Universidad de la República
Facultad de Ingeniería
PEDECIBA

Tesis de Doctorado presentada al Programa de Posgrado en Física, Facultad de Ingeniería de la Universidad de la República, como parte de los requisitos necesarios para obtener el título de Doctor en Física por

Msc. Matías Fernández Lakatos

Visualización y Caracterización de Objetos de Fase

Directores de Tesis

Dr. José A. Ferrari ..... Universidad de la República

Dra. Erna Frins ..... Universidad de la República

Dr. Gastón A. Ayubi ..... Universidad de la República

Tribunal

Dr. Daniel Perciante ..... Universidad Católica del Uruguay

Dra. Silvia Ledesma ..... Universidad de Buenos Aires

Dr. Jorge Luis Flores ..... Universidad de Guadalajara

Dra. Julia Alonso ..... Universidad de la República

Dra. Erna Frins ..... Universidad de la República

Dr. Ismael Núñez ..... Universidad de la República

Montevideo
17 de mayo de 2024

Yo: “Y qué voy a hacer?”
Pepe: “No sé, veremos... Algo va a salir.”

AGRADECIMIENTOS

Contemplar una pintura desde la distancia, especialmente una de estilo impresionista, nos permite apreciar una imagen completa y armoniosa. De manera similar, esta tesis presenta una visión integral de mi trabajo. Sin embargo, al acercarnos, nos encontramos con una multitud de pinceladas que parecen desconectadas entre sí. Cada una de estas pinceladas representa el apoyo, las interacciones, los consejos y demás contribuciones que han dado forma a este trabajo. Con esta metáfora en mente, quiero expresar mi sincero agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

A mi familia más cercana: mis padres, Marión Victoria Lakatos y Álvaro Fernández; mi hermana, Maite; y mi tía Marta. El respaldo constante que me han brindado ha sido fundamental para moldear la persona en la que me he convertido hoy en día.

A mi esposa, Cecilia Pedemonte, cuyo apoyo inquebrantable ha sido fundamental en este proceso. A mi hija, a quien pronto conoceré, ha sido una fuente de inspiración y motivación para dar cierre a este proceso. También quiero agradecer a Corita, mi perra, quien, aunque no puede comprender estas palabras, las quiero manifestar.

A mi familia no sanguínea, cuyo apoyo y compañía han sido invaluables desde el primer día de mi vida.

A la sala 20, que ha mutado enormemente pero con quienes sigo contando.

A mis tutores, José “Pepe” Ferrari, Erna Frins y Gastón A. Ayubi, quienes han sido guías excepcionales en este camino hacia el doctorado. A Jorge Flores, quien me recibió en México y enseñó otra universidad junto con un montón de experimentos y enseñanzas muy útiles para este trabajo. A Nicolás Casaballe, por darme una mano siempre que la necesitaba.

A Jimena Rodríguez, quien me ha salvado mil y una veces de todos los trámites burocráticos realizados a lo largo de este trabajo y quien siempre me dio su apoyo. A Antonio y Joaquín, mecánicos del instituto de Física, quienes supieron resolver de forma muy ingeniosa todos los temas que les traía.

A los distinguidos miembros de este tribunal, por aceptar la responsabilidad de evaluar mi trabajo y brindar valiosas sugerencias para su mejora.

Agradezco también el apoyo económico proporcionado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), el Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA), la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), el Instituto de Física de la Facultad de Ingeniería y de la Universidad de la República (UdelaR).

Ah, y a Juan Diego Young, que me ha ayudado tanto en esta trayectoria como a decidir qué hacer a continuación.

Por último, quiero expresar mi gratitud a todas las personas que, de una forma u otra, han estado presentes en mi día a día, brindándome ánimo y apoyo.

A todas estas personas e instituciones, mi más sincero agradecimiento. Sin su ayuda, este trabajo no habría sido posible.

A Francisca

ABSTRACT

The present thesis focuses on advancing quantitative phase imaging methods, aiming to visualize and quantify the modulation in the phase of a light beam caused by transparent or semi-transparent objects, referred to as phase objects. The theme is developed with particular interest in its application in real-time microscopy, taking into account the dynamism of the samples under study. These methods offer an analysis of biological tissues without the need for sample staining, allowing for the characterization of transparent cellular structures non-invasively, by utilizing the relationship between the refractive index and the phase shifts generated in the propagation of a wave through the sample.

Studying phase objects is important due to the various applications it has, including disease monitoring based on molecular profiles, detection of malformations, and tracking cellular or tissue responses to different drugs, among others. The mentioned methods extend beyond microscopy, for instance, they can be applied to the analysis of internal structures of large organisms using X-rays or the characterization of surfaces in assembly lines.

Despite their promising applications, current methods face challenges such as reducing the halo effect, increasing the acquisition speed and calculation of phase information, developing three-dimensional reconstructions of the sample's refractive index, and significantly reducing the error associated with coherent noise. These challenges represent key areas of research and development in the field of quantitative phase imaging.

In this work, new methods and algorithms for the characterization of phase objects applied to microscopy are proposed and experimentally validated, but not limited to this area. Two innovative methods of quantitative phase reconstruction based on differential image acquisition are presented [1, 2], as well as algorithms for integrating these images. Most of these works have already been published and presented at conferences [3], while one of them is under review [4]. Also included is an article that demonstrates the equivalence between previously considered independent methods [5].

These works were carried out within the framework of this doctorate where the methodology and experiments to be carried out are designed; alignment, calibration, formal analysis, and validation of the results are performed; relevant codes are developed; and a continuous review of the literature is achieved to finally synthesize all this work in the writing of a manuscript.

Key words: Quantitative Phase Retrieval, Quantitative Phase Imaging, Phase retrieval, phase measurement, TIE, X-ray imaging, Image reconstruction technique, Microscopy.

RESUMEN

La presente tesis se enfoca en avanzar en los métodos de imagenología de fase cuantitativa, con el propósito de visualizar y cuantificar la modulación en la fase de un haz de luz causada por objetos transparentes o semitransparentes, denominados objetos de fase. La temática se desarrolla con especial interés en su aplicación en microscopía a tiempo real, tomando en cuenta el dinamismo de las muestras bajo estudio. Estos métodos ofrecen un análisis de tejidos biológicos sin necesidad de tinción de la muestra, permitiendo caracterizar estructuras celulares transparentes de manera no invasiva, haciendo uso de la relación entre el índice de refracción y los desfasajes que se generan en la propagación de una onda a través de la muestra.

El estudio de objetos de fase es importante dadas las diversas aplicaciones que tiene, abarcando el monitoreo de enfermedades basado en perfiles moleculares, la detección de malformaciones y el seguimiento de respuestas celulares o tisulares a diferentes fármacos, entre otros. Los métodos mencionados se extienden más allá de la microscopía, pudiendo aplicarse, por ejemplo, en el análisis de estructuras internas de grandes organismos mediante rayos X o en la caracterización de superficies en líneas de ensamblaje.

A pesar de sus prometedoras aplicaciones, los métodos actuales enfrentan desafíos como la reducción del efecto halo, el aumento en la velocidad de adquisición y cálculo de la información de fase, el desarrollo de reconstrucciones tridimensionales del índice de refracción de la muestra y la significativa reducción del error asociado al ruido coherente. Estos desafíos representan áreas clave de investigación y desarrollo en el campo de la imagenología de fase cuantitativa.

En este trabajo, se proponen y validan experimentalmente nuevos métodos y algoritmos para la caracterización de objetos de fase aplicados a microscopía, pero no limitados a esta área. Se presentan dos métodos innovadores de reconstrucción cuantitativa de fase basados en la adquisición imágenes diferenciales [1, 2], así como algoritmos para la integración de dichas imágenes. La mayoría de estos trabajos ya han sido publicados y presentados en conferencias [3], mientras que uno de ellos se encuentra en proceso de revisión [4]. También se incluye un artículo que prueba la equivalencia entre métodos previamente considerados independientes [5].

Estos trabajos fueron planteados en el marco de este doctorado donde se diseña la metodología y los experimentos a llevar a cabo; se realiza la alineación, la calibración, el análisis formal y la validación de los resultados; se desarrollan los códigos pertinentes; y se logra una revisión continua de la literatura para finalmente sintetizar todo este trabajo en la escritura de un manuscrito.

Palabras claves: Determinación de fase cuantitativa, Imagenología de fase cuantitativa, Recuperación de fase, Medición de fase, TIE, Imagenología de rayos X, Técnica de reconstrucción de imagen, Microscopía.

ÍNDICE GENERAL

Abstract ix
Resumen xi
1 Introducción 1
1.1 Antecedentes Históricos . . . 1
1.2 Avances Recientes . . . 3
1.3 Potencial de las técnicas de Imagenología de Fase Cuantitativas . . . 7
1.4 Objetivo de la presente Tesis . . . 7
2 Fundamentos 9
2.1 Objetos de Fase . . . 9
2.1.1 Índice de Refracción y Masa del Objeto de Estudio . . . 11
2.2 La Luz como Radiación Electromagnética . . . 11
2.2.1 Ecuaciones de Maxwell . . . 12
2.3 Óptica de Fourier y Propagación de la Luz . . . 13
2.3.1 Teoría de la Propagación de la Luz . . . 14
2.3.2 Formulación de Rayleigh-Sommerfeld . . . 15
2.3.3 Aproximación de Fresnel-Kirchhoff . . . 16
2.3.4 Aproximación de Fraunhofer-Kirchhoff . . . 18
2.3.5 Sistema de una Lente . . . 18
2.3.6 Sistema óptico $4f$ . . . 20
2.3.7 Difracción por una Abertura Rectangular . . . 21
2.3.8 Red de Difracción . . . 22
2.3.9 Ecuación de Transporte de Intensidad . . . 23
2.4 Algoritmos de Desplazamiento de Fase . . . 25
2.5 Extracción de Fase en el Dominio de Fourier . . . 27
2.6 Integración . . . 29
2.6.1 Método de Mínimos Cuadrados . . . 30
2.6.2 Algoritmo de Integración de Frankot y Chellappa . . . 30
2.6.3 Integración a partir de una Derivada . . . 31
3 Primer Artículo 35
3.1 Arreglo Experimental . . . 35
3.2 Adquisición y Procesamiento . . . 36
3.3 Calibración . . . 37
3.3.1 Error . . . 37
3.4 Resultados . . . 38
4 Segundo Artículo 49
4.1 Fundamento teórico . . . 49
4.2 Arreglo Experimental . . . 51
4.2.1 Estudio a Nivel Macroscópico . . . 52

4.2.2 Estudio a Nivel Microscópico . . . 52
4.3 Observaciones especiales sobre la Configuración Experimental . . . 53
4.4 Adquisición y Procesamiento . . . 54
4.5 Resultados . . . 56
5 Tercer Artículo 69
5.1 Fundamento Teórico . . . 70
5.1.1 Obtención de la Derivada Parcial . . . 70
5.1.2 Integración con una Derivada . . . 71
5.1.3 Obtención del Parámetro de Regularización . . . 71
5.2 Resultados . . . 72
5.2.1 Resultados Experimentales (Muestra 1) . . . 72
5.2.2 Resultados Experimentales (Muestra 2) . . . 74
6 Cuarto Artículo 83
6.1 Fundamento Teórico . . . 83
6.1.1 Caracterización del Ruido . . . 84
6.2 Resultados . . . 85
6.2.1 Simulación con Ruido Aditivo Gaussiano . . . 85
6.2.2 Caracterización del Ruido a partir de una Imagen . . . 87
7 Quinto artículo 107
8 Conclusiones 115
8.1 Trabajos Futuros y Desafíos . . . 116
A Material Adicional: Primer Artículo 119
A.1 Escala Transversal . . . 119
A.2 Más Sobre Fundamento Teórico . . . 119
A.2.1 Montaje con Objeto de Fase y Máscara Uniforme . . . 120
A.2.2 Montaje con Objeto de Fase y Máscara Con Escalón Desenfocado . . . 120
A.3 Interpolación . . . 121
B Material Adicional: Segundo Artículo 123
B.1 Interpretación Geométrica de la Ec. (9) . . . 123
B.2 Elaboración y Disposición de las Máscaras Sinusoidales Discretas . . . 124
B.2.1 Distancia Respecto al Objeto de Fase . . . 124
B.2.2 Restricción de Frecuencias . . . 125
B.2.3 Contraste de la Sinusoide y Ajuste Automático . . . 125
B.3 Propiedades Utilizadas . . . 125
C Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio 127
C.1 Alineación . . . 127
C.1.1 Lentes y LCD . . . 127
C.1.2 Cámara . . . 128
C.1.3 Muestra . . . 128
C.1.4 Diafragma . . . 129
C.1.5 Microscópico utilizando una Configuración de Lentes $4f$ . . . 129
C.2 Determinación de la Escala Transversal . . . 131
C.3 Bibliografía . . . 131

D Declaración de Autoría 133
D.1 Artículo n: 1 . . . 133
D.2 Artículo n: 2 . . . 135
D.3 Artículo n: 3 . . . 136
D.4 Artículo n: 4 . . . 137
D.5 Artículo n: 5 . . . 140

1

INTRODUCCIÓN

En la Sec. 1.1 se presenta un resumen histórico de la microscopía partiendo de las primeras observaciones microscópicas hasta técnicas actuales de reconstrucción cuantitativa de la fase. En la Sec. 1.2 se desarrollan algunas categorías de los métodos que surgieron en el presente siglo, junto con la descripción de los que consideramos más relevantes para este trabajo. En la Sec. 1.3 se presenta el potencial que posee el desarrollo de las técnicas de imagenología de fase cuantitativa (QPI: "Quantitative Phase Imaging"). Se finaliza con la Sec. 1.4, en donde se muestran los objetivos de la presente tesis junto con su estructura.

1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El primer microscopio (documentado) fue inventado por Zacharias Janssen, un fabricante de lentes holandés alrededor del año 1590. No es extraño que la calidad de la imagen no resultara muy buena, pero sienta el comienzo del descubrimiento de un nuevo mundo: la microscopía. Más de medio siglo después, el científico inglés Robert Hooke, valiéndose de un microscopio de creación propia con una magnificación de entre 20 y 50 veces el tamaño de la muestra observada, publica su libro en el año 1665 llamado Micrographia [6]. En dicho libro describe y dibuja las estructuras que observó al examinar una delgada sección de corcho. Las estructuras que vio se parecían a las celdas de un monasterio, por lo que las llamó "células".

El médico y botánico Robert Brown, conocido por el descubrimiento del movimiento de agitación de las partículas en la superficie del agua (movimiento browniano), publica en 1831 un trabajo sobre las orquídeas y otras flores [7]. En dicho trabajo, Brown describe sus observaciones de células vegetales y señala la presencia de una estructura central distintiva en el interior de las células, que más tarde se denominó "núcleo".

A medida que la ciencia y los científicos de la época se iban adentrando en este mundo microscópico, los elementos que se observaban presentaban un menor contraste entre éstos y el medio en donde se encontraban. Esa ausencia casi total de contraste impedía observar de forma nítida detalles presentes en las muestras observadas. Durante el sigo XIX y comienzos del XX se desarrollaron técnicas de tinción [8, 9] que permitieron a los científicos visualizar componentes celulares específicos, como el núcleo, las mitocondrias y hasta los lisosomas.

Los métodos de tinción continuaron mejorándose, siendo utilizados hasta el día de hoy. Estos métodos funcionan mediante la aplicación de colorantes o tintes aplicados sobre una muestra

biológica con el fin de resaltar ciertas estructuras o componentes celulares específicos. Es común que los colorantes tengan alguna afinidad específica por los materiales celulares, ya sea eléctrica o solubles en algún medio específico.

No obstante, los métodos de tinción presentan la desventaja de ser invasivos y hasta destructivos, lo que conlleva a la alteración de la muestra. En casos donde se trabaja con especímenes vivos, esta invasión tiene efectos tóxicos sobre ellos.

Una técnica más actual que también busca resaltar un elemento particular de la muestra siendo estudiada, es la fluorescencia. Un caso particular es la autofluorescencia, en donde se aprovecha el fenómeno en el que ciertos materiales emiten luz fluorescente cuando son excitados por la luz de ciertas longitudes de onda, sin la necesidad de utilizar un agente fluorescente externo. Por otro lado, cuando se utilizan agentes externos, éstos tienen afinidad por ciertos componentes celulares como: proteínas, ácidos nucleicos, lípidos o carbohidratos, lo que les permite unirse selectivamente a estas estructuras y hacerlas visibles bajo el microscopio. Un resultado significativo reside en la capacidad de estos métodos para facilitar la observación de estructuras específicas, dado que los agentes de fluorescentes se vinculan selectivamente a determinadas sustancias.

Pese a estas ventajas, en algunos casos la muestra puede sufrir lo que se conoce como fototoxicidad por la exposición a luz intensa. Además, debido a la afinidad específica del agente de tinción con una sustancia particular, estos métodos limitan la capacidad de observar características más generales de la muestra, como la estructura en su totalidad. Aunque estos métodos pueden utilizarse para analizar el comportamiento de un componente celular durante un intervalo de tiempo específico, no permiten la medición de las dimensiones de las muestras estudiadas.

En 1934 el físico holandés Frits Zernike desarrolla una técnica de contraste de fase [10, 11] para la visualización de objetos de fase sin la necesidad de tinción. Este método, permitió la observación de células vivas y otros objetos de fase con detalles sin precedentes, utilizando un microscopio adaptado. Este descubrimiento le valió del premio novel de Física en el año 1953. La técnica se basa en la interferencia entre el haz de iluminación con los haces desviados en los bordes de la muestra, permitiendo la visualización de objetos transparentes sin la necesidad de tinción.

Dos décadas después, el físico polaco Georges Nomarski propone un nuevo método buscando resaltar el contraste de la muestra creando el microscopio de contraste de interferencia diferencial (DIC: “Differential Interference Contrast”) [12, 13]. La idea reside en la división de un haz de luz en dos haces coherentes que luego atraviesan la muestra por caminos ligeramente diferentes. Cuando estos haces se combinan nuevamente, la diferencia de fase entre ellos genera una imagen con mayor contraste debido a la interferencia.

Los métodos de contraste de fase representaron avances significativos en la búsqueda de mejorar el contraste de las imágenes adquiridas, aunque aún no ofrecían un medio para cuantificar con precisión el camino óptico o el índice de refracción de la muestra (proporcionalmente asociado a la masa seca, ver Sec. 2.1.1). En 1983, el físico Michael R. Teague presentó su investigación sobre la ecuación del transporte de intensidad (TIE: “Transport of Intensity Equation”) [14]. Un año más tarde, el físico alemán Norbert Streibl detalló cómo obtener información de la fase

utilizando imágenes [15], lo que allanó el camino para que, en 1988, Takeda et al. publicaran uno de los primeros trabajos en los que la fase era reconstruida cuantitativamente mediante técnicas de Fourier [16].

Esta investigación pronto fue seguida por otros avances significativos, como su aplicación a rayos X en 1996 [17], la utilización de la transformada rápida de Fourier para la integración de la imágenes en 1997 [18], y el empleo de fuentes parcialmente coherentes para la iluminación de los sistemas en 1998 [19]. Simultáneamente, otros métodos con luz coherente comenzaron a desarrollarse, como la holografía digital en 1998 [20] y 1999 [21].

Esta descripción histórica tiene como objetivo enmarcar el trabajo de la tesis, sin aspirar a ser una narración exhaustiva de todas las técnicas desarrolladas hasta el momento. Para hacerle honor a la amplia variedad de investigaciones y métodos que han contribuido a los conocimientos actuales en este campo, sería necesario ampliar esta introducción más allá del alcance previsto para este trabajo de tesis.

1.2 AVANCES RECIENTES

A partir del año 2000 las técnicas para las determinaciones cuantitativas a través de la observación de la fase y sus respectivas mejoras comenzaron a proliferar. Los métodos de reconstrucción cuantitativa de fase pueden separarse, en primera instancia, en interferométricos y no-interferométricos.

Existen varias técnicas interferométricas [20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29] y como sugiere su nombre, implican la superposición y la interferencia de dos haces de luz provenientes de la misma fuente. Estos métodos se basan en la interferencia entre un haz que atraviesa la muestra y otro de referencia. En general estas técnicas emplean una fuente de luz coherente, lo que conduce a la presencia de ruido coherente [30], también conocido como speckle. Además, presentan ciertas desventajas, como una elevada sensibilidad a las perturbaciones del entorno, tales como cambios de temperatura y vibraciones mecánicas, así como la complejidad experimental y los requerimientos de una alineación precisa. No obstante, estos sistemas pueden ofrecer una excelente resolución de la fase gracias a su capacidad para detectar pequeñas variaciones de fase con gran sensibilidad.

Por otro lado, las técnicas no interferométricas poseen una mayor simplicidad y robustez experimental. Esto se traduce generalmente a un menor costo en los sistemas ópticos utilizados y una menor susceptibilidad a las perturbaciones del entorno. Estas características las hacen versátiles para una variedad de aplicaciones que no están restringidas a entornos controlados, como laboratorios.

Algunas técnicas de QPI no interferométricas utilizan luz coherente por lo que contarán siempre con speckle [31]. Este es el caso de técnicas como la microscopía de fase de Fourier [32, 33] (FPM: Fourier Phase Microscopy), microscopía de fase de Hilbert [34], microscopía holográfica digital [35, 36] (DHM: Digital Holographic Microscopy), microscopía de fase de difracción [37, 38] (DPM: Diffraction Phase Microscopy), microscopía de interferencia de luz espacial [24] (SLIM: Spatial Light Interference Microscopy) o basadas en relaciones de Kramers-Kronig [39, 40]. Existen variaciones utilizando luz incoherente para los métodos de SLIM [41],

FPM [42], DHM [43], DPM [44], pero salvo el método SLIM, los otros tres métodos se benefician enormemente de la luz coherente, incluso eliminando la aparición de ciertos artefactos [45].

De igual manera, existen procedimientos ampliamente reconocidos para la reconstrucción de la fase que no utilizan interferometría ni luz coherente. Algunos ejemplos son la técnica de: Fourier Ptychography (FP) [46, 47, 48, 49], microscopía de frente de onda con rejilla cruzada (CGM: Cross-grating wavefront microscopy) [50, 51, 52, 53], contraste de fase diferencial (DPC: Differential Phase Contrast) [54], basados en la TIE [19, 55, 56, 57] y microscopía con desplazamiento de fase (PSM: Phase Shifting Microscopy, designación exclusiva de este trabajo) [2]. A continuación, se describen de forma somera estos métodos, incluido el método de SLIM, considerados los más relevantes para este trabajo debido a nuestra restricción al uso exclusivo de luz parcialmente coherente espacial, así como sus características principales, ventajas y desventajas. Una síntesis de esta y otras técnicas se muestra en la Tabla 1.1, basada en el trabajo de Chaumet et al. [45].

FP es un método basado en iluminación modulada. Para su aplicación se ilumina la muestra desde varios ángulos, llamado “campo extendido”. Se requiere adquirir múltiples imágenes de la muestra, cada una iluminada desde una posición diferente del campo extendido. Las imágenes adquiridas se utilizan para reconstruir la muestra mediante un algoritmo de procesamiento de imágenes basado en la transformada de Fourier. Este algoritmo utiliza la información de fase de cada imagen y las combina para obtener una imagen de mayor resolución que la obtenida con la iluminación convencional utilizando únicamente una fuente central fija. Sin embargo, un aspecto negativo está vinculado a la cantidad de imágenes necesarias para reconstruir la fase, lo que a su vez genera un aumento en el tiempo de adquisición y requiere de un trabajo de calibración intensivo.

CGM es una técnica de microscopía basada en la modificación del frente de onda cercano al plano imagen mediante una grilla para modular la fase. Esta grilla genera interferencias en la cámara, la que a través de un filtrado en el dominio de Fourier, posibilita la reconstrucción del frente de onda. La demodulación en Fourier conlleva la desventaja de producir una pérdida de definición. La distancia entre la grilla y la cámara puede ser modificada, otorgándole al método un grado de libertad. Si bien aumentar esta distancia disminuye el error, su valor no puede crecer indefinidamente debido a la aparición de patrones no deseados asociados a la forma de la grilla. Por consiguiente, se establece un compromiso entre el nivel de ruido y la precisión de la reconstrucción. Una ventaja considerable de este enfoque es su capacidad para llevar a cabo la reconstrucción utilizando una única imagen.

DPC es un método basado también en iluminación modulada. Requiere la captura de al menos cuatro imágenes con diferentes ángulos de iluminación. Al procesar estas imágenes, se obtiene el producto de la transformada de Fourier de la fase y de la función de transferencia. Para recuperar la fase, es necesario emplear un método de regularización debido a la aparición de valores cercanos a cero en la transformada de la función de transferencia. Esta regularización tiene como objetivo la reducción de ruido asociado a estos pequeños valores, para lo que se introduce un parámetro de ajuste numérico. Un aumento en el valor de dicho parámetro lleva una disminución en el ruido, pero si es demasiado grande, puede provocar un efecto tipo halo [58]. Para eliminar este efecto y mantener el nivel de ruido bajo se acostumbra promediar varias

	DHM	CGM	DPM	FP	PSM	DPC	PSI	FPM	SLIM	TIE
# Imágenes	1	1	1	4 ↑	8	4	4	4	4	3
Medición	ϕ	$\nabla\phi$	$\nabla\phi$	ϕ	$\partial\phi$	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	$\nabla^2\phi$
Phase-Shifting					✓		✓	✓	✓	
Grados de libertad	0	1	1	1	2	1	1	1	0	1
Iluminación modulada				✓		✓				
Transmitancia (%)	50	44	~25	100	50	100	50	25	25	100
Camino único		✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
Fuente coherente	✓						✓			

Métodos

DHM:	Digitial holographic microscopy
CGM:	Cross-grating wavefront microscopy
DPM:	Diffraction phase microscopy
FP:	Fourier ptychography
PSM:	Phase shifting microscopy
DPC:	Differential phase constrast microscopy
PSI:	Phase shifting interferometry microscopy
FPM:	Fourier phase microscopy
SLIM:	Spatial light interference microscopy
TIE:	Transport of intensity equation microscopy

Tabla 1.1: Tabla explicativa de las principales características de algunos métodos de QPI. "# imágenes" contempla la cantidad de imágenes necesarias para reconstruir la fase. Se refiere con "medición" a lo que el método obtiene. Los métodos con una marca en "Phase-Shifting" utilizan algoritmos de desplazamiento de fase para la reconstrucción de la fase. Los "grados de libertad" corresponden a aquellas variables que pueden ser modificadas en el método y que son intrínsecas al mismo. Los métodos de "iluminación modulada" corresponden a aquellos cuya fase es reconstruida haciendo uso de la forma en que se ilumina la muestra. La "transmitancia" es medida entre la intensidad de la fuente y la aquella que llega a la cámara. Los métodos incluidos en "camino único" no hacen uso de la interferencia entre dos haces, uno con y otro sin la muestra. Los métodos que utilizan una "fuente coherente" son marcados en dicha categoría. Se tomaron los métodos SLIM, FPM, DPM utilizando fuentes incoherentes. Existen implementaciones de PSI con un único camino óptico.

muestras, lo que aumenta considerablemente el tiempo de adquisición. Además de tener en cuenta este compromiso entre el efecto tipo halo y el nivel de ruido, el método requiere que la apertura numérica de la iluminación sea igual a la del objetivo del microscopio. Esto implica el uso de una apertura numérica pequeña, lo que a su vez reduce la resolución espacial. Sin embargo, la apertura numérica efectiva del sistema es mayor, ya que corresponde a la suma de las aperturas de la iluminación junto a la del objetivo del microscopio.

TIE permite cuantificar la fase a partir de imágenes de intensidad adquiridas con un pequeño desenfoque, Δz. Por lo general, se requiere adquirir dos o tres imágenes para obtener la fase. TIE no tiene una naturaleza interferométrica ya que el método surge de la sustracción de dos imágenes

muy similares entre sí resultando ser muy sensible al ruido [45]. Para la reconstrucción de la fase es necesario asumir una aproximación lineal local en la derivada de la intensidad respecto a la distancia en la dirección de propagación [56]. La validez de esta aproximación depende en gran medida de la distancia Δz utilizada y, cuanto mayor sea la distancia más efecto tendrán los términos no lineales y la aproximación perderá su validez [55]. A su vez, cuando se tienen niveles de ruido grandes, la distancia de desenfoque no puede ser demasiado pequeña. De lo contrario, la estimación de la derivada de la intensidad estará dominada por el ruido. No obstante, uno de los beneficios de este método es su sencillez. Para implementar este método utilizando tres imágenes, solo se requiere adquirir la imagen de la muestra enfocada y dos imágenes con un desenfoque de $\pm\Delta z$. El movimiento de piezas ópticas no es algo deseado, algunas alternativas logran evitar el desplazamiento axial adquiriendo múltiples imágenes al mismo tiempo [59, 60, 61, 62, 63, 64, 65] o utilizando una lente ajustable eléctricamente [66]. Esto permite eliminar la necesidad de piezas móviles, mejorando significativamente la estabilidad y robustez del sistema experimental.

PSM es un método desarrollado en el contexto de esta tesis. Es una técnica basada en algoritmos de desplazamiento de fase con una máscara sinusoidal en intensidad y de transmisión introducida en el eje óptico del sistema. La implementación de esta técnica requiere la adquisición de un total de tres imágenes para obtener una derivada direccional de la muestra, aunque adquiriendo un mayor número de imágenes se puede mejorar la relación señal ruido. La técnica posee dos grados de libertad asociados a la frecuencia de la máscara sinusoidal y la distancia entre la muestra y dicha máscara. Si bien no se tiene un estudio exhaustivo de la influencia de estos parámetros sobre la calidad de la reconstrucción, éstos pueden ser modificados para que al utilizar el algoritmo de desplazamiento de fase no sea necesario utilizar métodos de desenvolvimiento de fase (del inglés, phase-unwrapping). Esto se debe a que el perfil de la muestra a analizar influirá en qué tanto los haces de luz se desvían del eje óptico, imponiendo una restricción sobre la frecuencia utilizada y la distancia entre el objeto y la máscara. De todas formas, este método es muy valioso aún con la necesidad de efectuar algoritmos de desenvolvimiento de fase.

SLIM es un método que utiliza una iluminación anular y, similar a FPM, modifica el plano de Fourier de la muestra utilizando una máscara que modula en fase. Un sistema óptico $4f$ facilita el acceso a este plano, en donde se ubica la máscara. Para su implementación, se adquieren un total de cuatro imágenes con un desfasaje aplicado en el plano de Fourier únicamente a la región asociada al campo no desviado por la muestra. Las máscaras se encuentran desfasadas entre sí $\pi/2$, lo que posibilita el uso de algoritmos de desplazamiento de fase para reconstruir la fase de la muestra. Debido a que la máscara aplicada al plano de Fourier debe coincidir con la máscara presente en el objetivo de microscopio (que retarda la fase de la fuente en $\pi/2$), no puede modificarse su tamaño. Esto conduce a algunas complicaciones al trabajar con objetos de fase grandes, por ejemplo células, debido a que los ángulos de difracción son pequeños generando la posibilidad de superponerse con la máscara que debe aplicarse únicamente a los haces provenientes de la fuente. En esta situación, se eliminan frecuencias bajas asociadas a la muestra, generando así efectos del tipo halo [45]. Una característica de este método es que está diseñado para ser incluido en un microscopio de contraste de fase.

1.3 POTENCIAL DE LAS TÉCNICAS DE IMAGENOLOGÍA DE FASE CUANTITATIVAS

Como se mencionó en las secciones anteriores, los métodos de QPI ofrecen un estudio sin tinción que permiten caracterizar cuantitativamente estructuras celulares transparentes de forma no invasiva. QPI hace uso del vínculo entre el índice de refracción y el retraso en fase de un haz de luz al atravesar la muestra bajo estudio. Estos métodos poseen un gran potencial para complementar las técnicas de fluorescencia, logrando caracterizar las muestras con sensibilidad nanométrica [67] y caracterizarlas de manera no invasiva en su estado natural [68]. Sus aplicaciones son diversas, abarcando desde estudios dinámicos hasta el monitoreo de enfermedades basado en perfiles moleculares [69, 70] como: la detección de malformaciones y el seguimiento de respuestas celulares o tisulares a diferentes fármacos. Además, estas técnicas no se limitan al ámbito de la microscopía, ya que pueden aplicarse a objetos macroscópicos, el estudio de estructuras internas en humanos o animales grandes mediante rayos X [71], la caracterización de superficies en líneas de ensamblaje [27], entre otros.

Un aspecto interesante es la integración de la inteligencia artificial (AI: “Artificial Inteligence”) a problemas de QPI [72]. En el ámbito médico, el personal frecuentemente trabaja con imágenes de las muestras, muchas de las cuales han sido previamente teñidas. La AI ofrece la posibilidad de mejorar la resolución de estas imágenes, así como de llevar a cabo la segmentación de las estructuras presentes e incluso, en algunos casos, la clasificación de los elementos presentes. La utilización de AI en técnicas de QPI resulta especialmente relevante en la conversión de imágenes de fase a una representación similar a aquellas obtenidas mediante técnicas de tinción convencionales. La razón radica en que los médicos, como los patólogos, acostumbran a trabajar con imágenes adquiridas con métodos de tinción. De este modo, la AI permite la realización de una “tinción digital”, aprovechando la experiencia de los médicos en la interpretación de este tipo de imágenes, junto con todos los beneficios de adquirir las imágenes mediante técnicas de QPI.

Sin embargo, los métodos actuales aún enfrentan desafíos, como la reducción del efecto halo, el aumento en la velocidad de adquisición y cálculo de la información de fase, el desarrollo de reconstrucciones tridimensionales del índice de refracción de la muestra y la significativa reducción del error asociado al ruido coherente

1.4 OBJETIVO DE LA PRESENTE TESIS

Esta tesis tiene como objetivo principal contribuir al avance de los temas relevantes en el campo de la QPI, con un enfoque particular en el área de la microscopía.

El objetivo central es lograr la reconstrucción cuantitativa de muestras, empleando métodos que sean económicamente viables, eviten la división de haces para facilitar la alineación de los sistemas y hagan uso de luz parcialmente coherente, teniendo como fin último poder reconstruir las muestras a tiempo real. Para este fin, se realiza un análisis detallado de un objeto de fase previamente calibrado en laboratorio y de una célula epitelial de la mucosa bucal, utilizando los métodos desarrollados en el marco de este doctorado.

Se busca la creación de un código propio utilizando el lenguaje de programación Python para la adquisición de datos, la proyección arbitraria de imágenes en una pantalla de cristal líquido y la sincronización correspondiente entre ambos procesos.

En cuanto al montaje experimental, se lleva a cabo la calibración y el desarrollo de un método de alineación, así como la optimización del montaje para adaptarse a los objetivos específicos de las técnicas desarrolladas.

Este trabajo de tesis está organizado como una compilación de artículos publicados o enviados a publicar en revistas científicas arbitradas. Con el propósito de mantener una consistencia en la nomenclatura, se empleará el punto como separador de decimales, a pesar de que en español se utiliza la coma. Los fundamentos teóricos correspondientes a los artículos se pueden encontrar en el Cap. 2. Los artículos originales junto a algunas consideraciones pertinentes se pueden leer en los Cap. 3, 4, 5, 6 y 7. Las conclusiones de los diferentes trabajos realizados a lo largo de esta tesis se encuentran resumidas en el Cap. 8, trayendo los resultados más relevantes junto a la contribución en el campo, así como las perspectivas y desafíos aún sin resolver. En los Apéndices se pueden apreciar materiales adicionales con respecto a los primeros dos artículos: Apéndices A y B así como un pequeño apartado con algunas consideraciones pertinentes para los recién iniciados en el tema (Apéndice C). Finalmente, las declaraciones de autoría se presentan en el Apéndice D.

2

FUNDAMENTOS

En este capítulo se introducen los fundamentos teóricos que respaldan la teoría presentada en los artículos de la presente tesis. El eje principal es la luz y su potencial para estudiar objetos de fase (PO: “Phase Objects”).

La estructura consiste en una explicación de qué son los PO junto a algunas de sus propiedades al interactuar con la luz y cómo pueden ser estudiados en la Sec. 2.1. Luego se enuncian las leyes que describen las ondas electromagnéticas y se vinculan estos conceptos con el problema que enfrentamos al caracterizar los PO en la Sec. 2.2. En la Sec. 2.3 se presenta la teoría que describe la propagación de la luz y su comportamiento, y sus aplicaciones a situaciones particulares como la propagación en diferentes sistemas ópticos (sistemas de una lente, sistema óptico $4f$, apertura rectangular y un arreglo de aperturas rectangulares). Finalmente se presenta una explicación de los algoritmos utilizados a lo largo de este trabajo. Estos incluyen los métodos de desplazamiento de fase (Sec. 2.4), demodulación de la fase (Sec. 2.5) e integración (Sec. 2.6) (método por mínimos cuadrados, integración directa en el dominio de Fourier e integración utilizando una derivada parcial).

2.1 OBJETOS DE FASE

Los PO puros se caracterizan por no atenúan la intensidad de la luz al atravesarlos mientras que la fase del frente de onda sí es modificada, haciendo que se vean transparentes bajo cámaras convencionales. En la Fig. 2.1 se muestra dos tipos de objetos: uno de fase (PO) y otro que definimos como objeto de intensidad (OI, a veces conocido como objeto de amplitud) ya que atenúan la amplitud del campo eléctrico. Un ejemplo ampliamente estudiado son los tejidos biológicos, debido a que tanto el tejido intercelular como las células mismas poseen un índice de refracción y una absorción similar, por lo que las imágenes adolecen de falta de contraste. Otro ejemplo son los gases transparentes (por ejemplo gases emitidos por industria o flujos convectivos), los tejidos animales utilizando rayos X, entre otros. Debido a que las imágenes de estos objetos no pueden ser adquiridas mediante instrumentos convencionales, métodos especiales deben de ser utilizados para su estudio.

En la Fig. 2.2 se pueden observar dos situaciones en la que un haz de luz colimado, es decir que los frentes de onda asociado a este haz son paralelos entre sí, interfiere con dos PO con perfiles diferentes. A la izquierda observamos un PO con un perfil conteniendo más detalles, más

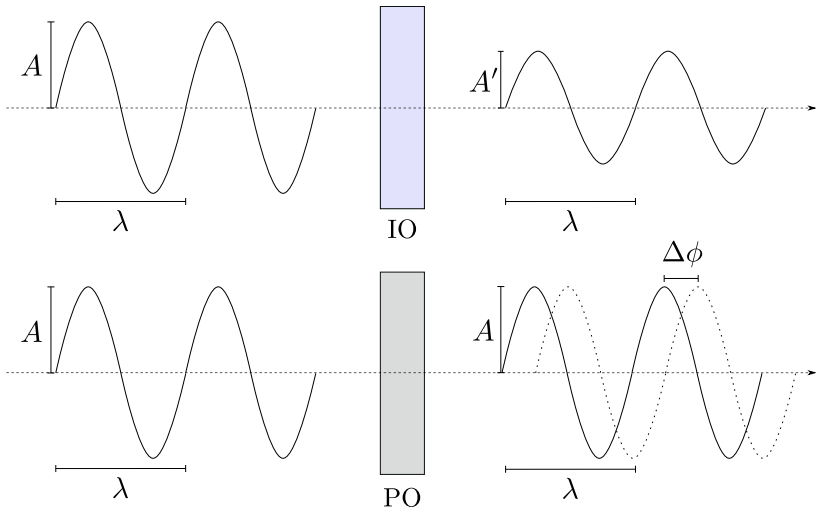


Figura 2.1: Interacción de una onda electromagnética con dos tipos de objetos: objetos de intensidad (OI) y objetos de fase (PO). En la figura superior la onda electromagnética se modula en amplitud, mientras que en la figura inferior ésta permanece inalterada, pero se produce un retraso en la fase.

cambios en su estructura. A la derecha observamos un PO con un perfil más suave. Cuando un haz de luz atraviesa un PO sufre una desviación. Cuanto mayor sea la variación del índice de refracción y dependiendo de la complejidad de las interfases, mayores serán estas desviaciones.

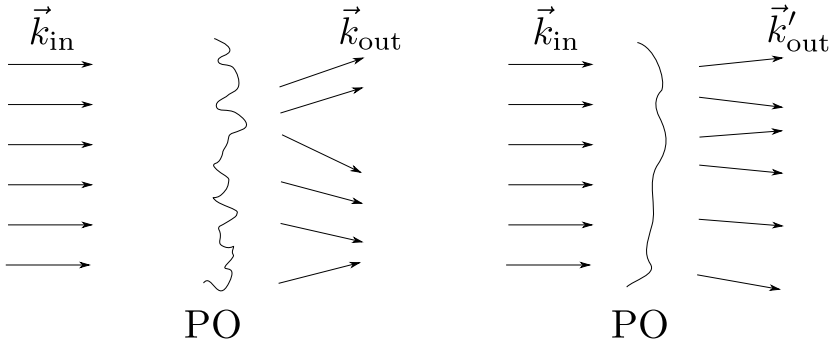


Figura 2.2: Difracción de dos tipos de PO con un perfil diferente. El PO de la izquierda presenta más detalles, por lo que los vectores de onda alcanzarán una desviación mayor en comparación con el PO de la derecha que tiene menos detalles, es decir, menos variación en su estructura.

La imagenología de objetos transparentes utilizando luz parcialmente coherente juega un rol importante en muchos campos tales como física, biología, medicina e ingeniería [73, 19, 17, 25]. La visualización y cuantificación de la fase de estos objetos permite el estudio de materiales biológicos y gases, entre otros, que de otra manera no sería posible. Una forma de cuantificar la estructura de estos objetos se logra haciendo uso del vínculo entre el índice de refracción, el camino recorrido por las luz al atravesar la muestra y la densidad de masa del objeto siendo estudiado.

2.1.1 *Índice de Refracción y Masa del Objeto de Estudio*

Los métodos de imagenología de fase cuantitativa miden los cambios de fase que la luz experimenta al pasar a través de una muestra transparente. Podemos describir este comportamiento mediante la siguiente ecuación [70]

$$\phi = \frac{2\pi}{\lambda} \int n(z) \mathrm{d}z, \tag{2.1}$$

en donde ϕ es el cambio de fase debido al índice de refracción $n(z)$ de la muestra en la dirección del eje óptico, que tomaremos por convención en esta tesis como la dirección z, e iluminada con una fuente de longitud de onda, λ. En muchas ocasiones, es importante cuantificar la masa del objeto y su espesor geométrico. Esto se obtiene combinando el resultado de la Ec. 2.1 con la dependencia entre el índice de refracción, n, y su concentración, c, para obtener la relación entre la masa seca* del objeto transparente, m, y los cambios de fase medidos [68, 52]

$$m = \frac{\lambda}{\alpha} \int \phi \mathrm{d}A, \tag{2.2}$$

en donde α es una constante experimental llamada "incremento refractivo específico" [74] vinculada al índice de refracción y la concentración como $\alpha = \frac{\mathrm{d}n}{\mathrm{d}c}$ y A es el área de la muestra.

Esta información es muy útil en el campo de la medicina, ya que facilita la medición y el análisis del crecimiento de muestras biológicas, como las células. Por ejemplo, el crecimiento celular es un parámetro biológico utilizado para detectar presencia de cáncer dado que un crecimiento exacerbado suele ser un indicador de su presencia. Una metodología utilizada para medir el crecimiento celular es la medición de su volumen, medido a partir de la forma de la célula. Sin embargo, la forma de la célula puede ser afectada por diversos factores externos, generando que dicha medición no sea representativa del proceso de crecimiento. En cambio, la medición de la masa seca, obtenida mediante técnicas de QPI, es un indicador más preciso del tamaño de la célula ya que no se ve afectada por el entorno en el que está.

2.2 LA LUZ COMO RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

La luz es una onda electromagnética, y como tal se caracteriza por la amplitud, frecuencia (período) y fase. La fase de una onda periódica describe la posición relativa de cada punto del frente de onda dentro del intervalo de cada período completo. A diferencia de la fase, la amplitud es más fácil de comprender debido a que su cuadrado, también conocido como intensidad, se encuentra asociada a la energía transportada por la onda. A su vez, la intensidad es lo que podemos observar mediante cámaras convencionales o nuestros ojos.

* Masa seca: la masa de todos los componentes de la célula (por ejemplo, proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, etc.) aparte del agua; a veces denominada biomasa [68].

En el espectro visible la luz tiene frecuencias de oscilación del orden de 10^{15}Hz, en otras palabras, la onda vuelve a tener la misma amplitud una vez cada 10^{-15}s. El tiempo de respuesta de las cámaras de alta velocidad y del ojo humano es mucho mayor comparado con el período de la luz visible: 10^{-8}Hz y $1/30$Hz, respectivamente [56]. Consecuentemente, al tomar una foto estamos realizando un promedio temporal de lo observado, perdiendo la información respecto a dónde se encontraba la fase en el momento de observación. Por lo tanto, para poder medir la fase se necesita llevar esta información a la intensidad. A continuación se presenta los principios necesarios para llevar esto a cabo.

2.2.1 *Ecuaciones de Maxwell*

La luz es parte del espectro electromagnético y se encuentra descrita por las ecuaciones de Maxwell mediante la densidad de flujo eléctrico, $\vec{D}$, la intensidad magnética, $\vec{H}$, la densidad de carga, ρ y la densidad de corriente, $\vec{J}$.

$$\nabla \cdot \vec{D} = \rho \tag{2.3a}$$
$$\nabla \cdot \vec{B} = 0 \tag{2.3b}$$
$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \tag{2.3c}$$
$$\nabla \times \vec{H} = \vec{J} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \tag{2.3d}$$

La Óptica estudia la luz y su interacción con el medio. Se concentra en la región del espectro ultravioleta, visible e infrarrojo cercano. Los casos estudiados en esta tesis están vinculados a materiales lineales, no ferromagnéticos, sin electrones libres y principalmente biológicos pero no exclusivamente. A su vez, estaremos trabajando con medios isotrópicos y homogéneos, por lo que se cumplirá $\vec{E} \perp \vec{B}$. Las ecuaciones de Maxwell en el vacío adquieren la siguiente forma

$$\nabla \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\varepsilon_0}, \tag{2.4a}$$
$$\nabla \cdot \vec{B} = 0, \tag{2.4b}$$
$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t}, \tag{2.4c}$$
$$\nabla \times \vec{B} = \mu_0 \vec{J} + \mu_0 \varepsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t}. \tag{2.4d}$$

donde $\vec{D} = \varepsilon_0 \vec{E}$, $\rho = 0$, $\vec{B} = \mu_0 \vec{H}$, $\vec{J} = 0$ y ε_0 y μ_0 son la permitividad y permeabilidad en el vacío, respectivamente. Si se estudia la onda electromagnética en un medio dieléctrico, bastará con modificar estas ecuaciones mediante la siguiente transformación: $\varepsilon_0 \to \varepsilon$, siendo ε la permitividad eléctrica de dicho medio.

En el estudio de muestras biológicas, así como en la mayoría de la literatura presente en este trabajo, solo el componente del campo eléctrico es importante. Esto se debe a que la interacción de la radiación electromagnética con la materia se realiza mediante los electrones presentes en el material estudiado [75]. Mientras que el campo eléctrico interactúa con todos los electrones, el campo magnético solo lo hace con los electrones de movimiento rápido. En materiales ópticos, los electrones suelen moverse lo suficientemente despacio como para que su velocidad se pueda ignorar, por lo tanto, solo se ven afectados por la componente del campo eléctrico. Para ondas planas propagándose en el vacío según el eje z (eje óptico), el campo eléctrico se describe por

$$\begin{aligned}\vec{E}(z,t) &= E_0 \cos[kz+\omega t+\delta]\hat{p} \\ &= \Re\left\{E_0 \exp[j(kz+\omega t+\delta)]\right\}\hat{p},\end{aligned} \tag{2.5}$$

donde E_0 es la amplitud, k el vector de onda en la dirección del eje óptico tal que $k = 2\pi/\lambda$, con λ la longitud de onda, ω la frecuencia angular de oscilación, $\hat{p}$ es el eje de oscilación de la onda y δ es un factor de fase arbitrario generalmente omitido.

Los instrumentos capaces de adquirir imágenes en el rango visible miden el promedio temporal del cuadrado del módulo de los campos eléctricos (E_0^2). Esto se debe a que las variaciones del campo eléctrico son demasiado rápidas para ser medidas con la tecnología actual. Este promedio recibe el nombre de intensidad, I,

$$I = E(z,t)E^*(z,t) = E_0^2, \tag{2.6}$$

siendo $E(z,t)$ el campo eléctrico y $E^*(z,t)$ su conjugado. Se puede observar que al tomar el promedio la información de la fase se pierde. Todos los métodos que logran extraer la información de la fase vuelcan esta información de alguna manera sobre la intensidad, para luego poder ser adquirida.

2.3 ÓPTICA DE FOURIER Y PROPAGACIÓN DE LA LUZ

En esta sección se muestra la ecuación diferencial que describe las ondas electromagnéticas, conocida como ecuación de Helmholtz, ver Sec. 2.3.1. Se estudia la solución para ondas monocromáticas con coherencia espacial propagándose en el eje óptico de forma paraxial. Luego, a partir de la ecuación de Helmholtz, se deduce la Ecuación de Transporte de Intensidad en la Sec. 2.3.9. En la Sec. 2.3.2 se presenta la formulación de Rayleigh Sommerfeld para el campo eléctrico utilizando la solución a la ecuación diferencial de Helmholtz junto al teorema de Green. A partir de este resultado se deduce la formulación para campo cercano en la Sec. 2.3.3. La solución para campo lejano se muestra en la Sec. 2.3.4. Más adelante se describe el comportamiento del campo eléctrico al interactuar con una lente (Sec. 2.3.5), un sistema óptico $4f$ (Sec. 2.3.6), una abertura rectangular (Sec. 2.3.7), y finalmente con una red de difracción (Sec. 2.3.8).

2.3.1 *Teoría de la Propagación de la Luz*

A partir de las ecuaciones de Maxwell en el vacío se deduce la ecuación de ondas de Helmholtz que describe a las ondas electromagnéticas,

$$\nabla^2\vec{E} - \mu_0\varepsilon_0\frac{\partial^2\vec{E}}{\partial t^2} = 0, \tag{2.7}$$

donde μ_0 y ε_0 son la permeabilidad y la permitividad en el vacío, respectivamente. Al proponer una solución con separación de variables para el campo eléctrico monocromático de la forma

$$\vec{E}(\mathbf{r},t) = \vec{E}(\mathbf{r})e^{-j\omega t}, \tag{2.8}$$

se llega a la ecuación de Helmholtz para el campo eléctrico

$$\nabla^2\vec{E} + k^2\vec{E} = 0, \tag{2.9}$$

en donde el vector de onda $\vec{k}$ con módulo k satisface $kc = \omega$, con $c = \frac{1}{\sqrt{\mu_0\varepsilon_0}}$ la velocidad de la luz en el vacío y ω la la frecuencia angular.

Propagación con un Cambio de Medio

El cambio de medio entre dos dieléctricos implica un cambio en el valor de la permitividad eléctrica, por lo que este valor deja de ser constante en el camino recorrido por la onda electromagnética. La ecuación de Helmholtz se modifica de la siguiente forma

$$\nabla^2\vec{E} - k_0n^2\vec{E} = -\nabla\left(\frac{\nabla\varepsilon}{\varepsilon}\cdot\vec{E}\right), \tag{2.10}$$

siendo n el índice de refracción, tal que $n = ck_0/\omega$. Se toma, únicamente en este apartado, el campo eléctrico como

$$\vec{E}(\vec{r}) = \vec{E}_0(\vec{r})\mathrm{e}^{jk_0L(\vec{r})}, \tag{2.11}$$

obviando la dependencia temporal y con $L(\vec{r})$ la función conocida como eikonal con la característica que su gradiente, ∇L indica la dirección donde viajan las ondas. En este caso se tiene que $\frac{\nabla\varepsilon}{\varepsilon} = \nabla L$ y se deduce la ecuación eikonal (conocida también como ecuación del rayo)

$$|\nabla L|^2 = n^2. \tag{2.12}$$

Se puede expresar este resultado en función del vector unitario solidario a la dirección de propagación de la onda s,

$$\nabla L = n\frac{\mathrm{d}\vec{r}}{\mathrm{d}s} \tag{2.13}$$

Al aplicar la variación en la dirección de propagación s sobre la Ec. 2.13 se obtiene

$$\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}s}\left(n\frac{\mathrm{d}\vec{r}}{\mathrm{d}s}\right) = \nabla n, \tag{2.14}$$

en donde se tomaron en cuenta las siguientes relaciones: $\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}s}A = \nabla A \cdot \frac{\mathrm{d}\vec{r}}{\mathrm{d}s}$ y $|\nabla L| = n$. De la Ec. 2.14 se puede observar que la dirección de propagación de la onda electromagnética depende del gradiente del índice de refracción.

2.3.2 *Formulación de Rayleigh-Sommerfeld*

A partir de la ecuación de Helmholtz (Ec. 2.9) y utilizando el teorema de Green [76, 77] se llega al resultado conocido por el teorema de Helmholtz y Kirchhoff que describe el campo eléctrico en un punto $\vec{P}$ como

$$E(\vec{P}) = \frac{1}{4\pi}\iint_A \left[E\frac{\partial G}{\partial n} - G\frac{\partial U}{\partial n}\right]\mathrm{d}A, \tag{2.15}$$

en donde G es un campo auxiliar de la forma $G = \frac{\mathrm{e}^{jkR}}{R}$ siendo R la distancia entre el punto de observación, $\vec{P}$, y la superficie, $A = A_1 \cup A_2 \cup A_3$, ver Fig. 2.3. Este resultado presenta algunas inconsistencias cuando el punto de observación está muy próximo a la abertura. Rayleigh y Sommerfeld lograron superar este problema al introducir un nuevo campo auxiliar. El mismo cumple

$$G = \frac{\mathrm{e}^{jk|\vec{r'}-\vec{r}|}}{|\vec{r'}-\vec{r}|} - \frac{\mathrm{e}^{jk|\vec{r'}-\vec{r''}|}}{|\vec{r'}-\vec{r''}|}, \tag{2.16}$$

donde $\vec{r'}$ se mueve sobre la superficie $A_1 \cup A_2$, $\vec{r}$ indica dónde está el punto de observación $\vec{P}$ y $\vec{r''}$ indica dónde está el punto especular de $\vec{P}$ respecto al plano de abertura. Todos estos vectores tienen origen en un punto sobre la pantalla. Se puede ver que este campo cumple que tanto su valor como el de su derivada es cero sobre la superficie $A_1 \cup A_2$.

