

**Kartotéka fyzikálních principů  
základních optických zařízení a metod  
užívaných v oftalmologii**

- 2.. Polarizátory
- 5.. Malusův zákon a stanovení kvality polarizátoru
- 8.. Polarizační mikroskop
- 11.. Měření tloušťky retinálních nervových vláken - metoda GDx
- 14.. Hodnoty sférické korekce z měření Zernikových aberací
- 17.. Hodnoty cylindrické korekce z měření Zernikových aberací
- 20.. Lupa
- 23.. Světelný mikroskop
- 26.. Optická koherentní tomografie (OCT)
- 29.. Fázová mikroskopie

**Aplikovaná optika 2010**

**Polarizátory**

## Polarizátory

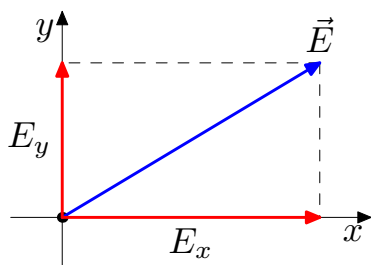
Pod pojmem (lineární) polarizátor se většinou rozumí zařízení, které z dopadajícího světla dokáže (alespoň do jisté míry) vytvořit světlo lineárně polarizované. Přitom je lhostejno, zda dopadající světlo již lineárně polarizováno bylo, nebo zda polarizace dopadajícího svazku byla například eliptická, nebo, například, zda dopadalo běžné denní světlo (které je nahodilou směsí paprsků z hlediska jejich jednotlivých směrů polarizace). Ve všech případech za polarizátorem vystupuje světlo lineárně polarizované.

Zavádí se pojem orientace polarizátoru  $\vec{p}$  (nebo také směr propustnosti polarizátoru), čímž se označuje rovina (obsahující směr šíření vlny) ve které elektrická složka světelné vlny bude po průchodu polarizátorem kmitat (kolmo na směr šíření vlny). Reálný polarizátor (narozdíl od polarizátoru idealizovaného) vždy kromě zvoleného směru polarizace do jisté míry propustí část světla také ve směrech ostatních.

V praxi lze dosáhnout polarizace světla buďto odrazem (pod Brewsterovým úhlem), nebo dvojlomem, případně kombinací obou technik. Běžný polarizátor (tzv. polaroid) spadá do skupiny využívající dvojlom: dopadající (zpravidla denní) světlo je dvojlomným materiálem rozděleno na složku řádnou a mimořádnou, přičemž tyto dvě nově vzniklé světelné vlny jsou polarizovány, v rovinách na sebe kolmých. Pro správnou funkci polaroidu je potřeba dvojlomný materiál vybrat tak, aby shodou okolností jednu ze vzniklých vln silně pohlcovал. Tím se zajistí, že po vstupním přerozdělení dopadajícího světla je na výstupu z polarizátoru přítomna jen jedna z polarizovaných složek. Posledně uvedená vlastnost se nazývá dichroismus a pro různé materiály existuje jak v podobě pohlcování vlny řádné, tak mimořádné.

Běžným materiálem na konstrukci polaroidu jsou krystalky herapatitu (směs síranu chininu s kyselinou sírovou, jodovodíkovou a jodem) na folii uchycené ke skle. Tento materiál silně pohlcuje vlnu řádnou, takže z něj vychází pouze světlo polarizované souhlasně s vlnou mimořádnou. Jiným typem dvojlomného polarizátoru (nevyžaduje se dichroismus) je například Glanův-Taylorův hranol; jedná se o krystal kalcitu speciálně rozříznutý a slepený, takže vlna řádná a mimořádná jej opouští v jiných místech a různými směry.

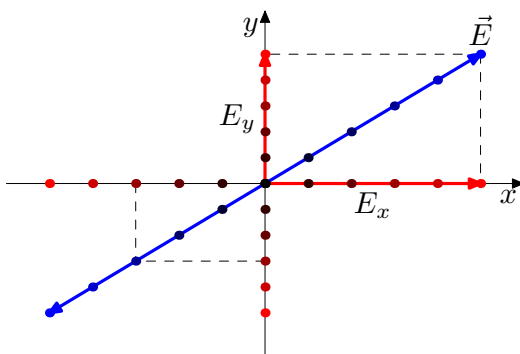
Činnost lineárního polarizátoru lze vysvětlit na základě operace s intenzitou  $\vec{E}$  elektrického pole světelné vlny (tedy nikoliv na základě operace s intenzitou světla  $I$  ve vlně obsažené - vztah mezi nimi je například pro jednoduchou situaci s rovinnou vlnou  $\vec{E} = \vec{E}_0 \cos(\omega t - \vec{k}\vec{x})$  dán jako  $I = |\vec{E}_0|^2$  a zde tedy stačí pracovat s amplitudami elektrického pole).



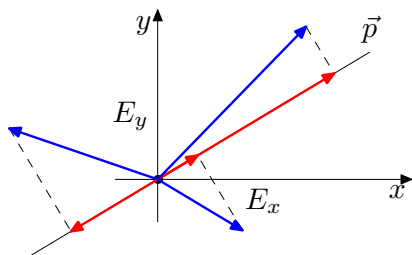
Nejprve si uvědomme, že ať už je konkrétní stav polarizace světelné vlny jakýkoliv, v daném časovém okamžiku lze vždy vektor  $\vec{E}$  zakreslit do roviny  $x$ - $y$  (kolmé na směr šíření paprsku) a v této rovině jej následně rozložit na složky  $E_x$  a  $E_y$ . Vzájemné chování těchto dvou složek beze zbytku popisuje polarizační stav světelné vlny.

*Značka v počátku souřadnic symbolizuje směr šíření paprsku, vystupujícího z roviny nákresu.*

**Vlnu prošlou polarizátorem získáme složením kolmých projekcí amplitud složek vektoru elektrické intenzity do směru propustnosti polarizátoru.**



Definice je jasná v případě, že na polarizátor dopadá světlo již lineárně polarizované. Obě složky jsou v tomto případě k sobě stále ve stejném poměru a můžeme tedy promítnout jejich maximální hodnoty. V ostatních případech je definici potřeba doplnit o výklad. *Jednotlivé sytosti barev odpovídají konkrétním časovým okamžikům; složení v jednom z nich je ukázáno i v levé dolní části nákresu.*

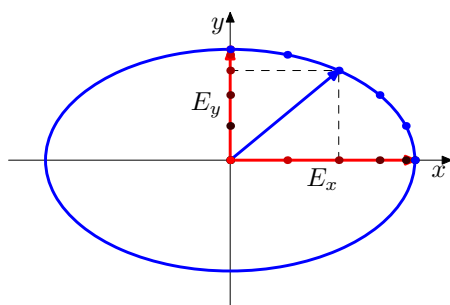


V případě denního světla na polarizátor dopadá směs paprsků, z nichž každý je polarizován v nějakém směru, nezávisle na paprscích ostatních. V tomto případě se tedy úloha redukuje na promítnutí velkého množství lineárně polarizovaných vln s různými směry polarizace.

*Všimněme si, že v případě rovinné vlny není potřeba provádět rozklad do složek, ale stačí promítnout celkovou její amplitudu – výsledek bude stejný.*

Je potřeba mít na paměti, že situace není taková, že by některé vlny prošly zcela a ostatní vůbec, ale že polarizátor si z každé jedné vlny vybere tu část, která odpovídá kolmému průmětu jejího vektoru elektrické intenzity. Dá se ukázat, že když směs polarizací je homogenní (všechny směry jsou zastoupeny stejně často), je výsledná intenzita světla  $I$  dána jako  $I = I_0/2$ , kde  $I_0$  je celková intenzita světla dopadajícího. Protože podmínka homogenity bývá u denního světla dopře splněna, můžeme uzavřít, že polarizátor propustí zhruba polovinu světla, které na něj dopadlo.

V případě elipticky polarizovaného světla (jehož podmožinou je i světlo polarizované kruhově), je situace komplikovanější. Jak známo, k eliptické polarizaci dojde, když elektrické pole je rozloženo do dvou složek – potud stejné jako světlo lineárně polarizované – které ovšem mezi sebou vykazují nenulový fázový posun. Jinými slovy, pokud například složka  $E_x$  má v daném okamžiku maximum, u lineárně polarizovaného světla by měla maximum i složka  $E_y$ , kdežto u světla polarizovaného elipticky bude výchylka  $E_y$  v témže okamžiku jiná než maximální.



Správný výklad definice činnosti polarizátoru se v případě eliptické polarizace redukuje na promítnutí zvlášť amplitudy složky  $E_x$  a zvlášť amplitudy složky  $E_y$ . Tyto maximální velikosti promítáme bez ohledu na to, že se objevují v odlišných časových okamžicích.

*Sytost červené barvy na složkách se opět vztahuje k jednotlivým časovým okamžikům. Všimněme si, že v našem případě jsou složky posunuty o  $\pi/2$  – když jedna z nich má maximum, druhá má nulovou hodnotu a naopak.*

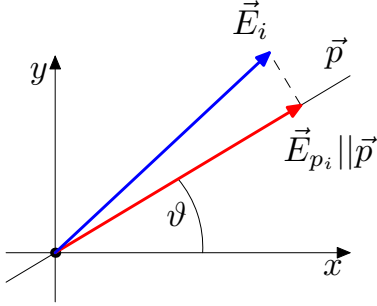
Je vhodné poznamenat, že popsáný způsob skládání vln za polarizátorem odpovídá koherentnímu případu: nejprve jsou sečteny propuštěné vektory elektrické intenzity a teprve následně je z výsledku spočtena (umocněním) intenzita světelná. Tento přístup ospravedlňuje konstrukce polaroidu: krystalky herapatitu na folii jsou malé, takže průchodem jimi si světlo uchová fázovou informaci (dráha v krystalku je příliš krátká na to, aby fázovou informaci poškodily nehomogenity v krystalu).

Výjimku tvoří případ, kdy na polarizátor dopadá světlo denní – jednotlivé paprsky jsou nekoherentní už v dopadajícím svazku (pochází z různých atomů) a musíme proto z jednotlivých promítnutých vln nejdříve počítat jejich světelné intenzity a teprve ty sečíst.

