeto son menores a 0.1π rad existe una relación lineal entre estas variaciones de fase y la intensidad de la imagen, permitiendo recuperar de esta última la información de fase. Haciendo un filtro además absorbente se puede obtener una imagen mejor contrastada [7].

El impacto de la TCF fue grande debido a que por primera vez era posible observar con gran nitidez microorganismos vivos sin necesidad de teñirlos. Es principalmente por esta aportación que en 1953, Fritz Zernike fue galardonado con el premio Novel de física.

Los materiales que se han usado en la fabricación de los filtros de fase han sido capas delgadas de diversos materiales dieléctricos depositadas mediante la técnica de depósito químico de vapor [8], construidos de manera manual usando ceras [9,10] o películas fotográficas blanqueadas [11]. Estas capas delgadas son por lo regular de un grosor de unas decenas de nanómetros y diámetros de micras (< 5 μ m). Por lo general, resulta difícil su construcción y alineación, por lo que la implementación de un sistema de contraste de fase es cara.

Se han propuesto otras formas de implementar la TCF sin las complicaciones de la construcción del filtro. En una se propuso el uso de pantallas de cristal líquido para crear los filtros de fase [12, 13]. Dadas las características de estos dispositivos es posible autoinducir el filtro con la misma luz con la que se ilumina el objeto de fase a contrastar. Sin embargo, está limitada por la resolución de la pantalla de cristal líquido y se requiere un tipo de polarización particular de la luz además que tienen un costo relativamente alto.

En 1988, Xuan et. al. [14] propusieron el uso de medios no lineales con no linealidad térmica para fotoinducir en ellos el filtro de fase, evitando así su construcción y alineación. Utilizaron un sistema óptico formador de imagen para obtener la transformada de Fourier y la imagen del objeto. Al utilizar un medio no lineal como filtro el desplazamiento de fase inducido no sólo es debido a la intensidad de la frecuencia cero de la transformada de Fourier, sino que también a la intensidad de las demás frecuencias. Para obtener un filtro fotoinducido eficiente, la intensidad de la frecuencia cero debería ser mucho más alta que la intensidad de cualquier otra frecuencia. Los medios no lineales propuestos eran acetona, benceno, tolueno, cloroformo, entre otros. Sin embargo, el uso de láseres pulsados con relativamente altas energías limitó su propuesta en cuanto a su implementación y costo. En 2001, Iturbe et. al. [15] utilizaron como medio no lineal una película de bacteriorrodopsina para fotoinducir el filtro. Usaron un arreglo óptico de una sola lente con la que obtuvieron la transformada de Fourier del objeto y su imagen, un láser de He-Ne de onda continua de baja potencia (~20 mW) como fuente de luz, obteniendo imágenes contrastadas observadas en tiempo real. La condición para obtener un filtro eficiente, la lograron al emplear un área de iluminación mayor que el área del objeto. A la razón del área del objeto entre el área del campo de iluminación le llamaron factor de llenado [16].

Estas aportaciones abren un campo muy amplio a la investigación en cuanto a los tipos de medios no lineales que se pueden utilizar para fotoinducir el filtro, así como a las maneras en las que se puede modificar. En esta tesis proponemos hacer un estudio numérico y experimental de la influencia que tiene en la imagen del objeto de fase un filtro fotoinducido en un medio no lineal en la TCF. En particular el medio no lineal utilizado es una película de bacteriorrodopsina.

El presente trabajo está organizado de la siguiente manera: En el capítulo 2 hacemos una revisión histórica de la técnica de contraste de fase tradicional y no lineal, así como las aplicaciones que desde su invención ha tenido esta técnica. En el capítulo 3 describimos la técnica de contraste de fase tradicional, eliminando las restricciones impuestas por Zernike. Presentamos simulaciones numéricas donde mostramos los parámetros que pueden ser variados para mejorar las imágenes de objetos de fase. En el capítulo 4 explicamos la técnica de contraste de fase utilizando un medio no lineal para fotoinducir el filtro. Realizamos simulaciones numéricas y mostramos resultados experimentales. Por último, en el capítulo 5, presentamos las conclusiones del trabajo.

CAPÍTULO 2

REVISIÓN HISTÓRICA

2.1 INTRODUCCIÓN

La técnica de contraste de fase (TCF), desarrollada por Frits Zernike en 1934 [5,6], transforma las diferencias de fase en diferencias de intensidad. Originalmente tuvo gran aceptación entre los microscopistas ya que se podían visualizar muestras biológicas vivas sin necesidad de teñirlas. Sin embargo, la técnica no ha estado limitada a este tipo de aplicaciones. A lo largo de estos años, ha tenido numerosas mejoras, ya sea para su aplicación original o en otro tipo de aplicaciones. También ha sido objeto de estudio la caracterización de los filtros de fase utilizados en la técnica y su influencia en las imágenes. En los últimos años se ha profundizado el estudio de la interacción de la luz con la materia; así, por ejemplo, cuando la materia presenta cambios en sus propiedades ópticas al incidir luz en ella, hablamos de óptica no lineal. A los materiales que cambian algunas de sus propiedades al interactuar con luz, tales como su índice de refracción, se les llama medios no lineales. Al incorporar este conocimiento a la TCF, la hace más versátil y reduce significativamente su costo. En este capítulo, hacemos un recuento de las investigaciones realizadas alrededor de la TCF. En la sección 2.2 presentamos un resumen histórico del desarrollo que la técnica tradicional ha tenido desde su invención. En la sección 2.3 revisamos las investigaciones realizadas, de manera particular, de la implementación de la técnica utilizando medios no lineales. En la sección 2.4 ejemplificamos algunas aplicaciones de esta técnica y su impacto en distintas áreas del conocimiento.

2.2 CONTRASTE DE FASE TRADICIONAL

Frits Zernike, quien nació el 16 de julio de 1888 y falleció el 10 de marzo de 1966, fue un químico al cual fue otorgado el premio Novel de Física en 1953, por su invento del microscopio de contraste de fase.

Inicialmente Zernike propuso la TCF para evaluar componentes ópticas. Posteriormente propuso la idea de un microscopio de contraste de fase a color [17]. Fue hasta 1950 que Saylor et. al. detallaron esta técnica [18], ya que muchos requerimientos debían cumplirse para optimizar su uso. La ventaja más grande no radicaba en la belleza de las imágenes, sino en la clara distinción obtenida entre los efectos causados por la dispersión, absorción y las pequeñas diferencias en el índice de refracción o grosor de la muestra.

En 1947 [19] y en 1949 [20], Brice et. al., realizaron un estudio de la absorción del filtro en un microscopio de contraste de fase. Establecieron que para obtener el mejor contraste era necesario combinar de manera adecuada la variación de fase inducida por el filtro y su absorción. Para valores de fase del objeto, menores a 20°, la absorción requerida del filtro debía ser grande. Para valores de fase del objeto entre 20° y 60°, se requería una baja absorción en el filtro. Para valores de fase mayores, era necesaria

una absorción no mayor al 75%. En el caso de la fase del filtro, concluyeron que una desviación de $\pm 30^{\circ}$ del valor óptimo no producían variaciones significativas en el contraste de la imagen. Si este valor era mayor a 40°, el contraste se reducía rápidamente, alcanzando cero para un desplazamiento de 60°.

En 1951, Epstein [21] realizó un estudio teórico y experimental del efecto de las aberraciones introducidas en un microscopio de contraste de fase, así como los efectos producidos por una mala alineación del filtro. La desalineación era visualizada en la imagen y era similar a la obtenida mediante la técnica de la navaja de Foucault. De la forma de la sombra producida, se pudo inferir el tipo de aberraciones del sistema.

En 1960, Meyer [22], propuso un sistema para obtener contraste de fase variable. En su sistema separó los haces difractados y no difractados por el objeto de fase de tal manera que el filtro de fase podía introducirse en la trayectoria de uno de estos haces. El sistema utilizaba un divisor de haz y un prisma, procurando que el camino óptico de ambos haces fuera el mismo. Así, era más sencillo utilizar filtros de fase con diferentes características.

En 1990, Noda et. al. [23] propusieron un sistema de contraste de fase para visualizar los objetos de fase de manera tridimensional. Posteriormente [24], propusieron una técnica para medir las variaciones tridimensionales en el índice de refracción de muestras microscópicas basada en la adaptación de la técnica de tomografía óptica computacional. Las muestras a observar deberían ser no absorbentes. En este método no era necesario hacer un muestreo en el foco del sistema, obteniendo imágenes aceptables.

En 1991, Nemoto et. al. [25], presentaron tres métodos para mejorar las imágenes en un microscopio de contraste de fase. El primer método, al cual llamaron el método de pupila oscura, consistía en sustraer de la imagen de contraste de fase ordinaria, la imagen obtenida a través de un objetivo cuyo filtro de fase estaba completamente oblicuo. El segundo método, reemplazaba la pupila oscura por un filtro con un retraso de fase de media

longitud de onda mayor que el tradicional. Ambos métodos implicaban serias modificaciones a los microscopios de contraste de fase por lo que sólo presentaron simulaciones numéricas. El tercer método utilizaba un objetivo cuyo filtro de fase tenía un coeficiente de transmisión muy grande comparado a los tradicionales. Esto resultó en la reducción de las no linealidades en la formación de la imagen.

Estos mismos autores propusieron la combinación de estas técnicas para separar imágenes de fase y absorción en un microscopio de contraste de fase. En esta técnica, se podía calcular la fase de distribuciones con variaciones grandes. La distribución era reconstruida cuantitativamente al resolver numéricamente un conjunto de ecuaciones para cada píxel de la imagen. Los desplazamientos de fase podían ser diferentes a los valores tradicionales. Sin embargo, el sistema era muy sensible a la incorrecta alineación.

En 1992, se realizó una conferencia internacional de contraste de fase y Contraste de Interferencia Diferencial (CID), [26]. En este marco, Józwick [27] detalló algunos problemas en la formación de imágenes en la visualización de objetos de fase. En este trabajo también describió su teoría de distorsión y la interpretación vectorial de la formación de la imagen de objetos de fase. Litwin [28], describió algunas propiedades específicas de la formación de imágenes en contraste de fase cuando se usaba una rejilla o una fuente en forma lineal y un filtro de fase en forma de una tira. Este estudio se realizó utilizando simulaciones numéricas de la transformada de Fourier y procesos digitales de filtraje. Sin embargo, un trabajo similar fue realizado años antes por Nomarski [29]. No obstante, en ese trabajo, Nomarski no describió, como lo hizo Litwin, la posible aplicación de este arreglo de contraste de fase para caracterizar cuantitativamente fibras ópticas. Pluta [30], hizo una revisión de las técnicas para reducir el problema de la luz no difractada en un sistema de contraste de fase. Este problema se presenta cuando la luz no difractada y difractada no pueden ser

completamente separadas por un filtro de fase de dimensiones físicas reales. También puede ser debido a que el mismo filtro produce luz difractada o por reflexiones que disminuyen la sensibilidad y el contraste de las imágenes. En otro trabajo, Pluta [32], presentó una versión simplificada de un microscopio de contraste de fase variable, llamado sistema polanret simplificado. El término polanret es el acrónimo de las palabras "**pol**arizer, **an**alyser" y "**ret**arder". Este sistema fue originalmente propuesto por Osterberg [32]. El sistema de Pluta usaba sólo un anillo polarizador en lugar de los tres polarizadores tradicionalmente utilizados. El anillo polarizador era precedido o seguido de una placa retardadora de media onda, la cual estaba entre dos polarizadores giratorios (polarizador y analizador).

En 1995, Anderson [33], proporcionó un método para seleccionar los filtros de fase adecuados en un sistema limitado por difracción. Utilizó tres criterios: la visibilidad de las franjas; la irradiancia de las franjas y la exactitud de las franjas para juzgar los interferómetros de trayectoria común, dentro de los cuales se puede clasificar la técnica de contraste de fase. Mostró que un filtro de fase de π era la mejor opción cuando los objetos de fase presentaban variaciones mayores a 2π , y se podía tolerar pérdidas en la luz. Su análisis demostró que si sólo el 25% de la luz permanecía inalterada, la visibilidad del interferograma era ≥ 0.8 para todos los objetos de fase cuando se utilizaba una combinación de absorción en el filtro y un desplazamiento de fase de π . En su trabajo, consideró un tamaño de 0.4 veces el lóbulo central del patrón de Airy con lo que obtuvo interferogramas eficientes. La ventaja de un filtro grande era la de incrementar la luz de la onda sintética de referencia y una mayor estabilidad mecánica. Sin embargo, podía introducir cierta distorsión.

En 1996, Glückstad [34], presentó un método para sintetizar patrones de intensidad arbitrarios basados en la técnica de contraste de fase en un rango de modulación de fase de 0 a 2π . El mismo autor, en 1998, presentó

un método de análisis gráfico para optimizar los parámetros del filtro en sistemas interferométricos de trayectoria común [35]. Los parámetros tanto del objeto como del filtro fueron combinados para obtener las características del filtro a utilizar.

Liang et al. [36], propusieron un arreglo alternativo para obtener en un solo sistema, un microscopio de campo brillante, de campo oscuro, de contraste de fase y de desplazamiento de fase. En su modalidad de contraste de fase, el sistema podía ajustar el tamaño del campo de iluminación y el desplazamiento de fase relativo en el filtro. El sistema usaba luz blanca como fuente de iluminación.

En 2001, Glückstad et. al. [37], desarrollaron un modelo analítico para el diseño y optimización de interferómetros de trayectoria común. Proporcionaron un marco analítico donde describieron la operación, el diseño y optimización de esta clase de interferómetros. Su análisis estaba basado en la generalización de la técnica de Zernike, donde no la restringieron a fases pequeñas. También analizaron la importancia que tenía el perfil de amplitud de la onda sintética de referencia para obtener el mejor desempeño de un interferómetro de trayectoria común.

De-la-Llave et. al. [38], hicieron un estudio numérico de la influencia del factor de llenado en el proceso de filtrado de Zernike. Definieron el factor de llenado como la razón del área del objeto entre el área total de iluminación. Evaluaron el contraste de la imagen de salida como función del factor de llenado, las variaciones de fase del objeto y la fase del filtro para un sistema de contraste de fase ideal. Los resultados que presentaron, mostraron que el factor de llenado podía modificar significativamente el contraste e irradiancia en la imagen contrastada. También que el desplazamiento de fase inducido por el filtro podía mejorar el contraste de las imágenes.

En 2003, Nishchal et. al. [39] utilizaron un modulador espacial de luz de cristal líquido como filtro, operando en su modo de fase.

Como se ha visto, el desarrollo de la técnica de contraste de fase es basto. Su refinamiento ha llevado a generar mayor conocimiento en el tema y en temas relacionados.

2.2 CONTRASTE DE FASE NO LINEAL

Como se mencionó en el Capítulo 1, la construcción del filtro de fase es un proceso difícil y costoso, lo que hace que la implementación de la TCF sea cara y la alineación del filtro complicada. Sin embargo, el estudio de distintos materiales para crear el filtro ha llevado a la simplificación del uso de la técnica y abaratar costos.

En 1988, Xuan et. al. [40,41] realizaron una aportación significativa a la TCF. Utilizando el cambio de índice de refracción presentado por las nolinealidades ópticas (Efecto Kerr de segundo orden, absorción no lineal, dispersión estimulada), propusieron un sistema de contraste de fase donde se fotoinduciera el filtro de fase utilizando diversos medios líquidos no lineales como acetona, benceno, tolueno entre otros. En su sistema utilizaron láseres de alta potencia.

En 1995, Liu et. al. [42] utilizaron este mismo principio para fotoinducir el filtro en un cristal fotorrefractivo. De la misma manera utilizaron laseres de alta potencia y el medio utilizado implicaba un tiempo de fotoinducción del filtro del orden de minutos.

En 2000, Glückstad [43], implementó un arreglo de iluminación utilizando un medio Kerr para fotoinducir el filtro de fase. El arreglo permitía dividir el haz de un laser expandido en múltiples áreas luminosas y oscuras.

En 2001, Iturbe et. al. [15], propusieron el uso de un medio no lineal orgánico, una película de bacteriorrodopsina, para fotoinducir el filtro de Zernike en un sistema de contraste de fase. Gracias a las propiedades de este material, el filtro se fotoinducía utilizando luz coherente de baja potencia, pudiendo observar objetos de fase y flujos en tiempo real.

En 2003, Treviño et. al. [44], presentaron un estudio de un interferómetro de trayectoria común no lineal, como procesador de imagen. Usaron una sola lente y un medio no lineal para fotoinducir el filtro utilizando factores de llenado pequeños. La visibilidad de las franjas la controlaron modificando este factor de llenado.

Ese mismo año, Sendhil et. al. [45,46], utilizaron otro compuesto (Zinc Tetraphenyl Porphyrin) como medio no lineal para fotoinducir el filtro de Zernike en un sistema para obtener contraste de fase inverso de una matriz de objetos de amplitud.