Al sustituir el campo auxiliar G en la Ec. 2.15 se obtiene la ecuación asociada a la formulación de Rayleigh-Sommerfeld para la difracción:

$$\begin{aligned} E(\vec{P}) &= -\frac{1}{2\pi}\iint_{A_1\cup A_2} E(x',y',0)\left(jk - \frac{1}{R}\right)\frac{\mathrm{e}^{jkR}}{R}\frac{z}{R}\mathrm{d}x'\mathrm{d}y' \\ &= -\frac{1}{2\pi}\frac{\partial}{\partial z}\iint_{A_1\cup A_2} E(x',y',0)\frac{\mathrm{e}^{jkR}}{R}\mathrm{d}x'\mathrm{d}y', \end{aligned} \tag{2.17}$$

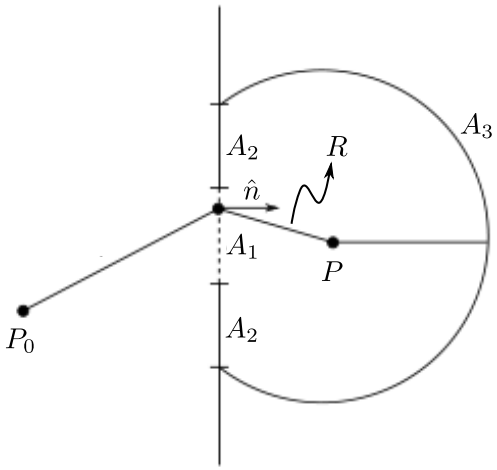


Figura 2.3: Representación de una fuente en P_0 iluminando un plano con una abertura A_1 visto desde el punto de observación P. Esquema utilizado en el desarrollo del teorema Helmholtz y Kirchhoff mediante el teorema de Green.

siendo x' e y' las coordenadas sobre la pantalla $(A_1 \cup A_2)$ y la coordenada $z = z'$ perpendicular a la pantalla y con dirección hacia el punto de observación.

2.3.3 *Aproximación de Fresnel-Kirchhoff*

Por lo general, la distancia entre el punto de observación y la pantalla es muchas veces mayor que la longitud de onda, cumpliendo $kR \gg 1$, ver Fig. 2.4. Bajo esta aproximación, la Ec. 2.17 adquiere la siguiente expresión

$$E(\vec{P}) = \frac{1}{j\lambda} \iint_{A_1} E(x', y', 0) \frac{e^{jkR}}{R} \frac{z}{R} dx' dy'. \tag{2.18}$$

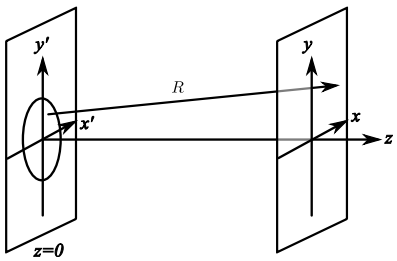


Figura 2.4: Esquema representativo de la aproximación utilizada para la difracción de Fresnel.

Bajo la aproximación paraxial $z \approx R$, es decir, en puntos cercanos al eje óptico, la expresión para el campo eléctrico en el punto $\vec{P}$ adquiere la forma

$$E(x,y,z) = \frac{1}{j\lambda z}\iint_{A_1} E(x',y',0)\mathrm{e}^{jkR}\mathrm{d}x'\mathrm{d}y'. \tag{2.19}$$

La expansión binomial en el término de la fase está dada por

$$kR = kz\sqrt{1+\frac{(x-x')^2+(y-y')^2}{z^2}} \approx kz\left(1+\frac{(x-x')^2+(y-y')^2}{2z^2}\right), \tag{2.20}$$

y será válida para zonas no muy cercanas a la pantalla. Al sustituirla en la Ec. 2.19 se obtiene la integral de Fresnel que describe el comportamiento del campo eléctrico para el campo cercano

$$E(x,y,z) = \frac{\mathrm{e}^{jkz}}{j\lambda z}\iint_{A_1} E(x',y',0)\mathrm{e}^{\frac{j\pi}{\lambda z}\left[(x-x')^2+(y-y')^2\right]}\mathrm{d}x'\mathrm{d}y'. \tag{2.21}$$

Expandiendo esta expresión para el campo eléctrico se llega a

$$E(x,y,z) = \frac{\mathrm{e}^{jkz}}{j\lambda z}\mathrm{e}^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2z}}\iint_{A_1} E(x',y',0)\mathrm{e}^{\frac{j\pi}{\lambda z}(x'^2+y'^2)}\mathrm{e}^{-\frac{j2\pi}{\lambda z}(xx'+yy')}\mathrm{d}x'\mathrm{d}y', \tag{2.22}$$

A continuación se puede apreciar una forma alternativa de la Ec. 2.22, lograda utilizando la transformada de Fourier

$$E(x,y,z) = \frac{\mathrm{e}^{jkz}}{j\lambda z}\mathrm{e}^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2z}}\mathscr{F}\left\{E(x',y',0)\mathrm{e}^{\frac{j\pi}{\lambda z}(x'^2+y'^2)}\right\}\Big|_{f_x,f_y}, \tag{2.23}$$

con $(f_x,f_y) = \left(\frac{x}{\lambda z},\frac{y}{\lambda z}\right)$.

A su vez, existe una tercer forma de expresar las Ecs. 2.21 y 2.23 utilizando la convolución bidimensional definida como

$$(g*h)(x,y) := \iint_{-\infty}^{\infty} g(\alpha,\beta)h(x-\alpha,y-\beta)\mathrm{d}\alpha\mathrm{d}\beta, \tag{2.24}$$

en donde h es conocida como la respuesta al impulso [78, 56]. Para la propagación en las aproximaciones de Fresnel, h cumple

$$h(x,y)\big|_{z_i} = \frac{\mathrm{e}^{jkz_i}}{j\lambda z_i}\mathrm{e}^{jk\frac{x^2+y^2}{2z_i}}. \tag{2.25}$$

Por lo que la tercera forma de expresar la ecuación de Kirchhoff Fresnel está dada por

$$E(x,y,z) = E(x,y,0)*h(x,y), \tag{2.26}$$

con h dada por la Ec. 2.25. La expresión para la integral de Fresnel utilizando la convolución, Ec. 2.26, nos permite utilizar algunas propiedades de las transformadas de Fourier que nos serán muy útiles. Por ejemplo,

$$\begin{aligned}\mathscr{F}\{h(x,y)\} &= \frac{e^{jkz_i}}{j\lambda z_i}\mathscr{F}\left\{e^{\frac{j\pi}{\lambda z_i}(x^2+y^2)}\right\}\Bigg|_{f_x,f_y}, \\ &= e^{jkz_i}e^{-j\pi\lambda z_i(f_x^2+f_y^2)},\end{aligned} \tag{2.27}$$

con $(f_x,f_y) = \left(\frac{x}{\lambda z_i},\frac{y}{\lambda z_i}\right)$.

2.3.4 *Aproximación de Fraunhofer-Kirchhoff*

La aproximación de Fraunhofer se caracteriza por describir el campo lejano caracterizado por la aproximación $x'^2+y'^2 \ll \lambda z$. La Ec. 2.21 bajo esta aproximación es conocida como integral de Fraunhofer para la difracción

$$E(x,y,z) = \frac{e^{jkz}}{j\lambda z}e^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2z}}\iint_{A_1} E(x',y',0)e^{-\frac{j2\pi}{\lambda z}(xx'+yy')}dx'dy'. \tag{2.28}$$

Utilizando la transformada de Fourier, la Ec. 2.28 adquiere la siguiente forma

$$E(x,y,z) = \frac{e^{jkz}}{j\lambda z}e^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2z}}\mathscr{F}\left\{E(x',y',0)\right\}\Bigg|_{f_x,f_y}, \tag{2.29}$$

con $(f_x,f_y) = \left(\frac{x}{\lambda z_i},\frac{y}{\lambda z_i}\right)$.

Las formulaciones previamente desarrolladas permiten analizar la interacción del campo eléctrico en diferentes escenarios como los descritos a continuación.

2.3.5 *Sistema de una Lente*

En esta sección se puede apreciar cómo se modifica el campo eléctrico al pasar por una lente con distancia focal f. El sistema es iluminado paraxialmente y se asume conocido el campo (g) en un plano perpendicular al eje óptico a una distancia d_1 de la lente (x',y'), ver Fig. 2.5. Propagando el campo hasta una posición anterior a la lente se obtiene, utilizando la aproximación de Fresnel-Kirchhoff, el campo

$$E(x_0,y_0) = \frac{e^{jkd_1}}{j\lambda d_1}g(x',y') * e^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2d_1}}. \tag{2.30}$$

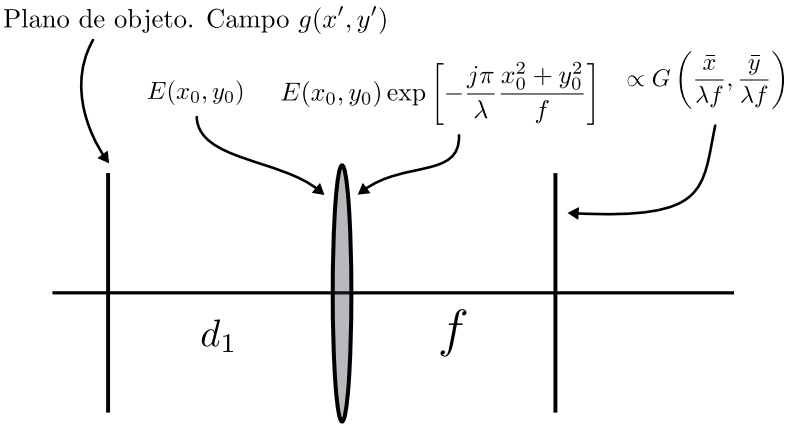


Figura 2.5: Propagación de la luz a través de una lente bajo la aproximación de Fresnel-Kirchhoff.

Al atravesar la lente, el campo es modificado siendo agregada una fase cuadrática $\exp\left(jk\frac{x^2+y^2}{2f}\right)$, es decir

$$E(x_0, y_0) = \frac{e^{jkd_1}}{j\lambda d_1} e^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2f}} g(x', y') * e^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2d_1}}. \tag{2.31}$$

Luego, se propaga una distancia f, resultando en

$$E(\bar{x}, \bar{y}) = \frac{e^{jkf}}{j\lambda f} e^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2f}} \mathscr{F}\left\{E(x_0, y_0)\right\}. \tag{2.32}$$

Al utilizar el teorema de convolución dado por

$$\mathscr{F}\{f * g\} = \mathscr{F}\{f\}\mathscr{F}\{g\}, \tag{2.33}$$

en la expresión que resulta de sustituir el campo $E(x_0, y_0)$ dado por la Ec. 2.31 en la Ec. 2.32 se obtiene el siguiente resultado

$$E(\bar{x}, \bar{y}) = \frac{e^{jk(f+d_1)}}{j\lambda f} e^{jk\frac{\bar{x}^2+\bar{y}^2}{2f}\left(1-\frac{d_1}{f}\right)} \mathscr{F}\{g\}\Big|_{f_x, f_y}, \tag{2.34}$$

con $(f_x, f_y) = \left(\frac{\bar{x}}{\lambda f}, \frac{\bar{y}}{\lambda f}\right)$.

Vale la pena observar que de cumplirse que el plano de objeto esté a una distancia f de la lente, es decir $d_1 = f$, el término cuadrático se anula, obteniendo así la transformada de Fourier del campo $g(x', y')$. Para saber el valor que toma el campo eléctrico a una distancia d_2 de la lente, propagamos el campo obtenido una distancia $d_2 - f$,

$$E(x_i,y_i,z=d_2)=\frac{1}{j\lambda f}\mathrm{e}^{jk\left(f+d_1+\frac{x_i^2+y_i^2}{2(d_2-f)}\right)}\mathscr{F}\left\{\mathrm{e}^{jk\frac{x^2+y^2}{2}\left(\frac{1}{f}-\frac{d_1}{f^2}+\frac{1}{d_2-f}\right)}\mathscr{F}\{g\}\right\}. \tag{2.35}$$

En la Ec. 2.35, se evidencia que la condición para obtener una imagen real se logra si el término cuadrático dentro de la transformada de Fourier se anula, lo que implica

$$\frac{1}{f}=\frac{1}{d_1}+\frac{1}{d_2}. \tag{2.36}$$

La Ec. 2.36 es conocida comúnmente como "ecuación de la lente". De cumplirse, y aplicando la siguiente propiedad de Fourier

$$\mathscr{F}\left\{\mathscr{F}\{g\}\Big|_{\frac{x}{\lambda f},\frac{y}{\lambda f}}\right\}\Big|_{\frac{x_i}{\lambda(d_2-f)},\frac{y_i}{\lambda(d_2-f)}}=g\left(\frac{-x_i f}{d_2-f},\frac{-y_i f}{d_2-f}\right), \tag{2.37}$$

se obtiene

$$E(x_i,y_i,z=d_2)=-\frac{d_1}{d_2}\mathrm{e}^{jk\left(d_1+d_2+\frac{d_1}{d_2}\frac{x_i^2+y_i^2}{2f}\right)}g\left(-\frac{x_i}{d_2/d_1},-\frac{y_i}{d_2/d_1}\right). \tag{2.38}$$

La imagen estará invertida y magnificada por el cociente $\frac{d_1}{d_2}$. Si bien la amplitud se reproduce al otro lado también se le agrega un término cuadrático de fase debido a la lente. Para replicar el campo en otro plano sin una alteración de la fase se utiliza un sistema óptico, conocido como sistema óptico $4f$.

2.3.6 *Sistema óptico* $4f$

El sistema óptico $4f$ (ver Fig. 2.6), es usada comúnmente en experimentos con el fin de realizar operaciones de filtrado, transformaciones espaciales y procesamiento de imágenes. Este sistema consiste en dos lentes ubicadas en serie, separadas por una distancia igual a la suma de sus distancias focales. Este sistema permite reproducir la imagen, tanto en amplitud como fase, de un PO en otro plano. Para entender cómo se comporta el campo eléctrico luego de atravesar este sistema se parte de la ecuación obtenida en la Sec.2.3.5 para el plano de Fourier, suponiendo que $d_1=f$. Es decir,

$$E(\bar{x},\bar{y})=\frac{\mathrm{e}^{j2kf}}{j\lambda f}\mathscr{F}\{g\}\Big|_{f_x,f_y}, \tag{2.39}$$

con $(f_x,f_y)=\left(\frac{\bar{x}}{\lambda f},\frac{\bar{y}}{\lambda f}\right)$.

Al atravesar la segunda parte del sistema óptico $4f$ se obtiene una expresión para el campo eléctrico que cumple

$$E(x',y') \propto \frac{f_2}{f_1} E(-x',-y'). \tag{2.40}$$

El campo obtenido a una distancia f_2 de la segunda lente es el campo inicial invertido y magnificado por un factor $\frac{f_2}{f_1}$.

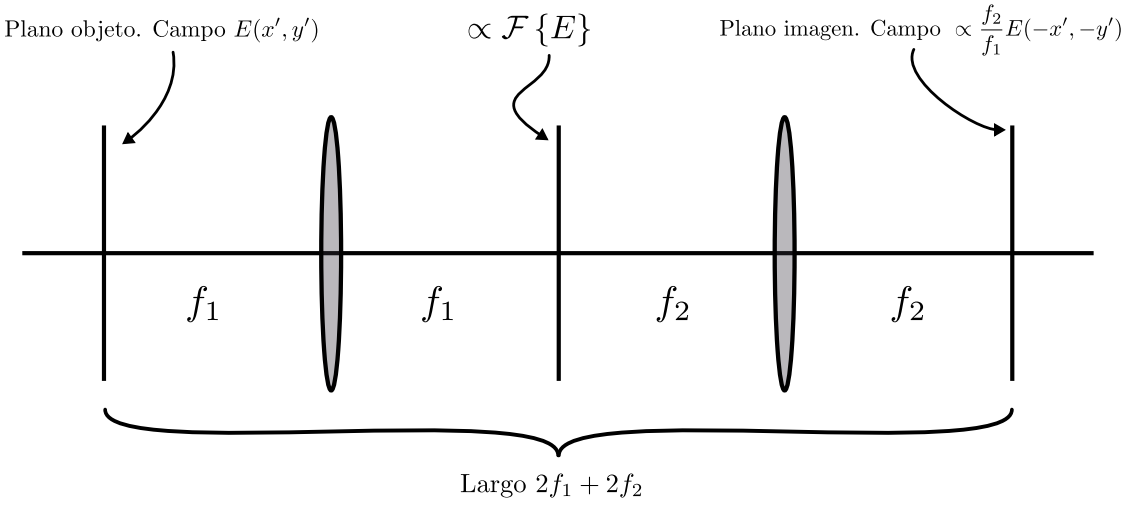


Figura 2.6: Propagación de la luz por una configuración de lentes $4f$ bajo la aproximación de Fresnel.

2.3.7 *Difracción por una Abertura Rectangular*

La expresión para el campo eléctrico luego de ser difractada por una abertura rectangular de dimensiones a,b bajo la aproximación de Fraunhofer es bien conocida en la literatura [79, 77, 76]. Al atravesar la abertura el campo eléctrico puede ser escrito como

$$g(x_0,y_0) = E_0 \text{rect}\left(\frac{x_0}{a}\right) \text{rect}\left(\frac{y_0}{b}\right). \tag{2.41}$$

siendo

$$\text{rect}\left(\frac{x}{a}\right) = \begin{cases} 1 & \text{si } |x| \leq \frac{a}{2}, \\ 0 & \text{en otro caso.} \end{cases}$$

A partir de la Ec. 2.29 y la transformada de Fourier aplicada a la función rectangular [80], es decir

$$\mathscr{F}\left\{\text{rect}\left(\frac{x}{a}\right)\right\} = \text{sinc}(f) = \frac{\sin(\pi f)}{\pi f},$$

se llega a la expresión para el campo eléctrico bajo la aproximación de Fraunhofer habiendo sido difractado por una abertura rectangular

$$u(x,y) = E_0 ab \frac{e^{jkz_i}}{j\lambda z_i} e^{jk\frac{(x^2+y^2)}{2z_i}} \text{sinc}\left(\frac{ax}{\lambda z_i}\right) \text{sinc}\left(\frac{by}{\lambda z_i}\right). \tag{2.42}$$

2.3.8 *Red de Difracción*

Uno de los elementos ópticos utilizado en los montajes experimentales presentes en este trabajo puede ser modelado como una red de difracción formada por un conjunto de múltiples aberturas rectangulares. En este contexto, es necesario examinar el comportamiento del campo eléctrico al interactuar con un arreglo de varias aberturas rectangulares dispuestas en una cuadrícula rectangular.

Se simplifica el análisis tomando un sistema formado por una grilla unidimensional con una abertura a y un período b confinada a una distancia c. La abertura satisface

$$g(x_0,y_0) = \frac{1}{b}\left[\text{rect}\left(\frac{x_0}{a}\right) * \text{comb}\left(\frac{x_0}{b}\right)\right] \cdot \text{rect}\left(\frac{x_0}{c}\right), \tag{2.43}$$

con

$$\text{comb}\left(\frac{x}{a}\right) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} \delta\left(\frac{x}{a} - n\right) = a \sum_{n=-\infty}^{\infty} \delta\left(x - an\right).$$

La transformada de Fourier de la abertura es [80]

$$G(f) = ac\left[\text{sinc}(af) \cdot \text{comb}(bf)\right] * \text{sinc}(cf). \tag{2.44}$$

Se observa que, debido a las propiedades de la función *comb*, la función $\text{sinc}(cf)$ se replicará varias veces siendo modulada por la función $\text{sinc}(af)$.

Al colocar esta red previo a un sistema óptico $4f$, se obtiene en el plano imagen varias imágenes duplicadas y separadas entre sí, con una intensidad que se atenúa al alejarse del punto

central. A su vez, en el plano de Fourier obtendremos réplicas de estas imágenes en un patrón similar al anterior, pero conteniendo la información de las frecuencias asociadas a estas imágenes. Este efecto no es deseado, debiendo ser tratado adecuadamente en los experimentos.

2.3.9 *Ecuación de Transporte de Intensidad*

La aplicación de la Ecuación del Transporte de Intensidad (TIE: "Transport of Intensity Equation") en experimentos de reconstrucción de fase ha demostrado ser una gran herramienta en diversos campos de la ciencia y la ingeniería [17, 19, 73, 25]. Esta teoría, basada en la conservación de la energía, permite cuantificar cambios de fase generados por una muestra a partir de mediciones de la intensidad.

Una posible deducción de la TIE es a partir de la conservación de la energía. El vector de Poynting, $\vec{S}$, describe la energía por unidad de tiempo y área de una onda. El teorema de Poynting para el vacío [81], puede ser escrito como

$$\nabla \cdot \vec{S}(\vec{r},t) + \frac{\partial}{\partial t} W(\vec{r},t) = 0, \tag{2.45}$$

siendo W la densidad de energía y $\vec{S}$ el vector de Poynting definido como [79, 82],

$$\vec{S}(\vec{r},t) = -\frac{1}{8\pi}\left[\nabla E(\vec{r},t)\frac{\partial}{\partial t}E^*(\vec{r},t) + \nabla E^*(\vec{r},t)\frac{\partial}{\partial t}E(\vec{r},t)\right]. \tag{2.46}$$

Se considera un campo electromagnético escalar monocromático con frecuencia angular ω,

$$E(\vec{r},t) = \sqrt{I(\vec{r})}\exp\{j[\phi(\vec{r}) - \omega t]\}, \tag{2.47}$$

siendo $I(\vec{r})$ la intensidad y $\phi(\vec{r})$ la fase del campo. Debido a que no hay ni acumulación ni fuentes de energía, el segundo término de la Ec. 2.45 es nulo, el teorema de Poynting adquiere la siguiente forma

$$\nabla \cdot \vec{S}(\vec{r}) = 0. \tag{2.48}$$

Sustituyendo la ecuación para el campo monocromático, Ec. 2.47, en la definición del vector de Poynting, Ec. 2.46, se obtiene

$$\vec{S}(\vec{r}) = \frac{1}{4\pi} I(\vec{r})\omega\nabla\phi(\vec{r}). \tag{2.49}$$

Así el promedio temporal de la ecuación que describe la conservación de la energía, Ec. 2.48, toma la forma

$$\nabla \cdot [I(\vec{r})\nabla\phi(\vec{r})] = 0. \tag{2.50}$$

Bajo aproximaciones paraxiales, es decir, cuando la diferencia entre los ángulos de los rayos de luz incidentes y aquellos desviados son pequeños, podemos expresar la dependencia espacial de la Ec. 2.47 como [56]

$$E(\vec{r}) = \sqrt{I(\vec{r})}\exp\{j[k_z z + \phi(\vec{\rho})]\}, \tag{2.51}$$

en donde el vector de onda se orienta predominantemente en la dirección del eje óptico, $k_z \approx k$, y las coordenadas transversales al eje óptico se describen como $\vec{\rho} = (x,y)$. Sustituyendo la Ec. 2.51 en la Ec. 2.50 obtenemos la TIE [14]

$$-k\frac{\partial I(\vec{\rho},z)}{\partial z} = \nabla\cdot[I(\vec{\rho},z)\nabla\phi(\vec{\rho})]. \tag{2.52}$$

Al utilizar lo que se conoce como función auxiliar de Teague, ψ, definida como

$$\nabla\psi = I\nabla\phi, \tag{2.53}$$

la TIE puede ser separada en dos ecuaciones de Poisson

$$\frac{\partial I}{\partial z} = -\frac{1}{k}\nabla^2\psi, \tag{2.54a}$$

$$\nabla\cdot[I^{-1}\nabla\psi] = \nabla^2\phi, \tag{2.54b}$$

donde la solución a la función auxiliar de Teague puede ser encontrada utilizando la Ec. 2.54a y luego sustituyendo la solución en la Ec. 2.54b para encontrar la fase, ϕ.

Otra forma de obtener una solución para la TIE se logra a partir de los siguientes pasos. El segundo término de la Ec. 2.52 se expande, obteniendo

$$\frac{\partial I}{\partial z} = -\frac{1}{k}\Big(\nabla I\cdot\nabla\phi + I\nabla^2\phi\Big). \tag{2.55}$$

El término de la izquierda de la Ec. 2.55 se interpreta como una disipación longitudinal de energía, mientras que el término de la derecha se interpreta como la variación en la energía transversal. Las modificaciones transversales tienen su origen en los dos términos de la derecha, denominados término prisma y término lente [16]. El primer término representa la variación de la intensidad debido a un desplazamiento transversal del haz, mientras que el segundo término representa la variación debido a la convergencia y divergencia del haz de luz.

Al utilizar la aproximación de diferencias finitas [55] en la derivada de la intensidad en la dirección del eje óptico en la Ec. 2.55 se obtiene

$$I(x,y,z+\Delta z) \approx I(x,y,z) - \frac{\Delta z}{k}\Big(\nabla I\cdot\nabla\phi + I\nabla^2\phi\Big). \tag{2.56}$$

A continuación se estudia un ejemplo con el fin del lograr una mejor interpretación de la Ec. 2.56. Se considera el escenario en el que la luz se desplaza a través de un prisma cuyas dimensiones de base coinciden con las del sensor de un dispositivo fotográfico. Si la luz no interactúa con nada en su propagación, las intensidades medidas al principio y al final serán iguales. En presencia de un PO en el camino de la luz, los vectores de onda sufrirán desviaciones que afectarán el patrón de intensidad registrado al final. La TIE explota esta propiedad al comparar la intensidad en el plano del PO con aquella propagada una pequeña distancia Δz, sabiendo que esa diferencia contiene información respecto a la estructura del PO presente.

Uno de los principales beneficios de esta técnica radica en su capacidad para proporcionar información cuantitativa sobre la distribución de índices de refracción, lo que permite la visualización y caracterización de estructuras transparentes o débilmente absorbentes. La TIE se presenta como un método sencillo al requerir el uso de elementos ópticos básicos como una fuente colimada, lentes y una cámara, lo que resulta en un costo relativamente bajo en componentes ópticos.

Otro aspecto destacado es la robustez y versatilidad de la TIE, que la hace aplicable en una amplia gama de situaciones experimentales, desde la microscopía hasta la tomografía de rayos X. Su capacidad para funcionar incluso en condiciones de iluminación no ideal, como la luz parcialmente coherente, la convierte en una gran herramienta.

2.4 ALGORITMOS DE DESPLAZAMIENTO DE FASE

En varios experimentos ópticos como interferencia [83, 84], deflectometría [85], franjas de Moiré [86] o proyección de franjas [87, 88, 89, 90, 91, 92], se adquiere un patrón de franjas de la forma [93, 94, 95, 96, 97, 98]

$$I(x) = a'(x) + b(x)\cos[2\pi f_0 x + \phi(x) + \delta] + n(x), \tag{2.57}$$

donde $x = (x, y)$ denota el sistema de coordenadas, $a'(x)$ es la iluminación de fondo, $b(x)$ es la amplitud de la modulación del patrón de franjas, f_0 es la frecuencia del patrón de franjas, $\phi(x)$ es la distribución de fase buscada, δ es un término de fase adicional conocido como desplazamiento de fase, y $n(x)$ es ruido aditivo. En muchas situaciones el término de inclinación, conocido como "tilt" en inglés, es despreciable o puedo ser eliminado mediante una previa calibración del experimento. Eliminándolo y combinando el término de ruido con la luz de fondo obtendremos

$$I(x) = a(x) + b(x)\cos[\phi(x) + \delta]. \tag{2.58}$$

Los algoritmos de desplazamiento de fase buscan extraer las funciones $a(x)$, $b(x)$ y $\phi(x)$ de un conjunto de imágenes conteniendo diferentes desplazamientos de fase, δ. Para ello, se debe lograr modificar el cambio de fase al capturar distintas imágenes. A continuación se analizan los dos casos más utilizados: algoritmo de tres y cuatro pasos.

Algoritmo de Tres Pasos

Suponga que se adquieren tres imágenes de intensidad, I_1, I_2 e I_3, con el correspondiente desplazamiento de fase

$$\delta_k = \frac{2\pi}{3}(k-1), \quad k = 1,2,3. \tag{2.59}$$

Utilizando la identidad trigonométrica $\cos(\alpha+\beta) = \cos\alpha\cos\beta - \sin\alpha\sin\beta$, la Ec. 2.58 puede ser reescrita como

$$I_k(x) = a(x) + b(x)\cos\phi(x)\cos\delta_k - b(x)\sin\phi(x)\sin\delta_k, \tag{2.60}$$

Los tres patrones de intensidad adquiridos cumplen

$$\begin{cases} I_1(x) = a(x) + b(x)\cos\phi(x), \\ I_2(x) = a(x) - \frac{1}{2}b(x)\cos\phi(x) - \frac{\sqrt{3}}{2}b(x)\sin\phi(x), \\ I_3(x) = a(x) - \frac{1}{2}b(x)\cos\phi(x) + \frac{\sqrt{3}}{2}b(x)\sin\phi(x). \end{cases} \tag{2.61}$$

El término de iluminación de fondo, $a(x)$, viene dado por

$$a(x) = \frac{1}{3}\left(I_1(x) + I_2(x) + I_3(x)\right). \tag{2.62}$$

La función de modulación, $b(x)$, cumple

$$b(x) = \frac{1}{3}\sqrt{3[I_3(x) - I_2(x)]^2 + [2I_1(x) - I_2(x) - I_3(x)]^2}. \tag{2.63}$$

La fase se encuentra descrita por

$$\phi(x) = \arctan\left(\frac{\sqrt{3}[I_3(x) - I_2(x)]}{2I_1(x) - I_2(x) - I_3(x)}\right). \tag{2.64}$$

La fase obtenida, debido a la periodicidad de las funciones trigonométricas, estará restringida al intervalo $(-\pi, \pi]$. Para reconstruir la fase sin restricciones puede ser necesario realizar un proceso llamado desenvolvimiento de la fase [99, 100, 101] (en inglés, phase-unwrapping). De esta forma, adquiriendo tres imágenes y un procesamiento de datos, se logra obtener la fase [102]. Si bien el algoritmo de tres pasos es utilizado, se puede reducir la propagación de ruido al adquirir una imagen extra. Un ejemplo de esto es el algoritmo de Brunning para cuatro pasos [94].

Algoritmo de Cuatro Pasos

En el algoritmo de Brunning de cuatro pasos, se adquieren cuatro imágenes con una fase equiespaciada contenida en el intervalo $[0,2\pi)$. Al adquirir una imagen adicional, se logra reducir la propagación del ruido aditivo. El desplazamiento de fase entre los patrones está determinado por

$$\delta_k = \frac{\pi}{2}(k-1), \quad k = 1,2,3,4. \tag{2.65}$$

Las cuatro imágenes adquiridas tienen la siguiente forma

$$\begin{cases} I_1(x) = a(x) + b(x)\cos\phi(x), \\ I_2(x) = a(x) - b(x)\sin\phi(x), \\ I_3(x) = a(x) - b(x)\cos\phi(x), \\ I_4(x) = a(x) + b(x)\sin\phi(x). \end{cases} \tag{2.66}$$

Para extraer la iluminación de fondo se promedian estas intensidades. De necesitar la modulación, $b(x)$, puede ser obtenida mediante la ecuación

$$b(x) = \frac{1}{2}\sqrt{[I_1(x) - I_3(x)]^2 + [I_4(x) - I_2(x)]^2}. \tag{2.67}$$

Finalmente, la fase se encuentra descrita por

$$\phi(x) = \arctan\left(\frac{I_4(x) - I_2(x)}{I_1(x) - I_3(x)}\right). \tag{2.68}$$

Como en el algoritmo de tres pasos, en este caso puede ser necesario realizar el procedimiento de desenvolvimiento de fase para que deje de estar restringida al intervalo $(-\pi,\pi]$.

2.5 EXTRACCIÓN DE FASE EN EL DOMINIO DE FOURIER

Método de Takeda

Previamente fueron descritos algunos de los métodos que permiten extraer la fase al trabajar con patrones de intensidad como los expresados en la Ec. 2.57. En esta sección se describe un método que permite extraer la fase adquiriendo una imagen. En ausencia de ruido, la intensidad presente en la Ec. 2.57 puede ser reescrita como [93]

$$\begin{aligned} I(x,y) &= a(x,y) + b(x,y)\cos(2\pi f_0 x + \phi(x,y)) \\ &= a(x,y) + c(x,y)\exp(j2\pi f_0 x) + c^*(x,y)\exp(-j2\pi f_0 x) \end{aligned} \tag{2.69}$$

con $c(x,y) = 1/2b(x,y)\exp(j\phi(x,y))$. Se realiza la transformada de Fourier,

$$\mathscr{F}\{I\}(f,f_y) = A(f,f_y) + C(f-f_0,f_y) + C^*(f+f_0,f_y), \tag{2.70}$$

en donde, en el dominio de Furrier, cada termino representa un lóbulo. El primero representa la iluminación de fondo, y los otros dos son lóbulos laterales, a más-menos la frecuencia fundamental del patrón, f_0, respectivamente. Dada la condición para que estos tres términos no se traslapen en el espacio de Fourier, se puede filtrar el término $C(f-f_0,f_y)$. Luego de trasladarlo al origen, se realiza la transformada inversa de Fourier y, aplicando el logaritmo al resultado, se obtiene

$$\log[c(x,y)] = \log[1/2b(x,y)] + j\phi(x,y). \tag{2.71}$$

La fase puede ser extraída tomando la parte imaginaria de esta expresión, luego de haberle realizado el procesamiento de desenvolvimiento de fase.

Método de Hilbert

El método se Hilbert utiliza la expresión de la intensidad vista anteriormente en las Ecs. 2.57 o 2.69, aprovechando el hecho de que sea una expresión real. Al igual que con el método de Takeda, se elimina el término constante de la intensidad mediante un filtro en Fourier, obteniendo la siguiente expresión para la intensidad

$$I_r(x,y) = b(x,y)\cos(2\pi f_0 x + \phi(x,y)), \tag{2.72}$$

en donde el subíndice r hace referencia a que es una función real. Como consecuencia directa, la transformada de Fourier de I_r tendrá la misma información contenida en las frecuencias angulares ω_x negativas que en las positivas [25]. Siendo la función $\tilde{I}(\omega_x,\omega_y)$ la transformada de Fourier de I_r, la cual se puede expresar como

$$\begin{aligned} I_r(x,y) &= \int_{-\infty}^{\infty} \tilde{I}(\omega_x,\omega_y)\mathrm{e}^{j\omega_x x}\mathrm{d}\omega_x, \\ \tilde{I}(-\omega_x,-\omega_y) &= \tilde{I}^*(\omega_x,\omega_y), \end{aligned} \tag{2.73}$$

y la *señal compleja analítica*, $I(x,y)$, asociada a $I_r(x,y)$ como

$$\begin{aligned} I(x,y) &= 2\int_0^{\infty} \tilde{I}(\omega_x,\omega_y)\mathrm{e}^{j\omega_x x}\mathrm{d}\omega_x \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} \tilde{I}(\omega_x,\omega_y)(1+\mathrm{signo}(\omega_x))\mathrm{e}^{j\omega_x x}\mathrm{d}\omega_x, \\ &= \mathscr{F}^{-1}\left\{\tilde{I}(\omega_x,\omega_y)(1+\mathrm{signo}(\omega_x))\right\}, \\ &= I_r(x,y) + \mathscr{F}^{-1}\left\{\tilde{I}(\omega_x,\omega_y)\right\} * \mathscr{F}^{-1}\left\{\mathrm{signo}(\omega_x)\right\}, \\ &= I_r(x,y) + \frac{j}{\pi}\mathrm{v.p.}\int \frac{I_r(x',y)}{x-x'}\mathrm{d}x', \end{aligned} \tag{2.74}$$

en donde v.p. es el "valor principal" de Cauchy, $*$ denota la convolución y la función signo(ω) se encuentra definida como

$$\text{signo}(\omega) = \begin{cases} 1, & \text{si } \omega > 0 \\ 0, & \text{si } \omega = 0 \\ -1, & \text{si } \omega < 0. \end{cases} \tag{2.75}$$

La transformada de Hilbert de una función $f(t)$ se denota como $\mathscr{H}[f(t)]$ y está definida de la siguiente manera

$$\begin{aligned} \mathscr{H}[f(t)] &= \frac{1}{\pi}\text{v.p.}\int_{-\infty}^{\infty}\frac{f(\tau)}{t-\tau}d\tau \\ &= f(t) * \frac{1}{\pi t} \end{aligned} \tag{2.76}$$

De esta forma, dada la adquisición $I_r(x,y)$, se puede construir la *señal compleja analítica*, $I(x,y)$, como

$$I(x,y) = I_r(x,y) + j\mathscr{H}[I_r(x,y)]. \tag{2.77}$$

Utilizando la siguiente propiedad de las transformadas de Hilbert

$$\mathscr{H}[\cos(\nu t)] = \text{sen}(\nu t) \quad \nu > 0, \tag{2.78}$$

la fase puede ser recuperada utilizando la siguiente ecuación

$$\phi(x,y) = \tan^{-1}\left\{\frac{\text{Im}(I(x,y))}{\text{Re}(I(x,y))}\right\} - 2\pi f_0 x, \tag{2.79}$$

donde $\phi(x,y)$ es la fase cuantitativa en el plano (x,y). Larkin et al. demostraron que este análisis puede ser ampliado a casos bidimensionales [103].

2.6 INTEGRACIÓN

En muchas técnicas de imagen de fase cuantitativa, la reconstrucción de fase se logra integrando información de un campo de gradiente bidimensional. Por tal motivo, la integración, como sus diversas formas de ser implementada, adquieren un rol muy importante. Uno de los principales problemas al integrar tiene su origen a nivel experimental (ruido, rango dinámico, tiempo de exposición, etc) en donde los campos de gradientes obtenidos no suelen ser integrables, es decir, no representan un campo irrotacional [104].

2.6.1 *Método de Mínimos Cuadrados*

Dado un campo de gradientes integrable, (p,q), modelamos el campo de gradientes del objeto ϕ adquirido, en presencia de ruido, como [105]

$$\left(\frac{\partial\phi}{\partial x},\frac{\partial\phi}{\partial y}\right)=(p,q)+(\varepsilon_x,\varepsilon_y), \tag{2.80}$$

siendo $(\varepsilon_x,\varepsilon_y)$ los ruidos asociados a las derivadas parciales en x e y, respectivamente. La solución de mínimos cuadrados se obtiene al minimizar la propagación de estos ruidos, lo que es equivalente a minimizar la función de energía

$$\begin{aligned} E[\phi] &= \iint \left\{\mathscr{L}(x,y,\phi,\partial_x\phi,\partial_y\phi)\right\}\mathrm{d}x\mathrm{d}y, \\ &= \iint \left\{(\partial_x\phi-p)^2+(\partial_y\phi-q)^2\right\}\mathrm{d}x\mathrm{d}y, \\ &= \iint \left(\varepsilon_x^2+\varepsilon_y^2\right)\mathrm{d}x\mathrm{d}y. \end{aligned} \tag{2.81}$$

La función de energía, E, puede ser interpretada como una medida de distancia. Esto permite pensar este problema de minimización como el de la proyección ortogonal de las derivadas de ϕ al espacio definido por las funciones p y q [106]. La solución con menor error cuadrático será $\phi_{MC}=\operatorname{argmin}\{E[\phi]\}$ y se obtiene utilizando la ecuación de Euler Lagrange

$$\frac{\partial\mathscr{L}}{\partial\phi}-\frac{\partial}{\partial x}\left(\frac{\partial\mathscr{L}}{\partial(\partial_x\phi)}\right)-\frac{\partial}{\partial y}\left(\frac{\partial\mathscr{L}}{\partial(\partial_y\phi)}\right)=0. \tag{2.82}$$

Dicha solución es

$$\begin{cases} \dfrac{\partial^2\phi}{\partial x^2}+\dfrac{\partial^2\phi}{\partial y^2}=\dfrac{\partial p}{\partial x}+\dfrac{\partial q}{\partial y} \\ (\partial_x\phi-p,\partial_y\phi-q)\cdot\vec{\eta}=0, \end{cases} \tag{2.83}$$

con $\vec{\eta}$ el vector normal a la superficie de la imagen [107].

2.6.2 *Algoritmo de Integración de Frankot y Chellappa*

El enfoque propuesto por Frankot y Chellappa [106] garantiza la integrabilidad al tratar el mapa de gradientes del objeto mediante la proyección ortogonal de las derivadas parciales sobre una base de funciones ortogonales finitas, las cuales son intrínsecamente integrables. Utilizando una base de Fourier, una superficie ϕ puede representarse como

$$\phi(x,y) = \int_{-\infty}^{\infty}\int_{-\infty}^{\infty} \Phi(\omega_x,\omega_y) \mathrm{e}^{j(\omega_x x+\omega_y y)} \mathrm{d}\omega_x \mathrm{d}\omega_y, \tag{2.84}$$

donde ω_x y ω_y son las frecuencias angulares asociada a las coordenadas espaciales x e y, respectivamente; y Φ es la transformada de Fourier de ϕ definida como:

$$\Phi(x,y) = \frac{1}{2\pi}\int_{-\infty}^{\infty}\int_{-\infty}^{\infty} \phi(x,y) \mathrm{e}^{-j(\omega_x x+\omega_y y)} \mathrm{d}x\mathrm{d}y. \tag{2.85}$$

La transformada de Fourier de una derivada posee la siguiente propiedad

$$\mathscr{F}\left\{\frac{\partial\phi}{\partial i}\right\} = j\omega_i\Phi, \quad i = x,y. \tag{2.86}$$

Al realizar y simplificar la transformada de Fourier de la solución de mínimos cuadrados presente en la Ec. 2.83, se obtiene la siguiente solución

$$\phi = \mathscr{F}^{-1}\left\{\frac{\omega_x \mathscr{F}\{\partial_x\phi\} + \omega_y \mathscr{F}\{\partial_y\phi\}}{j{\omega_x}^2 + j{\omega_y}^2}\right\}, \tag{2.87}$$

en donde $\partial_x\phi$ y $\partial_y\phi$ son las componentes del gradiente del campo del objeto ϕ adquirido de forma experimental. La Ec. 2.87 es válida excepto en el punto $(\omega_x,\omega_y) = (0,0)$, representando que la información correspondiente al valor promedio de la función ϕ se pierde al adquirir las derivadas $\partial_i\phi$ [106]. Computacionalmente, esta expresión es beneficiosa debido a que se puede utilizar las propiedades de la transformada rápida de Fourier (FFT: "Fast Fourier Transform") para su resolución [108].

2.6.3 *Integración a partir de una Derivada*

Es posible lograr la integración adquiriendo una derivada parcial. En esta sección se analiza el caso en donde la derivada adquirida tiene una dirección arbitraria $\hat{n}$, representada por g_n. Se asume que los ejes solidarios a la imagen están dados por (x,y), ver Fig. 2.7. En primera instancia, se representa la derivada de la fase a recuperar, ϕ, proyectada sobre los ejes solidarios a la imagen (x,y), ver Figura 2.7.

$$\begin{aligned} \nabla\phi\cdot\hat{n} &= \partial_x\phi\cos\alpha + \partial_y\phi\sin\alpha, \\ \nabla\phi\cdot\hat{t} &= -\partial_x\phi\sin\alpha + \partial_y\phi\cos\alpha. \end{aligned} \tag{2.88}$$

Se procede de forma similar al problema de mínimos cuadrados explicado en la Sec. 2.6.1. Se busca minimizar la siguiente ecuación de la energía

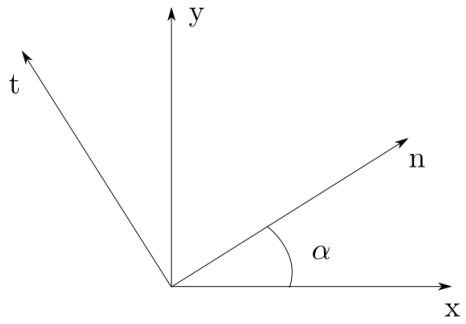


Figura 2.7: Ejes solidarios a la derivada parcial (n,t) y las imágenes (x,t).

$$\begin{aligned} E[\phi] &= \iint \left\{ (\nabla\phi \cdot \hat{n} - g_n)^2 + \lambda (\nabla\phi \cdot \hat{t})^2 \right\} \mathrm{d}A' \\ &= \iint \left\{ (\partial_x\phi \cos\alpha + \partial_y\phi \sin\alpha - g_n)^2 + \lambda (-\partial_x\phi \sin\alpha + \partial_y\phi \cos\alpha)^2 \right\} \mathrm{d}A, \end{aligned} \tag{2.89}$$

en donde λ es un parámetro de regularización que controla la compensación entre la fidelidad de $\nabla\phi \cdot \hat{n}$ con g_n junto con la minimización de la norma de la derivada en el eje ortogonal a n, $\nabla\phi \cdot \hat{t}$. Aplicando la condición de minimización de Euler Lagrange dadas por la ecuación 2.82 se obtiene

$$\begin{aligned} &\frac{\partial}{\partial x}\left[2(\partial_x\phi \cos\alpha + \partial_y\phi \sin\alpha - g_n)\cos\alpha + 2\lambda(-\partial_x\phi \sin\alpha + \partial_y\phi \cos\alpha)(-\sin\alpha)\right] \\ &+ \frac{\partial}{\partial y}\left[2(\partial_x\phi \cos\alpha + \partial_y\phi \sin\alpha - g_n)\sin\alpha + 2\lambda(-\partial_x\phi \sin\alpha + \partial_y\phi \cos\alpha)(\cos\alpha)\right] = 0. \end{aligned} \tag{2.90}$$

Simplificando,

$$\begin{aligned} &\partial_x^2\phi(\cos^2\alpha + \lambda\sin^2\alpha) + \partial_y^2\phi(\sin^2\alpha + \lambda\cos^2\alpha) + 2(\partial_x\partial_y\phi)\sin\alpha\cos\alpha(1-\lambda) \\ &\qquad - \partial_x g_n \cos\alpha - \partial_y g_n \sin\alpha = 0. \end{aligned} \tag{2.91}$$

Al aplicar la transformada de Fourier y utilizar la propiedad presente en la Ec. 2.86, se obtiene

$$\begin{aligned} &-\omega_x^2(\cos^2\alpha + \lambda\sin^2\alpha)\mathscr{F}\{\phi\} - \omega_y^2(\sin^2\alpha + \lambda\cos^2\alpha)\mathscr{F}\{\phi\} \\ &\qquad - \omega_x\omega_y 2\sin\alpha\cos\alpha(1-\lambda)\mathscr{F}\{\phi\} = j(\omega_x\cos\alpha + \omega_y\sin\alpha)\mathscr{F}\{g_n\}. \end{aligned} \tag{2.92}$$

Despejando ϕ y simplificando se obtiene la solución genérica para la integración de la fase utilizando una derivada y un parámetro de regularización, λ,

$$\phi = \mathscr{F}^{-1}\left\{\frac{-j(\omega_x\cos\alpha+\omega_y\sin\alpha)\mathscr{F}\{g_n\}}{(\omega_x\cos\alpha+\omega_y\sin\alpha)^2+\lambda\,(\omega_x\sin\alpha-\omega_y\cos\alpha)^2}\right\}. \tag{2.93}$$

Si la derivada coincide con el eje x, $\alpha = 0$, y la solución adquiere la siguiente forma [109, 110]

$$\phi = \mathscr{F}^{-1}\left\{\frac{-j\omega_x\mathscr{F}\{g_x\}}{\omega_x^2+\lambda\,\omega_y^2}\right\}. \tag{2.94}$$

Para valores de λ mayores que 0, las altas frecuencias presentes en la dirección vertical son atenuadas. Esto impone una condición de suavidad al penalizar los grandes valores de la derivada ortogonal, $\partial_y\phi$. El valor óptimo para λ puede determinarse mediante un proceso de ensayo y error para lograr los mejores resultados. Para el caso en donde λ se establece en 0, la Ec. 2.94 puede interpretarse como una integración directa, válida únicamente en datos sin ruido [110]. Al realizar una integración directa con datos ruidosos aparecerá una serie de estructuras en formas de franjas horizontales en la imagen reconstruida debido a la no atenuación del ruido de baja frecuencia dado por el operador ω_x^{-1} que actúa sobre la transformada de Fourier de la derivada adquirida [111, 112, 113].

3

RECUPERACIÓN DE LA FASE MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN DEL TÉRMINO PRISMA DE LA ECUACIÓN DE TRANSPORTE DE INTENSIDAD CON UNA FUNCIÓN ESCALÓN DESLIZANTE

La Ecuación de Transporte de la Intensidad (TIE), descrita en la Sec. 2.3.9, ofrece varias ventajas para visualizar una derivada direccional de la fase utilizando un gradiente en intensidad impuesto sobre el camino óptico [114]. El artículo aquí presente [1] es una mejora de este último trabajo logrando obtener la fase de forma cuantitativa.

Para este fin, se escanea la muestra utilizando una función escalón, lo que amplifica el término prisma de la TIE en una región específica de la imagen adquirida, ver Ec. 2.55. La derivada se obtiene generando una imagen sintética mediante la extracción de la región donde el término prisma es amplificado. Con estas imágenes se forman dos imágenes sintéticas conteniendo las derivadas direccionales. La fase es obtenida al integrar estas derivadas.

A continuación se presenta una descripción más detallada del arreglo experimental, Sec. 3.1, de la adquisición, 3.2, calibración, Sec. 3.3 y finalmente de los resultados, Sec. 3.4. En el Apéndice A se incluyen algunos cálculos, aproximaciones y técnicas necesarias para procesar los datos como el cálculo de la escala transversal de las imágenes y el método de interpolación utilizado para generar las imágenes sintéticas.

3.1 ARREGLO EXPERIMENTAL

El arreglo experimental propuesto se modifica respecto al trabajo utilizado como referencia [114]. Esto consiste en un haz colimado por la lente L_0, y se agrega un sistema óptico de lentes $4f$ con el fin de generar la imagen del PO a una distancia Δz de la cámara, ver Fig. 3.1. El sistema óptico $4f$ permite, como fue mencionado en la Sec. 2.3.6, replicar la imagen sin alterar la fase en el correspondiente plano imagen. A su vez, debido a que la máscara en intensidad es desplegada utilizando una pantalla de cristal líquido (LCD), que actúa como una red de difracción, aparecen varias imágenes replicadas en el plano imagen, ver Sec. 2.3.8. Este fenómeno es evitado filtrando los órdenes de difracción diferentes al orden cero, en el plano de Fourier mediante un diafragma (por más información ver Apéndice C).

El LCD permite modular tanto en intensidad como en fase. Para elegir la modulación se deben colocar dos polarizadores con cierta configuración. Se toma la dirección de propagación

del haz de luz como $\hat{z}$, el ángulo 0^o en la parte superior de los polarizadores, y la dirección positiva utilizando la regla de la mano derecha. Se coloca el polarizador P_1 previo al LCD con un ángulo $\Psi_1 = +87^o$. Y el polarizador P_2 luego del LCD con un ángulo $\Psi_2 = -3^o$. La cámara, CCD, se ubica a una distancia Δz alejada del plano imagen donde el PO se encuentra en foco.

La información correspondiente a la alineación del arreglo experimental se puede encontrar en el Apéndice C.



Figura 3.1: Arreglo experimental propuesto.

3.2 ADQUISICIÓN Y PROCESAMIENTO

Para la adquisición de las imágenes utilizamos un código propio capaz de controlar píxel a píxel la imagen desplegada en el LCD, junto con la adquisición de las imágenes utilizando una cámara CCD (Thorlabs modelo DCU224C, resolución 1280×1024). Los parámetros de la cámara son controladas a través del mencionado código.

Con las imágenes capturadas se obtienen las derivadas como se describe en el artículo. Luego, se procede a integrarlas en el dominio de Fourier, ver Sec. 2.6.2.

Para la integración, con el fin de generar una periodicidad con cambios suaves entre imágenes sucesivas, se hace periódica la imagen a ser integrada (Fig. 3.2).

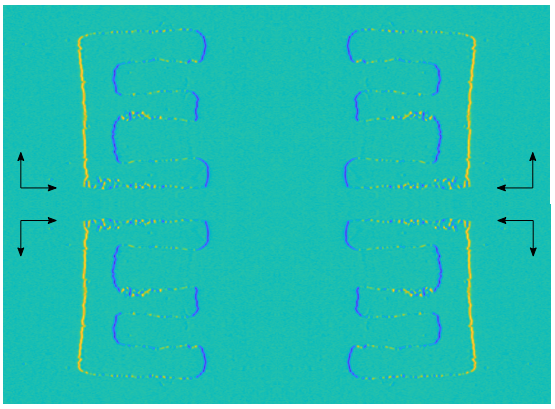


Figura 3.2: Imagen conteniendo un arreglo de la derivada parcial utilizada para la integración numérica y satisfaciendo la condición de periodicidad en el dominio de Fourier.

