

Optyka instrumentalna

wykład 9

26 kwietnia 2018

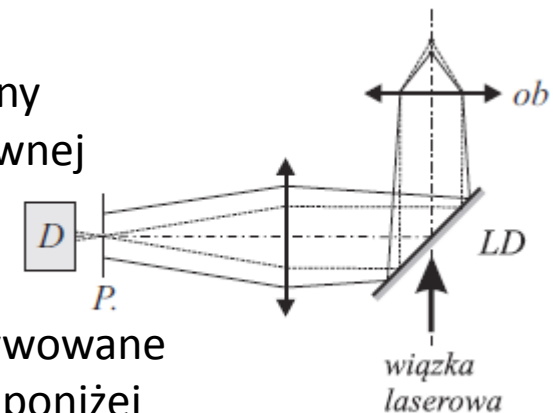
Wykład 8

Przyrządy optyczne

- Oko ludzkie
- Lupa
- Okular
- Luneta, lornetka
- Teleskopy zwierciadlane
- Mikroskop
 - Parametry obiektywów, rozdzielczość
 - Oświetlenie (dia, epi, jasne/ciemne pole)
 - Mikroskop fluorescencyjny
 - Skaningowy
 - Konfokalny
 - Techniki subdyfrakcyjne
 - PALM/STORM
 - STED
 - Mikroskop dwufotonowy
 - SNOM

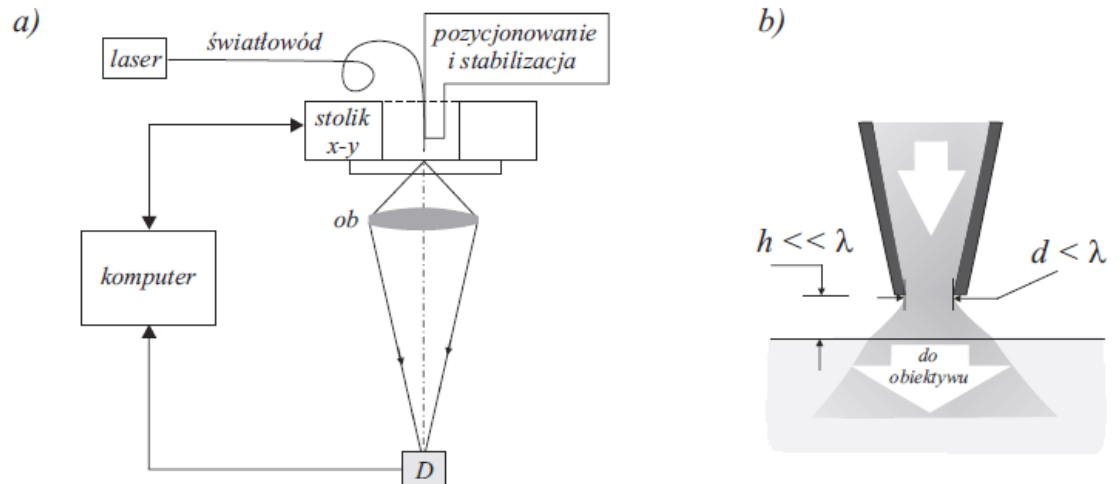
Techniki mikroskopowe

- Mikroskop fluorescencyjny (próbka zawiera znaczniki fluorescencyjne, np. GFP – green fluorescent protein, pobudzone monochromatyczną wiązką laserową. Filtr widmowy przed płaszczyzną obrazową blokuje wiązkę pobudzającą).
 - skaningowy: wiązka laserowa skupiona w płaszczyźnie przedmiotowej, skanuje powierzchnię próbki. Rozdzielczość ograniczona rozmiarem ogniska wiązki pobudzającej.
 - konfokalny: dodatkowa przesłona w pobliżu płaszczyzny obrazowej przepuszcza sygnał fluorescencji tylko z pewnej głębokości próbki. Duża rozdzielczość pionowa.
 - PALM *Photoactivated localization microscopy*, STORM *stochastic optical reconstruction microscopy*: fotoaktywowane migające fluorofory umożliwiają rozdzielenie położenia poniżej ograniczenia dyfrakcyjnego. Moerner, Betzig, Nobel z chemii 2014.
 - STED: mikroskopia subdyfrakcyjna wykorzystująca wygaszenie emisji fluoroforu przez silną wiązkę w kształcie obwarzanka. Hell, Nobel z chemii 2014.
 - PALM, STORM, STED – ograniczenie rozdzielczości przez parametry znacznika fluorescencyjnego, nie przez mikroskop.