**Malusův zákon a stanovení kvality polarizátoru**

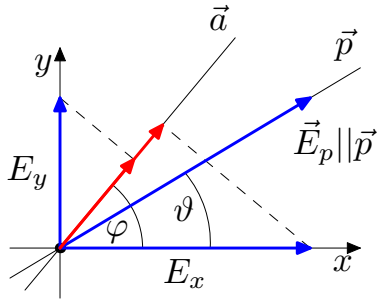
## Malusův zákon a stanovení kvality polarizátoru

Studujeme intenzitu z denního světla, která projde dvěma polarizátory (umístěnými na společné optické ose), jejichž směry propustnosti jsou vzájemně natočeny o úhel  $\delta$ . Toto uspořádání je popsáno Malusovým zákonem, který tak odvodíme.



V souladu se zadáním předpokládáme, že na první polarizátor dopadá běžné denní světlo. To se skládá z jednotlivých paprsků o intenzitách  $\vec{E}_i$ . Z každého z nich projde jen ta část  $\vec{E}_{p_i}$ , orientovaná ve směru  $\vec{p}$ , která vzniká promítnutím  $\vec{E}_i$  do  $\vec{p}$ . Všimněme si, že protože každý jednotlivý paprsek je lineárně polarizovaný, je ekvivalentní promítnout maxima jeho složek anebo maximum vektoru  $\vec{E}_i$  samotného.

Podle předchozího celková elektrická amplituda prošlé vlny  $\vec{E}_p = \sum_i \vec{E}_{p_i}$  splňuje  $I_p = (\vec{E}_p)^2 = I_0/2$ , kde  $I_0$  je celková intenzita dopadajícího světla.



Vlnu  $\vec{E}_p$  rozložíme na maximální složky  $E_x$  a  $E_y$ . Tyto složky následně kolmo promítneme do směru analyzátoru  $\vec{a}$ , který je vůči prvnímu polarizátoru otočen o úhel  $\delta = \varphi - \vartheta$  podle zadání. (Protože vlna  $E_p$  je sama lineárně polarizovaná, mohli jsme opět namísto uvedeného postupu promítnout přímo amplitudu elektrického pole bez jejího rozkládání do složek.)

Z pravoúhlých trojúhelníků vyplývá, že

$$E_x = E_p \cos \vartheta \quad E_y = E_p \sin \vartheta$$

kde  $E_p = |\vec{E}_p|$ . Označme nyní  $E_{ax}$  a  $E_{ay}$  složky prošlé za analyzátozem podle toho, ze kterých vln vzniknou. Z pravoúhlých trojúhelníků vychází, že

$$E_{ax} = E_x \cos \varphi = E_p \cos \varphi \cos \vartheta \quad E_{ay} = E_y \sin \varphi = E_p \sin \varphi \sin \vartheta.$$

Protože obě vlny za analyzátozem postupují ve stejném směru, můžeme je složit a výsledná vlna má maximální výchylku

$$E_a = E_{ax} + E_{ay} = E_p (\cos \varphi \cos \vartheta + \sin \varphi \sin \vartheta).$$

Vzhledem k platnosti identity  $\cos \varphi \cos \vartheta + \sin \varphi \sin \vartheta = \cos(\varphi - \vartheta)$  můžeme ovšem psát

$$E_a = E_p \cos(\varphi - \vartheta) = E_p \cos \delta,$$

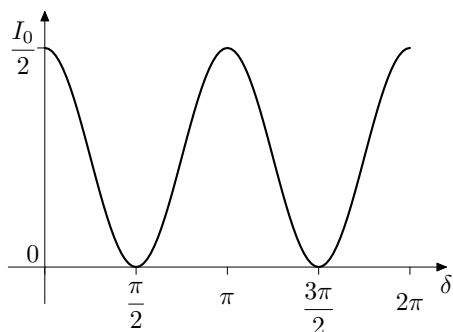
takže světelná intenzita výstupní vlny je

$$I_a = E_a^2 = E_p^2 \cos^2 \delta = \frac{I_0}{2} \cos^2 \delta.$$

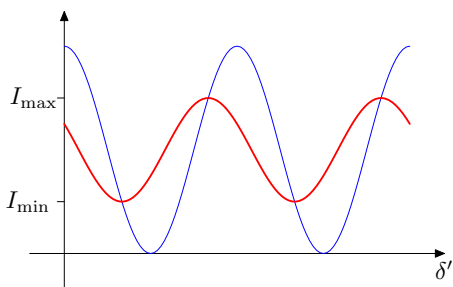
Poslední vztah představuje matematické vyjádření Malusova zákona: budeme-li jedním z polarizátorů otáčet, během jedné otočky musíme pozorovat dvě zesílení (pro  $\delta = 0$  a  $\delta = \pi$ ) a dvě pohasnutí (pro  $\delta = \pi/2$  a  $\delta = 3\pi/2$ ) intenzity prošlého světla. Zesílení světla odpovídají situaci, kdy oba polarizátory jsou orientovány souhlasně, pohasnutí světla nastane v případech, kdy propustné směry polarizátorů na sebe budou kolmé.

Všimněme si nyní podrobněji, v jakém režimu docházelo ke skládání světla na jednotlivých polarizátorech. Dopadající (denní) světlo je složeno z mnoha vzájemně nekoherentních parpsků a je proto skládáno prostřednictvím jednotlivých světelných intenzit. Za prvním polarizátorem už ale vzniká jediná rovinná vlna, která později dopadne na analyzátor. Z tohoto důvodu je situace za analyzátozem vyhodnocena již koherentně: nejprve jsou sloučeny amplitudy elektrického pole, ze kterých je teprve následně spočtena světelná intenzita vlny (připomeňme, že například tloušťka herapatitu v polaroidu je malá.)

Závěrem se věnujme případu se skutečnými, a nikoliv idealizovnými polarizátory.



Odvozený tvar Malusova zákona je vykreslen na grafu vlevo. Povšimněme si, že se objevuje předpovězený počet maxim a minim a intenzita výstupního světla kolísá mezi nulou (zkřížené polarizátory) a hodnotou  $I_0/2$  (rovnoběžné polarizátory). Stojí také za povšimnutí, že graf začíná na ose  $y$  maximální hodnotou.



Soustava dvou reálných polarizátorů oproti tomu vykáže závislost podobnou červené křivce v obrázku vlevo. K vodorovnému posunu křivky dojde, pokud na polarizátorech není vyznačen jejich propustný směr - potom měření začínají v náhodném nastavení; tato odchylka od ideální křivky není podstatná. Další změnou je změna rozsahu výstupní intenzity: snížení maxim odpovídá skutečnosti, že reálné polarizátory část světla samy pohltní (častý případ u polaroidů).

Nejzávažnější změnou křivky propustnosti soustavy reálných polarizátorů proti idealizované předpovědi však zůstává odstup minim z nulové hodnoty prošlé intenzity. To značí, že polarizátory nejsou kvalitní – i ve zkřížené konfiguraci část světla projde. Této vlastnosti se využívá k definici kvality polarizátorů  $V$ ,

$$V = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}}.$$

Jedná se o číslo, které se pohybuje mezi nulou a jedničkou: zjevně, pro ideální polarizátor  $I_{\min} = 0$  a  $V = 1$  (i kdyby polarizátor pohlcoval), kdežto pokud  $I_{\max} = I_{\min}$  (konstantní intenzita prošlého světla) dostáváme  $V = 0$  – jedná se o zařízení, které vůbec nepolarizuje.

**Polarizační mikroskop**



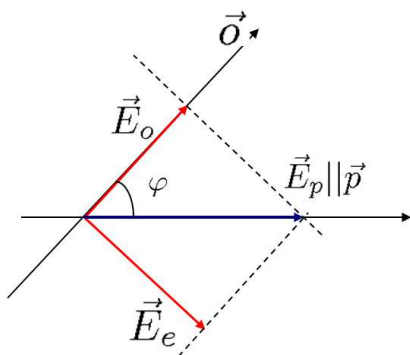
## Polarizační mikroskop

Polarizační mikroskop je zařízení, které slouží ke zviditelnění vzorků, vykazujících dvojlom. K tomuto zviditelnění se využívá skutečnosti, že dvojlomné vzorky obecně produkují elipticky polarizované světlo. Celková struktura zařízení zahrnuje oproti běžnému mikroskopu navíc dva polarizátory, mezi kterými je vzorek umístěn.

Polarizační mikroskop může pracovat s libovolným nastavením zmíněných dvou polarizátor, které pro přehlednost nesou (po řadě podél cesty světla) označení polarizátor (P) a analyzátor (A), přestože se může jednat o dva identické kusy. Je výhodné nastavit si před vložením polarizátorů do zkřížené polohy: takovou soustavou neprojde žádné světlo (viz Malusův zákon). Pokud vložíme vzorek, který není dvojlomný, soustavou stále žádné světlo neprojde. Teprve když vložený vzorek vykazuje dvojlom, mezi polarizátory vznikne světlo z eliptickou polarizací, které analyzátozem nikdy nelze potlačit beze zbytku a zorné pole se rozsvítí.

Tímto způsobem se v případě zkřížených polarizátorů polarizační mikroskop vlastně stává detektorem dvojlomu: dokud není vložen dvojlomný materiál, zorné pole zůstává temné. Právě konfiguraci se zkříženými polarizátory pro tuto její výhodnost popíšeme.

Předpokládáme dopad přirozeného světla intenzity  $I_0$  na (první) polarizátor. Podle obecně platných vztahů za tímto polarizátorem pokračuje světlo v cestě světlo polarizované ve směru jeho propustnosti (nechť je to například ve směru osy  $x$ ) a se světelnou intenzitou rovnou polovině hodnoty dopadajícího svazku. Amplitudu takto prošlé vlny označíme  $\vec{E}_p$ , platí  $(\vec{E}_p)^2 \approx I_p = I_0/2$ .



V dalším kroku toto lineárně polarizované světlo dopadne na dvojlomný vzorek. Budeme předpokládat, že optická osa  $\vec{o}$  vzorku (a s ní směr anizotropie - věnujeme se pouze jednoosým materiálům) leží ve stěně vzorku a že dopad světla na tuto stěnu je kolmý. Za těchto okolností se dvojlom projeví nejvíce a navíc se pohodlně stanovuje úhel  $\varphi$  mezi směrem  $\vec{p}$  polarizace dopadajícího světla a optickou osou vzorku. Chování dvojlomného materiálu způsobí, že dopadající vlna je rozdělena na dvě části: na paprsek řádný (ordinární) a mimořádný (extraordinární); jejich amplitudy po řadě označíme  $E_o$  a  $E_e$ .