3.3 CALIBRACIÓN

La solución de la TIE brinda la información de la fase, ϕ. La diferencia entre la fase reconstruida con el PO y sin el mismo, denominada $\Delta\phi$, se relaciona con la diferencia de camino óptico (OPL: "Optical Path Length") como

$$\begin{aligned} \Delta\text{OPL} &= \frac{\lambda_0}{2\pi}\Delta\phi, \\ &= (n_1 - n_0)t, \end{aligned} \tag{3.1}$$

con λ_0 la longitud de onda propagándose en el vacío, n_1 el índice de refracción de la muestra, n_0 el índice de refracción del medio y t la distancia recorrida por la luz en ese medio. Por lo tanto, el grosor, t', de la muestra viene dado por

$$t' = \frac{\lambda_0}{2\pi}\frac{\Delta\phi}{n_1 - n_0}, \tag{3.2}$$

siendo $n_0 = 1$ el valor para el índice de refracción del aire y $\lambda_0 = 532nm$ la longitud de onda de la fuente.

Durante la digitalización de las imágenes se pierde el factor de escala correspondiente a la intensidad por lo que mediante un proceso de calibración con una muestra conocida, es posible hallar dicho factor.

Para la calibración se realizan los mismos pasos anteriores con una muestra de ancho conocido, t_c, y con índice de refracción, n_2, obteniendo ΔOPL_c. Se calcula el factor multiplicativo, η, tal que el ancho medido, t'_c, multiplicado por este factor sea el otorgado por el fabricante

$$\eta = \frac{t_c}{t'_c}. \tag{3.3}$$

Para la medida del grosor de la muestra calibrada nos basamos en la Fig. 3.3, éste se obtiene restando el valor medio de la base, rango 1 junto con el rango 3, con el del escalón, rango 2.

$$t'_c = \frac{\Delta\text{OPL}_{c,1} + \Delta\text{OPL}_{c,3}}{2} - \Delta\text{OPL}_{c,2}, \tag{3.4}$$

con $\Delta\text{OPL}_{c,i}$ el camino óptico obtenido utilizando el objeto calibrado.

3.3.1 *Error*

El error experimental del factor η, $\Delta\eta$, se obtuvo utilizando el método de propagación del error de la Ec. 3.3. El objeto calibrado tiene un error asociado, Δt_c, conocido. Mientras que los errores asociados a los rangos, Δr_i con $i = 1,2,3$, se obtienen tomando la máxima desviación de la

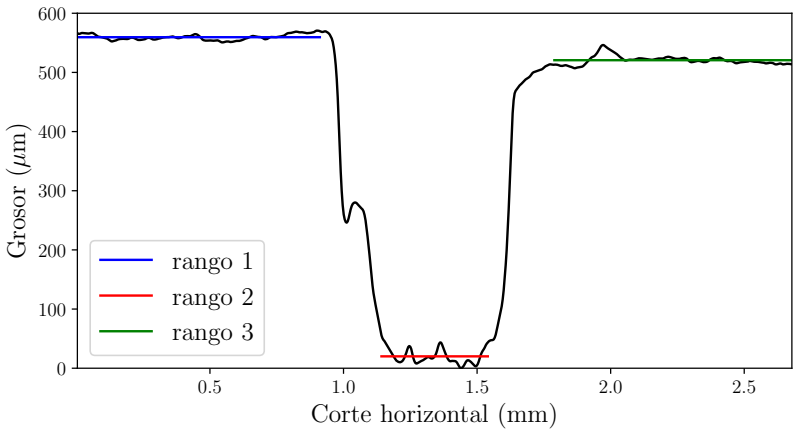


Figura 3.3: Sección transversal del objeto utilizado para calibrar, multiplicado por el factor η previamente calculado. Se visualizan los rangos utilizados para este fin.

media de cada segmento. La muestra calibrada, como se menciona en el artículo, tiene un espesor previamente determinado $t_c = 520nm$. La medida experimental de la muestra calibrada, t'_c, se obtiene utilizando la Ec. 3.4 mientras que su respectivo error se calcula como

$$\Delta t'_c = \sqrt{\Delta r_2^2 + \frac{\Delta r_1^2 + \Delta r_3^2}{4}}. \tag{3.5}$$

Con estos datos se obtiene el error experimental del factor η de la siguiente manera

$$\Delta\eta = \sqrt{\frac{\Delta t_c^2}{t_c'^2} + \frac{t_c^2 \Delta t_c'^2}{t_c'^4}}. \tag{3.6}$$

Finalmente, la medida del ancho de la muestra es

$$t = \eta t' \pm \left(\Delta\eta t' + \eta \Delta t'\right), \tag{3.7}$$

con $\Delta t'$ obtenida de forma equivalente a la Ec. 3.5.

3.4 RESULTADOS

Los resultados obtenidos mostraron una muy buena consistencia al medir el grosor de la muestra analizada con nuestro método y los datos presentados en [60]. Este método presenta una ventaja con aquellos métodos que requieren de piezas móviles, al eliminar posibles errores de calibración o alineación debido a estos movimientos mecánicos. Debido al tiempo de adquisición, este método no puede utilizarse con muestras dinámicas.

La simplicidad de la máscara empleada hace que este método sea atractivo para el estudio de objetos estáticos usando rayos X. Aunque la aplicación actual utilizando esta máscara sencilla es algo lenta, el método es fácilmente adaptable mediante el uso de una máscara que contenga un mayor número de escalones con la misma variación en intensidad. Esto permitiría la adquisición simultánea de un mayor número de regiones donde el término prisma se incrementa tanto positiva como negativamente, lo que reduciría significativamente el tiempo de adquisición.

Algunas desventajas de este método pueden observarse al analizar muestras que presentan grandes discontinuidades. En estos lugares se puede observar discrepancias con la muestra siendo analizada. Una posible fuente de error es la aproximación utilizada para encontrar la intensidad del PO a partir de la intensidad desenfocada, ver Ec. A.3. En la Fig. (3) del correspondiente artículo se aprecia el PO sin máscara que fue utilizado para la normalización de las imágenes adquiridas. En los bordes del mismo, se observa la presencia de los términos generados por el desenfoque: término lente y prisma. Estos términos toman especial importancia en los bordes de los objetos, explicando así los problemas en esta región, ver Fig. 3.4. En la Fig. 3.5 se ve la reconstrucción del PO con la calibración incluida, así como la sección utilizada para la medición del grosor de la reconstrucción observado en la Fig. 3.4.

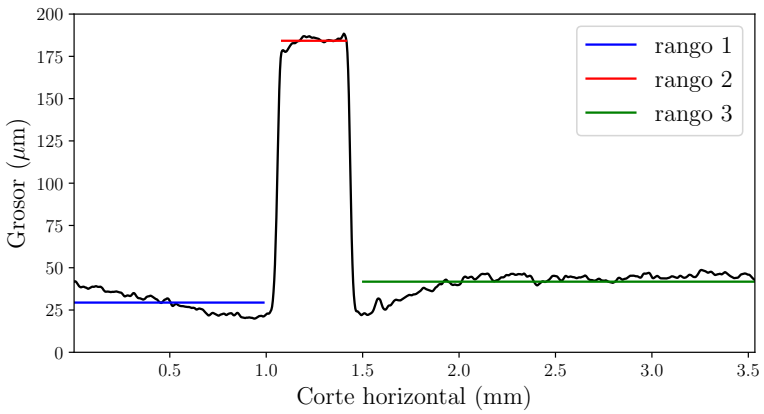


Figura 3.4: Sección transversal del PO estudiado. Se visualizan los rangos utilizados para la medición de su grosor.

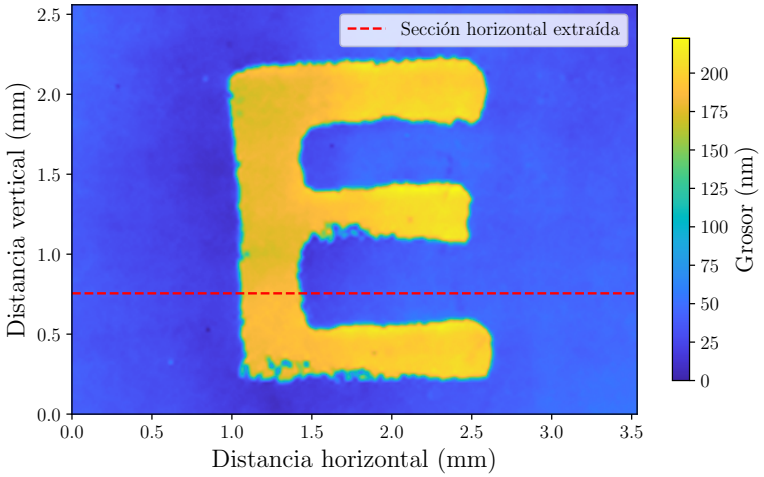


Figura 3.5: Imagen con el PO reconstruido. Se visualiza el corte extraído para la medición del grosor de la muestra, junto con la gráfica observada en la Fig. 3.4.

Optik - International Journal for Light and Electron Optics 271 (2022) 170120

Contents lists available at ScienceDirect

Optik - International Journal for Light and Electron Optics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijleo

Original research article

Phase retrieval by amplifying the prism term of the Transport of Intensity Equation with a sliding step function

M. Fernández Lakatos *, G.A. Ayubi, N. Casaballe, J.A. Ferrari, E. Frins

Instituto de Física, Facultad de Ingeniería, UdelaR, J. Herrera y Reissig 565, 11300, Montevideo, Uruguay

ARTICLE INFO

Keywords:
TIE
Quantitative Phase Retrieval

ABSTRACT

Objectives: We present a novel quantitative phase retrieval method suitable for pure or weakly absorbing phase objects using the Transport of Intensity Equation. Our goal is to improve imaging methods available for analyzing pure phase and weakly absorbent objects. The method is exemplified with an economic and robust setup including no moving parts.
Method: Our method is based on the amplification of the prism term in the Transport of Intensity Equation. We project an amplitude mask consisting of a blurred edge with a steep gradient to scan a $2D$ phase object and repeat the process with its complement. This allows us, by means of the cancellation of the lens term, to acquire the enhanced gradient which we then integrate to retrieve the phase of the sample.
Results: We provide an analytic demonstration of our method together with the study of a practical case. The results obtained are in good agreement with the properties of the sample being studied using a partially coherent light and an LCD to display the mask.
Conclusions: Our method offers a new option to study pure phase or weakly absorbing objects. It is simple and robust, allowing the design of a system without moving parts.

1. Introduction

Phase imaging with partially coherent light of pure phase objects and weakly absorbing media plays an important role in many fields of science such as physics, biology, medicine and engineering [1–4]. Conventional interferometric phase imaging methods are accurate, however they require both stable optical systems and coherent lighting to accomplish their goal [5,6]. Even though there exist highly stable interferometers where the reference and sample arms lie along the same light beam [7,8], the requirement of multiple images to implement any phase recovery algorithm is unavoidable.

In recent years, new non-interferometric phase imaging techniques have been developed, providing highly satisfactory results competing with traditional interferometric methods [9,10]. These can be sorted in two main groups: those retrieving the phase from the wavefront (i.e. wavefront detection) [11–13] and those extracting it from an intensity pattern.

The transport of intensity equation (TIE) [14,15] provides a deterministic phase retrieval method included in the second group that relates intensity and phase of the light. Since an intensity pattern can be recorded by means of a camera, the TIE applications offer many advantages in terms of setup simplicity. A basic optical configuration is sufficient to provide experimental robustness against disturbances, hence there is no phase unwrapping and no need of iterative processes. In addition, and because it is not an interferometric method, it offers certain freedom for the choice of the light source: a partially coherent one is completely sufficient, relaxing the stringent beam-coherence requirement for interferometric setups.

* Corresponding author.
E-mail address: mfernandez@fing.edu.uy (M. Fernández Lakatos).

https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2022.170120
Received 29 April 2022; Received in revised form 30 September 2022; Accepted 17 October 2022
Available online 23 October 2022
0030-4026/© 2022 The Authors. Published by Elsevier GmbH. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Many applications have emerged since the TIE began to be used for phase retrieval. In some cases, the TIE offers a real, if not the only, solution for quantitatively retrieving the phase of a transparent object. For example, Jesacher et al. [16] proposed and implemented the use of TIE to measure the refractive index profile of direct laser written waveguides. In their work, the authors report that the refractive index obtained from the TIE and an interferometric method are in good accordance. While the latter is not suitable for real-time measurements, the TIE-based method offers the opportunity to be implemented during the production process. Using the chromatic aberrations inherent in optical systems, Waller et al. [17] transform mechanical axial blur into chromatic aberration. In this way, they achieve the necessary defocus by acquiring a color image (RGB) and obtain quantitative phase imaging of objects that can be observed with high-resolution microscopes. The method is fast and accurate and can be implemented in a conventional microscope. The optical configuration proposed by Zuo et al. [18] is based on a Michelson-like architecture attached to a non-modified inverted transmission bright field microscope. In a single camera exposure they simultaneously obtain two laterally separated images from different image planes, enabling the TIE phase recovery. Gorthi et al. [19] achieve quantitative phase imaging using a microfluidic device to transport the cells across the image plane of a microscope, which generates a spatially dependent blurring. The TIE was also applied for phase observation with X-ray sources [20] and a generalization of the phase concept permits its quantitative measurement with a conventional transmission electron microscope [21].

In the present work, we propose a novel method in order to obtain quantitative phase imaging based on the TIE by amplifying the *prism term*, i.e. the term proportional to the scalar product of the phase gradient and the intensity [22]. We adapt the configuration proposed in [23] to amplify the phase gradient using an amplitude mask of an unsharp edge, which is sequentially moved across the image. This defocus border is obtained by an out-of-focus image of a 2D step function projected on a liquid crystal device (LCD). The extracted one pixel width region is used to assemble a synthetic image that becomes the enhanced phase image after interpolation. The advantage here is that no physical element has to be moved while conducting the experiment. The setup is simple and uses few optical elements, making the method inexpensive and experimentally robust. The procedure for image acquisition is similar to previous works (e.g., [23]); however, we update the qualitative approach of the method to a quantitative one.

Recently developed mask-based methods used in X-ray TIE imaging are capable of enhancing the signal of the phase gradient, leading to better visibility, contrast and signal-to-noise ratio [24,25]. Due to the similar onset with the present work, we expect our approach to also be able to achieve improved results over different quantitative phase imaging methods, although investigating this aspect is outside the scope of this paper.

In the next section we present the theoretical basis for this method. In Section 3.1 we describe the experimental setup, the acquisition procedure and the algorithm used to showcase our method. In Section 3.2 we present an example of representative results and the conclusions are summarized in Section 4.

2. Theory

The TIE, whose origin relies on the Helmholtz equation, has become a well established non-interferometric tool to recover the phase from intensity images. The TIE can be written as

$$\frac{\partial I}{\partial z} = -\frac{1}{k}\left(\nabla I \cdot \nabla\phi + I\nabla^2\phi\right), \tag{1}$$

where k is the wavenumber, $\nabla = \left(\partial_x, \partial_y\right)$ is the gradient operator in the (x, y)-plane orthogonal to the direction of propagation of light z, $I = I(x, y, z)$ represents the intensity at the image plane and $\phi(x, y)$ the phase profile of a phase object.

A Finite Difference (FD) method is used to estimate the derivative of the intensity in the direction of propagation from two intensity images: one of them acquired at the image plane, $I(x, y, z)$ and the other slightly defocused and separated by a distance Δz from the previous one, $I(x, y, z + \Delta z)$. Eq. (1) can then be written as

$$I(x, y, z + \Delta z) \approx I(x, y, z) - \frac{\Delta z}{k}\left(\nabla I \cdot \nabla\phi + I\nabla^2\phi\right). \tag{2}$$

As usual in FD methods, the parameter Δz must be chosen small enough so that the linearity condition remains valid. However, if Δz is chosen too small, the signal-to-noise ratio is reduced, which impairs the performance of the phase retrieval. As discussed in [23,26], the parameter Δz must be chosen so that the near-field approximation remains valid.

Let us consider a partially coherent collimated light beam that passes through a pure-phase or weakly-absorbing object, with an intensity modulation I_{PO} and an LCD where an amplitude mask is displayed. To simplify the notation, from here on, we will refer to the phase object (PO) even though it may present weak absorptions. Then, by means of a $4f$ system, a slightly blurred image is formed on the camera plane, as shown schematically in Fig. 1.

By interposing an intensity mask I_M between the PO and the $4f$ system, the intensity distribution on the camera is expressed as

$$I(x, y, z + \Delta z) = I_{PO} I_M - \frac{\Delta z}{k}\left[I_{PO}\nabla I_M \cdot \nabla\phi + I_M\left(I_{PO}\nabla^2\phi + \nabla I_{PO} \cdot \nabla\phi\right)\right]. \tag{3}$$

Some useful results arise from considering different types of masks. Let us first consider the case where the intensity mask is an uniform intensity pattern (e.g. $I_M(x, y) = 1$). For this case Eq. (3) becomes

$$I(x, y, z + \Delta z) = I_{PO} - \frac{\Delta z}{k}\left(I_{PO}\nabla^2\phi + \nabla I_{PO} \cdot \nabla\phi\right). \tag{4}$$

If Δz is small enough and the PO under study produces smooth intensity variations, then Eq. (4) simplifies to

$$I(x, y, z + \Delta z) \approx I_{PO}. \tag{5}$$

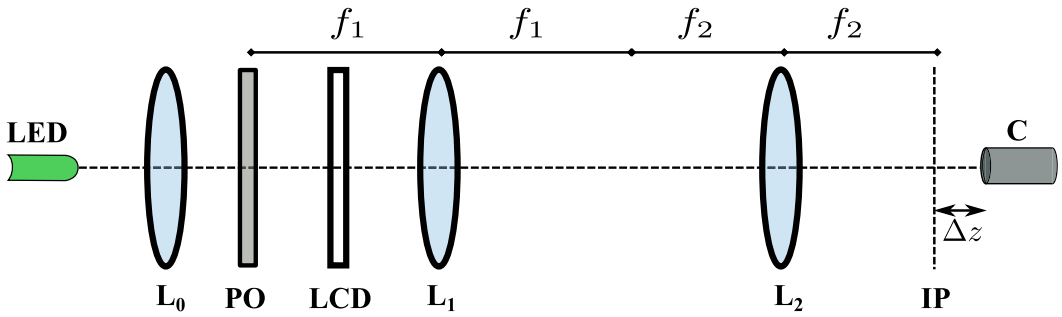


Fig. 1. Experimental setup. PO is the test phase object, LCD is the liquid crystal display in which the amplitude mask is displayed, IP is the image plane, Δz is the axial defocus distance and C is a digital camera. Lenses $L_{1,2}$ are part of the $4f$ system and L_0 lens is used to collimate the LED source.

Therefore, the intensity image of the PO recorded without using an intensity mask provides us an image that will be used later for normalization purposes. In case of having a pure phase object, this step is not necessary.

Let us now consider an intensity mask consisting of an out-of-focus 2D step function. This will allow us to enhance the edges of the PO in the region were the derivative of the intensity mask is maximum, that is, the second term in Eq. (3).

We first choose the intensity mask $I_M(x, y)$ to have a gradient with a positive partial derivative, $\partial_x I_M > 0$. To obtain the phase gradient of the PO, we displace the mask on the LCD in the x direction. We observe a sigmoid-like function superimposed to the PO in the image received by the camera. For each displacement step in the x-axis, we extract a strip one-pixel wide along the y direction, where the mask intensity gradient is large. These strips can be collected in a synthetic image; a detailed description of this procedure can be found in [23]. Let this synthetic image be called $I(x, y, z+\Delta z) = I_x^+$. Next we choose the complementary mask $I_M^*(x, y)$, for which the gradient of the mask amplitude is opposite and we find a negative partial derivative: $\partial_x I_M^* < 0$. Repeating the same procedure as before, we form a second synthetic image called I_x^-. We subtract I_x^- from I_x^+, compute the scalar product between the intensity mask and the PO gradients, and from Eq. (4) we get

$$I_x^+ - I_x^- = -\frac{2\Delta z}{k} I_{PO} \frac{\partial I_M}{\partial x} \frac{\partial \phi}{\partial x}. \tag{6}$$

Finally, normalizing Eq. (6) by I_{PO} and defining the constant

$$\alpha = -\frac{2\Delta z}{k} \frac{\partial I_M}{\partial x}, \tag{7}$$

it follows

$$\frac{I_x^+ - I_x^-}{I_{PO}} = \alpha \frac{\partial \phi}{\partial x}. \tag{8}$$

Thus, we obtain the x partial derivative of the phase ϕ up to a constant. A schematic description of this procedure is presented in Fig. 2. Panel (a) shows a cross section of a sample phase. The insets in panels (b) and (c) show the sliding defocused intensity mask, I_M, and its complementary, I_M^*. This intensity masks move along the x axis to build the synthesized images I_x^+, shown in panel (b) and I_x^-, shown in panel (c). The resulting image shows the term proportional to the phase derivative of Eq. (8) depicted in panel (d).

In an analogous way, the procedure described above is repeated in the y-direction which leads to the following expression of the phase partial derivative

$$\frac{I_y^+ - I_y^-}{I_{PO}} = \alpha \frac{\partial \phi}{\partial y}. \tag{9}$$

The constant α is the same for both cases since it depends exclusively on the blur of the step function produced by the distance between the LCD and the PO. As a last step, the phase $\phi(x, y)$ is retrieved using the Frankot–Chellappa integration algorithms, [27], applied to $\alpha \nabla \phi(x, y)$. The value of the constant α was obtained using a calibrated phase object.

3. Experiment

3.1. Setup

The setup used to demonstrate the method is schematically shown in Fig. 1. For our implementation, a collimated light beam from a quasi-monochromatic light source (e.g. a LED) propagates in the z-direction and hits a phase object PO, which posses a phase distribution $\phi(x, y)$. A liquid crystal display (LCD, 1280 × 768 model LC2002, Holoeye) located after the PO is used to generate an intensity mask. The lenses L_1 (focal length 20 cm) and L_2 (focal length 25 cm) are used to form a $4f$ system in order to generate an image of the PO in a plane separated $\Delta z \simeq 1$ mm from the sensor of a digital camera (CCD, 1280 × 1024 pixels). The PO used in this experiment is an Indium Tin Oxide (ITO)-layer approximately 150 nm thick deposited on a glass substrate. The selected design – a capital letter "E" approx. 2×3 mm – was imprinted by etching in the ITO-layer (a detailed description can be found in [28]).

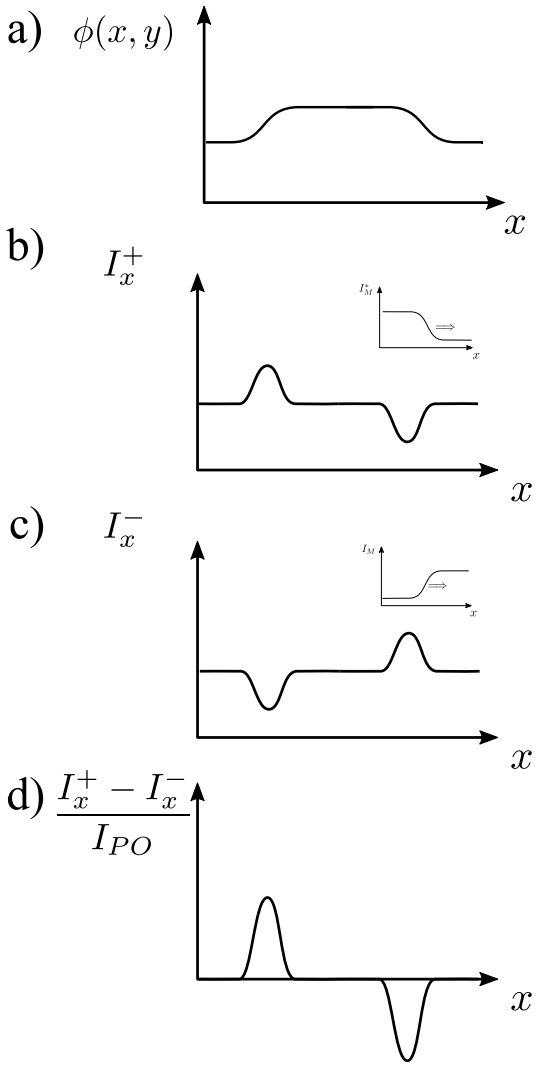


Fig. 2. Schematic description of the procedure. Panel (a) shows the cross section of a sample phase. The insets in panels (b) and (c) show the sliding defocused intensity mask, I_M, and its complementary, I_M^*. This intensity masks move along the x axis to build the synthesized images I_x^+, shown in panel (b) and I_x^-, shown in panel (c). These are combined to find the phase derivative, shown in panel (d) (up to a multiplicative constant).

Alternatively, the order of some elements in Fig. 1 can be changed, placing the LCD in front of the camera, similar to the setup in [29], provided the image of the mask can be captured. It may be necessary to add an extra lens to reduce diffraction effects.

3.2. Experimental results

The recorded image in the absence of the mask is that of the PO alone, I_{PO}, as explained in Section 2. This is required since our sample is not a pure phase object (ITO absorbs approx. $2-5\%$ in the working spectral range). Fig. 3 shows the acquired image used for normalization as seen in Eq. (8).

Next, the intensity mask projected in the LCD is displaced one pixel at a time to scan the PO and build I_x^+. A strip of the phase gradient, amplified by the mask's gradient, is extracted from each image. The process is repeated using the complementary intensity mask to build I_x^-.

An example of this process is presented in Fig. 4. The top panels (a) and (b) in Fig. 4 are the normalized images with the superimposed defocused mask (panel (a)) and its complementary (panel (b)) at an arbitrary position. The panels (c) and (d) show horizontal line cuts of the above images (white line on the top panels).

Before processing the images, it is necessary to check if the pixels of the LCD screen and the camera have the same orientation. If there is a small angular misalignment, it must be corrected prior to processing, so that the algorithm can be correctly applied to extract the line of pixels used as a mask. If this correction is necessary, it is done digitally. We scanned our PO sample using 200 displacement steps, appropriate for its size. The same procedure is repeated with the masks rotated 90 degrees and displacing them in the y direction.

The top panels in Fig. 5 display the normalized synthetic images I_x^+ (a) and I_x^- (b) used to obtain the x partial derivative of the phase, as seen in Eq. (8). The bottom panels show the x and y partial derivatives of the phase (multiplied by α). After integration,

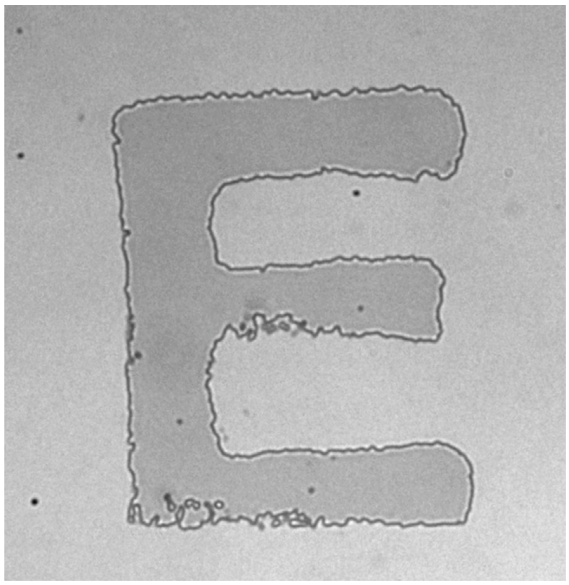


Fig. 3. Intensity image I_{PO} of the phase object without an intensity mask, defocused by Δz.

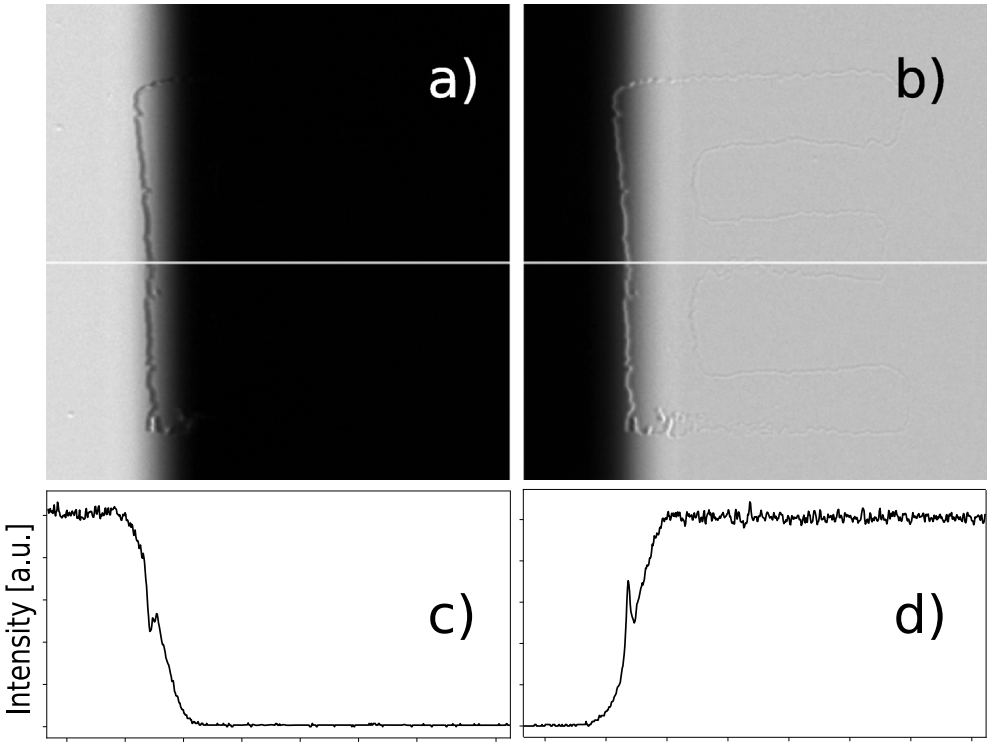


Fig. 4. Panels (a), (b): Normalized images of the PO with the superimposed blurred step function and its complementary. Panels (c), (d): Intensity plot of a horizontal line cut of the image (white line in panels (a) and (b)). Synthetic images I_x^+ and I_x^- are assembled by extracting one-pixel wide strips from these images, where the gradient of the mask is maximum.

we retrieve the phase of the sample shown in Fig. 6, up to a multiplicative constant (α). For the integration we use the Frankot–Chellappa algorithm [27] that works in the Fourier domain. We selected this integration method because it is robust to noise and fast in execution [30], in addition to being a well known algorithm and easy to implement. Using a reference phase object for calibration we find the scaling factor for the retrieval. The reference object is a Plexiglas plate with a rectangular groove [31], whose mean depth was $520\ \text{nm} \pm 2\%$. Based on the variance of the retrieval, the estimated uncertainty for this mean depth is 10%. Using these results, we retrieved the thickness for the ITO test sample as $\delta = 150\ \text{nm} \pm 11\%$, within the expected results.

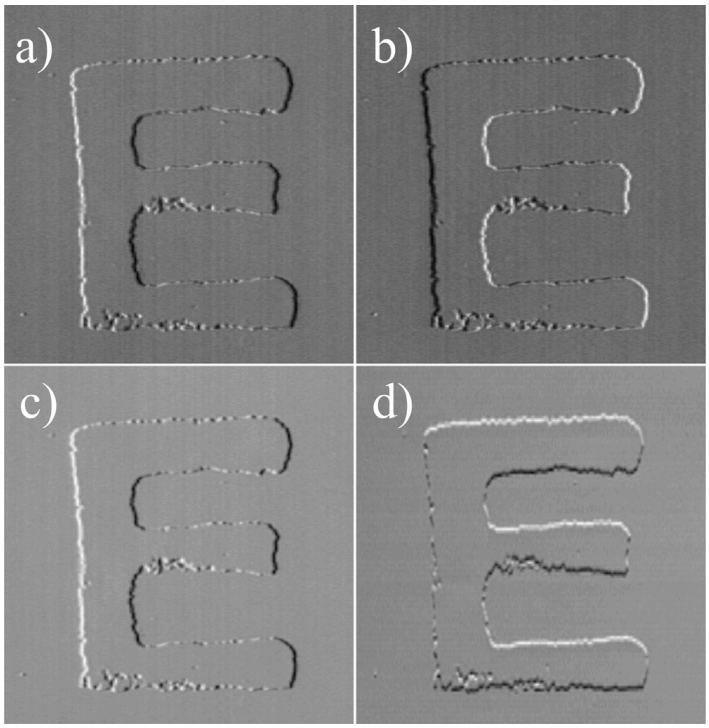


Fig. 5. Top: Synthesized normalized images I_x^+/I_{PO} (a) and I_x^-/I_{PO} (b). Bottom: Partial derivatives of the phase (up to a multiplicative constant): $\alpha\partial_x\phi$ (c) and $\alpha\partial_y\phi$ (d).

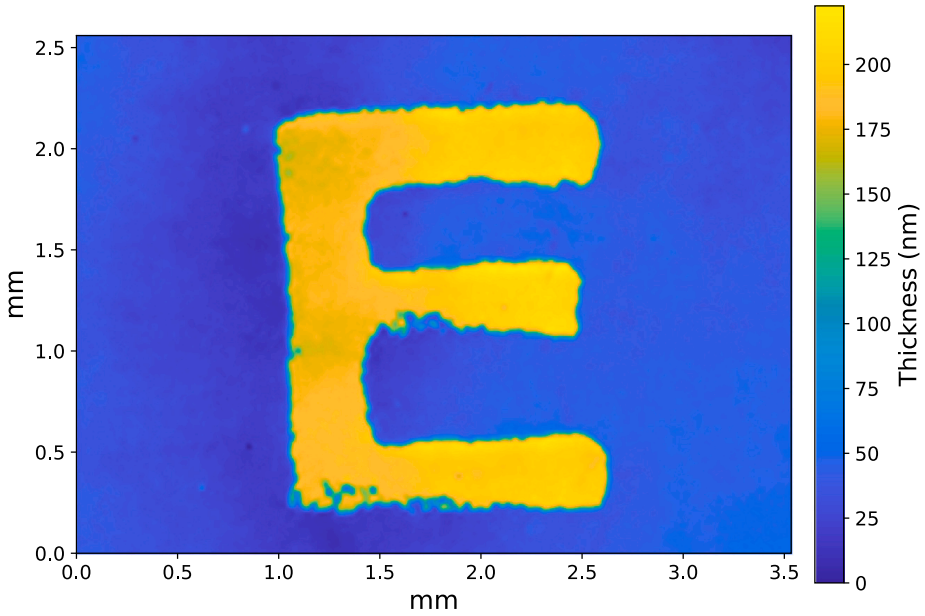


Fig. 6. Retrieved phase image with a color scale indicating the thickness of the PO (nm). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

4. Conclusion

We have proposed a novel method for quantitative phase imaging based on the Transport of Intensity Equation (TIE). More specifically, it is based on the amplification of the so called TIE prism term by means of an intensity mask. The setup is straightforward and includes no moving parts, which makes the technique robust, inexpensive and applicable for microscopy applications. We have demonstrated the feasibility of the method with an experimental implementation showing a retrieved phase in good agreement with the expected results. Our method is suitable for applications where the scan time does not prevent its use in systems with temporal variability, and also for dynamic one-dimensional systems where scanning becomes unnecessary.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgments

This work was funded by the Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC, UdelaR, Uruguay), Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA). M.F. acknowledges a PhD fellowship from the ANII: Agencia Nacional de Innovación e Investigación (POS-NAC-2018-1-151939).

References

[1] S.S. Kou, L. Waller, G. Barbastathis, C.J.R. Sheppard, Transport-of-intensity approach to differential interference contrast (TI-DIC) microscopy for quantitative phase imaging, Opt. Lett. 35 (3) (2010) 447–449, http://dx.doi.org/10.1364/OL.35.000447, URL http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-35-3-447.

[2] A. Barty, K.A. Nugent, D. Paganin, A. Roberts, Quantitative optical phase microscopy, Opt. Lett. 23 (11) (1998) 817–819, http://dx.doi.org/10.1364/OL.23.000817, URL http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-23-11-817.

[3] K.A. Nugent, T.E. Gureyev, D.F. Cookson, D. Paganin, Z. Barnea, Quantitative phase imaging using hard X rays, Phys. Rev. Lett. 77 (1996) 2961–2964, http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.2961, URL https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.77.2961.

[4] G. Popescu, Quantitative Phase Imaging of Cells and Tissues, McGraw-Hill Education, 2011, URL https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9780071663427.

[5] Z. Malacara, M. Servín, Interferogram Analysis for Optical Testing, second ed., CRC Press., 2005, URL https://doi.org/10.1201/9781315221021.

[6] K. Yatabe, K. Ishikawa, Y. Oikawa, Simple, flexible, and accurate phase retrieval method for generalized phase-shifting interferometry, J. Opt. Soc. Amer. A 34 (1) (2017) 87–96, http://dx.doi.org/10.1364/JOSAA.34.000087, URL http://josaa.osa.org/abstract.cfm?URI=josaa-34-1-87.

[7] E.M. Frins, W. Dultz, J.A. Ferrari, Polarization-shifting method for step interferometry, Pure Appl. Opt.: J. Eur. Opt. Soc. A 7 (1) (1998) 53–60, http://dx.doi.org/10.1088/0963-9659/7/1/009.

[8] J.A. Ferrari, E.M. Frins, Single-element interferometer, Opt. Commun. 279 (2) (2007) 235–239, http://dx.doi.org/10.1016/j.optcom.2007.07.038, URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030401807007584.

[9] C. Zuo, J. Li, J. Sun, Y. Fan, J. Zhang, L. Lu, R. Zhang, B. Wang, L. Huang, Q. Chen, Transport of intensity equation: a tutorial, Opt. Lasers Eng. 135 (2020) 106187, http://dx.doi.org/10.1016/j.optlaseng.2020.106187, URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143816619320858.

[10] K.A. Nugent, The measurement of phase through the propagation of intensity: an introduction, Contemp. Phys. 52 (1) (2011) 55–69, http://dx.doi.org/10.1080/00107514.2010.513884, arXiv:https://doi.org/10.1080/00107514.2010.513884.

[11] B.C. Platt, R. Shack, History and principles of Shack–Hartmann wavefront sensing, J. Refract. Surg. 17 (2001) S573–S577, http://dx.doi.org/10.3928/1081-597X-20010901-13.

[12] X. Cui, J. Ren, G.J. Tearney, C. Yang, Wavefront image sensor chip, Opt. Express 18 (16) (2010) 16685–16701, http://dx.doi.org/10.1364/OE.18.016685, URL http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-18-16-16685.

[13] D. de Lima Monteiro, G. Vdovin, P. Sarro, High-speed wavefront sensor compatible with standard CMOS technology, Sensors Actuators A 109 (3) (2004) 220–230, http://dx.doi.org/10.1016/j.sna.2003.10.039, URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924424703005752.

[14] M.R. Teague, Deterministic phase retrieval: a Green's function solution, J. Opt. Soc. Amer. 73 (11) (1983) 1434–1441, http://dx.doi.org/10.1364/JOSA.73.001434, URL http://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=josa-73-11-1434.

[15] N. Streibl, Phase imaging by the transport equation of intensity, Opt. Commun. 49 (1) (1984) 6–10, http://dx.doi.org/10.1016/0030-4018(84)90079-8, URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030401884900798.

[16] A. Jesacher, P.S. Salter, M.J. Booth, Refractive index profiling of direct laser written waveguides: tomographic phase imaging, Opt. Mater. Express 3 (9) (2013) 1223–1232, http://dx.doi.org/10.1364/OME.3.001223, URL http://www.osapublishing.org/ome/abstract.cfm?URI=ome-3-9-1223.

[17] L. Waller, S.S. Kou, C.J.R. Sheppard, G. Barbastathis, Phase from chromatic aberrations, Opt. Express 18 (22) (2010) 22817–22825, http://dx.doi.org/10.1364/OE.18.022817, URL http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-18-22-22817.

[18] C. Zuo, Q. Chen, W. Qu, A. Asundi, Noninterferometric single-shot quantitative phase microscopy, Opt. Lett. 38 (18) (2013) 3538–3541, http://dx.doi.org/10.1364/OL.38.003538, URL http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-38-18-3538.

[19] S.S. Gorthi, E. Schonbrun, Phase imaging flow cytometry using a focus-stack collecting microscope, Opt. Lett. 37 (4) (2012) 707–709, http://dx.doi.org/10.1364/OL.37.000707, URL http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-37-4-707.

[20] T.E. Gureyev, D.M. Paganin, A.W. Stevenson, S.C. Mayo, S.W. Wilkins, Generalized Eikonal of partially coherent beams and its use in quantitative imaging, Phys. Rev. Lett. 93 (2004) 068103, http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevLett.93.068103, URL https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.93.068103.

[21] S. Bajt, A. Barty, K. Nugent, M. McCartney, M. Wall, D. Paganin, Quantitative phase-sensitive imaging in a transmission electron microscope, Ultramicroscopy 83 (1) (2000) 67–73, http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991(99)00174-6, URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304399199001746.

[22] K. Ichikawa, A.W. Lohmann, M. Takeda, Phase retrieval based on the irradiance transport equation and the Fourier transform method: experiments, Appl. Opt. 27 (16) (1988) 3433–3436, http://dx.doi.org/10.1364/AO.27.003433, URL http://ao.osa.org/abstract.cfm?URI=ao-27-16-3433.

[23] J.A. Ferrari, J.L. Flores, G.A. Ayubi, J.M.D. Martino, C.D. Perciante, E. Frins, Orientation-selective edge enhancement of phase objects, Opt. Commun. 434 (2019) 44–48, http://dx.doi.org/10.1016/j.optcom.2018.10.031, URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030401818309064.

[24] K.S. Morgan, D.M. Paganin, K.K.W. Siu, X-ray phase imaging with a paper analyzer, Appl. Phys. Lett. 100 (12) (2012) 124102, http://dx.doi.org/10.1063/1.3694918, arXiv:https://doi.org/10.1063/1.3694918.

[25] C. He, W. Sun, C.A. MacDonald, J.C. Petruccelli, The application of harmonic techniques to enhance resolution in mesh-based x-ray phase imaging, J. Appl. Phys. 125 (23) (2019) 233101, http://dx.doi.org/10.1063/1.5094167, arXiv:https://doi.org/10.1063/1.5094167.

[26] L. Waller, L. Tian, G. Barbastathis, Transport of intensity phase-amplitude imaging with higher order intensity derivatives, Opt. Express 18 (12) (2010) 12552–12561, http://dx.doi.org/10.1364/OE.18.012552, URL http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-18-12-12552.

[27] R. Frankot, R. Chellappa, A method for enforcing integrability in shape from shading algorithms, IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell. 10 (4) (1988) 439–451, http://dx.doi.org/10.1109/34.3909.

[28] J.M. Di Martino, G.A. Ayubi, E.A. Dalchiele, J.R. Alonso, A. Fernández, J.L. Flores, C.D. Perciante, J.A. Ferrari, Single-shot phase recovery using two laterally separated defocused images, Opt. Commun. 293 (2013) 1–3, http://dx.doi.org/10.1016/j.optcom.2012.11.084, URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030401812014010.

[29] C. Wang, Q. Fu, X. Dun, W. Heidrich, Quantitative phase and intensity microscopy using snapshot white light wavefront sensing, Sci. Rep. 9 (1) (2019) 1–12.

[30] Y. Quéau, J.-D. Durou, J.-F. Aujol, Normal integration: A survey, J. Math. Imaging Vision 60 (2018) http://dx.doi.org/10.1007/s10851-017-0773-x.

[31] J.A. Ferrari, E.M. Frins, One-beam interferometer by beam folding, Appl. Opt. 41 (25) (2002) 5313–5316, http://dx.doi.org/10.1364/AO.41.005313, URL http://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-41-25-5313.

4

IMAGENOLOGÍA DE FASE CUANTITATIVA DE TRAYECTORIA COMÚN MEDIANTE LA PROPAGACIÓN A TRAVÉS DE UNA MÁSCARA SINUSOIDAL DE INTENSIDAD

En el trabajo descrito en el Cap. 3 se determina la fase acumulada al atravesar un objeto semi transparente mediante un sistema óptico cuyos componentes se mantenían fijos durante la adquisición, colaborando a la robustez del sistema. Sin embargo, dicho método conlleva un error en la determinación de la fase debido al desenfoque presente en las imágenes utilizadas para la normalización. Por esta razón, se decide desarrollar un método que permitiera trabajar con el PO en foco durante la adquisición.

La elaboración de esta idea concluye en un nuevo método de reconstrucción cuantitativa de fase [2] que logra, no solamente mejorar la calidad de la reconstrucción, sino que disminuye sustancialmente la cantidad de imágenes que deben ser adquiridas. Esto concuerda con los lineamientos de este trabajo de tesis, esto es lograr, la reconstrucción a tiempo real de los PO.

En la Sec. 4.1 se detallan las bases de la teoría presentada en este artículo. En la Sec. 4.2 se presentan los montajes experimentales, tanto a nivel macroscópico como microscópico. Algunas observaciones especiales sobre la configuración experimental son descritas en la Sec. 4.3. Los métodos de adquisición y procesamiento digital se presentan en la Sec. 4.4. Finalmente, se profundizan los resultados en la Sec. 4.5. En el Apéndice B se puede encontrar una interpretación geométrica de la ecuación principal de este artículo, algunas consideraciones a tomar en cuenta respecto a la máscara sinusoidal desplegada en el LCD y las propiedades utilizadas en los cálculos de este artículo.

4.1 FUNDAMENTO TEÓRICO

La técnica basada en TIE requiere adquirir imágenes de distintos planos, por lo que no es compatible con el objetivo de trabajar sin desenfoque. Por esta razón, recurrimos a principios más básicos como los explicados en la Sec. 2.3. Se utiliza la aproximación de Kirchhoff-Fresnel bajo la aproximación paraxial, expresando la propagación del campo en el formato de convolución, ver Ec. 2.26. Se denomina el campo eléctrico en el plano objeto como $u(x,y,0) = u_0(x,y)$, y al propagarse una distancia z, $u(x,y)|_z$. Ambos campos se vinculan según

$$u(x,y)|_z = u_0(x,y) * h(x,y)|_z, \tag{4.1}$$

siendo h la función de transferencia dada por la Ec. 2.25. La Ec. (1) del presente artículo, mostrada nuevamente en la Ec. 4.2,

$$U_0' = H^{-1}\left[(HU_0) * U_M\right], \tag{4.2}$$

es interpretada como la transformada de Fourier de la propagación de la luz en el siguiente camino: se propaga el campo $u_0(x,y)$ una distancia Δz hasta la máscara, luego la atraviesa, y finalmente se propaga una distancia $-\Delta z$. El primer trayecto se representa mediante el término dentro de los paréntesis curvos de la Ec. (1) ó Ec. 4.2. Se obtiene aplicando la transformada de Fourier a ambos lados de la Ec. 4.1 y utilizando la propiedad de la convolución del producto de transformadas de Fourier, ver Ec. B.6. La convolución de este término con la transformada de la máscara representa el campo luego de atravesarla. Finalmente, se propaga el campo resultante una distancia $-\Delta z$ al multiplicar el campo resultante por el operador H^{-1}.

Debido a la configuración de lentes $4f$ utilizada, el campo del PO se replica en el plano imagen. En esta descripción, el recorrido seguido por el campo es equivalente al recorrido real en el que atraviesa todo el sistema hasta alcanzar la cámara, interactuando con la máscara en su trayectoria.

Se observa que el campo en el plano imagen depende de la transformada de Fourier de la transmitancia de la máscara. Se describe dicha transmitancia como una serie de Fourier. La naturaleza periódica de esta función tiene por consecuencia la representación como combinación lineal de funciones deltas al efectuar la transformada de la misma, ver Ec. 4.3 o (2) del presente artículo. Esta representación simplifica los cálculos y nos permite apreciar las ventajas de trabajar en este dominio.

$$U_M = \frac{1}{2}\sum_n a_n \left[\delta\left(\vec{f} - n\vec{f_0}\right)e^{jn\varphi} + \delta\left(\vec{f} + n\vec{f_0}\right)e^{-jn\varphi}\right]. \tag{4.3}$$

La Ec. (3) del presente artículo muestra el campo en el plano imagen, u_0'. Esta ecuación es obtenida sustituyendo la Ec. 4.3 en la Ec. 4.2 y utilizando la propiedad de la convolución de una función con una delta, ver Ec. B.8. u_0' depende del campo inicial, u_0, evaluado en $\vec{r} \pm \lambda \Delta z n \vec{f_0}$. Se expande este término considerando frecuencias en la máscara, mucho menores que el inverso de la longitud de onda de la fuente, λ. En el caso práctico esto no sucede debido a que la longitud de onda es de $532\mu m$ y las frecuencias utilizadas son del orden de los milímetros o centímetros.

Se reescribe el campo en el plano objeto como $u_0 = Ae^{j\phi}$, con $A^2 = I_0$, y la transformada de Fourier de la modulación del campo debido a la máscara propagada $G = \sum_n a_n e^{j\pi\lambda\Delta z\left|n\vec{f_0}\right|^2}\cos\left(2\pi\vec{r}\cdot n\vec{f_0} + n\varphi\right)$, o de otra manera $G = \sqrt{I_M}e^{j\phi_M}$. Utilizando estas definiciones se obtiene la Ec. (9) ó Ec. 4.4 del presente artículo, que expresa la intensidad observada por la cámara,

$$I_0'(\vec{r}) \approx I_0(\vec{r}) \left[I_M(\vec{r}) + \frac{\lambda \Delta z}{2\pi} \nabla \phi(\vec{r}) \cdot \nabla I_M(\vec{r}) \right]. \tag{4.4}$$

La Ec. 4.4 se parece a la ecuación de TIE, Ec. 2.56, pero sin el término del Lapaciano. Es importante recalcar que I_M corresponde a la transmitancia de la máscara propagada una distancia $-\Delta z$. Se pueden estudiar dos casos especiales para tener una mayor comprensión de la Ec. 4.4. Para el caso sin máscara, $I_M = 1$, se obtiene nuevamente I_0, coincidiendo con lo esperado y recordando que se utiliza una configuración de lentes $4f$. De no contar con un PO y estando en presencia de una máscara, en la cámara se adquiere una intensidad igual a I_M, que es efectivamente la máscara propagada. Para una explicación geométrica ver Apéndice B.1.

Haciendo uso de la Ec. (9) ó Ec. 4.4, mediante una elección estratégica de la máscara, se puede acceder al gradiente de la fase. Para este fin se despliega un patrón de franjas cosenoidal

$$I_M(\vec{r}) = 1/2 + \alpha \cos\left(2\pi \vec{r} \cdot \vec{f_M} + \varphi\right), \tag{4.5}$$

con φ una fase arbitraria, f_M la frecuencia del patrón cosenoidal y α el contraste de la señal. La imagen adquirida con la cámara fue obtenida sustituyendo la transmitancia I_M en la Ec. 4.4 y simplificando la expresión resultante mediante identidades trigonométricas, ver Ec. B.10. La expresión está dada por

$$I_0'(\vec{r}) = I_0(\vec{r}) \left[1/2 + \alpha \left(1 + \lambda^2 \Delta z^2 (\vec{f_M} \cdot \nabla \phi)^2\right)^{\frac{1}{2}} \cos\left(2\pi \vec{r} \cdot \vec{f_M} + \varphi + \psi\right) \right], \tag{4.6}$$

donde ψ satisface

$$\tan(\psi) = \lambda \Delta z \vec{f_M} \cdot \nabla \phi. \tag{4.7}$$

Si bien existen muchos métodos para reconstruir la fase a partir de su gradiente [115, 94] en este trabajo se utiliza un algoritmo de desplazamiento de fase de cuatro pasos, ver Sec. 2.4. A partir de este algoritmo se obtiene el argumento de la función coseno de la Ec. 4.6, es decir, $2\pi(\vec{r} \cdot \vec{f_M}) + \psi$. Luego, se integra el gradiente presente en el término ψ para reconstruir la fase de la muestra siendo analizada. Es importante tener en cuenta que el término $2\pi(\vec{r} \cdot \vec{f_M})$, denominado como fase de referencia, se obtiene replicando el experimento sin el PO, en donde se cumple que $\psi = 0$.

4.2 ARREGLO EXPERIMENTAL

En este trabajo se realizaron dos experimentos independientes. El primero, de un PO con un tamaño de alrededor de $2mm \times 3mm$ y una célula de mejilla con una dimensión del orden de $50 - 100\mu m$. En ambos casos se utilizó un LCD para desplegar los patrones de franjas sinusoidales. Este dispositivo necesita de dos polarizadores para modular únicamente en intensidad. En lugar

del LCD, se puede utilizar una máscara sinusoidal en intensidad impresa en algún material transparente e irla desplazando para adquirir las imágenes deseadas.

Para el estudio de objetos macroscópicos se utiliza el mismo LCD que el descrito en el Cap. 3. Por otro lado, para estudiar los objetos microscópicos fue utilizado otro LCD (Epson, modelo L3C07U-85G10, resolución 1920×1080), al que denominamos LCD2. El LCD2 presenta un tamaño de píxel de $8.5\mu m$, frente al anterior de $32\mu m$. Se ensamblaron los polarizadores uno a cada lado del LCD2 permitiendo una reducción en las dimensiones de los elementos ópticos en el arreglo experimental. El controlador del LCD2 opera filtrando un color: rojo, azul o verde. Debido a la longitud de onda de la fuente, $\lambda = 532nm$, el controlador fue ensamblado para que opere filtrando el color verde. A continuación se muestran los arreglos experimentales utilizados en ambos experimentos.

4.2.1 *Estudio a Nivel Macroscópico*

El diagrama del arreglo experimental se presenta en la Fig. 4.1. El haz de luz colimada incide en el PO y la máscara (M) dispuesta a una distancia $\Delta z = 45mm$ del mismo. Luego, el sistema óptico $4f$, formado por las lentes L_1 y L_2, reproducirá el campo del PO en la cámara (C). En el plano de Fourier del sistema óptico $4f$ se encuentra un diafragma con el objetivo de eliminar los órdenes de difracción distintos al fundamental producidos por la estructura periódica de los píxeles del LCD. Para este sistema se utilizó una fuente colimada LED caracterizada por una longitud de onda $\lambda = 532nm$, no mostrada en el esquema de la Fig. 4.1.