Las investigaciones de contraste de fase no lineal se han enfocado en la utilización de distintos materiales para fotoinducir el filtro de fase. Para propósitos del presente trabajo, el estudio de la bacteriorrodopsina como medio no lineal y la descripción del sistema de contraste de fase como un sistema interferométrico nos ayudará para la caracterización del filtro fotoinducido en un sistema de contraste de fase y su efecto en la formación de la imagen del objeto.

2.3 APLICACIONES DE CONTRASTE DE FASE

La mayor parte del desarrollo de la técnica de contraste de fase se ha debido a las aplicaciones que se le ha dado. Éstas no han estado restringidas exclusivamente a microscopía, diversas áreas de la ciencia y la técnica han sido beneficiadas con ella. Las mejoras han resultado en avances significativos, desde el diseño para la implementación del microscopio de contraste de fase por reflexión para especimenes opacos, [47] hasta la utilización de un filtro de fase en espiral para mejorar el contraste de los bordes en un sistema de microscopio de contraste de fase [48,49].

En el área biológica, se ha planteado la posibilidad de utilizar la TCF en un microscopio electrónico [50], donde pudieron contrastar objetos con grosores mayores a 2000 Å en un microscopio de 1.0 MeV. Se ha propuesto también la implementación de un microscopio de contraste de fase usando como fuente de iluminación rayos X aplicado a microtomografía [51] y en la visibilidad de imágenes clínicas contrastadas en fase [52,53]. La tomografía es otra área de las ciencias de aplicación de la TCF, haciendo uso de rayos X en un sincrotrón de tercera generación para obtener contraste cuantitativo [54] o tomografía para medir variaciones de fase del orden de nanómetros [55].

Otra aplicación de la TCF es la medición y evaluación como por ejemplo la concentración de componentes químicos en gases y líquidos [56,57]. Medir índices de refracción del aire [58], visualización de flujos [59], perfiles de fibras ópticas monomodo [60] y evaluación de componentes ópticas con gran precisión, como rejillas de difracción [61], en micro-óptica [62] y como detector en óptica adaptativa [63]. Ha ayudado al desarrollo de detectores de frentes de onda y controladores de frentes de onda [64, 65]. Se ha propuesto también para medir pulsos ultracortos al desplazarse transversalmente en un medio no lineal [66]. Se ha aplicado en el estudio de superficies, como acero inoxidable pulido, diamantes pulidos y en bruto [67], la rugosidad de superficies en vidrio pulido de baja reflectancia y superficies con variaciones de amplitud [68, 69].

Se ha propuesto para crear un arreglo de iluminación basado en contraste de fase en computadoras digitales ópticas [70] o un arreglo de iluminación reconfigurable [71-73]. Se ha propuesto para la generación de un modulador espacial de luz sólo de fase, transformando una modulación espacial de amplitud a una modulación espacial sólo de fase. De las últimas

aplicaciones de la técnica es en la formación de pinzas ópticas de haces múltiples [74].

Como se ha visto, la TCF ha tenido gran impacto tanto en microscopía, como en la caracterización de componentes ópticas, tomografía óptica, medición de componentes o caracterización de superficies. Muchos campos de la ciencia se han visto beneficiados. Lo que ha generado mayor conocimiento y desarrollo, no sólo alrededor de esta técnica, sino en otras áreas.

CAPÍTULO 3

CONTRASTE DE FASE TRADICIONAL

3.1 INTRODUCCIÓN

Diversos autores han presentado distintos modelos para describir la técnica de contraste de fase. Originalmente, Fritz Zernike, basado en la teoría de Abbe, propuso una interpretación simple de su técnica. Sin embargo, ésta se restringió a objetos que produjeran variaciones de fase pequeñas a la luz incidente y a un valor específico en el desplazamiento de fase inducido por el filtro. Actualmente se han eliminado estas consideraciones [33, 34, 38]. En este capítulo se presenta el tratamiento tradicional de contraste de fase y una descripción general de la técnica, donde se eliminan las restricciones. También se analiza la influencia del factor de llenado, definido en la sección 3.3, en el contraste de las imágenes obtenidas. El entendimiento de la técnica tradicional de contraste de fase, ayudará a comprender mejor el uso de medios no lineales para fotoinducir el filtro.

3.2 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA PROPUESTA POR ZERNIKE

Para la descripción tradicional de la técnica, consideramos un sistema óptico conocido como 4*f*. Éste consiste de dos lentes de distancia focal *f* separadas una distancia 2*f* y con plano objeto e imagen a una distancia *f* antes y después de cada lente, respectivamente (ver figura 3.1). Supongamos que iluminamos un objeto $o(x_0, y_0)$ colocado en el plano objeto del sistema con un frente de onda plano monocromático. Haciendo la expresión de la pupila finita de las lentes igual a 1, la primera lente generará la transformada de Fourier \Im del objeto en el plano focal:

$$O(x_f, y_f) \propto \Im\{o(x_0, y_0)\}.$$
(3.1)

Por simplicidad consideramos que la constante de proporcionalidad de esta relación es unitaria. La segunda lente producirá la transformada de Fourier de la distribución que se encuentra en el plano de Fourier. Al no existir ningún elemento que modifique espacialmente la distribución $O(x_f, y_f)$, entonces se obtiene en el plano imagen del objeto

$$A(x_i, y_i) = \Im \{ O(x_f, y_f) \} \propto o(-x, -y), \qquad (3.2)$$

donde los signos negativos nos indican que la imagen está invertida



Figura 3.1. Arreglo óptico 4-f para la realización de filtraje espacial.

En el tratamiento de contraste de fase tradicional se hacen dos consideraciones fundamentales: la primera es que las variaciones de fase inducidas por el objeto no deben ser mayores a 0.1 rad; la segunda idealiza un filtro de fase que altera únicamente la frecuencia cero de la transformada de Fourier del objeto, para la cual la transmitancia se restringe a $exp [\pm i(\pi/2)] [5, 7, 75, 76].$

Un objeto de fase $\exp[i\phi_0(x, y)]$, se puede expresar mediante una expansión en serie de Taylor. La primera restricción permite representar el objeto mediante los primeros dos términos de la serie, $1+i\phi_0(x, y)$. El término $\phi_0(x, y)$ representa las variaciones alrededor del desplazamiento de fase promedio, esto es, el promedio de $\phi_0(x, y)$ es igual a cero. La primera lente de nuestro sistema, genera la transformada de Fourier de esta expresión:

$$O(x_f, y_f) \propto \Im\{1 + i\phi_0(x, y)\} = \delta(x_f, y_f) + \Im\{i\phi_0(x, y)\}. \quad (3.3)$$

Al introducir el filtro propuesto por Zernike en el plano donde se forma la transformada de Fourier, se induce un desplazamiento de fase de $\pm \pi/2$ rad únicamente a la frecuencia cero, haciendo que la distribución del campo en ese plano quede expresado como

$$O(x_f, y_f) = \pm i \delta(x_f, y_f) + \Im \{ i \phi_0(x, y) \}.$$
(3.4)

La segunda lente de nuestro sistema produce la transformada de Fourier de este campo

$$\Im\{O(x_f, y_f)\} = \pm i [1 + \phi(-x, -y)].$$
(3.5)

Por lo que, la distribución de intensidad en el plano imagen es

$$I(x_i, y_i) = 1 \pm 2\phi_0(-x, -y), \qquad (3.6)$$

que es una relación lineal entre la intensidad y la distribución de fase. Aquí, se ha despreciado el término $\phi_0^2(x, y)$ basados en la consideración de fase pequeña.

Como se ha visto, el tratamiento tradicional de la técnica permite un manejo matemático sencillo. Sin embargo, las restricciones impuestas limitan el entendimiento de su alcance en la práctica. En la siguiente sección, se desarrolla un tratamiento sin las limitantes mencionadas y se hace un estudio del comportamiento de la técnica bajo distintas condiciones en cuanto a la fase del objeto así como a la fase del filtro.

3.3 CONTRASTE DE FASE SIN RESTRICCIONES EN LA FASE DEL FILTRO Y LA FASE DEL OBJETO

La técnica de contraste de fase puede describirse sin restringir los valores de la fase inducida por el objeto ni el valor de la fase del filtro [87]. Considérese un sistema formador de imagen como el descrito en la sección anterior con las mismas condiciones de funcionamiento. Sea un objeto de fase representado de manera general por $f(x,y) = \exp[i\phi_0(x,y)]$. La fase del objeto, $\phi_0(x,y)$, puede adquirir cualquier valor. Considérese ahora un filtro de fase descrito por $H(x_f, y_f) = \exp(i\alpha)$, con α constante, que afecta únicamente a la frecuencia cero de la transformada de Fourier del objeto de fase y $H(x_f, y_f) = 1$ para el resto del espectro, esto es,

$$H(x_f, y_f) = 1 + \frac{lim}{w \to 0} circ\left(\frac{r}{w}\right) (\exp(i\alpha) - 1), \qquad (3.7)$$

donde, $r = (x_f^2 + y_f^2)^{\frac{1}{2}}$ y $circ(\frac{r}{w})$ es la función definida como:

$$circ\left(\frac{r}{w}\right) = \begin{cases} 1 & 0 < r < \frac{w}{2} \\ \frac{1}{2} & r = \frac{w}{2} \\ 0 & r > \frac{w}{2} \end{cases}$$
(3.8)

El filtro de fase de Zernike puede interpretarse como la suma de dos filtros, uno que deja el espectro inalterado y otro que afecta únicamente a la frecuencia cero y bloquea al resto.

Entonces, la distribución del campo después de la primera lente del sistema estará dado por:

$$\Im(\mathbf{x}_f, \mathbf{y}_f) H(\mathbf{x}_f, \mathbf{y}_f) \propto \Im(\mathbf{x}_f, \mathbf{y}_f) + \frac{lim}{w \to 0} circ\left(\frac{r}{w}\right) (\exp[i\alpha] - 1) \Im(\mathbf{0}, \mathbf{0}), \quad (3.9)$$

donde $\Im(x_f, y_f)$ es la transformada de Fourier del campo en el plano objeto del sistema. El término $\Im(0,0)$ representa la transformada de Fourier de este campo únicamente en la frecuencia cero.

La distribución de intensidad en el plano imagen del sistema se obtiene mediante la segunda lente, al generar la transformada de Fourier del campo representado por la ecuación (3.9) y obtener su módulo cuadrado,

$$g(x_i, y_i) = |f(-x, -y) + \{[\exp(i\alpha) - 1]F(0, 0)\}|^2$$
(3.10)

donde $F(0,0) = F_0 = |F_0| exp(i\theta_{F_0})$, que representa la transformada de Fourier exclusivamente en la frecuencia cero.

Esta expresión la podemos identificar como la interferencia de dos campos. Uno representado por el campo de entrada f(-x, -y), cuya intensidad $I_1(x_i, y_i) = 1$; y el otro por una onda plana $F_0[exp(i \propto) - 1]$ llamada onda sintética de referencia, cuya intensidad está dada por $2|F_0|^2[1 - \cos \alpha]$.

Utilizando la ecuación de interferencia

$$I(x_i, y_i) = I_1(x_i, y_i) + I_2(x_i, y_i) + 2\sqrt{I_1(x_i, y_i)I_2(x_i, y_i)}\cos\theta$$
(3.11)

donde θ es la diferencia de fase entre estas dos ondas. Así, la ecuación 3.10 se puede expresar como:

$$\boldsymbol{g}(\boldsymbol{x}_{i},\boldsymbol{y}_{i}) \propto \left[1+2|\boldsymbol{F}_{0}|^{2}(1-\cos\boldsymbol{\alpha})\right]+2|\boldsymbol{F}_{0}|[2(1-\cos\boldsymbol{\alpha})]^{1/2}\cos\left(\tan^{-1}\left(\frac{\sin\boldsymbol{\alpha}}{\cos\boldsymbol{\alpha}-1}\right)+\boldsymbol{\theta}_{\boldsymbol{F}_{0}}-\boldsymbol{\phi}_{0}(\boldsymbol{x}_{i},\boldsymbol{y}_{i})\right),\quad(3.12)$$

donde F_0 representa a F(0,0) y la función coseno se puede escribir como:

$$\cos\left(\tan^{-1}\left(\frac{\operatorname{sen}\alpha}{\cos\alpha-1}\right) + \theta_{F_0} - \phi_0(\mathbf{x}_i, \mathbf{y}_i)\right) = \begin{cases} -\operatorname{sen}\left(\frac{|\alpha|}{2} - \theta_{F_0} + \phi_0(\mathbf{x}_i, \mathbf{y}_i)\right), & -\pi \le \alpha < 0\\ -\operatorname{sen}\left(\frac{|\alpha|}{2} + \theta_{F_0} - \phi_0(\mathbf{x}_i, \mathbf{y}_i)\right), & 0 < \alpha < \pi \end{cases}$$

(3.13)

En este análisis no se han hecho restricciones en la forma y distribución del objeto de fase, mientras que en el filtro sólo se ha considerado su forma ideal pero sin restricciones en el valor de fase del mismo.

3.3.1. Objetos con variación pequeña de fase

Consideremos un objeto con una variación pequeña de fase $\phi(x, y)$ alrededor de un valor de fase constante. Si no estamos interesados en medir la variación de fase absoluta, entonces el valor de fase constante se puede hacer igual a cero. Por otra parte, si el término F_0 se iguala a 1, no se afecta el valor del argumento de la función coseno (ecuaciones 3.12 y 3.13), esto es, $\theta_{F_0} = 0$. En las ecuaciones 3.12 y 3.13 se puede observar que el valor de fase del filtro α tiene un papel importante en la relación lineal entre el objeto y la intensidad en el plano imagen, así como en el contraste de la imagen resultante. La gráfica de la función seno, figura 3.2, nos ayuda a visualizar que una relación lineal entre la fase del objeto y la intensidad en el plano imagen se puede obtener para valores de fase del filtro diferentes a $\pm \pi/2$. Consideremos la definición de contraste como $(I_{máx}-I_{min})/(I_{máx}+I_{min})$, donde Imáx e Imín son las intensidades máxima y mínima del interferograma resultante, respectivamente. Esta definición corresponde también al concepto de visibilidad, usado en óptica geométrica. La fase del filtro afecta al término constante y a la amplitud de la función coseno de la ecuación 3.12, por lo que determina también el contraste de la imagen de salida. A continuación se analizarán las ecuaciones 3.12 y 3.13 para variaciones de fase pequeña con valores de fase del filtro de $\pi/2$ y $\pi/4$ rad.



Figura 3.2. Función seno con argumento entre 0 y $\pi/2$ rad. Se muestra la localización del término constante $I\alpha I/2$ en la ecuación (3.12) para $\alpha = \pi/2$ rad.

3.3.2. Fase del filtro igual a $\pi/2$ rad

Para el caso general de variación pequeña de fase del objeto, la ecuación 3.11 se puede simplificar a

$$|\boldsymbol{\rho}(\boldsymbol{x}')|^2 \propto [1+2(1-\cos\alpha)]-2[2(1-\cos\alpha)]^{1/2} \operatorname{sen}\left(\frac{|\boldsymbol{\alpha}|}{2}-\Phi(\boldsymbol{x}')\right).$$

(3.14)

Considerando la fase del filtro igual a $\pi/2$ rad, la ecuación (3.14) se puede escribir como

$$|\boldsymbol{o}(\mathbf{x}')|^2 \propto 3 - 2[2]^{1/2} \operatorname{Sen}\left(\frac{\pi}{4} - \Phi(\mathbf{x}')\right) = 3 - 2[2]^{1/2} ([2]^{-1/2} \operatorname{Cos}(\Phi(\mathbf{x}')) - [2]^{-1/2} \operatorname{Sen}(\Phi(\mathbf{x}')))$$

. (3.15)

Dado que $\phi(x, y)$ es pequeña, entonces $Cos(\phi(x, y)) \approx 1$ y $Sen(\phi(x, y)) \approx \phi(x, y)$. Por lo tanto, la ecuación 3.15 se reduce a

$$|o(x')|^2 \propto 1 + 2\Phi(x').$$
 (3.16)

Nótese que este resultado es el mismo al obtenido en el análisis descrito en la sección 3.1.

3.3.2.1 Fase del filtro igual a $\pi/4$ rad

En este caso la ecuación (3.14) se convierte en

$$|o(\mathbf{x}')|^2 \propto 1.5858 - 1.5307 \left(sen\left(\frac{\pi}{8}\right) cos(\Phi(\mathbf{x}')) - cos\left(\frac{\pi}{8}\right) sen(\Phi(\mathbf{x}')) \right) \approx 1 + 1.4142 \Phi(\mathbf{x}').$$

(3.17)

La ecuación 3.17 muestra una relación lineal entre la intensidad del interferograma resultante y la fase del objeto.

