

# Физические методы исследования состава и структуры веществ

## Оптическая микроскопия: Лекция 5

### Фурье-оптика и Формирование Трехмерных Изображений в Конфокальной Микроскопии



Павел В. Зинин



# Ход лучей и формирование изображений в тонкой линзе

1. Лучи, проходящие через центр линзы, не отклоняются (Рис.1)
2. Лучи, параллельные оптической оси, проходят через фокус линзы.
3. Параллельные лучи, падающие на линзу под углом, фокусируются в точке, лежащей в фокальной плоскости линзы (Рис. 2).

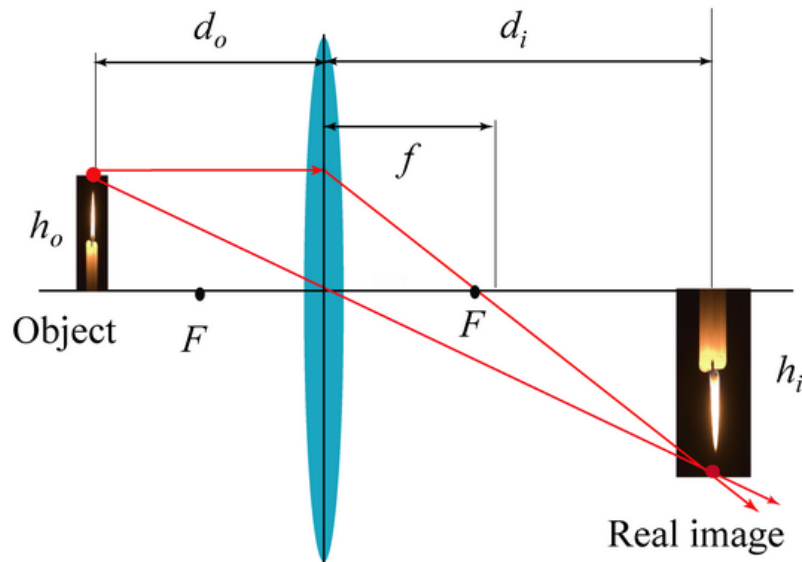


Рисунок 1.

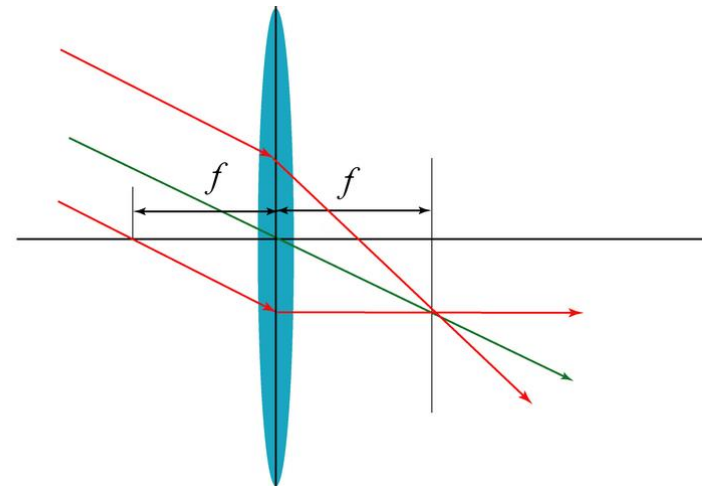


Рисунок 2.

# Аксиальное и осевое разрешение

Определение латерального разрешения:

латеральное боковое разрешение определяется нулём функции  $\Phi(\rho)$

$$\Phi(\rho) = A \frac{J_1(k\rho \sin \alpha)}{k\rho \sin \alpha}$$

$$r_{Airy} = \frac{0.61\lambda}{\sin(\alpha)} = \frac{0.61\lambda_o}{n \sin(\alpha)} = \frac{0.61\lambda_o}{NA}$$

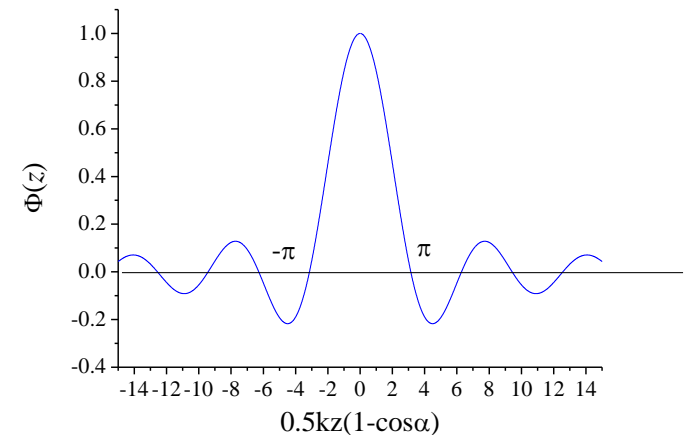
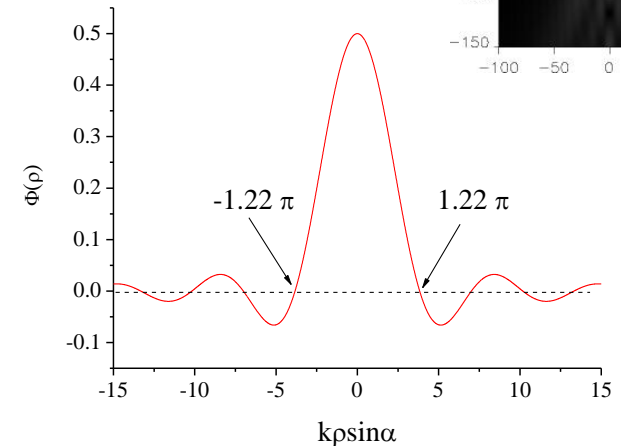
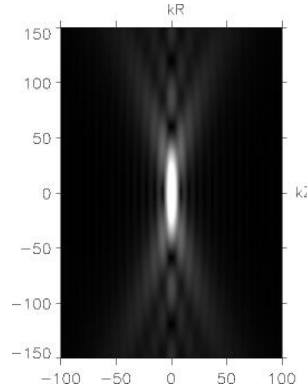
$\lambda_o$  длина волны света в вакууме

Определение осевого разрешения: осевое разрешение определяется нулем функции  $\Phi(z)$

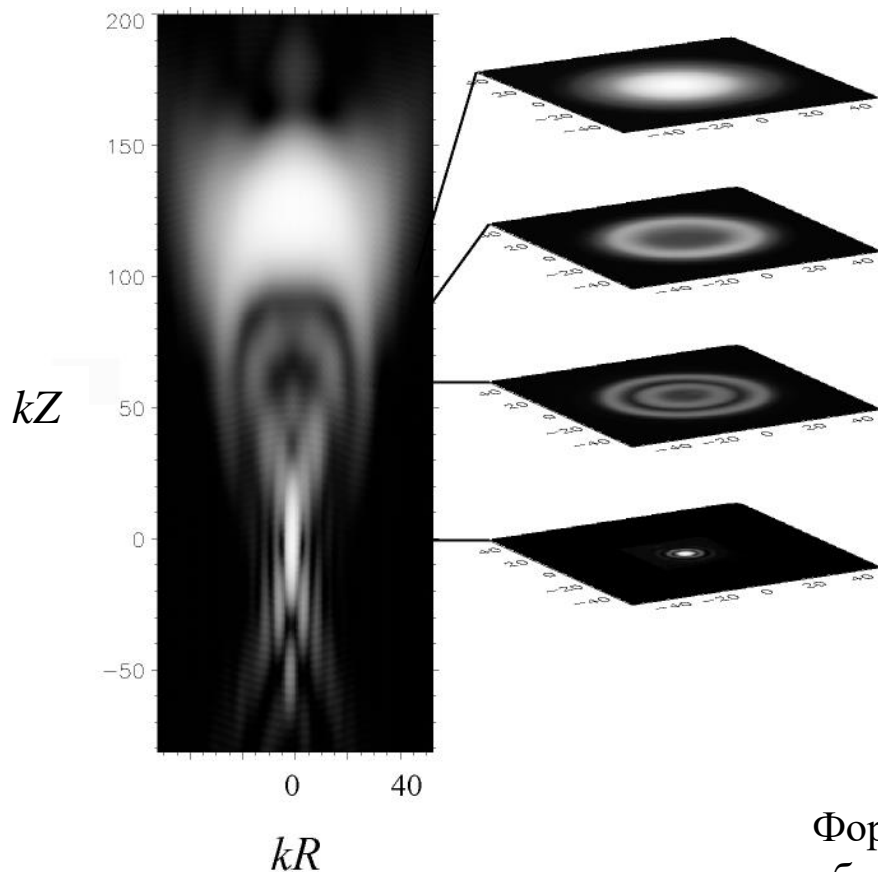
$$\Phi(z) = B \frac{\sin[0.5kz(1 - \cos \alpha)]}{0.5kz(1 - \cos \alpha)}$$

$$z_{axial} = \frac{\lambda}{[1 - \cos(\alpha)]} \approx \frac{2\lambda}{\alpha^2} = \frac{2n\lambda_o}{NA^2}$$

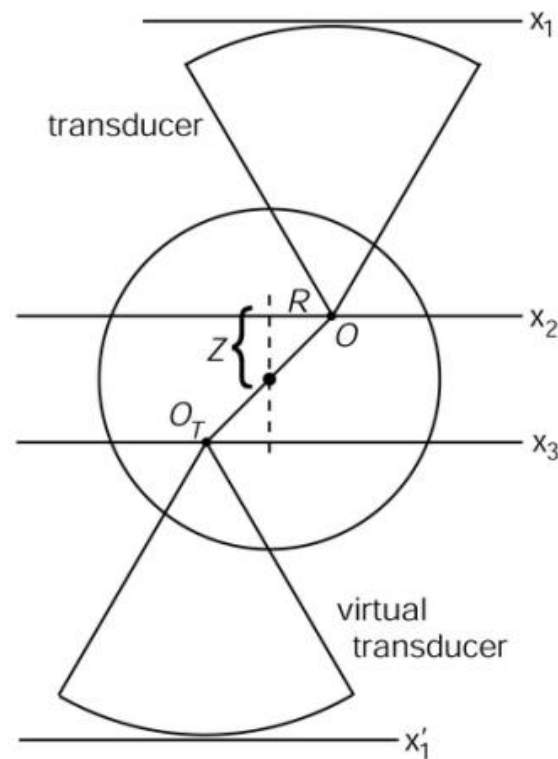
Чем меньше NA, тем больше фокусное пятно и тем меньше полученное разрешение



# Определение «Функции Рассеяния Точки» в конфокальной отражательной микроскопии по изображению сферы



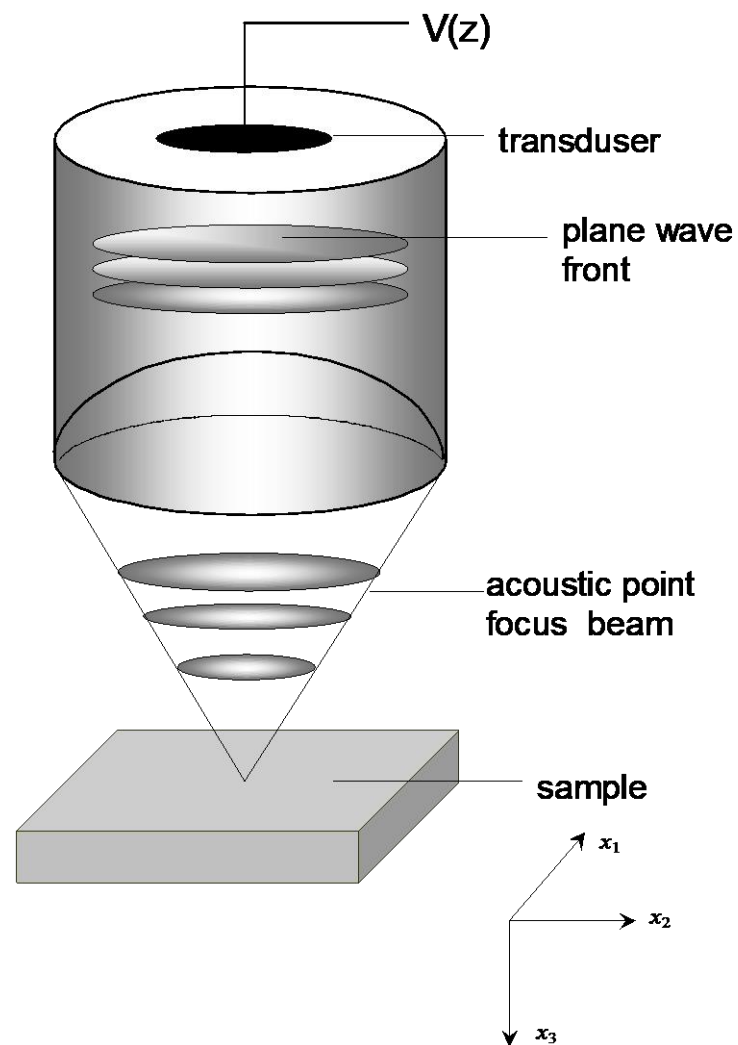
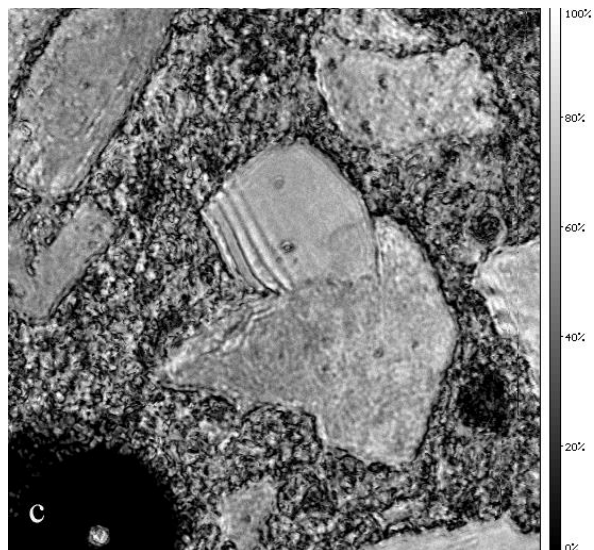
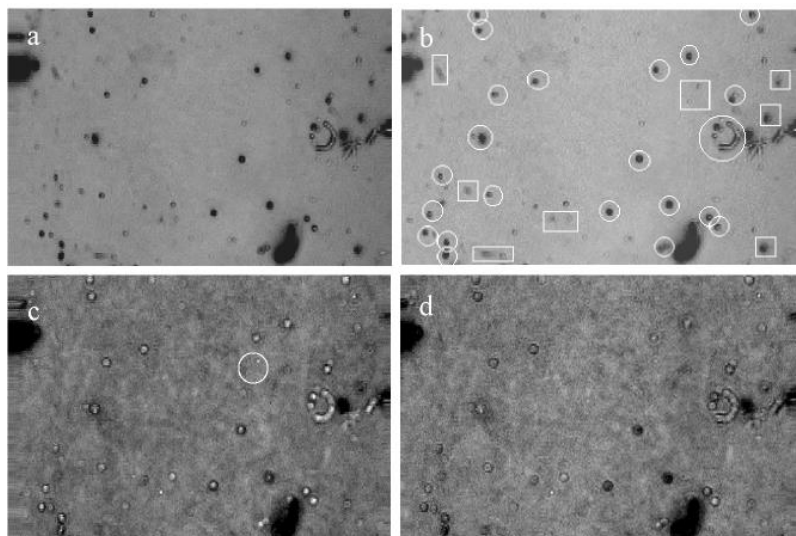
X-z сканирование через стальную сферу для отражательного микроскопа (OXSAM).



Формирование изображения при фокусировке вблизи центра сферы в параксиальном приближении: отраженное поле, по-видимому, исходит от излучающего преобразователя, противоположного приемному преобразователю.

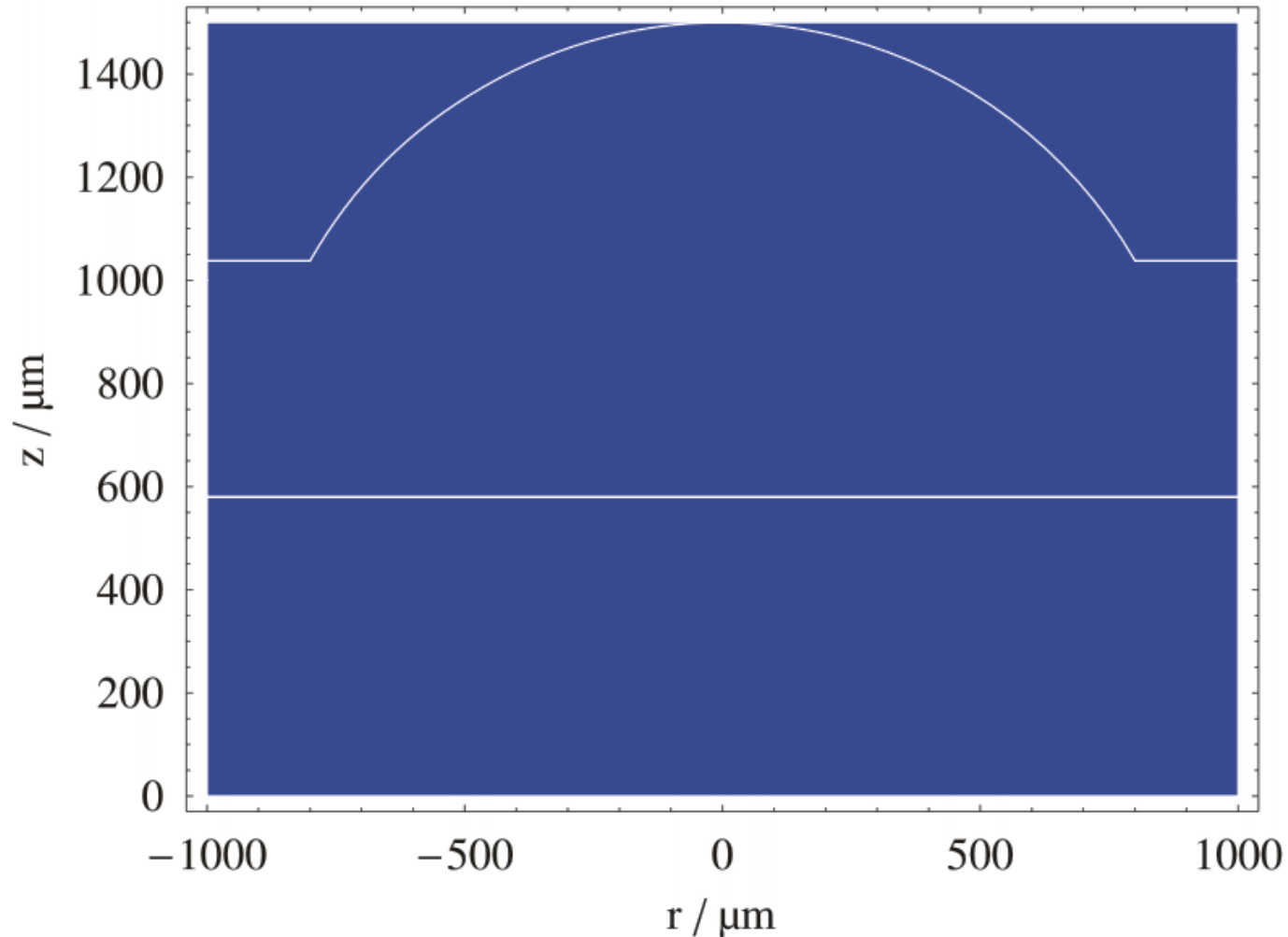
- P. Zinin, W. Weise, O. Lobkis, O. Kolosov and S. Boseck, "Fourier optics analysis of spherical particles image formation in reflection acoustic microscopy". *Optik*. **98**(2), 45-60 (1994). P. Zinin, W. Weise, O. Lobkis and S. Boseck, "The theory of three dimensional imaging of strong scatterers in scanning acoustic microscopy". *Wave Motion*, **25**(3), 212-235 (1997). W. Weise, P. Zinin, T. Wilson, G. A. D. Briggs and S. Boseck, "Imaging of spheres with the confocal scanning optical microscope". *Optics Letters*. **21**(22), 1800-1802 (1996).