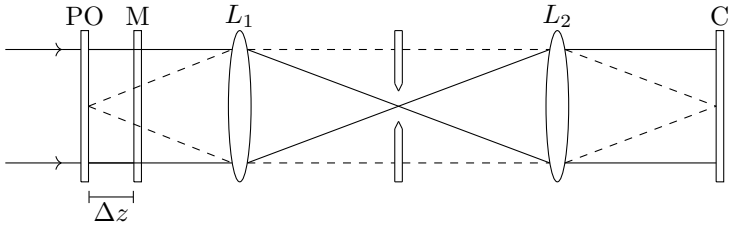


Figura 4.1: Arreglo experimental utilizado para objetos macroscópicos. PO es el objeto de fase de prueba, M es la máscara de intensidad desplegada en un LCD, $\Delta z = 45mm$ es la distancia entre el PO y la máscara, y C es una cámara digital. L_1 y L_2 forman una configuración de lentes $4f$. Debido a los efectos producidos por la pantalla LCD, se introduce un diafragma para permitir únicamente el paso del orden cero de difracción en el plano de Fourier de la configuración de lentes $4f$.

4.2.2 *Estudio a Nivel Microscópico*

Para el estudio de objetos microscópicos fue necesario realizar modificaciones en el arreglo experimental. Debido al tamaño reducido de la muestra, la intensidad de luz que llega a la cámara es muy baja. Para incrementar significativamente la intensidad con la que se ilumina la muestra se puede aumentar el tamaño del diafragma de la fuente. Esto va en detrimento de la colimación del haz, llegando a invalidar las hipótesis de la teoría propuesta.

Para solucionar este inconveniente se utiliza un sistema óptico $4f$ luego de la fuente y antes del arreglo experimental anterior, permitiendo reducir el diámetro del haz sin modificar su colimación. Como resultado se obtiene una fuente de luz colimada de mayor intensidad.

Luego de la fuente, se coloca el PO, siendo magnificado mediante el uso de la configuración de lentes $4f$ compuesta por el objetivo de microscopio L_1 y una lente L_2, ver Fig. 4.2. En el plano imagen (IP) de este sistema se encuentra el PO magnificado y a una distancia Δz la máscara de intensidad (M). Formando la imagen en la cámara (C) se encuentra la lente L_3.

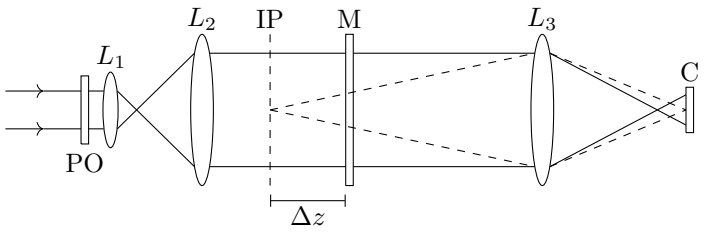


Figura 4.2: Arreglo experimental utilizado para objetos microscópicos. PO es el objeto de fase de prueba situado antes de la configuración óptica $4f$ compuesto por el objetivo de microscopio L_1 y una lente L_2. M es la máscara de intensidad desplegada en un LCD situada una distancia $\Delta z = 45mm$ del plano imagen de la configuración óptica $4f$, donde se encuentra la imagen del PO (IP). La lente L_3 forma la imagen del PO en la cámara digital C.

Arreglo experimental alternativo

En forma alternativa se desarrolla un sistema de iluminación compuesto por una fuente de luz LED ($500mA$, $\lambda = 532nm$) acoplado a un sistema de colimación por medio de una fibra óptica de $30\mu m$. En la Fig. 4.3 se aprecia el arreglo correspondiente a la fuente. A la salida de esta fuente se ensambla el montaje presente en la Fig. 4.4. Este montaje se representa en el diagrama de la Fig. 4.5. En él se puede apreciar el PO amplificado por el objetivo de microscopio L_1. Luego, la lente L_2 forma la imagen del PO en el plano imagen (IP) y a una distancia $\Delta z = 45mm$ del mismo, se coloca la máscara de intensidad (M). Las lentes L_3 y L_4 forman el sistema óptico $4f$ utilizado para formar la imagen del objeto en la cámara digital C. Un diafragma es colocado en el plano de Fourier de la configuración de lentes $4f$ formado por las lentes L_3 y L_4 para eliminar los órdenes de difracción mayores al principal producido por los píxeles del LCD.

4.3 OBSERVACIONES ESPECIALES SOBRE LA CONFIGURACIÓN EXPERIMENTAL

En esta sección se describe cómo calibrar el LCD2 utilizando el montaje experimental observado en la Fig. 4.7.

La transmitancia del LCD no es lineal, es decir, no hay una relación lineal entre los niveles de gris a desplegar y los desplegados, ver Fig. 4.6. Para caracterizar esta respuesta iluminamos el LCD2 utilizando una fuente colimada con la cámara colocada inclinada 90^o. Se capturan las imágenes utilizando máscaras uniformes para cada nivel del rango dinámico con un tiempo de

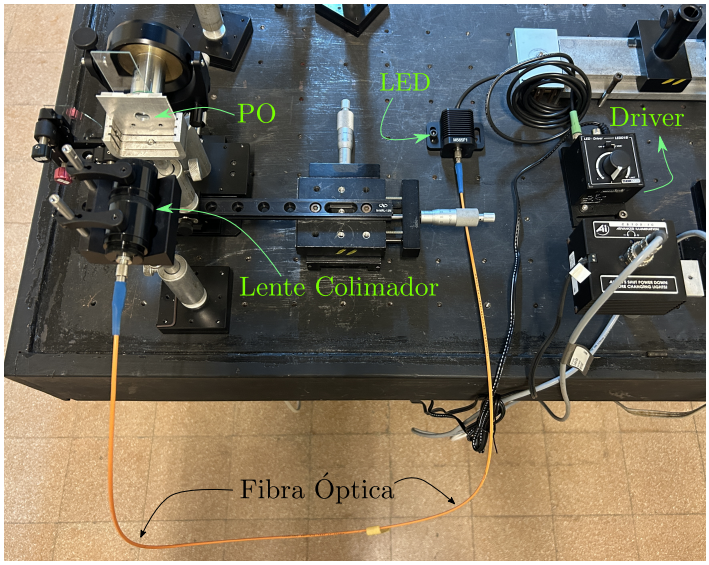


Figura 4.3: Montaje experimental de la fuente utilizada para objetos microscópicos. Se puede apreciar el LED alimentado mediante el driver y conectado a la fibra óptica, ésta a su vez está conectada a una lente colimador que ilumina el objeto de fase (PO).

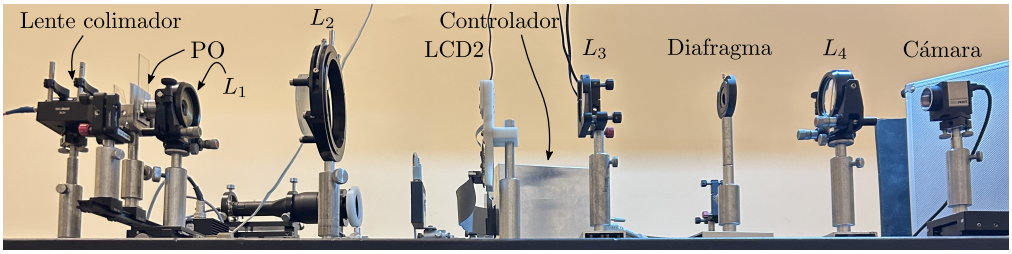


Figura 4.4: Montaje experimental utilizado para objetos microscópicos. PO es el objeto de fase de prueba situado antes del sistema óptico $4f$ compuesto por el objetivo de microscopio L_1 y una lente L_2. M es la máscara de intensidad desplegada en un LCD situada una distancia $\Delta z = 45mm$ del plano imagen del configuración de lentes $4f$, donde se encuentra la imagen del PO (IP). Las lentes L_3 y L_4 forman el sistema de óptico $4f$ utilizado para formar la imagen del objeto en la cámara digital C.

exposición de $0.1s$. En la Fig. 4.6 se observa la gráfica de la intensidad media normalizada de una sección uniforme de las imágenes adquiridas en función del nivel de opacidad de la máscara ($1-T$, siendo T la transmitancia), expresado como función del rango dinámico. En la gráfica se observa una zona donde la respuesta es lineal. El sistema opera en dicha zona.

4.4 ADQUISICIÓN Y PROCESAMIENTO

El despliegue y la adquisición de la máscara fueron automatizados utilizando un código propio mediante el lenguaje Python. Una vez colocada la muestra se ejecuta el programa y éste despliega la máscara en el LCD y adquiere. Las imágenes se componen de cuatro imágenes con la máscara sinusoidal horizontal y cuatro más con la sinusoide vertical.

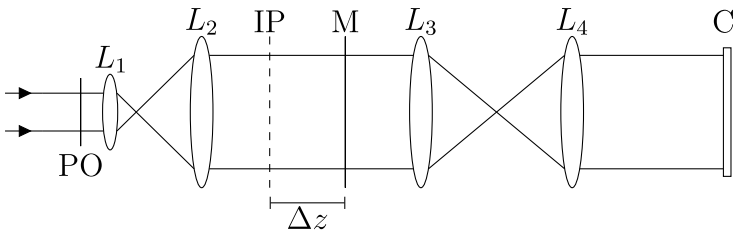


Figura 4.5: Diagrama del montaje experimental utilizado para objetos microscópicos. PO es el objeto de fase de prueba situado antes de la configuración de lentes $4f$ compuesto por el objetivo de microscopio L_1 y una lente L_2. M es la máscara de intensidad desplegada en un LCD situada una distancia $\Delta z = 45mm$ del plano imagen del sistema óptico $4f$, donde se encuentra la imagen del PO (IP). Las lentes L_3 y L_4 forman el sistema óptico $4f$ utilizado para formar la imagen del objeto en la cámara digital C.

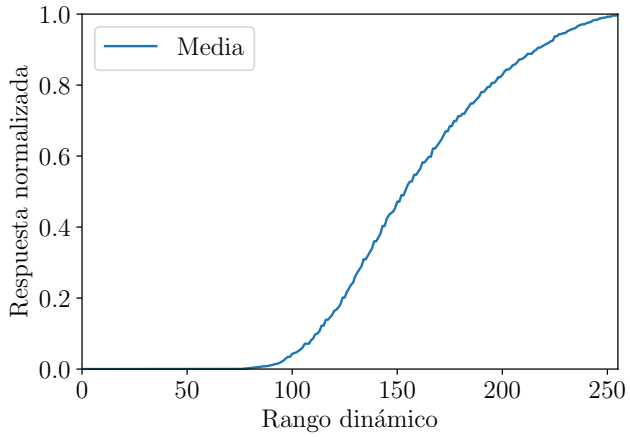


Figura 4.6: Nivel de intensidad registrado en la cámara, y posteriormente normalizado, utilizando una máscara uniforme en el LCD para cada valor del rango dinámico del aparato.

Se realiza la misma adquisición sin la muestra con el fin de obtener el plano de referencia. La fase obtenida para este plano permite obtener la diferencia de fase asociada a la muestra estudiada. En el experimento de microscopía utilizado en el artículo, ver Fig. 4.2, esta referencia también permite eliminar la fase que aparece al utilizar la tercera lente, L_3, ver Sec. 2.3.5.

Mediante el algoritmo de desplazamiento de fase se puede obtener el argumento de la Ec. 4.6 y por consiguiente, las dos derivadas parciales que conforman al gradiente de la fase. Sea I_i e I_i^0 la intensidad en la cámara adquirida con y sin el PO, respectivamente, junto a la sinusoide desplazada $i\pi/2$, utilizando las Ecs. 4.6 y 4.7, se puede observar que

$$\psi = \arctan\left(\frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3}\right) - \arctan\left(\frac{I_4^0 - I_2^0}{I_1^0 - I_3^0}\right). \tag{4.8}$$

Por lo que, de estar trabajando en el caso con una sinusoide horizontal,

$$\psi_x = \arctan\left(\lambda \Delta z f_x \frac{\partial \phi}{\partial x}\right), \tag{4.9}$$

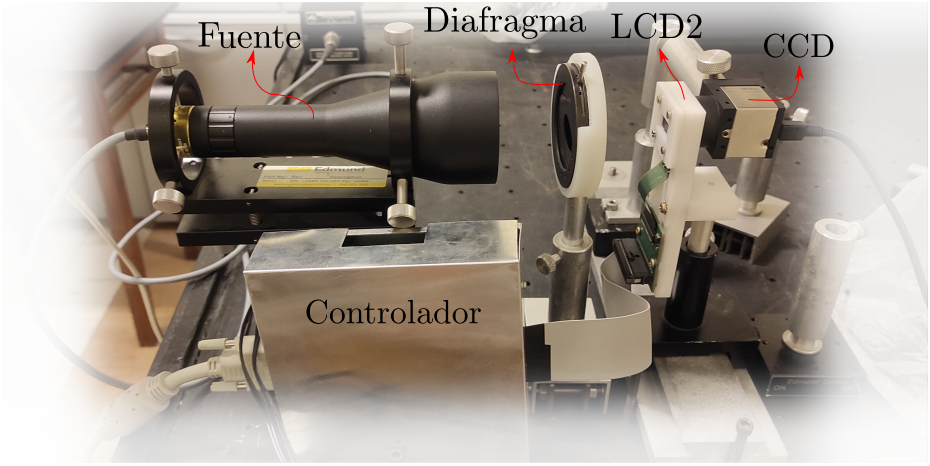


Figura 4.7: Montaje utilizado para la calibración del LCD2.

y se llega al siguiente resultado

$$\frac{\partial \phi}{\partial x} = \frac{1}{\lambda \Delta z f_x} \tan \left[\arctan\left(\frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3}\right) - \arctan\left(\frac{I_4^0 - I_2^0}{I_1^0 - I_3^0}\right) \right], \tag{4.10}$$

que representa la derivada parcial de la fase en la dirección horizontal, x. Se procede de igual manera para obtener la derivada parcial en la dirección ortogonal. Para la integración de las derivadas parciales se utiliza el dominio de Fourier.

4.5 RESULTADOS

En comparación con el artículo anterior (ver Cap. 3), con el nuevo método no solo se logra extender el estudio a objetos microscópicos sino que se reduce drásticamente el número de imágenes adquiridas, manteniendo tanto los mismos elementos ópticos como la ausencia de piezas móviles durante la adquisición. La adquisición puede dividirse en dos etapas: en primer lugar, se caracteriza el sistema sin ningún objeto de estudio; luego, se procede a la adquisición con la muestra a ser evaluada. Para caracterizar el sistema se encuentra la fase de referencia tomando ocho imágenes: cuatro por cada eje con la máscara desplazada correspondientemente. Luego de ser caracterizada, cada vez que se desee reconstruir una muestra será suficiente adquirir ocho nuevas imágenes. Dado el rápido procesamiento computacional, las restricciones en la velocidad de reconstrucción de la fase se encuentran principalmente condicionadas por el proceso de adquisición y despliegue de la máscara. En nuestro caso, el tiempo de respuesta del LCD es aproximadamente de unos $0.1s$ y, para reducir el ruido aditivo en la adquisición, utilizamos un tiempo de exposición de $0.1s$. En estas condiciones, entre reconstrucciones sucesivas se debe esperar entre 1.6-1.8s. En la Fig. 4.8, se aprecia el PO adquirido sin previo procesamiento, se puede observar el bajo contraste presente.

En este caso particular, se examinó una célula epitelial de la mucosa bucal, capturada mediante el montaje experimental detallado en la Sec. 4.2.2.

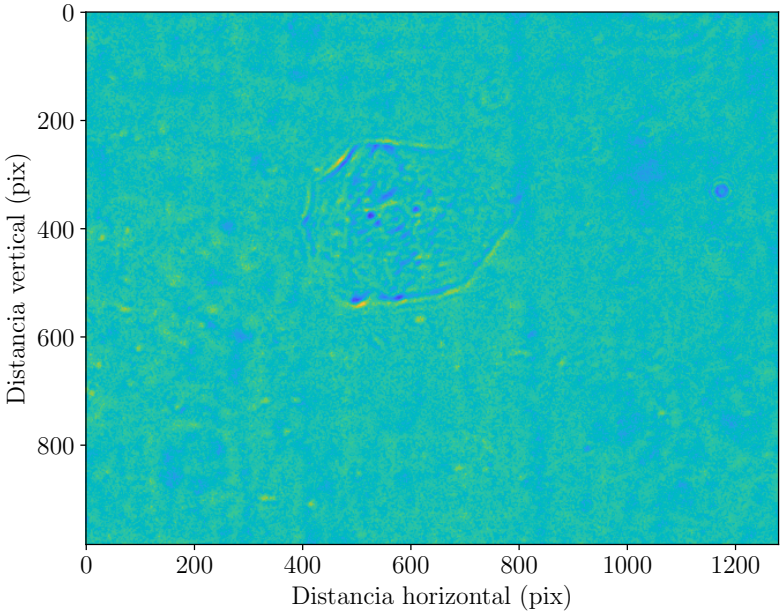


Figura 4.8: Imagen de la intensidad del PO siendo analizado. Los ejes representan los píxeles de la cámara, con la particularidad de haber eliminado algunos del eje vertical debido a la presencia de otra célula en el borde de la imagen.

En la Fig. 4.9 se puede apreciar la reconstrucción de la célula epitelial de la Fig. 4.8 utilizando el método del presente artículo con una máscara sinusoidal caracterizada por un período de 88 píxeles en el LCD colocada a una distancia $\Delta z = 45mm$ del plano imagen conteniendo la imagen del PO. Utilizando la magnificación del sistema se encuentra la equivalencia entre la distancia física de la muestra y el tamaño de los píxeles, dando lugar a la escala transversal observada. Una procedimiento alternativo para obtener esta escala puede se puede encontrar en el Apéndice C.

En la Fig. 4.9, la línea punteada roja indica la sección extraída para generar el corte horizontal representado en la Fig. 4.10, mientras que la línea punteada verde corresponde al corte vertical observado en la Fig. 4.11. Ambos cortes están expresados en unidades arbitrarias (u.a.).

Existe una relación entre la diferencia de fase y el camino óptico recorrido, ver Sec. 2.1. Mediante la Ec. 2.1 se puede expresar el resultado en función del camino óptico, que depende del grosor de la muestra. Para obtener el valor exacto de su grosor se debe calibrar el sistema utilizando un elemento de fase previamente calibrado.

La Ec. 4.10 muestra la relación entre la fase y las imágenes adquiridas, siendo ponderada por un factor que incluye, entre otros, la frecuencia de la sinusoide. En caso de adquirir las imágenes del objeto calibrado con una frecuencia distinta, será necesario considerar este factor y dividir entre dicha frecuencia. Debido al proceso de calibración y a la dependencia lineal entre el período de la sinusoide discreta desplegada en el LCD y la sinusoide observada en la cámara, se puede eliminar la dependencia de la frecuencia al multiplicar por el período medido en píxeles, ver Ec.

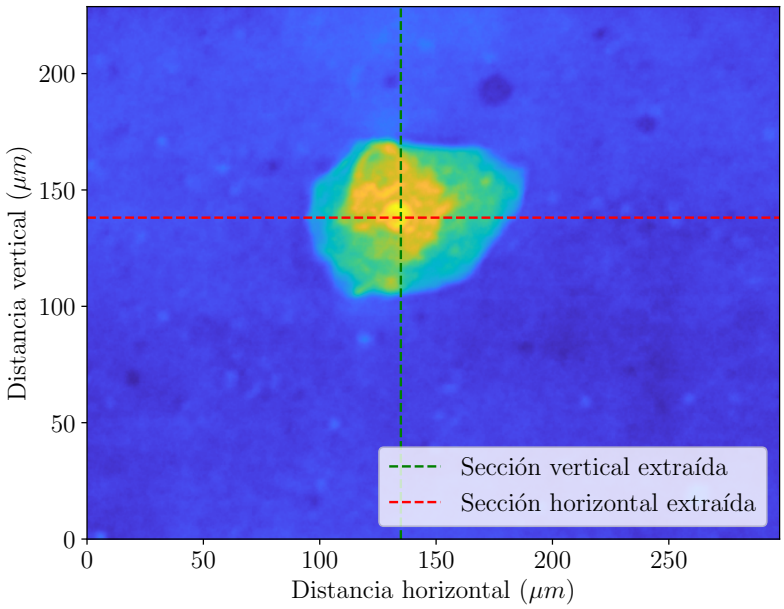


Figura 4.9: Reconstrucción de la fase. Se presentan dos líneas punteadas mostrando de dónde fue extraída la información para las gráficas de los cortes horizontal (rojo) y vertical (verde). El período de la sinusoide desplegada en el LCD actuando como máscara para esta reconstrucción fue de 88 píxeles.

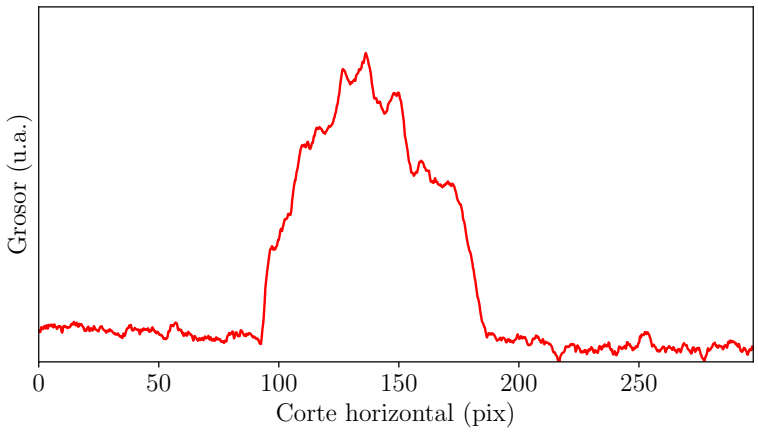


Figura 4.10: Corte horizontal de la reconstrucción de la fase con una máscara sinusoidal con período $T = 88(\text{pix})$.

4.10. Para visualizar este fenómeno, se puede contrastar las Figs. 4.12 y 4.13. La primera muestra un corte horizontal de la reconstrucción obtenida para los períodos $T = [48, 56, 64, 72, 88]pix$ sin multiplicar por el período, mientras que la Fig. 4.13 está multiplicada por el mismo.

Si bien no se realizó para este artículo un estudio de la dependencia entre la calidad de la reconstrucción de la fase y la frecuencia, sí se tomaron en cuenta algunos elementos vinculados a la influencia que tiene esta última sobre la reconstrucción. La Ec. 4.7 vincula la imagen obtenida mediante algoritmos de desplazamiento de fase, ψ, con la imagen de la derivada a menos de un

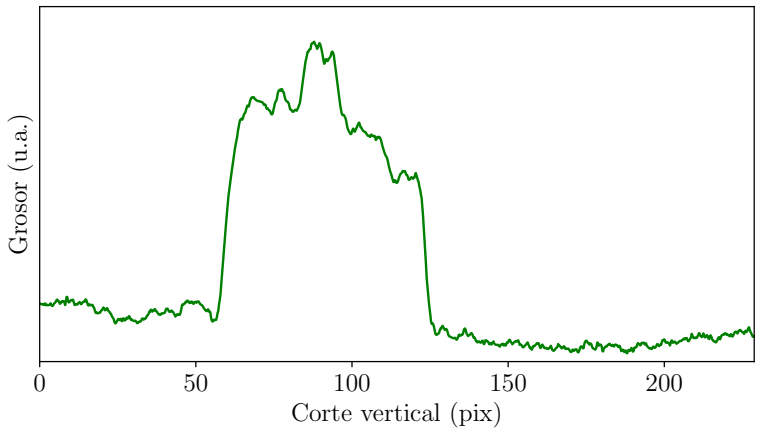


Figura 4.11: Corte vertical de la reconstrucción de la fase con una máscara sinusoidal con período $T = 88$(pix).

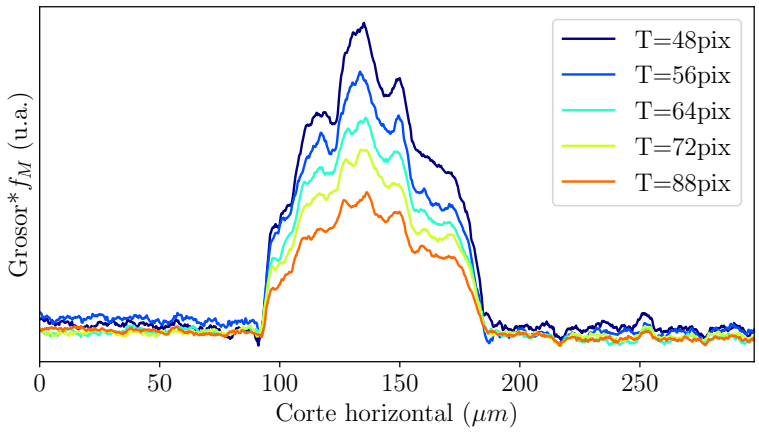


Figura 4.12: Corte horizontal de la reconstrucción de la fase sin contemplar la frecuencia de la sinusoide desplegada en la máscara. El resultado se expresa en unidades arbitrarias (u.a.) para distintos períodos espaciales, $T \propto f_M^{-1}$, desplegados en el LCD y medidos en función de píxeles.

factor multiplicativo que incluye la distancia entre el PO y la máscara, Δz, la longitud de onda de la fuente, λ, y en particular la frecuencia de la sinusoide, f_M. Se puede observar que las zonas de la muestra con grandes variaciones en su grosor o altura serán resaltadas proporcionalmente con la frecuencia, generando problemas numéricos al trabajar con las funciones tangente y arcotangente. Este efecto se puede apreciar en las Figs. 4.14 y 4.15. En la primera se observa, para distintos períodos espaciales de las máscaras sinusoidales, una superposición de cortes verticales del término ψ_y multiplicado por el período de la máscara. Este valor depende de la derivada vertical de la fase y las constantes λ y Δz, las cuales mantienen su valor en todas las adquisiciones. En la segunda figura se presenta una región reducida del término ψ_i, tanto en la dirección horizontal como vertical, para distintos valores del período de la máscara sinusoidal. Se observa que el resultado no necesita de desenvolvimiento de fase ("phase unwrapping") al tomar el período correspondiente a $88pix$. La condición para el máximo período no fue estudiada en detalle, pero

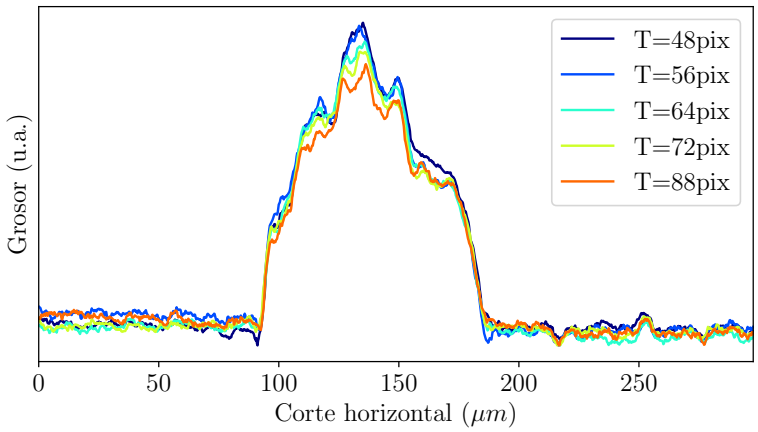


Figura 4.13: Corte horizontal de la reconstrucción de la fase contemplando la frecuencia de la sinusoide desplegada en la máscara. El resultado se expresa en unidades arbitrarias (u.a.) para distintos períodos espaciales, $T \propto f^{-1}$, desplegados en el LCD y medidos en función de píxeles.

se estima que existe una cota relacionada a la relación entre el período y el gradiente de la muestra. Esta condición se relaciona con la restricción del estudio de PO con un perfil suave.

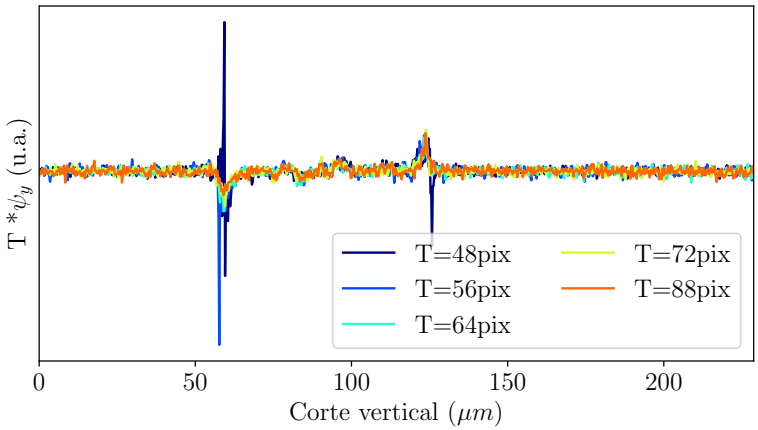


Figura 4.14: Corte de la derivada vertical en la sección correspondiente a la línea punteada verde presente en la Fig. 4.9 en función del período discreto de la sinusoide desplegada en el LCD.

Concluyendo, se demuestra la aplicación del método tanto en objetos macroscópicos como en microscópicos. Se prevé realizar un estudio pormenorizado del vínculo que tiene la reconstrucción con la frecuencia f_M y la distancia Δz. También se debe analizar la limitante en esta implementación al utilizar un LCD. En particular, la presencia de órdenes de difracción debido a la estructura interna del mismo. A su vez, con el foco de obtener un método que permita reconstruir a tiempo real, se busca disminuir el tiempo entre reconstrucciones sucesivas reduciendo la cantidad de imágenes adquiridas. Esta idea se concluye en el trabajo descrito en el siguiente capítulo, Cap. 5.

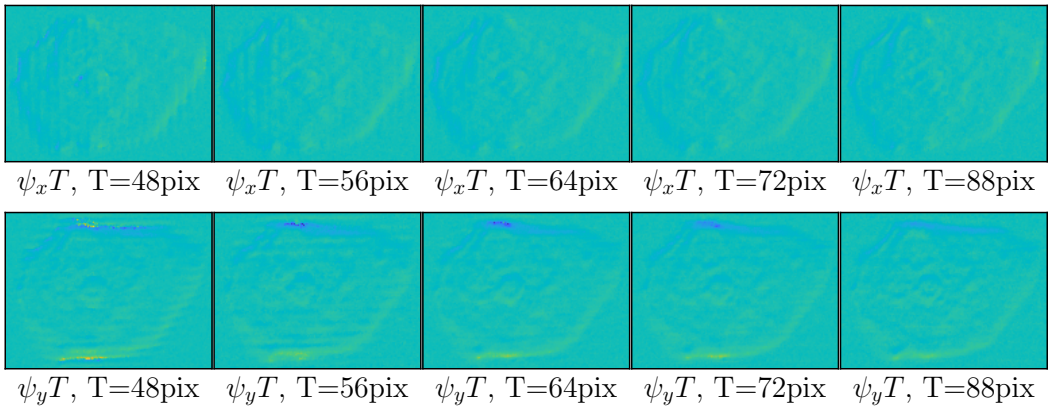


Figura 4.15: Imágenes proporcionales a la derivada en la dirección horizontal (arriba) y vertical (abajo) para distintos valores del período espacial de la máscara sinusoidal. De izquierda a derecha: $T = 48, 56, 64, 72$ y 88 píxeles. Las imágenes corresponden a la región ocupada únicamente por la célula epitelial.

Optics and Lasers in Engineering 171 (2023) 107805

Contents lists available at ScienceDirect

Optics and Lasers in Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/optlaseng

Common-path quantitative phase imaging by propagation through a sinusoidal intensity mask

Gastón A. Ayubi [a,b,*], M. Fernández Lakatos [a,*], Nicolás Casaballe [a], Erna Frins [a]

[a] Instituto de Física, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, J. Herrera y Reissig 565, 11300, Montevideo, Uruguay
[b] Byers Eye Institute, Stanford University, Palo Alto, CA 94303, USA

ARTICLE INFO

Keywords:
Quantitative phase imaging
Microscopy
Phase retrieval

ABSTRACT

We present a new quantitative approach for phase retrieval that is derived from the analysis of light intensity propagation through a phase object and a sinusoidal intensity mask positioned into the light path. Unlike the Transport of Intensity Equation (TIE), we deduce a new algorithm that results in a simpler expression since it does not include the Laplacian of the phase. In practice, the method is implemented in a common path optics where each optical component of the assembly remains fixed and phase unwrapping is not required. We introduce the analytical expressions for this algorithm and show experimental results including the phase retrieval of a phase object and of cheek cell samples.

1. Introduction

The retrieval and quantification of the light phase modulated by fully or partially transparent objects allows the study of biological materials or gases, among others, that would not be possible otherwise. There are different techniques to visualize and quantify these phase variations. Some of these are qualitative, such as the Zernike phase contrast microscopy [1,2] or the Nomarski differential interference contrast microscopy [3], while others are collectively known as Quantitative Phase Imaging techniques (QPI) [4–7].

Some QPI techniques make use of coherent light [8]. This is the case of techniques such as Digital Holographic Microscopy [9–11], Fourier Phase Microscopy [12], Hilbert Phase Microscopy [13], Hilbert–Huang phase microscopy [14], Diffraction Phase Microscopy [15], Spatial Light Interference Microscopy [16], Variational Hilbert Quantitative Phase Imaging [17] or based on Kramers-Kronig relations [18,19]. These systems produce coherent noise owing to the use of coherent light sources [20]. A significant number of them need complex configurations to superimpose the reference with the object beam, making them highly sensitive to external disturbances. Some methods require the use of phase unwrapping algorithms which introduces a potential error source and increases computational time.

Alternatively, well established non-interferometric methods for phase retrieval are the Fourier Ptychography technique [21–23] and those based on the Transport of Intensity Equation (TIE) [24,25]. Fourier Ptychography works with the acquisition of multiple images of the object of interest, illuminated from different directions, and retrieve the phase computationally. This demands a great number of images, which increases the acquisition time. TIE based techniques allow quantitative phase retrieval from intensity images generated by partially coherent illumination. Unlike the interferometric case, the setup used by TIE methods is quite simple and requires few optical components, making it suitable for many applications. These are implemented by introducing a small displacement that produces an out-of-focus effect. They generally require the acquisition of two or three images, while some proposals use even more, in order to improve the calculation of the derivative in the axial direction [26–28]. Some alternatives seek to avoid axial displacement acquiring multiple images at the same time [29–34] or using an electrically tunable lens [35]. Another approach combines the TIE methods with structured illumination in order to get better response to low-frequency noise [36]. Since the TIE describes just the transport of electromagnetic radiation, its applications are not limited just to the optical wavelength range and are employed with X-rays [37] or electron microscopy [38].

In this work we present a new approach to quantitatively retrieve the phase of totally or partially transparent objects. We place a sinusoidal intensity mask in the light path, which then results in a TIE-like equation but without the Laplacian term. The experimental implementation is simple, as it only needs an amplitude spatial light modulator

* Corresponding authors.
E-mail addresses: ayubi@fing.edu.uy (G.A. Ayubi), mfernandez@fing.edu.uy (M. Fernández Lakatos).

https://doi.org/10.1016/j.optlaseng.2023.107805
Received 23 January 2023; Received in revised form 24 July 2023; Accepted 21 August 2023
0143-8166/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

on which to display the sinusoidal mask, making it easily adaptable for use in existing systems.

In the next section we derive the analytical expression for phase retrieval when a sinusoidal intensity mask is used to modulate the scattered light in the phase object. In Section 3 we investigate the feasibility of the approach by imaging a phase sample imprinted on an ITO-layer deposited on a glass substrate. In Section 4 we test the performance of the algorithm for microscopy applications using samples of human cheek cells. Section 5 presents the conclusions of this work. Appendix A shows a comparison between our method and TIE.

2. Theory and algorithm description

Fig. 1 illustrates the main components of the experimental setup to achieve quantitative phase retrieval using an amplitude mask. It consists of a digital camera (C), two lenses (L_1 and L_2) forming a $4f$ system for imaging the phase object (PO) on the camera photodetectors and an LCD (liquid-crystal device) that displays an amplitude mask (M) placed at a distance Δz from the PO. Although we are referring to it as a phase object, this approach produces the same result when amplitude modulation is present, as we will show below. The system is illuminated by a monochromatic plane wave from a LED source. The LCD's pixel array behaves like a diffraction grating, so it is necessary to place an iris diaphragm to let through only the zero order of diffraction, avoiding the overlap of shifted images on the sensor screen during acquisition.

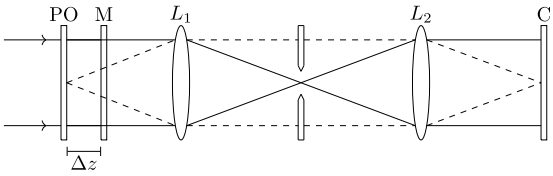


Fig. 1. Experimental setup. PO is the test phase object, M is the intensity mask displayed on an LCD, Δz is the distance between the PO and the mask, and C is a digital camera. L_1 and L_2 form the $4f$ system. Due to the effects produced by the LCD display, an iris diaphragm is introduced to pass only the zero order of diffraction in the Fourier plane of the $4f$ system.

Let us call $u_0(\vec{r})$ the optical field modulated by the phase object at the PO plane, where $\vec{r} = (x, y)$ denotes a point in the plane perpendicular to the optical axis z. Prior to the introduction of the mask, the system has been configured to produce an image of $u_0(\vec{r})$ at the camera plane C. To determine the final image once the mask is present, we first consider the propagation of the optical field from the plane at the PO position through a distance Δz to the plane at the mask position. There, the mask applies a multiplicative modulation $u_M(\vec{r})$ to the optical field, resulting in a new optical field $u'_M(\vec{r})$. This field continues to propagate through the system until it reaches the camera, where the image is recorded. Equivalently, we can consider the optical field $u'_0(\vec{r})$ resulting instead from the propagation of $u'_M(\vec{r})$ in the opposite direction until it reaches the PO plane, through $-\Delta z$. The image produced on the camera plane can then be regarded as that of the field $u'_0(\vec{r})$, as if the mask were absent.

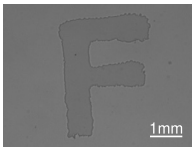


Fig. 2. Image of the PO sample when the mask is absent.

The approach described above is carried out in the spatial frequency domain using the Fresnel angular spectrum transfer function H between the PO and the M planes. Then we have

$$U'_0 = H^{-1}\left[(HU_0) * U_M\right], \tag{1}$$

where U_0, U'_0 and U_M are the Fourier transforms of $u_0(\vec{r})$, $u'_0(\vec{r})$ and $u_M(\vec{r})$, respectively. Under the paraxial approximation, H is given by

$$H = \exp(jk\Delta z)\exp(-j\pi\lambda\Delta z|\vec{f}|^2),$$

where $\vec{f} = (f_x, f_y)$ are the frequencies in Fourier domain [25,39]. Let's consider a generic periodic modulation on the display, which can be written as

$$u_M = \sum_n a_n \cos\left[n\left(2\pi\vec{r}\cdot\vec{f}_0 + \varphi\right)\right].$$

Then, its Fourier transform is

$$U_M = \frac{1}{2}\sum_n a_n\left[\delta\left(\vec{f} - n\vec{f}_0\right)e^{jn\varphi} + \delta\left(\vec{f} + n\vec{f}_0\right)e^{-jn\varphi}\right]. \tag{2}$$

By substituting H and U_M into Eq. (1) and applying the inverse Fourier transform we get

$$u'_0(\vec{r}) = \sum_n \frac{a_n}{2}e^{j\pi\lambda\Delta z\left|\vec{f}_0\right|^2}\left[u_0(\vec{r} + \lambda\Delta z n\vec{f}_0)e^{j(2\pi\vec{r}\cdot n\vec{f}_0 + n\varphi)} + u_0(\vec{r} - \lambda\Delta z n\vec{f}_0)e^{-j(2\pi\vec{r}\cdot n\vec{f}_0 + n\varphi)}\right]. \tag{3}$$

Let us consider the first order approximation $u_0(\vec{r} \pm \lambda\Delta z n\vec{f}_0) \approx u_0(\vec{r}) \pm \lambda\Delta z n\vec{f}_0 \cdot \nabla u_0(\vec{r})$, where $\nabla u_0(\vec{r}) = \left(\partial_x u_0(\vec{r}), \partial_y u_0(\vec{r})\right)$ is the gradient of $u_0(\vec{r})$ in the plane perpendicular to the direction of propagation. This approximation in Eq. (3) results in

$$u'_0(\vec{r}) = \sum_n a_n e^{j\pi\lambda\Delta z\left|n\vec{f}_0\right|^2}\left[u_0(\vec{r})\cos\left(n(2\pi\vec{r}\cdot\vec{f}_0 + \varphi)\right) + j\lambda\Delta z n\vec{f}_0\cdot\nabla u_0(\vec{r})\sin\left(n(2\pi\vec{r}\cdot\vec{f}_0 + \varphi)\right)\right]. \tag{4}$$

Considering the amplitude $A(\vec{r})$ and phase $\phi(\vec{r})$ of $u_0(\vec{r})$, such that $u_0(\vec{r}) = A(\vec{r})\exp(j\phi(\vec{r}))$ (with the intensity modulation in the PO being $A^2(\vec{r}) = I_0(\vec{r})$), Eq. (4) can be written as

$$u'_0(\vec{r}) = \sum_n a_n e^{j\pi\lambda\Delta z\left|n\vec{f}_0\right|^2}e^{j\phi(\vec{r})}\Bigg\{\left[A(\vec{r})\cos\left(n(2\pi\vec{r}\cdot\vec{f}_0 + \varphi)\right) - A(\vec{r})\lambda\Delta z n\vec{f}_0\cdot\nabla\phi(\vec{r})\sin\left(n(2\pi\vec{r}\cdot\vec{f}_0 + \varphi)\right)\right] + j\left[\lambda\Delta z n\vec{f}_0\cdot\nabla A(\vec{r})\sin\left(n(2\pi\vec{r}\cdot\vec{f}_0 + \varphi)\right)\right]\Bigg\}. \tag{5}$$

We define the auxiliary function $G(\vec{r}) = \sum_n a_n e^{j\pi\lambda\Delta z\left|n\vec{f}_0\right|^2}\cos\left(n(2\pi\vec{r}\cdot\vec{f}_0 + \varphi)\right)$ to rewrite Eq. (5). The explicit dependency of A and G on $\vec{r}$ is omitted to simplify the notation. The auxiliary function $G(\vec{r})$ is a representation of the mask modulation propagated a distance $-\Delta z$.

$$u'_0(\vec{r}) = e^{j\phi(\vec{r})}\left[AG + \frac{\lambda\Delta z}{2\pi}A\nabla\phi(\vec{r})\cdot\nabla G - j\frac{\lambda\Delta z}{2\pi}\nabla A\cdot\nabla G\right]. \tag{6}$$

By interposing the mask, the intensity at the detector will be $I'_0(\vec{r}) = \left|u'_0(\vec{r})\right|^2$. Neglecting the quadratic terms in $\lambda\Delta z$, the intensity $I'_0(\vec{r})$ can be written as

$$I'_0(\vec{r}) \approx |A|^2|G|^2 + \frac{\lambda\Delta z}{2\pi}|A|^2\nabla\phi(\vec{r})\cdot\left(G\nabla G^* + G^*\nabla G\right) - j\frac{\lambda\Delta z}{2\pi}A\nabla A\cdot\left(G\nabla G^* - G^*\nabla G\right). \tag{7}$$

We define the real functions $I_M(\vec{r})$ and $\phi_M(\vec{r})$ such that $G(\vec{r}) = \sqrt{I_M(\vec{r})}e^{j\phi_M(\vec{r})}$ to get

$$I'_0(\vec{r}) \approx I_0(\vec{r})I_M(\vec{r}) + \frac{\lambda\Delta z}{2\pi}I_0(\vec{r})\nabla\phi(\vec{r})\cdot\nabla I_M(\vec{r}) + \frac{\lambda\Delta z}{2\pi}I_M(\vec{r})\nabla I_0(\vec{r})\cdot\nabla\phi_M(\vec{r}). \tag{8}$$

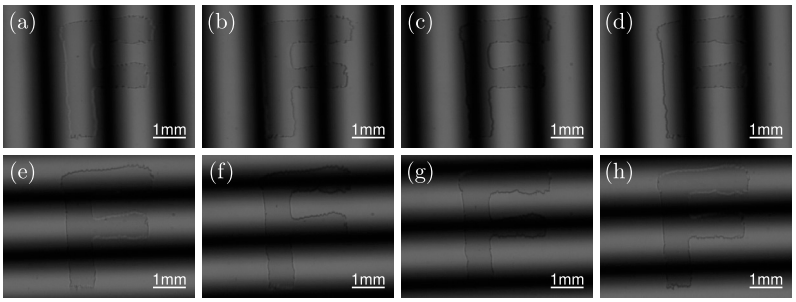


Fig. 3. Acquired images used in the four-step phase shifting algorithm with sinusoidal patterns in the x direction for phase steps (a) 0, (b) $\pi/2$, (c) π and (d) $3\pi/2$ and in the y direction for phase steps (e) 0, (f) $\pi/2$, (g) π and (h) $3\pi/2$.

Since the display does not modulate the phase we neglect the last term of Eq. (8) containing the phase gradient of the mask. The intensity at the detector can be expressed as

$$I_0'(\vec{r}) \approx I_0(\vec{r}) \left[I_M(\vec{r}) + \frac{\lambda \Delta z}{2\pi} \nabla\phi(\vec{r}) \cdot \nabla I_M(\vec{r}) \right]. \tag{9}$$

The intensity equation above, Eq. (9), resembles the classic TIE derived from the Helmholtz equation, without the Laplacian term [40]. In contrast to the TIE, Eq. (9) shows the phase gradient term multiplied by the intensity gradient of the mask. By choosing an appropriate intensity mask, we can exploit this feature and retrieve the phase of the object.

In this work we propose a sinusoidal pattern mask, such that the out-of-focus modulation is of the form $I_M(\vec{r}) = 1/2 + \alpha \cos\left(2\pi\vec{r} \cdot \vec{f}_0 + \varphi\right)$. Therefore, the intensity at the detector becomes, following Eq. (9),

$$\begin{aligned} I_0'(\vec{r}) &= I_0(\vec{r}) \left[1/2 + \alpha \cos\left(2\pi\vec{r} \cdot \vec{f}_0 + \varphi\right) \right. \\ &\quad \left. - \alpha\lambda\Delta z \vec{f}_0 \cdot \nabla\phi(\vec{r}) \sin\left(2\pi\vec{r} \cdot \vec{f}_0 + \varphi\right) \right] \\ &= I_0(\vec{r}) \left[1/2 + \alpha \left(1 + \lambda^2 \Delta z^2 (\vec{f}_0 \cdot \nabla\phi(\vec{r}))^2\right)^{\frac{1}{2}} \cos\left(2\pi\vec{r} \cdot \vec{f}_0 + \varphi + \psi\right) \right], \end{aligned} \tag{10}$$

where ψ is a phase introduced by the presence of the sample object. The value of ψ is given by the relation

$$\tan(\psi) = \lambda \Delta z \vec{f}_0 \cdot \nabla\phi. \tag{11}$$

For the special cases where $\vec{f}_0 = (f_x, 0)$ or $\vec{f}_0 = (0, f_y)$ we find

$$\begin{aligned} \tan(\psi) &= \lambda \Delta z f_x \frac{\partial\phi}{\partial x} \quad \text{if} \quad \vec{f}_0 = (f_x, 0) \\ \tan(\psi) &= \lambda \Delta z f_y \frac{\partial\phi}{\partial y} \quad \text{if} \quad \vec{f}_0 = (0, f_y). \end{aligned} \tag{12}$$

There are several options to quantify the phase difference ψ based on fringe pattern processing techniques [41,42]. For instance, we apply a four step phase shifting algorithm to Eq. (10) using the phase steps $\varphi = 0,\ \pi/2,\ \pi,\ 3\pi/2$; calculate the value of $2\pi(\vec{r} \cdot \vec{f}_0) + \psi$, then we subtract the reference phase $2\pi(\vec{r} \cdot \vec{f}_0)$ and finally, upon taking $\tan(\psi)$ we obtain $\vec{f}_0 \cdot \nabla\phi$ up to a proportionality factor. It is not necessary to use an unwrapping algorithm since the tangent function is applied after subtracting the phases. Our use of sinusoidal patterns in conjunction with a phase shifting algorithm is insensitive to spatial variations in the intensity and has a good signal-to-noise response [42].

In the following sections we apply the previously described method for optical phase recovery to a test sample and human cheek cells. We also provide a comparison with the TIE method in the appendix.

3. Experimental results

A scheme of the optical system is described in Fig. 1. Our experimental setup consists of a digital camera of 1280×1024 pixels (model DCU224C, Thorlabs) used to acquire the images, a LED light source ($\lambda \approx 532$ nm), a $4f$ system formed by lenses L_1 (focal length 200 mm) and L_2 (focal length 250 mm) for imaging the PO on the camera and an LCD (model LC2002, 60 fps, Holoeye).

The PO consist of a pattern of about 2 mm wide, etched on an ITO-layer (150 nm thick) deposited on a glass substrate. The image of the PO in the absence of the mask, $I_0(\vec{r})$, is shown in Fig. 2.

Three different images are sufficient for phase shifting methods to obtain the three unknown variables from Eq. (10), but in order to reduce noise and due to its simplicity, we use the four-steps Bruning method [43,42]. As mentioned above, we acquired four images, I_1, I_2, I_3 and I_4, with fringe patterns using $f_0 = (f_x, 0)$ and phase-steps $\varphi = 0,\ \pi/2,\ \pi$ and $3\pi/2$, respectively, and likewise in the y direction with $\vec{f}_0 = (0, f_y)$. The result of this procedure is shown in Fig. 3: Figs. (a)-(d) show the acquired images with fringe pattern in the x direction and Figs. (e)-(h) show the images for the phase steps in the y direction.

According to the four-steps Bruning algorithm, we have

$$\tan\left(2\pi f_x x + \psi\right) = \frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3}. \tag{13}$$

The procedure was repeated removing the PO from the optical system in order to determine the reference phases $2\pi f_x x$ and $2\pi f_y y$. The phase $\phi(\vec{r})$ can therefore be retrieved with this approach by acquiring 8 images (4 in each direction) of the PO with the sinusoidal patterns, together with their corresponding references.

Fig. 4 (a)-(b) show the partial derivatives of the phase obtained from Eqs. (12) and (13). The image presented in Fig. 4 (c) displays the features of the PO retrieved with this approach which was obtained by integrating the former two images using the Frankot–Chellappa integration algorithms [44,45], i.e.,

$$\phi = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{\xi_x \mathcal{F}\left\{\frac{\partial\phi}{\partial x}\right\} + \xi_y \mathcal{F}\left\{\frac{\partial\phi}{\partial y}\right\}}{2\pi j \left(\xi_x^2 + \xi_y^2\right)} \right\}, \tag{14}$$

where $\mathcal{F}$ and $\mathcal{F}^{-1}$ are the Fourier transform and the inverse Fourier transform respectively. ξ_x and ξ_y are the spatial frequencies in the Fourier domain.

The phase difference is a direct measurement of the depth of the etching and, so, the letter F figure is revealed. The system turns out to be relatively simple and easy to automate, thus offering a viable option in many scenarios where multiple PO images need to be generated in rapid succession.

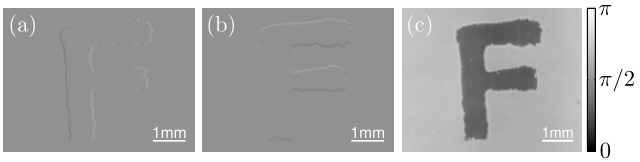


Fig. 4. Partial derivatives (a) $\frac{\partial\phi}{\partial x}$ and (b) $\frac{\partial\phi}{\partial y}$, and (c) retrieved phase, $\phi(\vec{r})$, of the sample object.

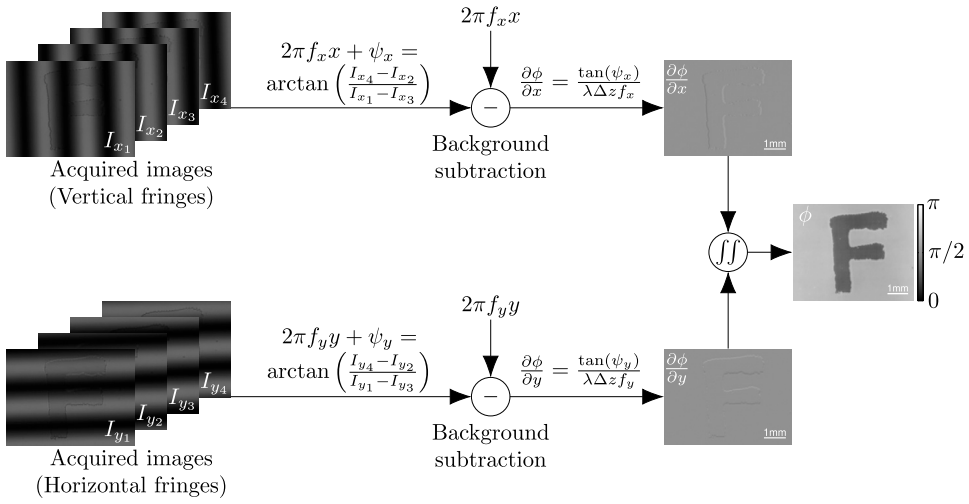


Fig. 5. Flowchart of our method. Sets of four images are acquired with the sinusoidal pattern in the x and y direction for the phase shifting algorithm. We repeat the same procedure without the phase object. Then the background is subtracted and the partial derivatives of the optical phase are obtained. Finally, the optical phase is retrieved after integration.