3.3.2.2 Contraste del interferograma resultante

Considerando la definición de contraste mencionada en la sección 3.3.1, se puede demostrar que el contraste del interferograma resultante está descrito por

$$C = \frac{sen(\alpha)\Delta\Phi}{1-sen(\alpha)(\Phi_{\max} - |\Phi_{\min}|)},$$
 (3.18)

donde $\Delta \Phi = \Phi_{máx} + I \Phi_{mín}I$, y $\Phi_{máx}$ y $\Phi_{mín}$ son la máxima y mínima fase del objeto, respectivamente. Para el caso en el que $\Phi_{máx} = I \Phi_{mín}I$, el contraste está descrito por

$$C = sen(\alpha) \Delta \Phi . \tag{3.19}$$

A pesar de que valores de fase del filtro diferentes de $\pi/2$ rad puedan resultar en una relación lineal entre la intensidad de la imagen de salida y la fase del objeto, el contraste tendrá su valor máximo para el valor de fase del filtro igual a $\pi/2$ rad. La figura 3.3 muestra el contraste, ecuación (3.19), para diferentes valores de fase del filtro entre 0 y π rad con $\Delta\Phi$ igual a 0.2 rad.



Figura 3.3 Contraste para valores de fase del filtro entre 0 y π rad. El valor de $\Delta \Phi$ es igual 0.2 rad con $\Phi_{máx} = I \Phi_{min} I.$

3.3.3 Objetos con variación grande de fase

Al analizar la figura 3.2, se podría pensar que una relación lineal entre la intensidad de la imagen resultante y el objeto de fase podría obtenerse para objetos con variaciones grandes de fase (por ejemplo, 1 rad) utilizando un filtro de fase menor a $\pi/2$ rad. Sin embargo, en este caso el término F_0 no puede hacerse igual a uno, de hecho, su valor depende del objeto de fase a visualizar. Entonces, a pesar de que pudiera existir una relación lineal entre la intensidad de la imagen resultante y la fase del objeto, esta relación no se podría determinar.

En general, cuando se tienen variaciones grandes de fase en el objeto, la relación entre la intensidad de la imagen resultante y la fase del objeto no es lineal, tal como sucede en un interferómetro clásico y el término F_0 se convierte en una constante compleja que no se puede determinar. Sin embargo, se pueden aplicar métodos numéricos al interferograma resultante para determinar la fase del objeto. En este caso, la fase del filtro ya no está restringida y puede tomar cualquier valor.

3.4 INFLUENCIA DEL FACTOR DE LLENADO EN OBJETOS BINARIOS DE FASE

A la razón del área del objeto entre el área de iluminación se le llama factor de llenado y se representa mediante $\rho = \frac{A_o}{A_s} (A_o \ y \ A_s$ representan las áreas del objeto y de iluminación respectivamente) [16].

Consideremos objetos de fase binaria cuya diferencia de fase esté expresada como, $\Delta_o = \phi_o - \phi_s$, donde ϕ_o y ϕ_s representan los valores de fase del objeto y del soporte respectivamente.

El término F(0,0) se puede expresar en términos del factor de llenado como:

$$F(0,0) = (1-\rho)\exp[i\phi_s(x_f, y_f)] + \rho \exp[i\phi_o(x_f, y_f)].$$
(3.20)

Al sustituir el valor de F(0,0), dado por la ecuación (3.20), en la ecuación (3.10), se obtiene que la distribución de intensidad en el plano imagen está dada por

$$g(x_i, y_i) = |f(-x, -y) + \{ [\exp(i\alpha) - 1] [(1-\rho)\exp(i\phi_s(-x, -y)) + \rho \exp(i\phi_o(-x, -y))] \} |^2.$$
(3.21)

Lo que interesa es la diferencia de fase $\Delta_o = \phi_o - \phi_s$. Haciendo $\phi_s = 0$, la ecuación (3.12) se puede escribir como

$$g(x_i, y_i) = |f(-x, -y) + \{ [\exp(i\alpha) - 1] [1 - \rho + \rho \exp(i\phi_o(-x, -y))] \} |^2, \qquad (3.22)$$

que es una expresión de la imagen de salida como función de la fase del filtro, la diferencia de fase del objeto y el factor de llenado.

3.5 CONTRASTE DE FASE CON FILTROS DE TAMAÑO FINITO

Hasta ahora se ha considerado el ancho del filtro infinitamente pequeño, esto es, se ha considerado un filtro ideal. En la realidad, el filtro siempre tendrá un ancho finito y, como se analizará posteriormente, dicho ancho juega un papel importante en la forma de la onda sintética de referencia. Por otra parte, el análisis que se mostrará a continuación también nos manifestará cómo minimizar el efecto del ancho del filtro y en qué condiciones se puede aproximar la onda sintética de referencia a una onda plana. Por simplicidad, el análisis que se presenta a continuación es unidimensional, sin embargo, su extensión a dos dimensiones es directa.

3.5.1 Onda sintética de referencia con factor de llenado unitario

Consideremos un sistema clásico 4f iluminado por una onda monocromática plana en el que el factor de llenado es unitario, el ancho del filtro está dado por la constante w, la fase del filtro está dada por la constante

 α , y la fase del objeto es la función $\Phi(x)$. Entonces el filtro puede ser representado a través de

$$H(\upsilon) = 1 + rect\left(\frac{\upsilon}{w}\right) [\exp(i\alpha) - 1], \qquad (3.23)$$

donde $rect\left(\frac{v}{w}\right)$ es la función rectángulo. Normalizando el ancho del objeto,

éste puede ser descrito por

$$o(x) = rect(x) \cdot \exp(i\Phi(x)), \qquad (3.24)$$

y su transformada de Fourier está dada por

$$O(\upsilon) = Sinc(\upsilon) \otimes \Im \{ \exp(i\Phi(x)) \}, \qquad (3.25)$$

donde \otimes denota la operación de convolución y \Im denota la operación de transformada de Fourier. Entonces el campo en el plano de Fourier del sistema puede escribirse como

$$H(\upsilon)O(\upsilon) = Sinc(\upsilon) \otimes \Im\{\exp(i\Phi(x))\} + Sinc(\upsilon) \otimes \Im\{\exp(i\Phi(x))\} \cdot rect\left(\frac{\upsilon}{w}\right) [\exp(i\alpha) - 1]$$
. (3.26)

Finalmente, el campo en el plano imagen del sistema está descrito por $i(x) = |rect(x) \cdot \exp(i\Phi(x)) + rect(x) \cdot \exp(i\Phi(x)) \otimes wSinc(xw)[\exp(i\alpha) - 1]].$ (3.27)

Es claro en la ecuación (3.27) que la onda sintética de referencia, segundo término en el lado derecho de la ecuación, no sólo depende del ancho del filtro, sino también del objeto de fase en el plano de entrada. Como ya se describió anteriormente, cuando el ancho del filtro tiende a cero, la onda sintética de referencia tenderá a ser una onda plana cuya amplitud dependerá del objeto de fase. Por otra parte, mientras más ancho sea el filtro, esto es, mientras más grande sea w, la función Sinc(xw) tendrá un lóbulo central más angosto. Por lo tanto, mientras más grande sea w, el objeto de fase a visualizar pesará más sobre la forma de la onda sintética de referencia.
Estudios realizados con anterioridad [33-34] sugieren que, para obtener una onda sintética de referencia lo suficientemente plana, es necesario que el radio del filtro se encuentre entre 0.4 y 0.67 veces el radio del lóbulo central de la función de Airy obtenida cuando el sistema es iluminado con una onda plana y no hay ninguna perturbación al campo en el plano de entrada, a excepción de la apertura circular que lo acota.

3.5.2 Onda sintética de referencia con factor de llenado pequeño

En la sección anterior normalizamos el ancho del objeto. Si en lugar de normalizar el ancho del objeto normalizamos el ancho del haz de iluminación, entonces la ecuación (3.24) puede seguir siendo válida. Para mantener la validez de esta ecuación, el ancho del objeto, o el factor de llenado, debe de ser considerado dentro de la función $\Phi(x)$.

La transformada de Fourier de la función $\Phi(x)$ no tiene cambios significativos conforme el factor de llenado disminuye, a excepción de un incremento en la energía de la frecuencia cero. Entonces, dado un ancho cualquiera del filtro, el factor de llenado no afectará significativamente la forma de la onda sintética de referencia dentro del área de iluminación. Sin embargo, lo que sí cambia significativamente conforme el factor de llenado disminuye, es la planicidad de la onda sintética de referencia dentro del área donde el objeto de fase presenta variaciones. De manera general, podríamos decir que, dado un ancho cualquiera del filtro, entre más pequeño sea el factor de llenado, más plana será la onda sintética de referencia en el área de interés, siempre y cuando el objeto de fase esté centrado en el eje óptico del sistema.

Entonces, una manera de contrarrestar el efecto del ancho del filtro es utilizando un área de iluminación mayor al área donde el objeto de fase presenta variaciones. Cuando no se cuenta con filtros que cumplan con las condiciones establecidas en las referencias [33] y [34], usar factores de

27

llenado pequeños representa una mejora en la aproximación de la fase del objeto de interés a partir del interferograma obtenido.

3.6 SIMULACIONES NUMÉRICAS

Una manera de evaluar la calidad de la imagen obtenida es mediante su contraste, el cual se define en esta sección, para objetos binarios de fase, como

$$C = \frac{I_o - I_s}{I_0 + I_s},$$
 (3.28)

donde I_o es la intensidad correspondiente a la interferencia de la onda sintética de referencia con el campo que pasa por el objeto e I_s la interferencia de la onda sintética de referencia con el campo que no es afectado por el objeto. El contraste, en esta expresión, puede ser negativo; caso contrario con lo que pasa con la expresión dada de visibilidad.

A continuación se muestran algunos ejemplos numéricos que manifiestan el contraste de la imagen obtenida en un sistema como el descrito en la sección 3.1, donde a la entrada del mismo se coloca un objeto binario de fase (figura 3.4). El contraste es analizado en función de la variación de fase del objeto y el factor de llenado.



Figura 3.4. Ejemplo de objeto de fase binaria utilizado en las simulaciones.

En la figura 3.5 se muestra el contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.1, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rads. Para los primeros 3 casos los contrastes cambiaron de positivos a negativos, haciéndose cero en diferentes fases. Para fases menores a 0.1 rad, el contraste se comportó de manera proporcional con la fase de los objetos. Se alcanzaron máximos de 0.5, 0.7 y 0.8 para fases de 2, 2.3 y 2.8 rad respectivamente. Los mínimos contrastes negativos que se obtuvieron fueron de -0.8, -0.75 y -0.2 para objetos de fases 5, 5.5 y 5.8 rad, correspondientemente. El contraste obtenido con el filtro de fase de π rad el contraste fue menor para las fases menores de 0.1 rad que con los casos anteriores y además mostró sólo contrastes positivos, obteniendo un máximo de 0.9 para objetos cuya fase era de 3.2 rad.



Figura 3.5. Contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.1, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.

Para un factor de llenado de 0.5, los resultados obtenidos se presentan en la figura 3.6. Para un filtro de π rad, el contraste fue 0 para cualquier objeto de fase. Para filtros de $\pi/4$ y $3\pi/4$ rad, las gráficas fueron idénticas. En estos casos junto con el filtro de $\pi/2$ rad el contraste se

comportó como una función seno. En los tres casos se obtuvieron máximos positivos para objetos de fase de 1.5 rad y mínimos para objetos de fase de 4.8 rad. Sólo para el caso de $\pi/2$ rad se obtuvo un máximo contraste de 1 y mínimo contraste de -1.



Figura 3.6. Contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.5, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.

Los resultados de las simulaciones para un factor de llenado de 0.9, se muestran en la figura 3.7. En este caso, las gráficas se comportaron como si fuera el reflejo en los ejes de diferencia de fase y contraste de las gráficas de la figura 3.5. En este caso para un filtro de π , los valores de contraste sólo fueron negativos. Los contrastes para los demás filtros se comportaron de manera lineal con la variación de fase menor a 0.1 rad.



Figura 3.7. Contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.9, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.

Realizamos simulaciones del contraste como función del factor de llenado para diferentes valores de fase del filtro, así como para tres valores de fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . En la figura 3.8 se muestra el caso de un filtro de 0.25π rad.



Figura 3.8. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: 0.25π .

Para un objeto de fase de 0.1π rad, la variación del contraste conforme se varió el factor de llenado no fue significativa. Para un objeto de fase de 0.5π rad, el contraste fue siempre positivo e inició en 0.5 aumentando hasta 0.75 para disminuir a 0.6 para un FF=0.9. En el caso de un objeto de π rad, conforme se aumentó el factor de llenado existió una inversión de contraste.

Para un filtro de fase de 0.5π rad y utilizando un objeto de fase de 0.1π rad, el contraste fue prácticamente el mismo para cualquier FF (figura 3.9). Para un objeto de fase de 0.5π rad, se obtuvieron sólo contrastes positivos obteniendo un máximo de 1 para un FF=0.5. Para un objeto de fase de π rad, se obtuvo inversión de contraste siguiendo el mismo comportamiento anterior empezando en 0.7 para un FF=0.1 disminuyendo hasta alcanzar un máximo contraste negativo de -0.6 para un FF=0.8.



Figura 3.9. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: 0.5π .

La figura 3.10, se muestran los resultados para el caso de un filtro de 0.75π rad. En ella se puede observar que, como en los casos anteriores para un objeto de fase 0.1 rad, el contraste fue prácticamente constante. Para un objeto de fase de 0.5π rad, se obtuvo ahora sí una inversión de contraste, al

igual que para un objeto de π rad. Como se puede ver para los casos de objeto de fase de 0.5π rad y π rad, el máximo contraste no se presenta para factores de llenado menores a 0.2.



Figura 3.10. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: $3\pi/4$.

La figura 3.11, muestra la gráfica de contraste contra el factor de llenado para el caso de un filtro de π rad. En todos los casos el contraste cero se dio para un FF de 0.5. Para un objeto de fase 0.1 rad, el contraste fue de 0.1, disminuyendo linealmente hasta obtener una inversión de contraste de - 0.1. Para objetos de fase de 0.5 π rad y π rad el máximo contraste no se dio para FF menores de 0.15, por ejemplo, para un objeto de π , el máximo contraste positivo se dio para un FF de 2.5, donde llegó a ser 1 y para un FF=0.05, el contraste fue de 0.8.



Figura 3.11. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: π .

Los casos analizados anteriormente fueron estudiados utilizando filtros de dimensiones ideales. Sin embargo, en la práctica estas condiciones no son posibles. Con el propósito de verificar los efectos que el tamaño del filtro tiene en el contraste y en la distorsión de la imagen del objeto de fase, se simularon distintos tamaños del filtro, para los mismos factores de llenado, utilizando sólo un filtro de 0.5π rad.

En la figura 3.13, se muestra la gráfica variación de fase del objeto contra contraste, obtenida al simular filtros de tamaños: ideal, es decir que afectaba únicamente la frecuencia cero de la transformada de Fourier; de 3 pixeles que cubrió el 50% más del lóbulo central de la transformada; y 5 pixeles que cubrió el 150% más del lóbulo central de la transformada de Fourier. En la figura 3.12 se muestra la intensidad de la transformada de Fourier para un objeto de $\pi/2$ rad y un factor de llenado de 0.1.



Figura 3.12. Intensidad de la transformada de Fourier. FF=0.1 y fase del objeto de 0.5π rad.



Figura 3.13. Contraste como función de la diferencia de fase para diferentes tamaño del filtro. FF=0.1 y fase del filtro de 0.5π rad.

Como se mencionó en el caso ideal, se obtuvo un contraste positivo para las fases menores a 4.8 rad (máximo de 0.7), y contrastes negativos para objetos mayores a este valor (máximo contraste negativo de -0.7). Para un filtro de 3 pixeles y 5 pixeles, el contraste positivo bajó con respecto al caso ideal. En general, las gráficas se comportaron de manera similar. Para un filtro de 5 pixeles, se obtuvo un contraste máximo negativo de -1 para un objeto de 4.8 rad. Sin embargo, a pesar que el contraste obtenido puede ser tan eficiente como el anterior, la imagen del objeto aparece distorsionada. Esto se ilustra en la figura 3.14, donde se muestra la imagen del objeto para los máximos contrastes logrados con un filtro de 5 pixeles, usando un objeto de 1.8 rad (a) y 4.8 rad (b).



Figura 3.14. Imágenes contrastadas. Tamaño del filtro 5 pixeles, FF=0.1 y fase del filtro de 0.5π rad. a) Fase del objeto de 1.8 rad. b) Fase del objeto de 4.8 rad.



La figura 3.15, muestra la intensidad de la transformada de Fourier para el caso de un factor de llenado de 0.5 y una fase del objeto de $\pi/2$ rad.

Figura 3.15. Intensidad de la transformada de Fourier. FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad.

El filtro de 3 pixeles cubrió el 75% del ancho total del lóbulo central de la transformada; y el de 5 pixeles cubrió 25% más del ancho de lóbulo central de la transformada de Fourier. Los resultados se muestran en la figura 3.16.



Figura 3.16. Contraste como función de la diferencia de fase para diferentes tamaño del filtro. FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad.

A pesar que el comportamiento de las gráficas sigue siendo senoidal, es evidente el cambio que existe al considerar filtros no ideales. Para 3 y 5 pixeles, las gráficas coinciden. Sin embargo, a diferencia de los casos ideales, el contraste comienza siendo negativo y no se alcanzaron los mismos máximos negativos y positivos. Además, como se puede ver en la figura 3.17, la distorsión en la imagen del objeto aumentó para cada máximo de contraste.