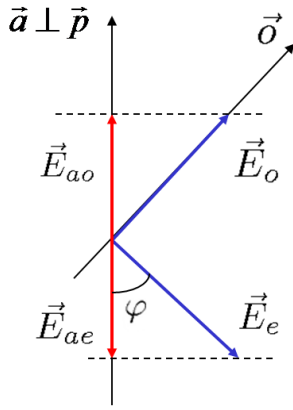
Velikosti amplitud jednotlivých složek získáme projekcí dopadajícího paprsku  $\vec{E}_p$  do směru optické osy  $\vec{o}$  (řádný paprsek) a do směru na  $\vec{o}$  kolmého (mimořádný paprsek):

$$E_o = E_p \cos \varphi \quad E_e = E_p \sin \varphi.$$

Paprsek řádný se podle svého názvu řídí Snellovým zákonem a zůstává v rovině dopadu, paprsek mimořádný se Snellovým zákonem nereguluje a může dokonce rovinu dopadu opustit. Směry polarizace řádného a mimořádného paprsku jsou na sebe vzájemně kolmé. Řádnému paprsku přepíšeme index lomu  $n_o$ , mimořádnému index lomu  $n_e$ . V důsledku tohoto chování dvojlomného materiálu na konci vzorku tloušťky  $d$  mají oba paprsky různou fázi  $\phi$ , rozdíl mezi nimi má velikost

$$\delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda_0}(n_o - n_e)d,$$

kde  $\lambda_0$  je vakuová vlnová délka použitého světla. Protože však náš výpočet budeme konat pro nekoherentní situaci, nebudeme se zde fázovým členem zabývat podrobněji, než že oba paprsky vzorek opouští s fází různou, přestože do něj vstoupily s fází stejnou. Jelikož jsou ale polarizace obou paprsků na sebe kolmé, nebudou mít tendenci skládat se přímo (viz podmínky interference), ale fázový posun mezi nimi povede právě ke vzniku elipticky polarizované vlny za vzorkem.



Obě dosud zkonstruované vlny dopadají na analyzátor, kde jsou zpracovány obvyklým způsobem, tedy každá zvlášť promítnuty do propustného směru  $\vec{a}$  analyzátoru. Tím vznikají dvě komponenty, které již za polarizátorem mají shodný směr polarizace a mohou se přímo složit. Předpokládáme-li nekoherentní zdroj původního osvětlení, bude i toto skládání nekoherentní - nejdříve je potřeba určit světelné intenzity jednotlivých vln (jako čtverce jejich amplitud) a teprve ty sečíst. Pro přehlednost označíme jednotlivé složky po průchodu analyzátozem přidáním indexu  $a$ .

S využitím pravoúhlých trojúhelníků můžeme napsat

$$E_{ao} = E_o \sin \varphi = E_p \cos \varphi \sin \varphi \quad E_{ae} = E_e \cos \varphi = E_p \sin \varphi \cos \varphi.$$

V souladu s předpokladem nekoherentního skládání (předpokládáme, že vzorek je natolik tlustý, že po cestě v něm jednotlivé paprsky díky různým nehomogenitám ztratí fázovou vazbu na to, že vznikly ze společné vlny) nyní určíme intenzitu vystupujícího světla jako

$$I_a = I_{ao} + I_{ae} \approx (E_{ao})^2 + (E_{ae})^2 = 2E_p^2 \cos^2 \varphi \sin^2 \varphi \approx I_p \sin^2(2\varphi).$$

Z tohoto vztahu je zřejmé, že při otáčení vzorku na podložce bude výstupní intenzita  $I_a$  kolísat od nulové hodnoty až do hodnoty maximální ( $I_p$ ). Protože goniometrická funkce vystupuje ve výsledném vztahu v kvadrátu a ještě je přítomen dvojnásobný argument, na jednu otočku vzorku o 360 stupňů budou připadat čtyři zjasnění a čtyři vyhasnutí výstupního signálu. Tato čtyři zjasnění a vyhasnutí jsou typickým projevem přítomnosti dvojlomu mezi polarizátory. Při vizuálním pozorování v místech zjasnění navíc vzorek samozřejmě může opticky sledovat a v rámci mikroskopie tak na něm rozlišit potřebné detaily.

Případem, kdy by popsáný mikroskop mohl selhat, by bylo vložení materiálu, který sice není dvojlomný, ale je opticky aktivní (průchodem takovým vzorkem se stáčí rovina polarizace světla) - jako například některé organické látky (cukr...). Tehdy bychom pozorovali slabou, ale trvalou intenzitu prošlého světla bez ohledu na otáčení vzorkem.

Potvrdit, že tato situace skutečně nastala, se dá také pomocí analyzátoru: lineárně polarizované světlo s pouze pootočeným směrem polarizace lze zcela eliminovat natočením analyzátoru do vhodného směru. Pokud by před analyzátozem bylo světlo elipticky polarizované (a tedy dvojlomný vzorek), nikdy bychom jej takto nemohli eliminovat. Tímto způsobem lze vlastně polarizační mikroskop použít také k měření stáčitosti (pokud máme objímky polarizátorů úhlově kalibrované).

**Měření tloušťky retinálních nervových vláken - metoda GDx**

## Měření tloušťky retinálních nervových vláken - metoda GDx

Přirozenou vlastností vláken optického nervu je jejich dvojlomnost. Z toho vyplývá, že by v principu mělo být možné provádět jejich analýzu s pomocí polarizačního mikroskopu. Narozdíl od standardní sestavy, která se většinou používá na průchod však zjevně musí v případě proměřování retinálních vláken dojít k osvětlení na odraz.

Jak bylo popsáno u polarizačního mikroskopu, není rozhodující, v jaké orientaci jsou vůči sobě polarizátor a analyzátor. To v případě osvětlení na odraz skýtá možnost podržet v zařízení jediný polarizátor, kterým světlo projde cestou ke vzorku (P) a ještě jednou po cestě od vzorku (A). Formálně vzato tím vytvoříme polarizační mikroskop se souhlasně orientovanými polarizátory. Přínos takového uspořádání spočívá v možnosti investice ušetřených finančních prostředků do kvality polarizátoru, která je pro chod zařízení klíčová.

Navíc, narozdíl od běžných makroskopických vzorků, jsou vlákna velmi tenká (řádově mikrometr) a neobsahují tak dostatečné množství nehomogenit, které by způsobily dekoherenci dopadajícího světla při průchodu vláknem (tam a zpět). Tohoto zachování koherence využijeme při konstrukci přístroje GDx.

Protože musíme studovat koherentní podmínky, zahrneme (narozdíl od běžného polarizačního mikroskopu) do naší analýzy podrobně také fázový člen postupujících elektromagnetických vln. Jak se ukáže, bude to právě tento člen, který umožní určit tloušťku nervových vláken.

Předpokládejme, že na polarizátor ze zdroje dopadá podél osy  $z$  přirozené (nepolarizované) světlo intenzity  $I_0$ . V místě  $z = z_0$  nechť je umístěn polarizátor se směrem propustnosti  $\vec{p}$ . Těsně za polarizátorem můžeme prošlé světlo popsat rovinnou vlnou

$$\vec{E} = \vec{E}_p \cos(\omega t - k z_0),$$

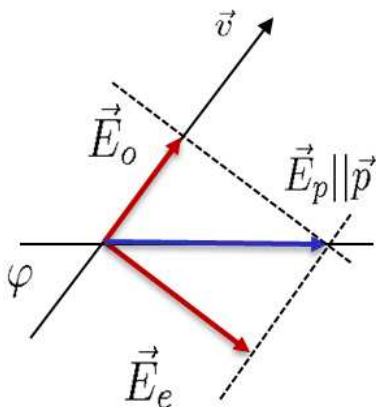
kde  $\vec{E}_p \parallel \vec{p}$  a  $|E_p|^2 \approx I_0/2$ . Připomeňme, že pro vlnový vektor  $\vec{k}$  platí  $k = \frac{2\pi}{\lambda_0} n$ , kde  $\lambda_0$  je vakuová vlnová délka použitého světla a  $n$  index lomu prostředí, ve kterém se světlo momentálně pohybuje.

Světlo dále pokračuje v letu vzduchem až k oku, do kterého vstoupí a projde všemi jeho strukturami až k sítnici, kde narazí na vlákna optického nervu. Kromě vláken samotných budeme uvažovat všechna ostatní prostředí za nedvojlomná, a jediný důsledek pro paprsek, který prolétá vzduchem o okem je tak příbrání fáze  $\phi$ , která odpovídá součtu jednotlivých optických drah,

$$\phi = \frac{2\pi}{\lambda_0} (n_1 d_1 + n_2 d_2 + n_3 d_3 + \dots),$$

kde  $n_1$  a  $d_1$  jsou index lomu vzduchu a tloušťka jeho vrstvy mezi polarizátorem a okem,  $n_2$  a  $d_2$  se vztahují k rohovce a tak dále. Těsně před dopadem na vlákno tedy rovinná vlna má tvar

$$\vec{E} = \vec{E}_p \cos(\omega t - k(z_0 + \phi)).$$



V okamžiku vstupu světla do vlákna optického nervu způsobí jeho dvojlom rozdělení světelné vlny na řádný (o) a mimořádný (e) paprsek. Jako v každém polarizačním mikroskopu se tak stane promítnutím amplitudy  $\vec{E}_p$  světelné vlny do směru  $\vec{v}$  nervového vlákna. Z pravoúhlých trojúhelníků dostáváme

$$E_o = E_p \cos \varphi \quad E_e = E_p \sin \varphi,$$

a jednotlivé vlny mají tedy tvar

$$\vec{E}_o = \vec{E}_p \cos \varphi \cos(\omega t - k(z_0 + \phi))$$

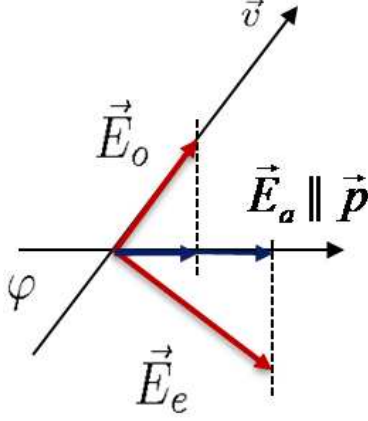
$$\vec{E}_e = \vec{E}_p \sin \varphi \cos(\omega t - k(z_0 + \phi)).$$

Následně putují oba paprsky k zadní stěně vlákna, od které se odrazí a vrátí se zpět na stěnu přední. Přitom jsou ale paprsky polarizovány ve vzájemně kolmých směrech a každý z nich se řídí jiným indexem lomu:  $n_o$  pro paprsek řádný a  $n_e$  pro paprsek mimořádný.