# Формирование контраста в акустической микроскопе



P. Zinin and W. Weise, "Theory and applications of acoustic microscopy", in T. Kundu ed., *Ultrasonic Nondestructive Evaluation: Engineering and Biological Material Characterization*. CRC Press, Boca Raton, chapter 11, 654 (2004).

# Отражение волной фронта от плоскости в импульсном акустическом микроскопе



F. Schubert, B. Koehler, P., P. Zinin. Numerical time-domain simulation of wave propagation and scattering in acoustic microscopy for subsurface defect characterization”. In *Testing, Reliability, and Application of Micro- and Nano-Material Systems III*. Proceedings of SPIE, **5766**, SPIE, Bellingham, USA, (2005) pp. 106-117.

# Преобразование Фурье

Фурье-анализ назван в честь Джозефа Фурье, который показал, что представление функции тригонометрическим рядом значительно упрощает изучение распространения тепла.

$$F(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \exp(-i\omega t) dt$$

$$f(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} F(\omega) \exp(i\omega t) d\omega$$



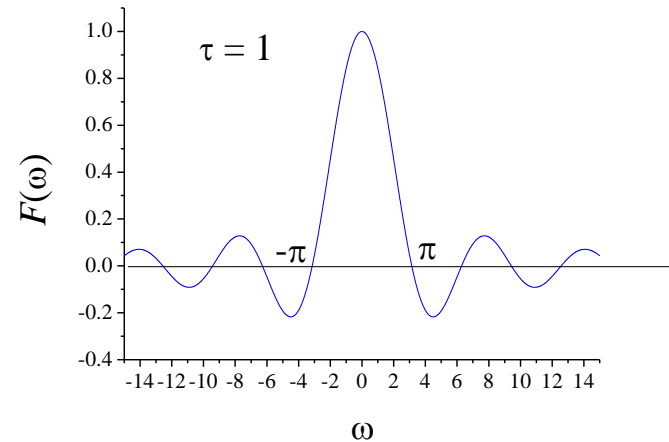
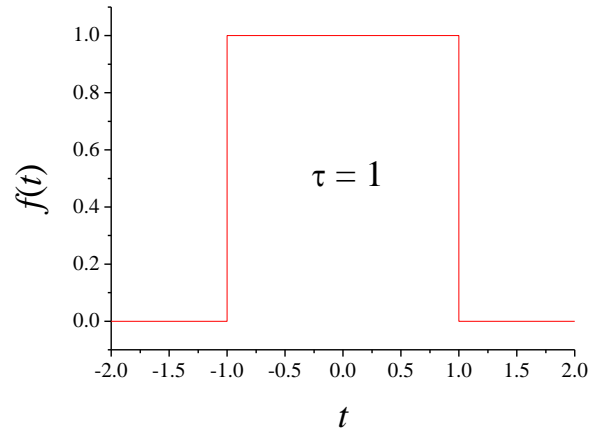
Jean Baptiste Joseph Fourier  
(1768 – 1830)

где  $t$  — это время,  $\omega$  — это циклическая частота;  $\omega = 2\pi f$ , а  $f$  — это частота.

$F(\omega)$  называется преобразованием Фурье функции  $f(t)$ . Он содержит информацию, эквивалентную той, что содержится в  $f(t)$ . Мы говорим, что  $f(t)$  определено во “временной области”, а  $F(\omega)$  — в “частотной области”.

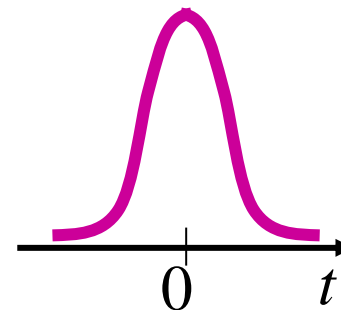
# Преобразование Фурье прямоугольной и Гауссовой функций

$$F(\omega) = \int_{-\tau}^{\tau} e^{-i\omega t} dt = \frac{1}{-i\omega} (e^{-i\omega\tau} - e^{i\omega\tau}) = 2\tau \frac{e^{i\omega\tau} - e^{-i\omega\tau}}{2i\omega\tau} = 2\tau \frac{\sin(\omega\tau)}{\omega\tau}$$



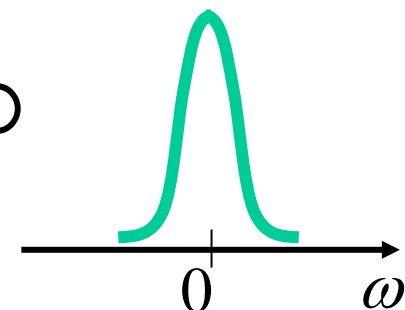
$$\mathcal{F}\{\exp(-at^2)\} = \int_{-\infty}^{\infty} \exp(-at^2) \exp(-i\omega t) dt$$
$$\propto \exp(-\omega^2 / 4a)$$

$$\exp(-at^2)$$



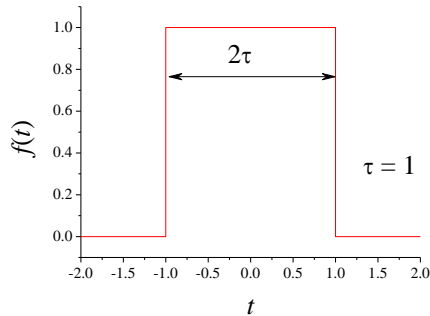
$$\exp(-\omega^2 / 4a)$$

$\supset$

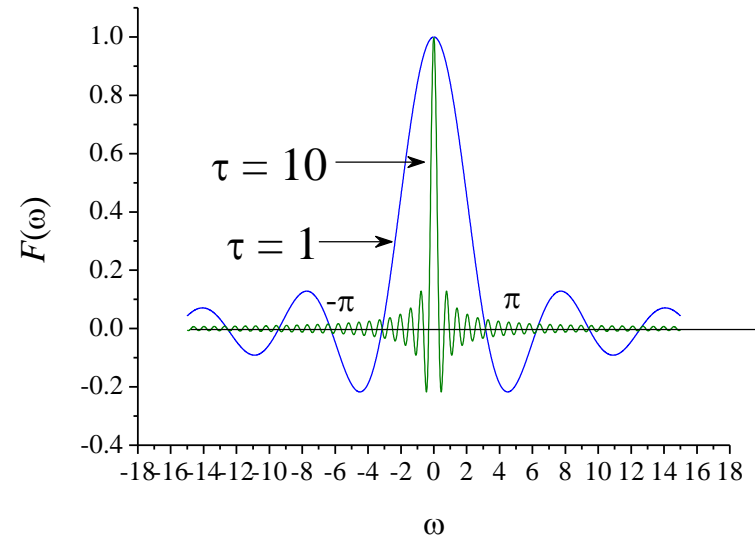
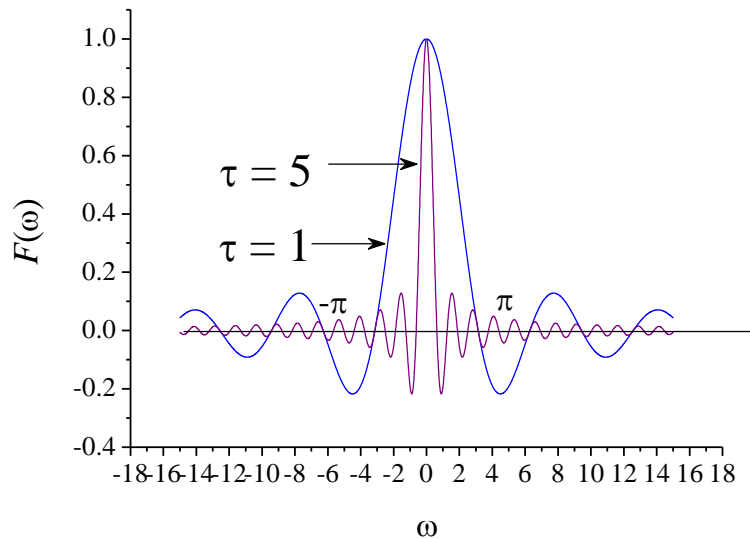
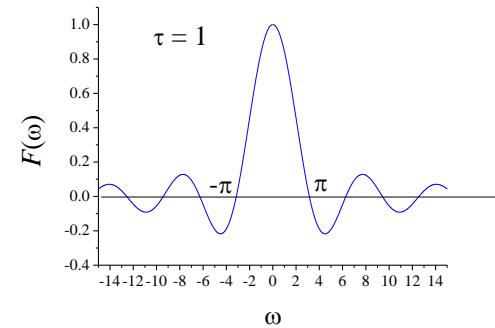




# Преобразование Фурье прямоугольной функции



$$\omega_o = \frac{\pi}{\tau}; f_o = \frac{\omega_o}{2\pi} = \frac{1}{2\tau}$$



(1)  $Sinc(x)$  - это преобразование Фурье функции прямоугольника. (2)  $Sinc^2(x)$  - это преобразование Фурье функции треугольника. (3)  $Sinc(x)$  описывает осевое распределение поля линзы. (4)  $Sin^2(ax)$  - это дифракционная картина из щели.  $Sinc$  просто появляется повсюду...

## Двумерное преобразование Фурье (окружность)

$$U(k_x, k_y) = \iint_{-\infty}^{\infty} \Phi(x, y) e^{-i(k_x x + k_y y)} dx dy$$

Возьмём отверстие радиуса  $a$ .

$$\Phi(x, y) = \begin{cases} 1 & \rho \leq a \\ 0 & \rho > a \end{cases}$$

В полярных координатах

$$x = \rho \cdot \cos \varphi, \quad y = \rho \cdot \sin \varphi, \quad k_x = k \cdot \cos \varphi_k, \quad k_y = k \cdot \sin \varphi_k$$

$$dx dy = \rho d\rho d\varphi$$

$$U(k) = \int_0^a \int_0^{2\pi} e^{-ik\rho \cdot (\cos \varphi \cos \varphi_k + \sin \varphi \sin \varphi_k)} \rho d\rho d\varphi$$

$$U(k) = \int_0^a \rho d\rho \int_0^{2\pi} e^{-ik\rho \cos(\varphi - \varphi_k)} d\varphi$$

$$U(k) = 2\pi \int_0^a J_0(k\rho) \rho d\rho = \frac{2\pi}{k^2} k a J_1(ka) = 2\pi a^2 \frac{J_1(ka)}{ka}$$

# Что мы надеемся достичь с помощью преобразования Фурье?

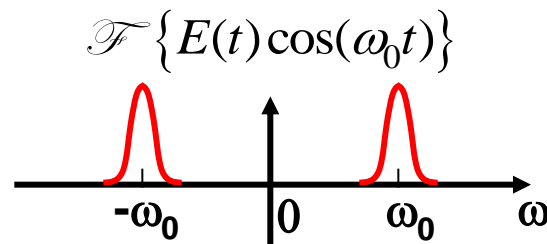
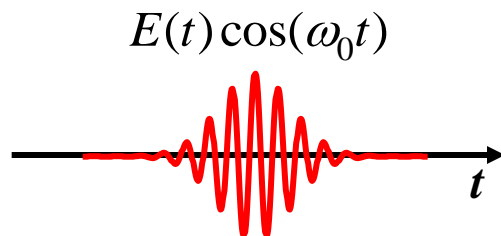
Мы хотим определить набор частот (частотный спектр), присутствующих в волне.

$$\begin{aligned}\mathcal{F}\{E(t)\cos(\omega_0 t)\} &= \int_{-\infty}^{\infty} E(t)\cos(\omega_0 t)\exp(-i\omega t) dt \\ &= \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} E(t) [\exp(i\omega_0 t) + \exp(-i\omega_0 t)] \exp(-i\omega t) dt \\ &= \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} E(t)\exp(-i[\omega - \omega_0]t) dt + \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} E(t)\exp(-i[\omega + \omega_0]t) dt\end{aligned}$$

$$\mathcal{F}\{E(t)\cos(\omega_0 t)\} = \frac{1}{2} \tilde{E}(\omega - \omega_0) + \frac{1}{2} \tilde{E}(\omega + \omega_0)$$

Example:

$$E(t) = \exp(-t^2)$$



# Теорема подобия

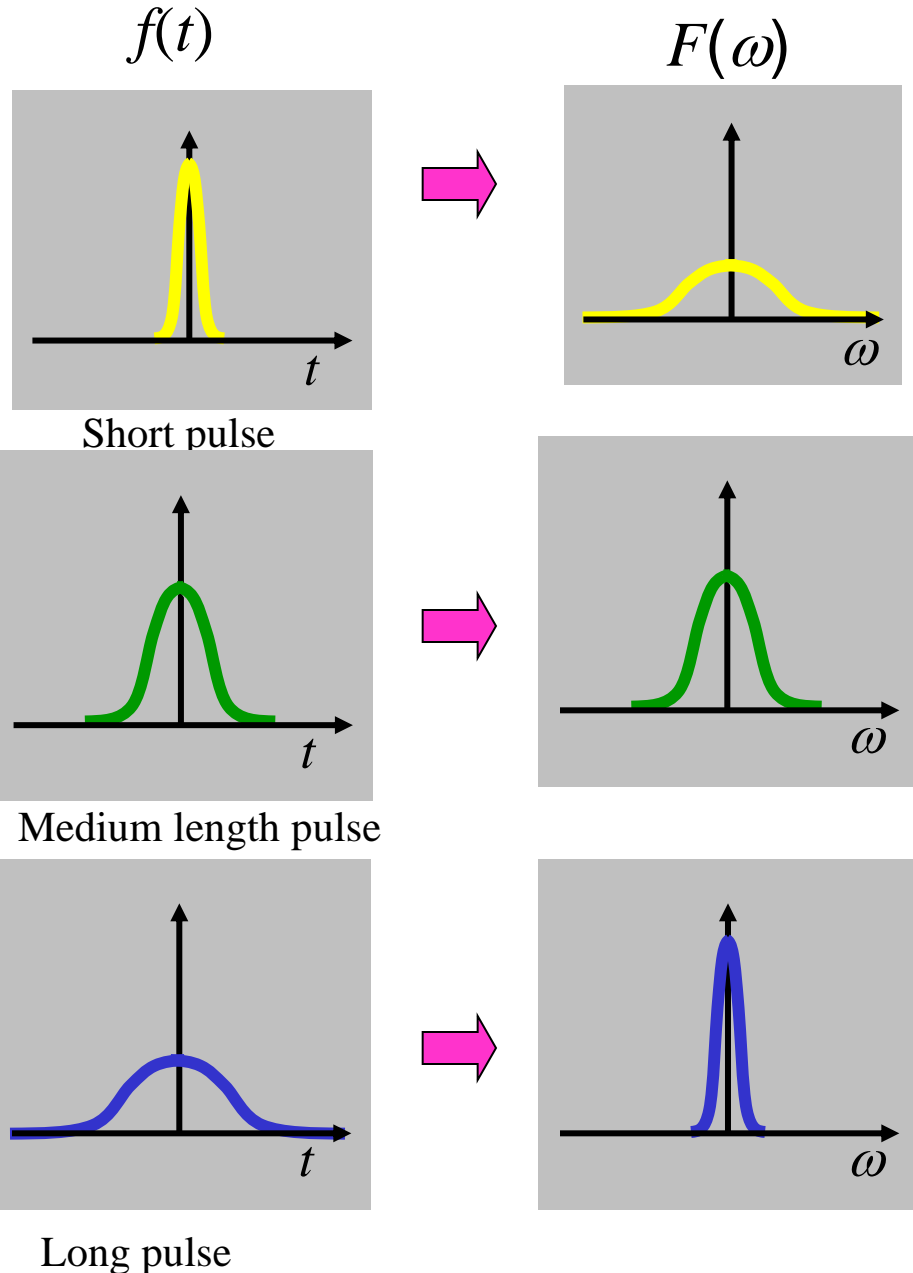
$$\mathcal{F}\{f(at)\} = F(\omega/a) / |a|$$

В этом заключается суть принципа неопределенности:

$$\omega_0 \tau \gg 1,$$

где имеется незатухающий цуг волн, с длительностью  $\tau$ , центральной частотой -  $\omega_0$ .