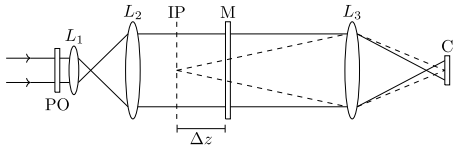


Fig. 6. Experimental setup for microscopy applications. PO is the test phase object, M is the LCD in which the amplitude mask is displayed, and C is a digital camera. L_1 is the objective lens, L_2 is a collimating lens and L_3 the imaging lens. IP is the image plane of the PO.

We show the flowchart for the steps of our method in Fig. 5. First, we acquire the images required for the calculation of the partial derivatives in x and y, with and without the PO. Then the background is subtracted and we obtain the partial derivatives up to a multiplicative constant. Finally, the phase is found by integration (using Eq. (14), for instance).

4. Microscopy applications

As a second example, we implemented a microscope system with similar elements to the previous one, in order to apply phase imaging to biological samples. Fig. 6 depicts the system setup. We placed a sample of cheek cells on a microscope slide without requiring further preparation. The human cheek cells sample was illuminated with a LED light source ($\lambda \approx 532$ nm). In Fig. 6, L_1 represents a $20X$ 0.4 NA objective, IP is the image plane of the PO after lens L_2 (focal length 250 mm), M is the intensity mask displayed on an LCD screen (model LC2002, 60 fps, Holoeye) placed at $\Delta z \approx 20$ mm from IP and the lens L_3 produces the image on the camera C.

As in the previous section, we acquired four fringe patterns in the x and y directions with phase-steps $\varphi = 0$, $\pi/2$, π and $3\pi/2$. Fig. 7 shows the acquired images.

Figs. 8(a) and 8(b) show the partial derivatives of the phase of the cheek cells sample. Fig. 8(c) shows the retrieved phase $\phi(\vec{r})$, obtained by integrating the former two images.

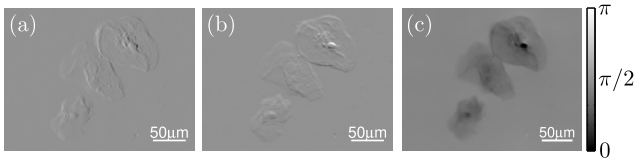


Fig. 8. Partial derivatives (a) $\frac{\partial\phi}{\partial x}$ and (b) $\frac{\partial\phi}{\partial y}$, and (c) retrieved phase, $\phi(\vec{r})$, of the cheek cells sample.

Typical features of epithelial tissue cells can be appreciated in the retrieved phase image. For instance, the cell nuclei appear darker than the cytoplasm in the chosen color scale. This example highlights the applicability of the proposed approach to microscopic phase imaging (the average diameter of cheek cells is 60 µm), which possess several advantages over traditional microscopy, since the cells can be observed in its natural state without further treatment. The method can be used for real time imaging, since the phase retrieval frequency is determined by the LCD frame rate and the capability of recording the images required for the algorithm, which is usually faster than biological processes.

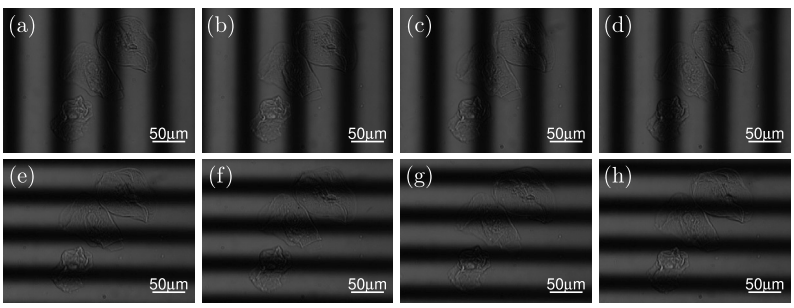


Fig. 7. Acquired images of the cheek cell sample with sinusoidal patterns in the x direction for phase steps (a) 0, (b) $\pi/2$, (c) π and (d) $3\pi/2$ and in the y direction for phase steps (e) 0, (f) $\pi/2$, (g) π and (h) $3\pi/2$.

5. Conclusion

We present a new quantitative phase recovery approach based on the effect produced by a sinusoidal intensity mask in the propagation path of the light beam. This approach is applicable to phase objects fully or partially transparent.

We derive the analytical expression that describes the intensity distribution on the detector using the following simple configuration: 1) A plane monochromatic wave is incident on the phase object (the light source could be partially coherent); 2) the object under study is in the image plane of the optical system to generate the image on the camera plane; 3) a slightly out-of-focus sinusoidal intensity mask is interposed in the light path between the object and the detector. In this scenario we present a new analytical expression that describes the intensity distribution on the detector. It results in a simpler expression if we compare it with the Transport of Intensity Equation since it does not include the Laplacian of the phase.

To retrieve the components of the phase gradient, we use a phase shifting algorithm that employs 4 images for the x and y directions each. The recording speed of these images, along with the LCD frame rate, establishes the maximum phase recovery frequency for real-time applications. This limit can be augmented if the incident light is prepared to acquire patterns with different phase-shifts simultaneously, or applying other fringe pattern processing techniques.

The proposed approach generates no phase wrapping, which eliminates a common problem of interferometric systems. Also, since the implementation of this approach includes no moving parts, it avoids some misalignment problems. The method does not impose restrictions on the polarization of the light.

The exploratory experimental results showed the feasibility of the approach and its applicability to microscopy as a label-free technique.

CRediT authorship contribution statement

GAA and **MFL** conceived the idea for this manuscript, performed the laboratory measurements and analyzed the data. **GAA**, **MFL** and **EF** wrote the manuscript. **NC** contributed with valuable scientific comments. All coauthors reviewed and commented on the manuscript.

Funding

This work was funded by the Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas (PEDECIBA, Uruguay). M. Fernández Lakatos acknowledges a PhD fellowship from the Agencia Nacional de Innovación e Investigación (ANII, POS_NAC_2018_1_151939) and from the Comisión Académica de Posgrado (CAP, BFPD_2022_1#46691493).

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

Data will be made available on request.

Appendix A. Comparison with TIE

In this section we present a comparison between an already known TIE method [24,46] and the one described in this work using the same setup as in Section 3.

For the TIE reconstruction we acquired three images by displacing the camera $\Delta s = -1\,\text{mm}, 0\,\text{mm}, +1\,\text{mm}$. When acquiring the image in focus for TIE ($\Delta s = 0\,\text{mm}$), we also obtained all the images needed for the proposed method. We used a calibration procedure to make sure that the optical axis remained aligned when moving the camera. For our method, these calibration steps are skipped since there are no moving parts involved.

The processing time was 1.28 s for the TIE based method and 0.85 s for the proposed method. It is worth noting that the presented TIE method faces an additional time limitation due to physical camera movement, whereas our method is only constrained by the camera's acquisition speed (17 fps, model DCU224C, Thorlabs) and the speed of image display on the LCD (60 fps, model LC2002, Holoeye). All tests were executed on a PC running the Windows 10 64-bit operating system. The PC hardware included an AMD Ryzen 5 3450U with Radeon Vega Mobile Gfx 2.10 GHz, and 64 GB of RAM. These processing times can be improved considerably by parallelizing with a GPU, leading to even faster results.

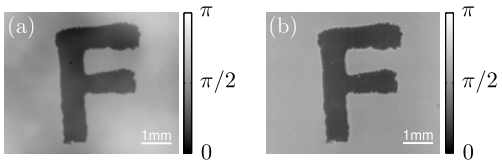


Fig. A.9. Retrieved phase from (a) TIE and (b) proposed method.

The results of both methods are shown in Fig. A.9 for the same retrieved phase object. The resolution obtained is similar for both. We compared the methods determining the error in the phase reconstructions following the procedure described in [47,48]. The error is quantified by taking the standard deviation in a uniform region of the sample. Its value is 0.137 rad for the reconstruction using the TIE method and 0.039 rad using the proposed method.

This shows that our proposal is capable of producing results with quality at least comparable to those of the TIE method, with the advantage of a simpler and more robust experimental setup.

References

[1] Zernike F. Beugungstheorie des schneidenver-fahrens und seiner verbesserten form, der phasenkontrastmethode. Physica 1934;1(7):689–704. https://doi.org/10.1016/S0031-8914(34)80259-5.

[2] Zernike F. Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects. Physica 1942;9(7):686–98. https://doi.org/10.1016/S0031-8914(42)80035-X.

[3] Nomarski G. Microinterféromètre différentiel à ondes polarisées. J Phys Radium 1955;16:9S–13S. https://ci.nii.ac.jp/naid/10020744249/en/.

[4] Park Y, Depeursinge C, Popescu G. Quantitative phase imaging in biomedicine. Nat Photonics 2018;12:578–89. https://doi.org/10.1038/s41566-018-0253-x.

[5] Fu D, Oh S, Choi W, Yamauchi T, Dorn A, Yaqoob Z, et al. Quantitative dic microscopy using an off-axis self-interference approach. Opt Lett 2010;35(14):2370–2. https://doi.org/10.1364/OL.35.002370. https://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-35-14-2370.

[6] Phillips ZF, Chen M, Waller L. Single-shot quantitative phase microscopy with color-multiplexed differential phase contrast (cdpc). PLoS ONE 2017;12(2):e0171228.

[7] Chen H-H, Lin Y-Z, Luo Y. Isotropic differential phase contrast microscopy for quantitative phase bio-imaging. J Biophotonics 2018;11(8):e201700364. https://doi.org/10.1002/jbio.201700364. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jbio.201700364.

[8] Ferraro P, Wax A, Zalevsky Z. Coherent light microscopy: imaging and quantitative phase analysis, vol. 46. Springer Science & Business Media; 2011.

[9] Zhang T, Yamaguchi I. Three-dimensional microscopy with phase-shifting digital holography. Opt Lett 1998;23(15):1221–3. https://doi.org/10.1364/OL.23.001221. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-23-15-1221.

[10] Cuche E, Bevilacqua F, Depeursinge C. Digital holography for quantitative phase-contrast imaging. Opt Lett 1999;24(5):291–3. https://doi.org/10.1364/OL.24.000291. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-24-5-291.

[11] Marquet P, Rappaz B, Magistretti PJ, Cuche E, Emery Y, Colomb T, et al. Digital holographic microscopy: a noninvasive contrast imaging technique allowing quantitative visualization of living cells with subwavelength axial accuracy. Opt Lett 2005;30(5):468–70. https://doi.org/10.1364/OL.30.000468. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-30-5-468.

[12] Popescu G, Deflores LP, Vaughan JC, Badizadegan K, Iwai H, Dasari RR, et al. Fourier phase microscopy for investigation of biological structures and dynamics. Opt Lett 2004;29(21):2503–5. https://doi.org/10.1364/OL.29.002503. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-29-21-2503.
[13] Ikeda T, Popescu G, Dasari RR, Feld MS. Hilbert phase microscopy for investigating fast dynamics in transparent systems. Opt Lett 2005;30(10):1165–7. https://doi.org/10.1364/OL.30.001165. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-30-10-1165.
[14] Trusiak M, Mico V, Garcia J, Patorski K. Quantitative phase imaging by single-shot Hilbert–Huang phase microscopy. Opt Lett 2016;41(18):4344–7. https://doi.org/10.1364/OL.41.004344. https://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-41-18-4344.
[15] Popescu G, Ikeda T, Dasari RR, Feld MS. Diffraction phase microscopy for quantifying cell structure and dynamics. Opt Lett 2006;31(6):775–7. https://doi.org/10.1364/OL.31.000775. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-31-6-775.
[16] Wang Z, Millet L, Mir M, Ding H, Unarunotai S, Rogers J, et al. Spatial light interference microscopy (slim). Opt Express 2011;19(2):1016–26. https://doi.org/10.1364/OE.19.001016. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-19-2-1016.
[17] Trusiak M, Cywińska M, Mico V, Picazo-Bueno JÁ, Zuo C, Zdańkowski P, et al. Variational Hilbert quantitative phase imaging. Sci Rep 2020;10(1):1–16.
[18] Baek Y, Park Y. Intensity-based holographic imaging via space-domain Kramers–Kronig relations. Nat Photonics 2021;15:354–60. https://doi.org/10.1038/s41566-021-00760-8.
[19] Shen C, Liang M, Pan A, Yang C. Non-iterative complex wave-field reconstruction based on Kramers-Kronig relations. Photon Res 2021;9(6):1003–12. https://doi.org/10.1364/PRJ.419886. https://opg.optica.org/prj/abstract.cfm?URI=prj-9-6-1003.
[20] Wittkopp JM, Khoo TC, Carney S, Pisila K, Bahreini SJ, Tubbesing K, et al. Comparative phase imaging of live cells by digital holographic microscopy and transport of intensity equation methods. Opt Express 2020;28(5):6123–33. https://doi.org/10.1364/OE.385854. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-28-5-6123.
[21] Zheng G, Horstmeyer R, Yang C. Wide-field, high-resolution Fourier ptychographic microscopy. Nat Photonics 2013;7(9):739–45.
[22] Konda PC, Loetgering L, Zhou KC, Xu S, Harvey AR, Horstmeyer R. Fourier ptychography: current applications and future promises. Opt Express 2020;28(7):9603–30. https://doi.org/10.1364/OE.386168. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-28-7-9603.
[23] Zheng G, Shen C, Jiang S, Song P, Yang C. Concept, implementations and applications of Fourier ptychography. Nat Rev Phys 2021;3(3):207–23.
[24] Barty A, Nugent KA, Paganin D, Roberts A. Quantitative optical phase microscopy. Opt Lett 1998;23(11):817–9. https://doi.org/10.1364/OL.23.000817. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-23-11-817.
[25] Zuo C, Li J, Sun J, Fan Y, Zhang J, Lu L, et al. Transport of intensity equation: a tutorial. Opt Lasers Eng 2020;135:106187. https://doi.org/10.1016/j.optlaseng.2020.106187.
[26] Waller L, Tian L, Barbastathis G. Transport of intensity phase-amplitude imaging with higher order intensity derivatives. Opt Express 2010;18(12):12552–61. https://doi.org/10.1364/OE.18.012552. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-18-12-12552.
[27] Yoneda N, Onishi A, Saita Y, Komuro K, Nomura T. Single-shot higher-order transport-of-intensity quantitative phase imaging based on computer-generated holography. Opt Express 2021;29(4):4783–801. https://doi.org/10.1364/OE.415598. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-29-4-4783.
[28] Lakatos MF, Ayubi G, Casaballe N, Ferrari J, Frins E. Phase retrieval by amplifying the prism term of the transport of intensity equation with a sliding step function. Optik 2022:170120. https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2022.170120.
[29] Waller L, Kou SS, Sheppard CJR, Barbastathis G. Phase from chromatic aberrations. Opt Express 2010;18(22):22817–25. https://doi.org/10.1364/OE.18.022817. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-18-22-22817.
[30] Di Martino JM, Ayubi GA, Dalchiele EA, Alonso JR, Fernández A, Flores JL, et al. Single-shot phase recovery using two laterally separated defocused images. Opt Commun 2013;293:1–3. https://doi.org/10.1016/j.optcom.2012.11.084.
[31] Picazo-Bueno JA, Micó V. Optical module for single-shot quantitative phase imaging based on the transport of intensity equation with field of view multiplexing. Opt Express 2021;29(24):39904–19. https://doi.org/10.1364/OE.439047. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-29-24-39904.
[32] Tian X, Yu W, Meng X, Sun A, Xue L, Liu C, et al. Real-time quantitative phase imaging based on transport of intensity equation with dual simultaneously recorded field of view. Opt Lett 2016;41(7):1427–30. https://doi.org/10.1364/OL.41.001427. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-41-7-1427.
[33] Yu W, Tian X, He X, Song X, Xue L, Liu C, et al. Real time quantitative phase microscopy based on single-shot transport of intensity equation (sstie) method. Appl Phys Lett 2016;109(7):071112. https://doi.org/10.1063/1.4961383.
[34] Zuo C, Chen Q, Qu W, Asundi A. Noninterferometric single-shot quantitative phase microscopy. Opt Lett 2013;38(18):3538–41. https://doi.org/10.1364/OL.38.003538. http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-38-18-3538.
[35] Zuo C, Chen Q, Qu W, Asundi A. High-speed transport-of-intensity phase microscopy with an electrically tunable lens. Opt Express 2013;21(20):24060–75. https://doi.org/10.1364/OE.21.024060. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-21-20-24060.
[36] Zhu Y, Shanker A, Tian L, Waller L, Barbastathis G. Low-noise phase imaging by hybrid uniform and structured illumination transport of intensity equation. Opt Express 2014;22(22):26696–711. https://doi.org/10.1364/OE.22.026696. http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-22-22-26696.
[37] Nugent KA, Gureyev TE, Cookson DF, Paganin D, Barnea Z. Quantitative phase imaging using hard x rays. Phys Rev Lett 1996;77:2961–4. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.2961.
[38] Bajt S, Barty A, Nugent K, McCartney M, Wall M, Paganin D. Quantitative phase-sensitive imaging in a transmission electron microscope. Ultramicroscopy 2000;83(1):67–73. https://doi.org/10.1016/S0304-3991(99)00174-6.
[39] Li J, Peng Z, Fu Y. Diffraction transfer function and its calculation of classic diffraction formula. Opt Commun 2007;280(2):243–8. https://doi.org/10.1016/j.optcom.2007.08.053.
[40] Teague MR. Deterministic phase retrieval: a Green's function solution. J Opt Soc Am 1983;73(11):1434–41. https://doi.org/10.1364/JOSA.73.001434. http://opg.optica.org/abstract.cfm?URI=josa-73-11-1434.
[41] Feng S, Chen Q, Gu G, Tao T, Zhang L, Hu Y, et al. Fringe pattern analysis using deep learning. Adv Photon 2019;1(2):1–7. https://doi.org/10.1117/1.AP.1.2.025001.
[42] Malacara D. Optical shop testing, vol. 59. John Wiley & Sons; 2007.
[43] Bruning JH, Herriott DR, Gallagher JE, Rosenfeld DP, White AD, Brangaccio DJ. Digital wavefront measuring interferometer for testing optical surfaces and lenses. Appl Opt 1974;13(11):2693–703. https://doi.org/10.1364/AO.13.002693. http://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-13-11-2693.
[44] Quéau Y, Durou J-D, Aujol J-F. Normal integration: a survey. J Math Imaging Vis 05 2018;60. https://doi.org/10.1007/s10851-017-0773-x.
[45] Frankot R, Chellappa R. A method for enforcing integrability in shape from shading algorithms. IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell 1988;10(4):439–51. https://doi.org/10.1109/34.3909.
[46] Paganin D, Nugent KA. Noninterferometric phase imaging with partially coherent light. Phys Rev Lett 1998;80:2586–9. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.80.2586.
[47] Lee C, Baek Y, Hugonnet H, Park Y. Single-shot wide-field topography measurement using spectrally multiplexed reflection intensity holography via space-domain Kramers–Kronig relations. Opt Lett 2022;47(5):1025–8. https://doi.org/10.1364/OL.446159. https://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-47-5-1025.
[48] Wang H, Zhu J, Sung J, Hu G, Greene J, Li Y, et al. Fourier ptychographic topography. Opt Express 2023;31(7):11007–18.

5

INTEGRACIÓN CON UNA DERIVADA PARCIAL APLICADA A LA IMAGENOLOGÍA CUANTITATIVA DE FASE

Existen numerosas metodologías para la reconstrucción de fase que requieren la adquisición de dos imágenes conteniendo las derivadas ortogonales [116, 117, 118]. Sin embargo, este proceso puede ser lento y demandar recursos significativos. Para mejorar la eficiencia, se puede considerar la adquisición de una sola derivada y, mediante una integración estratégica, compensar la pérdida de información en la dirección perpendicular [119, 120]. En el trabajo [109], se logra este objetivo mediante la minimización de la Ec. 2.81, ver Sec. 2.6.1, utilizando una integración directa y expresando la función reconstruida en una base sinusoidal. Varios trabajos se han acercado a este problema compartiendo un objetivo: minimizar la norma de la diferencia entre la derivada adquirida y la reconstruida, junto con la minimización de la norma de la derivada en la dirección perpendicular utilizando un parámetro de regularización. Se ha observado que varios enfoques han incorporado efectivamente propiedades de Fourier en sus métodos para mejorar la eficiencia en la integración [111]. Además, se han empleado diversas normas para la medida del error del término de la derivada perpendicular, como se menciona en [112], y se han establecido condiciones de borde e hipótesis sobre el fondo basadas en el conocimiento previo [121]. Algunos métodos han adoptado estrategias de ponderación adaptativa del término de regularización. Esto se logra mediante un factor ajustable [110] o se extrae su valor a partir de los datos del ruido presente [113]. En ciertos casos, se ha ampliado el conjunto de parámetros de regularización para incluir penalizaciones relacionadas con los píxeles vecinos y condiciones impuestas sobre la imagen reconstruida [122].

En el artículo presente en este capítulo [3], y basándonos en el método descrito en el Cap. 4, se obtiene la derivada parcial horizontal al adquirir la mitad de las imágenes necesarias en dicho método, reduciendo el tiempo de adquisición a la mitad. Para la integración se utilizaron los métodos mencionados anteriormente detallados en la Sec. 2.6.3. En este trabajo se muestra la viabilidad de reconstruir la fase sin una pérdida sustancial de calidad al compararla con la reconstrucción utilizando ambas derivadas.

En este capítulo, se introduce un análisis de integración a partir de una derivada para analizar los datos de la muestra estudiada en el Cap. 4. Los detalles del montaje experimental, la calibración, y las consideraciones tomadas en cuenta son idénticas a las elaboradas en el Cap. 4. La muestra utilizada en este artículo, dos células epiteliales de la mucosa bucal superpuestas, fue procesada esencialmente con el mismo montaje experimental. La única modificación realizada fue para

alcanzar una distancia entre la muestra y la máscara $\Delta z = 40mm$ y utilizamos una sinusoide con un período $T = 64$pix.

En la Sec. 5.1 se detallan las bases de la teoría presentada en este artículo. En la Sec. 5.2 se profundizan los resultados en el estudio de la muestra analizada en el Cap. 4, así como la muestra utilizada en el presente artículo.

5.1 FUNDAMENTO TEÓRICO

En este artículo, se combinan dos técnicas distintas para abordar la reconstrucción de la fase: una destinada a determinar la derivada parcial y otra enfocada en su integración. Siendo considerada en el último caso, la limitación de no contar con información sobre la derivada parcial en la dirección perpendicular. Para llevar a cabo la integración de manera efectiva, se debe encontrar un parámetro de regularización adecuado, representado por λ. Obtenemos este parámetro utilizando ambas derivadas. Es importante destacar que partimos del supuesto de que la estructura de la muestra exhibe un perfil similar en todas sus direcciones y que el ruido mantiene constante su desviación estándar en subsecuentes adquisiciones. Este enfoque no solo proporciona una base sólida para la reconstrucción de la muestra siendo estudiada, sino que también abre la posibilidad de aplicar el mismo factor de regularización a otras muestras que cumplan con las mismas características, siempre y cuando no se introduzcan cambios significativos en el sistema y se trabaje con muestras conteniendo una estructura similar. De esta forma, se puede interpretar la obtención del parámetro de regularización como parte del método de calibración del sistema.

En la Sec. 5.1.1 se muestra cómo aplicar el método descrito en el Cap. 4 para este experimento. En la Sec. 5.1.2 se profundiza el método de integración y en la Sec. 5.1.3 se detalla el procedimiento utilizado para encontrar el parámetro de regularización.

5.1.1 *Obtención de la Derivada Parcial*

El método descrito en el artículo no tiene una orientación establecida, para este caso se optó por utilizar la derivada parcial en la dirección horizontal. La derivada fue obtenida utilizando el método presente en el Cap. 4, adaptando la Ec. 4.6 para la dirección horizontal:

$$I_0'(\vec{r}) = I_0(\vec{r}) \left[1/2 + \alpha \sqrt{1 + \beta^2 [f_x \partial_x \phi(\vec{r})]^2} \cos\left(2\pi x f_x + \varphi + \psi\right) \right], \tag{5.1}$$

en donde β es el producto entre la longitud de onda de la fuente y la distancia entre el PO y la máscara; ψ es una fase debido a la presencia del PO. Su valor es, como se puede apreciar en la Ec. 4.7,

$$\tan(\psi) = \beta f_x \partial_x \phi. \tag{5.2}$$

Mediante el algoritmo de desplazamiento de fase de cuatro pasos, ver Sec. 2.4, se obtiene

$$\tan\left(2\pi f_x x + \psi\right) = \frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3}, \tag{5.3}$$

donde I_1, I_2, I_3 e I_4 son las imágenes adquiridas con la correspondiente máscara utilizando los desplazamientos de fase $\varphi = 0$, $\pi/2$, π y $3\pi/2$, respectivamente. El término $2\pi f_x x$ se extrae repitiendo los mismos pasos sin la muestra presente.

5.1.2 *Integración con una Derivada*

Las derivadas obtenidas tienen ruido, por lo tanto, si se integra de forma directa, es decir, línea por línea, la imagen reconstruida resulta con estructuras en forma de franjas horizontales. Para abordar esta problemática, se opta por penalizar los valores elevados de la norma de la derivada de la fase reconstruida en la dirección perpendicular (dirección vertical). Esta acción tiene como efecto la minimización de las estructuras horizontales.

En la Sección 2.6.3 se lleva a cabo un análisis empleando el método de mínimos cuadrados, dando lugar a la ecuación 2.94. Reproducimos dicha ecuación con la siguiente modificación en la nomenclatura: denominaremos a la derivada de la fase obtenida experimentalmente como $\frac{\partial \phi}{\partial x}$ y a la fase reconstruida como ϕ',

$$\phi' = \mathscr{F}^{-1}\left\{\frac{-j\omega_x}{\omega_x^2 + \lambda\,\omega_y^2}\mathscr{F}\left\{\frac{\partial \phi}{\partial x}\right\}\right\}, \tag{5.4}$$

donde ω_x y ω_y son las frecuencias angulares asociada a las coordenadas espaciales x e y, respectivamente; y λ el parámetro de regularización. Dicha solución es equivalente a expresar el siguiente problema de minimización

$$\min_{\phi'} M(\phi') = ||\partial_x \phi' - \partial_x \phi||_2^2 + \lambda ||\partial_y \phi'||_2^2, \tag{5.5}$$

en donde el subíndice indica que se está utilizando la norma L_2. Al fijar el valor del parámetro de regularización a cero ($\lambda = 0$), la Ec. 5.4 se modifica de forma tal que para frecuencias bajas, el ruido presente en la derivada adquirida se amplificará, dando lugar a la generación de las estructuras horizontales [110]. El parámetro de regularización, λ, penaliza los valores elevados de la derivada de la fase reconstruida en la dirección vertical. En general, este valor se obtiene por ensayo y error observando la calidad de la reconstrucción y teniendo presente que cuanto mayor ruido tenga la derivada adquirida, mayor será el valor de este parámetro.

5.1.3 *Obtención del Parámetro de Regularización*

El propósito de este estudio fue demostrar la existencia de un parámetro de regularización, λ, que minimizara el problema expresado en la Ec. 5.5, empleando la derivada parcial de la fase

obtenida mediante el método descrito en el Capítulo 4. Para lograr este objetivo, se procede ajustando el valor del parámetro λ y se registra el error cuadrático medio (MSE: "Mean Square Error") entre la fase reconstruida utilizando dicho parámetro y aquella reconstruida empleando ambas derivadas (fase de referencia),

$$MSE = \frac{1}{MN} \sum_{m=0}^{M-1} \sum_{n=0}^{N-1} \left(\phi_{mn} - \phi'_{mn}\right)^2, \tag{5.6}$$

donde M y N representan el número de filas y columnas, respectivamente, ϕ'_{mn} la fase reconstruida y ϕ_{mn} la fase reconstruida utilizando ambas derivadas.

5.2 RESULTADOS

Con el objetivo de mantener una coherencia a lo largo de esta tesis, en la Sec. 5.2.1 se plantea reproducir el procedimiento utilizado en el presente artículo para el análisis de la muestra mencionada previamente (Muestra 1) en el Cap. 4. En la Sec. 5.2.2 se amplían los resultados para la muestra utilizada en el artículo correspondiente a este capítulo (Muestra 2).

5.2.1 *Resultados Experimentales (Muestra 1)*

Utilizando la muestra analizada en el capítulo anterior, se replica el procedimiento descrito en este artículo y se observan resultados coherentes con los obtenidos previamente. Específicamente, se logra una reconstrucción cuantitativa de la fase con una pérdida de calidad mínima. En la Fig. 5.1 se presenta el resultado de integrar la derivada parcial horizontal de la fase utilizando $\lambda = 0$. Se observan claramente las estructuras horizontales debidos al ruido presente en la muestra.

Al aplicar la penalización a los valores elevados de la norma de la derivada en la dirección vertical, logramos mitigar las estructuras horizontales. El factor de regularización, λ, regula el grado de penalización de la norma. A medida que este valor aumenta, más se penaliza. En la Fig. 5.2, se muestra la gráfica del MSE de la reconstrucción de la fase utilizando ambas derivadas, comparada con la reconstrucción empleando el método propuesto, en función del parámetro de regularización λ. En nuestro caso, el valor mínimo del MSE se alcanza para $\lambda = 0.0105$.

En la Fig. 5.3, se presentan las reconstrucciones obtenidas mediante ambos métodos. A la izquierda de la Fig. 5.3 se muestra la integral obtenida utilizando ambas derivadas, la cual coincide con el resultado observado en la Fig. 4.9. A la derecha de la Fig. 5.3 se aprecia la integral obtenida utilizando únicamente una derivada y el factor de regularización determinado previamente.

Para comparar ambas reconstrucciones, calculamos la Raíz del Error Cuadrático Medio (RMSE: "Root Mean Square Error") de la diferencia entre ellas, obteniendo un valor de RMSE $= 30.5$u.a.. El error relativo entre ambas reconstrucciones es de $3.5\,\%$.

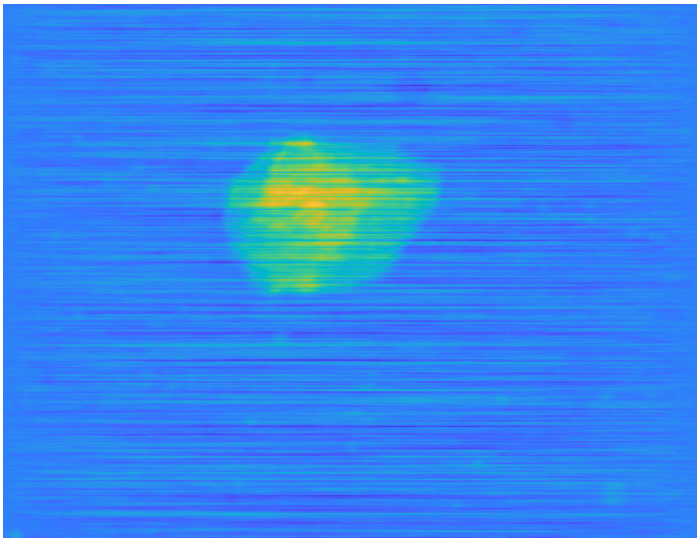


Figura 5.1: Integral de la derivada parcial horizontal de la fase utilizando $\lambda = 0$.

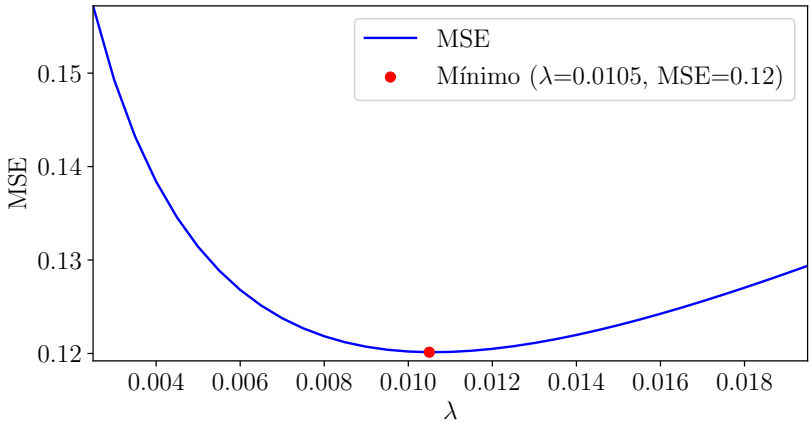


Figura 5.2: MSE entre la integral que incorpora ambas derivadas y la aplicación del método utilizando una sola derivada en función del parámetro λ. Se aprecia un mínimo en $\lambda = 0.0105$.

En la Fig. 5.4, se muestra una sección vertical de ambas reconstrucciones superpuestas. Esto permite una apreciación detallada de la reconstrucción en esta dirección, observando una desviación pequeña entre las dos. En dicha figura, la curva roja representa la reconstrucción obtenida utilizando ambas derivadas con el método descrito en el Cap. 4, la cual es idéntica a la mostrada en la Fig. 4.11. Por otro lado, la curva verde corresponde a la reconstrucción obtenida mediante la integración utilizando únicamente una derivada, con un factor de regularización $\lambda = 0.0105$.

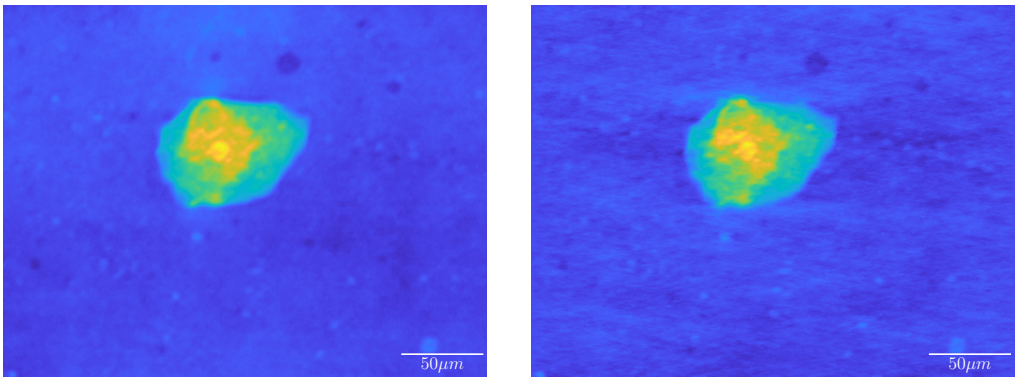


Figura 5.3: Reconstrucción del PO integrando dos derivadas (izq.) e integrando con una sola (der.).

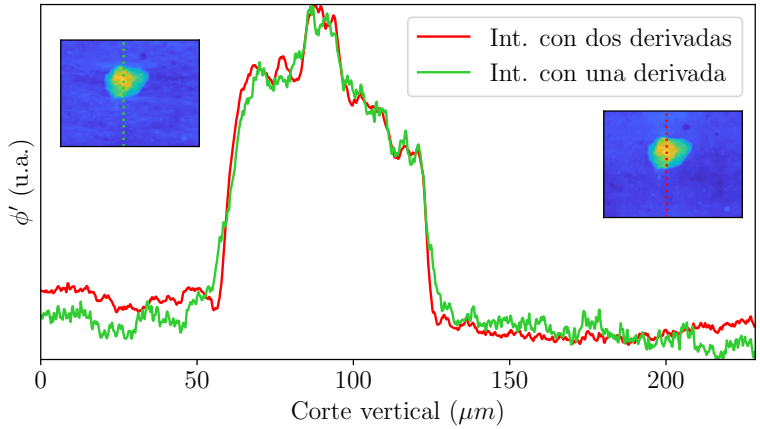


Figura 5.4: Gráfico compuesto que ilustra la fase recuperada, ϕ', en función de la distancia a lo largo de una sección vertical, representada por una línea punteada dentro de las subimágenes. Los datos representados incluyen la fase recuperada utilizando tanto ambas derivadas (rojo) como una única derivada (verde).

5.2.2 *Resultados Experimentales (Muestra 2)*

En la Fig. 5.5 se observan las muestras reconstruidas utilizando ambas derivadas (izquierda) y con el método presente en este artículo (derecha). Para evaluar la discrepancia entre ambas reconstrucciones, calculamos el RMSE, obteniendo un valor de RMSE= 27.3u.a., lo que indica una discrepancia de 3.3 % entre los dos métodos de reconstrucción.

En la Fig. 5.6, se presenta una gráfica de una sección vertical para ambas reconstrucciones que atraviesa el núcleo de la célula inferior, a diferencia del corte que se muestra en el artículo.

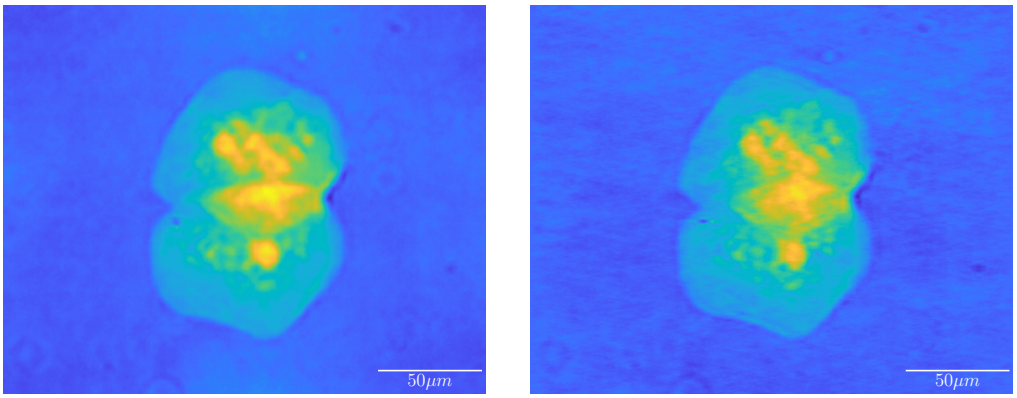


Figura 5.5: Reconstrucción del PO integrando dos derivadas (izq.) e integrando con una sola (der.).

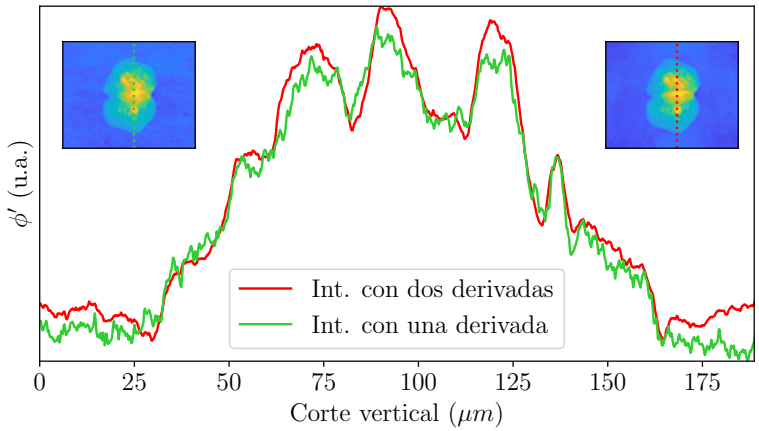


Figura 5.6: Gráfico compuesto que ilustra la fase recuperada, ϕ', en función de la distancia a lo largo de una sección vertical, representada por una línea punteada dentro de las subimágenes. Los datos representados incluyen la fase recuperada utilizando tanto ambas derivadas (rojo) como una única derivada (verde).

Integration with one partial derivative applied to Quantitative Phase Imaging

M. Fernández Lakatos[a], Gastón A. Ayubi[a], and Erna Frins[a]

[a]Facultad de Ingeniería, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

ABSTRACT

In many quantitative phase imaging techniques, phase reconstruction is achieved by integrating information from two-dimensional gradient field. Although using both derivatives gives high-quality results, the acquisition time must be evenly distributed between each derivative. To minimize this time, we use a method that integrates from a single derivative. The challenge when integrating with only one derivative is the lack of information about the derivative in the orthogonal direction. To address this, a regularization parameter was introduced. By dealing with biological samples, we can have prior knowledge that ensures the absence of singularities in the perpendicular direction, justifying the introduction of this parameter. Our objective is to find a solution that minimizes the integration along the direction of the obtained derivative while simultaneously minimizing the norm of the derivative in the orthogonal direction using the introduced parameter. This allows us to perform integration without knowing one of the derivatives. Our method reduces processing time by utilizing Fourier properties, which are computationally efficient. We conclude that both the acquisition and processing time are reduced by not acquiring the derivative in one direction and utilizing Fourier properties for integration. We present experimental results showing the viability and potential of our proposal.

Keywords: Quantitative Phase Imaging, X-ray imaging, Microscopy, Image reconstruction technique

1. INTRODUCTION

Quantitative phase imaging stands as an extensively utilized microscopic technique designed for the measurement of optical phase shifts introduced by transparent biological specimens.[1–3] In the study of these specimens, two distinct categories emerge: Static and dynamic scenarios. The latter presents a challenge in retrieving its phase information due to the rapid changes involved. In dynamic scenarios, there is an imperative demand for fast acquisition methods.

Numerous methodologies require the acquisition of two orthogonal derivatives.[4,5] The process of acquiring both derivatives can be time-consuming. To mitigate this, it is possible to acquire only one derivative for subsequent integration.[6] However, when performing a simple integration in presence of noise, some stripes artifacts appear. To address this issue, some approaches use least square methods[7,8] to remove them.[9–15]

In this work, we propose to combine a method based on the acquisition of a directional derivative[16] and a least squares algorithm[9] to find the regularization parameter using both derivatives in order to integrate a single partial derivative for quantitative reconstruction of the phase. The results are compared with another integration method using both orthogonal partial derivatives.

In the next section we show the methodology used to acquire the images, integrate them and find the optimal regularization parameter. In Section 3 we show the results obtained. Section 4 presents the conclusions of this work.

Further author information: (Send correspondence to M.F.L.)
M.F.L.: E-mail: mfernandez@fing.edu.uy, Telephone: +598 99695244

Quantitative Phase Imaging X, edited by Yang Liu, YongKeun Park,
Proc. of SPIE Vol. 12852, 128520F · © 2024 SPIE
1605-7422 · doi: 10.1117/12.3000403

2. METHODS

2.1 Acquisition method

The images were acquired using the setup in Fig. 1 according to the procedure described in Ayubi et al.[16] This setup consists of a 4f system with two lenses (L_1 and L_2) that replicates the test image (phase object, PO) in the plane of the digital camera without lenses (C). We can also see an amplitude mask (M) placed at a distance Δz from the PO produced by a liquid-crystal device (LCD). The pixel array of the LCD mimics a diffraction grating, requiring the inclusion of an iris diaphragm. This diaphragm selectively permits only the passage of the zero order of diffraction, preventing the interference of shifted images on the sensor screen during acquisition.

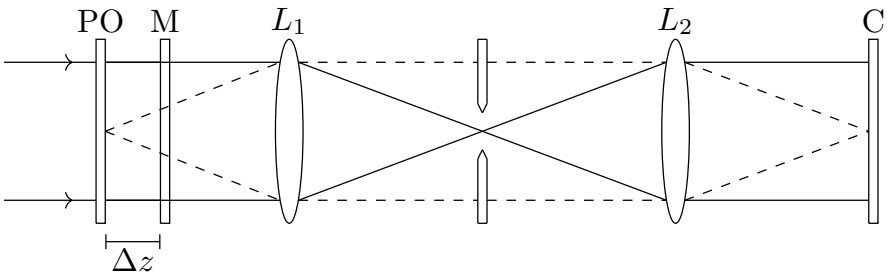


Figure 1. Scheme of the setup used in this experiment. A detailed description is found in.[16]

In order to obtain one partial derivative we acquired 4 images by displacing a cosine intensity mask on the LCD. The projected mask satisfies the following equation

$$I_M(\vec{r}) = 1/2 + \alpha \cos\left(2\pi\vec{r}\cdot\vec{f_0} + \varphi\right), \tag{1}$$

being $\vec{f_0}$ the frequency of the displayed mask, α a constant and $\varphi = 0$, $\pi/2$, π and $3\pi/2$. In this work we propose the use of one partial derivative, e.g. x direction, so Equation (1) becomes

$$I_M(x) = 1/2 + \alpha \cos\left(2\pi x f_x + \varphi\right). \tag{2}$$

Thus the acquired intensity is described by

$$\begin{aligned} I_0'(\vec{r}) &= I_0(\vec{r})\left[1/2 + \alpha\cos\left(2\pi x f_x + \varphi\right) - \alpha\beta f_x \partial_x\phi(\vec{r})\sin\left(2\pi x f_x + \varphi\right)\right] \\ &= I_0(\vec{r})\left[1/2 + \alpha\left(1 + \beta^2(f_x\partial_x\phi(\vec{r}))^2\right)^{\frac{1}{2}}\cos\left(2\pi x f_x + \varphi + \psi\right)\right], \end{aligned} \tag{3}$$

where β is the product of the distance between the phase object (PO) and the mask (M), and the source wavelength; ψ is a phase introduced by the presence of the sample object. Its value is

$$\tan(\psi) = \beta f_x \partial_x\phi. \tag{4}$$

Applying the four-steps Bruning algorithm we obtain

$$\tan\left(2\pi f_x x + \psi\right) = \frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3}, \tag{5}$$

where I_1, I_2, I_3 and I_4 are the acquired images with the corresponding mask amplitude using the following phase-steps $\varphi = 0$, $\pi/2$, π and $3\pi/2$, respectively. The term $2\pi f_x x$ can be calculated from a reference phase and is extracted by repeating these steps without a test sample.

2.2 Integration method

Phase retrieval of a noisy partial derivative is an ill-posed inverse problem. If we perform a simple integration with this data a series of horizontal stripes will appear in the reconstructed image due to the amplification of low frequency noise.[9,11,14] To address this issue, a method based on least square in the Fourier domain have been proposed leading to solutions of the form[10,13]

$$\phi' = \mathcal{F}^{-1}\left\{\frac{-j\omega_x}{\omega_x^2 + \lambda\omega_y^2}\mathcal{F}\left\{\frac{\partial\phi}{\partial x}\right\}\right\}, \tag{6}$$

where ϕ' is the reconstructed phase of the sample, λ the regularization parameter and ω_x and ω_y are the angular frequency associated to the spatial coordinate x and y, respectively. When λ is set to 0, Equation (6) can be interpreted as a direct integration operating solely on noiseless data.[13] On the other hand, for values of λ greater than 0, the high frequencies are filtered in the Fourier domain. This results in a smoothness constraint imposed on the potential values assumed by the orthogonal derivative, $\partial_y\phi$, and eliminates the horizontal stripes. The optimal value for λ can be determined by a trial-and-error process to achieve the best results. Once identified, the optimal value of λ can be used for subsequent reconstructions of the same sample.

2.3 Comparison

Despite the possibility of determining the regularization parameter λ through trial-and-error, this study attempts to identify the optimal value by comparing it to the retrieved phase using two orthogonal partial derivatives. To facilitate this comparison between the integration of a single partial derivative, as expressed in Equation 6, and the retrieved phase using both derivatives, we employ the mean square error (MSE) as a metric for evaluating their similarity when varying the values of λ. The optimal λ value rise when noise level increase. We establish a predefined set of lambda parameters and retrieved the phase using Equation 6 for each of this values. Subsequently, we compare each calculated phase with the integration employing both partial derivatives. The MSE is defined by the equation:

$$MSE = \frac{1}{MN}\sum_{m=0}^{M-1}\sum_{n=0}^{N-1}\left(\phi_{mn} - \phi'_{mn}\right)^2, \tag{7}$$

where M and N represent the number of rows and columns, respectively, ϕ'_{mn} the retrieved phase (Equation 6) and ϕ_{mn} the retrieved phase using both derivatives.

3. RESULTS

The images acquired with an out-of-focus intensity mask superimposed as described by Equation (1), are depicted in Fig. 2. In panels a) through d), the mask exhibits phase shifts of 0, $\pi/2$, π, and $3\pi/2$, respectively.

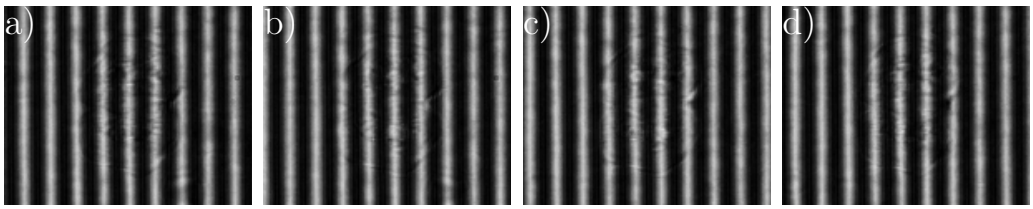


Figure 2. Acquired images containing the phase object with an out-of-focus superimposed cosine function with respective phase shift of 0, $\pi/2$, π and $3\pi/2$.

In accordance with the outlined procedure detailed in Section 2.1, an image representing the partial derivative of the phase is obtained, as depicted in Figure 3a). Similarly, the derivative in the vertical direction is acquired and illustrated in Figure 3b). The integration of both derivatives yields the resulting image displayed in Figure 3c). If the integration is performed as described in Sec. 2.2 imposing $\lambda = 0$ we obtain horizontal stripes artifacts as seen in Figure 3d). Figure 3e) shows the integral using the optimal value found, $\lambda = 0.0145$. The difference between the integral using both derivatives and the one retrieved using $\lambda = 0.0145$ is illustrated in Figure 3f). As one might anticipate, the most significant differences lie in the vertical direction, where there is a lack of information.

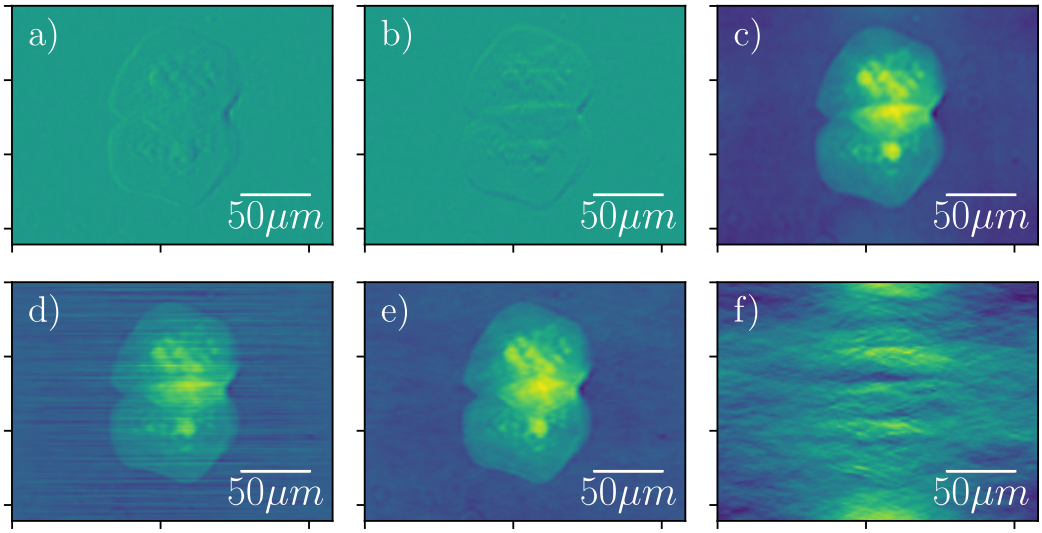


Figure 3. Image a) and b) illustrate the horizontal and vertical partial derivative obtained with the method described in Sec. 2.1, respectively. In c), the phase reconstruction is depicted using both derivatives. Image d) shows the integration with a regularization parameter λ set to 0. Image e) displays the outcome of single derivative integration with a regularization parameter optimized to minimize the MSE between the reconstructed image and the retrieved phase obtained from both derivatives. Image f) portrays the difference between images c) and e).

In order to find the optimal λ, we performed the MSE shown in Equation 7 between the integration using both derivatives and the retrieved phase by means of Equation 6, see Figure 4. We obtained a value of $\lambda = 0.0145$ corresponding to the minimal MSE value. In Figure 5 we plot a one-pixel wide strip from the retrieved phase

using one partial derivative (green) and two partial derivatives (red). We can appreciate small differences in values, being the standard deviation of both images difference (Figure 3f) $0.96(a.u.)$.

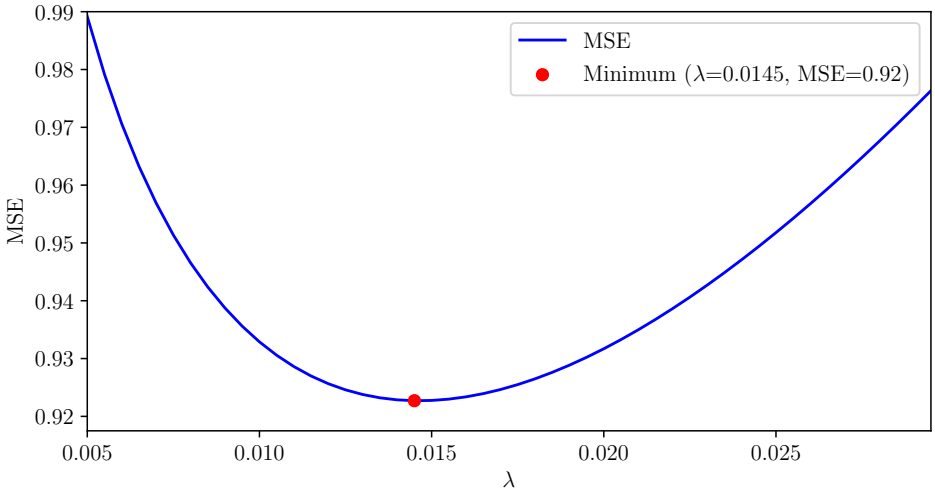


Figure 4. MSE between the integral incorporating both derivatives and applying the method from a single derivative as a function of the parameter λ. It shows a minimum at $\lambda = 0.0145$.