V důsledku toho po průletu tam a zpět vláknem, jehož tloušťka je  $d$ , přibere řádný paprsek fázi  $(2\pi/\lambda_0)n_o2d$ , kdežto mimořádný paprsek přibere fázi  $(2\pi/\lambda_0)n_e2d$ . Jednotlivé vlny tedy v okamžiku, kdy definitivně opouští dvojlovné prostředí mají tvar

$$\vec{E}_o = \vec{E}_p \cos \varphi \cos(\omega t - k(z_0 + \phi + n_o2d))$$

$$\vec{E}_e = \vec{E}_p \sin \varphi \cos(\omega t - k(z_0 + \phi + n_e2d)).$$



Následná cesta zpět okem a vzduchem až k polarizátoru opět přidá pouze fázi  $\phi$ , stejnou pro oba parsy. Těsně před analyzátozem mají tedy vlny tvar

$$\vec{E}_o = \vec{E}_p \cos \varphi \cos(\omega t - k(z_0 + 2\phi + n_o2d))$$

$$\vec{E}_e = \vec{E}_p \sin \varphi \cos(\omega t - k(z_0 + 2\phi + n_e2d)).$$

Analýzátor nyní amplitudu každé z vln promítne do svého směru propustnosti, takže z pravoúhlých trojúhelníků dostáváme

$$E_{ao} = E_o \cos \varphi = E_p \cos^2 \varphi \quad E_{ae} = E_e \sin \varphi = E_p \sin^2 \varphi.$$

Po výstupu z našeho zařízení tedy mají obě vlny konečný tvar

$$\vec{E}_{ao} = \vec{E}_p \cos^2 \varphi \cos(\omega t - k(z_0 + 2\phi + n_o2d))$$

$$\vec{E}_{ae} = \vec{E}_p \sin^2 \varphi \cos(\omega t - k(z_0 + 2\phi + n_e2d)).$$

Protože díky malé tloušťce vláken uvažujeme koherentní skládání těchto vln, musíme použít interferenční vztah

$$I_a = I_{ao} + I_{ae} + 2\sqrt{I_{ao}I_{ae}} \cos \delta,$$

kde  $\delta$  je fázový rozdíl mezi skládanými vlnami. V našem případě

$$\delta = \omega t - k(z_0 + 2\phi + n_e2d) - [\omega t - k(z_0 + 2\phi + n_o2d)] = \frac{2\pi}{\lambda_0}(n_o - n_e)2d.$$

Všimněme si, že tato veličina již obsahuje pouze informaci vážící se k nervovému vláknu - ty její části, které vznikly průchodem nedvojlovným prostředím se vyrušily.

Světelné intenzity jednotlivých vln se spočtou obvyklým způsobem,  $I_{ao} \approx (E_{ao})^2$  a  $I_{ae} \approx (E_{ae})^2$ , takže celkem dostáváme

$$I_a \approx (E_p)^2(\cos^4 \varphi + \sin^4 \varphi + 2 \cos^2 \varphi \sin^2 \varphi \cos \delta).$$

Pokud označíme  $(E_p)^2 \approx I_p$ , můžeme úpravou závorky dostat zjednodušený vztah

$$\frac{I_a}{I_p} = 1 - \sin^2 \frac{\delta}{2} \sin^2(2\varphi).$$

Je vidět, že když budeme otáčet polarizátorem (čímž měníme jeho úhel  $\varphi$  vůči danému vlákně), bude se světelná intenzita opakovaně střídát mezi maximální hodnotou  $I_{\max}(\varphi = 0) = I_p$  a minimální hodnotou  $I_{\min}(\varphi = \pi/4) = I_p \cos^2(\delta/2)$ . Změříme-li obě krajní hodnoty intenzity světla prošlého naším zařízením, můžeme z jejich poměru

$$\frac{I_{\min}}{I_{\max}} = \cos^2 \frac{\delta}{2}$$

určit tloušťku  $d$  nervového vlákna, neboť je to jediná neznámá, ve vztahu zbývajících.

V praxi zařízení pracuje tak, že je nasnímáno množství fotek, lišících se mezi sebou natočením polarizátoru. Z těchto snímků jsou pro jednotlivé pixely nalezeny jejich maximální a minimální hodnoty a v daném místě se tak spočte tloušťka nervového vlákna.

Je potřeba uvědomit si, že vlákna se k místu, kde opouští oko, sbíhají ze všech směrů. Proto na jednotlivých snímcích jsou vždy některá vlákna tmavá, jiná světlá (podle toho, jaká je jejich konkrétní hodnota úhlu  $\varphi$  vůči polarizátoru). Teprve až vyhodnotíme tloušťku vláken v každém bodě obrazu, je možné jejich strukturu z takto získaných dat vykreslit pro vizuální posouzení.

**Hodnoty sférické korekce z měření Zernikových aberací**

## Hodnota sférické korekce z měření Zernikových aberací

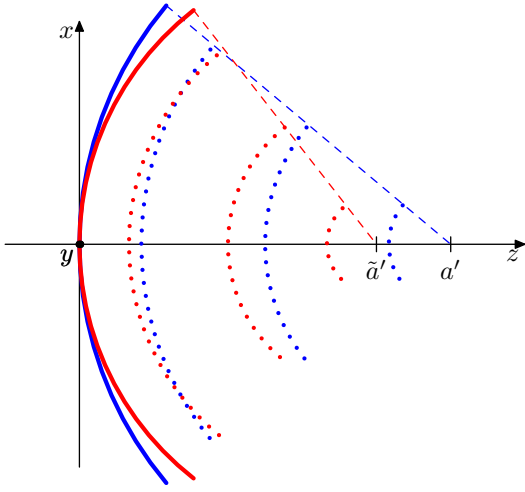
Uvažujme idealizovaný osově souměrný optický systém. Vlnoplochy z bodového předmětu, které takový systém opouští, mají podobu koulí, soustředných v Gaussově ohnisku. Pro reálný systém bude tato vlastnost splněna pouze pro paraxiální paprsky.

Pro jednoduchost uvažujme bodový zdroj světla na optické ose, v bodě  $z = -a$ . Budeme-li uvažovat výstupní aperturu zvoleného optického systému v rovině  $z = 0$ , potom vlnoplocha (koule) této apertury se dotýkající v místě optické osy má tvar

$$x^2 + y^2 + (z - a')^2 = a'^2.$$

Rozborem poslední rovnice vidíme, že Gaussovo ohnisko podle očekávání leží také na optické ose, v bodě  $z = a'$ . Uvažujme jiný systém vlnoploch, které optickou soustavu opouští a fokusují se do osového bodu  $z = \tilde{a}'$ ; takový systém musí být popsán vztahem

$$x^2 + y^2 + (\tilde{z} - \tilde{a}')^2 = (\tilde{a}')^2.$$



Rozdíl mezi dvěma zvolenými vlnami popíšeme pomocí chybové vlnoplochy  $H(x, y)$ , čili  $H(x, y) = \tilde{z} - z$  v rovině apertury. Na obrázku vlevo je znázorněna výstupní apertura optického systému v  $z = 0$  a dva systémy vlnoploch: modře pro idealizované, červeně pro reálné paprsky. Všimněme si, že každý systém vlnoploch představuje posloupnost koulí, soustředných v příslušných ohniskových bodech.

Protože platí všeobecný rozvoj

$$\sqrt{a'^2 - (x^2 + y^2)} \approx a' - \frac{x^2 + y^2}{2a'} + \dots$$

dostáváme

$$H(x, y) \approx \tilde{a}' - a' - \frac{x^2 + y^2}{2} \left( \frac{1}{\tilde{a}'} - \frac{1}{a'} \right) - \dots$$

V úvodu jsme předpokládali, že první z vln by vznikla v idealizované optické soustavě, a druhá že představuje vlnoplochu, která optickým systémem skutečně prošla. Za těchto okolností ovšem musely obě vlny vzniknout z jednoho zdroje ( $\tilde{a} = a$ ). Ze všeobecné zobrazovací rovnice

$$\frac{1}{a} + \frac{1}{a'} = \frac{1}{f}$$

pak musí platit

$$\frac{1}{\tilde{a}'} - \frac{1}{a'} = \frac{1}{f} - \frac{1}{f} = \Delta\phi.$$

Můžeme tedy celkem napsat

$$H(x, y) \approx \tilde{a}' - a' - \frac{x^2 + y^2}{2} \Delta\phi$$

a chybovou vlnoplochu tak již máme vyjádřeno pomocí rozdílu mohutností v dipotriích. Pokud chceme získaný výraz porovnat s Zernikovým rozvojem, musíme z něj extrahovat všechny členy, které přispívají

k činiteli  $\rho^2 = (x^2 + y^2)/R_p^2$ : z nižších aberací tak přímo činí polynom  $Z_2^0$ , ale nepřímo také přispějí členy  $Z_2^{-2}$  a  $Z_2^2$ . Jak uvidíme, tyto nepřímé příspěvky budou realizovány prostřednictvím operací s goniometrickými funkcemi. Vypíšeme-li ze všech členů pouze jejich relevantní části, dostáváme

$$H(x, y) = \left[ 2\sqrt{3}W_2^0 + \sqrt{6}W_2^{-2} \sin(2\theta) + \sqrt{6}W_2^2 \cos(2\theta) \right] \rho^2.$$

S využitím obecně platného vztahu

$$A \cos(2\theta) + B \sin(2\theta) = \sqrt{A^2 + B^2} \cos \left( 2\theta - \arctan \frac{B}{A} \right)$$

můžeme po úpravě napsat

$$\sqrt{6}W_2^{-2} \sin(2\theta) + \sqrt{6}W_2^2 \cos(2\theta) = \sqrt{(\sqrt{6}W_2^{-2})^2 + (\sqrt{6}W_2^2)^2} \left[ 2 \cos^2 \left( \theta - \frac{1}{2} \arctan \frac{W_2^{-2}}{W_2^2} \right) - 1 \right].$$

K defokusu přispěje zjevně až druhý člen v hranaté závorce, první vzhledem ke svému tvaru ( $\rho^2 \cos^2 \theta$ ) bude představovat příspěvek k astigmatismu.