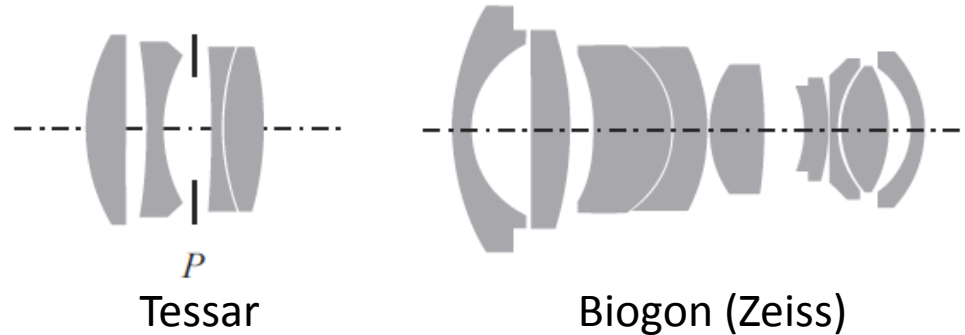


Techniki subdyfrakcyjne

- Fluorescencyjne
 - PALM, STORM (rozdzielczość <10 nm)
 - STED (rozdzielczość <10 nm)
 - Mikroskop dwufotonowy (obserwujemy fluorescencję wzbudzaną długością fali 2x mniejszą niż pobudzająca). $\sqrt{2}$ \times mniejsze ograniczenie dyfrakcyjne, lepsza rozdzielczość podłużna.
- Mikroskop skaningowy bliskiego pola (SNOM – scanning near-field microscope). Oświetlenie próbki przez nanometrowych rozmiarów aperturę (końcówka wyciągniętego światłowodu z pokryciem metalicznym). Ze względu na dyfrakcję próbka musi być w nanometrowej odległości o końcówki światłowodu. Tylko obrazowanie powierzchni. Rozdzielczość: poprzeczna 20 nm, <5 nm podłużna.



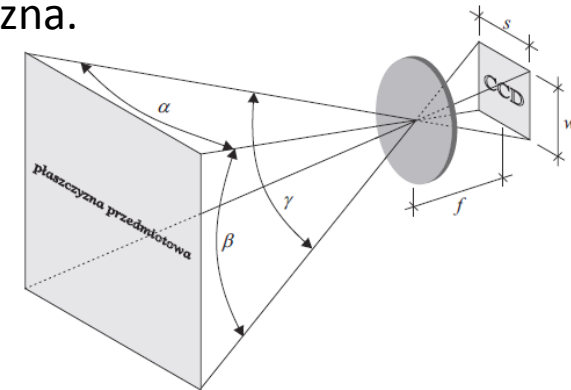
Obiektywy fotograficzne



Odległość przedmiotu: skończona (kilkanaście – kilkadziesiąt cm) – nieskończona.
Nałożenie obrazów z różnych płaszczyzn przedmiotowych – obszary ostre i nieostre.
Płaszczyzna obrazowa: matryca CCD/CMOS lub klisza fotograficzna.

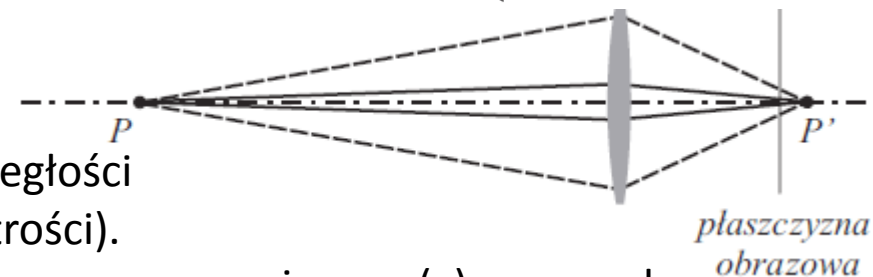
Parametry:

- Ogniskowa. Wraz z rozmiarem matrycy wyznacza pole widzenia (od 180° – rybie oko do 1° – teleobiektyw).
- Przysłona - apertura względna (szereg $f/1, f/1.4, f/2, f/3\dots$), jasność (kolejne stopnie: 2x mniejsza jasność), głębina ostrości.



Typy obiektywów:

- Stałoogniskowe (ew. regulacja apertury i odległości obiektywu od matrycy w celu ustawienia ostrości).
- Zmiunnoogniskowe: regulacja ogniskowej przez przesuwanie grup(y) soczewek – zmiana powiększenia/pola widzenia, tzw. *zoom*.



Jakość obrazowania: dobra na osi (ograniczona dyfrakcyjnie w dobrych obiektywach), gorsza na brzegach pola widzenia.