**Чем короче импульс, тем шире спектр!**



# Преобразование Фурье в пространстве

Преобразование Фурье по времени

$$F(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \exp(-i\omega t) dt$$

Преобразование Фурье в пространстве?

$$\phi = A e^{i(k_x x + k_y y + k_z z - \omega t)}$$

Т.к. функция, записанная в виде плоской волны плоская волна является решением уравнения движения (Helmholtz equation), любая функция, представленная в виде ряда по плоским волнам,  $\exp(ik_x x + ik_y y + ik_z z)$  с волновым вектором  $\mathbf{k} = (k_x, k_y, k_z)$ ,  $|\mathbf{k}| = \omega/c$ , где  $c$  – есть скорость звука или света, также является решением волнового уравнения. Если  $k_x^2 + k_y^2 \leq k^2$ , тогда вектор  $\mathbf{k}$  является реальным числом. Волны, для которых  $k$  реальное число, называются гомогенными.

$$U(k_x, k_y, k_z) = \iiint_{-\infty}^{\infty} \Phi(x, y, z) e^{-i(k_x x + k_y y + k_z z)} dx dy dz$$

$$U(k_x, k_y, Z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \Phi(x, y, Z) \exp[-i(k_x x + k_y y)] dx dy$$

$$\Phi(x, y, Z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U(k_x, k_y, Z) \exp[i(k_x x + k_y y)] dk_x dk_y$$

# Свойства Преобразования Фурье

Рассмотрим две двумерные функции:  $f(x,y)$ ,  $g(x,y)$ . Обозначим соответствующие Фурье образы как  $F(k_x,k_y)$  и  $G(k_x,k_y)$

1. **Теорема линейности:**  $\mathcal{F}\{ag(x,y)+bf(x,y)\} = aG(k_x,k_y)+bF(k_x,k_y)$

2. **Теорема подобия:**  $\mathcal{F}\{g(ax,by)\} = \frac{1}{|ab|} G\left(\frac{k_x}{|a|}, \frac{k_y}{|b|}\right)$

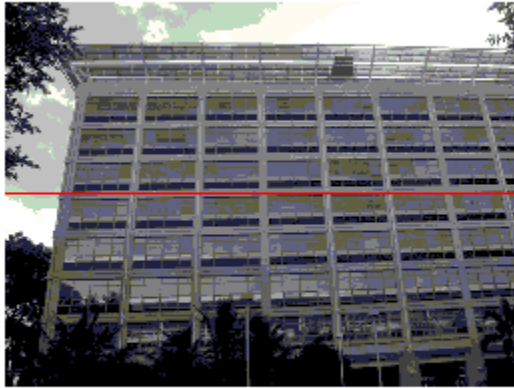
3. **Теорема смещения:**  $\mathcal{F}\{g(x-a, y-b)\} = G(k_x,k_y) \exp\{-i[k_x a + k_y b]\}$

4. **Теорема Парсеваля:**  $\iint_{-\infty}^{\infty} |g(x,y)|^2 dx dy = \iint_{-\infty}^{\infty} |G(k_x,k_y)|^2 dk_x dk_y$   
□

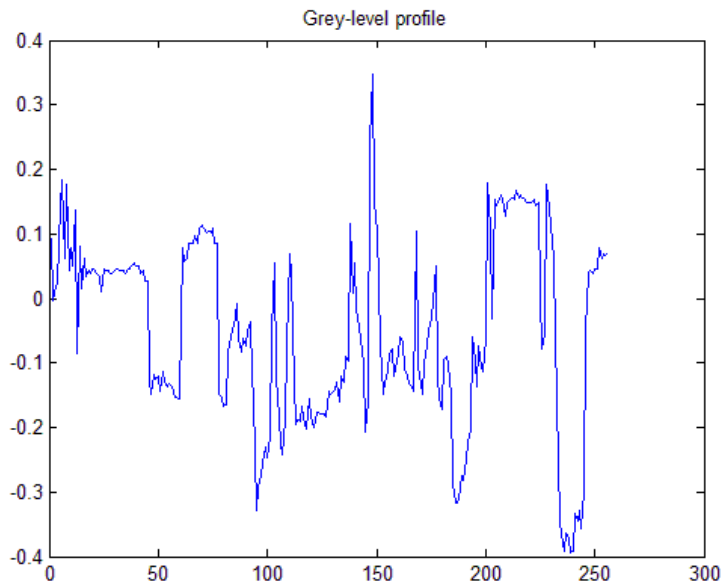
5. **Теорема свертки:**  $\mathcal{F}\left\{\iint_{-\infty}^{\infty} g(\xi, \eta) f((x-\xi), (y-\eta)) d\xi d\eta\right\} = G(k_x,k_y) F(k_x,k_y)$   
□

6. **Теорема автокорреляции:**  $\mathcal{F}\left\{\iint_{-\infty}^{\infty} g(\xi, \eta) g^*((x-\xi), (y-\eta)) d\xi d\eta\right\} = G(k_x,k_y)^2$

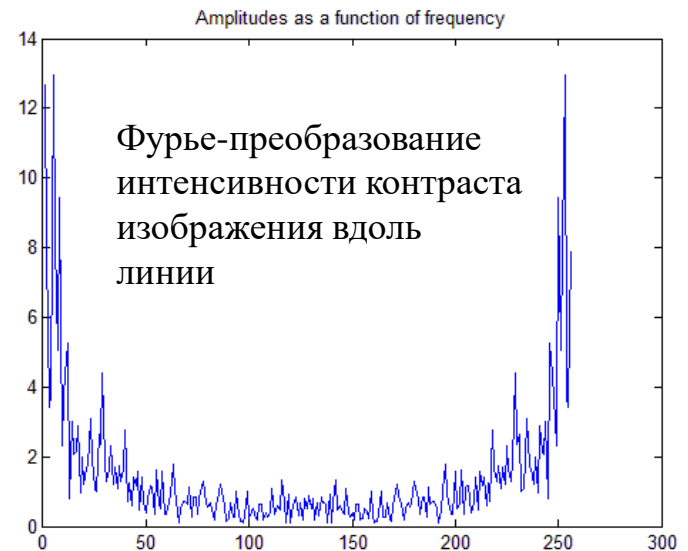
# Преобразование Фурье в пространстве



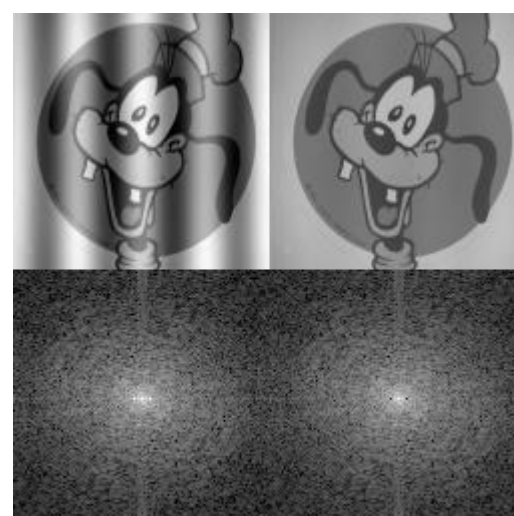
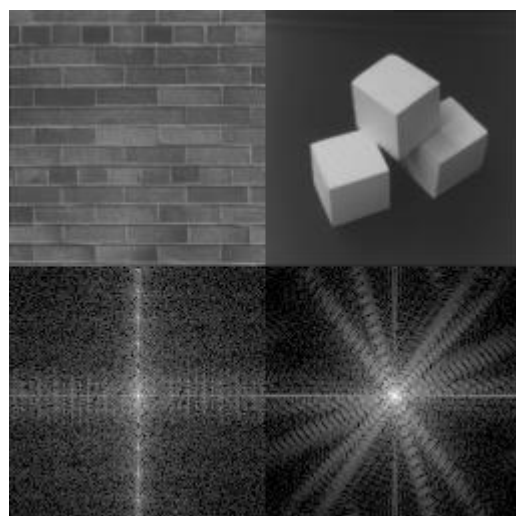
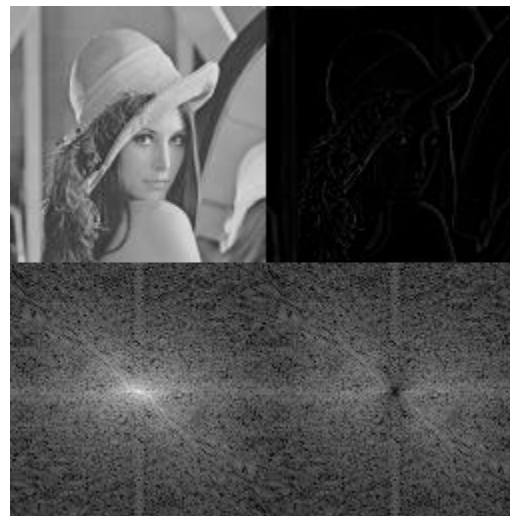
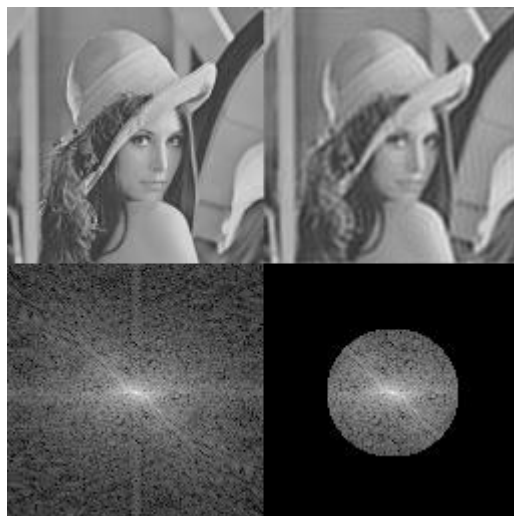
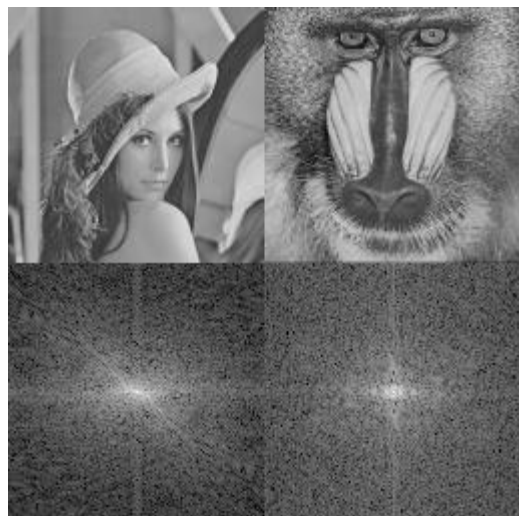
Сканирование интенсивности вдоль линии



Сканирование интенсивности вдоль линии

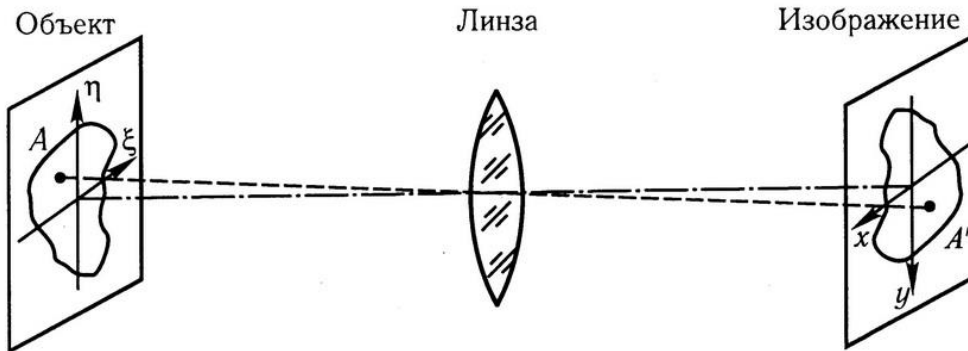
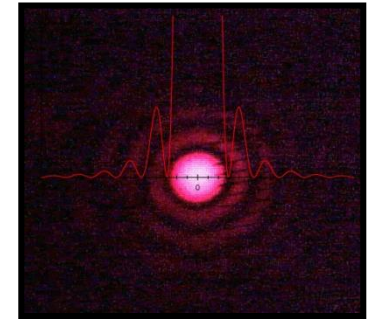
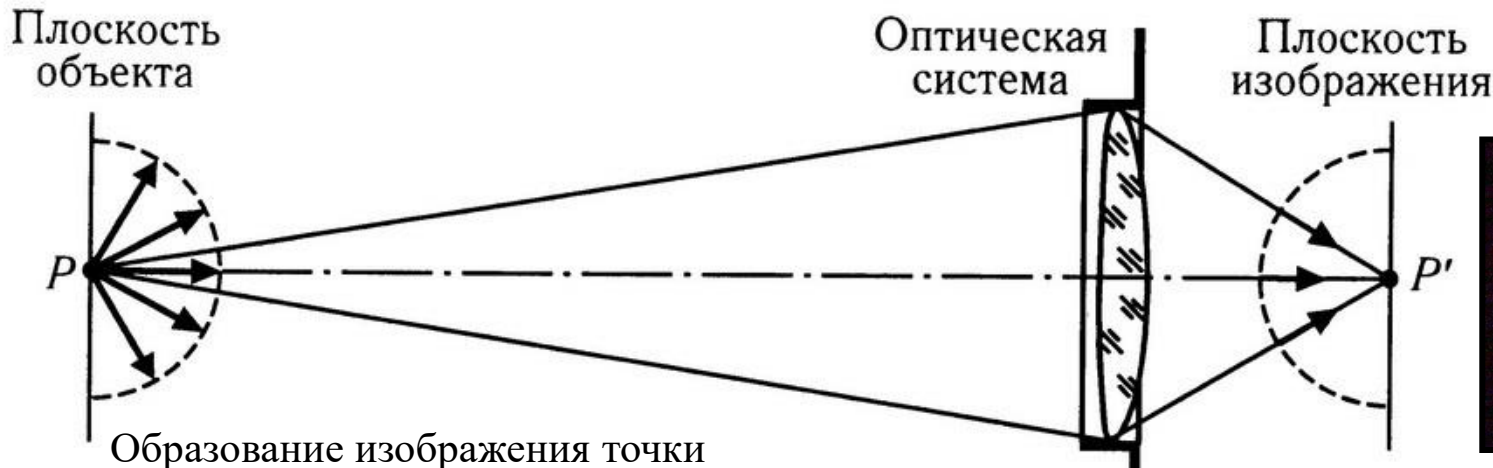


# Пример преобразования Фурье в пространстве





# Принцип суперпозиции. Связь между координатами объекта и изображения



Связь между координатами объекта и изображения

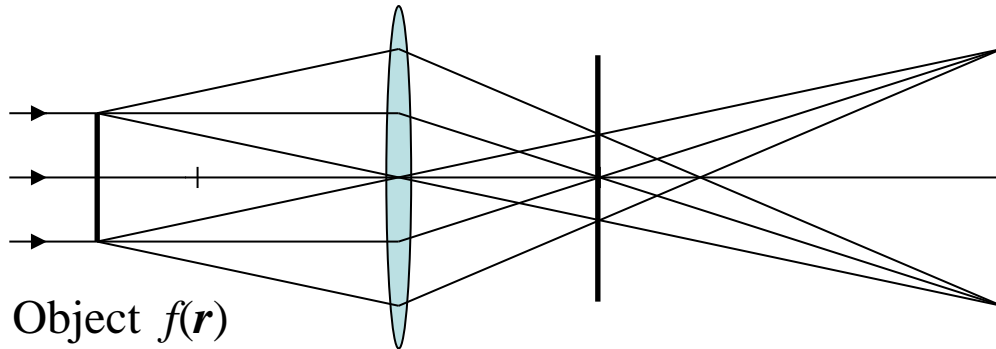
$s(\eta, \xi)$  - двумерная функция рассеяния

$O(\eta, \xi)$  - распределение яркости объекта

В том случае, когда изображение переносится с увеличением  $m$

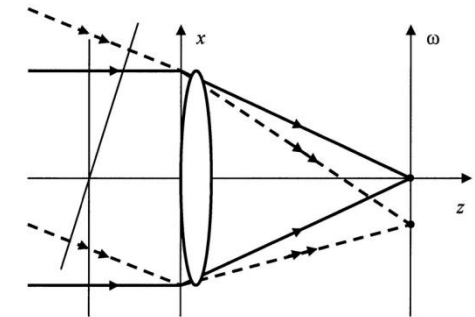
$$I(x, y) = \int O(\eta, \xi) s(x - m\eta, y - m\xi) d\eta d\xi$$

# Линзы как элементы, выполняющие преобразование Фурье



Back focal plane      Image

$$U(k) = F[f(r)] \qquad f(r) = F^{-1}[U(k)]$$



Прямое преобразование Фурье, осуществляемое линзой.

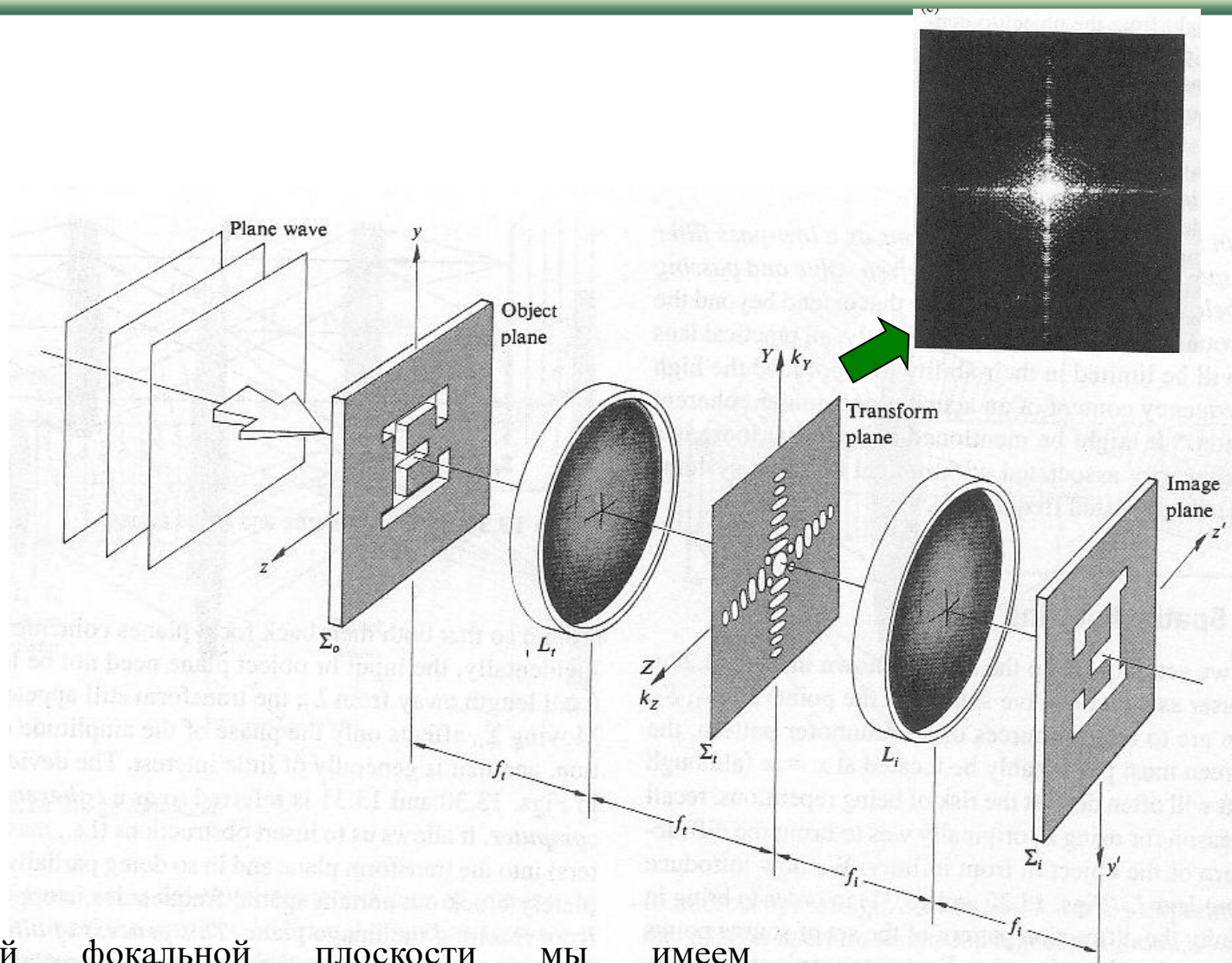
$$k^2 = (k_x)^2 + (k_y)^2 + (k_z)^2 \qquad U(k_x, k_y, Z) = \iiint_{-\infty}^{\infty} \Phi(x, y, Z) e^{-i(k_x x + k_y y_z)} dx dy$$

Физический смысл на примере прямого преобразования Фурье может быть понят как набор пространственных гармоник в изображении, пришедших каждая из своей точки в фокальной плоскости линзы.

Предположим, что это идеальный объектив, подразумевающий взаимно однозначное отображение информации между объектом и изображением. Таким образом, между задней фокальной плоскостью и плоскостью изображения выполняется обратное преобразование Фурье дифракционной картины.