Celkem tedy pro příspěvek defokusu k rozdílu vlnového chodu dostáváme

$$H(x, y) = \left[ 2\sqrt{3}W_2^0 - \sqrt{(\sqrt{6}W_2^{-2})^2 + (\sqrt{6}W_2^2)^2} \right] \frac{x^2 + y^2}{R_p^2}.$$

Uvážíme-li hodnoty, naměřené přístrojem WASCA,  $\sqrt{3}W_2^0 = -14.059 \mu\text{m}$ ,  $\sqrt{6}W_2^{-2} = 0.584 \mu\text{m}$  a  $\sqrt{6}W_2^2 = -1.315 \mu\text{m}$ , dostáváme pro výpočetní poloměr zornice  $R_p = 2.75 \text{ mm}$  hodnotu

$$\Delta\phi = - \left[ -28.118 - \sqrt{(0.545)^2 + (-1.843)^2} \right] \frac{2}{7.5625} = 7.82 \text{ dpt}.$$

Hodnota, kterou z měřených dat vypočetl sám aberometr (7.85 dpt) je v dobré shodě s našim výsledkem. K tomu je potřeba podotknout, že v případě aberometru WASCA jsou normalizační faktory (odmocniny v Zernikových polynomech) již zahrnuty do číselných hodnot, narozdíl od definice, kterou jsme použili my. Podobně lze zvážit, že naše definice chybové vlnoplochy  $H(x, y)$  má opačně definované znaménko, než je tomu u přístroje WASCA, kde se zřejmě odečítá vlnoplocha reálná od vlnoplochy idealizované.

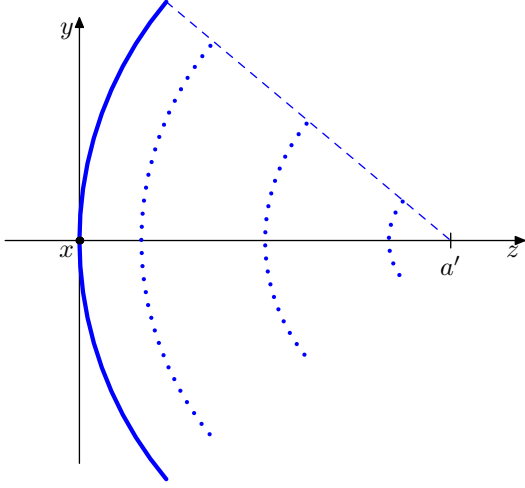


**Hodnoty cylindrické korekce z měření Zernikových aberací**

## Hodnoty cylindrické korekce z měření Zernikových aberací

Uvažujme osově souměrnou optickou soustavu s výstupní aperturou v  $z = 0$ . Ideální vlnoplocha ji bude opouštět jako kulová, přičemž se bude fokusovat do bodu  $z = a'$ . Takové chování popisuje křivka

$$x^2 + y^2 + (z - a')^2 = a'^2$$



Věnujme se nyní případu, kdy je v reálném systému přítomen astigmatismus. V takovém případě již nejsou vlnoplochy fokusovány stejně silně ve všech řezech. Nejjednodušším modelem, kterým můžeme uvedené chování popsat, je vlnoplocha tvaru elipsoidu: v řezu osy  $x$  bude mít taková vlnoplocha jinou křivost, než v řezu osy  $y$ . Pro jednoduchost zvolme elipsoid tak, aby v řezu osy  $y$  ( $x = 0$ ) měl tvar totožný s idealizovanou vlnoplochou (viz obrázek vlevo).

Taková vlnoplocha může mít tvar například

$$\alpha^2 x^2 + y^2 + (\tilde{z} - a')^2 = a'^2.$$

Vzhledem k platnosti všeobecného rozvoje

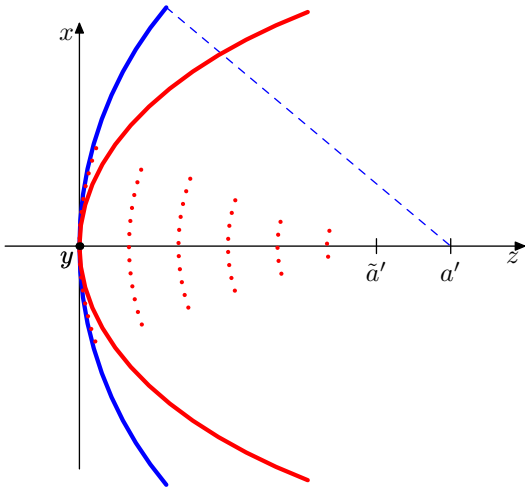
$$\sqrt{A^2 - X^2} \approx A - \frac{X^2}{2A} - \frac{X^4}{8A^3} + \dots$$

můžeme vyjádřit rozdíl vlnového chodu  $H(x, y) = \tilde{z} - z$  ideální a reálné vlnoplochy jako

$$H(x, y) \approx \frac{x^2(1 - \alpha^2)}{2a'}.$$

Vyjádříme nyní uvedenou chybovou vlnoplochu s použitím astigmatického rozdílu (v dioptriích). Víme, že v řezu roviny  $y$  ( $x = 0$ ) je reálná vlnoplocha díky naší volbě totožná s vlnoplochou idealizovanou a fokusuje se tedy do bodu  $z = a'$ . V řezu roviny  $x$  ( $y = 0$ ) má ale reálná vlnoplocha tvar elipsy

$$\frac{x^2}{a'^2/\alpha^2} + \frac{(\tilde{z} - a')^2}{a'^2} = 1.$$



Chceme-li určit místo  $\tilde{a}'$  na ose  $z$ , kam se vlnoplochy takového tvaru (červená křivka na obrázku vlevo) budou fokusovat, musíme spočítat křivost  $\kappa$  uvedené elipsy v jejím vrcholu. Křivost je převrácená hodnota poloměru křivosti a je definována jako  $\kappa = A/B^2$ , kde  $A$  a  $B$  jsou poloosy elipsy. Hledané místo, kam se původně eliptická vlnoplocha fokusuje je pak převrácenou hodnotou křivosti. Všimněme si, že eliptická vlnoplocha se (na rozdíl od vlnoplochy kulové) nefokusuje jako stále se zmenšující se elipsa; fyzikálně správnému chování odpovídá paraxiální fokusace podle křivosti elipsy v místě jejího vrcholu (tečkované křivky v obrázku vlevo).

V našem případě

$$\kappa = \frac{A}{B^2} = \frac{a'}{a'^2/\alpha^2} = \frac{\alpha^2}{a'},$$

a odtud

$$\frac{1}{\tilde{a}'} = \kappa = \frac{\alpha^2}{a'}.$$

Protože v obou řezech pozorujeme paprsky z jednoho zdroje, musí platit  $a = \tilde{a}$  a ze všeobecné zobrazovací rovnice

$$\frac{1}{a} + \frac{1}{a'} = \frac{1}{f}$$

tak dostáváme

$$\frac{1}{\tilde{a}'} - \frac{1}{a'} = \frac{1}{\tilde{f}_m} - \frac{1}{f_s} = \Delta\phi_A.$$

kde  $\Delta\phi_A$  je astigmatický rozdíl. V našem případě za rovinu sagitální a meridionální vezmeme řezy v rovinách  $x$  a  $y$  a celkem tak dostáváme

$$\Delta\phi_{\text{ast}} = \frac{\alpha^2 - 1}{R}.$$

Tento získaný tvar lze přímo dosadit do chybové vlnoplochy, čímž získáváme

$$H(x, y) \approx -\frac{x^2}{2} \Delta\phi_{\text{ast}}.$$

K chybové vlnoploše nyní přistoupíme z druhé strany, z Zernikova rozvoje. K Seidelově astigmatismu budou přispívat členy, obsahující (i nepřímo) výrazy  $\rho^2 \cos^2 \theta$ , čili

$$W_2^{-2} \sqrt{6} \rho^2 \sin(2\theta) + W_2^2 \sqrt{6} \rho^2 \cos(2\theta).$$

Je pouze potřeba pamatovat na to, že v Zernikově rozvoji je  $\rho$  bezrozměrná veličina,  $\rho^2 = (x^2 + y^2)/R_p^2$ . Podobně jako v případě sférické korekce použijeme identitu

$$A \cos(2\theta) + B \sin(2\theta) = \sqrt{A^2 + B^2} \cos\left(2\theta - \arctan \frac{B}{A}\right),$$

takže můžeme napsat

$$W_2^{-2} \sqrt{6} \rho^2 \sin(2\theta) + W_2^2 \sqrt{6} \rho^2 \cos(2\theta) = \sqrt{(\sqrt{6} W_2^{-2})^2 + (\sqrt{6} W_2^2)^2} \left[ 2 \cos^2\left(\theta - \frac{1}{2} \arctan \frac{W_2^{-2}}{W_2^2}\right) - 1 \right],$$

neboť

$$\cos(2\theta - X) = \cos\left(2\left(\theta - \frac{X}{2}\right)\right) = \cos^2\left(\theta - \frac{X}{2}\right) - \sin^2\left(\theta - \frac{X}{2}\right) = 2 \cos^2\left(\theta - \frac{X}{2}\right) - 1$$

z goniometrické jedničky. Z uvedeného výrazu přispěje k astigmatismu pro svůj vhodný tvar pouze první člen v hranaté závorce (druhý přispívá ke sférické korekci). Porovnáním obou výrazů pro chybovou vlnoplochu nakonec dostáváme

$$\Delta\phi_{\text{ast}} = -\frac{4}{R_p^2} \sqrt{(\sqrt{6} W_2^{-2})^2 + (\sqrt{6} W_2^2)^2} = 0.76 \text{ dpt},$$

kde ve výpočtu byly použity hodnoty  $\sqrt{6} W_2^{-2} = 0.584 \mu\text{m}$  a  $\sqrt{6} W_2^2 = -1.315 \mu\text{m}$  z aberometru WASCA pro uvedený výpočetní poloměr zornice  $R_p = 2.75 \text{ mm}$ . Povšimněme si, že normalizační faktory (odmocniny) jsou u firmy Zeiss již zahrnuty v číselných hodnotách. Kromě celkové hodnoty astigmatického rozdílu je možné také stanovit úhel natočení os astigmatismu. Podle výrazu pro příspěvek Zernikových polynomů k Seidelovu astigmatismu je to právě

$$\frac{1}{2} \arctan \frac{W_2^{-2}}{W_2^2} = 11.9^\circ.$$

v souladu s hodnotou vypočítanou aberometrem ( $12^\circ$ ).