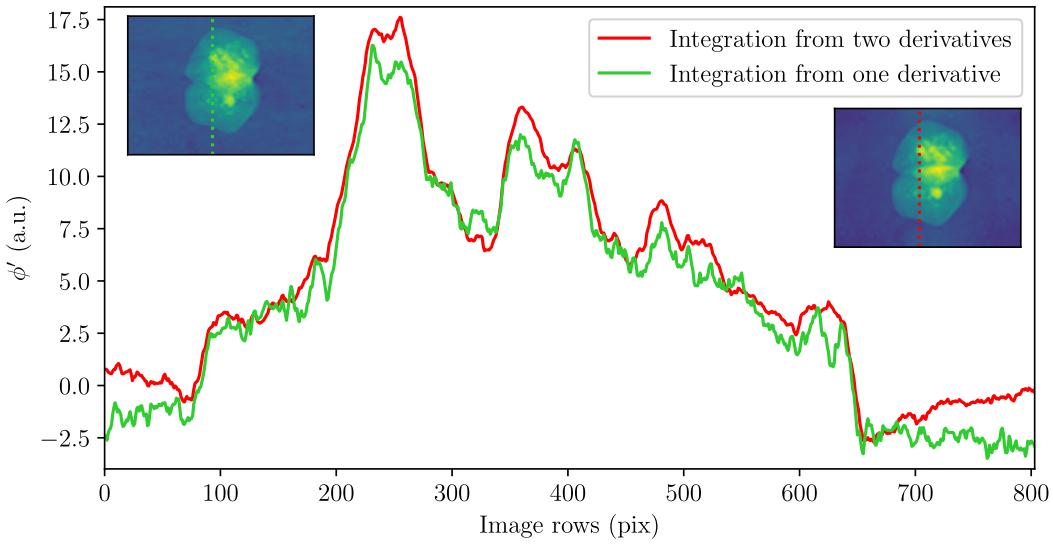


Figure 5. Composite plot illustrating the retrieved phase (ϕ') as a function of image pixels along a vertical section, represented by a dotted line within the subimages. The depicted data includes the retrieved phase using both derivatives (red) and a single derivative (green).

4. CONCLUSIONS

In this work we have shown a study whose results can be achieved without significant quality loss, accelerating the acquisition time by half through the acquisition of a single derivative and increasing processing speed by taking advantages of Fourier properties.

By means of least square algorithms we successfully have found a solution that minimizes the integration error along the direction of the obtained derivative while simultaneously minimizing the orthogonal derivative norm using the introduced parameter λ. This parameter was determined by minimizing the difference between integration results using a single partial derivative and using two partial derivatives.

In order to obtain the horizontal partial derivative we have shown the efficiency of an approach that make use of four images to reconstruct one partial derivative. This method does not require to move any optical elements to obtain both partial derivatives.

We have also presented experimental results to show the viability and potential of our proposal.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was funded by the Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC, Universidad de la República, Uruguay), Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas (PEDECIBA, Uruguay). M. Fernández Lakatos acknowledges a PhD fellowship from the Agencia Nacional de Innovación e Investigación (ANII, $POS\_NAC\_2018\_1\_151939$) and from the Comisión Académica de Posgrado (CAP, $BFPD\_2022\_1\#46691493$).

Disclosures

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

[1] Mir, M., Bhaduri, B., Wang, R., Zhu, R., and Popescu, G., "Quantitative phase imaging," *Progress in Optics* **57**, 133–217 (July 2012).

[2] Park, Y., Depeursinge, C., and Popescu, G., "Quantitative phase imaging in biomedicine," *Nature Photonics* **12**(10), 578–589 (2018).

[3] Nguyen, T. L., Pradeep, S., Judson-Torres, R. L., Reed, J., Teitell, M. A., and Zangle, T. A., "Quantitative phase imaging: Recent advances and expanding potential in biomedicine," *ACS Nano* **16**, 11516–11544 (Aug. 2022).

[4] Kottler, C., David, C., Pfeiffer, F., and Bunk, O., "A two-directional approach for grating based differential phase contrast imaging using hard x-rays," *Opt. Express* **15**, 1175–1181 (Feb 2007).

[5] Zanette, I., Weitkamp, T., Donath, T., Rutishauser, S., and David, C., "Two-dimensional x-ray grating interferometer," *Phys. Rev. Lett.* **105**, 248102 (Dec 2010).

[6] Quéau, Y., Durou, J.-D., and Aujol, J.-F., "Normal integration: A survey," (2017).

[7] Tarantola, A., [*Inverse Problem Theory and Methods for Model Parameter Estimation*], Society for Industrial and Applied Mathematics (2005).

[8] Engl, H. W. and Ramlau, R., [*Regularization of Inverse Problems*], 1233–1241, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg (2015).

[9] Thüring, T., Modregger, P., Pinzer, B. R., Wang, Z., and Stampanoni, M., "Non-linear regularized phase retrieval for unidirectional x-ray differential phase contrast radiography," *Opt. Express* **19**, 25545–25558 (Dec 2011).

[10] Martino, J. M. D., Flores, J. L., Pfeiffer, F., Scherer, K., Ayubi, G. A., and Ferrari, J. A., "Phase retrieval from one partial derivative," *Opt. Lett.* **38**, 4813–4816 (Nov 2013).

[11] Sperl, J. I., Bequé, D., Kudielka, G. P., Mahdi, K., Edic, P. M., and Cozzini, C., "A fourier-domain algorithm for total-variation regularized phase retrieval in differential x-ray phase contrast imaging.," *Optics express* **22**, 450–62 (Jan 2014).

[12] Nilchian, M., Wang, Z., Thuering, T., Unser, M., and Stampanoni, M., "Spline based iterative phase retrieval algorithm for x-ray differential phase contrast radiography," *Opt. Express* **23**, 10631–10642 (Apr 2015).

[13] Wang, Y., Huang, W., He, Q., Zhu, Z., Zhang, J., Yuan, Q., Zhang, K., and Zhu, P., "Adaptive weighted total variation regularized phase retrieval in differential phase-contrast imaging," *Optical Engineering* **57**, 053108 (May 2018).

[14] Massimi, L., Buchanan, I., Astolfo, A., Endrizzi, M., and Olivo, A., "Fast, non-iterative algorithm for quantitative integration of x-ray differential phase-contrast images," *Opt. Express* **28**, 39677–39687 (Dec 2020).

[15] Tao, S., Zonghan, T., Bai, L., Xu, Y., Kuang, C., and Liu, X., "Suppression of artifacts caused by phase errors and noises in x-ray phase computed tomography," *IEEE Photonics Technology Letters* **PP**, 1–1 (12 2023).

[16] Ayubi, G. A., Fernández Lakatos, M., Casaballe, N., and Frins, E., "Common-path quantitative phase imaging by propagation through a sinusoidal intensity mask," *Optics and Lasers in Engineering* **171**, 107805 (2023).

6

REGULARIZACIÓN ÓPTIMA PARA LA IMAGEN CUANTITATIVA DE FASE A PARTIR DE UNA DERIVADA PARCIAL

En el capítulo anterior, ver Cap. 5, fue analizada la obtención de la integral empleando una derivada, determinando el factor de regularización λ mediante la minimización del error cuadrático medio entre la integral obtenida con una derivada y aquella utilizando ambas derivadas. Los resultados obtenidos indicaron una pérdida marginal en la calidad. Pese a que los resultados fueron alentadores, su aplicabilidad en situaciones reales es limitada. En entornos experimentales donde obtener ambas derivadas representa un desafío [112], este método no es preferible. Las dificultades pueden surgir debido a la necesidad de dispositivos móviles para la adquisición de la segunda derivada [116, 117]. Esto último toma mayor relevancia al estudiar objetos altamente dinámicos, donde la muestra se puede desplazar entre adquisiciones sucesivas. En tales circunstancias, es útil contar con otro enfoque que permita trabajar adquiriendo una sola dirección, ajustando un parámetro de regularización. El presente trabajo aborda esta necesidad al ofrecer un método que no necesita obtener en ningún momento la segunda derivada, es más rápido y eficiente que el enfoque de prueba y error [121, 113] para la determinación del parámetro de regularización óptimo.

En este capítulo, se analizan los datos de la muestra estudiada en el Cap. 4. Por consiguiente, los detalles del montaje experimental y las consideraciones tomadas en cuenta son idénticas a las elaboradas dicho capítulo.

En la Sec. 6.1 se detallan las bases de la teoría presentada en este artículo. En la Sec. 6.2 se profundizan los resultados para la simulación, así como algunas consideraciones utilizadas para la caracterización del ruido utilizando una muestra biológica.

6.1 FUNDAMENTO TEÓRICO

Para integrar utilizando una derivada se parte de la solución de mínimos cuadrados [119, 120] en donde se busca minimizar la función de costo $M(\phi')$,

$$\min_{\phi'} M(\phi') = ||\partial_x \phi' - \partial_x \phi||_{p_1}^2 + \lambda ||\partial_y \phi'||_{p_2}^2, \tag{6.1}$$

en donde ϕ' es la fase reconstruida, $\partial_x\phi$ es la derivada parcial adquirida y λ es el parámetro de regularización. El subíndice de las normas indica que se utilizan las normas L^{p_1} y L^{p_2} [85]. La Ec. 6.1 se puede expresar como,

$$\min_{\phi'} M(\phi') = \int\int \left| \frac{\partial \phi'}{\partial x} - \frac{\partial \phi}{\partial x} \right|^{p_1} + \lambda \left| \frac{\partial \phi'}{\partial y} \right|^{p_2} \mathrm{d}x\,\mathrm{d}y. \tag{6.2}$$

En la literatura se observa el uso de la norma euclidiana para el primer término, es decir, $p_1 = 2$, mientras que existen diferentes elecciones para la norma del segundo término. Al seleccionar $p_2 = 2$, se obtiene la Ec. 5.4, reproducida aquí nuevamente

$$\phi' = \mathscr{F}^{-1}\left\{ \frac{-j\omega_x}{\omega_x^2 + \lambda\,\omega_y^2} \mathscr{F}\left\{ \frac{\partial \phi}{\partial x} \right\} \right\}. \tag{6.3}$$

Esta elección tiene por ventaja generar un problema invertible analíticamente, evitando así la necesidad de recurrir a un proceso iterativo el cual demanda más tiempo para encontrar la solución. Debido a que se prioriza la rapidez de la reconstrucción, se opta por utilizar esta norma. Sin embargo, en la literatura se utilizan otras normas que son mejores preservando detalles presentes en discontinuidades de la muestra. Como explica Wang et al. [110], el uso de una norma L^1 para el término de regularización tiene las ventajas de tener soluciones menos esparsas que la norma euclidiana [123] y de preservar más la resolución. La desventaja se encuentra en no tener una solución analítica, teniendo que recurrir a métodos iterativos.

Por lo general, en los problemas de estudio, las imágenes contienen una porción de la imagen que no se encuentra ocupada por la muestra. De esta sección, considerada como fondo, se puede extraer la información del ruido presente. Se asume un ruido aditivo y se hace uso de esta información para obtener el parámetro de regularización.

6.1.1 *Caracterización del Ruido*

En el contexto de procesamiento de imágenes, es común encontrar que el ruido se puede modelar como ruido aditivo. Es decir, al valor de cada píxel de la imagen sin ruido se le suma un valor siguiendo una cierta distribución. Si se supone una imagen ideal, representada por la variable I, y una versión de esta imagen afectada por ruido aditivo, representada por la variable I_r, entonces se puede representar esta relación como

$$I_r = I + w, \tag{6.4}$$

donde w representa el ruido aditivo. Se asume que existe una región uniforme dentro de la imagen donde se puede caracterizar el ruido presente [124]. Es decir, una región donde los valores de los píxeles de I son constantes.

La desviación estándar (σ_w) del ruido aditivo se calcula utilizando los datos de la región uniforme de la imagen ruidosa. Para ello, se toman los valores de los píxeles de esta región, y bajo la hipótesis de representar ruido aditivo (w), se calcula la desviación estándar como

$$\sigma_w = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(I_{r,i} - \bar{I}_r)^2}{n}}, \tag{6.5}$$

donde $I_{r,i}$ son los valores de los píxeles en la región, $\bar{I}_r$ la media del valor de los píxeles en la región uniforme y n la cantidad total de píxeles en esta región.

6.2 RESULTADOS

6.2.1 *Simulación con Ruido Aditivo Gaussiano*

Se busca realizar una simulación para comparar los resultados al integrar con el valor exacto de la función. Para esta simulación se utiliza como referencia una función gaussiana bidimensional, $\phi_{m,n}$, ver imagen superior izquierda de la Fig. 6.1. A la derivada analítica en la dirección horizontal se le agrega ruido con distribusión gaussiana ($\mathcal{N}(0, \sigma_w)$), ver imagen superior derecha Fig. 6.1. Por lo tanto, la función a integrar es $\partial_x\phi + \mathcal{N}(0, \sigma_w)$.

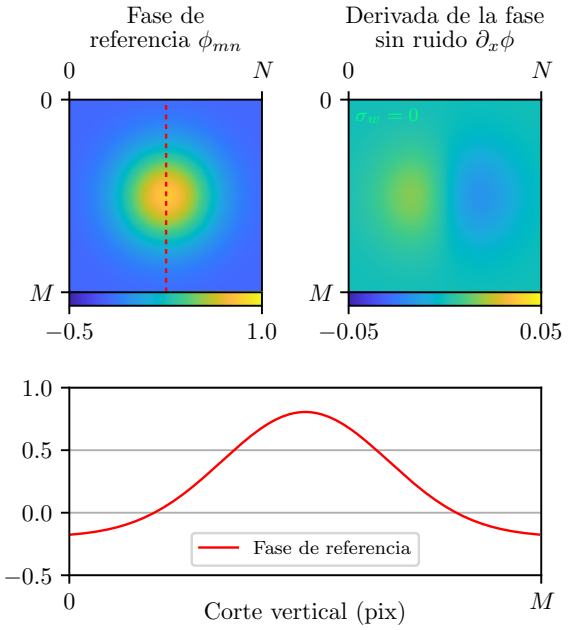


Figura 6.1: A la izquierda se encuentra la función gaussiana considerada la fase de referencia. A la derecha, la derivada analítica, $\partial_x\phi$. Debajo un corte vertical de la fase de referencia.

Con el fin de estudiar el comportamiento del factor de regularización óptimo, representado como $\lambda_{\text{óptimo}}$, en función del ruido, se varia el nivel de ruido aplicado a la derivada analítica.

El estudio se realiza mediante dos enfoques: uno basado en el método descrito en el presente artículo y otro en el que se calcula el error cuadrático medio (MSE: “Mean Squared Error”) entre la fase de referencia y la fase reconstruida utilizando un conjunto de parámetros de regularización con valores fijos. En el último caso, para cada nivel de ruido se identifica el mínimo valor del MSE y se define el factor de regularización óptimo con el parámetro correspondiente. En la Fig. 6.2, se pueden apreciar múltiples gráficos del error cuadrático medio en función del parámetro de regularización para distintos niveles de ruido.

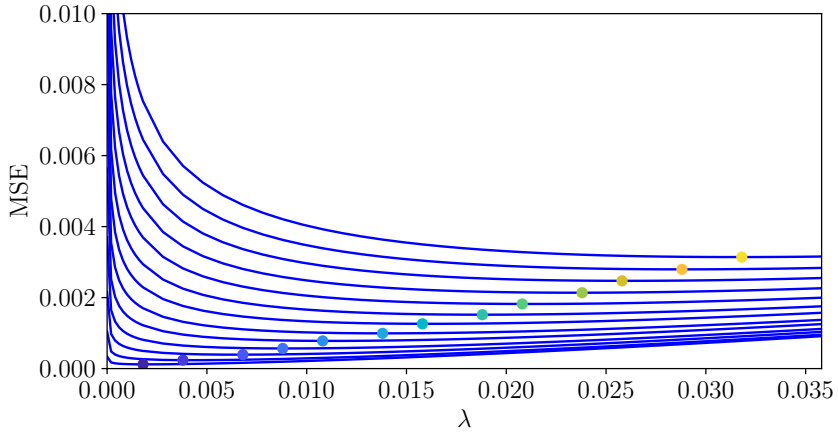


Figura 6.2: Múltiples gráficos del MSE en función del parámetro de regularización ($\lambda \in [0, 0.035]$ con intervalos de 0.001 y 0.0002 para los primeros nueve valores) para distintos niveles de ruido ($\sigma_w \in [0.003, .035]$ con intervalos de 0.0025).

En cada simulación presente en la Fig. 6.2, el valor óptimo de λ está marcado con un círculo de color. Este valor óptimo aumenta junto con el nivel de ruido. Para una comprensión más clara de este concepto, en la Fig. 6.3 se presenta el valor óptimo del parámetro de regularización en función del inverso de la relación señal-ruido (SNR: “Signal to Noise Ratio”), definida como

$$\text{SNR} = \frac{\sum_{m,n}^{M,N} \left(\partial_x \phi\right)^2}{\sigma_w^2}. \tag{6.6}$$

Debido a que la derivada se genera a partir de la suma de la derivada analítica junto con ruido gaussiano aleatorio, se debe promediar el valor hallado del MSE y SNR para cada parámetro de regularización y nivel de ruido, con el fin de aproximarnos a la media de sus valores. Cada punto de las gráficas presentes en las Figs. 6.2 y 6.3 fue calculado promediando el resultado de mil reconstrucciones a partir de datos con ruido aleatorio. Los valores utilizados para el parámetro de regularización son menores a 0.035 debido a que un valor óptimo mayor a éste corresponde un nivel de ruido excesivamente grande, ver Fig. 6.4.

En la Fig. 6.3 se puede visualizar cómo el valor del parámetro de regularización óptimo aumenta a medida que también lo hace el inverso del SNR, lo que implica un aumento del nivel de ruido. En dicha figura, se han marcado los puntos utilizados para visualizar tanto la derivada como la integración correspondiente en la Fig. 6.4.

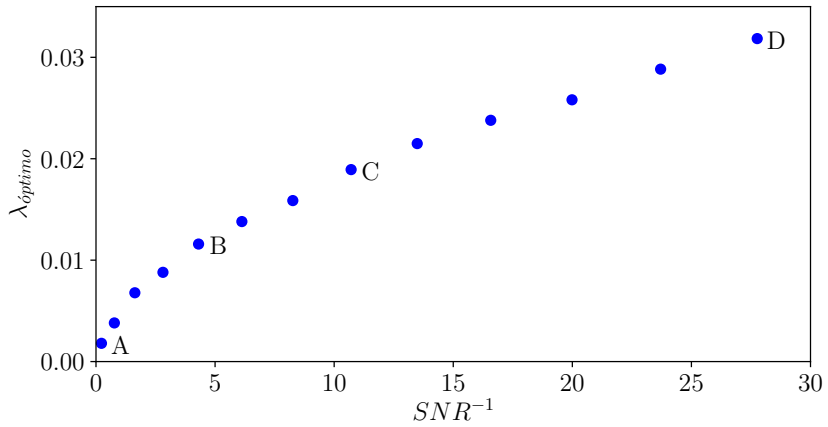


Figura 6.3: Parámetro de regularización óptimo en función del inverso del SNR.

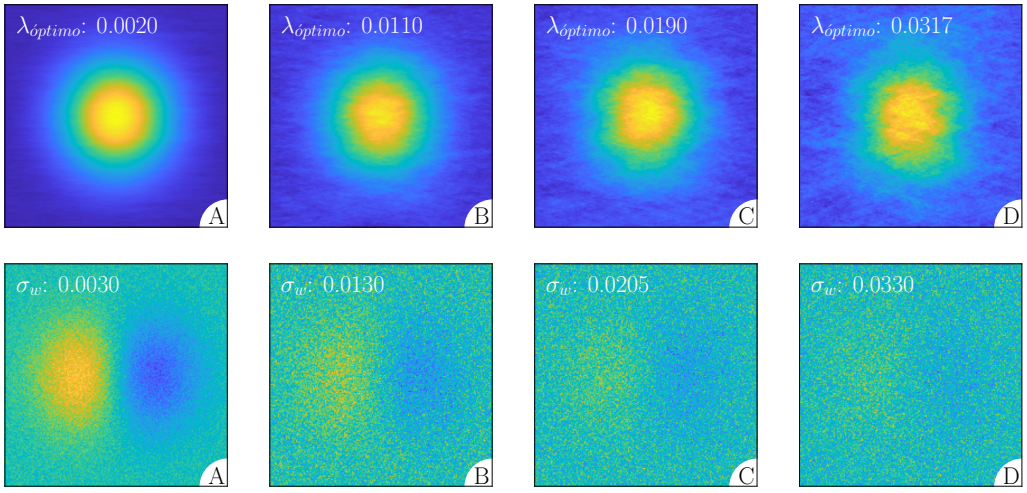


Figura 6.4: Se muestra las fases integradas para diferentes valores de ruido aditivo (fila superior) utilizando el parámetro de regularización óptimo asociado al ruido presente en la derivada (fila inferior).

6.2.2 *Caracterización del Ruido a partir de una Imagen*

Al trabajar con una imagen adquirida experimentalmente, en este caso una derivada de la imagen de la célula, la desviación estándar es extraída de una sección uniforme (ver recuadro color verde de la Fig. 6.5), a partir de la Ec. 6.5.

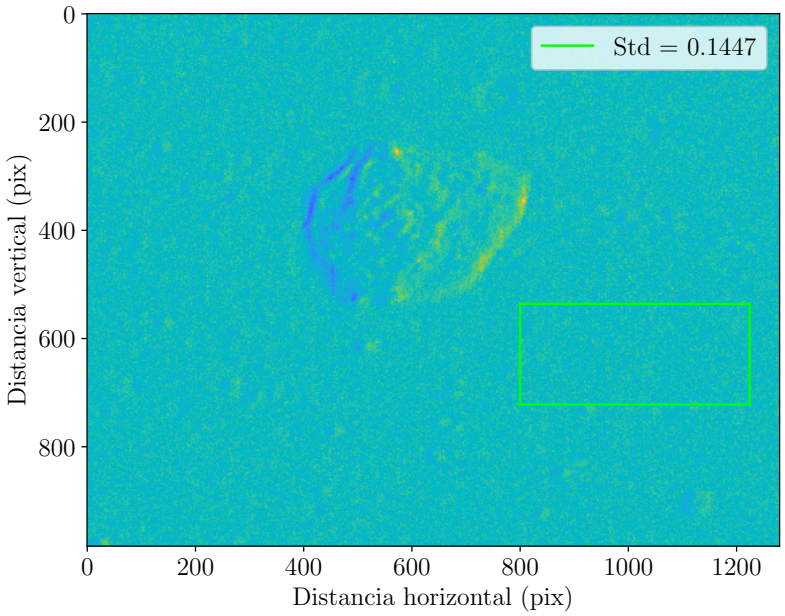
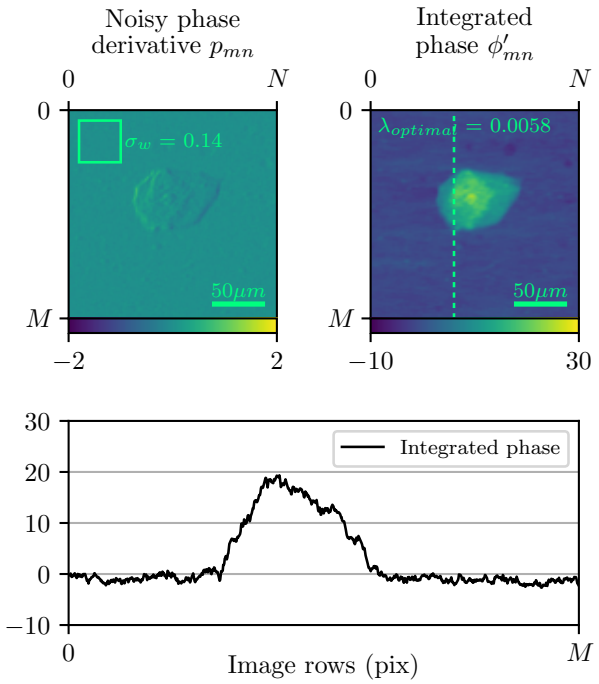


Figura 6.5: Imagen de la derivada adquirida experimentalmente de una célula epitelial de la mucosa bucal en donde se ha seleccionado una región uniforme delimitada con un rectángulo color verde para obtener la desviación estándar del ruido.

Graphical Abstract

Optimal Regularization for Quantitative Phase Imaging from One Partial Derivative

M. Fernández Lakatos, G. A. Ayubi, E. Frins



Highlights

Optimal Regularization for Quantitative Phase Imaging from One Partial Derivative

M. Fernández Lakatos, G. A. Ayubi, E. Frins

- Integration from one derivative: Developed a method to integrate using one partial derivative.
- Automatic regularization parameter determination: Introduced a novel algorithm for automatically determining the optimal regularization parameter for integration using one partial derivative, eliminating the need for manual fine-tuning.
- Analytical expression for MSE: Utilized the ℓ_2-norm for integration error, enabling an analytical expression for the mean squared error (MSE) that allows for fast optimization in the Fourier domain.
- Performance validation: Validated the algorithm's performance with both synthetic and experimental microscopy data.

Optimal Regularization for Quantitative Phase Imaging from One Partial Derivative

M. Fernández Lakatos[a], G. A. Ayubi[a,b], E. Frins[a]

[a] *Instituto de Física, Facultad de Ingeniería, UdelaR, J. Herrera y Reissig 565, 11300, Montevideo, Uruguay*
[b] *Byers Eye Institute, Stanford University, Palo Alto, CA 94303, California, USA*

Abstract

Phase retrieval from differential image integration is a common problem across various disciplines. The optimal approach is to integrate the gradient with two orthogonal derivatives, but in some cases only one derivative is available. Previous works integrate from one derivative by introducing a regularization to account for the unknown derivative using a tunable parameter. Here we propose a method to determine the regularization parameter automatically, with the objective of minimizing the error in the retrieved phase, avoiding the need for visual inspection. We show the performance of the algorithms with examples from synthetic data and experimental microscopy data.

Keywords: Phase retrieval, Quantitative phase imaging, Microscopy, X-ray imaging, Inverse problems

1. Introduction

There are several approaches used in a great variety of areas including but not limited to medicine [1], microscopy [2, 3, 4], X-rays [5, 6], industry [7, 8], computer vision [9] and deflectometry [10] for retrieving the shape or thickness of an object with the intermediate outcome being an image containing the local slope. Some of these techniques aim to determine the phase accumulated by an electromagnetic wave when propagating through an object, e.g. in the visible spectrum or in X-rays, from the phase gradient values [11, 12, 13, 14]. Hence, it is usual to employ the term "phase" to denote the desired object magnitude [15].

One set of techniques involves computing the phase by integrating a gradient field [16]. This integration is achieved through calculating the partial derivatives of the phase along two perpendicular directions [17].

The integration methods from two orthogonal partial derivatives are reliable, but not universally applicable to all techniques that generate differential images. This occurs because certain techniques enable the acquisition of the phase partial derivative in only one direction [18]. This limitation can arise from two main reasons. First, physical constraints inherent to the acquisition system may make it impossible to obtain both corresponding derivatives [19, 20]. Second, the required speed of acquisition may not allow the sequential capture of both orthogonal derivatives due to dynamic changes in the sample. Consequently, there is a need to develop alternative methods to retrieve the phase from a single directional derivative [21]. An initial approach to address this issue would be to independently integrate each row of the image in the case of a horizontal derivative [22, 23]. However, due to the presence of noise in the images, this method results in artifacts in the form of horizontal stripes [19]. To mitigate this problem, several algorithms have been developed, primarily from the field of X-rays [24, 25, 26, 21, 27]. These algorithms generally involve minimizing a cost function to fit the result to the acquired data while imposing a regularization to the norm of the unknown orthogonal derivative. This ℓ_1-norm or ℓ_2-norm will act as a low pass filter in the orthogonal direction, thereby eliminating the characteristic stripes of direct integration. The two terms are coupled in the cost function through a regularization parameter. This parameter enables the transition from a result with a marked presence of stripes at one extreme to a completely blurred image at the other extreme. The choice of the parameter is usually determined by a visual inspection of the result [28, 27]. Other authors suggest the use of a Wiener filter to approximate the phase signal from one partial derivative while reducing the sensitivity to noise in the perpendicular direction, thereby mitigating strips artifacts [29].

Here we propose an integration method starting from a single partial derivative by automating the search for the regularization parameter in order to minimize the ℓ_2-norm of the derivative in the perpendicular direction. We impose an additive noise model on the differential image to find the optimal parameter that minimizes the mean square error (MSE) between the recovered phase and the real phase.

In the next section, we derive the analytical expression for achieving integration from one partial derivative. In Sec. 2.2, we analyze the retrieved

phase error to calculate the optimal regularization parameter. In Secs. 3.1 and 3.2, we test our approach on two sets of images: a synthetic image and experimental data from a microscope to demonstrate the performance of our approach. Finally, we present our conclusions in Sec. 4.

2. Methods

As mentioned above, the outcome after applying different techniques is the gradient map or one partial derivative of a sample phase. Defining the acquired gradient as (p_{mn}, q_{mn}), where p_{mn} and q_{mn} are the horizontal and vertical partial derivatives of the phase, respectively. m is the row index and n the column index of a $M \times N$ matrix. In the following we present our method to calculate the phase by integrating the horizontal partial derivative p_{mn}, without the vertical derivative data. However, it is notable that a comparable methodology can be applied in the absence of the horizontal derivative.

2.1. Integration from one partial derivative

Considering that $p(x, y)$ represents the continuous partial derivative in the x direction, its integral $\phi'(x, y)$ must minimize the cost-function defined as

$$E = \iint \left(\frac{\partial \phi'(x,y)}{\partial x} - p(x,y) \right)^2 dxdy, \tag{1}$$

in the case where $p(x, y)$ is noise-free. In the case of real images the presence of noise generates horizontal stripes artifacts in the integrated image. The nature of this stripes reside in the absence of high frequency filtering in the y direction when integrating [27]. In order to solve this issue, it has been proposed to incorporate an additional term in Eq. 1 that penalizes the norm of the integral derivative in the y direction [25**?** , 21]. The function to minimize becomes

$$E = \iint \left[\left(\frac{\partial \phi'(x,y)}{\partial x} - p(x,y) \right)^2 + \lambda \left(\frac{\partial \phi'(x,y)}{\partial y} \right)^2 \right] dxdy, \tag{2}$$

where λ is a parameter that tunes the trade-off between the fidelity of $\frac{\partial \phi'(x,y)}{\partial x}$ to match $p(x, y)$ versus the minimization of $\left(\frac{\partial \phi'(x,y)}{\partial y} \right)^2$.

Applying the Euler-Lagrange equation, to minimize the cost function E is equivalent to solve the differential equation

$$\frac{\partial^2 \phi'(x,y)}{\partial x^2} + \lambda \frac{\partial^2 \phi'(x,y)}{\partial y^2} - \frac{\partial p(x,y)}{\partial x} = 0. \tag{3}$$

Discretizing Eq. 3 and calculating its discrete Fourier transform, we obtain

$$-\omega_v^2 \Phi'_{uv} - \lambda \omega_u^2 \Phi'_{uv} - j\omega_v P_{uv} = 0, \tag{4}$$

where ω_u and ω_v are the angular frequencies associated with the spatial coordinates m and n respectively, and Φ'_{uv} is the discrete Fourier transform of the phase.

After rearranging Eq. 4, the integration in the Fourier domain is

$$\Phi'_{uv} = \frac{-j\omega_v P_{uv}}{\omega_v^2 + \lambda \omega_u^2}. \tag{5}$$

Eq. 5 is the solution of the constrained least square optimization problem shown in Eq. 2. For noisy data, when the constrain is not present, Eq. 5 will increase high-frequency noise in the vertical direction generating horizontal stripe artifacts. As a consequence, when $\lambda = 0$ the optimal solution works only for noise-free images. In the presence of noise, a higher value of λ is needed to get an optimal integration. Similar approaches in the Fourier domain can be found in [28, 27], where the λ parameter is determined by visual inspection.

2.2. Optimal λ parameter determination

Here we propose a method to determine the optimal value of λ ($\lambda_{optimal}$) that minimizes the MSE of the difference between the real phase (ϕ_{mn}) and the retrieved one (ϕ'_{mn}). To calculate the MSE we start modeling the acquired partial derivative p_{mn} as

$$p_{mn} = \left.\frac{\partial \phi}{\partial x}\right|_{mn} + w_{mn}, \tag{6}$$

where $\left.\frac{\partial \phi}{\partial x}\right|_{mn}$ is the discretization of the partial derivative of ϕ and w_{mn} is additive random noise.

So P_{uv}, the discrete Fourier transform of p_{mn}, can be written as

$$P_{uv} = j\omega_v \Phi_{uv} + W_{uv}, \tag{7}$$

where W_{uv} and Φ_{uv} are the discrete Fourier transform of w_{mn} and ϕ_{mn}, respectively.

By substituting P_{uv} in Eq. 5 the discrete Fourier transform of the calculated phase is

$$\Phi'_{uv} = \frac{\omega_v^2 \Phi_{uv} - j\omega_v W_{uv}}{\omega_v^2 + \lambda\omega_u^2}. \tag{8}$$

On the other hand we can define the MSE as

$$MSE = \frac{1}{MN} \sum_{m=0}^{M-1} \sum_{n=0}^{N-1} \left(\phi_{mn} - \phi'_{mn}\right)^2. \tag{9}$$

Applying Parseval's theorem for the discrete Fourier transform, the MSE can be rewritten as

$$MSE = \frac{1}{(MN)^2} \sum_{u=0}^{M-1} \sum_{v=0}^{N-1} \left|\Phi_{uv} - \Phi'_{uv}\right|^2. \tag{10}$$

Substituting Φ'_{uv} for its expression in Eq. 8 and rearranging we get

$$MSE = \frac{1}{(MN)^2} \sum_{u=0}^{M-1} \sum_{v=0}^{N-1} \left|\frac{\lambda\omega_u^2 \Phi_{uv} + j\omega_v W_{uv}}{\omega_v^2 + \lambda\omega_u^2}\right|^2. \tag{11}$$

In order to estimate the a priory unknown MSE, we calculate its expected value as an estimation of it, i.e.,

$$\langle MSE \rangle = \frac{1}{(MN)^2} \sum_{u=0}^{M-1} \sum_{v=0}^{N-1} \frac{(\lambda\omega_u^2)^2 \left|\Phi_{uv}\right|^2 + \omega_v^2 \left\langle W_{uv}^2 \right\rangle}{(\omega_v^2 + \lambda\omega_u^2)^2}, \tag{12}$$

where the cross terms are zero since $\langle W_{uv} \rangle = 0$ if $\langle w_{mn} \rangle = 0$.

The expected value of W_{uv}^2 its equal to $MN\sigma_w$, where σ_w is the standard deviation of w_{mn}, so substituting in Eq. 12,

$$\langle MSE \rangle = \frac{1}{(MN)^2} \sum_{u=0}^{M-1} \sum_{v=0}^{N-1} \frac{(\lambda\omega_u^2)^2 \left|\Phi_{uv}\right|^2}{(\omega_v^2 + \lambda\omega_u^2)^2} + \frac{\sigma_w}{MN} \sum_{u=0}^{M-1} \sum_{v=0}^{N-1} \frac{\omega_v^2}{(\omega_v^2 + \lambda\omega_u^2)^2}. \tag{13}$$

By minimizing the last expression it is possible to find the optimal λ. In the case of noise-free data, i.e. $\sigma_w = 0$, it is minimized for $\lambda = 0$ in agreement with the Eq. 5. For other cases, the value of Φ_{uv} and σ_w must be estimated for the minimization problem.

The noise standard deviation, σ_w, is extracted from an uniform region of the acquired partial derivative [30].

We propose to approximate Φ_{uv} as the result of Eq. 5. Then, after substituting in Eq. 13 we get

$$\langle MSE \rangle \approx \frac{1}{(MN)^2} \sum_{u=0}^{M-1} \sum_{v=0}^{N-1} \frac{(\lambda \omega_u^2 \omega_v)^2 \left|P_{uv}\right|^2}{(\omega_v^2 + \lambda \omega_u^2)^4} + \frac{\sigma_w}{MN} \sum_{u=0}^{M-1} \sum_{v=0}^{N-1} \frac{\omega_v^2}{(\omega_v^2 + \lambda \omega_u^2)^2}. \quad (14)$$

The optimization process to minimize Eq. 14 can be done with different well known optimization algorithms. In our case we use the Levenberg-Marquardt because of it simplicity, but the choice is specific to each application, and therefore, is beyond the scope of this work.

It is important to highlight that once the optimal value for λ is found, and assuming that the noise distribution remains unchanged, the following retrieved images can be calculated with the same λ from Eq. 5.

3. Results

In order to test the proposed method we analyzed two different sets of images. The first set consists of synthetic images, which serves as controlled data to evaluate the performance of the method under ideal conditions. The second set were obtained from a microscopic sample of cellular tissues using the technique proposed in [31]. These real-world samples were employed to assess the method's applicability and effectiveness in practical scenarios, reflecting the challenges and complexities often encountered in biological imaging applications.

3.1. Simulations

The proposed method was first validated using simulated data. A two dimensional gaussian function with unity amplitude and standard deviation

of 50 pixels was generated as a 200×200 pixels image (top left image in Fig. 1) and used as ground truth function. Its derivative was calculated analytically and additive gaussian noise with standard deviation (σ_w) of 0.008 d.u. was added in order to get a synthetic expression of p_{mn} with a signal to noise ratio (SNR) equal to 0.61 (top right image in Fig. 1).

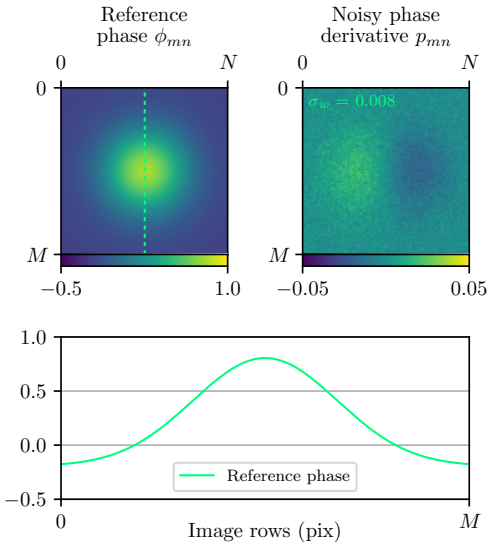


Figure 1: Reference function used for the simulations (top left), its noisy derivative (top right) and its profile along the green dashed line (bottom).

In Fig. 2 we show the integral of the p_{mn} array using Ec. (5) with $\lambda = 0$. Since the constrain term in Ec. (2) has a smoothness effect in the vertical direction, when eliminating this term by imposing $\lambda = 0$, it is possible to see horizontal stripes. Discontinuities are clearly present in the integrated function (top left), the error with respect to the ground truth function (top right), and within a line profile plot of the integrated function (bottom).

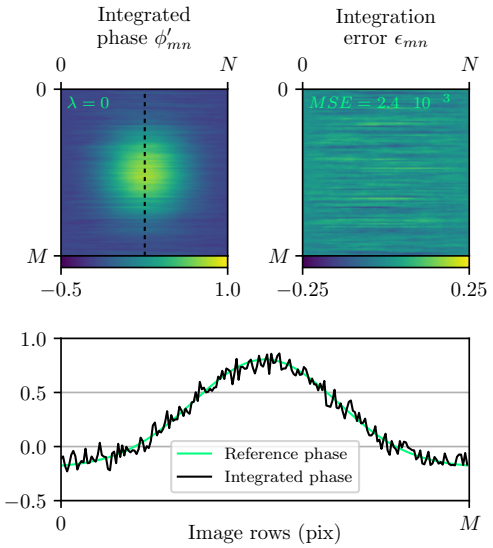


Figure 2: Integrated function using a null λ value (top left), its error compared to the reference function in Fig. 1 (top right) and its profile along the black dashed line (bottom).

In order to study how the quality of the integrated function varies with the selected parameter λ, the MSE between the integral result and the ground truth function was calculated for λ values from 0 to 0.02. Fig. 3 shows the results of the MSE with a minimum value of $\lambda = 0.0072$.

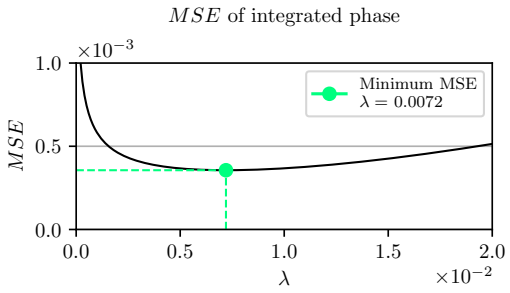


Figure 3: MSE of the integrated image as a function of the parameter λ. It shows a minimum for $\lambda = 0.0072$.

The next step is to calculate the optimal λ value according to the procedure described in the previous section. The minimization of the expression in Eq. 14 was performed using the Levenberg-Marquardt algorithm imple-

mented in the Python (Version 3.10) module Scipy (Version 1.11.1). The calculated value was $\lambda_{optimal} = 0.01$, representing a difference in the MSE compared with the minimum of 2.7%. This difference can be explained by the approximation taken to calculate the terms in Eq. 14.

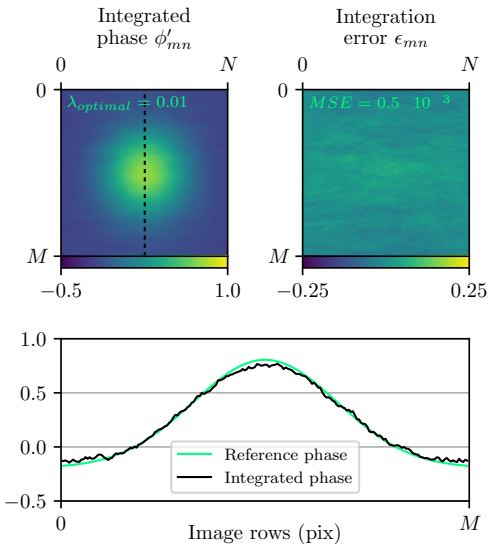


Figure 4: Integrated function using the optimal λ value (top left), its error compared to the reference function in Fig. 1 (top right) and its profile along the black dashed line (bottom).

The top left image of Fig. 4 shows the retrieved phase using the proposed method. It is noted that the obtained MSE in this case is considerably reduced compared with the one calculated by direct integration (Fig. 2).

3.2. Experimental results

A second test of the proposed integration method was performed working with data obtained experimentally. In particular, the work was carried out using images of cellular tissues acquired with the technique proposed in [31].

The partial derivative in the horizontal direction is shown in the top left image of Fig. 5. The top right of Fig. 5 shows the integral computed using $\lambda = 0.0058$. This value was found by minimizing Eq. 14. The noise standard deviation was extracted from a uniform section of the acquired derivative (green square in the top left of Fig. 5), getting a value of $\sigma_w = 0.14$ d.u..

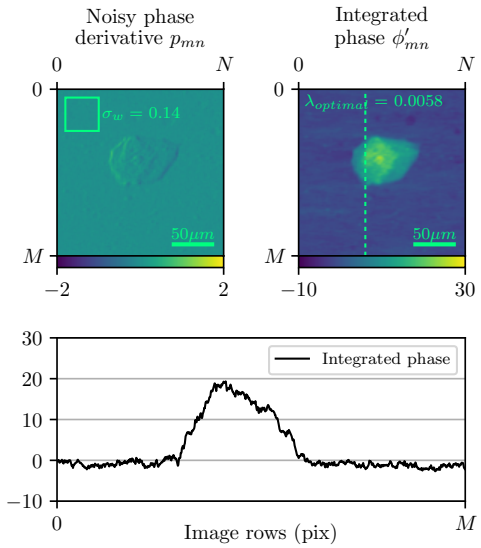


Figure 5: Partial derivative in the horizontal direction of cheek cells obtained by the technique proposed in [31] (top left image), its integration result with $\lambda = 0.0058$ (top right image) and its profile along the green dashed line (bottom plot). The green rectangle in the upper left image shows an uniform area where the standard deviation was calculated as an estimator of σ_w.

The reconstructed phase and the profile depicted in Fig. 5 are in agreement with the expected for the applied phase retrieval method [31, 32] when integrating using two partial derivatives.

4. Conclusion

In this work, we proposed an automatic and fast algorithm to determine the optimal regularization parameter for phase integration using one derivative. The presented reconstruction framework determines the regulation parameter by imposing an ℓ_2-norm to the retrieved phase error. The process eliminates the necessity for manual fine-tuning of the regularization parameter, automating the reconstruction process.

Even though the ℓ_1-norm has a better performance with respect to ℓ_2-norm over the edges of the samples, using the ℓ_2-norm allows us to calculate an analytical expression of the MSE for a fast optimization. With the same aim of reducing computational time the minimization of the error was computed in the Fourier domain.

When the test object and the acquisition method keeps unchanged, $\lambda_{optimal}$ remains constant for successive integrations.

In the present work we selected manually the region for estimating the noise standard deviation. It is noted that this step can be automatized, which will be investigated in a future work.

Acknowledgement

This work was funded by the Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC, Universidad de la República, Uruguay), Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas (PEDECIBA, Uruguay).

Disclosures

The authors declare no conflicts of interest.

References

[1] Y. Liu, S. Uttam, Perspective on quantitative phase imaging to improve precision cancer medicine., Journal of biomedical optics 29 (2024) S22705.

[2] Z. F. Phillips, M. Chen, L. Waller, Single-shot quantitative phase microscopy with color-multiplexed differential phase contrast (cdpc), PLOS ONE 12 (2) (2017) 1–14. doi:10.1371/journal.pone.0171228.
URL https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171228

[3] Y. Fan, J. Sun, Q. Chen, J. Zhang, C. Zuo, Wide-field anti-aliased quantitative differential phase contrast microscopy, Opt. Express 26 (19) (2018) 25129–25146. doi:10.1364/OE.26.025129.
URL https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-26-19-25129

[4] H. Kwon, E. Arbabi, S. M. Kamali, M. Faraji-Dana, A. Faraon, Single-shot quantitative phase gradient microscopy using a system of multifunctional metasurfaces, Nature Photonics 14 (2) (2020) 109–114. doi:10.1038/s41566-019-0536-x.
URL https://doi.org/10.1038/s41566-019-0536-x

[5] M. Bech, O. Bunk, T. Donath, R. Feidenhans'l, C. David, F. Pfeiffer, Quantitative x-ray dark-field computed tomography, Physics in Medicine and Biology 55 (18) (2010) 5529. doi:10.1088/0031-9155/55/18/017.
URL https://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/55/18/017

[6] S. Tao, T. Zonghan, L. Bai, Y. Xu, C. Kuang, X. Liu, Suppression of artifacts caused by phase errors and noises in x-ray phase computed tomography, IEEE Photonics Technology Letters PP (2023) 1–1. doi:10.1109/LPT.2023.3315844.

[7] S. Ettl, J. Kaminski, M. C. Knauer, G. Häusler, Shape reconstruction from gradient data, Appl. Opt. 47 (12) (2008) 2091–2097. doi:10.1364/AO.47.002091.
URL https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-47-12-2091

[8] P. de Groot, Principles of interference microscopy for the measurement of surface topography, Adv. Opt. Photon. 7 (1) (2015) 1–65. doi:10.1364/AOP.7.000001.
URL https://opg.optica.org/aop/abstract.cfm?URI=aop-7-1-1

[9] P. Bhat, B. Curless, M. Cohen, C. L. Zitnick, Fourier analysis of the 2d screened poisson equation for gradient domain problems, in: D. Forsyth, P. Torr, A. Zisserman (Eds.), Computer Vision – ECCV 2008, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2008, pp. 114–128.

[10] R. Legarda-Saenz, J. L. Flores, M. Servin, A. Martin-Gonzalez, Wavefront reconstruction of discontinuous phase objects from optical deflectometry, Appl. Opt. 62 (16) (2023) 4255–4261. doi:10.1364/AO.484377.
URL https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-62-16-4255

[11] M. Fernández Lakatos, G. A. Ayubi, N. Casaballe, J. A. Ferrari, E. Frins, Phase retrieval by amplifying the prism term of the transport of intensity equation with a sliding step function, Optik 271 (2022) 170120. doi:10.1016/j.ijleo.2022.170120.
URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003040262201378X

[12] G.-H. Chen, J. Zambelli, N. Bevins, Z. Qi, K. Li, X-ray phase sensitive imaging methods: basic physical principles and potential medical applications, Current Medical Imaging 6 (2) (2010) 90–99.

[13] P. P. Zhu, Z. Z. Zhu, Y. L. Hong, K. Zhang, W. X. Huang, Q. X. Yuan, X. J. Zhao, Z. Q. Ju, Z. Y. Wu, Z. Wei, S. Wiebe, L. D. Chapman, Common characteristics shared by different differential phase contrast imaging methods, Appl. Opt. 53 (5) (2014) 861–867. doi:10.1364/AO.53.000861.
URL https://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-53-5-861

[14] P. J. Withers, C. Bouman, S. Carmignato, V. Cnudde, D. Grimaldi, C. K. Hagen, E. Maire, M. Manley, A. Du Plessis, S. R. Stock, X-ray computed tomography, Nature Reviews Methods Primers 1 (1) (2021) 18. doi:10.1038/s43586-021-00015-4.
URL https://doi.org/10.1038/s43586-021-00015-4

[15] D. Malacara, Optical Shop Testing, Wiley Series in Pure and Applied Optics, Wiley, 2007.
URL https://books.google.com.mx/books?id=8sJcDwAAQBAJ

[16] Y. Quéau, J.-D. Durou, J.-F. Aujol, Normal integration: A survey (2017). arXiv:1709.05940.

[17] F. Pfeiffer, T. Weitkamp, O. Bunk, C. David, Phase retrieval and differential phase-contrast imaging with low-brilliance x-ray sources, Nature Physics 2 (4) (2006) 258–261. doi:10.1038/nphys265.
URL https://doi.org/10.1038/nphys265

[18] M. Engelhardt, J. Baumann, M. Schuster, C. Kottler, F. Pfeiffer, O. Bunk, C. David, High-resolution differential phase contrast imaging using a magnifying projection geometry with a microfocus x-ray source, Applied physics letters 90 (22). doi:10.1063/1.2743928.

[19] C. Kottler, C. David, F. Pfeiffer, O. Bunk, A two-directional approach for grating based differential phase contrast imaging using hard x-rays, Optics express 15 (3) (2007) 1175–1181.

[20] I. Zanette, T. Weitkamp, T. Donath, S. Rutishauser, C. David, Two-dimensional x-ray grating interferometer, Physical review letters 105 (24) (2010) 248102.

[21] J. I. Sperl, D. Bequé, G. P. Kudielka, K. Mahdi, P. M. Edic, C. Cozzini, A fourier-domain algorithm for total-variation regularized phase re-

trieval in differential x-ray phase contrast imaging, Optics express 22 (1) (2014) 450–462.

[22] T. Weitkamp, A. Diaz, B. Nohammer, F. Pfeiffer, T. Rohbeck, P. Cloetens, M. Stampanoni, C. David, Hard x-ray phase imaging and tomography with a grating interferometer, Proc SPIEdoi:10.1117/12.569643.

[23] T. Weitkamp, A. Diaz, C. David, F. Pfeiffer, M. Stampanoni, P. Cloetens, E. Ziegler, X-ray phase imaging with a grating interferometer, Opt. Express 13 (16) (2005) 6296–6304. doi:10.1364/OPEX.13.006296.
URL https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-13-16-6296

[24] F. Pfeiffer, C. Kottler, O. Bunk, C. David, Hard x-ray phase tomography with low-brilliance sources, Phys. Rev. Lett. 98 (2007) 108105. doi:10.1103/PhysRevLett.98.108105.
URL https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.98.108105

[25] T. Thüring, P. Modregger, B. R. Pinzer, Z. Wang, M. Stampanoni, Non-linear regularized phase retrieval for unidirectional x-ray differential phase contrast radiography, Optics express 19 (25) (2011) 25545–25558.

[26] J. M. D. Martino, J. L. Flores, F. Pfeiffer, K. Scherer, G. A. Ayubi, J. A. Ferrari, Phase retrieval from one partial derivative, Opt. Lett. 38 (22) (2013) 4813–4816. doi:10.1364/OL.38.004813.
URL https://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-38-22-4813

[27] Y. Wang, W. Huang, Q. He, Z. Zhu, J. Zhang, Q. Yuan, K. Zhang, P. Zhu, Adaptive weighted total variation regularized phase retrieval in differential phase-contrast imaging, Optical Engineering 57 (5) (2018) 053108–053108.

[28] M. Nilchian, Z. Wang, T. Thuering, M. Unser, M. Stampanoni, Spline based iterative phase retrieval algorithm for x-ray differential phase contrast radiography, Opt. Express 23 (8) (2015) 10631–10642. doi:10.1364/OE.23.010631.
URL https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-23-8-10631

[29] L. Massimi, I. Buchanan, A. Astolfo, M. Endrizzi, A. Olivo, Fast, non-iterative algorithm for quantitative integration of x-ray differential

phase-contrast images, Opt. Express 28 (26) (2020) 39677–39687. doi:10.1364/OE.405755.
URL https://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-28-26-39677

[30] R. C. Gonzalez, R. E. Woods, Digital image processing, J.: Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J., 2008.