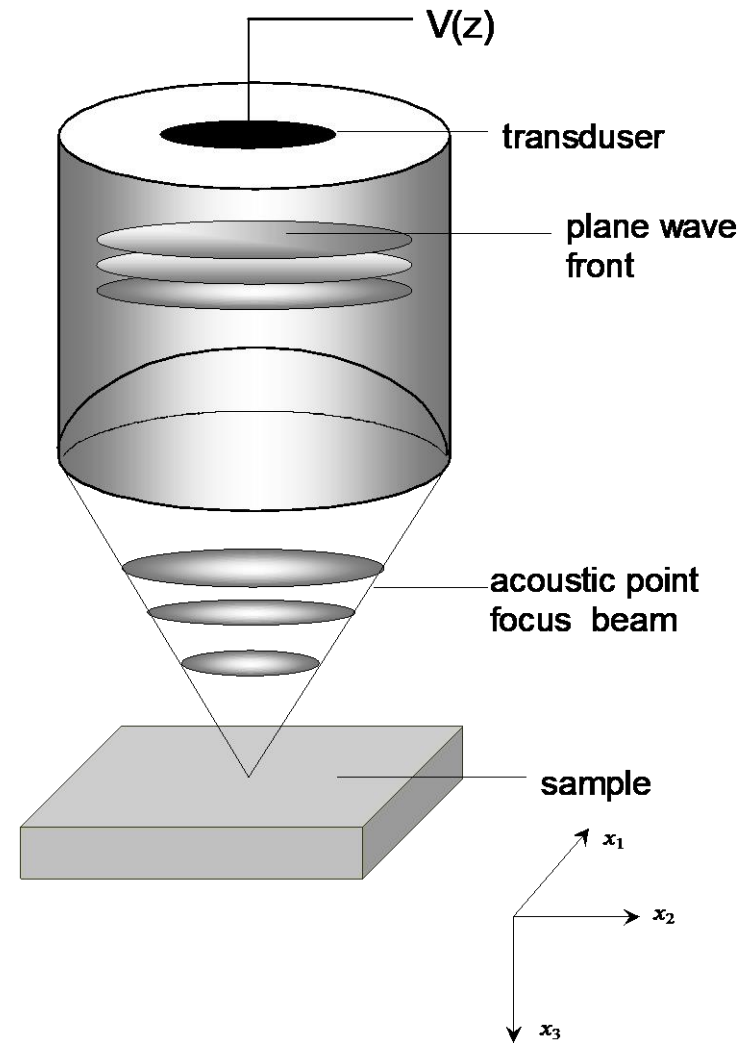
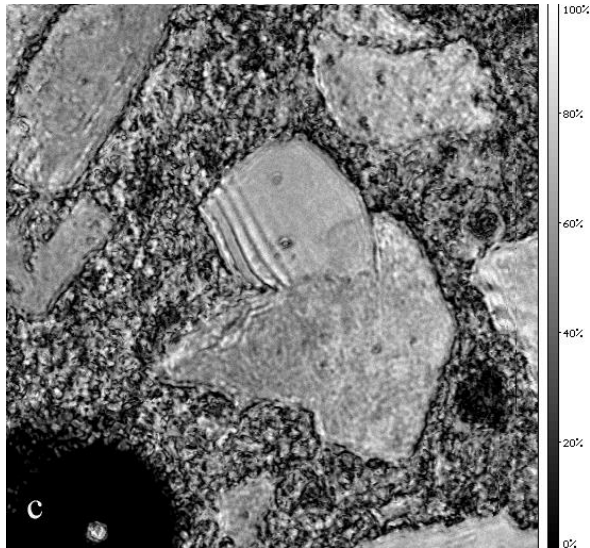
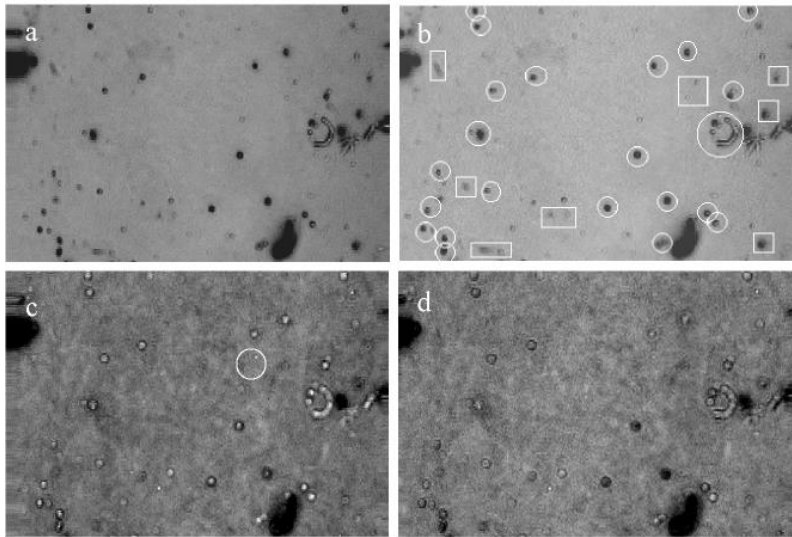
В. В. Богатырева, А. Л. Дмитриев. ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОБРАБОТКИ ИНФОРМАЦИИ. ИТМО. 2009

# Линзы как элементы, выполняющие преобразование Фурье



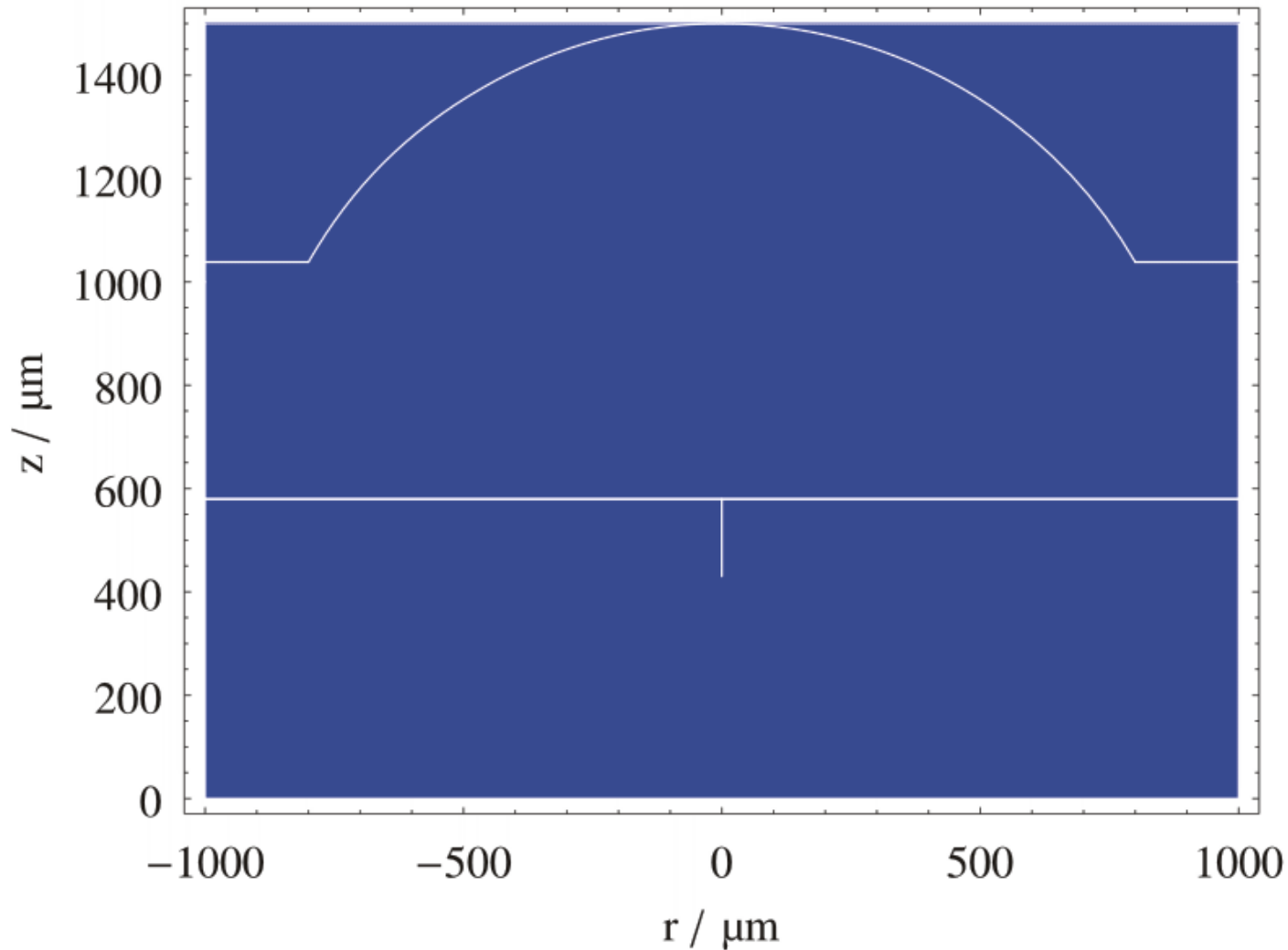
В задней фокальной плоскости мы имеем дифракционную картину Фраунгофера объекта. Мы убеждаем себя, что это так, имея в виду, что параллельные лучи фокусируются в задней фокальной плоскости.

# Формирование изображения в акустической микроскопе



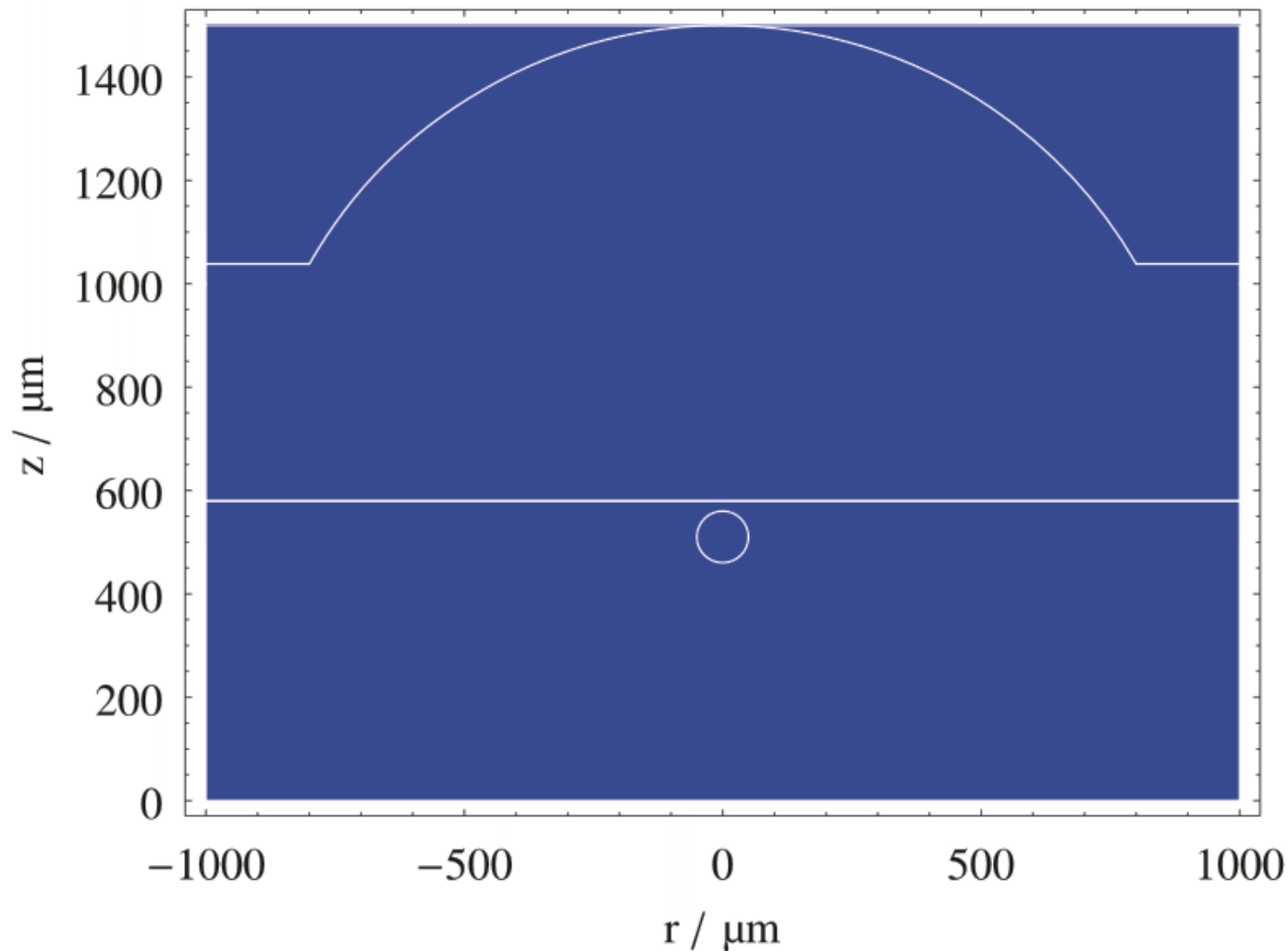
P. Zinin and W. Weise, "Theory and applications of acoustic microscopy", in T. Kundu ed., *Ultrasonic Nondestructive Evaluation: Engineering and Biological Material Characterization*. CRC Press, Boca Raton, chapter 11, 654 (2004).

# Волной фронт в импульсном акустическом микроскопе



F. Schubert, B. Koehler, P., P. Zinin. Numerical time-domain simulation of wave propagation and scattering in acoustic microscopy for subsurface defect characterization". In *Testing, Reliability, and Application of Micro- and Nano-Material Systems III*. Proceedings of SPIE, **5766**, SPIE, Bellingham, USA, (2005) pp. 106-117.

# Отражение волной фронта от полости в импульсном акустическом микроскопе

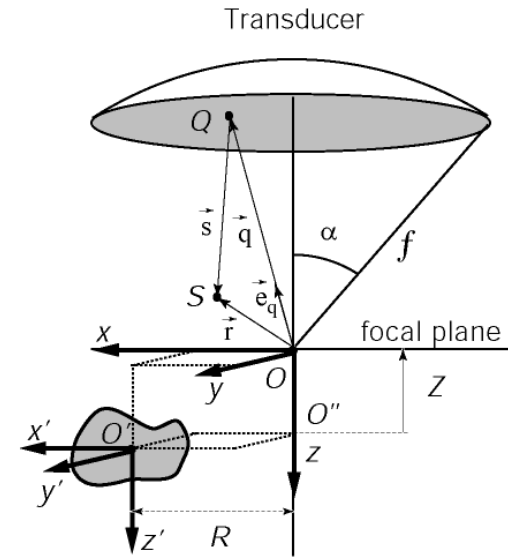


F. Schubert, B. Koehler, P., P. Zinin. Numerical time-domain simulation of wave propagation and scattering in acoustic microscopy for subsurface defect characterization". In *Testing, Reliability, and Application of Micro- and Nano-Material Systems III*. Proceedings of SPIE, **5766**, SPIE, Bellingham, USA, (2005) pp. 106-117.

# Формирование изображений в трехмерном случае

Принцип взаимности и сигнал оптических и акустических микроскопов. Аталар (A. Atalar) применил принцип взаимности Олда (Auld) для получения выходного напряжения  $V$  акустического микроскопа, работающего на отражении, в терминах угловых спектров на произвольной плоскости  $z$ :

$$V = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U_i(-k_x, -k_y) U_s(k_x, k_y) k_z dk_x dk_y$$



где  $U_i(k_x, k_y)$  - угловой спектр поля, излучаемого преобразователем,  $U_s(k_x, k_y)$  - угловой спектр поля, возникающий в результате рассеяния поля, падающего на объект. В уравнении отсутствует постоянная пропорциональности. Положение плоскости  $z$ , на которой оцениваются спектры, одинаково для обоих вариантов, но  $z$  может быть выбран произвольно. В случае отражательного микроскопа один и тот же преобразователь служит излучателем и детектором, в то время как для пропускающего микроскопа детектор расположен конфокально напротив излучателя. Мы будем использовать три системы координат:  $(x, y, z)$  с началом координат в фокусной точке и  $(x', y', z')$  в точке  $O'$ , связанной с частицей. Оси  $z$  и  $z'$  направлены в сторону от излучателя. Координаты системы  $O'$  находятся  $(X, Y, Z)$  от фокусной точки. Введем также промежуточную систему координат с ее началом в точке  $O''$  с вектором  $(x, y, z')$ .

Atalar, A. 1980. A backscattering formula for acoustic transducers. *J. Appl. Phys.* 51: 3093–3098. Weise, E. 1997.

Konfokale Rastermikroskopie zur Abbildung kugelförmiger Objekte. PhD thesis, University of Bremen, Bremen, Germany.

# Функция зрачка

Для вычисления интеграла (1) мы будем использовать приближение Дебая, предполагая, что  $r_p \ll f$ . В приближении Дебая в сферической системе координат

$$\Phi(\vec{R}) = \frac{u_o}{2\pi} \int_0^{2\pi} \int_0^\alpha \frac{e^{ik\vec{R}}}{\vec{R}} dS \approx \frac{u_o}{2\pi f} \int_0^{2\pi} \int_0^\alpha e^{ik\vec{R}} dS \quad (0)$$

$$\Phi(\vec{r}_p) = \frac{u_o f e^{-ikf}}{2\pi} \int_0^{2\pi} \int_0^\alpha P(\varphi, \theta) e^{ikr_p \cos\gamma} \sin\theta d\theta d\varphi \quad (1)$$

где  $P(\varphi, \theta)$  – функция зрачка. Перейдём в цилиндрические координаты, тогда интеграл примет вид

$$\Phi(\vec{r}_p) = \frac{u_o f e^{-ikf}}{2\pi} \int_0^\alpha e^{ikz_p \cos\theta} \sin\theta d\theta \int_0^{2\pi} P(\varphi, \theta) e^{ik\rho_p \sin\theta \cos(\phi - \phi_p)} d\phi \quad (2)$$

Если функция зрачка обладает аксальной симметрией,  $P(\varphi, \theta) = P(\theta)$ , тогда

$$\Phi(z_p, \rho_p) = \frac{u_o f e^{-ikf}}{2\pi} \int_0^\alpha P(\theta) e^{ikz_p \cos\theta} J_0(k\rho_p \sin\theta) \sin\theta d\theta \quad (3)$$

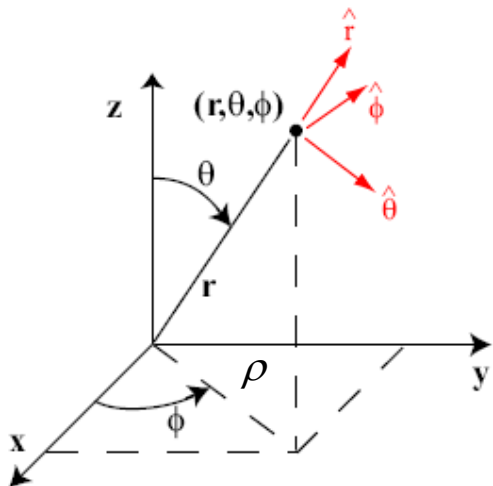
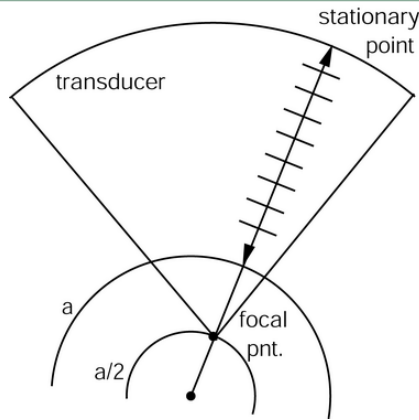