Důvodem, proč si méně přesně odpovídají velikosti vypočtených astigmatismů (WASCA udává 0.96 dpt) je nepřesnost našeho modelu: elipsoid, který nám umožnil astigmatický rozdíl poměrně jednoduše spočítat, je přílišným zjednodušením reálného tvaru vlnoplochy. Na druhé straně, chyba našeho výpočtu je i tak menší než čtvrt dioptrie.

**Lupa**

## Lupa

Velikost předmětu, který vnímáme zrakem, posuzujeme podle toho, kolik receptorů na sítnici fotony předmětem vyslané (včetně odražených) aktivují. Zcela zjevně, čím více zasažených receptorů, tím více informací mozek získává a objekt je tak viděn s "většími detaily". O tom jak velkou oblast na sítnici paprsky z daného předmětu zasáhnou, rozhoduje (kromě celkové mohutnosti konkrétního oka) úhel  $\xi$ , pod kterým předmět pozorujeme, neboť pro velikost  $y'_{prime}$  obrazu (zda ne sítnici) platí

$$y' = f_{oko} \tan \xi.$$

Pro emetropické oko ve stavu akomodačního klidu můžeme z Gullstrandova modelu počítat  $\phi = 59.94$  dpt a tedy  $f_{oko} = 1/\phi = 16.68$  mm. V paraxiálním prostoru tak na každý stupeň zorného pole připadá velikost obrazu na sítnici asi  $y' = 0.29$  mm/°. Předpokládejme (mírně nepřesně) že příčná velikost světločivých zakončení obou typů receptorů je asi  $2 \mu\text{m}$ . Jsou-li tedy receptory umístěny těsně jeden vedle druhého (jak si můžeme představovat, že se děje blízko žluté skvrny), dostáváme při zobrazení asi 145 aktivovaných receptorů (bytů informace) na každý stupeň velikosti pozorovaného předmětu.

Je-li například předmět velký 1 mm, jeho obraz na sítnici má skutečnou velikost asi  $16.7 \mu\text{m}$  (zabere asi osm receptorů) při pozorování ze vzdálenosti 1 m, kdežto velikost asi  $66.7 \mu\text{m}$  (zabere asi 33 receptorů) při pozorování z konvenční zrakové vzdálenosti  $d = 250$  mm. Rozdíl v počtu zasažených receptorů, a tím v množství předaných detailů, je markantní.

Přímočaré myšlenky zvětšit úhel, pod kterým předmět vidíme, tím, že jej ještě více přiblížíme oku stojí v cestě fakt, že konvenční vzdálenost zhruba odpovídá blízkému bodu - když předmět přiblížíme přes tuto hranici, již jej nejsme schopni zaostřit a jeho pozorovanou velikost tak nevyužijeme.

Jak ovšem ukážeme, existuje způsob, jak uvedené omezení překonat. Za tím účelem budeme potřebovat spojnou čočku dostatečné mohutnosti; přístroj, který takto vytvoříme, se jmenuje lupa. Spojnou čočku lze v roli lupy dvěma základními způsoby: první z nich je pohodlný, neboť pozorujeme neakomodačním okem, druhý z nich akomodaci vyžaduje, poskytuje však vyšší hodnotu zvětšení.

První metoda spočívá v konfiguraci, kdy předmět umístíme přesně do ohniskové roviny lupy, jak je znázorněno na obrázku. Potom nutně z lupy vystupuje rovnoběžný svazek paprsků, který můžeme pozorovat neakomodačním okem a tím pádem ve velkém rozsahu vzdáleností oka od lupy.

Všimněme si paprsku, který prochází středem lupy: jeho směr se (nikdy) nemění. Z předešlého vyplývá, že i ostatní paprsky za spojkou letí rovnoběžně s tímto hlavním paprskem, a tedy v původním směru. To ale znamená, že úhel, pod kterým předmět díky použití lupy vidíme, je stejný jako ten, pod kterým ho vidí přiložená lupa. Pokud tedy bude lupa přiložena k předmětu blíže, než je konvenční zraková vzdálenost  $d$  (resp. blízký bod konkrétního pozorovatele), došlo k efektivnímu úhlovému zvětšení objektu. Přitom objekt stále zaostříme, neboť efektivně z něj paprsky vystupují, jakoby předmět byl v nekonečnu (rovnoběžný svazek) a oko nebude s akomodací mít problém.

Z této úvahy také vyplývá, že pro běžného pozorovatele nemá smysl použít jako lupu spojkou s ohniskem delším než  $d$ , čili s mohutností menší, než čtyři dioptrie.

Podívejme se nyní, jaké jsou velikosti obrazu na sítnici při pozorování předmětu s lupou a bez ní. Zavedeme pojem úhlového zvětšení  $\beta$  jako poměru dosažitelných velikostí:

$$\beta = \frac{y'_{lupa}}{y'_{oko}} = \frac{f_{oko} \tan \xi_{lupa}}{f_{oko} \tan \xi_{oko}}.$$

Jelikož skutečná velikost předmětu  $l$  je nezávislá na přiložení lupy, dostáváme z pravoúhlých trojúhelníků při uvažovaných konfiguracích

$$\beta = \frac{l/f_{lupa}}{l/d} = \frac{d}{f_{lupa}}.$$

Nyní se potvrzuje, že musí platit  $f_{lupa} < d$ , jinak je  $\beta < 1$  a přiložení příliš slabé spojky celou situaci zhoršilo.

Druhá varianta spočívá v zapojení plné lomivé síly oka do pozorování lupou. Pokud předmět k lupě oproti předchozímu případu ještě o něco přiblížíme, přestává vznikat skutečný obraz. Pokud ale přiblížení není

velké, může se oku podařit akomodací ještě svazek úspěšně zaostřit na sítnici. V celku potom složená soustava čočka+oko má předmět umístěný ve svém blízkém bodě.

Pro odvození vztahů, popisujících tuto konfiguraci použijeme model dvou (tenkých) čoček těsně za sebou. Jak víme, jejich výsledná mohutnost  $\phi$  je rovna součtu jejich jednotlivých mohutností,

$$\phi = \phi_{\text{oko}} + \phi_{\text{lupa}}.$$

Podle zobrazovací rovnice rozhodně platí

$$\frac{1}{a} + \frac{1}{a'} = \phi,$$

(používáme konvenci, ve které jsou všechny vzdálenosti kladné). Pro oko samotné ovšem ze stejného důvodu můžeme při pozorování v konvenční vzdálenosti napsat

$$\frac{1}{d} + \frac{1}{a'} = \phi_{\text{oko}}.$$

Přitom obrazové vzdálenosti  $a'$  jsou v obou posledních rovnicích stejné - obraz vždy vzniká přesně na sítnici, a ta svou polohu v oku nemění. Vzájemným dosazením posledních tří rovnic dostáváme

$$\frac{1}{a} = \frac{1}{d} + \phi_{\text{lupa}}.$$

Nyní stačí již jen dosadit do definice zvětšení:

$$\beta = \frac{y_{\text{lupa}}}{y_{\text{oko}}} = \frac{(a'/a)l}{(a'/d)l},$$

přičemž jsme opět využili vhodných pravoúhlých trojúhelníků. Po dosazení z předposlední rovnice dostáváme konečný výsledek

$$\beta = \frac{1/d + \phi_{\text{lupa}}}{1/d} = \frac{d}{f_{\text{lupa}}} + 1.$$

Vidíme, že proti první metodě je zde zvětšení vždy o jedničku vyšší (tedy např. 6x namísto 5x), což nám také v případě nouze umožňuje použít i slabší čočku v roli lupy (všimněme si, že zvětšení je při této metodě pro libovolnou spojku vždy větší než jedna).

Jak již ale bylo řečeno, daní za tento typ pozorování je nutnost akomodace, která může při delším pozorování být únavná. Všimněme si také, že výpočet bylo možné provést tak, že konkrétní hodnotu mohutnosti akomodovaného oka nebylo potřeba znát, a že tedy uvedený výsledný vztah platí pro libovolné oko.

**Světelný mikroskop**

## Světelný mikroskop

Jendoduchým příkladem dvoukomponentového optického systému je hvězdářský dalekohled, skládající se z objektivu a okuláru. Jejich vzájemné postavení je přitom konstrukčně takové, že splývají příslušná předmětová a obrazová ohniska. Ze zobrazovací rovnice potom vyplývá, že alespoň v paraxiálním prostoru platí, že vstoupí-li do takového dalekohledu rovnoběžný svazek paprsků, také dalekohledu jako rovnoběžný svazek opustí. Změní se pouze velikost svazku; zvětšení přitom odpovídá poměru ohniskových vzdáleností objektivu a okuláru.

Příkladem dvoukomponentového optického systému je také mikroskop. Jeho konstrukce se ovšem od hvězdářského dalekohledu liší, protože mikroskop má plnit jiné úkoly: vystavá všude tam, kde potřebujeme zvětšit blízký předmět za účelem pozorování jemných detailů na tomto předmětu.

Teoreticky by na takový úkol měla stačit lupa s dostatečně silným zvětšením, ale v praxi se ukazuje, že při zvětšeníh kolem 20x již zobrazení lupou není použitelné (problémy se zorným polem a osvětlením pozorovaného předmětu) a do hry vstupuje mikroskop se svou sofistikovanější konstrukcí.

Přidáním druhé komponenty (objektiv mikroskopu) je dosaženo, že okulárem stále ještě pozorujeme jako lupou, ale nikoliv již předmět samotný, ale meziobraz, vytvořený objektivem, kterým již je proti samotnému předmětu zvětšený. V důsledku jsou maximální zvětšení prakticky dosažitelná mikroskopem řádově větší než při použití samotné lupy.

Z hlediska konstrukčního je klíčovým prvkem mikroskopu nastavení, kdy objektiv a okulár jsou vůči sobě fixovány tak, že jejich příslušná ohniska jsou od sebe vzdáleny o tzv. tubusovou vzdálenost  $\Delta$ . Protože je tím znemožněno ostření systému vnitřními pochody, logicky se ostření provádí pohybem vzorku vůči mikroskopu jako celku.