Figura 3.17. Imágenes contrastadas. Tamaño del filtro 3 y 5 pixeles, FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad. a) Fase del objeto de 1.3 rad. b) Fase del objeto de 5 rad.

La figura 3.18, muestra la intensidad de la transformada de Fourier para el caso de un factor de llenado de 0.9 y una fase del objeto de $\pi/2$ rad. El filtro de 3 pixeles cubrió el 50% más del ancho total del lóbulo central de la transformada; y el de 5 pixeles cubrió el 150% más del ancho de lóbulo central de la transformada de Fourier.



Figura 3.18. Intensidad de la transformada de Fourier. FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad.

Las gráficas muestran que el contraste en general tuvo el mismo comportamiento que en los casos ideales e inclusive el contraste aumentó (figura 3.19). No obstante, las imágenes de las reconstrucciones del objeto de entrada muestran muchas distorsiones (figura 3.20).



FF=0.9 y fase del filtro de 0.5π rad.



Figura 3.20. Imágenes contrastadas. Tamaño del filtro 5 pixeles, FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad. a) Fase del objeto de 1.6 rad. b) Fase del objeto de 4 rad.

Para un filtro de 5 pixeles, la imagen del objeto de fase de 1.6 rad presentó distorsión cerca del brinco de la fase binaria (figura 3.20a). Para un objeto de 4 rad, a pesar de tener el máximo contraste negativo, la deformación en su imagen fue significativa (figura 3.20b).

Se varió también el factor de llenado para determinar el contraste cuando se utilizaron filtros de diferentes tamaños.

La figura 3.21 muestra los resultados obtenidos para un objeto de fase de 0.1π rad. Para un filtro de 1 pixel la variación del contraste fue pequeña. Cuando el filtro fue de 3 y 5 pixeles, el contraste varió de un valor positivo de 0.1 para un factor de llenado de 0.1, hasta hacerse cero para un factor de llenado de 0.5 y aumentar nuevamente su contraste para llegar a un valor de 0.3 para un FF=0.9.



Figura 3.21. Contraste como función de la variación del FF para diferentes tamaños del filtro. Fase del filtro de 0.5π rad y fase del objeto 0.1π rad.

Para valores de fase del objeto mayores al anterior, las distorsiones fueron muy grandes para el caso de tamaños del filtro mayores a 1 píxel.

Las variaciones de fase en la mayoría de los objetos no son tan abruptas, sino presentan una variación de fase suave. Por tal motivo, realizamos simulaciones utilizando un objeto cuya variación de fase era cuadrática. Un ejemplo de este tipo de objeto se muestra en la figura 3.22.



Figura 3.22. Ejemplo de objeto de fase cuadrática utilizado en las simulaciones.

El objeto considerado fue uno cuya variación de fase máxima fue de 10π rad y filtros de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad. La imagen contrastada obtenida mostró variaciones de intensidad máximos y mínimos (figura 3.23).



Figura 3.23. Imagen contrastada del objeto de fase cuadrática.

Para determinar el contraste se tomó el valor de intensidad máximo de las franjas en el objeto de fase y la intensidad fuera del objeto. En la figura 3.24 se muestran las gráficas de contraste contra variación del factor de llenado. Para un filtro de $\pi/4$ rad, el contraste disminuyó de 0.5 a 0.3. Sin embargo, para los demás filtros, el máximo contraste no se obtuvo para valores de fase menores a 0.5, ya que fue en este valor donde se obtuvo el valor máximo; por ejemplo, para un filtro de π , el contraste fue igual a 1.



Figura 3.24. Contraste como función de la variación del FF para diferentes tamaños del filtro. Fase del objeto de 10π rad.

También se analizaron los casos en los que el tamaño del filtro no era sólo ideal. Se usó también un objeto de fase cuadrática de 10π y un filtro de 5 pixeles. La imagen contrastada presentó distorsiones (figura 3.25 a). Sin embargo, al disminuir al factor de llenado a 0.02 se logró disminuir la distorsión fuera del objeto de fase y las franjas contrastadas llegaron a obtener una intensidad de 1, obteniendo prácticamente el resultado del caso ideal (figura 3.25 b).



Figura 3.25. Imágenes contrastadas. Fase del filtro de 0.5π rad. Tamaños de pixeles: a) 5 pixeles, FF=0.5. b). 3 pixeles, FF=0.5.

CAPÍTULO 4

CONTRASTE DE FASE NO LINEAL

4.1 INTRODUCCIÓN

Para implementar la técnica de contraste de fase, es necesario iluminar un objeto de fase y utilizar un sistema óptico formador de imagen que conste de dos lentes de distancia focal *f* separadas una distancia 2*f* y con plano objeto e imagen a una distancia *f* antes y después de cada lente, respectivamente. Con este sistema se puede lograr separar en el foco posterior de la primera lente la luz que no es afectada por el objeto y aquélla que sí lo es. Además se requiere de un filtro de fase para dar el desplazamiento adecuado a la luz no afectada. Tradicionalmente, el filtro se logra colocando un disco de un material transparente con un cierto índice de refracción cuyo espesor óptico proporcione el retraso de un cuarto de la longitud de onda con la que se ilumina. Por lo que la implementación de tal técnica en sistemas comerciales no es común y es por lo general costosa. Sin embargo si fuera posible construir el filtro con la misma luz que se enfoca por el sistema óptico entonces facilitaría su implementación.

Los medios cuyas propiedades ópticas cambian con la intensidad de la luz se conocen como medios ópticos no lineales. Una de las propiedades que cambia en los medios no lineales es el índice de refracción. Al iluminar este tipo de materiales con una distribución de intensidad no constante, se obtiene una distribución de índice de refracción también no constante. La magnitud del cambio en el índice de refracción depende de la sensibilidad del medio no lineal a la intensidad de la luz, produciendo diferentes retrasos en la fase del campo óptico que lo atraviesa. Aprovechando estas propiedades, es posible inducir, bajo ciertas condiciones, un filtro con las mismas características al requerido por la técnica de contraste de fase. Lo que representa una mejora va que se evita la fabricación y alineación del filtro. Para describir esta técnica, el presente capítulo se ha organizado de la siguiente manera: en la sección 4.2, se explica de manera general lo que es óptica no lineal. En la sección 4.3 se explican las características y propiedades de un medio no lineal, en particular, la bacteriorrodopsina. En la sección 4.4 se explica la técnica de contraste de fase utilizando un medio no lineal para fotoinducir el filtro requerido. En la sección 4.5 se realizan simulaciones numéricas y en la sección 4.6 se muestran resultados experimentales de la implementación de la técnica.

4.2 OPTICA NO LINEAL

La óptica no-lineal se encarga de estudiar los fenómenos que se producen al modificar las propiedades ópticas de un material por la presencia de luz. En particular, cuando el índice de refracción no es independiente de la intensidad de la luz que se propaga por el medio es necesario considerar un término proporcional a la intensidad del campo; a esto se le llama efecto Kerr óptico. Para que se presente este efecto es necesario contar con un material que posea una elevada no-linealidad de tercer orden; y contar con variaciones locales o temporales de la intensidad luminosa [77]. Lo anterior es modelado con la ecuación 4.1

$$n = n_0 + n_2 I$$
, (4.1)

donde: n_0 es el índice de refracción lineal, n_2 es el índice no-lineal e *I* es la intensidad del haz con el que se ilumina el material [78]. Los medios no lineales que presentan este tipo de variación en el índice de refracción con la intensidad, se llaman medios tipo Kerr.

Por ejemplo, consideremos un haz Gaussiano (figura 4.1a), con perfil de intensidad I(x) que incide sobre un material cuyo índice de refracción varía con la intensidad de la luz, debido a que el índice de refracción depende de la intensidad, la parte central más intensa del haz se propagará más lentamente o más rápidamente que los bordes menos intensos según el índice no-lineal n_2 sea positivo o negativo (figura 4.1b).



Figura 4.1. a) Perfil de intensidad de un haz gaussiano. b) Variación del índice de refracción conforme a la ecuación 4.1, donde n_0 =1.5, n_2 =0.05 e *l* con perfil gaussiano.

4.3 BACTERIORRODOPSINA

La bacteriorrodopsina (BR), es una proteína fotocrómica que se encuentra presente en la membrana púrpura de una bacteria llamada halobacteria halobium. Debido a sus características bioquímicas y su fotosensibilidad, se ha propuesto en numerosas aplicaciones, tales como: almacenamiento óptico de datos [79-80], interferometría en tiempo real [81], generación de segundo armónico [82,83], conjugación de fase [81], filtraje espacial [84], etc. La BR exhibe cambios fotoinducidos en su coeficiente de absorción y su índice de refracción. Estos cambios de estado son debidos a cambios morfológicos en el medio por reacomodo molecular. Un esquema del fotociclo de la BR se muestra en la figura 4.2. En él, cada estado de excitación del fotociclo se representa con letras mayúsculas y entre paréntesis las longitudes de onda, en nanómetros, de los máximos espectros de absorción. Cada estado de excitación tiene diferentes tiempos de vida; por ejemplo los estados J, K y L tienen tiempos de vida muy cortos, por lo que se ignoran, simplificando el fotociclo de la BR.



Figura 4.2. Esquema del fotociclo de la bacteriorrodopsina. Las flechas indican el cambio del estado base B hasta el estado M y de regreso a B; transitando por los estados J, K y L. Se indican los tiempos de vida de cada estado y entre paréntesis la longitud de onda a la cual se da la máxima absorción en nanómetros.

Es por ello que sólo se toman en cuenta al estado inicial B y al estado intermedio M, el cual presenta el mayor tiempo de vida. Las longitudes de onda que corresponden a los máximos del espectro de absorción corresponden a los 570 nm para el estado base y los 412 nm para el estado M. Esto se ilustra en la figura 4.3 y se le conoce como el modelo simplificado del fotociclo de la BR [82].



Figura 4.3. Modelo simplificado del fotociclo de la BR con sus tiempos de vida y el espectro de absorción del estado inicial B y el estado intermedio M.

Los cambios en el índice de refracción y los cambios en el coeficiente de absorción obedecen a la relación de Kramers-Kroning [85].

Debido a este cambio de absorción, la bacteriorrodopsina se puede caracterizar como un medio cuyo cambio en el índice de refracción depende de la intensidad de la luz incidente, su longitud de onda y de algunos parámetros propios del medio. Se ha propuesto [86] que este índice de refracción es del tipo Kerr saturable; es decir, varía hasta un valor donde a pesar de seguir aumentando la intensidad, el índice de refracción permanece constante (figura 4.4), y se puede modelar con la siguiente ecuación

$$n = n_0 + \frac{n_2 I}{1 + I/I_s}, \qquad (4.2)$$

donde n_2 es el índice de refracción no lineal e I_s es la intensidad de saturación. Esta intensidad es inversamente proporcional al tiempo de vida del estado excitado M y de algunas características de la BR. El valor de I_s para una longitud de onda cercana a 633 nm puede ser tan pequeño como unos cuantos mW/cm².



Figura 4.4. Ejemplo de índice de refracción tipo Kerr saturable, según la ecuación 4.2, donde n_0 =1.5, n_2 =0.05, *l* aumentando linealmente e l_s =22.

Al tener un medio con un índice de refracción como el modelado por la ecuación 4.2, se inducirán diferentes cambios de fase para la luz que lo atraviesa los cuales se pueden determinar por medio de la siguiente relación

$$\Delta \phi(x, y, I) = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta n(\lambda, I) d = \frac{2\pi d}{\lambda} n_2 \frac{I(x, y)}{1 + \frac{I(x, y)}{I}},$$
(4.3)

donde *I* es la intensidad del campo incidente, λ es la longitud de onda, n_2 es el índice de refracción no lineal, *d* es el espesor del medio e I_s es la intensidad de saturación.

La expresión 4.3 se puede simplificar de la siguiente manera

$$\Delta \phi = \phi_{MAX} \frac{I(x, y)}{I_s + I(x, y)} , \qquad (4.4)$$

donde $\phi_{MAX} = \frac{2\pi}{\lambda} n_2 I_s d$ contiene los parámetros relevantes del medio no lineal y nos dice cuál es el intervalo máximo de fase que se puede lograr.

La ecuación 4.4 la podemos estudiar en dos casos límite, el caso no saturado ($I \ll I_s$) y el caso saturado ($I_s \ll I$). En el caso no saturado tenemos que $\Delta \phi \approx \phi_{MAX} \frac{I}{I_s}$, o sea que la fase depende linealmente de la intensidad. Y

en el caso saturado $\Delta \phi \approx \phi_{MAX}$, es decir, que la fase alcanza un valor máximo que depende de las características no lineales del medio.

Otras de las propiedades de la BR que se destacan para su uso en óptica, son su relativamente rápida reversibilidad (10 ms) entre los dos estados ópticamente bien definidos (B y M), su alta fotosensibilidad debida a su alta eficiencia cuántica de ~0.7 [85], y el rango espectral al que es sensible, que va de 400-700 nm. Es importante señalar que el mayor cambio de índice de refracción es para una λ de lectura de 633nm [45].

4.4 CONTRASTE DE FASE USANDO UN MEDIO NO LINEAL

Supongamos que iluminamos un objeto de fase con un frente de onda plano monocromático coherente y usamos un sistema formador de imagen de una sola lente delgada positiva (figura 4.5). Con ella se produce la transformada de Fourier del objeto y su imagen [7]. En el plano focal posterior de la lente la distribución del campo está dada por la transformada de Fourier del campo de entrada multiplicada por un factor de fase cuadrático [7]. Es en este plano donde se introduce un medio no lineal para producir un desplazamiento de fase de la luz que atraviesa el medio. Este desplazamiento depende de la distribución de intensidad de la transformada de Fourier.



Figura 4.5. Esquema del arreglo experimental de contraste de fase no lineal.

Para obtener una imagen del objeto de fase sin distorsión, es necesario que el filtro fotoinducido altere únicamente la frecuencia cero de la transformada de Fourier y una pequeña vecindad alrededor de ella. Esta condición se logra haciendo que la intensidad de esta frecuencia sea mucho mayor que la de las demás, lo cual se consigue usando un área de iluminación total mayor que el área del objeto de fase. Como se mencionó en el capítulo 3, a la relación del área del objeto de fase entre el área del campo de iluminación se le llama factor de llenado (FF). En general, si el FF es pequeño el filtro fotoinducido es el adecuado para poder visualizar el objeto de fase. La intensidad que no es afectada por el objeto de fase se concentra en la frecuencia cero y su vecindad, mientras que el campo que es afectado por el objeto se distribuye en las demás frecuencias. Desde un punto de vista interferométrico, en este plano se tienen dos campos, uno formado por la intensidad en la frecuencia cero llamada onda de referencia y otro por la intensidad de las demás frecuencias, formando un interferograma en el plano imagen que visualiza el objeto de fase.

Para la descripción matemática de este proceso y sin pérdida de generalidad se presenta un análisis utilizando una sola variable independiente. Por simplicidad se supone que la amplificación del sistema es unitaria y se desprecian las dimensiones de la lente. Normalizando el área total de iluminación, se define el ancho del objeto como **a**. Se llama a **a** el FF que puede ser menor o igual que 1. Se considera también que el objeto tiene fase binaria. Bajo estas condiciones, la distribución del campo en el plano de entrada se representa por:

$$f(x) = rect(x) + \left\{ \exp\left[i\phi(x)\right] - 1\right\} rect\left(\frac{x}{a}\right), \qquad (4.5)$$

donde rect(x) representa el campo de iluminación, $\phi(x)$ la distribución de fase del objeto.

La distribución del campo en el plano focal posterior de la lente es proporcional a la transformada de Fourier de f(x) dada por:

$$F(u) = (1 - \mathbf{a})Sinc\left(\frac{1 - \mathbf{a}}{2}u\right)Cos\left[\frac{\pi}{2}u(1 + \mathbf{a})\right] + \mathbf{a}Sinc(\mathbf{a}u) \otimes \Im\{\exp[i\phi(x)]\}, \quad (4.6)$$

multiplicada por un factor de fase cuadrático, mismo que es irrelevante en términos del filtro fotoinducido.