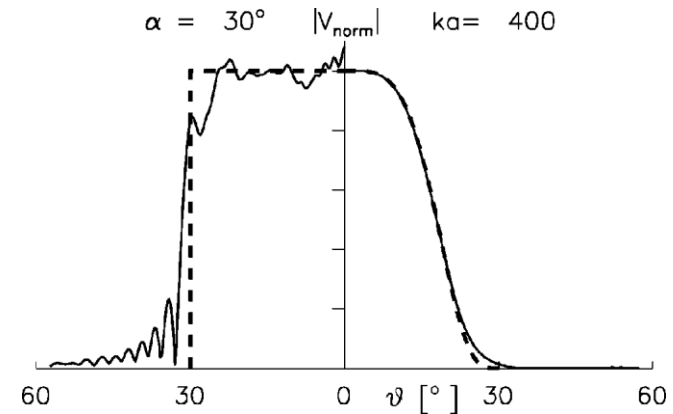
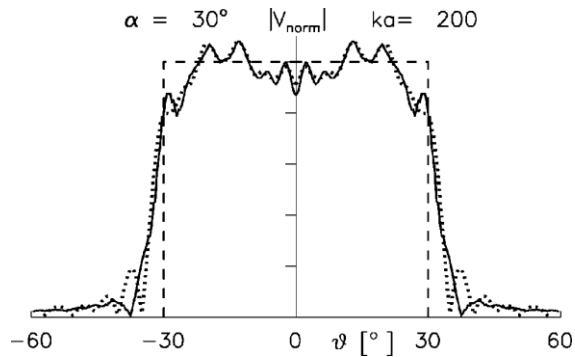
Fig. 2. Сферическая система координат



# Исследование двумерной функции зрачка в когерентных сканирующих микроскопах с использованием сферических частиц



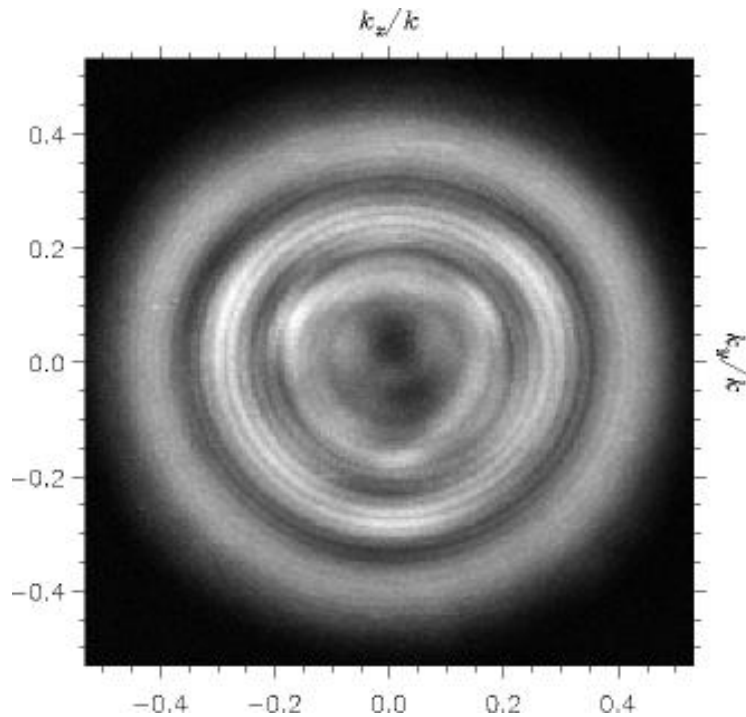
$$P(\theta) = \begin{cases} \frac{1}{2} \left[ 1 + \cos \left( \pi \frac{\cos(\theta-1)}{\cos(\alpha-1)} \right) \right], & \theta \leq \alpha \\ \theta > \alpha \end{cases} \quad (3)$$



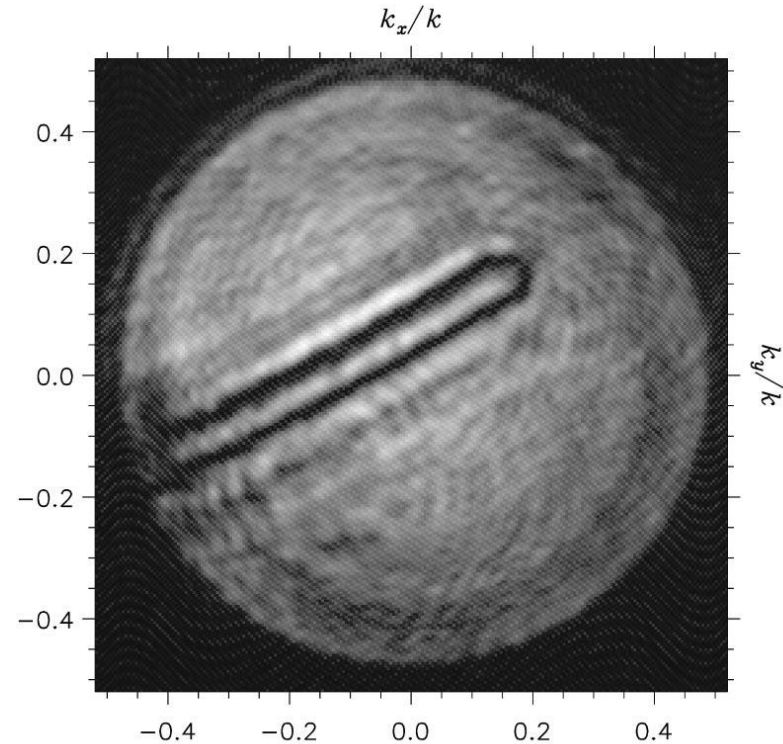
Выходной сигнал при  $a/2$ ,  $ka=200$ . Аппроксимация (сплошная линия), строгий расчет (пунктирная линия) и соответствующая функция зрачка (пунктирная линия).

Выходные сигналы при  $a/2$ ,  $ka=400$  (сплошные линии) и соответствующие функция зрачка (пунктирные линии).

# Исследование двумерной функции зрачка в когерентных сканирующих микроскопах с использованием сферических частиц



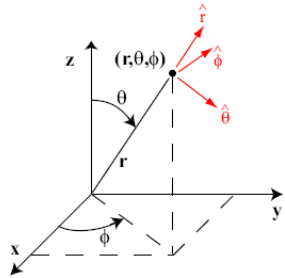
Экспериментальное изображение функции зрачка объектива ELSAM 400 МГц. Изображение было получено путем визуализации стальной сферы ( $ka = 334$ ), фокусирующей на половине радиуса сферы.



Экспериментальное изображение функции зрачка конфокального лазерного микроскопа с карандашным грифелем в лучевой трубке,  $ka = 375$ . Плоское сканирование при  $z = a/2$ .

W. Weise, P. Zinin, G. A. D. Briggs, T. Wilson and S. Boseck, "Examination of the two-dimensional pupil function in coherent scanning microscopes using spherical particles". *JASA*. **104**(1), 181-191 (1998).

# ПОЛЕ В ФОКУСЕ И ФУРЬЕ ОПТИКА



$$\Phi(z_p, \rho_p) = \frac{u_o f e^{-ikf}}{2\pi} \int_0^\alpha P(\theta) e^{ikz_p \cos\theta} J_0(k\rho_p \sin\theta) \sin\theta d\theta \quad (1)$$

Чтобы найти угловой спектр излучаемого поля в фокальной плоскости, мы устанавливаем третью координату  $r$  равной нулю и подставляем декартовы координаты для переменных углового интегрирования. Для векторных составляющих  $k$  имеем:  $k_x = k \sin\theta \cos\phi$ ,  $k_y = k \sin\theta \sin\phi$ ,  $k_z = k \cos\theta$ . Якобиан перехода имеет вид

$$\sin\theta d\theta d\phi = \frac{1}{k^2 \cos\theta} dk_x dk_y = \frac{1}{kk_z} dk_x dk_y$$

Тогда уравнение (1) может быть переписано в Декартовых координатах:  $r(x, y, z)$

$$\Phi_i(x, y, z=0) = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} P(k_x, k_y) \exp[i(k_x x + k_y y)] \frac{dk_x dk_y}{kk_z} \quad (2)$$

С точностью до константы  $P(k_x, k_y)$  имеет вид

$$P(k_x, k_y) = \begin{cases} P(\theta, \phi), & k_x^2 + k_y^2 \leq k^2 \\ 0, & \text{elsewhere} \end{cases}$$

# Поле в фокальной плоскости и Фурье Оптика

$$\Phi_i(x, y, z = 0) = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} P(k_x, k_y) \exp[i(k_x x + k_y y)] \frac{dk_x dk_y}{kk_z}$$

$$\Phi(x, y, Z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U(k_x, k_y, Z) \exp[i(k_x x + k_y y)] dk_x dk_y$$

Сравнение с интеграла, описывающего структуру поля сферического преобразователя, с интегралом Фурье показывает, что это угловой спектр поля преобразователя в фокальной плоскости имеет то же преобразование Фурье, что и поле преобразователя в фокальной плоскости.

$$U_i(k_x, k_y) = \frac{P(k_x, k_y)}{kk_z} \approx P(k_x, k_y)$$

# Поле в Фокусе и методы Фурье оптики

$$\Phi(x, y, 0) = \iint_{-\infty}^{\infty} P(k_x, k_y, Z) e^{-i(k_x x + k_y y)} dk_x dk_y =$$

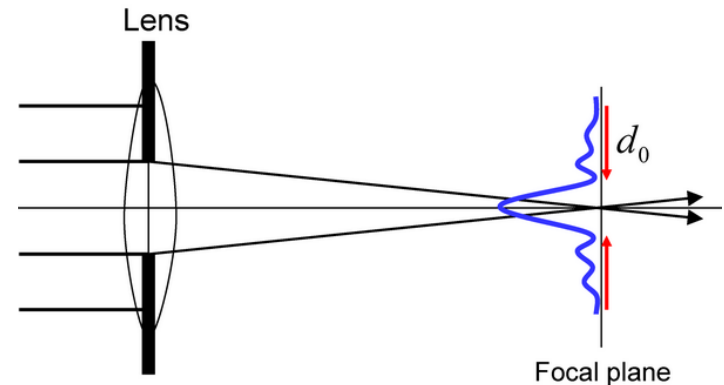
$$\Phi(x, y, 0) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U(k_x, k_y, 0) \exp[i(k_x x + k_y y)] dk_x dk_y$$

Функция зрачка идеальной линзы может  
быть описана как *окружность*

$$P(k_r) = \begin{cases} 1, & k_r < k \sin \alpha \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases}$$

Преобразование Фурье функции окружности

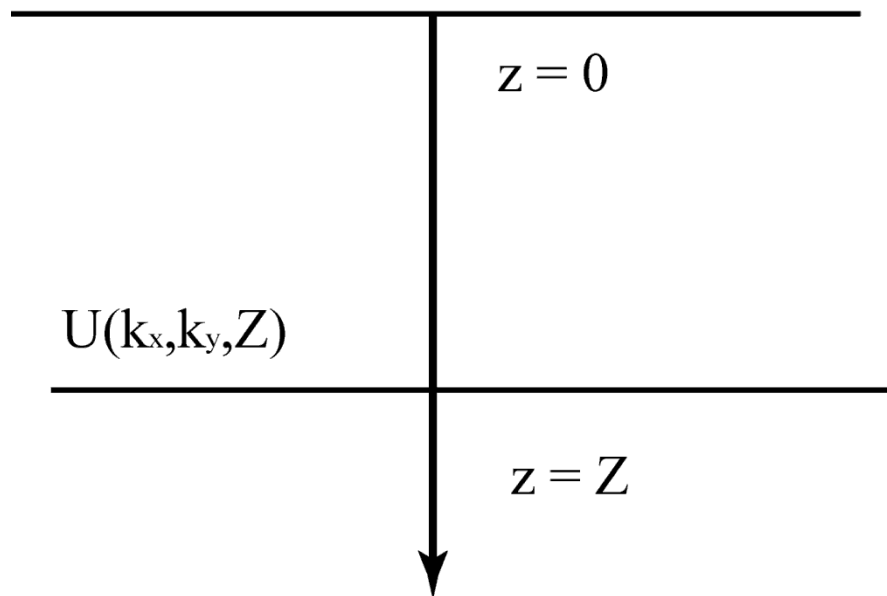
$$\Phi(\rho) = A \frac{J_1(k \rho \sin \alpha)}{k \rho \sin \alpha}$$



# Свойства преобразования Фурье

Фурье-спектр поля на плоскости  $z = Z$ ,  $U(k_x, k_y, Z)$  может быть выражен через Фурье-спектр поля на плоскости  $z = 0$ ,  $U(k_x, k_y, 0)$ .

$$U(k_x, k_y, 0)$$

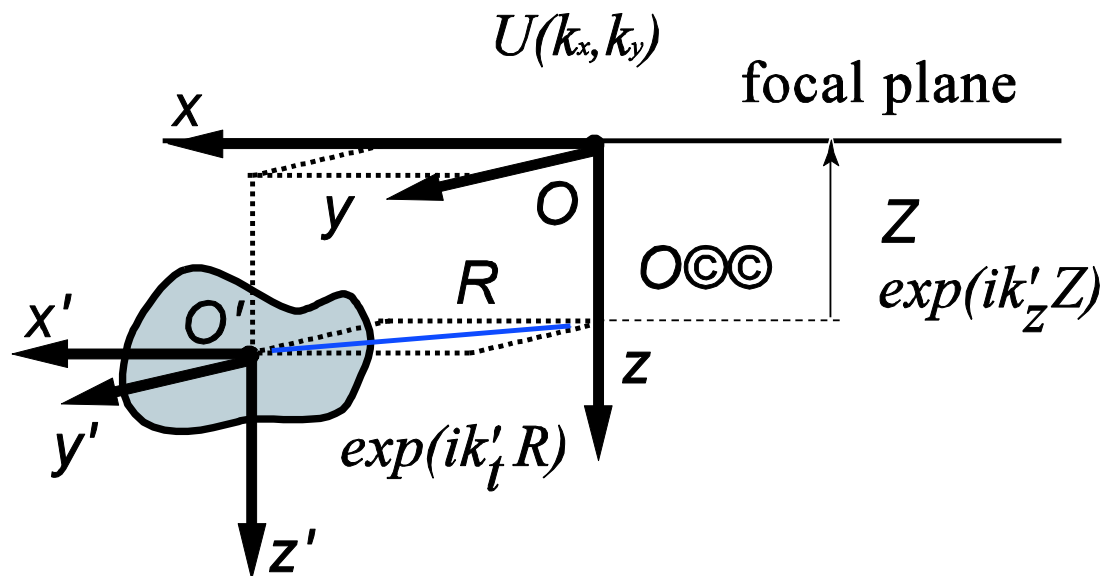


$$U_i(k_x, k_y, Z) = U_i(k_x, k_y, 0) \exp(ik_z Z)$$

Обратное преобразование Фурье представляет волновое поле в плоскости  $Z$  как суперпозицию плоских волн  $\exp(ik_x x + ik_y y)$ .

# Поле в фокусе и пространственный спектр Фурье

Спектр  $U_i'$  падающего поля, а также спектр  $U_s'$  отраженного поля также задаются в пространственной системе координат, которая берет начало в точке  $O'$ . Поскольку величина  $k$  фиксирована, волновой вектор полностью задается вектором  $\mathbf{k}_t = (k_x, k_y)$ ;  $k_x, k_y$  обозначают компоненты волнового вектора рассеянного поля, а  $k'_x, k'_y$  - компоненты волнового вектора падающего поля.



Чтобы рассчитать спектр рассеянного поля, мы должны проинтегрировать все падающие спектральные компоненты.

$$U_i''(k'_x, k'_y) = U_i(k'_x, k'_y) \exp(ik'_z Z)$$

Для отражательной микроскопии мы имеем, так как обратная рассеянная волна распространяется противоположно  $z$  - направлению. Объединяя все вышесказанное мы получаем выходной сигнал отражательной микроскопии в виде

# Поле в фокусе и методы Фурье оптики

Спектр  $U_i'$  падающего поля, а также спектр  $U_s'$  отраженного поля также задаются в пространственной системе координат, которая берет начало в точке  $O'$ . Чтобы рассчитать спектр рассеянного поля, мы должны проинтегрировать все падающие спектральные компоненты.

$$U_s'(k_x, k_y) = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U_i'(k'_x, k'_y) g_s(k_x, k_y, k'_x, k'_y) dk'_x dk'_y$$

$g_s$  это функция рассеяния. Теперь мы должны определить отраженный спектр с помощью падающего спектра в системе  $O$ , а затем выразить также отраженный спектр в системе  $O'$ . Сначала выразим спектр  $U_i$  падающего в фокальной плоскости системы  $O$  в системе  $O''$ . Спектр падающего излучения на объект поля  $U_i''$  в  $Z$ -плоскости рассчитывается путем включения  $\exp(ik_z Z)$

$$U_i''(k'_x, k'_y) = U_i(k'_x, k'_y) \exp(ik'_z Z)$$

Для отражательной микроскопии мы имеем, так как обратная рассеянная волна распространяется противоположно  $z$ -направлению. Объединяя все вышесказанное мы получаем выходной сигнал отражения такой же как и у нас

$$V(X, Y, Z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} P(-k_x, -k_y) P(k'_x, k'_y) g_s(k_x, k_y, k'_x, k'_y) \exp\left[i(k'_x - k_x)X + (k'_y - k_y)Y + (k'_z - k_z)Z\right] \frac{dk'_x dk'_y dk_x dk_y}{kk'_z}$$



# Сигнал от полупространства

Зная общее выражение для выходного сигнала микроскопа, мы можем вывести выражение для изображений объектов простой формы. Начнем с самого простого случая-сигнала микроскопа от однородного полупространства. В этом случае мы можем представить спектр отраженного поля как простое умножение падающего поля и коэффициента отражения.

$$U_s(k_x, k_y) = \mathfrak{R}(k_x, k_y)U_i(k_x, k_y)$$

$$U_s'(k_x, k_y) = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} U_i'(k'_x, k'_y) g_s(k_x, k_y, k'_x, k'_y) dk'_x dk'_y$$

Объединяя два вышеприведенных уравнения, мы получаем функцию рассеяния

$$g_s(k_x, k_y, k'_x, k'_y) = (2\pi)^2 \delta(k_x - k'_x) \delta(k_y - k'_y) \mathfrak{R}(k'_x, k'_y),$$

$R(k_x, k_y)$  – коэффициент отражения. Тогда

$$V(Z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} P(-k_x, -k_y) P(k_x, k_y) \mathfrak{R}(k_x, k_y) \exp(i2k_z Z) \frac{dk_x dk_y}{kk_z}$$

В сферической системе координат

$$\sqrt{(k'_x)^2 + (k'_y)^2} \leq k \sin \alpha \quad V(Z) = \frac{V_o}{(1 - \cos \alpha)} \int_0^\alpha P^2(\theta) \mathfrak{R}(\theta) \exp(i2kZ \cos \theta) \sin \theta d\theta$$

Контраст изображения в отражательном микроскопе определяется *коэффициентом отражения* объекта.