Chceme-li nyní odvodit konkrétní vztahy, popisující chování mikroskopu, nezbývá než naplnit definice uvedené výše. Předpokládáme objektiv s ohniskovou vzdáleností  $f_{ob}$ . Potřebujeme nyní, aby se obraz předmětu vytvořil v místě předmětové roviny okuláru, a tedy ve vzdálenosti  $a' = f_{ob} + \Delta$  za objektivem. Do jaké vzdálenosti  $a$  pro to před objektiv umístít vzorek, určuje zobrazovací rovnice:

$$\frac{1}{a} + \frac{1}{f_{ob} + \Delta} = \frac{1}{f_{ob}},$$

(pro jednoduchost používáme znaménkovou konvenci, ve které jsou všechny veličiny kladné). Ponechme zatím hodnotu  $a$  číselně neurčenou a věnujme se velikosti obrazu, který takto vznikne. Podle definice zvětšení  $\beta$  pro naši zobrazovací soustavu platí

$$\beta_{ob} = \frac{y'}{y} = \frac{a'}{a} = \frac{f_{ob} + \Delta}{a}.$$

Dosadíme-li nyní z připravené zobrazovací rovnice, můžeme psát

$$\beta_{ob} = (f_{ob} + \Delta) \left( \frac{1}{f_{ob}} - \frac{1}{f_{ob} + \Delta} \right) = \frac{f_{ob} + \Delta}{f_{ob}} - 1 = \frac{\Delta}{f_{ob}}.$$

Vidíme, že především musíme volit  $f_{ob} < \Delta$ , aby došlo ke vzniku meziobrazu zvětšeného. Jak ukazujeme v rozboru lupy, při pozorování neakomodovaným okem (první metoda - za lupou vystupují rovnoběžné svazky) je tento obraz okulárem dále ještě  $d/f_{ok}$  krát zvětšen. Pro celkové zvětšení mikroskopu tedy můžeme napsat

$$\beta_{mik} = \beta_{ob}\beta_{ok} = \frac{\Delta}{f_{ob}} \frac{d}{f_{ok}}.$$

Fakt, že celkové zvětšení mikroskopu se vypočte jako součin zvětšení objektivu a okuláru umožňuje pohodlně konstruovat mikroskopy s výměnnými objektivy i okuláry - požadovaného zvětšení dosáhneme výběrem vhodného páru.

Údaj zvětšení (spolu s dalšími informacemi) bývá na objektivě (obvykle 20x, 50x, až 100x) a okulárech (obvykle 5x, 10x, 15x) vyznačen. U okulárů se jedná o poměrně bezpečnou informaci (konvenční zraková vzdálenost je jen jedna), u objektivů je vhodné vědět, jakou tubusovou vzdálenost výrobce k výpočtu zvětšení použil (bývá 150 mm až 250 mm).



Hodnoty zvětšení okulárů uvedené v předchozím odstavci diktuje skutečnost, že se stále jedná o lupy, takže jejich zvětšení musí být v rozmezí 4x až asi 20x. Uvedené hodnoty zvětšení objektivů odpovídají praxi, kdy pořizovat celková zvětšení vyšší než asi 1000x již nepřináší novou informaci (do hry silně vstupuje difrakce).

Na závěr se z uvedeného můžeme vrátit k odhadu potřebné vzdálenosti  $a$  předmětu od objektivu. Pro mikroskop s  $\Delta = 190$  mm má objektiv se zvětšením 50x ohniskovou vzdálenost  $f_{\text{ob}} = 3.80$  mm (což odpovídá mohutnosti asi 263 dpt, a značně tedy převyšuje lomivou sílu lidského oka). Úpravou zobrazovací rovnice dostáváme

$$\frac{1}{a} = \frac{1}{f_{\text{ob}}} - \frac{1}{f_{\text{ob}} + \Delta},$$

a pro naše hodnoty tedy

$$\frac{1}{a[\text{mm}]} = \frac{1}{3.80} - \frac{1}{3.80 + 190} = \frac{1}{3.87}.$$

To znamená, že obraz leží vně předmětového ohniska objektivu (pochopitelně, jinak by se nemohl vytvořit skutečný obraz v mezirovíně pro okulár), ale v jeho těsné blízkosti - pouhých  $70 \mu\text{m}$  před ním.

Co se týká praktického nastavení pozorovacího místa, mozek ve spojení s okem vše zařizuje sám od sebe: zkoušíme posouvat vzorek blíž a dál k objektivu tak dlouho, dokud se nevytvoří ostrý obraz, který se nám pohodlně pozoruje. V pohodlnosti pozorování ostrého obrazu je skryt požadavek na neakomodované oko, který vyžaduje rovnoběžné svazky vystupující z okuláru, a to zpětně vyžaduje námi vypočtenou polohu vzorku vůči objektivu, která je tímto automaticky správně nastavena.

## **Optická koherentní tomografie (OCT)**

## Optická koherentní tomografie (OCT)

K získání prostorových řezů tkání se v medicínském zobrazování používá zpravidla ultrazvuku. Jeho výhodou je, že hloubky průniku jsou dostatečné k zobrazení celého profilu lidského těla. Nevýhodou je nedostatečné rozlišení získaných obrazů.

Oproti tomu užití světla v podobné konfiguraci by slibovalo rozlišení velké, ale hloubka průniku je poměrně malá (těla jsou neprůhledná). Problém hloubky průniku lze obcházet dvěma způsoby: buďto se zaměříme na tkáně, které jsou více méně průhledné (jako třeba u oka), nebo použijeme infračervené světlo, které díky své (delší) vlnové délce proniká i do neprůhledných tkání hlouběji, než světlo viditelného spektra.

Zásadním problémem zobrazování pomocí světla ovšem zůstává nemožnost použít metodu B-skenů: zatímco ultrazvuku (rychlost šíření ve vodě přibližně 1470 m/s) trvá cesta tkání k odrazující vrstvě a zpět řádově mikrosekundy (přesně 10  $\mu$ s pro odraz od rozhraní vzdáleného 7.35 mm), světlo (rychlost šíření ve vodě přibližně 225 407 km/s) stejnou dráhu urazí za neměřitelný zlomek času (k uvažovanému rozhraní a zpět za 49 pikosekund).

Tuto překážku je třeba obejít; ukazuje se, že vhodným nástrojem jsou interferenční měření: interference totiž převádí rozdíly v optické dráze (přitom jednu vlnovou délku urazí ve vodě například červený foton s  $\lambda = 633$  nm za 0.002 ps) na dlouhodobě pozorovatelný jev - interferenční obrazec - a snímá tím z nás nutnost měřit časové zlomky nanosekund. Právě této vlastnosti využijeme ke konstrukci principu OCT.

Jádrem celého zařízení bude interferometr, v našem případě Michelsonův. Jeho svislé rameno je zakončeno pomocným zrcadlem (m), ve vodorovném rameni (f) je umístěn vzorek, u kterého předpokládáme existenci vnitřních rozhraní, od kterých se světlo může částečně odrazet zpět. Pro jednoduchost vyhodnotíme odezvu přístroje na prvním rozhraní, situace s vícevrstevným vzorkem je obdobná a nepřináší již žádný nový princip.

Na polopropustnou destičku interferometru nechť dopadá ve směru osy  $z$  rovinná vlna

$$\vec{E} = E_0(k) \cos(\omega t - kz).$$

Po průchodu polopropustnou destičkou se objevují dvě vlny, jedna v referenčním rameni a jedna v měřicím rameni,

$$\vec{E}_m = \frac{E_0(k)}{\sqrt{2}} \cos(\omega t - kz) \quad \vec{E}_f = \sum \frac{E_0(k)}{\sqrt{2}} \cos(\omega t - kz)$$

(odmocnina ze dvou se objevuje proto, že po umocnění amplitud musíme pro každou z vln dostat polovinu původní světelné intenzity).

Vlna v referenčním rameni putuje nahoru k zrcadlu; za tuto cestu přibere fázi  $k \cdot l_m$ , takže těsně před odrazem ji můžeme napsat jako

$$\vec{E}_m = \frac{E_0(k)}{\sqrt{2}} \cos(\omega t - k[z + l_m]).$$

Je-li zrcadlo popsáno koeficientem odrazivosti  $R_r = r_r^2$ , má po odrazu vlna tvar

$$\vec{E}_m = \frac{E_0(k)}{\sqrt{2}} r_r \cos(\omega t - k[z + l_m]),$$

a návratem zpět k polopropustné desce přibere ještě jednu fázový rozdíl  $k \cdot l_m$ . Poté, co deskou znovu projde, směrem k detektoru postupuje výsledná vlna

$$\vec{E}_m = \frac{E_0(k)}{2} r_r \cos(\omega t - k[z + 2l_m]).$$

Protože v rameni se vzorkem budeme uvažovat pouze první odraz, je celá situace velmi podobná referenčnímu rameni a za polopropustnou destičkou postupuje k detektoru vlna

$$\vec{E}_l = \frac{E_0(k)}{2} r_s \cos(\omega t - k[z + 2l_f]).$$

Jediné dvě změny se týkají odrazivosti  $r_s$  stěny vzorku a její vzdálenosti  $l_f$  od polopropustné destičky. V případě, že bychom uvažovali vrstevnatý vzorek, ураžená optická dráha by se skládala navíc ještě ze součtu členů typu  $n_i d_i$ , které by odpovídaly přibrané fázi v jednotlivých vrstvách (tloušťek  $d_i$  a indexů lomu  $n_i$ ).

Vlny z obou ramen jsou koherentní, použijeme proto k jejich složení interferenční vztah

$$I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos \delta,$$

kde  $I_1$  a  $I_2$  jsou světelné intenzity jednotlivých vln (úměrné čtvercům jejich amplitud) a  $\delta$  je jejich fázový rozdíl, v našem případě  $\delta = 2k(l_f - l_m)$ . Po dosazení dostáváme

$$I(k) = \frac{I_0(k)}{4}(R_r + R_s) + 2I_0(k)\sqrt{R_r R_s} \cos(2k[l_f - l_m]),$$

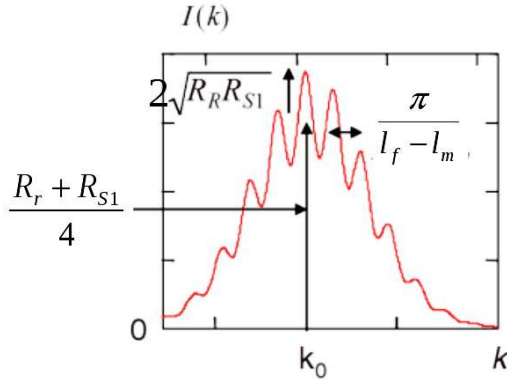
kde  $I_0(k) = E_0^2(k)$ .