De esta expresión se observa que si el FF **a** se aproxima a 1, la intensidad en el plano de Fourier está determinada únicamente por la convolución $\mathbf{a}Sinc(\mathbf{a}u) \otimes \Im \{ \exp[i\phi(x)] \}$. Esta distribución de intensidad, por lo general, no fotoinduce el filtro adecuado en el medio no lineal. Cuando el FF es pequeño, i.e., $\mathbf{a} \le 0.1$, el primer término de la ecuación (4.6) es el que domina en la intensidad en el plano de Fourier concentrando la mayor energía en la frecuencia cero y su vecindad. En este caso, el cambio de fase fotoinducido en el medio no lineal es el adecuado para producir un filtro similar al requerido por la técnica de Zernike. Debido a que la fase fotoinducida sigue el perfil de intensidad, ésta no es constante. Decrece rápidamente de un máximo en la frecuencia cero a cero en las frecuencias $u = \pm (1 + \mathbf{a})^{-1}$. Así, la expresión para el filtro de fase fotoinducido en el medio no lineal es el adecuado en el medio en el medio no lineal es fotoinducido en el a fase fotoinducida sigue el perfil de intensidad, ésta no es constante. Decrece rápidamente de un máximo en la frecuencia cero a cero en las frecuencias $u = \pm (1 + \mathbf{a})^{-1}$. Así, la expresión para el filtro de fase fotoinducido en el medio no lineal puede aproximarse mediante:

$$H(u) \approx 1 + rect \left[\frac{u}{2} (1 + \mathbf{a}) \right] \left\{ \exp\left[i\alpha |c(u)|^2 \right] - 1 \right\}, \qquad (4.7)$$

donde α es una constante que está determinada por las propiedades del medio no lineal y $c(u) = (1 - \mathbf{a})Sinc\left(\frac{1 - \mathbf{a}}{2}u\right)Cos\left[\frac{\pi}{2}u(1 + \mathbf{a})\right]$. La transmitancia del filtro fotoinducido se aproxima a 1 fuera del lóbulo central. La expresión (4.7) es independiente de la forma del objeto de fase.

Finalmente, la distribución de campo en el plano imagen se representa por:

$$o(x') \approx f(x') + \frac{2}{1+\mathbf{a}} \operatorname{Sinc}\left(\frac{2x'}{1+\mathbf{a}}\right) \otimes \Im\left\{\exp\left(i\alpha|c(u)|^2\right) - 1\right\} \otimes \left[\operatorname{rect}(x') - \operatorname{rect}\left(\frac{x'}{\mathbf{a}}\right)\right]$$

(4.8)

donde f(x') es la imagen del objeto de fase.

Interferométricamente hablando, el segundo término de la expresión (4.8) es la onda sintética de referencia, la cual se desea que sea plana; sin embargo, por lo general no lo es. Así, la imagen en el plano imagen es la suma de estas dos ondas, produciendo un interferograma del objeto de interés.

Para estudiar el comportamiento de la técnica de contraste de fase no lineal se implementó numéricamente el modelo bajo diferentes condiciones. A continuación se presentan los resultados obtenidos.

4.5 SIMULACIONES NUMÉRICAS

Para las simulaciones numéricas, se consideraron dos tipos de objetos de fase, uno binario como el de la figura 3.4; y uno cuadrático como el mostrado en la figura 3.22. En cada caso se le da distintos valores de fase al objeto. La fase del filtro autoinducido se puede estudiar en dos casos, el caso no saturado y el caso saturado. En el caso no saturado la fase depende linealmente de la intensidad. En el caso saturado la fase alcanza un valor máximo que depende de las características no lineales del medio. El siguiente estudio se divide en el análisis del caso no saturado y el caso saturado se permite que la película se sature en ningún punto. En el caso saturado se permite que las zonas de mayor intensidad produzcan saturación. Se utilizan distintos FF, para ilustrar su influencia.

Como se mencionó en el capítulo anterior, en la técnica de Zernike existe una relación proporcional entre la distribución de contraste y la distribución de fase para variaciones de fase que pueden ser menores o iguales hasta a 1 rad. Lo que es muy útil si se necesita saber exactamente la distribución de fase del objeto. Sin embargo, la técnica no está limitada a este tipo de aplicaciones. Como se mencionó en la sección anterior, la técnica de contraste de fase puede ser considerada como un interferómetro de trayectoria común, donde una onda sintética de referencia interfiere con la distribución de fase del objeto para producir una distribución de intensidad a la salida. Por lo tanto se puede considerar que la distribución de intensidad en el plano imagen es un interferograma. Entonces, la relación entre la distribución de intensidad en la salida y la distribución de fase del objeto es por lo general no lineal.

Se hizo un análisis del contraste obtenido en la imagen mediante la técnica de contraste de fase no lineal como función de la variación de la fase del objeto, para un FF de 0.1 y valores de desplazamiento de fase máximo en el filtro de 0.25π rad, 0.5π rad, 0.75π rad y π rad. Los resultados se muestran en la gráfica de la figura 4.6.



Figura 4.6. Contraste de fase no lineal como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.1, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.

Las curvas reproducen aproximadamente los mismos resultados obtenidos para el caso lineal (figura 3.5). En estos casos, las mayores distorsiones de la imagen del objeto se presentaron cuando el contraste estaba cercano a cero, para filtros de 0.25π rad, 0.5π rad y 0.75π rad. Únicamente para el caso de un filtro con desplazamiento de fase de π rad, se obtuvieron sólo contrastes positivos. En el resto de los casos los contrastes fueron positivos y se fueron obteniendo contrastes negativos para valores mayores a 3.5 rad, alcanzando máximos negativos en distintos puntos dependiendo de la fase del filtro. En general, para fases menores a 0.2, la relación de contraste y variación de fase fue proporcional, a excepción de un filtro de π rad. Para fases de hasta 1 rad, se puede observar que se obtiene un mejor contraste para un filtro de $\pi/2$ rad.

Se analizó el caso para un FF=0.2 usando los mismos valores de filtros del caso anterior. Se consideró una diferencia de fase máxima de 1.4 rad, ya que para fases mayores la imagen del objeto presentó distorsiones. A diferencia que en el caso lineal ideal (capítulo anterior), para el mismo intervalo el máximo contraste se presentó para un filtro de fase $\pi/2$ rad, en este caso se presentó para un filtro de π rad. El mínimo contraste se presentó para un filtro de fase $\pi/2$ rad, en 4.7.



Figura 4.7. Contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.2, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rads.

Los resultados de las simulaciones para un factor de llenado superior a 0.3, presentaron muy bajo contraste para cualquier filtro considerado.

La intensidad de la transformada de Fourier es importante para la fotoinducción del filtro adecuado. A continuación se muestran los resultados obtenidos al estudiar la influencia del factor de llenado en el contraste de la imagen del objeto. Se analizaron objetos con variación de fase binaria de 0.1π . 0.5π y π rads y una variación de fase del filtro hasta 0.25 rad, ya que para valores mayores la imagen presentó distorsiones. La figura 4.8, muestra el contraste para estos factores de llenado cuando la variación máxima del filtro fotoindicido era de $\pi/4$ rad.



Figura 4.8. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: 0.25π .

Para un objeto de 0.1π , no hubo una gran variación del contraste siendo de 0.2, este comportamiento fue muy similar al del caso lineal en las mismas condiciones. Para un objeto de 0.5π rad, el contraste fue positivo, comenzando en 0.47 disminuyendo a 0.3 para un FF de 0.25, siendo menor al obtenido en el caso lineal. Contrariamente al caso lineal, para el caso de un objeto binario de π rad, el contraste fue positivo, comenzando en 0.17, disminuyendo a cero para FF=0.25 Para valores de fase del filtro mayores a 0.25 rad, la imagen presentó distorsiones significativas.



Figura 4.9. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: 0.5π .

En la figura 4.9 se muestran los resultados para un filtro de 0.5π rad. Para un objeto de 0.1π , el contraste prácticamente no tuvo variaciones, ubicándose en 2.6, reproduciendo el resultado del caso ideal. Para objetos de fase de 0.5π el contraste fue positivo sin grandes variaciones, siendo de 0.65. Para un objeto de fase de π rad se obtuvo contraste máximo para un FF de 0.45 y decayendo a cero para FF=0.25. En este caso, también se presentaron distorsiones en la imagen del objeto para factores de llenado mayores a 0.25.

Al analizar el caso saturado, es decir, en el que la variación de fase no sólo ocurre de manera significativa en la frecuencia cero y su vecindad, sino que además hay una contribución significativa en el desplazamiento de fase en las demás frecuencias, para un FF de 0.1 y valores de desplazamiento de fase máximo en el filtro de 0.25π rad, 0.5π rad, 0.75π rad y π rad, se observó que el contraste positivo disminuyó con respecto al caso no saturado. Los contrastes negativos aumentaron con respecto al caso no saturado. Además, las imágenes no presentaron en ningún caso distorsiones. Los resultados se

muestran en la figura 4.10. Los valores de saturación dependen de las características de la película de bacteriorrodopsina que se use.



Figura 4.10. Contraste de fase no lineal, caso saturado, como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.1, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.

Se analizó el caso para un FF=0.2 usando los mismos valores de filtros del caso anterior. El contraste disminuyó con respecto al caso no saturado, sin embargo, no se presentaron distorsiones aún para fases mayores a 0.25 rad. El máximo contraste positivo, para todos los filtros se presentó para una fase de 1.2 rad, siendo el máximo de 0.4 para un filtro de π rad y un máximo negativo para el mismo filtro de -0.6. Los resultados se muestran en la gráfica de la figura 4.11.





Para factores de llenado mayores, en el caso saturado, disminuyó el contraste sin presentar distorsiones.

Realizamos simulaciones utilizando un objeto cuya variación de fase unidimensional era cuadrática de fase máxima de 10π rad y utilizamos un filtro de fase máxima de $\pi/2$ rad. Consideramos primero el caso no saturado. Las imágenes del objeto contrastadas se muestran en la figura 4.12. Las imágenes contrastadas obtenidas mostraron variaciones de intensidad máximos y mínimos. Se utilizaron varios factores de llenado, así, para un FF=0.1 se obtuvo una imagen donde todas las franjas presentaron los mismos valores máximos y mínimos. Al aumentar el factor de llenado, por ejemplo, para FF=0.5 y 0.6, el contraste de las franjas disminuyó, mostrando menor contraste las franjas interiores del objeto. Para factores de llenado de 0.7 y 0.9, las franjas disminuyeron aún más el contraste y muestran cierta distorsión.



Figura 4.12. Imágenes contrastadas de objetos con variación de fase cuadrática unidimensional. Caso no saturado. Fase máxima del filtro de 0.5π rad.

a) FF=0.1, b) FF=0.5, c) FF=0.6, d) FF=0.7, e) FF=0.8.

Al analizar el caso saturado para este tipo de objetos (figura 4.13), se observó que el contraste disminuyó con respecto al caso no saturado, mostrando ligeramente menos contraste en las franjas interiores a excepción de un FF=0.8, en donde el contraste fue casi cero. Se muestra el caso saturado para distintos factores de llenado.







62




Ejemplos de objetos cuya variación de fase es cuadrática pueden ser flujos o distribuciones de calor, lentes, entre otros. En el caso de las lentes, éstas pueden modelarse mediante la ecuación $L(x, y) = \exp [i\theta(x^2 + y^2)]$. En este análisis numérico se consideró también este tipo de objetos, ahora bidimensionales.

Se analizó un objeto de fase cuadrática bidimensional, cuya variación máxima de fase fue de 10π rad. Tomando un valor de fase máximo para el filtro fotoinducido de 0.5π rad y un factor de llenado de 0.9, se obtuvieron los resultados mostrados en la figura 4.14. En a) se muestra la transformada de Fourier del objeto, en b) la imagen contrastada obtenida. En la imagen contrastada prácticamente no se logró observar el objeto las franjas con las que se determina la fase del objeto.



Figura 4.14. a) Intensidad de la transformada de Fourier, b) Imagen contrastada de un objeto de fase de 10π rad con FF=0.9.

Considerando un FF de 0.5 y las mismas condiciones de objeto de fase y fase máxima fotoinducida, se obtuvo una transformada de Fourier mostrada en la figura 4.15a. En ella se observó que la energía tendió a concentrarse en la frecuencia cero y su vecindad. Se observó cómo aumentó el contraste con relación a un FF de 0.9 (figura 4.15b). Esto es porque el filtro fotoinducido fue mejor.



Figura 4.15. a) Intensidad de la transformada de Fourier, b) Imagen contrastada de un objeto de fase de 10π rad con un FF de 0.5.

Para un FF de 0.1, se concentró más energía en la frecuencia cero de la transformada de Fourier (figura 4.16a), las franjas de la imagen se modificaron aumentando su contraste, figura 4.16b.



Figura 4.16. a) Intensidad de la transformada de Fourier, b) Imagen contrastada de un objeto de fase de 10π rad con un FF de 0.1.

Se analizó el caso en el que el medio no lineal se satura, es decir, cuando la variación de fase no sólo ocurre de manera significativa en la frecuencia cero y su vecindad, sino que también existe una contribución en el desplazamiento de fase en las frecuencias más allá de la frecuencia cero. Se analizó el contraste para un objeto con una fase binaria de 1.6π rad, un FF de 0.5 y valor máximo de fase para el filtro fotoinducido de 0.5π rad. La imagen contrastada obtenida así como el aspecto del filtro fotoinducido se muestra en la figura 4.17. Se observó que la reconstrucción del objeto presenta distorsiones, debido a que el filtro fotoinducido, que sigue precisamente la distribución de intensidad de la transformada de Fourier, no es el adecuado. No es recomendable entrar al régimen saturado ya que la forma del filtro puede tener efectos no deseados en la imagen contrastada. Si se disminuye el FF bajo estas condiciones, se logra concentrar la mayor cantidad de energía en la frecuencia cero, fotoinduciendo el filtro más adecuado.



Figura 4.17. Objeto de fase de 1.6π rad con un FF de 0.5 en régimen saturado: a) Variación De fase del filtro fotoinducido, b) Imagen del objeto contrastado.

4.6 RESULTADOS EXPERIMENTALES

Para mostrar los resultados obtenidos mediante esta técnica, se implementó experimentalmente el arreglo mostrado en la figura 4.4. En él se utilizó el haz colimado de un láser de He-Ne que emite a 632.8 nm. Una lente de 12 cm. de diámetro y de 75 cm. de distancia focal, con esta lente se obtuvo la transformada de Fourier y la imagen del objeto. Como medio no lineal, se utilizó una película de bacteriorrodopsina (BR). Esta película tenía simetría circular, área de 2.5 cm², grosor de 50 μ m, densidad óptica de 0.4 a 632.8 nm, y tiempo de vida del estado M de ~1s. El máximo cambio de fase fotoinducida de esta película, fue medida independientemente mediante un interferómetro Mach-Zehnder y fue de 0.4 π rad (figura 4.18).



Figura 4.18. Variación de la fase con la intensidad de un haz de prueba en la película de BR

La imagen del objeto se capturó en el plano imagen del sistema con una cámara CCD. La figura 4.19 muestra una fotografía del sistema.



Figura 4.19. Fotografía del arreglo experimental

Se utilizó como objeto de fase un plano óptico hecho en el taller del INAOE, el cual se nos indicó que contaba con una planicidad de $\lambda/4$. La figura 4.20 muestra las imágenes contrastadas obtenidas en el plano imagen así como la imagen del plano óptico sin introducir el medio no lineal en el sistema. El campo con el que se iluminó el plano óptico tenía muy baja intensidad. En las imágenes se pudo observar que cuando no se introdujo el filtro no existían franjas en la imagen del plano óptico. Cuando se incorporó el filtro al sistema, para un FF=0.9 no se pudieron observar franjas contrastadas. Para un FF=0.5 empezaron a formarse franjas y para una FF=0.1 las franjas se observaron con mayor contraste. Al analizar la imagen

4.20d) se pudo determinar que a pesar que el fabricante reportó una planicidad de $\lambda/4$, la planicidad era de λ .



Figura 4.20. Imágenes de un Plano Óptico. a) Plano sin BR. b) Plano con F=0.9. c) Plano con F=0.5. d) Plano con F=0.1.

Como se pudo comprobar de los resultados experimentales, al tener un factor de llenado pequeño mejoró significativamente el contraste de las franjas.

Otra componente óptica analizada fue una lente negativa de una dioptría fabricada en polimetilmetacrilato (PMMA). La variación de fase de esta lente correspondió a 10π rad. Nuevamente se limitó el campo de iluminación con un diafragma de tal manera que primero se iluminara la lente con una razón de FF=0.9. Se incrementó el tamaño del campo de iluminación hasta obtener unas razones de FF=0.5 y FF=0.1. Para FF=0.9, no se observaron franjas contrastadas. Para FF=0.5 se pueden observar ya franjas aunque el contraste de éstas no era muy alto. Sin embargo, para FF=0.1 el

contraste de las franjas fue cercano a 1. Lo anterior se muestra en la figura 4.21.



Figura 4.21. Lente Negativa. a) Lente Negativa con F=0.9. b) Lente Negativa con F=0.5. c) Lente Negativa con F=0.1.

Estos resultados concuerdan experimentalmente con las simulaciones numéricas realizadas en la sección anterior en la figuras 4.14-4.16. Es decir, con un FF pequeño se obtiene una onda sintética de referencia adecuada para poder contrastar eficientemente el objeto de fase.

Los resultados anteriores muestran que con la variación máxima de fase que se puede inducir en la película es suficiente para visualizar componentes ópticas utilizadas como objetos de fase.