[31] G. A. Ayubi, M. Fernández Lakatos, N. Casaballe, E. Frins, Common-path quantitative phase imaging by propagation through a sinusoidal intensity mask, Optics and Lasers in Engineering 171 (2023) 107805. doi:https://doi.org/10.1016/j.optlaseng.2023.107805.
URL https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143816623003342

[32] M. F. Lakatos, G. A. Ayubi, E. Frins, Integration with one partial derivative applied to quantitative phase imaging, in: Y. Liu, Y. Park (Eds.), Quantitative Phase Imaging X, Vol. 12852, International Society for Optics and Photonics, SPIE, 2024, p. 128520F. doi:10.1117/12.3000403.
URL https://doi.org/10.1117/12.3000403

7

INTERFEROMETRÍA DE UNA SOLA ADQUISICIÓN DE LOS MÉTODOS HILBERT Y TAKEDA CON UN PORTADOR LINEAL: UNA COMPARACIÓN

Dentro del amplio espectro de técnicas para la reconstrucción cuantitativa de fase, se incluyen métodos que demodulan la fase a partir de una sola imagen adquirida. La distribución de intensidad de la imagen adquirida se caracteriza por ser la suma de una constante y una función coseno cuyo argumento contiene un portador lineal espacial junto a la fase que se busca reconstruir, ver Ecs. 2.57 o 2.69. Dos de los métodos de demodulación más conocidos son el propuesto por Takeda et al. [93], ver Sec. 2.5, y aquellos basados en la transformada de Hilbert [34, 33, 125, 126], ver Sec. 2.5. Anteriormente se creía que éstos eran independientes, el artículo que se presenta a continuación muestra su equivalencia.

IOP Publishing Measurement Science and Technology
Meas. Sci. Technol. **35** (2024) 055006 (6pp) https://doi.org/10.1088/1361-6501/ad2254

Hilbert's and Takeda's single-shot interferometry with a linear-carrier: a comparison

José A Ferrari[1], Jorge L Flores[2,*], Matías Fernández Lakatos[1], Gastón A Ayubi[1,4], César D Perciante[3] and Erna Frins[1]

[1] Instituto de Física, Facultad de Ingeniería, UdelaR J. Herrera y Reissig 565, Montevideo, Uruguay
[2] Departamento de Ingenieria en Electro-Fotónica, Universidad de Guadalajara, Av. Revolución 1500, Guadalajara, Jalisco C.P. 44840, Mexico
[3] Departamento de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Católica de Uruguay, Av. 8 de Octubre 2738, Montevideo, Uruguay
[4] Byers Eye Institute, Stanford University, Palo Alto, CA 94303, United States of America

E-mail: jorgel.flores@academicos.udg.mx

Received 23 September 2023, revised 31 December 2023
Accepted for publication 24 January 2024
Published 8 February 2024

Abstract

The purpose of the present work is to compare single-shot phase-retrieval methods based on Hilbert's transform with Takeda's spatial linear-carrier method. In addition, we briefly discuss the so-called slightly-off-axis method that involves two interferograms as an efficient way to remove background illumination bias. After carefully analyzing the assumptions implicit in both approaches, we demonstrate that the Hilbert transform based method is completely identical to the 30 years old Takeda's interferometry with a spatial linear-carrier. Validation experiments are presented.

Keywords: interferometry, phase measurement, instrumentation, measurement, metrology, optical inspection

1. Introduction

Phase demodulation is a critical step in many applications. Some examples are the measurement of 3D shapes [1], optics shop testing that are applicable to optical components and systems [2] or the study of phase objects (transparent or quasi-transparent samples) with the aim of visualizing and quantifying gas flows, the study of x-ray images [3] and biological samples in microscopy [4]. In general, the phase is retrieved using phase-shift methods [2] or transform-based methods [5]. But, both methodologies involve a procedure to demodulate phase from sinusoidal intensity patterns and they are applicable in several areas like interferometry, deflectometry [6], optical profilometry, interferometric microscopy. Phase shift interferometry (PSI) is a well-established method for phase retrieval (see, for example [2]), and applications in deflectometry and 3D shape retrieval using fringe projection.

In general, the standard application of PSI techniques requires the acquisition of a temporal sequence of at least three interferograms with certain phase-steps between them. Thus, it is not practicable in dynamical situations involving fast phase changes. When the phase varies dynamically in time, the application of single-shot interferometric methods with a spatial linear carrier is more appropriate.

There are essentially two different approaches for dealing with interferograms with a linear-carrier; the classical approach proposed in 1982 by Takeda *et al* [5] and the modern approaches based on the Hilbert transform [7–17], e.g. the so-called Hilbert phase microscopy (HPM) proposed by Ikeda *et al* [7] with important applications in biomedical optics [7, 8, 11, 14]. Standard single-shot interferometry with a spatial linear-carrier is often referred to as off-axis interferometry, while two-shot interferometry based on the Hilbert transform

* Author to whom any correspondence should be addressed.

© 2024 IOP Publishing Ltd

is often referred to as slightly-off-axis interferometry (see e.g. [8], and [17] section 3).

In the last decade, some approaches have been proposed for implementation of the 2D Hilbert transform [18–21]. In both cases, 1D and 2D Hilbert transform, the accuracy depends mainly on the strategies implemented for the noise reduction (denoising), background removal, normalization of the intensity distribution and phase demodulation. However, the advantages of Hilbert transform over standard Fourier transform method can be clearly noticed if 2D Hilbert transform is considered. When the interferogram cross-correlation terms overlap with the auto-correlation term, the Fourier transform method introduces fringe-like errors into the estimated phase map. The 2D Hilbert spiral transform introduced by Larkin [18] is free of such limitations. It is a suitable approach, even in the case where cross-correlation and auto-correlation terms overlap (slightly off-axis interferograms) or where both conjugated object (cross-correlation) terms spectrally overlap to each other. However, 2D Hilbert transform requires to determine fringe orientation for phase demodulation, so it is not easy to get high accuracy when the noise is considerably high.

In addition, both the single-shot methods described above do not work well when the object beam contains a step-like discontinuity. Such cases have recently been handled from single-shot data using an optimization approach [22].

The purpose of the present work is to compare phase-retrieval methods based on Hilbert's transform with Takeda's spatial linear-carrier method. In sections 2–4, we summarize the basic concepts of interferometry with a linear-carrier and discuss their implicit hypothesis. In section 5 we compare both approaches analytically and experimentally.

2. Interferometry with a spatial linear-carrier

Consider an interferogram with a spatial linear-carrier in a given direction (arbitrarily called x-direction),

$$I(x,y) = I_{\mathrm{R}}(x,y) + I_{\mathrm{S}}(x,y) + 2\sqrt{I_{\mathrm{R}} I_{\mathrm{S}}}\cos\left[\phi(x,y) + qx\right], \tag{1}$$

where I_{R} and I_{S} are the reference and the sample irradiance distributions, respectively, q is the spatial angular frequency of the fringes (i.e. the frequency of the spatial carrier), and $\phi(x,y)$ is the phase to be retrieved.

The first step in both Hilbert and Takeda approaches is to remove the bias, $I_{\mathrm{R}}(x,y) + I_{\mathrm{S}}(x,y)$, and work with the interference term in equation (1),

$$u(x,y) \equiv 2\sqrt{I_{\mathrm{R}}(x,y) I_{\mathrm{S}}(x,y)}\cos\left[\phi(x,y) + qx\right].$$

In single-shot interferometry, the bias is removed using Fourier high-pass filtering. Often it is considered sufficient to assume that the frequency of the linear-carrier in x-direction, q, is much higher than the spatial frequencies involved in $I_{\mathrm{R}}(x,y)$ and $I_{\mathrm{S}}(x,y)$. However, this is not entirely true because the spatial frequencies of $\phi(x,y)$ are also involved, which is illustrated with the following example:

Suppose for example that $\phi(x,y) = A\cos(px)$, where A and p are constants. Then, using the Jacobi–Anger expansion, one obtains

$$\begin{aligned} u(x,y) &= 2\sqrt{I_{\mathrm{R}} I_{\mathrm{S}}}\cos\left[A\cos(px) + qx\right] \\ &= 2\sqrt{I_{\mathrm{R}} I_{\mathrm{S}}}\left[J_0(A) + 2\sum_{n=1}^{n=\infty} J_{2n}(A)\cos(2npx)\right]\cos(qx) \\ &\quad - 2\sqrt{I_{\mathrm{R}} I_{\mathrm{S}}}\left[2\sum_{n=1}^{n=\infty} J_{2n-1}(A)\sin((2n-1)px)\right]\sin(qx)\ , \end{aligned} \tag{2}$$

where J_n are the Bessel functions of first kind and nth-order.

The important point here is that $\cos(2npx)\cos(qx)$ and $\sin((2n-1)px)\sin(qx)$ generate terms of the form $\cos(2npx \pm qx)$ and $\cos[(2n-1)p \pm q)x]$. Thus, when q is of the same order that $2np$ and/or $(2n-1)p$ with n small, the Bessel functions $J_{2n}(A)$ (and $J_{2n-1}(A)$) will be not necessarily negligible. The corresponding terms in equation (2) will be low-frequency terms, so that they will be filtered out by the high-pass filtering operation. Thus, we conclude that the filtering operation would affect not only the bias but also the function $u(x)$. In other words, to isolate the interference term in equation (1), $u(x,y)$, it is necessary to assume that $\phi(x,y)$ also varies very slowly in comparison with qx, so that $J_{2n}(A)$ (and $J_{2n-1}(A)$) be negligible (which occurs for large n).

A point to be remarked is that the spatial frequencies in y-direction does not play any role in our deduction. Thus, eventually $\phi(x,y)$ could involve high spatial frequencies in y-direction, and in principle the method could be used to retrieve finer spatial details in y- than in x-direction. The bandwidth of $\phi(x,y)$ in all directions is bounded.

The two-shot slightly-off-axis interferometry will be briefly discussed in the appendix A.

3. Hilbert based interferometry

The second step in the Hilbert approach is to generate the complex analytic function $z(x,y)$ associated with the real function $u(x,y)$ which is defined as

$$z(x,y) = u(x,y) + i\frac{\mathrm{P.V.}}{\pi}\int_{-\infty}^{+\infty}\frac{u(x',y)}{x-x'}\mathrm{d}x', \tag{3}$$

where P.V. denotes the Cauchy principal-value. The second term on the right-side of equation (3) is the Hilbert transform, $H\{u\}$, of the function $u(x,y)$ along the x-direction,

$$H\{u\} = \frac{\mathrm{P.V.}}{\pi}\int_{-\infty}^{+\infty}\frac{u(x',y)}{x-x'}\mathrm{d}x'. \tag{4}$$

Now, Bedrosian's theorem (see appendix B) [23] states that given two functions, $f(x)$ and $g(x)$, if the Fourier transform $(F\{f\}(w))$ of $f(x)$ vanishes for spatial frequencies $|w| > a$ and

the Fourier transform ($F\{g\}(w)$) of $g(x)$ vanishes for $|w| < a$, where a is an arbitrary positive constant, then one has

$$H\{f(x)\,g(x)\} = f(x)\,H\{g(x)\}. \tag{5}$$

Generalized conditions for the product theorem are discussed by Nuttaal and Bedrosian [23, 24].

Using equation (5), it is easy to demonstrate that (see appendix B)

$$H\{u(x,y)\} = 2\sqrt{I_{\rm R}(x,y)\,I_{\rm S}(x,y)}\sin[\phi(x,y)+qx]. \tag{6}$$

Then, from equations (3)–(6) we get

$$\begin{aligned} z(x,y) &= 2\sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\{\cos[\phi(x,y)+qx]+i\sin[\phi(x,y)+qx]\} \\ &= 2\sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\exp[i(\phi(x,y)+qx)]. \end{aligned} \tag{7}$$

Finally, the phase is extracted from the expression

$$\phi(x,y) = \tan^{-1}\left\{\frac{{\rm Im}(z(x,y))}{{\rm Re}(z(x,y))}\right\} - qx \tag{8}$$

where Im and Re denote imaginary and real part, respectively.

Equivalently, we can write

$$\phi(x,y) = {\rm Im}(\ln z(x,y)) - qx \tag{8'}$$

which is also the expression used for phase-retrieval by Takeda *et al* [5], as we will show in the next section.

4. Implementation of Takeda's method

As discussed in section 3 for the Hilbert approach, the starting point of the Takeda approach is also the real function

$$\begin{aligned} u(x,y) &= 2\sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\cos[\phi(x,y)+qx] \\ &= \sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\{\exp[i(\phi(x,y)+qx)] \\ &\quad +\exp[-i(\phi(x,y)+qx)]\}. \end{aligned} \tag{9}$$

The next step consists in taking the Fourier transform of this last expression, which generates two convolutions

$$\begin{aligned} F\{u\}(w,y) = F\left\{\sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\right\} \,{}^{*}\, F\{\exp[i\phi(x,y)]\}(w+q) \\ +F\left\{\sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\right\} \,{}^{*}\, F\{\exp[-i\phi(x,y)]\}(w-q), \end{aligned} \tag{10}$$

where w is the spatial frequency in x-direction, $F\{u\}(w)$ denotes Fourier transform, and * denotes convolution. The following step of Takeda's method is to suppress the negative spatial frequencies (by filtering) and to isolate the expression involving positive frequencies,

$$F\left\{\sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\right\} * F\{\exp[i\phi(x,y)]\}(w+q).$$

Finally, by taking the inverse Fourier transform of this last expression, we recover the complex signal

$$z(x,y) = \sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\exp[i(\phi(x,y)+qx)], \tag{11}$$

and hence we conclude that the phase-retrieval algorithm is

$$\begin{aligned} \phi(x,y) &= \tan^{-1}\left\{\frac{{\rm Im}(z(x,y))}{{\rm Re}(z(x,y))}\right\} - qx \\ &= {\rm Im}(\ln z(x,y)) - qx, \end{aligned} \tag{12}$$

which is identical to the phase-retrieval algorithms, equations (8) and (8'), deduced for the Hilbert method.

An alternative procedure is to translate the spectrum by a quantity q on the frequency axis toward the origin, so that instead of equation (11) we recover a complex analytical signal—in turn, also a phase—without linear term,

$$z(x,y) = \sqrt{I_{\rm R}I_{\rm S}}\exp[i(\phi(x,y)]\,.$$

5. Comparison of both approaches

5.1. Mathematical analysis

As mentioned above, the first task of both approaches is to remove (to filter) the bias and to isolate the interference term $u(x,y)$ in equation (1). The basic assumptions about the spatial spectra, i.e. that the bandwidths involved in $I_{\rm R}(x,y)$, $I_{\rm S}(x,y)$ and $\phi(x,y)$ are lower than q, are the same for Hilbert's and Takeda's procedures.

The next step in both approaches is to generate the complex analytic signal, $z(x,y)$. In the Hilbert approach this is achieved by adding $u(x,y)$ and its Hilbert's transform multiplied by the complex unit (i); see equation (3).

By the standard implementation of Takeda's procedure, on the other hand, it is utilized the convolution theorem and a Fourier filtering to isolate the positive (or eventually negative) spatial frequencies. Thus, in principle, the procedures to generate the complex analytical signals look very different in both methods, but actually they are identical as we will demonstrate in the next.

Proof. The procedure for suppressing the negative spatial frequencies in equation (10) can be described as a multiplication of the Fourier transform $F\{u\}$ by a Heaviside's step in the frequency space. The Heaviside step (S) in the frequency space is defined as

$$S(w) \equiv \frac{1}{2}[1+{\rm sgn}(w)] = \begin{cases} 1 & \text{for } w > 0 \\ 0 & \text{for } w \leqslant 0 \end{cases} \tag{13}$$

where sgn$((x)$ denotes the sign-function, whose Fourier transform is $\frac{1}{i\pi x}$ (with the condition that the integrals involving its Fourier transform must be considered a Cauchy principal-value (P.V.)).

Recalling that $F^{-1}\{S(w)\}(x) = F\{S(w)\}(-x)$, we obtain

$$F^{-1}\{S(w)\}(x) = \frac{1}{2}\left[\delta(x) + \frac{i}{\pi x}\right], \tag{14}$$

where $\delta(x)$ $(=\delta(-x))$ is the Dirac delta.

Thus, the whole Takeda procedure consists in the following steps; (I) to take the Fourier transform of $u(x,y)$; (II)

to suppress negative frequencies; (III) to take the inverse Fourier transform. The correspondence between the mathematical operations and the different steps of the procedure can be schematically described as

$$\begin{array}{ll} \text{Operation:} & F^{-1}\{S\cdot F\{u\}\} \\ & \uparrow\ \ \uparrow\ \ \uparrow \\ \text{Step:} & \text{(III) (II) (I)}\,. \end{array}$$

Now, utilizing the convolution theorem, it results in

$$\begin{aligned} F^{-1}\{S\cdot F\{u\}\} &= F^{-1}\{S(w)\}(x) \ * \ F^{-1}\{F\{u\}\} \\ &= \frac{1}{2}\left[\delta(x)+\frac{i}{\pi x}\right] \ * \ u(x,y) \\ &= \left[u(x,y)+i\frac{\text{P.V.}}{\pi}\int_{-\infty}^{+\infty}\frac{u(x',y)}{x-x'}\mathrm{d}x'\right]/2 \\ &= z(x,y)/2\,. \end{aligned} \tag{15}$$

Hence we conclude that Takeda's procedure implicitly involves a Hilbert's transform of $u(x,y)$. And therefore, also the phase-retrieval algorithms, equations (8), (8') and (12), will be identical in both methods.

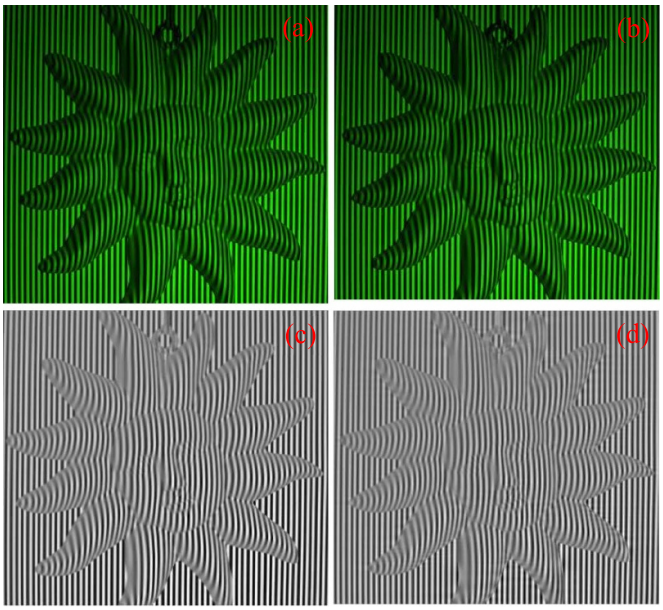


Figure 1. Intensity sinusoidal patterns: (a) and (b) were acquired by CCD camera, and (d) after removing the bias by the subtracting (a) and (b). Finally, the quadrature sinusoidal pattern retrieved by Hilbert transform from (c).

5.2. Experimental comparison

To illustrate an actual comparison we implemented an optical profilometry experiment as described in [25]. In particular, the experimental setup consisted of an eight-bit digital color camera (model DCU224C, Thorlabs) with 1280 × 1024 pixels of spatial resolution, and a commercial LCD-projector (model CP-RX80, Hitachi) with a spatial resolution of 1024 × 768 pixels. The projector and CCD camera were placed under a viewing angle of 13°. We generated sinusoidal patterns with 12 pixels of fringe pitch, and shifted them by π radians, i.e. we implemented the technique of slightly-off-axis interferometry. We color encoded these two fringe patterns into the green channel of two RGB images (I_1 and I_2). Then, we sequentially projected two RGB images using the projector and recorded each projection with the camera.

Thus, we removed the background illumination or DC term straightforwardly by subtracting $I_1 - I_2$, resulting in a similar equation (1)

$$u(x,y) = A\cos(\phi(x,y)+\delta)\,, \tag{16}$$

where A is the modulation of the fringe and δ is an arbitrary the phase shift. As a next step, we estimated the Hilbert transform of the pattern described by equation (16) and thus, we digitally synthetized a new quadrature sinusoidal pattern, which can be described as

$$u(x,y) = A\sin(\phi(x,y)+\delta)\,. \tag{17}$$

In this way, using the intensity patterns described by equations (16) and (17) as real and imaginary part, respectively, we synthetized a complex analytic function, $z(x,y)$, which was used to retrieve the wrapped phase as described by the equation (8). Additionally, the intensity pattern described by the equation (16) was used to calculate a new complex analytic function using Takeda method, $z(x,y)$, and then used to retrieve the wrapped phase by the equation (12). In figures 1(a) and (b) we observe the acquired fringe patterns shifted by π rads; figures 1(c) and (d) depicte the images of without DC pattern and the pattern estimated by Hilbert transform from pattern shown in figure 1(c), respectively.

Figures 2(a) and (b) depicte the wrapped phase calculated applying the Hilbert transform and Takeda method, respectively. In both cases, the phase maps look very similar. The retrieved phase map is corrupt by a spurious periodic undulation in the reference plane (see figure 2(a)), which is characteristic of a nonlinear response of the system. In figure 2(b), we cannot observe this artifact, but the lines defining the eyes were smoothed. This is due to the band pass filter. In particular, we applied a sixth-order band-pass Butterworth filter with a cut-off frequency of 45 pixels in the frequency domain. The differences observed in both phase maps have been described in the literature [9, 26]. In the last one, the authors found that when implementing the Takeda method, higher-order components that contain details of the sample are lost. Furthermore, Hilbert transform-based methods retain these higher frequency components, which can increase the quality of the retrieved phase distribution.

As we previously described, Takeda method is a frequency domain filter, and extracts the fundamental component with a suitable bandwidth. Therefore, the noise in this frequency band cannot be suppressed, which ultimately affects the retrieved phase precision. Furthermore, the Hilbert transform is equivalent to a filter, in which the amplitudes of the spectral

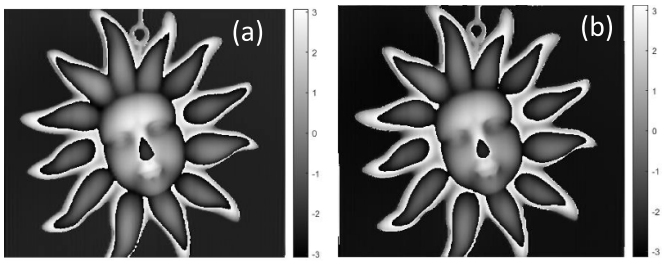


Figure 2. (a) Wrapped phase without the carrier retrieved by: (a) Hilbert transform and (b) Takeda method.

components remain unchanged and their phases are altered by $\pi/2$. Therefore, in the presence of uniform noise the recovered phase is affected even more than in Fourier methods.

6. Conclusions

We have demonstrated that single-shot Hilbert based methods (see e.g. HPM in [7]) are completely equivalent to the standard method proposed by Takeda *et al* [5], since it also utilizes a Hilbert transform $u(x,y)$, which is implicitly present in the convolution of the Heaviside step and $u(x,y)$. Therefore, it is important to clearly state that the method based on the Hilbert transform does not have any advantage with respect to the 30 years old Takeda's method.

Despite the above description, the advantages of Hilbert transform over standard Fourier transform method can be clearly noticed if 2D Hilbert transform is considered. We experimentally shown that both approaches retrieve very similar wrapped phase maps, which confirms the hypothesis that both techniques are identical. The main differences observed may be due to the sensitivity of each method to noise and the harmonic content in the fringe patterns used to estimate the phase wrapped.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available upon reasonable request from the authors.

Acknowledgments

The authors thank the financial support from Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas, Uruguay and Comisión Sectorial de Investigación Científica, UdelaR, Uruguay.

Appendix A. Two-shots slight-off-axis interferometry

Slightly-off-axis interferometry is a variant of the standard off-axis interferometry discussed in the present work, in which two interferograms, $I_1(x,y)$ and $I_2(x,y)$, are acquired with a certain phase difference between them. Therefore, strictly speaking the slightly-off-axis method is not actually single-shot since it involves two interferograms. The method is characterized by the fact that the bias is eliminated by working with the difference $I_2(x,y) - I_1(x,y)$, so that no constrains are imposed on the spectra of the reference and the sample irradiance distributions I_R and I_S.

A complex analytic function $z(x,y)$ associated with real function $I_2(x,y) - I_1(x,y)$, can be generated by making the substitution $u(x,y) \Leftrightarrow (I_2(x,y) - I_1(x,y))$ in equation (3). And thus, the imaginary part of the logarithm of $z(x,y)$ will be the phase we are looking for.

Appendix B. Bedrosian's theorem and quadrature function

In the present appendix we will deduce the expression shown in equation (6), that is the function in quadrature with the interference term $u(x,y)$.

It can be easily verified that for $q > 0$ one has following Hilbert transforms:

$$\begin{aligned} H\{\cos[qx]\} &= \sin[qx]\,; \\ H\{\sin[qx]\} &= -\cos[qx]\,. \end{aligned} \tag{B.1}$$

Under the hypothesis that the spatial frequencies (in x-direction) involved in $I_R(x,y)$, $I_S(x,y)$ and $\phi(x,y)$ are lower than q, we can apply Bedrosian's theorem [23, 24] with $f = 2\sqrt{I_R(x,y) I_S(x,y)}\cos[\phi(x,y)]$ and $g = \cos[qx]$.

From equation (5), we obtain

$$\begin{aligned} &H\left\{2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\cos[\phi(x,y)]\cos[qx]\right\} \\ &\quad = 2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\cos[\phi(x,y)]\,H\{\cos[qx]\} \\ &\quad = 2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\cos[\phi(x,y)]\,\sin[qx]\,. \end{aligned} \tag{B.2}$$

Similarly, applying equation (5) with $f = 2\sqrt{I_R(x,y) I_S(x,y)}\sin[\phi(x,y)]$ and $g = \sin[qx]$, one gets

$$\begin{aligned} &H\left\{2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\sin[\phi(x,y)]\sin[qx]\right\} \\ &\quad = 2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\sin[\phi(x,y)]\,H\{\sin[qx]\} \\ &\quad = -2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\sin[\phi(x,y)]\,\cos[qx]\,. \end{aligned} \tag{B.3}$$

Now, subtracting equations (B.2) and (B.3), we get

$$\begin{aligned} &H\left\{2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\,(\cos[\phi(x,y)]\cos[qx]\right. \\ &\qquad \left.-\sin[\phi(x,y)]\sin[qx])\right\} \\ &\quad = 2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\,(\cos[\phi(x,y)]\sin[qx] \\ &\qquad +\sin[\phi(x,y)]\cos[qx])\,. \end{aligned} \tag{B.4}$$

Hence one finally obtains equation (6):

$$\begin{aligned} H\{u(x,y)\} &= H\left\{2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\cos[\phi(x,y)+qx]\right\} \\ &= 2\sqrt{I_R(x,y)\,I_S(x,y)}\sin[\phi(x,y)+qx] \end{aligned} \tag{B.5}$$

ORCID iDs

José A Ferrari https://orcid.org/0000-0002-4042-3636
Jorge L Flores https://orcid.org/0000-0001-9946-9957
Matías Fernández Lakatos https://orcid.org/0000-0001-8269-6010
Erna Frins https://orcid.org/0000-0002-3733-9118

References

[1] Flores J L, Ferrari J A, Torales G G, Legarda-Saenz R and Silva A 2015 Color-fringe pattern profilometry using a generalized phase-shifting algorithm *Appl. Opt.* **54** 8827–34
[2] Malacara D 2007 *Optical Shop Testing* 3rd edn (Wiley) ch 14
[3] Weitkamp T, Diaz A, David C, Pfeiffer F, Stampanoni M, Cloetens P and Ziegler E 2005 X-ray phase imaging with a grating interferometer *Opt. Express* **13** 6296–304
[4] Popescu G, Deflores L P, Vaughan J C, Badizadegan K, Iwai H, Dasari R R and Feld M S 2004 Fourier phase microscopy for investigation of biological structures and dynamics *Opt. Lett.* **29** 2503–5
[5] Takeda M, Ina H and Kobayashi S 1982 Fourier-transform method of fringe-pattern analysis for computer-based topography and interferometry *J. Opt. Soc. Am.* **72** 156–60
[6] Flores J L, Bravo-Medina B and Ferrari J A 2013 One-frame two-dimensional deflectometry for phase retrieval by addition of orthogonal fringe patterns *Appl. Opt.* **52** 6537–42
[7] Ikeda T, Popescu G, Dasari R R and Feld M S 2005 Hilbert phase microscopy for investigating fast dynamics in transparent systems *Opt. Lett.* **30** 1165–7
[8] Xue L, Lai J, Wang S and Li Z 2011 Single-shot slightly-off-axis interferometry based Hilbert phase microscopy of red blood cells *Biomed. Opt. Express* **2** 987–95
[9] Wang S, Xue L, Lai J and Li Z 2013 An improved phase retrieval method based on Hilbert transform in interferometric microscopy *Optik* **124** 1897–901
[10] Popescu G, Dasari R, Feld M and Ikeda T 2019 System and method for Hilbert phase imaging *US Patent* 10256262
[11] Popescu G, Ikeda T, Best C A, Badizadegan K, Dasari R R and Feld M S 2005 Erythrocyte structure and dynamics quantified by Hilbert phase microscopy *J. Biomed. Opt.* **10** 060503
[12] Lue N, Bewersdorf J, Lessard M D, Badizadegan K, Dasari R R, Feld M S and Popescu G 2007 Tissue refractometry using Hilbert phase microscopy *Opt. Lett.* **32** 3522–4
[13] Bhaduri B, Pham H, Mir M and Popescu G 2012 Diffraction phase microscopy with white light *Opt. Lett.* **37** 1094–6
[14] Lue N, Choi W, Popescu G, Yaqoob Z, Badizadegan K, Dasari R R and Feld M S 2009 Live cell refractometry using Hilbert phase microscopy and confocal reflectance microscopy *J. Phys. Chem.* A **113** 13327–30
[15] Wang Y W, Xu Y Y, Zhu X L, Jiang S W, Chen Y J, Shang X F, Jin W F, Lv C H, Bu M and Chen Y Z 2012 Phase microscopy method of micro-nano sized bubbles based on Hilbert phase microscopy (HPM) *Adv. Mater. Res.* **586** 316–21
[16] Kumar P, Mohan N and Kothiyal M 2011 Characterization of micro-lenses based on single interferogram analysis using Hilbert transformation *Opt. Commun.* **284** 5084–92
[17] Shaked N T, Zhu Y, Rinehart M T and Wax A 2009 Two-step-only phase-shifting interferometry with optimized detector bandwidth for microscopy of live cells *Opt. Express* **17** 15585–91
[18] Larkin K G, Bone D J and Oldfield M A 2001 Natural demodulation of two-dimensional fringe patterns. I. General background of the spiral phase quadrature transform *J. Opt. Soc. Am.* A **18** 1862–70
[19] Yang X, Yu Q and Fu S 2007 A combined method for obtaining fringe orientations of ESPI *Opt. Commun.* **273** 60–66
[20] Trusiak M, Mico V, Garcia J and Patorski K 2016 Quantitative phase imaging by single-shot Hilbert–Huang phase microscopy *Opt. Lett.* **41** 4344–7
[21] Wielgus M and Patorski K 2011 Evaluation of amplitude encoded fringe patterns using the bidimensional empirical mode decomposition and the 2D Hilbert transform generalizations *Appl. Opt.* **50** 5513–23
[22] Baek Y, Lee K, Shin S and Park Y 2019 Kramers–Kronig holographic imaging for high-space-bandwidth product *Optica* **6** 45–51
[23] Bedrosian E 1963 A product theorem for Hilbert transforms *Proc. IEEE* **51** 868–9
[24] Nuttall A H and Bedrosian E 1966 On the quadrature approximation to the Hilbert transform of modulated signals *Proc. IEEE* **54** 1458–9
[25] Silva A, Flores J L, Muñoz A, Ayubi G A and Ferrari J A 2017 Three-dimensional shape profiling by out-of-focus projection of colored pulse width modulation fringe patterns *Appl. Opt.* **56** 5198–203
[26] Wang S, Yan K, Sun N, Tian X, Yu W, Li Y, Sun A and Xue L 2016 Unwrapping free Hilbert transform-based phase retrieval method in quantitative interferometric microscopy *Opt. Eng.* **55** 113105

8

CONCLUSIONES

En la presente tesis se realizaron varios aportes científicos relevantes con el objetivo de mejorar la visualización y cuantificación de la fase para caracterizar objetos transparentes o semitransparentes. Se propusieron nuevos métodos y algoritmos para la recuperación de la fase, se verificaron experimentalmente y se realizaron simulaciones para una mejor validación de la teoría. Si bien se tiene como objetivo la aplicación en microscopía, los experimentos en esta tesis no se limitaron a aplicaciones en esta área.

Se desarrollaron dos métodos innovadores de reconstrucción cuantitativa de la fase mediante la adquisición de sus derivadas parciales [1, 2]. También se desarrollaron dos trabajos que integran la fase a partir de una sola derivada. El primero, publicado y presentado en el congreso SPIE Photonics West BiOS [3], y el segundo fue enviado recientemente para evaluar a una revista científica arbitrada [4]. A su vez, se incluye en la tesis un artículo en donde se prueba la equivalencia entre dos métodos que antes se suponían independientes [5].

En el primero de los métodos de reconstrucción de fase cuantitativa, descrito en el Cap. 3, se emplea un enfoque diferente de la ecuación de transporte de intensidad (TIE) al adquirir el término asociado al gradiente de la fase. Este método destaca por la simplicidad de los elementos ópticos utilizados, haciéndolo especialmente robusto para aplicaciones con rayos X, donde la generación de una máscara con una estructura tipo escalón resulta muy sencilla. Aunque se ha demostrado la efectividad del método, aún existen aspectos por mejorar, como la velocidad entre adquisiciones sucesivas, donde una máscara con un mayor número de escalones podría contribuir a este propósito. Actualmente, hay investigaciones en curso que están explorando esta idea [127].

De las discusiones generadas con el fin de mejorar la calidad de la reconstrucciones del primer trabajo surge el segundo método de reconstrucción cuantitativa de fase, descrito en el Cap. 4. El mismo mejora significativamente el tiempo entre reconstrucciones sucesivas, no presenta efectos tipo halo y permite la reconstrucción adquiriendo el PO en foco, lo que a su vez aumenta la resolución espacial en las mismas condiciones. El montaje experimental es compatible con su incorporación a un microscopio comercial. Este método llega a tiempos de reconstrucción de la fase similares a los métodos actuales más empleados, necesitando ocho imágenes para este fin. Existen métodos que logran reducir la cantidad de imágenes necesarias a expensas de reducir la resolución espacial (CGM, TIE), poseer ruido tipo speckle debido al uso de luz coherente (DHM, PSI) o presentar una sensibilidad no deseada debido a la máscara utilizada generando estructuras

espaciales que repercuten en la veracidad de la reconstrucción cuantitativa de la fase (DPM, FPM, SLIM). En nuestro método, estos problemas no están presentes.

Con la finalidad de reducir el tiempo entre reconstrucciones sucesivas, se combinaron dos enfoques: el abordado en el Cap. 4 y la aproximación de mínimos cuadrados con un regularizador para la integración, utilizando solo una derivada [111]. En dicho trabajo, el parámetro de regularización se determinó calibrando el sistema utilizando ambas derivadas. Este enfoque condujo a un estudio que demostró la viabilidad de reconstruir la fase utilizando únicamente una derivada con una pérdida marginal de la calidad [3], descrito en el Cap. 5.

Con el objetivo de eliminar la necesidad de adquirir ambas derivadas durante el proceso de calibración, se desarrolló un método innovador que permite calcular el parámetro de regularización modelando el ruido como ruido aditivo, y extrayendo esta información a partir de tan solo una derivada parcial de la fase. Los resultados, descritos en el Cap. 6, fueron satisfactorios tanto a nivel de simulación como en la aplicación a microscopía.

Finalmente, en el Cap. 7, se demuestra la equivalencia entre los métodos de Takeda [93] y Hilbert [34, 125, 128, 28, 29]. Métodos que hasta el momento se tomaban como independientes.

Todavía no se ha establecido un método definitivo para la reconstrucción de fase cuantitativa, y la demanda de esta información está en constante aumento en diversas áreas científicas y aplicaciones tecnológicas. En el campo de la microscopía, junto al avance médico y farmacológico, se incrementa la necesidad de un método no invasivo que sea eficaz al cuantificar la fase. A su vez, dependiendo de la aplicación, este método debe combinar cualidades como una buena resolución espacial o un corto tiempo entre reconstrucciones. Por estas razones, es importante llevar a cabo un estudio cuantitativo de los objetos de fase, y esta tesis representa un avance significativo tanto en la diversidad de enfoques, al introducir dos nuevos métodos al área, como en la profundización de uno de ellos generando un método aplicable a cualquier técnica que adquiera las derivadas de la fase de forma independiente para su posterior integración.

8.1 TRABAJOS FUTUROS Y DESAFÍOS

Del nuevo método analizado en el Cap. 4 se visualiza la necesidad de hacer un estudio exhaustivo sobre el impacto que tiene la selección de la distancia entre el PO y la máscara, así como la frecuencia a emplear en dicha máscara sinusoidal. Aunque comprendemos la relevancia de estos dos parámetros, en conjunto con el perfil del PO bajo examen, consideramos que es necesario profundizar en los algoritmos de desplazamiento de fase para dilucidar estas ideas.

Otro aspecto a estudiar es la posibilidad de adquirir las cuatro imágenes necesarias para una derivada parcial de la fase en forma simultánea utilizando luz polarizada. De lograrlo, junto a la técnica para integrar a partir de una sola derivada, podríamos estar reconstruyendo la fase con tan solo una adquisición.

En última instancia, aspiramos a aplicar este método para la reconstrucción tridimensional de un PO. Esta es un área de estudio que ha emergido en los últimos años y que presenta un futuro prometedor.

En un área de avances constantes y con una gran cantidad de aplicaciones en cuestiones médicas, farmacológicas, biológicas, ingenieriles, etc. es importante un entendimiento a nivel nacional que permita eventualmente materializar estos conceptos en aspectos que nos den una mayor independencia tecnológica. Creo que este trabajo avanza en esa dirección.

A

MATERIAL ADICIONAL SOBRE: RECUPERACIÓN DE LA FASE MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN DEL TÉRMINO PRISMA DE LA ECUACIÓN DE TRANSPORTE DE INTENSIDAD CON UNA FUNCIÓN ESCALÓN DESLIZANTE

En este apéndice se incluyen algunos cálculos, aproximaciones y métodos necesarios al procesar los datos para el artículo correspondiente. Los detalles para la obtención de la escala transversal de la imagen reconstruida pueden ser apreciados en la Sec. A.1. Las ecuaciones (5) y (6) fueron desarrolladas en la Sec. A.2. Finalmente, el método de interpolación utilizado fue explicado en la Sec. A.3 junto con algunas apreciaciones al respecto sobre la necesidad de su uso.

A.1 ESCALA TRANSVERSAL

Para obtener las dimensiones de la muestra adquirida, es necesario saber cuánto vale la distancia entre píxeles consecutivos y cómo se vincula esta distancia con la de la muestra siendo estudiada. En otras palabras, es necesario saber la dimensión de los píxeles y la magnificación del sistema óptico. La cámara tiene un tamaño de píxel cuadrado, o pitch, de $4.65\mu m$, y se supone que la distancia entre ellos es despreciable. A su vez, se sabe que la magnificación de un sistema óptico $4f$ es de $m = \frac{f_2}{f_1}$, ver Sec. 2.3.6, siendo $f_2 = 20cm$ la distancia focal de la segunda lente, L_2, y $f_1 = 25cm$ la de la primera, L_1, ver Fig. 3.1. Mediante esta relación se obtiene el valor x_m, equivalente a cuánto vale en la muestra la distancia entre píxeles de la cámara,

$$x_m = \frac{20cm}{25cm} 4.65\mu m = 3.72\mu m. \tag{A.1}$$

A.2 MÁS SOBRE FUNDAMENTO TEÓRICO

En esta sección se detallan algunas ecuaciones utilizadas en el artículo. Se parte de la Ec. 2.56, vista en la Sec. 2.3.9, que expresa la TIE bajo diferencias finitas

$$I(x,y,z+\Delta z) \approx I(x,y,z) - \frac{\Delta z}{k}\Big(\nabla I \cdot \nabla\phi + I\nabla^2\phi\Big). \tag{A.2}$$

A.2.1 *Montaje con Objeto de Fase y Máscara Uniforme*

Cuando la máscara desplegada en el LCD es uniforme se adquiere la intensidad del PO desenfocada dada por

$$I_1 \approx I_{PO} - \frac{\Delta z}{k}\Big(\nabla I_{PO}\cdot\nabla\phi + I_{PO}\nabla^2\phi\Big). \tag{A.3}$$

De contar con un PO con poca variación en la intensidad absorbida se cumplirá que $\nabla I_{PO} \approx 0$. Para PO puros, este término sería estrictamente cero. En este trabajo se utiliza la siguiente aproximación

$$I_1 \approx I_{PO}. \tag{A.4}$$

Esta es la ecuación que utilizaremos para normalizar las imágenes con PO. Para normalizar las ecuaciones sin el PO se procede de forma análoga, sin la necesidad de utilizar aproximaciones.

A.2.2 *Montaje con Objeto de Fase y Máscara Con Escalón Desenfocado*

El sensor de la cámara está a una distancia $\Delta z \approx 0.001m$ del plano imagen, mientras que la imagen de la máscara se encuentra a una distancia $\Delta z' \approx 0.035m$. La máscara desplegada en el LCD es binaria pudiendo ser representada por una función escalón de Heaviside. Al estar desenfocada una distancia $\Delta z'$, se pierde información de altas frecuencias, por lo que la máscara binaria desenfocada puede ser representada mediante una función sigmoide, I_M (ver subfiguras Figs. 2 b y c, así como las Figs. 4 c y d del correspondiente artículo).

La Ec. (3) del correspondiente artículo se obtiene al expandir la Ec. A.3 habiendo sustituido previamente la intensidad que resulta de la superposición del PO junto con la intensidad de la máscara desenfocada, es decir, $I = I_{PO}I_M$,

$$I(x,y,z+\Delta z) \approx I_{PO}I_M - \frac{\Delta z}{k}\left((\nabla I_{PO}I_M + I_{PO}\nabla I_M)\cdot\nabla\phi + I_{PO}I_M\nabla^2\phi\right). \tag{A.5}$$

Se considera el caso donde la máscara se desplaza en la dirección x. Se adquiere un conjunto de $N = 200$ imágenes del PO con la superposición de la máscara, $I^+_{M,i}$, desplazándose en la dirección x. A cada una de estas adquisiciones se las nombra como $I(x,y,z+\Delta z) = I_{x,i}$. La máscara preserva su forma desplazándose con intervalos de un píxel. Cada imagen adquirida en este caso cumple

$$I_{x,i} \approx I_{PO}I^+_{M,i} - \frac{\Delta z}{k}\left((\nabla I_{PO}I^+_{M,i} + I_{PO}\nabla I^+_{M,i})\cdot\nabla\phi + I_{PO}I^+_{M,i}\nabla^2\phi\right). \tag{A.6}$$

Es útil reescribir la Ec. A.6 de la siguiente manera

$$I_{x,i} \approx I^{+}_{M,i}\left[I_{PO} - \frac{\Delta z}{k}\left(\nabla I_{PO} + I_{PO}\nabla^2\phi\right)\right] - \frac{\Delta z}{k} I_{PO}\nabla I^{+}_{M,i}\cdot\nabla\phi. \tag{A.7}$$

Se escanea la muestra de forma análoga pero con la máscara invertida, denominada $I^{-}_{M,i}$. En relación con el primer término del lado derecho de la ecuación A.7, que es multiplicado por la intensidad $I^{+}_{M,i}$, no experimenta cambios al adquirir la correspondiente imagen con la máscara invertida, $I^{-}_{M,i}$. Aunque la operación $I^{+}_{M,i} - I^{-}_{M,i}$ no se anula en cada punto de la imagen, sí lo hará en la región donde la máscara exhiba el mayor módulo del gradiente. Esta observación es importante, ya que luego se procede a extraer de cada imagen, $I_{x,i}$, una franja con un grosor de 1 píxel de la región donde la máscara presenta el gradiente de mayor módulo con el objetivo de generar la imagen sintética I^{+}_{x}. Este proceso se repite con la imagen negativa de la máscara, $I^{-}_{M,i}$, para adquirir las imágenes $I^{-}_{x,i}$. Por lo tanto, al restar las imágenes sintéticas I^{+}_{x} con I^{-}_{x}, este término se anulará.

Debido a que la posición de la máscara no cambia para los casos con y sin PO, la posición donde se extrae la región para formar la imagen sintética se caracteriza utilizando los datos del escaneo sin PO.

Finalmente, se puede observar que en la región extraída se cumple $\nabla I^{+}_{M,i} = -\nabla I^{+}_{M,i}$. En particular, $\partial_x I^{+}_{M,i} = -\partial_x I^{+}_{M,i} =$ constante. De esta forma se obtiene la Ec. (6) del presente artículo

$$I^{+}_{x} - I^{-}_{x} \approx -\frac{2\Delta z}{k} I_{PO}\left.\frac{\partial I_M}{\partial x}\right|_{x^*}\frac{\partial\phi}{\partial x}, \tag{A.8}$$

con x^* / $\partial_x I_M(x^*) = \text{máx}\left\{|\partial_x I_M(x)|\right\} =$ constante.

A.3 INTERPOLACIÓN

En el sistema óptico utilizado, un corrimiento de un píxel en el LCD no corresponde a un corrimiento equivalente en la cámara. Para este caso, se observa que las franjas extraídas para generar las imágenes sintéticas distan entre sí un valor de 5 píxeles en promedio. Para obtener los valores intermedios se realiza una interpolación lineal. Sea x^k y x^{k+1} las posiciones del segmento de 1 píxel extraído de las imágenes I_k e I_{k+1}ésima, respectivamente, e i un entero tal que $x^k < i < x^{k+1}$ entonces el valor de la región reconstruida, $I_{Rec}[i,j]$, cumple

$$I_{Rec}[i,:] = \frac{I_k[x^k,:](-i+x^{k+1}) + I_{k+1}[x^{k+1},:](i-x^k)}{x^{k+1}-x^k}. \tag{A.9}$$

Se procede de forma análoga para la reconstrucción de las imágenes asociadas al escaneo vertical.

Los métodos de interpolación tienen el efecto no deseado de suavizar la imagen al eliminar las variaciones ocurridas entre las regiones utilizadas para interpolar. Una solución posible se logra modificando el dispositivo que despliega la máscara binaria de forma tal que los

desplazamientos de dicha máscara sean menores. Si bien en este experimento la magnificación cumple $m = \frac{f_2}{f_1} < 1$, esperando que un desplazamiento correspondiente a un píxel en el LCD sea menor al equivalente en la cámara, el tamaño del mismo es de $p_{LCD} = 32\mu m$ mientras que el de la cámara es $p_{cam} = 4.65\mu m$. Por lo tanto, un corrimiento en el LCD de 1 píxel equivale en la cámara a un corrimiento en píxeles dado por

$$\text{corrimiento} = m\frac{p_{LCD}}{p_{cam}} \approx 5.5, \tag{A.10}$$

coincidiendo con lo observado. Este corrimiento implica que el suavizado se realiza para puntos separados una distancia aproximada de $0.025mm$, restringiendo la resolución levemente. Si se desea solucionar este problema, se puede utilizar un LCD con un tamaño de píxel cinco veces inferior o modificar la magnificación del sistema óptico $4f$.

B

MATERIAL ADICIONAL SOBRE:IMAGENOLOGÍA DE FASE CUANTITATIVA DE TRAYECTORIA COMÚN MEDIANTE LA PROPAGACIÓN A TRAVÉS DE UNA MÁSCARA SINUSOIDAL DE INTENSIDAD

En este apéndice se incluyen algunas nociones y propiedades que expanden la información presentada tanto en el artículo como en el Cap. 4. En la Sec. B.1 es detallada una interpretación geométrica de la ecuación que describe la intensidad adquirida al proyectar una imagen sinusoidal en presencia de un PO. En la Sec. B.2 se presentan algunas consideraciones a tomar en cuenta respecto a la máscara sinusoidal desplegada en el LCD. Finalmente, algunas propiedades utilizadas en el desarrollo del fundamento teórico son explicitadas en la Sec. B.3.

B.1 INTERPRETACIÓN GEOMÉTRICA DE LA EC. (9)

Se puede buscar una descripción más intuitiva utilizando la óptica geométrica. El ángulo de desviación, β (ver Fig. 2.1), de la onda electromagnética depende del gradiente del índice de refracción, n, ver Sec. 2.3.1. A su vez, debido a la relación entre la fase y el camino óptico, se tiene que

$$n = \frac{\lambda_0}{2\pi t}\phi, \tag{B.1}$$

donde t es el espesor de la muestra. Utilizamos un modelo sencillo en donde se asume que el espesor de la muestra permanece constante. De esta forma, se puede deducir que el ángulo desviado es proporcional al gradiente de la fase. Al utilizar la aproximación paraxial, es decir ángulos de desviación pequeños, se tiene

$$\vec{\beta} \propto \nabla\phi, \tag{B.2}$$

siendo $\vec{\beta} = (\beta_x, \beta_y)$.

El punto p de la Fig. 2.1, dado por $I_0(r)$, tiene su imagen en la cámara (CCD) siendo modulado por la intensidad de la máscara, I_M, en un punto desplazado de $\vec{r}$ por un valor de $\text{sen}(|\vec{\beta}|)\Delta z \approx |\vec{\beta}|\Delta z$. Por lo tanto, en la cámara se obtiene

$$I(\vec{r}) = I_0(\vec{r}) I_M(\vec{r} + \Delta z \vec{\beta}). \tag{B.3}$$

El término de la máscara puede ser aproximado hasta primer orden,

$$I(\vec{r}) = I_0(\vec{r}) (I_M(\vec{r}) + \Delta z \vec{\beta} \cdot \nabla I_M) \tag{B.4}$$

Como $\vec{\beta} = \mathrm{C} \nabla \phi$, con C una constante,

$$I(\vec{r}) = I_0(\vec{r}) (I_M(\vec{r}) + \mathrm{C} \Delta z \nabla \phi \cdot \nabla I_M). \tag{B.5}$$

La Ec. B.5 es muy similar a la Ec. (9) del artículo. La diferencia entre ambas radica en el término I_M, en este caso I_M refiere a la máscara sin propagar.

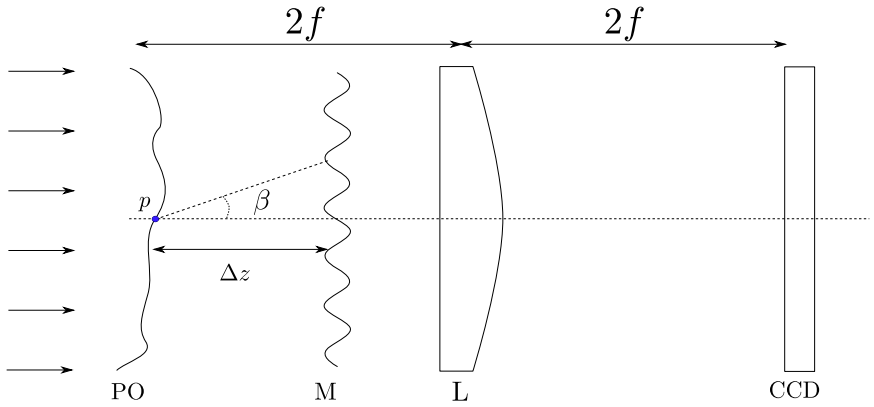


Figura 2.1: Diagrama utilizado para describir la interpretación geométrica de la Ec. (9) del presente artículo.

B.2 ELABORACIÓN Y DISPOSICIÓN DE LAS MÁSCARAS SINUSOIDALES DISCRETAS

En esta sección se presentan algunas consideraciones a tomar en cuenta al representar una sinusoide de forma discreta en un LCD.

B.2.1 *Distancia Respecto al Objeto de Fase*

La máscara en intensidad debe ser colocada una distancia Δz del PO, como es explicitado en la teoría. Al ser la sinusoide desplegada sobre un LCD se debe generar una versión discreta de la misma contemplando las dimensiones del LCD. Como resultado, entre píxeles contiguos se tienen saltos discretos de intensidad. Debido a que la propagación de un campo actúa como un filtro pasa bajo en frecuencia, a medida que se propague la imagen de la máscara los cambios de alta frecuencia entre estos saltos se irán atenuando. A su vez, se sabe que una sinusoide mantiene la frecuencia y disminuye su contraste al propagarse.

B.2.2 *Restricción de Frecuencias*

Para la elección de la frecuencia es necesario tomar en cuenta la grilla en la cual se despliega, conformada por los píxeles del LCD. Se impone que el período de la sinusoide coincida con un número entero de píxeles. A su vez, se impone que el período sea divisible entre la cantidad de pasos del algoritmo de desplazamiento de fase, en este caso de cuatro pasos. Por lo tanto, los posibles períodos medidos en número de píxeles cumplen $T_n = 4n$ con $n = 1,2,3\ldots$.

B.2.3 *Contraste de la Sinusoide y Ajuste Automático*

Al observar la respuesta del LCD2, ver Fig. 4.6, se puede lograr una mejor representación de una sinusoide en un rango menor del rango dinámico, donde la respuesta es más lineal, con la contraparte de tener menor contraste.

Un aspecto que se observa al trabajar con el LCD2 es que realiza un ajuste automático de contraste llevando el mínimo a 0 y el máximo a 255. Para eliminar este problema, y poder trabajar con el contraste deseado, se impone sobre la esquina superior izquierda de las máscaras desplegadas en el LCD2 unos pocos píxeles fijos con el valor 0 y 255. Esta esquina superior se encuentra fuera del área de trabajo, sin interferir en las medidas adquiridas.

B.3 PROPIEDADES UTILIZADAS

- Propiedad de la transformada de Fourier de una convolución:

$$\mathscr{F}\{g*h\} = \mathscr{F}\{g\}\mathscr{F}\{h\}, \tag{B.6}$$

  o

$$g*h = \mathscr{F}^{-1}\{\mathscr{F}\{g\}\mathscr{F}\{h\}\}. \tag{B.7}$$

- Convolución de una función g con una función delta, δ:

$$g(n)*\delta(n-n_0) = g(n-n_0). \tag{B.8}$$

- Traslación en la variable transformada:

$$\mathscr{F}^{-1}\{\mathscr{F}\{g(\vec{r})\}(\vec{f}-n\vec{f}_0)\} = g(\vec{r})\mathrm{e}^{2\pi jn\vec{f}_0\cdot\vec{r}}. \tag{B.9}$$

- Propiedad trigonométrica de la suma de ángulos en la forma de "suma a producto":

$$a\cos(x) + b\,\mathrm{sen}(x) = c\cos(x+\eta), \tag{B.10}$$

  con $c = \sqrt{a^2+b^2}$ y $\eta = \arctan(-b/a)$.