Klíčový obrat nastane, pokud do zařízení nevpuštíme jenom jednu rovinnou vlnu, ale mnoho vln o blízkých frekvencích. Takový útvar se nazývá vlnové klubko (je popsán centrální frekvencí, odpovídající  $k_0$ , a pološířkou klubka  $\Delta k$ ); zdroje, které taková klubka produkují, označujeme jako difuzní.

Za těchto okolností vidíme, že první člen výsledného výrazu (odpovídal by nekoherentnímu složení vln) v sobě nenese žádnou zajímavou informaci: je to pouze kopie vstupního rozložení intenzit  $I_0(k)$  v klubku, zmenšená odrazivostí jednotlivých částí přístroje.

Velmi zajímavý je naopak druhý člen. Přestože rozdíl  $l_f - l_m$  je konstanta, různé vlny v klubku mají různé hodnoty vlnové čísla  $k$  a tím pádem pro některé z vln klubka bude kosinus maximální, kdežto pro jiné minimální. Vzdálenost dvou po sobě jdoucích maxim je

$$k' - k = \frac{\pi}{l_f - l_m}.$$



V analýze OCT tedy docházíme k následujícímu závěru: při použití difuzního zdroje je na výstup zařízení přenesen zeslabený profil intenzity vstupního klubka, přes který je přeložena modulace interferenčními maximy a minimy. Přitom z rychlosti střídání těchto maxim a minim a z jejich rozkmitu (ten je dán faktorem před odmocninou v interferenčním vztahu) můžeme určit vzdálenost rozhraní, na kterém došlo k odrazu.

Tímto způsobem je možné získat 3D zobrazení studovaného objektu pomocí optické koherentní tomografie.

V případě, že bychom uvažovali uvnitř vzorku další rozhraní, zkomplikoval by se pouze průběh střídání maxim a minim, přeložených přes profil vstupního klubka. Narozdíl od naší situace, kdy jsou výkyvy symetrické a se stálým rozkmitem, bychom pozorovali různé zázněje a shluky maxim. Rozkladem změřené křivky na součet jednotlivých příspěvků, obdobných našemu případu bychom potom identifikovali všechny přítomné odrazné plochy.

## **Fázová mikroskopie**

## Fázová mikroskopie

Cílem optické mikroskopie je převést kontrast některé fyzikální vlastnosti, kterou vzorek vykazuje, na kontrast v osvětlení zorného pole. Čím je tento kontrast v osvětlení ostřejší, tím lépe se nám vzorek pozoruje.

Jednotlivé mikroskopovací techniky se proto nasazují podle toho, ve které fyzikální vlastnosti vzorek, který se chystáme pozorovat, kontrast vykazuje: metoda světlého pole, pokud vzorek obsahuje oblasti s rozdílnou absorpcí, metoda temného pole, pokud se vyskytnou oblasti, které výrazněji rozptylují, polarizační mikroskop, pokud vzorek vykazuje dvojlom.

Většinu biologických vzorků lze v tomto smyslu bohužel popsat jako téměř vodová prostředí, rozptýlená ve vodě. Jako typický uvažujme vzorek, který se skládá z vody ( $n = 1.336$ ) a v ní ponořeného objektu jen s málo odlišným indexem lomu (je-li objektem například oxid křemíku ve schránce mikroživočicha, dostaneme  $n = 1.347$  v místech, kde podíl vody průměrně klesne na 90%).

Všechny výše zmíněné techniky u takového vzorku poskytnou obraz více méně homogenně osvětleného pole a výstup z pozorování bude neuspokojivý. Skutečně, například pro metodu světlého pole můžeme provést následující analýzu: vlnu  $v_m$  prošlou vodou a vlnu  $v_s$  prošlou objektem můžeme napsat jako

$$v_m = a_m \sin(\Phi) \quad v_s = a_s \sin(\Phi + \Delta\phi),$$

kde  $\Phi$  je celková fáze přibraná cestou naším zařízením (aniž bychom ve vzorku prošli oblast s křemenem) a  $\Delta\phi$  je přídavek k fázi způsobený objektem. Kontrast  $c$  intenzity světla při pozorování takových dvou míst je definován jako

$$c = \frac{I_m - I_s}{I_m + I_s},$$

přičemž  $I_m = a_m^2$  a  $I_s = a_s^2$ . Za uvedených podmínek ovšem bude platit, že intenzita obou vln bude prakticky neodlišitelná - celý vzorek je prakticky průhledný a platí tedy  $a_m \doteq a_s$  - a jako přímý důsledek dostaneme  $c \doteq 0$ , tedy homogenně osvětlené pole bez detailů.

Je proto potřeba aplikovat metodu, které zobrazí jediný kontrast, který výše uvedené složení biologických vzorků přináší, a tím je kontrast v indexu lomu.

Uvedený problém vyřešil v třetině minulého století Fritz Zernike. Princip jeho metody fázového kontrastu nyní stručně vysvětlíme. Fáze  $\phi$ , kterou světlo přibere při průchodu tloušťkou  $d$  prostředí o indexu lomu  $n$  je rovna

$$\phi = \frac{2\pi}{\lambda_0} n d,$$

kde  $\lambda_0$  je vakuová vlnová délka použitého světla. Uvažujme vzorek navržený výše. Rozdíl  $\Delta\phi$  fází, přibraných paprskem jdoucím pouze vodou a paprskem, který zasáhl náš objekt, je

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda_0} (n_{\text{objekt}} - n_{\text{H}_2\text{O}}) d.$$

Pokud by náš objekt s příměsí křemene měl tloušťku řekněme  $3 \mu\text{m}$ , dostali bychom pro světlo s  $\lambda_0 = 550 \text{ nm}$  hodnotu  $\Delta\phi = 0.06 \cdot 2\pi$ , jinými slovy zlomek periody. Je zřejmé, že rozdíl je velmi malý a zvolená metoda tedy musí být velmi citlivá. Povšimněme si nejprve vlny, která prošla vzorkem; čistě matematickou úpravou ji můžeme přepsat do tvaru

$$v_s = a_s \sin(\Phi + \Delta\phi) = a_s \cos(\Delta\phi) \sin(\Phi) + a_s \sin(\Delta\phi) \cos(\Phi).$$

Jak jsme ukázali výše,  $\Delta\phi$  je v reálném vzorku velmi malé, takže bude platit  $\cos \Delta\phi \approx 1$  a  $\sin \Delta\phi \approx \Delta\phi$ . Tím ovšem vlna prošlá objektem dostává tvar

$$v_s \approx a_s \sin(\Phi) + a_s \Delta\phi \cos(\Phi).$$

Je pozoruhodné, že první člen představuje vlnu prakticky totožnou s tou, které cestuje pouze vodním prostředím ( $a_m \doteq a_s$ ); tento první člen představuje pouze balastní osvětlení zorného pole. Naopak druhý část vlny prošlé objektem je slabá ( $\Delta\phi$  a s ním i amplituda vlny jsou malé), a fázově posunutá o čtvrt vlny (ze sinu se rozkladem stal kosinus).

Vraťme se zpět k plnému rozkladu objektové vlny a představme si, že by se nám podařilo nějakým způsobem oddělit od sebe fyzicky obě její komponenty. Potom bychom jen na balastní složku mohli aplikovat fázový posun o velikosti čtvrt vlny. Když bychom po tomto posunu objektovou vlnu zase složili zpět, interferenční vztah,

$$I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos \delta,$$

by přinesl zajímavý výsledek: v našem případě by totiž bylo  $I_1 = (a_s \cos \Delta\phi)^2$ ,  $I_2 = (a_s \sin \Delta\phi)^2$  a  $\delta = 0$  (původně byly jednotlivé složky díky matematické úpravě od sebe posunuty o čtvrtvlnu, ale tím, že jsme fyzicky aplikovali čtvrtvlnnou destičku jen na balastní složku jsme tento rozdíl srovnali) a dostáváme

$$I = a_s^2 \left[ \cos^2 \Delta\phi + \sin^2 \Delta\phi + 2\sqrt{\cos^2 \Delta\phi \sin^2 \Delta\phi} \cos \delta \right] = a_s^2 [1 + \sin(2\Delta\phi)].$$

Vidíme, že cíle bylo dosaženo: podařilo se změny v indexu lomu (a potažmo v  $\Delta\phi$ ) přenést do modulace jasu vystupujícího obrazu. Pokud bychom porovnali kontrast takto upravené vlny proti vlně, které prošla jenom vodou ( $I_m = a_m^2$ , přičemž  $a_m = a_s$ , jak jsme diskutovali výše), dostali bychom

$$c = \frac{I - I_m}{I + I_m} = \frac{\sin \Delta\phi}{2 + \sin \Delta\phi},$$

co proti úvodní hodnotě  $c=0$  představuje podstatné zlepšení.

Zbývá vysvětlit, jakým způsobem je možné fyzicky oddělit dvě komponenty vlny, která prošla objektem. Za tímto účelem je do kondenzoru nejprve umístěn speciální terčík tvaru propustného mezikruží, centrovaného s optickou osou. Protože zdroj osvětlení je bodový, ve skutečnosti touto clonkou vytvoříme dutý svazek, který vzorek osvětluje pod šikmým úhlem. Narozdíl od metody temného pole je ale zde dutý svazek využit - vstupuje do objektivu a podílí se na dalším zobrazení.

Kromě dutého svazku ovšem do objektivu (uvnitř tohoto svazku) vstupuje také světlo rozptýlené vzorkem, a tedy především nesoucí fázovou informaci o přítomných objektech. V místě meziobjektivní clonky je rozptýlená vlna oddělena od vlny přímé a je tedy možné aplikovat čtvrtvlnnou destičku pouze na část procházejícího světla. Dá se ukázat, že je potřeba, aby i zde vystupovala clonka tvaru mezikruží, tentokrát ovšem je mezikruží vybavenou zpomalovací vrstvou a zbytek clonky je volně prostupný (pro zvýšení kontrastu je možné clonku ještě vybavit vhodným útlumem). Obě clonky jsou spolu úzce provázané - poloha a tvar clonky v kondenzoru určuje polohu a tvar clonky za objektivem. v rámci mikroskopu se obě clonky vyměňují vždy v páru.