Se observó la dinámica del flujo de aire producido por la punta caliente de un cautín, figura 4.22. La figura 4.22a muestra la punta caliente del cautín sin la película de BR, donde no se pudo observar el flujo. Al colocar la película de BR en el plano focal posterior del sistema, se pudo observar el cambio en el índice de refracción, en forma de franjas, debido al calor de la punta del cautín, figura 4.22b. El sistema responde a flujos dinámicos, al soplar ligeramente en la punta, se detectaron los cambios en el fluido en tiempo real, figura 4.22c.



Figura 4.22. Aire caliente producido por la punta de un cautín. a) Sin filtro. b) Con BR como filtro. c) Dinámica del flujo

También se observó un auto a escala (figura 4.23), al cual se le hizo incidir un flujo de aire caliente para observar su aerodinámica. El aire caliente se produjo con una secadora de pelo con un pequeño orificio para dejar salir el aire y obtener trazos de la dinámica del aire y su interacción con el perfil de este objeto.



Figura 4.23. Auto a escala. a) Sin filtro. b) Con filtro no lineal observando la dinámica del flujo.

Los dos resultados anteriores demuestran que a pesar de que el tiempo de respuesta de la BR es lento, es decir, alrededor de 1 s. El sistema responde a cambios dinámicos del flujo en tiempo real. Una vez que el filtro se ha autoinducido, los cambios en el flujo no son tan grandes como para modificar el filtro.

4.7 MICROSCOPIO DE CONTRASTE DE FASE NO LINEAL

La propuesta que más auge tuvo en la aplicación de la técnica de contraste de fase fue la de un microscopio de contraste de fase. Con este dispositivo, ya no era necesario modificar las muestras a observar al agregarles un colorante para poder observar los especímenes. Por tal motivo, modificamos un microscopio óptico común para convertirlo en uno de contraste de fase no lineal.

Los microscopios convencionales están diseñados para funcionar con una fuente de luz blanca, objetivos de microscopio, el cuerpo del microscopio y un ocular, figura 4.24.



Figura 4.24. Componentes básicas de un microscopio convencional

La propuesta fue modificar esta configuración básica para obtener un microscopio de contraste de fase a partir de un microscopio óptico convencional [88]. Para lograr este objetivo, se cambió la fuente de iluminación blanca por una fuente de iluminación coherente de un sistema láser de He-Ne que emitía a 632.8 nm con polarización lineal y a una potencia máxima de 20 mW. Para garantizar el acceso a la transformada de Fourier del objeto, los objetivos utilizados fueron hasta de 40x. Objetivos con mayor magnificación no permitieron introducir el medio no lineal sin modificar el cuerpo del microscopio. Para poder captar las imágenes contrastadas, se utilizó una cámara CCD, figura 4.25.



Figura 4.25. Microscopio óptico convencional modificado para ser un microscopio de contraste de fase



Una fotografía del arreglo experimental se muestra en la figura 4.26.

Figura 4.26. Arreglo experimental de un microscopio óptico convencional modificado para ser un microscopio de contraste de fase

Utilizando la película de BR, se lograron obtener imágenes contrastadas de objetos de fase microscópicos. Por ejemplo, se analizaron muestras con células sanguíneas humanas (figura 4.27). El mejor contraste se obtuvo con un haz de 20mW a 632.8 nm.



Figura 4.27. Células sanguíneas vistas a través del microscopio: a) sin filtro no lineal, b) con BR como filtro no lineal. Las células aparecen más claras con respecto al fondo.

Este sistema es sencillo de implementar, responde en tiempo real y a bajas intensidades, lo que lo convierte en un dispositivo relativamente económico para observar cualitativamente muestras vivas.

Todos los sistemas propuestos respondieron favorablemente en su implementación práctica. Su mejor desempeño se logró cuando se implementó un FF pequeño apoyando las predicciones teóricas y las simulaciones numéricas.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

En esta tesis presentamos una mejora en la descripción e implementación de la técnica de contraste de fase. La manera común de describir matemáticamente esta técnica es suponiendo una fase del objeto menor a 0.1 rad, así como una fase del filtro de $\pm \pi/2$ rad y de tamaño ideal. Sin embargo, con el tratamiento presentado, se demostró que estas restricciones no son necesarias. Para esta nueva descripción, se introdujo el concepto de factor de llenado (FF) como la razón del área del objeto de fase (A_a) entre el

área de iluminación (A_s) , FF= (A_o/A_s) . Tradicionalmente, el filtro se

implementa colocando un disco de un material transparente con un cierto índice de refracción cuyo espesor óptico proporcione el desplazamiento adecuado de la longitud de onda con la que se ilumina. Sin embargo, utilizando medios que varíen sus características ópticas con la intensidad de la luz, es posible inducir, bajo ciertas condiciones, un filtro con las mismas características al requerido por la técnica de contraste de fase. Lo que representa un avance ya que se evita la fabricación y alineación del filtro.

Para verificar el desarrollo matemático propuesto, se hicieron simulaciones numéricas, en donde consideramos objetos de fase binaria que variamos de 0 a 2π rad y objetos de fase cuadrática con valor máximo de 10π rad. Se utilizaron varias fases para los filtros: $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ rad y distintos factores de llenado. En el caso de un FF=0.1, mediante estas simulaciones numéricas se determinó que existe una relación lineal para valores de fase de hasta 1 rad con el contraste. Para este factor de llenado, el filtro cuya fase fue de π rads presentó el mejor contraste para los objetos de fase considerados; sin embargo, éste no presentó una relación lineal. Estas simulaciones permitieron determinar que para objetos con variaciones de fase mayores a 1 rad, a pesar de que pudiera existir una relación lineal entre la intensidad de la imagen resultante y la fase del objeto, esta relación no se podría determinar. En general, en estos casos, la relación entre la intensidad de la imagen resultante y la fase del objeto no fue lineal, tal como sucede en un interferómetro clásico. Sin embargo, se pueden aplicar métodos numéricos al interferograma resultante para determinar la fase del objeto. Para un factor de llenado de 0.5 y un filtro de π rad, el contraste fue 0 para cualquier objeto de fase. Para filtros de $\pi/4$ y $3\pi/4$ rad, las gráficas fueron idénticas. Para estas curvas y para el filtro de $\pi/2$ rad el contraste se comportó como una función seno. Para este último filtro se logró un contraste de 1 y -1, siendo lineal la relación fase contraste hasta valores de fase del objeto de 1.3 rad. Para un factor de llenado de 0.9 las gráficas se comportaron como si fuera el reflejo de los resultados del FF=0.1.

Para el caso clásico consideramos también que el filtro tuviera ancho finito y cómo dicho ancho desempeña un papel importante en la forma de la onda sintética de referencia. La onda sintética de referencia, no sólo depende del ancho del filtro, sino también del objeto de fase. Cuando el ancho del filtro tiende a cero, la onda sintética de referencia tiende a ser una onda plana cuya amplitud depende del objeto de fase. Mientras más ancho sea el filtro,

el objeto de fase a visualizar influye más sobre la forma de la onda sintética de referencia. En particular se consideraron tres valores de ancho del filtro; el primero de los cuales se consideró ideal, es decir que afectaba únicamente la frecuencia cero de la transformada de Fourier del objeto; otro que cubrió el 50% más del lóbulo central de la transformada del objeto; y el que cubrió 150% más del lóbulo central de la transformada de Fourier del objeto de fase. Conforme aumentó el ancho, disminuyó el contraste y la relación lineal entre fase y contraste, además que la imagen contrastada del objeto presentó mayores deformaciones. Al aumentar el factor de llenado, la imagen presentó mayor contraste, sin embargo las distorsiones fueron también mayores.

Dado un ancho cualquiera del filtro, el factor de llenado no afectó significativamente la forma de la onda sintética de referencia dentro del área de iluminación. Sin embargo, lo que sí cambió significativamente conforme el factor de llenado disminuía, fue la planaridad de la onda sintética de referencia dentro del área donde el objeto de fase presentó variaciones, siempre y cuando el objeto de fase se mantuviera centrado en el eje óptico del sistema, lo cual mejoró significativamente el contraste de la imagen del objeto de fase. Estos resultados permiten estimar de manera aproximada el valor de la fase de un objeto a partir del conocimiento del valor de la fase del filtro y del factor de llenado, para valores de fase del objeto menores a 1.3 rad una vez que se conoce este comportamiento.

Describimos una propuesta para implementar el filtro requerido para la técnica de contraste de fase utilizando un medio que presenta un cambio de índice de refracción dependiente de la intensidad de la luz incidente en dicho medio, en particular utilizamos una película de bacteriorrodopsina (BR). Usamos un sistema formador de imagen de una sola lente que produjo la transformada de Fourier del objeto y su imagen cuando se ilumina un objeto de fase con luz coherente monocromática. En el plano focal posterior de la lente la distribución del campo estaba dada por la transformada de Fourier del campo de entrada multiplicada por un factor de fase cuadrático. En este

plano se introdujo la BR para producir un desplazamiento de fase de la luz que atraviesa el medio que depende de la distribución de intensidad de la transformada de Fourier. Por lo que un filtro de fase fotoinducido puede alterar el campo en este plano de una manera similar a la que un filtro altera la fase de la frecuencia cero de la transformada de Fourier en el sistema clásico de contraste de fase.

Modelamos numéricamente el comportamiento del sistema propuesto considerando objetos cuyas fases eran unidimensionales binarias y cuadráticas y bidimensionales cuadráticas. El comportamiento de la BR la modelamos distinguiendo entre el caso en que no se llega a saturar la película y cuando se satura. En ambos casos consideramos una fase máxima de valores: $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad. Demostramos numérica y experimentalmente que el FF tiene un papel importante en la técnica propuesta.

Hicimos un análisis del contraste obtenido en la imagen mediante la técnica de contraste de fase no lineal como función de la variación de la fase del objeto, para un FF de 0.1 y valores de desplazamiento de fase máximo en el filtro de 0.25π , 0.5π , 0.75π y π rad. Las curvas reproducen aproximadamente los mismos resultados obtenidos para el caso lineal. El mejor comportamiento en cuanto a contraste y linealidad entre fase y contraste, fue para un filtro de 0.75π rad. Sin embargo, conforme bajaba el contraste, se presentaron distorsiones en la imagen del objeto. Al comparar los resultados obtenidos para el caso no lineal, se obtuvieron menores contrastes que el caso lineal. También en este caso, para factores de llenado mayores a 0.25, se obtuvieron distorsiones en la imagen del objeto cuyos valores de fase fueron mayores a 1.4 π rad. Además, el contraste disminuyó significativamente con respecto al caso de FF=0.1.

También, para factores de llenado superiores a 0.25, se presentaron distorsiones y muy bajo contraste.

Consideramos un objeto de fase cuadrática unidimensional, cuya variación máxima de fase era de 10π rad. Tomando un valor de fase máximo para el filtro fotoinducido de 0.5π rad y un FF de 0.1, 0.5, 0.6, 0.7 y 0.8, se visualizaron en cada caso sus imágenes contrastadas, mostrando franjas de máximos y mínimos de intensidad. Al aumentar el FF, el contraste de las franjas disminuyó.

Analizamos numérica y experimentalmente el caso en el que el medio no lineal se saturó. Entonces la intensidad de la transformada de Fourier no está sólo concentrada cerca de la vecindad del lóbulo central, sino que también otras frecuencias son afectadas por dicha intensidad, por lo que la reconstrucción del objeto presentaba distorsiones, debido a que el filtro fotoinducido no es el adecuado. Para un FF de 0.1 y valores de desplazamiento de fase máximo en el filtro de 0.25π rad, 0.5π rad, 0.75π rad y π rad, se observó que el contraste positivo disminuyó con respecto al caso no saturado. Los contrastes negativos aumentaron con respecto al caso no saturado. El filtro que presentó un mejor contraste fue el de π rad. Además, las imágenes presentaron muy poca distorsión, ya que se asemejó al caso ideal lineal. Se analizó el caso para un FF=0.2 usando los mismos valores de filtros. El contraste disminuyó con respecto al caso no saturado, y las distorsiones fueron prácticamente imperceptibles aún para fases mayores a 0.25 rad. Para factores de llenado mayores, en el caso saturado, disminuyó el contraste. En el caso de un objeto de fase cuadrática, se observó que el contraste disminuyó con respecto al caso no saturado, mostrando ligeramente menos contraste en las franjas interiores a excepción de un FF=0.8, en donde el contraste fue prácticamente cero con distorsión en las franjas.

Experimentalmente comprobamos que es fácil de implementar la técnica de contraste de fase no lineal y que el sistema es robusto. Con bajas intensidades se pudo inducir el filtro necesario para visualizar variaciones de fase pequeñas y grandes. El sistema puede utilizarse para estudiar las características de distintas componentes ópticas así como flujos dinámicos y constantes.

Modificamos la configuración básica de un microscopio óptico convencional para obtener un microscopio de contraste de fase, cambiando la fuente de iluminación blanca por una fuente de iluminación coherente de un sistema láser con polarización lineal y potencia máxima de 20 mW. Se usaron objetivos de microscopio hasta de 40x. Objetivos con mayor magnificación no permitieron introducir el medio no lineal sin modificar el cuerpo del microscopio.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

	Página
Figura 3.1. Arreglo óptico 4-f para la realización de filtraje espacial	16
Figura 3.2. Función seno con argumento entre 0 y $\pi/2$ rad. Se muestra la localización del término constante $I\alpha l/2$ en la ecuación (3.12) para $\alpha = \pi/2$ rad.	21
Figura 3.3 Contraste para valores de fase del filtro entre 0 y π rad. El valor de $\Delta \Phi$ es igual 0.2 rad con $\Phi_{máx} = I \Phi_{min} I$.	23
Figura 3.4 Ejemplo de objeto de fase binaria utilizado en las simulaciones.	28
Figura 3.5. Contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.1, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.	29
Figura 3.6. Contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.5, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.	29
Figura 3.7. Contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.9, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.	31
Figura 3.8. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: 0.25π .	31

Figura 3.9. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Variación del Factor de Llenado. Fase del objeto:

0.1π , 0.5 π y π . Fase del filtro: 0.5 π .	32
Figura 3.10. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: $3\pi/4$.	33
Figura 3.11. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: π .	34
Figura 3.12. Intensidad de la transformada de Fourier. FF=0.1 y fase del objeto de 0.5π rad.	35
Figura 3.13. Contraste como función de la diferencia de fase para diferentes tamaño del filtro. FF=0.1 y fase del filtro de 0.5π rad.	35
 Figura 3.14. Imágenes contrastadas. Tamaño del filtro 5 pixeles, FF=0.1 y fase del filtro de 0.5π rad. a) Fase del objeto de 1.8 rad. b) Fase del objeto de 4.8 rad. 	36
Figura 3.15. Intensidad de la transformada de Fourier. FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad.	37
 Figura 3.16. Contraste como función de la diferencia de fase para diferentes tamaño del filtro. FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad. Figura 3.17. Imágenes contrastadas. Tamaño del filtro 3 y 5 pixeles, 	37
FF=0.5 y fase del filtro de 0.5 π rad. a) Fase del objeto de	

1.3 rad. b) Fase del objeto de 5 rad.	38
Figura 3.18. Intensidad de la transformada de Fourier. FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad.	39
Figura 3.19. Contraste como función de la diferencia de fase para diferentes tamaño del filtro. FF=0.9 y fase del filtro de 0.5π rad.	39
 Figura 3.20. Imágenes contrastadas. Tamaño del filtro 5 pixeles, FF=0.5 y fase del filtro de 0.5π rad. a) Fase del objeto de 1.6 rad. b) Fase del objeto de 4 rad. 	40
Figura 3.21. Contraste como función de la variación del FF para diferentes tamaños del filtro. Fase del filtro de 0.5π rad y fase del objeto 0.1π rad.	41
Figura 3.22. Ejemplo de objeto de fase cuadrática utilizado en las simulaciones.	41
Figura 3.23. Imagen contrastada del objeto de fase cuadrática.	42
Figura 3.24. Contraste como función de la variación del FF para diferentes tamaños del filtro. Fase del objeto de 10π rad.	43

Figura 3.25. Imágenes contrastadas. Fase del filtro de 0.5π rad. Tamaños de pixeles: a) 5 pixeles, FF=0.5. b). 3 pixeles, FF=0.5.

CAPÍTULO 4

- Figura 4.1. a) Perfil de intensidad de un haz gaussiano. b) Variación del índice de refracción conforme a la ecuación 4.1, donde n_0 =1.5, n_2 =0.05 e / con perfil gaussiano. 46
- Figura 4.2. Esquema del fotociclo de la bacteriorrodopsina. Las flechas indican el cambio del estado base B hasta el estado M y de regreso a B; transitando por los estados J, K y L. Se indican los tiempos de vida de cada estado y entre paréntesis la longitud de onda a la cual se da la máxima absorción en nanómetros.
- Figura 4.3. Modelo simplificado del fotociclo de la BR con sus tiempos de vida y el espectro de absorción del estado inicial B y el estado intermedio M.
- Figura 4.4. Ejemplo de índice de refracción tipo Kerr saturable, según la ecuación 4.2, donde $n_0=1.5$, $n_2=0.05$, *I* aumentando linealmente e $I_s=22$.
- Figura 4.5. Esquema del arreglo experimental de contraste de fase no lineal. 50
- Figura 4.6. Contraste de fase no lineal como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.1,

43

54 usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad. Figura 4.7. Contraste como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.2, usando filtros de fase de 56 $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rads. Figura 4.8. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5 π y π . Fase del 57 filtro: 0.25π . Figura 4.9. Contraste como función de la variación del Factor de Llenado. Fase del objeto: 0.1π , 0.5π y π . Fase del filtro: 58 0.5π. Figura 4.10. Contraste de fase no lineal, caso saturado, como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.1, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π 59 rad.