T. Wilson and C. J. R. Sheppard . “Theory and Practice of Scanning Acoustic Microscopy. Academic Press. (1984)

# Формирование изображений трехмерных объектов

В общем случае часть функции рассеяния, описывающая поведение однородных волн, что важно для конфокального изображения, также может быть получена непосредственно из распределения рассеянной волны в дальнем поле. Асимптотическое поведение распределения поля  $\Phi$  рассеянная от ограниченного препятствия падающая плоская волна с волновым вектором  $k'$  может быть выписан как (Л.Д. Ландау, Е.М. Лифшиц. “Квантовая Механика”. Том III, §123, Москва, 1989).

$$\Phi_s\left(\frac{\mathbf{k}}{k}r\right) = f\left(\frac{\mathbf{k}}{k}, \frac{\mathbf{k}'}{k'}\right) \frac{\exp(ikr)}{r}, \quad \text{as } kr \rightarrow \infty.$$

где  $r$  - расстояние от начала координат  $f\left(\frac{\mathbf{k}}{k}, \frac{\mathbf{k}'}{k'}\right)$  амплитуда рассеяния дальнего поля. Соотношение однородной волновой части функции рассеяния  $g_s$  к амплитуде рассеяния дальнего поля

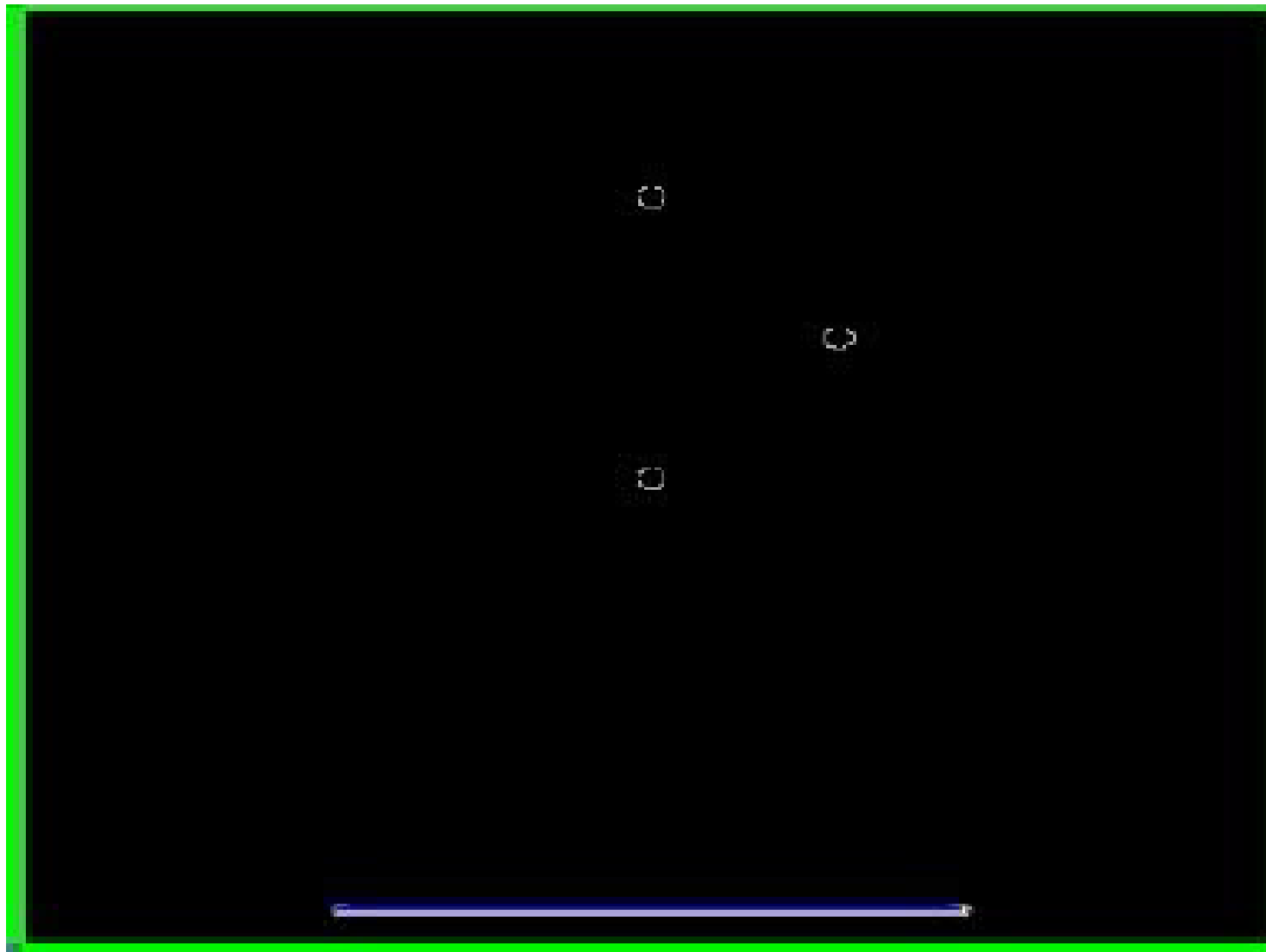
$$g_s(k_x, k_y, k'_x, k'_y) = \frac{i}{2\pi k_z} f\left(\frac{\mathbf{k}}{k}, \frac{\mathbf{k}'}{k'}\right) \quad \text{for } k_x^2 + k_y^2 < k^2$$

можно получить с помощью углового спектрального представления распределения дальнего поля. Комбинируя приведенные выше уравнения и опуская нормирующую постоянную получаем

$$V(X, Y, Z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} P(-k_x, -k_x) P_s(k'_x, k'_x) f\left(\frac{\mathbf{k}}{k}, \frac{\mathbf{k}'}{k'}\right) \times$$

$$\times \exp[i(k'_x - k_x)X + (k'_y - k_y)Y + (k'_z - k_z)Z] \frac{dk'_x dk'_y dk_x dk_y}{kk'_z kk_z}$$

# Функция рассеяния



# Формирование изображения сферических частиц

Аналитически можно найти угловое распределение дальнего поля для рассеяния сферической частицей может быть описано с использованием функции рассеяния (Л.Д. Ландау, Е.М. Лифшиц, Квантовая механика, параграф 123. Москва, 1989).

$$f\left(\frac{k}{k}, \frac{k'}{k'}\right) = \frac{1}{k} \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1) A_n P_n(\cos \gamma_k)$$

где  $A_n$  описывает амплитуды рассеяния, которые зависят от размера частиц и свойств материала, а также  $P_n$  – полиномы Лежандра.  $\gamma_k$  - это угол между  $k$  и  $k'$ . Для скалярного случая  $A_{nm}$  не зависят от  $m$

$$V(R, Z) = \frac{V_o}{(1 - \cos \alpha)} \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=0}^n (-1)^n (2 - \delta_{om}) A_n I_{nm}^2(R, Z)$$

$$I_{nm}(R, Z) = (-1)^m \int_0^{\alpha} P(\theta) \exp(ikZ \cos \theta) J_m(kR \sin \theta) \bar{P}_n^m(\cos \theta) \sin \theta d\theta$$

# Рассеяние звука сферической частицей

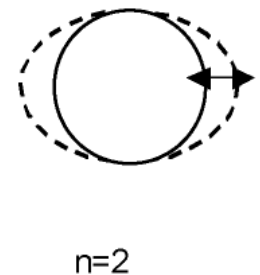
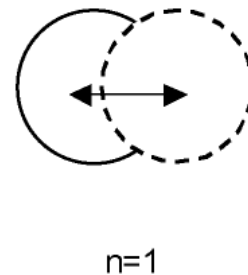
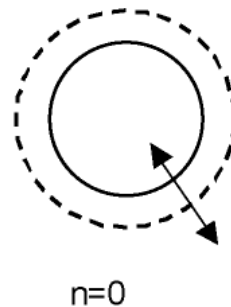
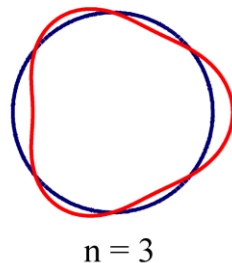
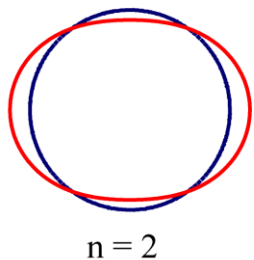
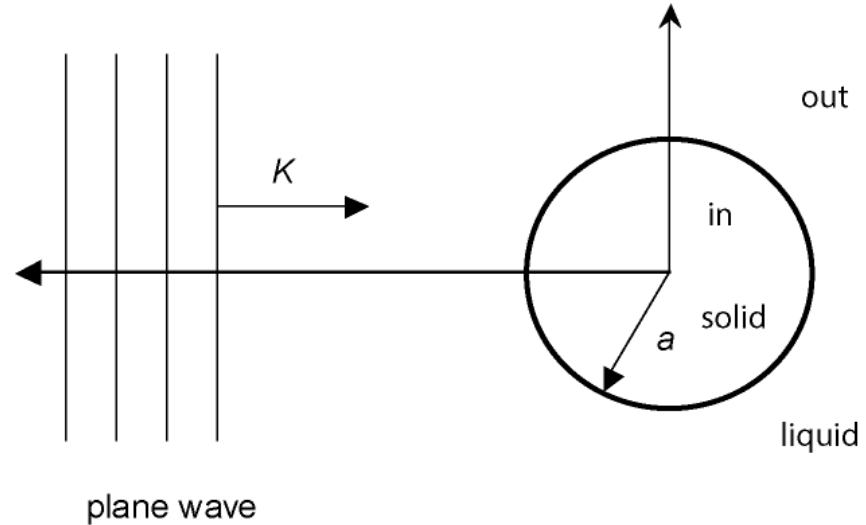
$$\Phi_C = \sum_{n=0}^{\infty} i^n (2n+1) j_n(k_{Lo}r) P_n(\cos\theta)$$

$$\Phi_C^o = \sum_{n=0}^{\infty} i^n (2n+1) [j_n(k_{Lo}r) + A_n h_n(k_{Lo}r)] P_n(\cos\theta)$$

$$A^o = \sum_{n=0}^{\infty} i^n (2n+1) C_n h_n(k_{So}r) P_n(\cos\theta)$$

$$\Phi_C^i = \sum_{n=0}^{\infty} i^n (2n+1) B_n j_n(k_{Li}r) P_n(\cos\theta)$$

$$A^i = \sum_{n=0}^{\infty} i^n (2n+1) D_n j_n(k_{Si}r) P_n(\cos\theta)$$



P. V. Zinin, "A theoretical analysis of sound attenuation mechanisms in blood and in the erythrocyte suspensions". *Ultrasonics*. **30**(1), 25-34 (1992).

# Рассеяние звука твердой сферой: Граничные условия

$$\sigma_{rr}^o - \sigma_{rr}^i + p_o' - p_i' = 0$$

$$\sigma_{\theta r}^o - \sigma_{\theta r}^i = 0$$

$$V^i \Big|_{r=a} = V^o \Big|_{r=a} = \frac{\partial W}{\partial t}$$

$$V_{\theta}^o = V_{\theta}^i \quad V_r^o = V_r^i$$

Для жидкого объекта они легко определяются из равенства давлений и нормальных составляющих скорости внутри и снаружи объекта;

Для сферических упругих частиц безразмерные коэффициенты имеют следующий вид

$$A_n = \frac{A_1^*(d_{22}d_{33} - d_{32}d_{23}) - A_2^*(d_{12}d_{33} - d_{32}d_{13})}{d_{11}(d_{22}d_{33} - d_{32}d_{23}) - d_{21}(d_{12}d_{33} - d_{32}d_{13})}$$

$$d_{11} = \frac{\rho}{\rho_i} (k_{si}a)^2 h_n(ka), \quad A_1^* = \frac{\rho}{\rho_i} (k_{si}a)^2 j_n(ka),$$

$$d_{12} = [2n(n+1) - (k_{si}a)^2] j_n(k_{li}a) - 4(k_{li}a)^2 j_n'(k_{li}a),$$

$$d_{13} = 2n(n+1)[(k_{si}a)j_n'(k_{si}a) - j_n(k_{si}a)]$$

$$d_{21} = -(ka)h_n'(ka), \quad d_{22} = (k_{li}a)j_n'(k_{li}a), \quad A_2^* = (ka)j_n'(ka),$$

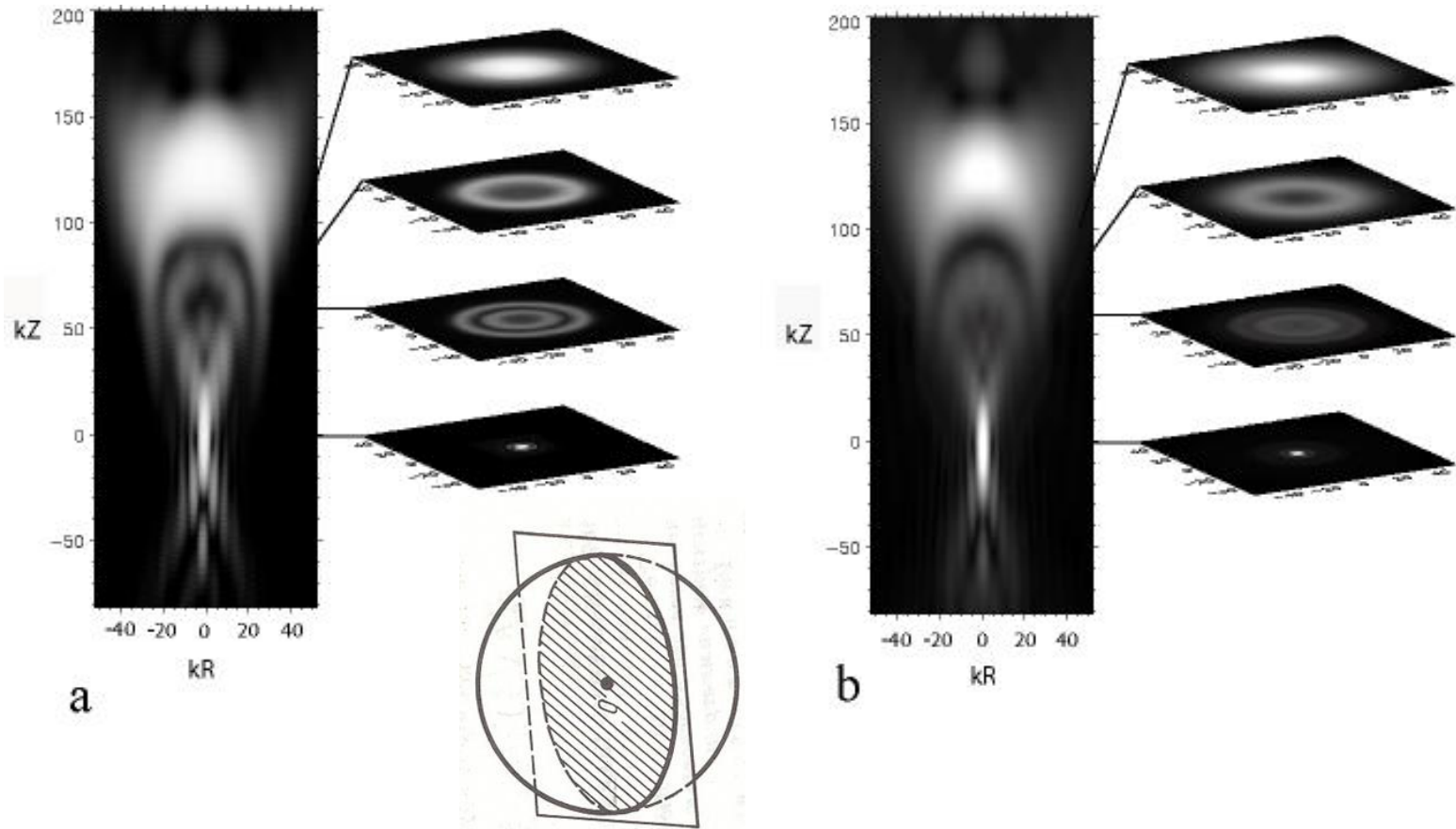
$$d_{23} = n(n+1)j_n(k_{si}a), \quad d_{31} = 0,$$

$$d_{32} = 2[j_n(k_{li}a) - (k_{li}a)j_n'(k_{li}a)],$$

$$d_{33} = 2(k_{si}a)j_n'(k_{si}a) + [(k_{si}a)^2 - 2n(n+1) + 2]j_n(k_{si}a),$$

$$A_n = -\frac{\rho(k_i a)j_n(ka)j_n'(k_i a) - \rho_i(ka)j_n'(ka)j_n(k_i a)}{\rho(k_i a)h_n(ka)j_n'(k_i a) - \rho_i(ka)h_n'(ka)j_n(k_i a)}$$

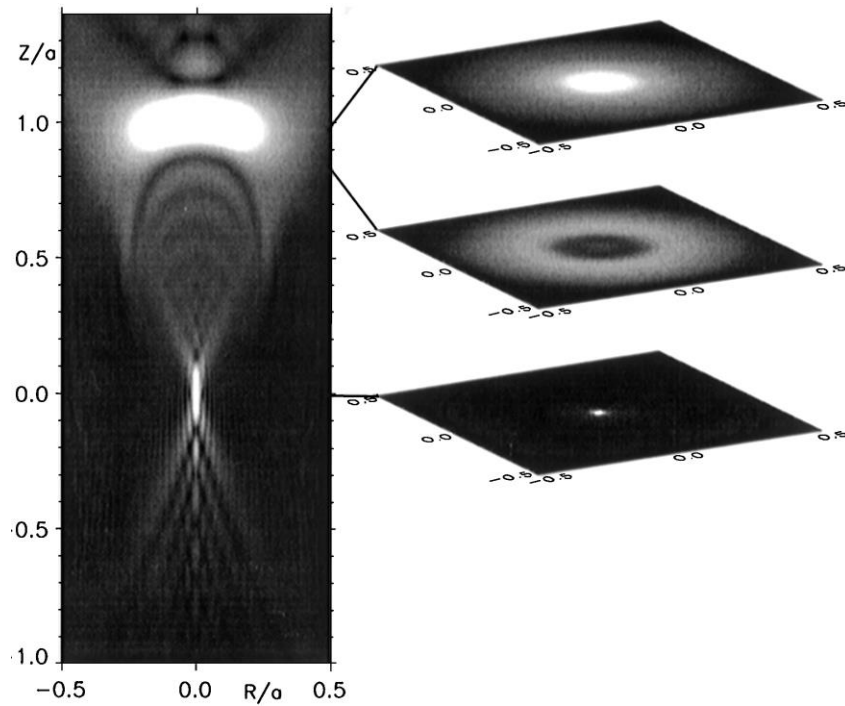
# Формирование изображения сферической частицы в отражательном микроскопе



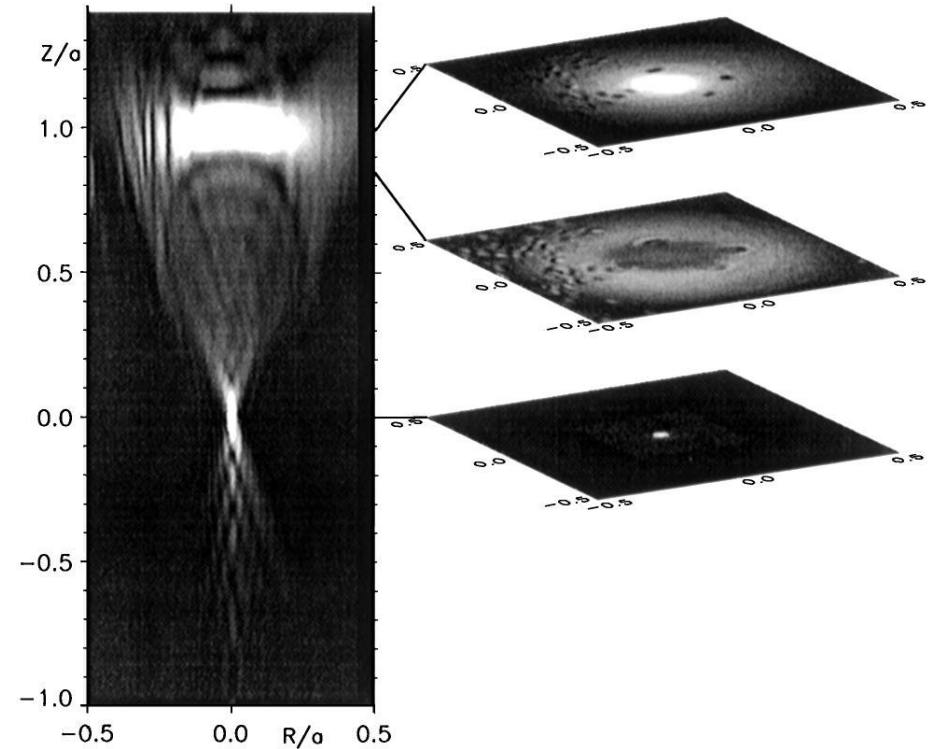
(a) X-Z сканирование через стальную сферу для отражательного микроскопа (OXSAM) на частоте 105 МГц. Радиус сферы составлял 560 мкм. Апертурный угол объектива микроскопа составлял  $26,5^\circ$ .  $Z=0$  соответствует фокусировке к центру сферы. (b) рентгеновское сканирование через стальную сферу для отражательного микроскопа, рассчитанное с тем же параметрами.