C

MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

En este apéndice se incluyen algunos consejos e ideas para quienes estén en proceso de aprendizaje. En la Sec. C.1 se explica un método posible para alinear los elementos ópticos utilizados en el presente trabajo. Los detalles de un método alternativo al trabajado en el Apéndice A.1 para obtener la escala transversal de la imagen reconstruida son explicados en la Sec. C.2. En la Sec. C.3 se presentan algunos consejos para tratar con la bibliografía.

C.1 ALINEACIÓN

C.1.1 *Lentes y LCD*

En la mesa se coloca sobre un extremo de la misma un láser con el único fin de calibrar. Se debe intentar que el eje óptico coincida con algún elemento físico, por ejemplo, los agujeros de la mesa óptica. El láser es direccionado para que esté siempre a la misma altura. Para ello se puede medir el haz a la salida y al fin de la mesa óptica, éstos deben estar a la misma altura respecto a la mesa. Se debe recordar que esta altura va a coincidir con la del centro de los elementos ópticos.

Se coloca en el extremo opuesto al láser, la fuente LED colimada con un diafragma tal que ambos centros coincidan. Con el láser apagado, se verifica que el haz del LED, combinado con el diafragma cerrado de forma tal que deje pasar un poco de luz, se mantenga a la misma altura e incida sobre el láser. El haz proveniente del LED debe incidir de forma perpendicular al diafragma.

Se debe tener un esbozo del esquema experimental junto con las distancias correspondientes de los elementos ópticos. Se coloca una de las dos lentes a utilizar, en un lugar acorde al esquema, de forma tal que el láser incida en el centro del mismo y el haz del LED (calibrado acordemente el diafragma que tiene a la salida) tenga el mismo radio que dicha lente. Se debe tomar en cuenta que la parte curva de la lente debe apuntar al lado con convergencia más distante. Por ejemplo, en el sistema óptico $4f$, ambas lentes deben tener la parte plana enfrentadas las unas a las otras.

Una vez que se tenga la altura correcta, se pasa a alinear la inclinación horizontal observando los reflejos que produce la lente. Éstos deben ser simétricos con respecto al eje óptico. Se pueden usar ambas fuentes para observarlos. Para el láser conviene hacerlo pasar previamente por un

diafragma con el único fin de observar en éste los reflejos. Se debe alternar las fuentes de iluminación hasta lograr la posición deseada.

Finalmente, resta orientar la inclinación en el eje vertical. Con la fuente LED, que está colimada, se incide sobre toda la lente y se verifica que la altura del haz, a su correspondiente distancia focal, coincide con la altura del eje óptico, es decir, la altura del láser.

Se repiten los pasos previos para la segunda lente. Puede ser conveniente quitar la primera lente e incorporarla luego de calibrar la segunda.

Se incorpora el LCD y utilizando el láser se regula su altura. Utilizando únicamente la iluminación LED se observarán los reflejos verificando que no haya una inclinación. Si es posible, se colocará el LCD en un riel que permita su desplazamiento en la dirección transversal al eje óptico para quitarlo cuando se desee.

c.1.2 *Cámara*

Es sumamente útil colocar la cámara en una base que permita el desplazamiento longitudinal y lateral. El ajuste fino del sistema se realiza utilizando un diafragma casi cerrado. Luego, se abre para verificar a través de los reflejos que no se han producido nuevos desvíos del ajuste del sistema óptico. Debido a la distribución espacial de la intensidad asociada al LED, caracterizada por un perfil de frente de onda Gaussiano, una imagen capturada con la cámara resultará en la observación de un punto más luminoso en el centro, con una disminución gradual y simétrica en intensidad a lo largo de ambos ejes ortogonales. Esto tiene que ser verificado en la imagen adquirida por la cámara.

Para verificar que el eje vertical de la cámara y el LCD coincidan, sin el PO y posicionando el LCD en foco, desplegaremos un patrón de franjas binarias y observaremos que éstas estén alineadas con los bordes horizontales y verticales.

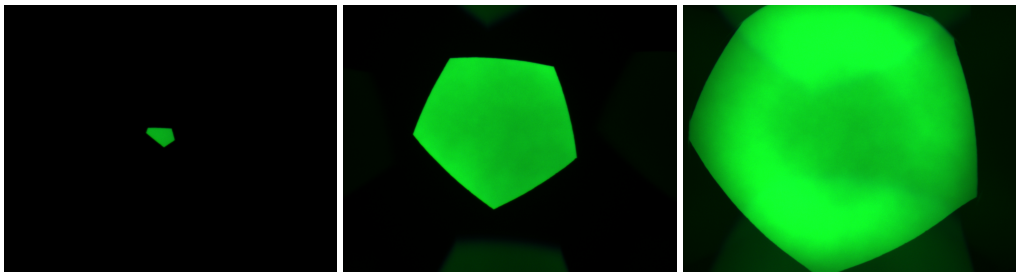
c.1.3 *Muestra*

El PO se coloca de modo que la imagen en la cámara quede enfocada. Si es un PO puro, se utiliza uno que sea débilmente absorbente para poder ajustar correctamente. Se debe tener presente que la presencia del LCD es necesaria debido a su espesor óptico no despreciable y su índice de refracción diferente al del medio en el que se encuentra inmerso el sistema (aire), lo que modificará el foco del sistema. Luego, se desplaza la cámara una distancia Δz alejándonos del sistema, para generar el desenfoque necesario.

c.1.4 *Diafragma*

Se coloca el diafragma en el plano de Fourier del sistema óptico $4f$ y centrado en el eje óptico. Se recomienda quitar el LCD para este fin. Alineada su altura, se coloca el LCD y se cierra el diafragma filtrando de forma tal que pase sólo el orden cero de difracción, ver Fig. 3.2.

La fuente consiste en un LED y una lente, L_0, que colima la luz del LED. Entre ellos hay un diafragma que tiene por fin hacer más puntual la fuente resultando en una coherencia espacial mayor, pero con la desventaja de reducir la intensidad emitida. Cuanto mayor sea la apertura del diafragma, menos puntual será la fuente, menor colimada será la luz y tendremos menor coherencia espacial. Esto genera un espectro en Fourier conteniendo más frecuencias y pudiendo generar en el plano de Fourier, asociado al sistema óptico $4f$, unos lóbulos superpuestos entre ellos. Esta situación no es deseada, por lo que deberemos ajustar el diafragma de la fuente para evitar que haya una superposición a expensas de una disminución en la intensidad de la fuente. En la Fig. 3.1 podemos observar el efecto de superposición también conocido como "aliasing".



(a) Diafragma de la fuente al mínimo posible. Poca intensidad, mayor colimación.

(b) Diafragma de la fuente al máximo posible. Sin superposición de los lóbulos. Mayor intensidad, menor colimación.

(c) Diafragma de la fuente con superposición de los lóbulos.

Figura 3.1: Imágenes en el plano de Fourier de una configuración de lentes $4f$ con diferentes aperturas del diafragma de la fuente.

c.1.5 *Microscópico utilizando una Configuración de Lentes* $4f$

Para el estudio de objetos microscópicos es útil la configuración de lentes $4f$ formada por el objetivo de microscopio L_1 (con distancia focal f_1) y la lente L_2 (con distancia focal f_2), denominado "tube lens"* en inglés. Para la formación de la imagen podría utilizarse una lente y trabajar en los dos planos ubicados a una distancia igual al doble de su distancia focal. La razón de no utilizar esta configuración reside en que estos elementos ópticos se construyen reduciendo las aberraciones para objetos que estén en los planos ubicados a una distancia igual a su distancia focal.

* Esta lente es de especial relevancia para la disminución de aberraciones del sistema. Por lo general, se elabora en conjunto con el objetivo de microscopio.

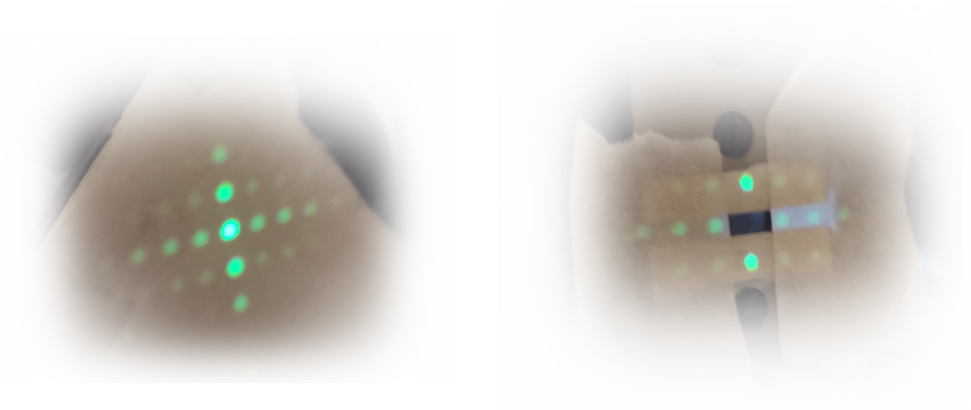


Figura 3.2: Visualización del plano de Fourier debido a la presencia del LCD. Plano sin filtrar, izquierda. Plano filtrado, derecha.

Para la alineación de este sistema, se coloca el objetivo a una distancia inferior a la distancia de trabajo* especificada por el fabricante respecto a dónde estará el PO. Se debe prestar especial atención a la alineación respecto a la inclinación de los dos ejes transversales observando los reflejos. Luego se coloca la lente L_2 a una distancia igual a la suma de las distancias focales f_1 y f_2, y se ajusta la altura y la inclinación. Es fundamental asegurarnos que el haz saliente de este sistema esté colimado, es decir, que su diámetro se mantenga uniforme a lo largo de su propagación.

El PO es colocado en su lugar y a continuación se registra la posición del plano imagen del sistema (luego de la lente L_2) utilizando la cámara. Se posiciona el LCD a una distancia Δz del plano imagen, garantizando que no presente inclinaciones y la pantalla esté centrada con el haz.

Finalmente, se debe asegurar que todos estos elementos ópticos estén centrados a la misma altura. En la cámara se debe apreciar el PO enfocado. Para ello es útil, como fue mencionado anteriormente, colocar la cámara en una base con grados de libertad de desplazamiento en el eje longitudinal y transversales al eje óptico.

Fuente LED acoplado a una Fibra

Para calibrar la fuente se debe conectar un extremo de la fibra al LED y la otra a la lente colimador. A la salida de éste, verificar que el haz mantenga su diámetro a lo largo de una gran distancia. Una fuente bien colimada puede ser apreciada al colocar una segunda lente y observar que el haz a su respectiva distancia focal sea lo más puntual posible.

Para la colocación de la lente colimador es importante tomar en cuenta que la misma debe estar a una distancia igual a su distancia focal de la fibra óptica. Por lo general, se crean las lentes para trabajar en los planos posicionados a una distancia igual a su distancia focal. Usarlos bien disminuye las aberraciones en los sistemas ópticos utilizados.

* La distancia de trabajo indica hasta qué punto el objetivo es capaz de enfocar y se mide desde la superficie más próxima del objeto o el cubre objeto del espécimen a la lente frontal del objetivo.

A su vez, la muestra se debe colocar en el plano de Fourier de la lente colimador. Suponiendo que la fibra es puntal, en este plano se tiene la transformada de Fourier de una delta, logrando que incida sobre la muestra un plano lo más colimado posible.

C.2 DETERMINACIÓN DE LA ESCALA TRANSVERSAL

Para obtener la relación entre las distancias en el plano de la muestra y las distancias entre los píxeles de las imágenes adquiridas podemos utilizar la magnificación del sistema junto al tamaño de los píxeles de la cámara, ver Sec. A.1. En sistemas más complejos, el cálculo de la magnificación es más difícil, facilitando la aparición de errores en su deducción. Para medir experimentalmente la dependencia transversal podemos utilizar un objeto calibrado. Debido a su amplia aceptación y uso generalizado en la evaluación de la resolución óptica es común utilizar el objeto conocido como "USAF 1951 Glass Slide Resolution Target" (USAF target). Este objetivo proporciona una serie de elementos de prueba con patrones de resolución conocida, lo que permite una evaluación precisa de la capacidad de resolución del sistema (calibración).

Se coloca el USAF target en la posición designada para el PO (plano objeto) y capturamos una imagen. A partir de esta imagen, se puede a medir tanto el largo como el ancho de dos elementos conocidos del objetivo con el propósito de establecer la relación entre la distancia entre píxeles consecutivos y su equivalente en el plano objeto. Este proceso permite determinar la escala transversal, haciendo posible expresar las imágenes adquiridas como función de las distancias correspondientes en lugar de los píxeles de la cámara.

C.3 BIBLIOGRAFÍA

Es sumamente aconsejable mantener un registro ordenado de la literatura leída. Herramientas como "JabRef" permiten el rápido y sencillo almacenamiento de citas, así como un buen orden de las mismas. A su vez, se aconseja guardar los artículos en una carpeta separada, siguiendo una estructura de nombre consistente. Durante este trabajo se utilizó la siguiente estructura:

"<Apellido de Autor principal>- <Título del artículo>- <año de publicación>"

D

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Declaración de autoría para las publicaciones en las que se basa una tesis doctoral por compilación de artículos.

Nombre del estudiante: Msc. Matías Fernández Lakatos

Posgrado: Doctorado

Nombre de los tutores: Dra. Erna Frins y Dr. Gastón A. Ayubi

Título de la tesis: Visualización y Caracterización de Objetos de Fase

Fecha: 18 de mayo de 2024

El autor y tutores declaran que se atribuyen la autoría exclusiva de las ideas, desarrollos, programas de computación y resultados de la presente tesis, salvo en los casos que se indique expresamente lo contrario. La presente Declaración de Autoría tiene valor de declaración jurada del estudiante y sus tutores de tesis.

La presente tesis está compuesta por la compilación de **5** (cinco) artículos que han sido publicados, aceptados para publicación o remitido en revistas arbitradas por pares, indexadas y reconocidas en el área específica de la tesis. El estudiante y sus tutores dejan constancia de que las contribuciones aquí declaradas no forman parte de otra tesis.

Las contribuciones del estudiante en cada artículo son las siguientes:

D.1 ARTÍCULO N: 1

Artículo correspondiente al Cap. 3.

Título: Phase retrieval by amplifying the prism term of the Transport of Intensity Equation with a sliding step function

Autor de correspondencia: Matías Fernández Lakatos

Autor principal: Matías Fernández Lakatos

Co-autores: Gastón A. Ayubi, Nicolás Casaballe, José A. Ferrari, Erna Frins

Correos electrónicos de los co-autores: ayubi@fing.edu.uy, ncasabal@fing.edu.uy, jferrari@fing.edu.uy, efrins@fing.edu.uy

Revista: Optik - International Journal for Light and Electron Optics

Referencia bibliográfica: M. Fernández Lakatos, G. A. Ayubi, N. Casaballe, J. A. Ferrari, and E. Frins. Phase retrieval by amplifying the prism term of the transport of intensity equation with a sliding step function. Optik, 271:170120, 2022.

DOI: doi.org/10.1016/j.ijleo.2022.170120

Estatus Publicado

Fecha de envío: 29 abril de 2022

Fecha de aceptación: 17 de octubre de 2022

Fecha de publicación: 23 de octubre de 2022

Contribuciones del estudiante:

- Metodología y diseño
- Escritura del manuscrito
- Revisión y edición del manuscrito
- Revisión de la literatura
- Desarrollo de Software
- Desarrollo de bases de datos
- Análisis formal
- Validación de resultados

Breve descripción de la contribución:

La teoría presentada en el artículo, desarrollada por Gastón A. Ayubi y ampliada con algunos aportes míos vinculados a detalles conceptuales, sirvió como base fundamental para nuestro trabajo. En colaboración con él, diseñé un diagrama experimental con el propósito de generar una imagen que combinara la derivada de un objeto de fase con una función que exhibiera una marcada derivada a lo largo de un segmento específico del objeto.

Me encargué de realizar la alineación del montaje experimental junto con la adquisición de las imágenes.

Para llevar a cabo la adquisición de imágenes, desarrollé un código original en Python que posibilita la proyección de una imagen en un LCD (pantalla de cristal líquido) y la captura de dicha imagen mediante la cámara del laboratorio. Ambos procesos de proyección y captura se sincronizaron meticulosamente.

En lo que respecta al procesamiento de los datos obtenidos, desarrollé otro código en Python que, partiendo de las imágenes capturadas, identifica y extrae una región de interés previamente determinada. Posteriormente, se sintetiza la derivada del objeto de fase a partir de esta región utilizando una interpolación también escrita por mi.

Además, se realizó un procedimiento de calibración del sistema utilizando un objeto de fase con dimensiones conocidas, siguiendo un enfoque similar al empleado durante la adquisición de datos.

Finalmente, la redacción del artículo se llevó a cabo de manera colaborativa entre todos los autores involucrados.

D.2 ARTÍCULO N: 2

Artículo correspondiente al Cap. 4.

Título: Common-path quantitative phase imaging by propagation through a sinusoidal intensity mask

Autor de correspondencia: Gastón A. Ayubi

Autores principales: Gastón A. Ayubi, Matías Fernández Lakatos

Co-autores: Nicolás Casaballe, Erna Frins

Correos electrónicos de los co-autores: ncasabal@fing.edu.uy, efrins@fing.edu.uy

Revista: Optics and Lasers in Engineering

Referencia bibliográfica: Gastón A. Ayubi, M. Fernández Lakatos, Nicolás Casaballe, and Erna Frins. Common-path quantitative phase imaging by propagation through a sinusoidal intensity mask. Optics and Lasers in Engineering, 171:107805, 2023.

DOI: `doi.org/10.1016/j.optlaseng.2023.107805`

Estatus Publicado

Fecha de envío: 23 de enero de 2023

Fecha de aceptación: 21 de agosto de 2023

Fecha de publicación:

Contribuciones del estudiante:

- Metodología y diseño
- Escritura del manuscrito
- Revisión y edición del manuscrito
- Revisión de la literatura

- Desarrollo de Software
- Desarrollo de bases de datos
- Análisis formal
- Validación de resultados

Breve descripción de la contribución:

La concepción del artículo, la toma de medidas y los análisis subsiguientes fueron llevados a cabo en colaboración con Gastón A. Ayubi y yo. En la redacción del artículo participaron Gastón A. Ayubi, Erna Frins y yo. Nicolás Casaballe contribuyó a la corrección del artículo y proporcionó observaciones pertinentes.

Además, desarrollé un código en Python que posibilitó la generación de imágenes sinusoidales con variables ajustables como la frecuencia, el contraste, el ángulo y las dimensiones. Estas imágenes, a través del código, fueron desplegadas en un LCD y adquiridas en sincronía.

En colaboración con Antonio Saez, miembro del cuerpo técnico del taller mecánico del Instituto de Física de la Facultad de Ingeniería, ensamblamos un LCD junto con sus dos polarizadores montado sobre una base móvil. Además, creamos una pieza protectora para el controlador del LCD.

D.3 ARTÍCULO N: 3

Artículo correspondiente al Cap. 5.

Título: Integration with one partial derivative applied to quantitative phase imaging

Autor de correspondencia: Matías Fernández Lakatos

Autor principal: Matías Fernández Lakatos

Co-autores: Gastón A. Ayubi, Erna Frins

Correos electrónicos de los co-autores: ayubi@fing.edu.uy, efrins@fing.edu.uy

Revista: International Society for Optics and Photonics, SPIE

Referencia bibliográfica: M. Fernández Lakatos, Gastón A. Ayubi, and Erna Frins. Integration with one partial derivative applied to quantitative phase imaging. In Yang Liu and YongKeun Park, editors, Quantitative Phase Imaging X, volume 12852, page 128520F. International Society for Optics and Photonics, SPIE, 2024.

DOI: doi.org/10.1117/12.3000403

Estatus Publicado

Fecha de envío: 10 de enero de 2024

Fecha de aceptación: 12 de marzo de 2024

Fecha de publicación: 12 de marzo de 2024

Contribuciones del estudiante:

- Metodología y diseño
- Escritura del manuscrito
- Revisión y edición del manuscrito
- Revisión de la literatura
- Desarrollo de Software
- Análisis formal
- Validación de resultados
- Obtención de fondos

Breve descripción de la contribución:

Desarrollé un código que permite la integración mediante una sola derivada utilizando como datos las las derivadas adquiridas en el artículo previo (Artículo n:3) y las ideas desarrolladas en la literatura para la integración.

Escribí el manuscrito publicado y presentado en la conferencia Photonics West, SPIE. Obtuve los fondos para poder presentar y publicar el artículo.

D.4 ARTÍCULO N: 4

Artículo correspondiente al Cap. 6.

Título: Optimal regularization for quantitative phase imaging from one partial derivative

Autor de correspondencia: Matías Fernández Lakatos

Autores principales: Matías Fernández Lakatos, Gastón A. Ayubi

Co-autores: Erna Frins

Correos electrónicos de los co-autores: efrins@fing.edu.uy

Revista: Optics Communications

Referencia bibliográfica: No corresponde

DOI: `No corresponde`

Estatus Enviado

Fecha de envío: 18 de mayo de 2024

Fecha de aceptación: No corresponde

Fecha de publicación: No corresponde

Contribuciones del estudiante:

- Metodología y diseño
- Escritura del manuscrito
- Revisión y edición del manuscrito
- Revisión de la literatura
- Desarrollo de Software
- Análisis formal
- Validación de resultados

Breve descripción de la contribución:

Distintos algoritmos fueron realizados tanto por Gastón A. Ayubi como por mi. Algunos de estos códigos fueron creados en paralelo para verificar los resultados de forma independiente. La idea fue concebida y discutida en conjunto con Gastón A. Ayubi.

Gmail **Matias Fernandez Lakatos <mfernandezlakatos@gmail.com>**

Thank you for your submission to Optics Communications

Optics Communications <em@editorialmanager.com> 18 de mayo de 2024, 13:19
Responder a: Optics Communications <support@elsevier.com>
Para: Matías Fernández Lakatos <mfernandez@fing.edu.uy>

Dear Msc Fernández Lakatos,

Title: Optimal Regularization for Quantitative Phase Imaging from One Partial Derivative
Authors: Matías Fernández Lakatos; Gastón A. Ayubi; Erna Frins
Manuscript Number:
Article Type: Research Paper

Your above submission has been received by Optics Communications

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Editorial Manager
Optics Communications

For further assistance, please visit our customer support site at http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EM via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, then you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. For more details see the journal guide for authors.

At Elsevier, we want to help all our authors to stay safe when publishing. Please be aware of fraudulent messages requesting money in return for the publication of your paper. If you are publishing open access with Elsevier, bear in mind that we will never request payment before the paper has been accepted. We have prepared some guidelines (https://www.elsevier.com/connect/authors-update/seven-top-tips-on-stopping-apc-scams) that you may find helpful, including a short video on Identifying fake acceptance letters (https://www.youtube.com/watch?v=o5l8thD9XtE). Please remember that you can contact Elsevier s Researcher Support team (https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/) at any time if you have questions about your manuscript, and you can log into Editorial Manager to check the status of your manuscript (https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/29155/c/10530/supporthub/publishing/kw/status/).#AU_OPTICS#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

D.5 ARTÍCULO N: 5

Artículo correspondiente al Cap. 7.

Artículo n: 5

Título: Hilbert's and takeda's single-shot interferometry with a linear-carrier: a comparison.

Autor de correspondencia: Jorge L. Flores.

Primer autor: José A. Ferrari.

Co-autores: Jorge L. Flores, Matías Fernández Lakatos, Gastón A. Ayubi, Daniel Perciante, Erna Frins.

Correos electrónicos de los co-autores: jorgel.flores@academicos.udg.mx, mfernandez@fing.edu.uy, ayubi@fing.edu.uy, daniel.perciante@ucu.edu.uy, efrins@fing.edu.uy

Revista: Measurement Science and Technology.

Referencia bibliográfica: José A Ferrari, Jorge L. Flores, Matías Fernandez Lakatos, Gastón A. Ayubi, Daniel Perciante, and Erna Frins. Hilbert's and takeda's single-shot interferometry with a linear-carrier: a comparison. Measurement Science and Technology, 2024.

DOI: `10.1088/1361-6501/ad2254`

Estatus Publicado.

Fecha de envío: 23 de septiembre de 2023.

Fecha de aceptación: 24 de enero de 2024.

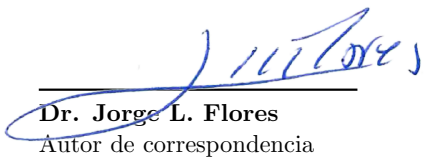
Fecha de publicación: 8 de febrero de 2024.

Contribuciones del estudiante:

- Revisión y edición del manuscrito
- Revisión de la literatura

Breve descripción de la contribución: Revisión de literatura para sugerir citas junto con la revisión y edición del manuscrito. Así como la participación en todas las etapas de de la discusión del trabajo

De acuerdo con la inclusión del artículo en la tesis,



Dr. Jorge L. Flores
Autor de correspondencia

BIBLIOGRAFÍA

[1] M. Fernández Lakatos, G. A. Ayubi, N. Casaballe, J. A. Ferrari, and E. Frins. Phase retrieval by amplifying the prism term of the transport of intensity equation with a sliding step function. *Optik*, 271:170120, 2022.

[2] Gastón A. Ayubi, M. Fernández Lakatos, Nicolás Casaballe, and Erna Frins. Common-path quantitative phase imaging by propagation through a sinusoidal intensity mask. *Optics and Lasers in Engineering*, 171:107805, 2023.

[3] M. Fernández Lakatos, Gastón A. Ayubi, and Erna Frins. Integration with one partial derivative applied to quantitative phase imaging. In Yang Liu and YongKeun Park, editors, *Quantitative Phase Imaging X*, volume 12852, page 128520F. International Society for Optics and Photonics, SPIE, 2024.

[4] M. Fernández Lakatos, Gastón A. Ayubi, and Erna Frins. Optimal regularization for quantitative phase imaging from one partial derivative. *Enviado a Optics Communications*, 2024.

[5] José A Ferrari, Jorge L. Flores, Matías Fernandez Lakatos, Gastón A. Ayubi, Daniel Perciante, and Erna Frins. Hilbert's and takeda's single-shot interferometry with a linear-carrier: a comparison. *Measurement Science and Technology*, 2024.

[6] 1635-1703 Hooke, Robert. *Micrographia : or some physiological descriptions of minute bodies made by magnifying glasses. With observations and inquiries thereupon.* London : Printed by Jo. Martyn, and Ja. Allestry, 1665., 1665.

[7] Robert 1773-1858 Brown. Observations on the organs and mode of fecundation in orchideae and asclepiadeae. *Royal College of Surgeons*, 1831.

[8] Orlando Torres-Fernández. La técnica de impregnación argéntica de golgi. conmemoración del centenario del premio nobel de medicina (1906) compartido por camillo golgi y santiago ramón y cajal. *Biomédica*, 26, 12 2006.

[9] H.C.J. Gram and C. Friedlaender. *Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten: in Schnitt-und Trockenpräparaten*. Fortschritte der Medicin. Theodor Fischer's medicinischer Buchhandlung, 1884.

[10] F. Zernike. Beugungstheorie des schneidenver-fahrens und seiner verbesserten form, der phasenkontrastmethode. *Physica*, 1(7):689–704, 1934.

[11] F. Zernike. Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects. *Physica*, 9(7):686–698, 1942.

[12] G Nomarski and A Weill. Application à la métallographie des méthodes interférentielles à deux ondes polarisées. *Revue de Métallurgie*, 52(2):121–134, 1952.

[13] Georges Nomarski. Microinterféromètre différentiel à ondes polarisées. *J. Phys. Rad.*, 16:9S–13S, 1955.

[14] Michael Reed Teague. Deterministic phase retrieval: a green's function solution. *J. Opt. Soc. Am.*, 73(11):1434–1441, Nov 1983.

[15] N. Streibl. Phase imaging by the transport equation of intensity. *Optics Communications*, 49(1):6–10, 1984.

[16] Kazuichi Ichikawa, Adolf W. Lohmann, and Mitsuo Takeda. Phase retrieval based on the irradiance transport equation and the fourier transform method: experiments. *Appl. Opt.*, 27(16):3433–3436, Aug 1988.

[17] K. A. Nugent, T. E. Gureyev, D. F. Cookson, D. Paganin, and Z. Barnea. Quantitative phase imaging using hard x rays. *Phys. Rev. Lett.*, 77:2961–2964, Sep 1996.

[18] T.E Gureyev and K.A Nugent. Rapid quantitative phase imaging using the transport of intensity equation. *Optics Communications*, 133(1):339–346, 1997.

[19] A. Barty, K. A. Nugent, D. Paganin, and A. Roberts. Quantitative optical phase microscopy. *Opt. Lett.*, 23(11):817–819, Jun 1998.

[20] Tong Zhang and Ichirou Yamaguchi. Three-dimensional microscopy with phase-shifting digital holography. *Opt. Lett.*, 23(15):1221–1223, Aug 1998.

[21] Etienne Cuche, Frédéric Bevilacqua, and Christian Depeursinge. Digital holography for quantitative phase-contrast imaging. *Opt. Lett.*, 24(5):291–293, Mar 1999.

[22] Pierre Marquet, Benjamin Rappaz, Pierre J. Magistretti, Etienne Cuche, Yves Emery, Tristan Colomb, and Christian Depeursinge. Digital holographic microscopy: a noninvasive contrast imaging technique allowing quantitative visualization of living cells with subwavelength axial accuracy. *Opt. Lett.*, 30(5):468–470, Mar 2005.

[23] Björn Kemper and Gert von Bally. Digital holographic microscopy for live cell applications and technical inspection. *Appl. Opt.*, 47(4):A52–A61, Feb 2008.

[24] Zhuo Wang, Larry Millet, Mustafa Mir, Huafeng Ding, Sakulsuk Unarunotai, John Rogers, Martha U. Gillette, and Gabriel Popescu. Spatial light interference microscopy (slim). *Opt. Express*, 19(2):1016–1026, Jan 2011.

[25] Gabriel Popescu. *Quantitative Phase Imaging of Cells and Tissues*. McGraw-Hill Education, New York, 1st edition edition, 2011.

[26] Pierre Marquet, Christian Depeursinge, and Pierre J. Magistretti. Review of quantitative phase-digital holographic microscopy: promising novel imaging technique to resolve neuronal network activity and identify cellular biomarkers of psychiatric disorders. *Neurophotonics*, 1:020901, Oct 2014.

[27] Peter de Groot. Principles of interference microscopy for the measurement of surface topography. *Adv. Opt. Photon.*, 7(1):1–65, Mar 2015.

[28] Maciej Trusiak, Vicente Mico, Javier Garcia, and Krzysztof Patorski. Quantitative phase imaging by single-shot hilbert–huang phase microscopy. *Opt. Lett.*, 41(18):4344–4347, Sep 2016.

[29] Maciej Trusiak, Maria Cywińska, Vicente Mico, José Ángel Picazo-Bueno, Chao Zuo, Piotr Zdańkowski, and Krzysztof Patorski. Variational hilbert quantitative phase imaging. *Scientific Reports*, 10(1):1–16, 2020.

[30] Jeremy M. Wittkopp, Ting Chean Khoo, Shane Carney, Kai Pisila, Shahab J. Bahreini, Kate Tubbesing, Supriya Mahajan, Anna Sharikova, Jonathan C. Petruccelli, and Alexander Khmaladze. Comparative phase imaging of live cells by digital holographic microscopy and transport of intensity equation methods. *Opt. Express*, 28(5):6123–6133, Mar 2020.

[31] Pietro Ferraro, Adam Wax, and Zeev Zalevsky. *Coherent light microscopy: Imaging and quantitative phase analysis*, volume 46. Springer Science & Business Media, 2011.

[32] Gabriel Popescu, Lauren P. Deflores, Joshua C. Vaughan, Kamran Badizadegan, Hidenao Iwai, Ramachandra R. Dasari, and Michael S. Feld. Fourier phase microscopy for investigation of biological structures and dynamics. *Opt. Lett.*, 29(21):2503–2505, Nov 2004.

[33] Niyom Lue, Wonshik Choi, Gabriel Popescu, Takahiro Ikeda, Ramachandra R. Dasari, Kamran Badizadegan, and Michael S. Feld. Quantitative phase imaging of live cells using fast fourier phase microscopy. *Applied optics*, 46:1836–42, Apr 2007.

[34] Takahiro Ikeda, Gabriel Popescu, Ramachandra R. Dasari, and Michael S. Feld. Hilbert phase microscopy for investigating fast dynamics in transparent systems. *Opt. Lett.*, 30(10):1165–1167, May 2005.

[35] Vicente Mico, Zeev Zalevsky, and Javier García. Common-path phase-shifting digital holographic microscopy: A way to quantitative phase imaging and superresolution. *Optics Communications*, 281(17):4273–4281, 2008.

[36] Tatsuki Tahara, Yuichi Kozawa, and Ryutaro Oi. Single-path single-shot phase-shifting digital holographic microscopy without a laser light source. *Opt. Express*, 30(2):1182–1194, Jan 2022.

[37] Gabriel Popescu, Takahiro Ikeda, Ramachandra R. Dasari, and Michael S. Feld. Diffraction phase microscopy for quantifying cell structure and dynamics. *Opt. Lett.*, 31(6):775–777, Mar 2006.

[38] Basanta Bhaduri, Christopher Edwards, Hoa Pham, Renjie Zhou, Tan Nguyen, Lynford Goddard, and Gabriel Popescu. Diffraction phase microscopy: Principles and applications in materials and life sciences. *Advances in Optics and Photonics*, 6:under review, 03 2014.

[39] YoonSeok Baek and YongKeun Park. Intensity-based holographic imaging via space-domain kramers–kronig relations. *Nature Photonics*, 15:354–360, May 2021.

[40] Cheng Shen, Mingshu Liang, An Pan, and Changhuei Yang. Non-iterative complex wave-field reconstruction based on kramers-kronig relations. *Photon. Res.*, 9(6):1003–1012, Jun 2021.

[41] Xi Chen, Mikhail E. Kandel, and Gabriel Popescu. Spatial light interference microscopy: principle and applications to biomedicine. *Adv. Opt. Photon.*, 13(2):353–425, Jun 2021.

[42] Basanta Bhaduri, Krishnarao Tangella, and Gabriel Popescu. Fourier phase microscopy with white light. *Biomed. Opt. Express*, 4(8):1434–1441, Aug 2013.

[43] Daesuk Kim, Jang Woo You, and Soohyun Kim. White light on-axis digital holographic microscopy based on spectral phase shifting. *Opt. Express*, 14(1):229–234, Jan 2006.

[44] Lihong Ma, Jiaheng Zhang, Xin Yang, Yong Li, and Weimin Jin. White light diffraction phase microscopy with slightly off-axis blind two-step phase-shifting. *Optics Communications*, 455:124563, 2020.

[45] Patrick C Chaumet, Pierre Bon, Guillaume Maire, Anne Sentenac, and Guillaume Baffou. Quantitative phase microscopies: accuracy comparison. *arXiv preprint arXiv:2403.11930*, 2024.

[46] Guoan Zheng, Roarke Horstmeyer, and Changhuei Yang. Wide-field, high-resolution fourier ptychographic microscopy. *Nature photonics*, 7(9):739–745, 2013.

[47] Pavan Chandra Konda, Lars Loetgering, Kevin C. Zhou, Shiqi Xu, Andrew R. Harvey, and Roarke Horstmeyer. Fourier ptychography: current applications and future promises. *Opt. Express*, 28(7):9603–9630, Mar 2020.

[48] Guoan Zheng, Cheng Shen, Shaowei Jiang, Pengming Song, and Changhuei Yang. Concept, implementations and applications of fourier ptychography. *Nature Reviews Physics*, 3(3):207–223, 2021.

[49] Fannuo Xu, Zipei Wu, Chao Tan, Yizheng Liao, Zhiping Wang, Keru Chen, and An Pan. Fourier ptychographic microscopy 10 years on: A review. *Cells*, 13(4), 2024.

[50] Jérôme Primot and Nicolas Guérineau. Extended hartmann test based on the pseudoguiding property of a hartmann mask completed by a phase chessboard. *Appl. Opt.*, 39(31):5715–5720, Nov 2000.

[51] Pierre Bon, Guillaume Maucort, Benoit Wattellier, and Serge Monneret. Quadriwave lateral shearing interferometry for quantitative phase microscopy of living cells. *Opt. Express*, 17(15):13080–13094, Jul 2009.

[52] Guillaume Baffou. Wavefront microscopy using quadriwave lateral shearing interferometry: From bioimaging to nanophotonics. *ACS Photonics*, 10(2):322–339, February 2023.

[53] Guillaume Baffou, Anne Sentenac, Patrick Chaumet, and Guillaume Maire. Comparing the accuracies of quantitative phase microscopies (qpm). In Yang Liu and YongKeun Park, editors, *Quantitative Phase Imaging X*, volume PC12852, page PC1285207. International Society for Optics and Photonics, SPIE, 2024.

[54] Lei Tian and Laura Waller. Quantitative differential phase contrast imaging in an led array microscope. *Optics express*, 23:11394–403, May 2015.

[55] Laura Waller, Lei Tian, and George Barbastathis. Transport of intensity phase-amplitude imaging with higher order intensity derivatives. *Opt. Express*, 18(12):12552–12561, Jun 2010.

[56] Chao Zuo, Jiaji Li, Jiasong Sun, Yao Fan, Jialin Zhang, Linpeng Lu, Runnan Zhang, Bowen Wang, Lei Huang, and Qian Chen. Transport of intensity equation: a tutorial. *Optics and Lasers in Engineering*, 135:106187, 2020.

[57] Naru Yoneda, Aoi Onishi, Yusuke Saita, Koshi Komuro, and Takanori Nomura. Single-shot higher-order transport-of-intensity quantitative phase imaging based on computer-generated holography. *Opt. Express*, 29(4):4783–4801, Feb 2021.

[58] Christopher Edwards, Basanta Bhaduri, Tan Nguyen, Benjamin Griffin, Hoa Pham, Taewoo Kim, Gabriel Popescu, and Lynford Goddard. Effects of spatial coherence in diffraction phase microscopy. *Optics express*, 22:5133–46, 02 2014.

[59] Laura Waller, Shan Shan Kou, Colin J. R. Sheppard, and George Barbastathis. Phase from chromatic aberrations. *Opt. Express*, 18(22):22817–22825, Oct 2010.

[60] J. Matías Di Martino, Gastón A. Ayubi, Enrique A. Dalchiele, Julia R. Alonso, Ariel Fernández, Jorge L. Flores, César D. Perciante, and José A. Ferrari. Single-shot phase recovery using two laterally separated defocused images. *Optics Communications*, 293:1–3, 2013.

[61] Chao Zuo, Qian Chen, Weijuan Qu, and Anand Asundi. Noninterferometric single-shot quantitative phase microscopy. *Opt. Lett.*, 38(18):3538–3541, Sep 2013.

[62] Xiaolin Tian, Wei Yu, Xin Meng, Aihui Sun, Liang Xue, Cheng Liu, and Shouyu Wang. Real-time quantitative phase imaging based on transport of intensity equation with dual simultaneously recorded field of view. *Opt. Lett.*, 41(7):1427–1430, Apr 2016.

[63] Wei Yu, Xiaolin Tian, Xiaoliang He, Xiaojun Song, Liang Xue, Cheng Liu, and Shouyu Wang. Real time quantitative phase microscopy based on single-shot transport of intensity equation (sstie) method. *Applied Physics Letters*, 109(7):071112, 2016.

[64] Jose Angel Picazo-Bueno and Vicente Micó. Optical module for single-shot quantitative phase imaging based on the transport of intensity equation with field of view multiplexing. *Opt. Express*, 29(24):39904–39919, Nov 2021.

[65] Ariel Fernández, Juan M Llaguno, Alejandro Silva, and Julia R Alonso. Real-time phase retrieval in division of aperture microscopy with the transport of intensity equation. *JOSA A*, 41(3):A55–A62, 2024.

[66] Chao Zuo, Qian Chen, Weijuan Qu, and Anand Asundi. High-speed transport-of-intensity phase microscopy with an electrically tunable lens. *Opt. Express*, 21(20):24060–24075, Oct 2013.

[67] Tong Ling, Kevin C Boyle, Valentina Zuckerman, Thomas Flores, Charu Ramakrishnan, Karl Deisseroth, and Daniel Palanker. High-speed interferometric imaging reveals dynamics of neuronal deformation during the action potential. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(19):10278–10285, 2020.

[68] Thomas A. Zangle and Michael A. Teitell. Live-cell mass profiling: an emerging approach in quantitative biophysics. *Nature methods*, 11:1221–8, Dec 2014.

[69] Yang Liu and Shikhar Uttam. Perspective on quantitative phase imaging to improve precision cancer medicine. *Journal of biomedical optics*, 29:S22705, Jun 2024.

[70] Thang L. Nguyen, Soorya Pradeep, Robert L. Judson-Torres, Jason Reed, Michael A. Teitell, and Thomas A. Zangle. Quantitative phase imaging: Recent advances and expanding potential in biomedicine. *ACS Nano*, 16(8):11516–11544, August 2022.

[71] M. Bech, A. Tapfer, A. Velroyen, A. Yaroshenko, B. Pauwels, J. Hostens, P. Bruyndonckx, A. Sasov, and F. Pfeiffer. In-vivo dark-field and phase-contrast x-ray imaging. *Scientific Reports*, 3(1):3209, 2013.

[72] Juyeon Park, Bijie Bai, DongHun Ryu, Tairan Liu, Chungha Lee, Yi Luo, Mahn Jae Lee, Luzhe Huang, Jeongwon Shin, Yijie Zhang, Dongmin Ryu, Yuzhu Li, Geon Kim, Hyun-seok Min, Aydogan Ozcan, and YongKeun Park. Artificial intelligence-enabled quantitative phase imaging methods for life sciences. *Nature Methods*, 20(11):1645–1660, 2023.

[73] Shan Shan Kou, Laura Waller, George Barbastathis, and Colin J. R. Sheppard. Transport-of-intensity approach to differential interference contrast (ti-dic) microscopy for quantitative phase imaging. *Opt. Lett.*, 35(3):447–449, Feb 2010.

[74] R. BARER, R. O. S. S. K F A, and S. TKACZYK. Refractometry of living cells. *Nature*, 171:720–4, Apr 1953.

[75] G. Smith and D.A. Atchison. *The Eye and Visual Optical Instruments*. Cambridge University Press, 1997.

[76] Joseph W Goodman. *Introduction to Fourier optics 3rd ed.*, volume 1. Roberts & Co. Publishers, 2005.

[77] K. Iizuka. *Engineering Optics*. Springer Series in Optical Sciences. Springer New York, 2009.

[78] Junchang Li, Zujie Peng, and Yunchang Fu. Diffraction transfer function and its calculation of classic diffraction formula. *Optics Communications*, 280(2):243–248, 2007.

[79] Max Born, Emil Wolf, A. B. Bhatia, P. C. Clemmow, D. Gabor, A. R. Stokes, A. M. Taylor, P. A. Wayman, and W. L. Wilcock. *Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light*. Cambridge University Press, 7 edition, 1999.

[80] B. Osgood. The fourier transform and its applications. *Electrical Engineering Department, Stanford University, Stanford.*, 2011.

[81] D. Paganin and K. A. Nugent. Noninterferometric phase imaging with partially coherent light. *Phys. Rev. Lett.*, 80:2586–2589, Mar 1998.

[82] Herbert Sydney Green and Emil Wolf. *A SCALAR REPRESENTATION OF ELECTROMAGNETIC FIELDS*. 1953.

[83] Katherine Creath. *V Phase-Measurement Interferometry Techniques*, volume 26 of *Progress in Optics*. Elsevier, 1988.

[84] Erna M Frins, Wolfgang Dultz, and José A Ferrari. Polarization-shifting method for step interferometry. *Pure and Applied Optics: Journal of the European Optical Society Part A*, 7(1):53–60, jan 1998.

[85] Ricardo Legarda-Saenz, Jorge L. Flores, Manuel Servin, and Anabel Martin-Gonzalez. Wavefront reconstruction of discontinuous phase objects from optical deflectometry. *Appl. Opt.*, 62(16):4255–4261, Jun 2023.

[86] Chengmeng Li, Yiping Cao, Cheng Chen, Yingying Wan, Guangkai Fu, and Yapin Wang. Computer-generated moire; profilometry. *Opt. Express*, 25(22):26815–26824, Oct 2017.

[87] Chengping Zhang, Peisen S. Huang, and Fu-Pen Chiang. Microscopic phase-shifting profilometry based on digital micromirror device technology. *Appl. Opt.*, 41(28):5896–5904, Oct 2002.

[88] Gastón A. Ayubi, Jaime A. Ayubi, J. Matías Di Martino, and José A. Ferrari. Pulse-width modulation in defocused three-dimensional fringe projection. *Opt. Lett.*, 35(21):3682–3684, Nov 2010.

[89] Yajun Wang and Song Zhang. Optimal pulse width modulation for sinusoidal fringe generation with projector defocusing. *Opt. Lett.*, 35(24):4121–4123, Dec 2010.

[90] Gastón A. Ayubi, J. Matías Di Martino, Julia R. Alonso, Ariel Fernández, César D. Perciante, and José A. Ferrari. Three-dimensional profiling with binary fringes using phase-shifting interferometry algorithms. *Appl. Opt.*, 50(2):147–154, Jan 2011.

[91] Chao Zuo, Shijie Feng, Lei Huang, Tianyang Tao, Wei Yin, and Qian Chen. Phase shifting algorithms for fringe projection profilometry: A review. *Optics and Lasers in Engineering*, 109:23–59, 2018.

[92] Yan Hu, Qian Chen, Shijie Feng, and Chao Zuo. Microscopic fringe projection profilometry: A review. *Optics and Lasers in Engineering*, 135:106192, 2020.

[93] Mitsuo Takeda, Hideki Ina, and Seiji Kobayashi. Fourier-transform method of fringe-pattern analysis for computer-based topography and interferometry. *J. Opt. Soc. Am.*, 72(1):156–160, Jan 1982.

[94] D. Malacara. *Optical Shop Testing*. Wiley Series in Pure and Applied Optics. Wiley, 2007.

[95] Gastón A. Ayubi, César D. Perciante, J. Matías Di Martino, Jorge L. Flores, and José A. Ferrari. Generalized phase-shifting algorithms: error analysis and minimization of noise propagation. *Appl. Opt.*, 55(6):1461–1469, Feb 2016.

[96] E. Hecht. *Optics*. Pearson Education, Incorporated, 2017.

[97] Rigoberto Juarez-Salazar, Ceciibet Mendoza-Rodriguez, Jose E Hernandez-Beltran, and Carlos Robledo-Sanchez. How do phase-shifting algorithms work? *European Journal of Physics*, 39(6):065302, oct 2018.

[98] Gastón A. Ayubi, Ignacio Duarte, and José A. Ferrari. Optimal phase-shifting algorithm for interferograms with arbitrary steps and phase noise. *Optics and Lasers in Engineering*, 114:129–135, 2019.

[99] M. Costantini. A novel phase unwrapping method based on network programming. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 36(3):813–821, 1998.

[100] D.C. Ghiglia and M.D. Pritt. *Two-Dimensional Phase Unwrapping: Theory, Algorithms, and Software*. Wiley, 1998.

[101] Rigoberto Juarez-Salazar, Carlos Robledo-Sanchez, and Fermin Guerrero-Sanchez. Phase-unwrapping algorithm by a rounding-least-squares approach. *Optical Engineering*, 53(2):024102, 2014.

[102] Hyounghan Kwon, Ehsan Arbabi, Seyedeh Mahsa Kamali, MohammadSadegh Faraji-Dana, and Andrei Faraon. Single-shot quantitative phase gradient microscopy using a system of multifunctional metasurfaces. *Nature Photonics*, 14(2):109–114, 2020.

[103] Kieran G. Larkin, Donald J. Bone, and Michael A. Oldfield. Natural demodulation of two-dimensional fringe patterns. i. general background of the spiral phase quadrature transform. *J. Opt. Soc. Am. A*, 18(8):1862–1870, Aug 2001.

[104] M. Di Martino. One-shot three-dimensional scene analysis. *Tesis de doctorado. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Ingeniería. Instituto de Ingeniería Eléctrica.*, 2015.

[105] G. Aubert, O. Faugeras, and P. Kornprobst. *Mathematical Problems in Image Processing: Partial Differential Equations and the Calculus of Variations*. Applied Mathematical Sciences. Springer New York, 2001.

[106] R.T. Frankot and R. Chellappa. A method for enforcing integrability in shape from shading algorithms. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 10(4):439–451, 1988.

[107] Berthold K.P Horn and Michael J Brooks. The variational approach to shape from shading. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, 33(2):174–208, 1986.

[108] Å. Björck. *Numerical Methods in Matrix Computations*. Texts in Applied Mathematics. Springer International Publishing, 2014.

[109] J. Matías Di Martino, Jorge L. Flores, Franz Pfeiffer, Kai Scherer, Gastón A. Ayubi, and José A. Ferrari. Phase retrieval from one partial derivative. *Opt. Lett.*, 38(22):4813–4816, Nov 2013.

[110] Yan Wang, Wanxia Huang, Qili He, Zhongzhu Zhu, Jin Zhang, Qinxi Yuan, Kai Zhang, and Peiping Zhu. Adaptive weighted total variation regularized phase retrieval in differential phase-contrast imaging. *Optical Engineering*, 57:053108, May 2018.

[111] Thomas Thüring, Peter Modregger, Bernd R. Pinzer, Zhentian Wang, and Marco Stampanoni. Non-linear regularized phase retrieval for unidirectional x-ray differential phase contrast radiography. *Opt. Express*, 19(25):25545–25558, Dec 2011.

[112] Jonathan I. Sperl, Dirk Bequé, Guido P. Kudielka, Kinan Mahdi, Peter M. Edic, and Cristina Cozzini. A fourier-domain algorithm for total-variation regularized phase retrieval in differential x-ray phase contrast imaging. *Optics express*, 22:450–62, Jan 2014.

[113] Lorenzo Massimi, Ian Buchanan, Alberto Astolfo, Marco Endrizzi, and Alessandro Olivo. Fast, non-iterative algorithm for quantitative integration of x-ray differential phase-contrast images. *Opt. Express*, 28(26):39677–39687, Dec 2020.

[114] José A. Ferrari, Jorge L. Flores, Gastón A. Ayubi, J. Matías Di Martino, César D. Perciante, and Erna Frins. Orientation-selective edge enhancement of phase objects. *Optics Communications*, 434:44–48, 2019.

[115] Shijie Feng, Qian Chen, Guohua Gu, Tianyang Tao, Liang Zhang, Yan Hu, Wei Yin, and Chao Zuo. Fringe pattern analysis using deep learning. *Advanced Photonics*, 1(2):1 – 7, 2019.

[116] C. Kottler, C. David, F. Pfeiffer, and O. Bunk. A two-directional approach for grating based differential phase contrast imaging using hard x-rays. *Opt. Express*, 15(3):1175–1181, Feb 2007.

[117] Irene Zanette, Timm Weitkamp, Tilman Donath, Simon Rutishauser, and Christian David. Two-dimensional x-ray grating interferometer. *Phys. Rev. Lett.*, 105:248102, Dec 2010.

[118] Yvain Quéau, Jean-Denis Durou, and Jean-François Aujol. Normal integration: A survey, 2017.

[119] Albert Tarantola. *Inverse Problem Theory and Methods for Model Parameter Estimation*. Society for Industrial and Applied Mathematics, 2005.

[120] Heinz W. Engl and Ronny Ramlau. *Regularization of Inverse Problems*, pages 1233–1241. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2015.

[121] Masih Nilchian, Zhentian Wang, Thomas Thuering, Michael Unser, and Marco Stampanoni. Spline based iterative phase retrieval algorithm for x-ray differential phase contrast radiography. *Opt. Express*, 23(8):10631–10642, Apr 2015.

[122] Siwei Tao, Tian Zonghan, Ling Bai, Yueshu Xu, Cuifang Kuang, and Xu Liu. Suppression of artifacts caused by phase errors and noises in x-ray phase computed tomography. *IEEE Photonics Technology Letters*, PP:1–1, 12 2023.

[123] David L Donoho. For most large underdetermined systems of linear equations the minimal l1-norm solution is also the sparsest solution. *Communications on Pure and Applied Mathematics: A Journal Issued by the Courant Institute of Mathematical Sciences*, 59:797–829, 2006.

[124] Rafael C. Gonzalez and Richard E. Woods. *Digital image processing*. J.: Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J., 2008.

[125] Niyom Lue, Wonshik Choi, Gabriel Popescu, Zahid Yaqoob, Kamran Badizadegan, Ramachandra R. Dasari, and Michael S. Feld. Live cell refractometry using hilbert phase microscopy and confocal reflectance microscopy. *Journal of Physical Chemistry A*, 113(47):13327–13330, 2009.

[126] Shouyu Wang, Liang Xue, Jiancheng Lai, and Zhenhua Li. An improved phase retrieval method based on hilbert transform in interferometric microscopy. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*, 124:1897–1901, 07 2013.

[127] Jingcheng Yuan and Mini Das. Transport-of-intensity model for single-mask x-ray differential phase contrast imaging. *Optica*, 11(4):478–484, Apr 2024.

[128] José Ángel Picazo-Bueno, Maciej Trusiak, Javier García, Krzysztof Patorski, and Vicente Micó. Hilbert–huang single-shot spatially multiplexed interferometric microscopy. *Opt. Lett.*, 43(5):1007–1010, Mar 2018.