- Figura 4.11. Contraste de fase no lineal, caso saturado, como función de la diferencia de fase del objeto para un factor de llenado de 0.2, usando filtros de fase de $\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$ y π rad.
- Figura 4.12. Imágenes contrastadas de objetos con variación de fase cuadrática unidimensional. Caso no saturado. Fase máxima del filtro de 0.5π rad. FF=0.1, b) FF=0.5, c) FF=0.6, d) FF=0.7, e) FF=0.8.
- Figura 4.13. Imágenes contrastadas de objetos con variación de fase cuadrática unidimensional. Caso saturado. Fase máxima

60

del filtro de 0.5π rad. a) FF=0.1, b) FF=0.5, c) FF=0.6, d) FF=0.7, e) FF=0.8.	63
Figura 4.14. a) Intensidad de la transformada de Fourier, b) Imagen contrastada de un objeto de fase de 10π rad con FF=0.9.	64
Figura 4.15. a) Intensidad de la transformada de Fourier, b) Imagen contrastada de un objeto de fase de 10π rad con un FF de 0.5.	65
Figura 4.16. a) Intensidad de la transformada de Fourier, b) Imagen contrastada de un objeto de fase de 10π rad con un FF de 0.1.	65
Figura 4.17. Objeto de fase de 1.6π rad con un FF de 0.5 en régimen saturado: a) Variación De fase del filtro fotoinducido, b) Imagen del objeto contrastado.	66
Figura 4.18. Variación de la fase con la intensidad de un haz de prueba en la película de BR.	67
Figura 4.19. Fotografía del arreglo experimental	68
Figura 4.20. Imágenes de un Plano Óptico. a) Plano sin BR. b) Plano con F=0.9. c) Plano con F=0.5. d) Plano con F=0.1.	69

Figura 4.21. Lente Negativa. a) Lente Negativa con F=0.9. b) Lente

Negativa con F=0.5. c) Lente Negativa con F=0.1.	70
Figura 4.22. Aire caliente producido por la punta de un cautín. a) Sin filtro. b) Con BR como filtro. c) Dinámica del flujo	71
Figura 4.23. Auto a escala. a) Sin filtro. b) Con filtro no lineal observando la dinámica del flujo.	71
Figura 4.24. Componentes básicas de un microscopio convencional.	72
Figura 4.25. Microscopio óptico convencional modificado para ser un microscopio de contraste de fase.	73
Figura 4.26. Arreglo experimental de un microscopio óptico convencional modificado para ser un microscopio de contraste de fase.	73
Figura 4.27. Células sanguíneas vistas a través del microscopio: a) sin filtro no lineal, b) con BR como filtro no lineal. Las células aparecen más claras con respecto al fondo.	74

REFERENCIAS

[1] Mallick S., Chapter 3, pp. 103-108. *"Optical Shop Testing"* Edited by Daniel Malacara. Second edition, John Wiley & Sons, Inc.

[2] Andrew Davidhazy, "schlieren photographic principle", sitio web "Rochester Institute of Technology". Consultado el 12/04/2006. URL: http://www.rit.edu/~andpph/text-schlieren.html

[3] Ojeda-Castañeda J., Chapter. 8, pp. 265-288. "Optical Shop Testing" Edited by Daniel Malacara. Second edition, John Wiley & Sons, Inc.

[4] Ojeda-Castañeda J., Cap 8, *"Optical Shop Testing"* Edited by Daniel Malacara. Second edition, John Wiley & Sons, Inc.

[5] "Diffraction theory of the knife-edge test and its improved form, the phasecontrast method". F. Zernike. Monthly Roy. Astron. Soc. **94**, 377 (1934).

[6] "Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects". F. Zernike. Physica, Vol, **9** (7) pp. 686-698. (July 1942).

[7] Joseph W. Goodman. *"Introduction to Fourier Optics"*. Second edition, The McGraw-Hill Companies, Inc. pp. 218-222.

[8] R. J. Delgado Macuil, M. D. Iturbe Castillo, M. M. Méndez Otero, "Estudio de inestabilidades en solitones oscuros de tipo anillo". XLIV Congreso Nacional de Física, (2001).

[9] D. Walker, "Making a condenser annular ring for a phase contrast objective", sitio web "UK. Molecular Expressions Microscopy Primer". Consultado el 10/05/2006. URL:

http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopyuk.org.uk/mag/artjan01/dwphase.html.

[10] F. García-Témich, J. Pedraza Contreras, P. Tecuatl Tecuatl, A. Cornejo Rodríguez. "Fabricación y caracterización de filtros de fase para coronógrafos de anulación". XLIV Congreso Nacional de Física, (2001).

[11] "Further applications of point diffraction interferometer". A. K. Aggarwal,K. Kaura, J. Optics, **17**, 135-138 (1986).

[12] "Real Time non-linear Spatial Filtering with a Leaky OASLM". H. Rehn and R. K. Kowarschik, Opt. & Laser Tech, **30**, 39-47 (1998).

[13] "Nonlinear Image Self-filtering with liquid crystal spatial light modulator".
K. Harada, M. Itoh, S. Kotova, A. Naumov, A. Parfenov, T. Yatagai Opt. & Laser Tech, **30**, 147-155 (1998).

[14] "Changes In The Space Structures of Light Beams Induced by Nonlinear Optical Phenomena: Application to Phase Contrast and Image Processing".
Ng. Phu Xuan, J. L. Ferrier, J. Gazengel, G. Rivoire, G. L. Brekhovshikh, A. D. Kudriavtseva, A. I. Sokolovskaia and N. V. Tcherniega. Opt. Comm. Vol. 68, No. 4, pp. 244-250. (October 1988).

[15] "Real-time self-induced nonlinear optical Zernike-type filter in a bacteriorhodopsin film". M. D. I. Castillo. D. Sánchez-de-la-Llave, R. R. García, L. I. Olivos-Pérez, L. A. González, M. Rodríguez-Ortiz. Opt. Eng. Vol. 40, pp. 2367 (November 2001).

[16] "Influence of Illuminating Beyond the Object Support on Zernike-Type Phase Contrast Filtering". David Sánchez-de-la-Llave, Marcelo D. Iturbe Castillo. Appl. Opt. Vol. **41**, No. 14. pp. 2607-2612. (May 2002).

[17] "Report of National Academy of Science" F. Zernike. 31 (A) (1947-1948).

[18] "Color Phase-Contrast Microscopy: Requirements and Applications". Charles Proffer Saylor, Arthur T. Brice and F. Zernike. JOSA, Vol. **40**. Issue 5, pp. 329-334. (May 1950).

[19] "The most favorable Absorption of the phase plate in phase contrast microscopy" Arthur T Brice and Paul H. Keck. JOSA, Vol.37, Issue 8, pp. 647-651. (August 1947).

[20] "Image contrast in phase-contrast microscopy". JOSA, Vol. 39, Issue 7, pp. 507-514. (July 1949).

[21] "The Edge Effect in Phase Contrast". L. Ivan Epstein. JOSA, Vol **41**. Issue 2, pp. 134-138. (February 1951).

[22] "Novel System for Obtaining Variable Phase Contrast". Jurgen R. Meyer-Arent. JOSA, Vol **50**. No. 2, pp. 163-165. (February 1960).

[23] "Three-dimensional phase contrast imaging by an annular illumination microscope" Tomoya Noda, Satoshi Kawata, Shigeo Minami. Appl. Opt. Vol. 29, No. 26, pp 3810-3815. (September 1990).

[24] "Three-dimensional phase-contrast imaging by a computed-tomography microscope". Tomoya Noda, Satoshi Kawata, Shigeo Minami. Appl. Opt. Vol. 31, No. 5, pp 670-674. (February 1992).

[25] "Methods of improving the images in phase-contrast microscopy: theory and computer simulation". Iku Nemoto and Akira Takahashi. JOSA A. Vol. **8**, No. 3, pp. 511-519. (March 1991).

[26] "Stray-light problem in phase contrast microscopy or toward highly sensitive phase contrast devices: a review". Maksymilian Pluta. Opt. Eng. Vol. 32, No. 12, pp. 3199-3214. (December 1993).

[27] "Phase object visualization problems: spatial frequency filtration techniques including phase contrast microscopy". Romuald Jóźwicki. Opt. Eng. Vol. **32**, No. 12, pp. 3184-3192. (December 1993).

[28] "Computer-aided approach to slit phase contrast microscopy". Daius Litwin. Opt. Eng. Vol. **32**, No. 12, pp. 3193-3198. (December 1993).

[29] "Surface-roughness measurement by digital processing of Nomarski phase contrast images". S. N. Jabr. Opt. Lett. Vol. **10**, No. 11, pp. 526-528. (November 1985).

[30] "Stray-light problem in phase contrast microscopy or toward highly sensitive phase contrast devices: a review". Maksymilian Pluta. Opt. Eng. Vol. **32**, No. 12, pp. 3199-3214. (December 1993).

[31] "Variable phase contrast microscopy: simplified polanret system". Maksymilian Pluta. Opt. Eng. Vol. **32**, No. 12, pp. 3215-3222. (December 1993).

[32] "The polanret microscope". H. Osterberg, JOSA, Vol. **37**, No. 9, pp. 726-730. (1947).

[33] "Fringe visibility, irradiance, and accuracy in common path interferometers for visualization of phase disturbances". Chris S. Anderson. Appl. Opt. Vol. **34**, No. 32, pp. 7474-7485. (November 1995).

[34] "Phase contrast image synthesis". J. Glückstad. Opt. Comm. Vol. **130**, pp. 225-230. (October 1996).

[35] "Graphic Method for Analyzing Common Path Interferometers". J. Glückstad. Appl. Opt. Vol. **37**, pp. 8151-8152. (December 1998).

[36] "Variation on Zernike's phase–contrast microscope". Rongguang Liang,
J. Kevin Erwin, and Masud Mansuripur. Appl. Opt. Vol. 39, No. 13, pp. 2152-2158. (May 2000).

[37] "Optimal phase contrast in common-path interferometry" Jesper Glückstad and Paul C. Mogensen. Appl. Opt. Vol. **40**, No. 2, pp. 268-282 (January 2001).

[38] "Influence of Illuminating Beyond the Object Support on Zernike-Type Phase Contrast Filtering". David Sánchez-de-la-Llave, Marcelo D. Iturbe Castillo. Appl. Opt. Vol. **41**, No. 14. pp. 2607-2612. (May 2002).

[39] "Optical phase encryption by phase contrast using electrically addressed spatial light modulator". Naveen Kumar Nishchal, Joby Joseph, Kehar Sing. Opt. Comm. Vol. **217**, pp. 117-122. (2003).

[40] "Changes In The Space Structures of Light Beams Induced by Nonlinear Optical Phenomena: Application to Phase Contrast and Image Processing".
Ng. Phu Xuan, J. L. Ferrier, J. Gazengel, G. Rivoire, G. L. Brekhovshikh, A. D. Kudriavtseva, A. I. Sokolovskaia and N. V. Tcherniega. Opt. Comm. Vol. 68, No. 4, pp. 244-250. (October 1988).

[41] "Traitement D'image par Filtrage Spectral Spatial Non Linéaire". H. W. Li,J. L. Ferrier, J. Ganzengel, Ng. Phu Xuan, G. Rivoire, J. J. Zhang. J. Optics (Paris). Vol. 21, No. 3, pp. 115-120. (1990).

[42] "Phase Contrast Using Photorefractive LiNbO3:Fe crystals". Junmin Liu, Jingjun Xu, Guangjun Xu, Simin Liu. Appl. Opt. Vol. **34**, No. 22, pp. 4972-4974. (August 1995).

[43] "Reconfigurable ternary-phase array illuminator based on the generalized phase contrast method". Jesper Glückstad, Paul C. Mogensen. Opt. Comm. Vol. **173**, pp. 169-175. (January 2000).

[44] "Nonlinear common-path interferometer: an image processor". Carlos Gerardo Treviño-Palacios, Marcelo David Iturbe-Castillo, David Sánchez-dela-Llave, Rubén Ramos-García, and Luis Ignacio Olivos-Pérez. Appl. Opt. Vol. **42**, No. 25, pp.5091-5095. (September 2003).

[45] "Contrast Enhancement and Reversal of a Phase Spot Array using Nonlinear Optical Phase Filtering", Kaladevi Sendhil, C. Vijayan and M. P. Kothiayal. Photonics (December 2004). [46] "Spatial phase filtering with a porphyrin derivative as phase filter in an optical image processor". Kaladevi Sendhil, C. Vijayan and M. P. Kothiayal. Opt. Comm. Vol. **251**, pp. 292-298. (2005).

[47] "Phase Contrast Microscopy for Opaque Specimens". James R. Benfort, Richard L. Seidenberg. JOSA, Vol. **40**. Issue 5, pp. 329-334. (May 1950).

[48] "Spiral phase contrast imaging in microscopy". Severin Fürhapter, Alexander Jesacher, Stefan Bernet, and Monika Ritsch-Marte. Opt. Exp. Vol. 13, No. 3, pp. 689-694, (February 2005).

[49] "Spiral interferometry". Severin Fürhapter, Alexander Jesacher, Stefan Bernet, and Monika Ritsch-Marte. Opt. Lett. Vol. **30**, No. 15, pp. 1953-1955, (February 2005).

[50] "Possibility of a Phase Contrast Electron Microscope". D. F. Parson and H. M. Johnson. JOSA. Vol. **11**, Issue 12, pp. 2840-2843. (December 1972).

[51] "X-ray phase-contrast microscopy and microtomography". S. C. Mayo, T. J. Davis, T. E. Gureyev, P. R. Miller, D. Paganin, A. Pogany, A. W. Stevenson, S. W. Wilkins. Opt. Expss. Vol. **11**, No. 19, pp. 2289-2302. (September 2003).

[52] "High-resolution quantitative phase-contrast microscopy by digital holography". Christopher J. Mann, Lingfeng Yu, Chun-Min Lo, and Myung K. Kim. Opt. Exp. Vol. **13**, No. 22, pp. 8693-8698. (October 2005).

[53] "Phase-space formulation for phase-contrast X-ray imaging". Xizeng Wu and Hong Liu. Appl. Opt. Vol. **44**, No. 28, pp. 5847-5854. (October 2005).

[54] "Theory of quantitative phase-contrast computed tomography". Andrei V. Bronnikov. JOSA A, Vol. **19**, No. 3, pp. 472-480 (March 2002).

[55] "Spectral-domain optical coherence phase microscopy for quantitative phase-contrast imaging". Chulmin Joo, Taner Akkin, Barry Cense, Boris H. Park, and Johannes F. de Boer. Opt. Lett. Vol. **30**, No. 16, pp. 2131-2133. (August 2005).

[56] "Precision Concentration Analysis of D_2O/H_2O by Means of Phase Contrast Refractometry". Erik Ingelstam, Erik Djurle, L. Johansson. JOSA, Vol. **44**. Issue 6, pp. 472-477. (June 1954).

[57] "Infrared Phase-Contrast Refractometer". W. S. Rodney, E. Djurle. JOSA. Vol. **48**, Issue 6. pp. 388-389. (June 1958).

[58] "Some Quantitative Measurements of Path Differences and Gradients by Means of Phase Contrast and New Interferometric Devices". Erik Ingelstam. JOSA, Vol. **47**. Issue 6, pp. 536-544. (June 1957).

[59] "Phase Contrast Flow Visualization". R. C. Anderson and M. W. Taylor. Appl. Opt. Vol. **21**. Issue 3, pp. 528-536. (February 1982).

[60] "Index profile determination of single-mode fiber by the phase contrast method: a proposed technique" K. Tetekura. Appl. Opt. Vol. **21**, No. 23 (December 1982).

[61] "The Study of Diffraction Grating Characteristics by Simplified Phase Contrast Methods". Erik Ingelstam, Erik Djurle. JOSA, Vol. **43**. Issue 7, pp. 572-580. (July 1953).

[62] "Implementing the generalized phase-contrast meted in a planarintegrated micro-optics platform". Vincent Daria, Jesper Glückstad, Paul C. Mogensen, and René L. Eriksen. Opt. Lett. Vol. **27**, No. 11, pp. 945-947 (June 2002).

[63] "Simple broadband implementation of a phase contrast wavefront sensor for adaptive optics". E. E. Bloemhof and J. K. Wallace. Opt. Exp. Vol. **12**, No. 25, pp. 6240-6245. (December 2004).

[64] "Adaptive optics with advanced phase-contrast techniques. I.Highresolution wave-front sensing". Mikhail A. Vorontsov, Eric W. Justh, Leonid A. Beresnev. JOSA A. Vol. **18**, No. 6, pp. 1289-1299. (June 2001).