P. Zinin, W. Weise, T. Zhai, G. A. D. Briggs and S. Boseck, "Determination of the defocused transfer function of a confocal reflection microscope by imaging of a sphere". *Optik*. **107**(2), 45-48 (1997).

# Формирование изображения сферической частицы в лазерном сканирующем микроскопе



Рассчитанные вертикальное (слева) и боковое (справа) сканирование через идеально отражающую сферу.

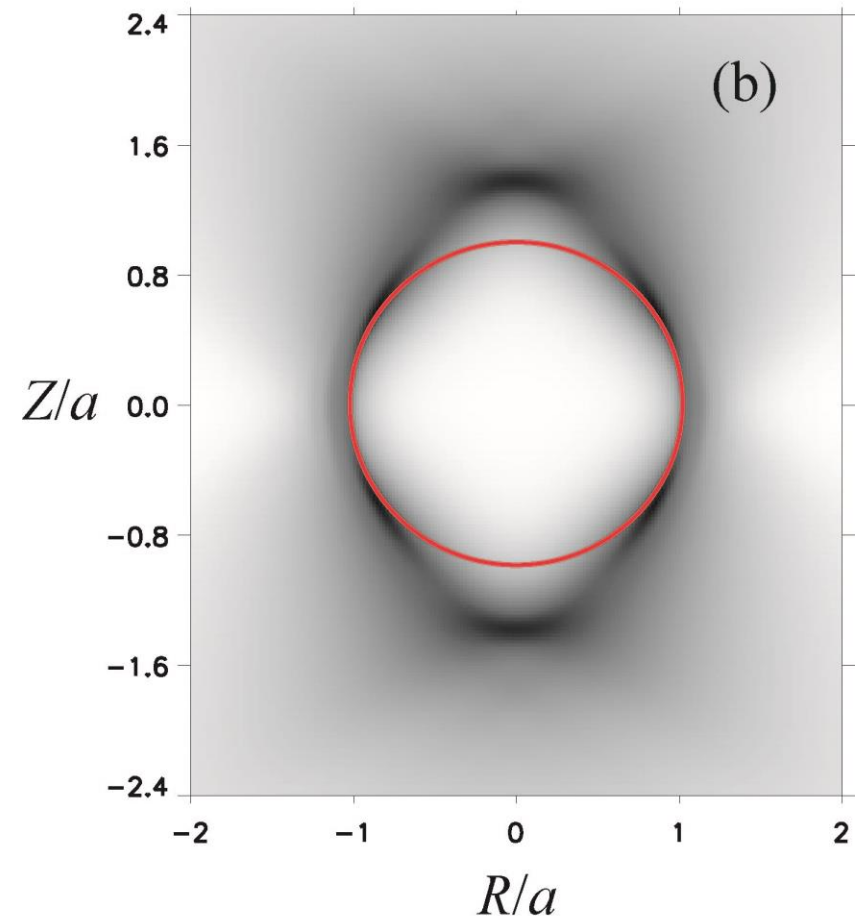
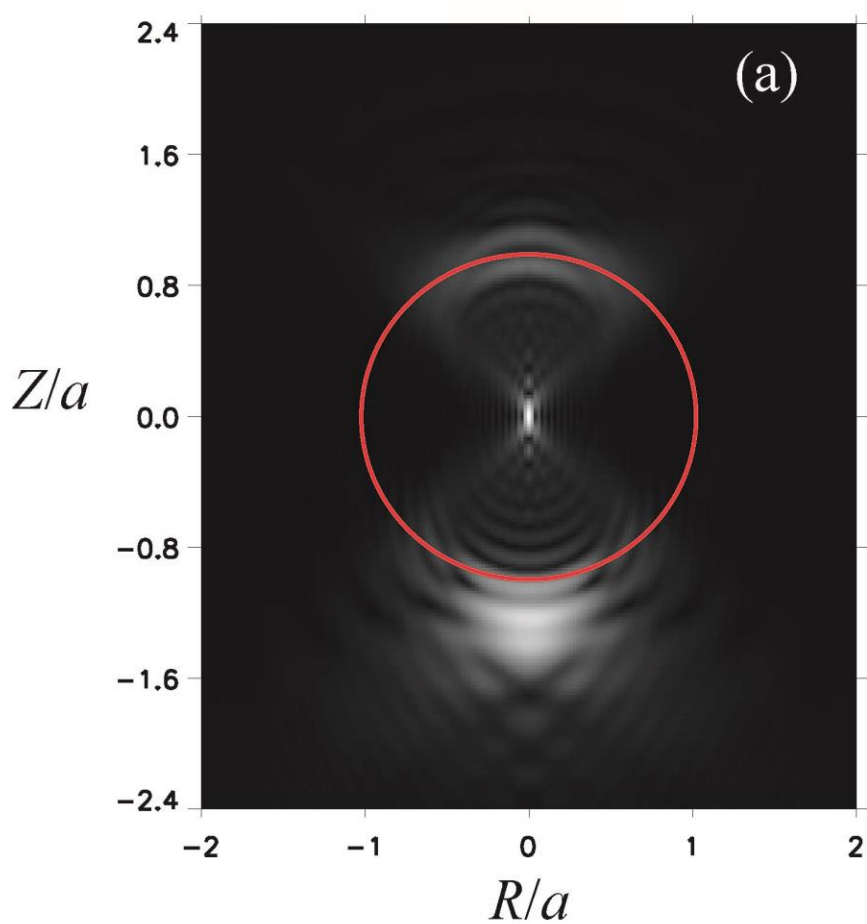


Экспериментальное вертикальное (слева) и боковое (справа) сканирование через стеклянную сферу.

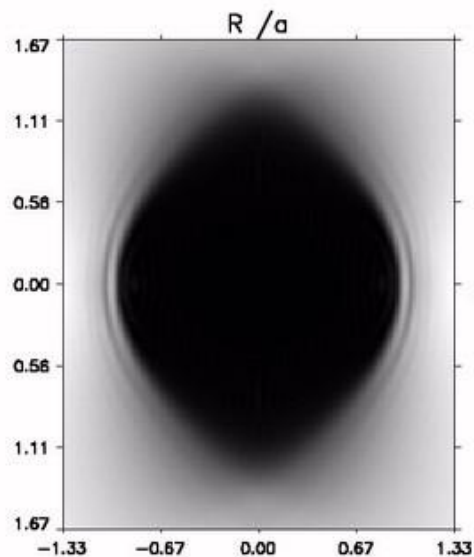
W. Weise, P. Zinin, T. Wilson, G. A. D. Briggs and S. Boseck, "Imaging of spheres with the confocal scanning optical microscope". *Optics Letters*. **21**(22), 1800-1802 (1996).



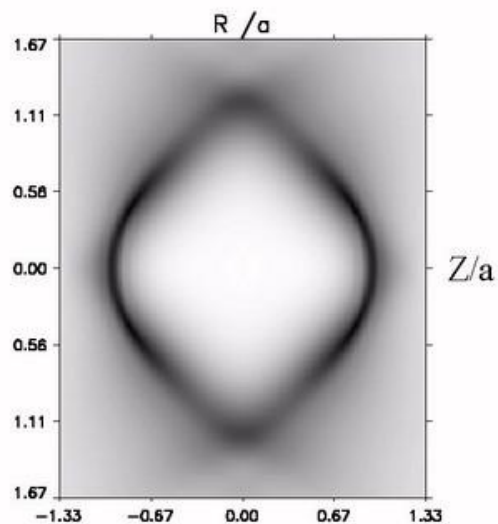
Рассчитанные вертикальные сканы через прозрачную сферу с показателем преломления 1,4 и показателем преломления окружающей жидкости 1,33 (а) отражательный микроскоп с углом апертуры  $30^\circ$ ; (б) пропускающий микроскоп с углом апертуры  $30^\circ$ .



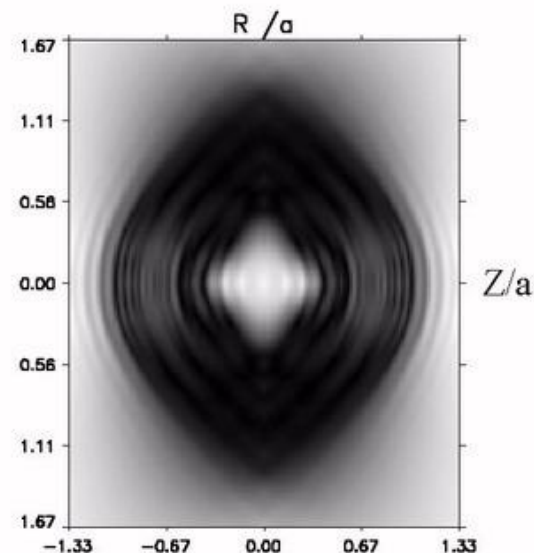
# Формирование изображения сферической частицы в трансмиссионном микроскопе



X-z срез трехмерного изображения стальной сферы.

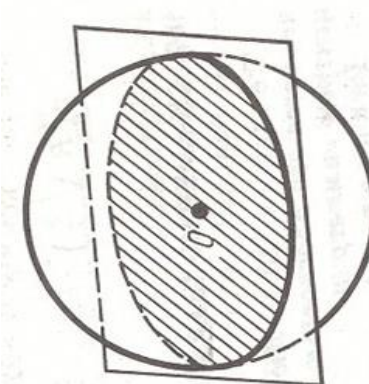


X-z срез трехмерного изображения жидкой (водной) капли.

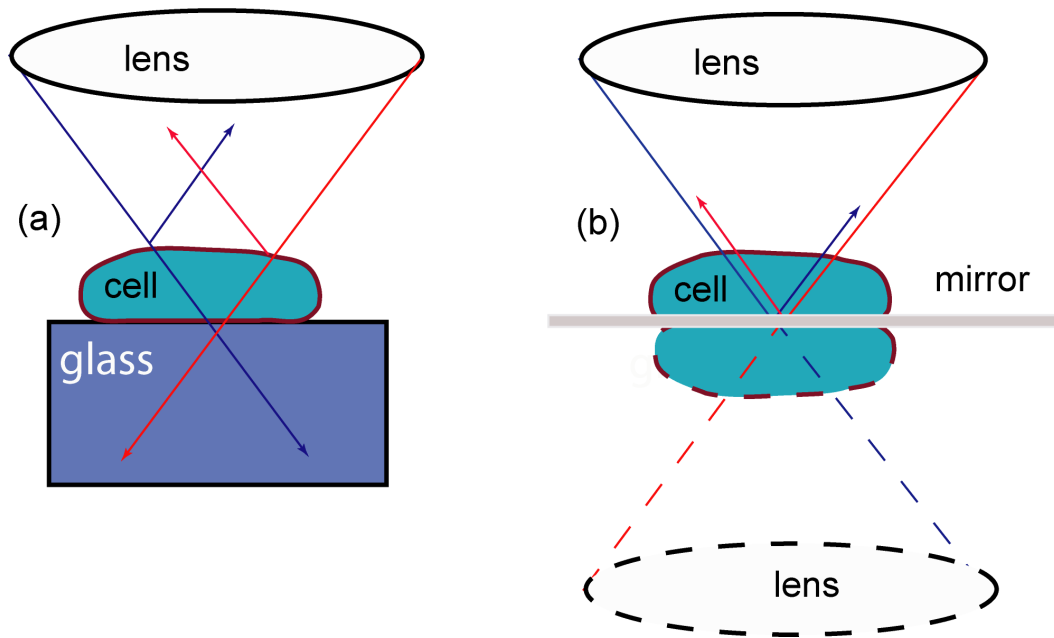


X-z срез трехмерного изображения сферы из плексигласа.

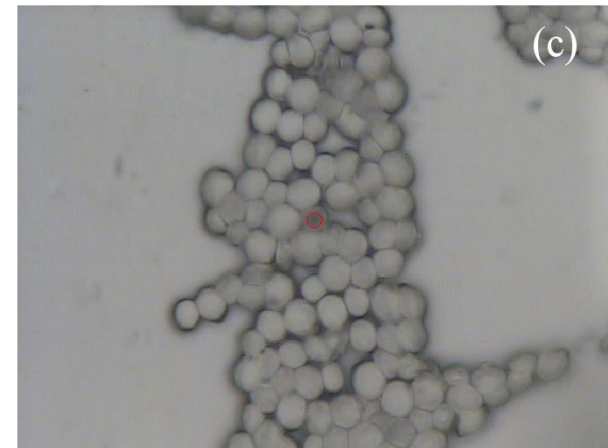
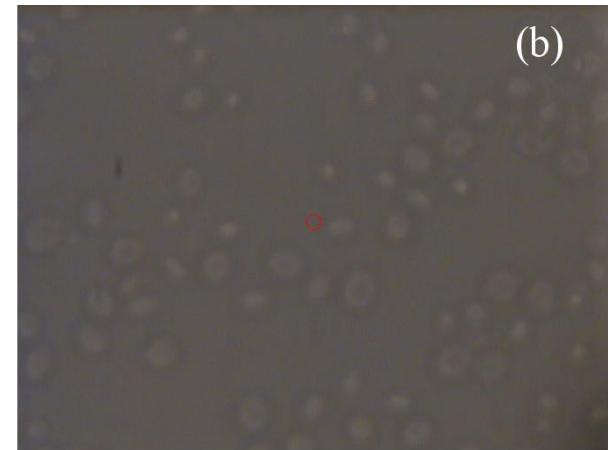
Важным выводом из разработанной нами теории является то, что размер сферической частицы можно определить только по изображению, полученному с помощью просвечивающего микроскопа. Размер изображения сферической частицы в отражателном микроскопе меньше реального размера частицы и равен  $\sin(\alpha)$ , где  $a$  - радиус частицы, а  $\alpha$  - апертурный угол линзы.



# Оптические изображения дрожжевых клеток



Эскиз оптических лучей, когда ячейка (а) прикреплена к стеклянной подложке или (б) к зеркалу.



P. V. Zinin, A. Misra, L. Kamemoto, Q. Yu and S. K. Sharma." Emulated transmission confocal Raman microscopy". *Journal of the Optical Society of America*. **24**(11) 2779-2783 (2007).

# Оптические изображения дрожжевых клеток

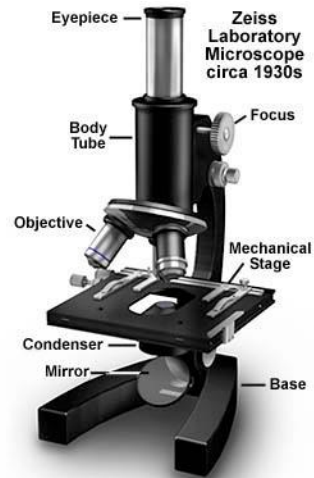
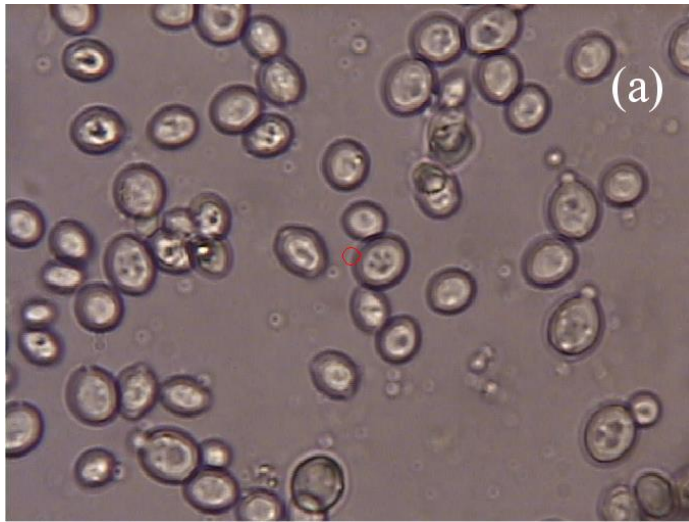
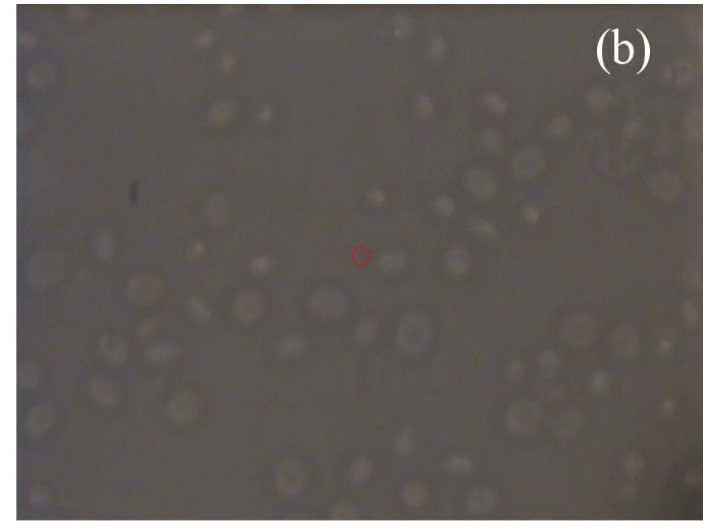


Figure 6

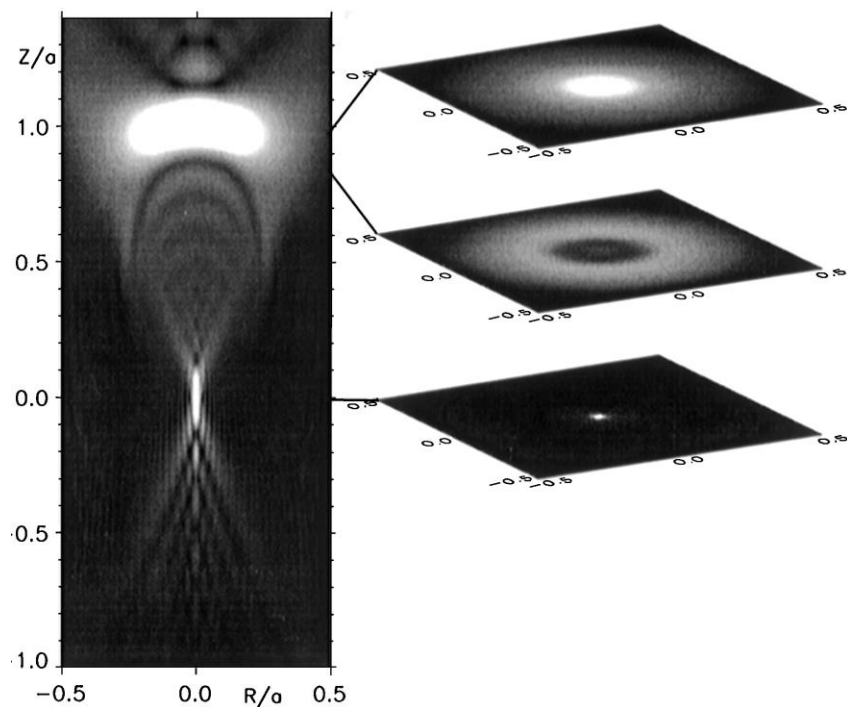


Оптические изображения дрожжевых клеток на стекле (объектив 100x) в режиме пропускания (а), в режиме отражения (б). Красные круги обозначают положение лазерного луча.

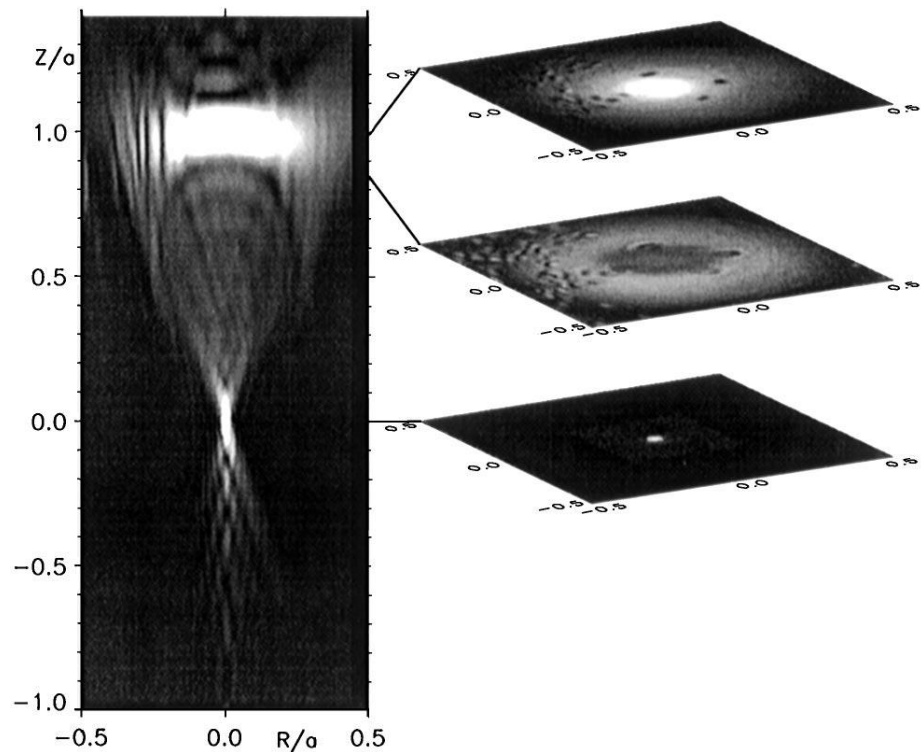
P. V. Zinin, A. Misra, L. Kamemoto, Q. Yu and S. K. Sharma. "Emulated transmission confocal Raman microscopy". *JOSA*. **24**(11) 2779-2783 (2007).



# Формирование изображения сферической частицы в азерном сканирующем микроскопе



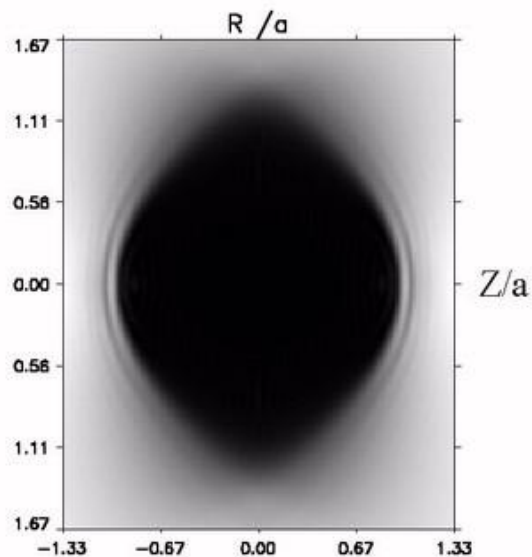
Рассчитанные вертикальное (слева) и боковое (справа) сканирование через идеально отражающую сферу.



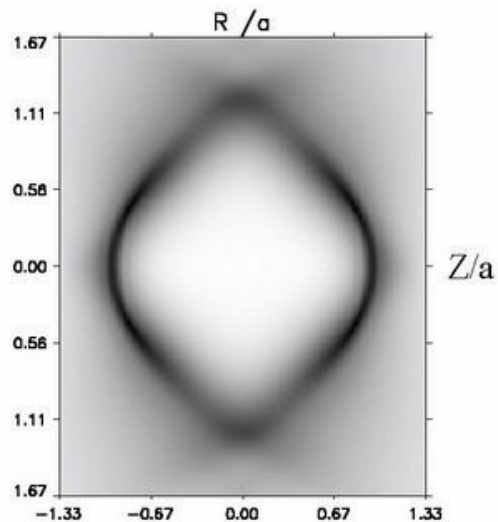
Экспериментальное вертикальное (слева) и боковое (справа) сканирование через стеклянную сферу.

W. Weise, P. Zinin, T. Wilson, G. A. D. Briggs and S. Boseck, "Imaging of spheres with the confocal scanning optical microscope". *Optics Letters*. **21**(22), 1800-1802 (1996).

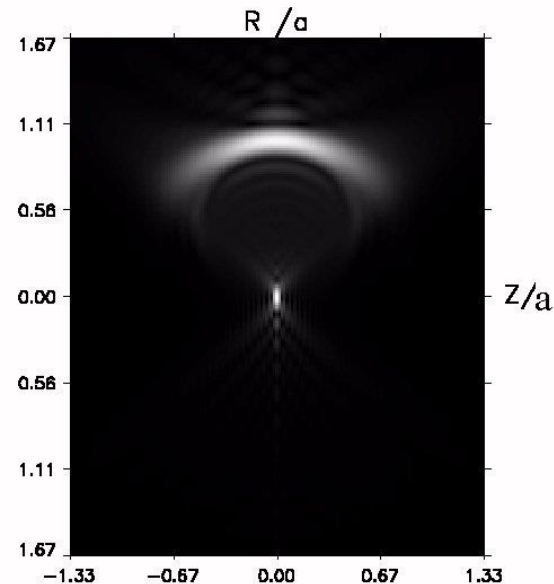
# Формирование изображения сферической частицы в трансмиссионном микроскопе



X-z срез трехмерного изображения стальной сферы.

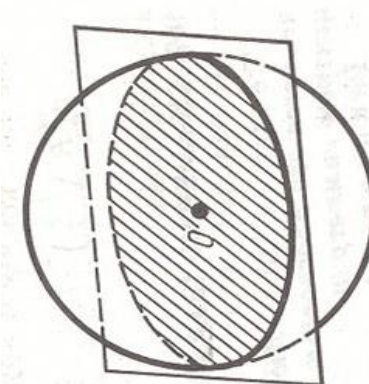


X-z срез трехмерного изображения жидкой (водной) капли.

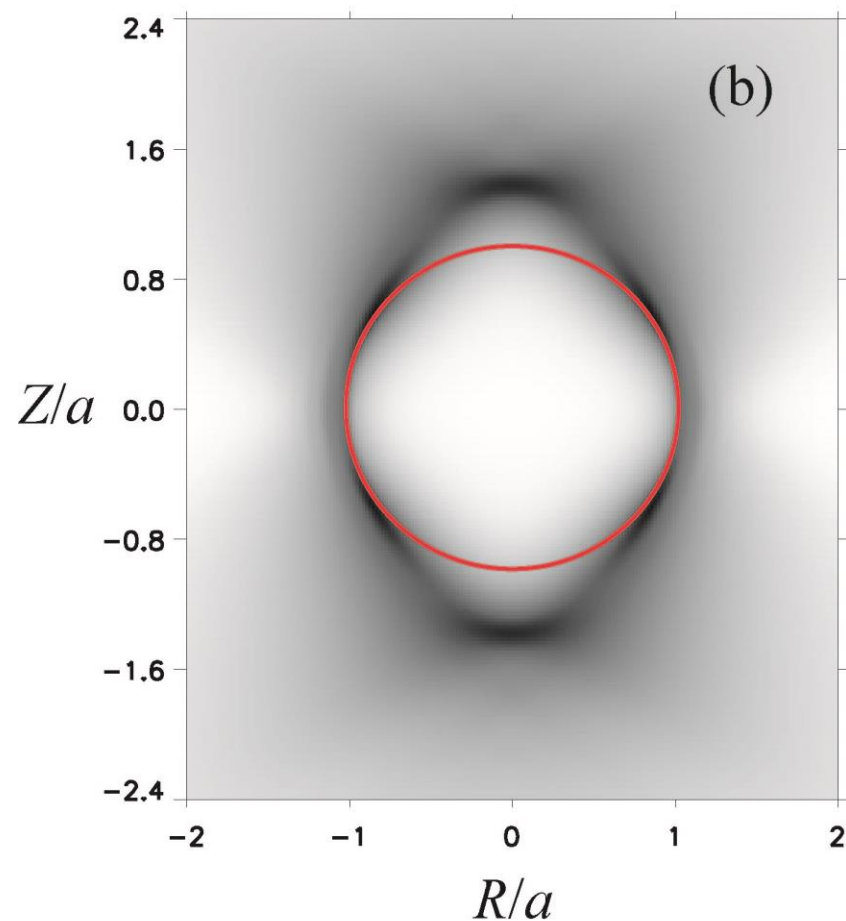
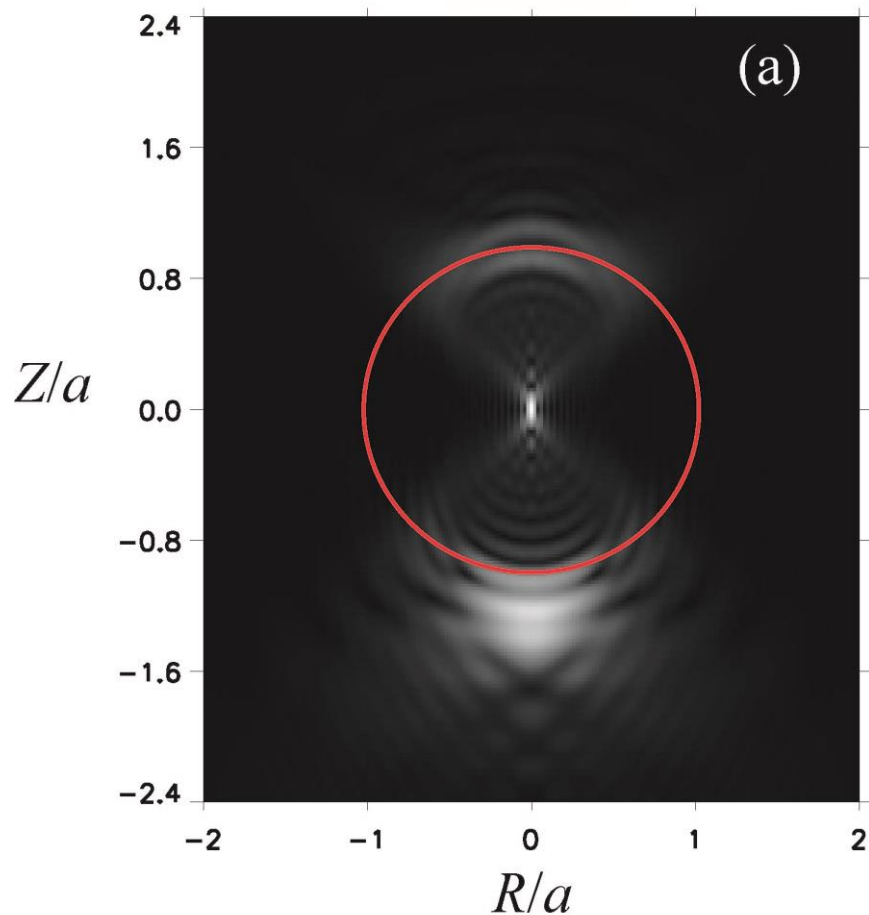


X-z срез трехмерного изображения сферы из стали.

Важным выводом из разработанной нами теории является то, что размер сферической частицы можно определить только по изображению, полученному с помощью просвечивающего микроскопа. Размер изображения сферической частицы в отражателном микроскопе меньше реального размера частицы и равен  $\sin(\alpha)$ , где  $a$  - радиус частицы, а  $\alpha$  - апертурный угол линзы.

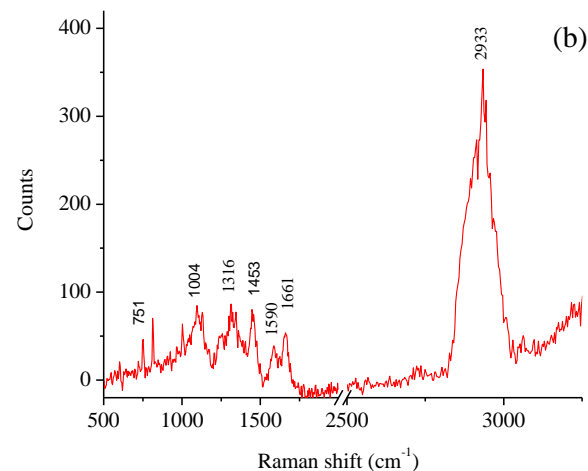
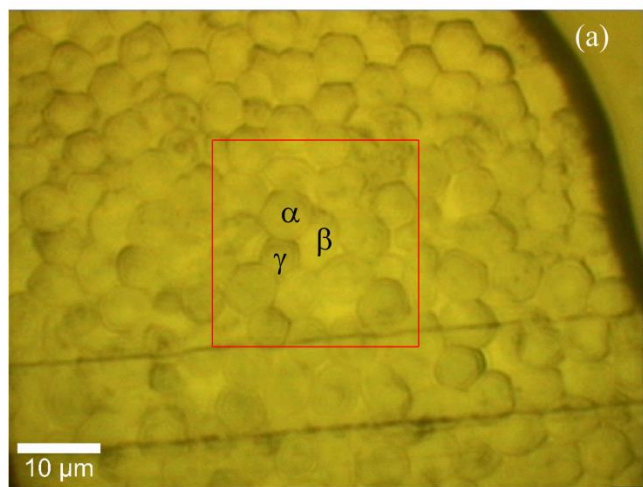


Рассчитанные вертикальные сканы через прозрачную сферу с показателем преломления 1,4 и показателем преломления окружающей жидкости 1,33.



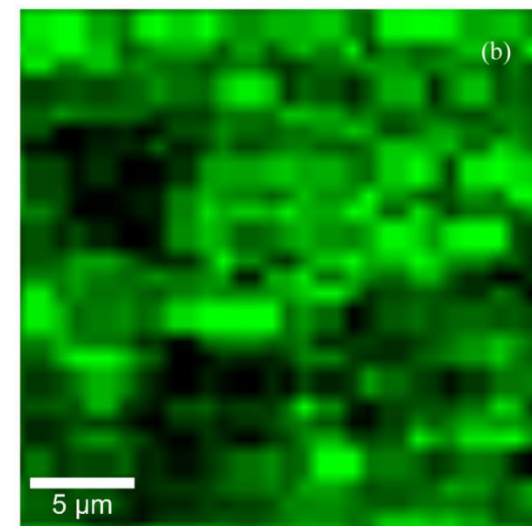
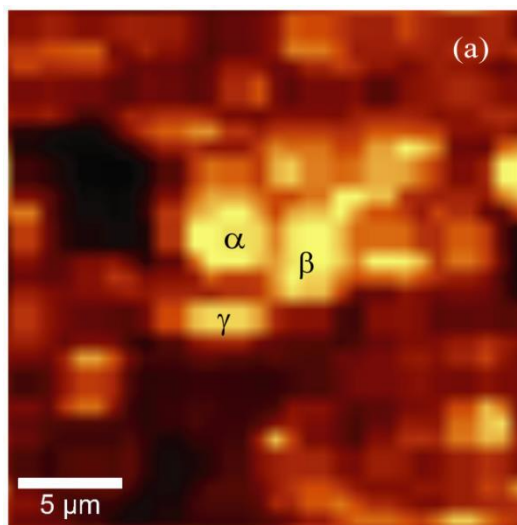
(а) отражательный микроскоп с углом апертуры  $30^\circ$ ; (б) пропускающий микроскоп с углом апертуры  $30^\circ$

# Конфокальная микроскопия комбинационного рассеяния



(a) Оптическое изображение дрожжевых клеток в отражательной конфокальной микроскопии. Прямоугольник показывает область комбинационного отображения. (b) КР спектры ячейки  $\alpha$ , измеренные при возбуждении зелёным лазером (532 нм, WiTec).

(a) Карта интенсивности пика комбинационного рассеяния с центром в  $2933 \text{ cm}^{-1}$ . Интенсивность пика  $2933 \text{ cm}^{-1}$  показана желтым светом. (b) карта интенсивности пика комбинационного рассеяния с центром в  $1590 \text{ cm}^{-1}$ . Интенсивность пика  $1590 \text{ cm}^{-1}$  показана зеленым цветом.





# Заключение и ссылки

- Функция *sinc* - это преобразование Фурье прямоугольной функции.
- Распределение поля в фокальной плоскости представляет собой пространственное преобразование Фурье функции зрачка объектива
- Использование методов Фурье оптики позволяет получить аналитическое решение для изображений трехмерных изображений
- Контраст в отражательной и просвечивающей микроскопии

## Ссылки

1. J. W. Goodman. "Introduction to Fourier Optics", Second Edition,, McGraw-Hill, (1996).
2. Reynolds, et. al., "The New Physical Optics Notebook: Tutorials in Fourier Optics", SPIE, 1989
3. G. Fowles, "Introduction to Modern Optics", 2nd edition, Dover, 1989
4. T. Wilson and C. J. R. Sheppard . "Theory and Practice of Scanning Acoustic Microscopy. Academic Press. (1984)
5. P. Zinin and W. Weise, "Theory and applications of acoustic microscopy", in T. Kundu ed., *Ultrasonic Nondestructive Evaluation: Engineering and Biological Material Characterization*. CRC Press, Boca Raton, chapter 11, 654-724 (2004).
6. P. Zinin, W. Weise, O. Lobkis and S. Boseck, "The theory of three dimensional imaging of strong scatterers in scanning acoustic microscopy". *Wave Motion*, **25**(3), 212-235 (1997).
7. W. Weise, P. Zinin, T. Wilson, G. A. D. Briggs and S. Boseck, "Imaging of spheres with the confocal scanning optical microscope". *Optics Letters*. **21**(22), 1800-1802 (1996).