[65] "Adaptive optics with advanced phase-contrast techniques. II.Highresolution wave-front control". Eric W. Justh, Mikhail A. Vorontsov, Gary W. Carhart, Leonid A. Beresnev. P. S. Krishnaprasad. JOSA A. Vol. **18**, No. 6, pp. 1300-1311. (June 2001).

[66] "Linear measurement of ultrashort light pulses by phase-contrast optical sweep". O. E. Martinez. JOSA B. Vol. **2**, No. 21, pp. 327-330. (February 1985).

[67] "Surface-roughness measurement by digital processing of Nomarski phase contrast images". S. N. Jabr. Opt. Lett. Vol. **10**, No. 11, pp. 526-528. (November 1985).

[68] "Surface-profile reconstruction using reflection differential phase-contrast microscopy". M. R. Atkinson, A. E. Dixon, S. Damaskinos. Appl Opt. Vol. **31**, No. 31, pp. 6765-6771. (November 1992).

[69] "Scanning differential phase contrast optical microscope: application to surface studies". C. W. See, M. Vaez Iravani, H. K. Wickramasinghe. Appl. Opt. Vol. 24, No. 15, pp. 2373-2379. (August 1985).

[70] "Array illuminator based on phase contrast". Adolf W. Lohmann, Johannes Scwider, Norbert Streibl, James Thomas. Appl. Opt. Vol. **27**, No. 14, pp. 2915-2921(July 1988).

[71] "Reconfigurable ternary-phase array illuminator based on the generalized phase contrast method". Jesper Glückstad, Paul C. Mogensen. Opt. Comm. Vol. **173**, pp. 169-175. (January 2000).

[72] "Demonstration of ternary-phase array illuminator based on the generalized phase contrast method". René L. Eriksen, Paul C. Mogensen, Jesper Glückstad. Opt. Comm. Vol. **202**, pp. 37-45. (January 2002).

[73] "Reverse phase contrast: an experimental demonstration". Paul C. Mogensen, Jesper Glückstad. Appl. Opt. Vol. **41**, No. 11, pp. 2103-2110. (April 2002).

[74] "Multiple-beam optical tweezers generated by the generalized phase contrast method". René L. Eriksen, Paul C. Mogensen, and Jesper Glückstad.Opt. Lett. Vol. 27, No. 4, pp. 267-269. (February 2002).

[75] R. Guenther. *"Modern Optics"*. John Wiley & Sons Inc. Chap. 10, pp. 413-415.

[76] M. V. Klein and T. E. Furtak. "*Optics*". John Wiley & Sons Inc. Second Edition. Chap. 7, pp. 485-487.

[77] Robert W. Boyd "Nonlinear Optics", Academic Press. 1992. Chap 4, pp. 159-164.

[78] Jean-Pierre Galaup, "Óptica no lineal", , Laboratoire Aimé Cotton, Bât. 505, Centre d'Orsay 91405 ORSAY cedex (France).

[79] I. Lee, J. K. Gillie, C. K. Johnson, Chem. Phys. Lett., 156, 227 (1989).

- [80] N. Hampp, C. Brauchle, D. Oesterhelt. European Conference on Biotechnology (EIT), **124** (1988).
- [81] E. Korchenskaya, M. S. Soskin, V. B. Taranenk, Sov. J. Quantum Electron, 17, 450 (1987).
- [82] J. Y. Huang, A. Lewis, Biophys. J., 55, 835 (1989).
- [83] J. Y. Huang, Z. Chen, A. Lewis, J. Phys. Chem., **93**, 3314 (1989).
- [84] V. Y. Bazhenov, M. S. Soskin, V. B. Taranenko, M. V. Vasnetnov, Optical Processing and Computing, Academic Press, New York, ed. por A. Arsenault 125, (1989).
- [85] D. Sánchez, M. A. Fiddy. "Incoherent to coherent conversion and squarelaw transmission based on photoinduced birefringence in BR flims", Appl. Opt, **38**, 816 (1999).
- [86] Q. Wang, C. Zhung, R. B. Gross, R. R: Birge, "The intensity-dependent refractive index of chemically enhanced bacteriorhodopsin", Opts. Comm, 112, 296-301 (1994).
- [87] Some Topics of Modern Optics, edited by R. Rodríguez Vera and F. Mendoza Santoyo. "Nonlinear Phase Contrast". C. G. Treviño Palacios;
 M. D. Iturbe Castillo and D. Sánchez de la Llave. Pp. 392-423. Rinton Press. ISBN: 1-58949-057-6 (2008).
- [88] David Iturbe-Castillo, David Sánchez-de-la-Llave, Rubén Ramos-García, Carlos Treviño-Palacios. Luis Ignacio Olivos-Pérez: "Nonlinear phase contrast microscope". SPIE Symposium on Optics & Photonics. 2006.

PUBLICACIONES Y TRABAJOS PRESENTADOS RELACIONADOS CON EL PRESENTE TRABAJO

Artículos publicados en revistas internacionales con arbitraje.

C. G. Treviño-Palacios. M.D. Iturbe-Castillo, D. Sánchez-de-la-Llave. L. I. Olivos-Pérez. "Nonlinear imaging applied to the vizualization of flow patterns". Proceedings SPIE Vol. 6046 (SPIE, Berllingham Wa, USA, 2006) pp. 6046N1 – 6046N7.Fifth SPIE Symposium Optics in Industry, 2006.

Carlos Gerardo Treviño Palacios, Marcelo David Iturbe Castillo, David Sánchez-de-la-Llave, Rubén Ramos-García, and Luis Ignacio Olivos-Pérez. *"Nonlinear Common-path Interferometer: an Image Processor"*. Appl. Opt. **42**, 5091-5095 (2003). ISSN: 0003-6935 (print), ISSN: 1539-4522 (online).

David Sánchez-de-la-Llave, Marcelo D. Iturbe Castillo, Luis Ignacio Olivos-Pérez, and Roberto Cantú Hernández. "Reply to comment: Influence of Illuminating beyond the object support on Zernike-type phase contrast filtering". Appl. Opt. 42, 794 (2003). ISSN: 0003-6935 (print), ISSN: 1539-4522 (online)

Carlos Gerardo Treviño Palacios, Marcelo David Iturbe Castillo, David Sánchez-de-la-Llave, Rubén Ramos-García, and Luis Ignacio Olivos-Pérez. *"Nonlinear Phase Contrast".* OPN **14, No. 12,** 30, Optics in 2003, December 2003. ISSN: 1047-6938.

Congresos Internacionales

"Nonlinear phase contrast microscope". Luis Olivos-Pérez, David Iturbe-Castillo, David Sánchez-de-la-Llave, Rubén Ramos-García, Carlos Treviño-Palacios. Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Apdo. Postal 51 y 216 Puebla Pue. 72000 México. SPIE Symposium on Optics & Photonics celebrado del 13 al 17 de Agosto de 2006 en el Centro de Convenciones de San Diego en San Diego, California USA.

"Phase unwrapping by means of finite differences". Luis. I. Olivos-Pérez, Enrique de-la-Rosa-Miranda, Luis R. Berriel-Valdos, Rubén Ramos-López. Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Luis Enrique Erro no. 1, CP 72840. Tonantzintla, Puebla, México. IS&T/SPIE Symposium on Electronic Imaging. 15-19 January 2006, San Jose, California USA.

"Analysis of Eyewear Glasses and Ophthalmic Lenses Using Fourier Interferometry", M. D. Iturbe-Castillo, C. G. Treviño-Palacios, J. D. Sánchezde-la-Llave, **L. I. Olivos-Pérez** and Enrique de-la-Rosa-Miranda. Frontiers in Optics 2005, OSA 89th Annual Meeting, Laser Science XXI, 16-20 October 2005, Tucson Arizona.

"Nonlinear Imaging Applied to the Visualization of Flow Patterns", C. G. Treviño-Palacios, M. D. Iturbe-Castillo, J. D. Sánchez-de-la-Llave and **L. I. Olivos-Pérez.** International Commission for Optics (ICO) and the Chinese Optical Society (COS), 21-26 August 2005 in Changchun, China.

"Flow Visualization Using Nonlinear Phase Contrast", C. G. Treviño-Palacios, M. D. Iturbe-Castillo, D. Sánchez-de-la-Llave. **L. I. Olivos Pérez.** Reunión Iberoamericana de Óptica (RIAO). Octubre 3-8, 2004.

"Review of the Nonlinear Common Path Interferometer", C. G. Treviño-Palacios, M. D. Iturbe-Castillo, D. Sánchez-de-la-Llave. **L. I. Olivos Pérez.** Reunión Iberoamericana de Óptica (RIAO). October 3-8, 2004.

"Nonlinear image processor with a filter over $\pi/2$ *",* M. D. Iturbe-Castillo, C. G. Treviño-Palacios, J. D. Sánchez-de-la-Llave and **L. I. Olivos-Pérez.** Conference on Laser & Electro-Optics, International Quantum Electronics Conference (CLEO), May 16-21, 2004, San Francisco CA. USA.

Congresos Nacionales

"Sistema para visualizar objetos transparentes". **L. I. Olivos Pérez,** M. D. Iturbe Castillo, J. D. Sánchez de la Llave y C. G. Treviño Palacios. 2^a Convención Nacional de Investigación Aplicada y desarrollo Tecnológico 2006 en el área de Mecatrónica. Celebrada los días 16 y 17 de noviembre de 2006 en la Universidad Tecnológica de Puebla, Puebla Pue. México.

"Visualización de objetos transparentes con filtros ópticos no lineales". M. D. Iturbe Castillo, J. D. Sánchez de la Llave, C. G. Treviño Palacios, R. Ramos García, L. I. Olivos Pérez. XLIX Congreso Nacional de Física. Celebrado del 16 al 20 de octubre de 2006 en San Luis Potosí, SLP, México. "Reconstrucción tomográfica de gradientes de índice de refracción asimétricos con funciones base radial gaussianas con un número limitado de proyecciones". E. de la Rosa Miranda, L. R. Berriel Valdós, J. D. Sánchez de la Llave, **L. I. Olivos-Pérez**, R. Ramos López. XLIX Congreso Nacional de Física. Celebrado del 16 al 20 de octubre de 2006 en San Luis Potosí, SLP, México.

"Determinación de la temperatura del entorno de un cautín por medio de tomografía óptica". E. de la Rosa Miranda, L. R. Berriel Valdós, **L. I. Olivos-Pérez,** J. L. Juárez Pérez y R. Ramos López. Encuentro de investigación en Ingeniería Eléctrica. Del 5 al 7 de abril de 2006. Zacatecas Zac. México. ISBN 968-5923-38-8.

"Recuperación de la Fase en un Interferómetro de Contraste de Fase No Lineal". **L. I. Olivos-Pérez,** E. de-la-Rosa-Miranda, L. R. Berriel-Valdós, M. D. Iturbe-Castillo, J. D. Sánchez-de-la-Llave y C. G. Treviño-Palacios. XLVIII Congreso Nacional SMF/XVIII Reunión Anual AMO. Guadalajara Jalisco. Octubre 2005.

"Observación de flujos usando un procesador óptico no lineal (Imaging fluid flows using a nonlinear optical processor)". Carlos G. Treviño-Palacios, M. David Iturbe-Castillo, David Sánchez-de-la-Llave, **Luis I. Olivos-Pérez.** V Simposio "La Óptica en la Industria". Septiembre 8 y 9 de 2005. Santiago de Querétaro, México.

"Visualización de flujos usando un interferómetro de trayectoria común no lineal", **L. I. Olivos Pérez,** C. G. Treviño Palacios, M. D. Iturbe Castillo, J. D. Sánchez de la Llave. Il Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia, 19-20 de mayo 2005, León Guanajuato.

"Microscopio de Contraste de Fase No Lineal", L. I. Olivos Pérez, C. G. Treviño Palacios, M. D. Iturbe Castillo, J. D. Sánchez de la Llave. XLVI Congreso Nacional de Física, del 27 al 31 de octubre de 2003, Mérida Yucatán. Trabajo por el cual se obtuvo el primer lugar en la presentación de posters.

"Contraste de Fase no lineal con Retrasos de Fase Mayores a 2π ", **L. I. Olivos Pérez,** C. G. Treviño Palacios, M. D. Iturbe Castillo, J. D. Sánchez de la Llave. XLVI Congreso Nacional de Física, del 27 al 31 de octubre de 2003, Mérida Yucatán. *"Método Directo para la Visualización de Flujos"*. C. G. Treviño Palacios, M. D. Iturbe Castillo, J. D. Sánchez de la Llave, **L. I. Olivos Pérez.** Tercer Simposio Nacional La Óptica en la Industria". Tonantzintla, Puebla. Julio 2003.

MEMORIAS EN EXTENSO

"Nonlinear phase contrast microscope". Luis Olivos-Pérez, David Iturbe-Castillo, David Sánchez-de-la-Llave, Rubén Ramos-García, Carlos Treviño-Palacios. Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Apdo. Postal 51 y 216 Puebla Pue. 72000 México. SPIE Symposium on Optics & Photonics Agosto de 2006.

"Determinación de la temperatura del entorno de un cautín por medio de tomografía óptica". E. de la Rosa Miranda, L. R. Berriel Valdós, **L. I. Olivos-Pérez,** J. L. Juárez Pérez y R. Ramos López. Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica (INAOE), Luis Enrique Erro no. 1, CP 72840, Tonantzintla. Puebla, México. Encuentro de investigación en Ingeniería Eléctrica. Del 5 al 7 de abril de 2006. Zacatecas Zac. México. ISBN 968-5923-38-8.

"Phase unwrapping by means of finite differences". Luis. I. Olivos-Pérez, Enrique de-la-Rosa-Miranda, Luis R. Berriel-Valdos, Rubén Ramos-López. Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Luis Enrique Erro no. 1, CP 72840. Tonantzintla, Puebla, México. IS&T/SPIE Symposium on Electronic Imaging. 15-19 January 2006, San Jose, California USA.

"Contraste de Fase (Revisión Teórica)", **L. I. Olivos-Pérez,** M. D. Iturbe-Castillo, J. D. Sánchez-de-la-Llave, C. G. Treviño-Palacios. Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Coordinación de Óptica. VI Encuentro de Investigación. INAOE. Octubre 2005.

"Analysis of Eyewear Glasses and Ophthalmic Lenses Using Fourier Interferometry", M. D. Iturbe-Castillo, C. G. Treviño-Palacios, J. D. Sánchezde-la-Llave, **L. I. Olivos-Pérez** and Enrique de-la-Rosa-Miranda. Frontiers in Optics 2005, OSA 89th Annual Meeting, Laser Science XXI, 16-20October 2005, Tucson Arizona. "Recuperación de la Fase en un Interferómetro de Contraste de Fase No Lineal". L. I. Olivos-Pérez, E. de-la-Rosa-Miranda, L. R. Berriel-Valdós, M. D. Iturbe-Castillo, J. D. Sánchez-de-la-Llave y C. G. Treviño-Palacios. XLVIII Congreso Nacional SMF/XVIII Reunión Anual AMO. Guadalajara Jalisco. Octubre 2005.

"Visualización de flujos usando un interferómetro de trayectoria común no lineal", **L. I. Olivos Pérez,** C. G. Treviño Palacios, M. D. Iturbe Castillo, J. D. Sánchez de la Llave. Il Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia, 19-20 de mayo 2005, León Guanajuato.

"Nonlinear Imaging Applied to the Visualization of Flow Patterns", C. G. Treviño-Palacios, M. D. Iturbe-Castillo, J. D. Sánchez-de-la-Llave and **L. I. Olivos-Pérez.** International Commission for Optics (ICO) and the Chinese Optical Society (COS), 21-26 August 2005 in Changchun, China.

"Visualización de Objetos de Fase Usando un Interferómetro de Trayectoria Común no Lineal", **L. I. Olivos-Pérez**, M. D. Iturbe-Castillo, J. D. Sánchez-dela-Llave, C. G. Treviño-Palacios. Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. Coordinación de Óptica. V Encuentro de Investigación. INAOE. Noviembre 2004.

"Flow Visualization Using Nonlinear Phase Contrast", C. G. Treviño-Palacios, M. D. Iturbe-Castillo, D. Sánchez-de-la-Llave. **L. I. Olivos Pérez.** Reunión Iberoamericana de Óptica (RIAO). Octubre 3-8, 2004.

"Review of the Nonlinear Common Path Interferometer", C. G. Treviño-Palacios, M. D. Iturbe-Castillo, D. Sánchez-de-la-Llave. **L. I. Olivos Pérez.** Reunión Iberoamericana de Óptica (RIAO). Octubre 3-8, 2004.

"Nonlinear image processor with a filter over $\pi/2$ *"*, M. D. Iturbe Castillo, C. G. Treviño Palacios, J. D. Sánchez-de-la-Llave, **L. I. Olivos-Pérez.** Conference on Laser and Electro-Optics (CLEO). San Francisco CA. USA. May 16-21, 2004. ISBN: 1-55752-770-9.