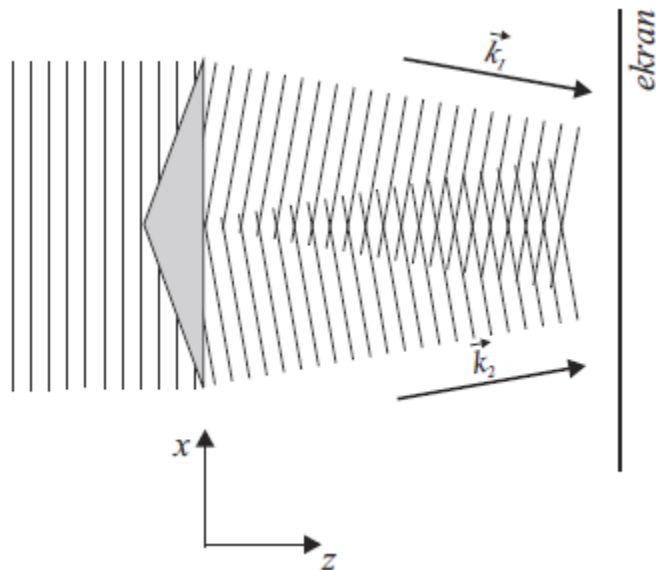
Efekty falowe: interferencja i dyfrakcja

Przybliżenie:

Wektorową falę EM przybliżamy falą skalarną.

$$\nabla^2 E - \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2 E}{\partial t^2} = 0$$

Równanie falowe jest liniowe: superpozycje rozwiązań są dobrymi rozwiązaniami.



$$E_i(\vec{r}) = A e^{i(-\vec{k}_i \cdot \vec{r} + \varphi_i)}, \quad i = 1, 2$$

$$I(\vec{r}) = |E_1(\vec{r}) + E_2(\vec{r})|^2$$

$$I(\vec{r}) = 2|A|^2 \{1 + \cos[(\vec{k}_2 - \vec{k}_1) \cdot \vec{r} + \Delta\varphi]\} \quad \Delta\varphi = \varphi_1 - \varphi_2.$$

Natężenie na ekranie

Maksyma natężenia dla

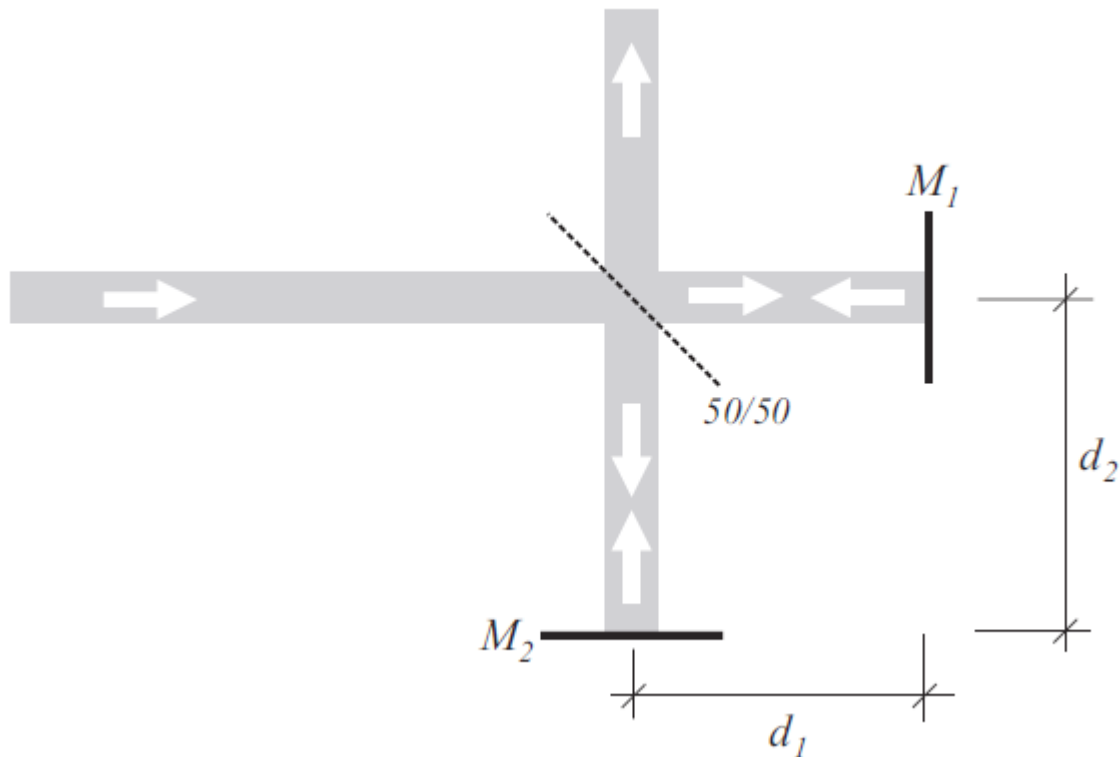
$$(\vec{k}_2 - \vec{k}_1) \cdot \vec{r} + \Delta\varphi = 2l\pi$$

Odległość prążków:

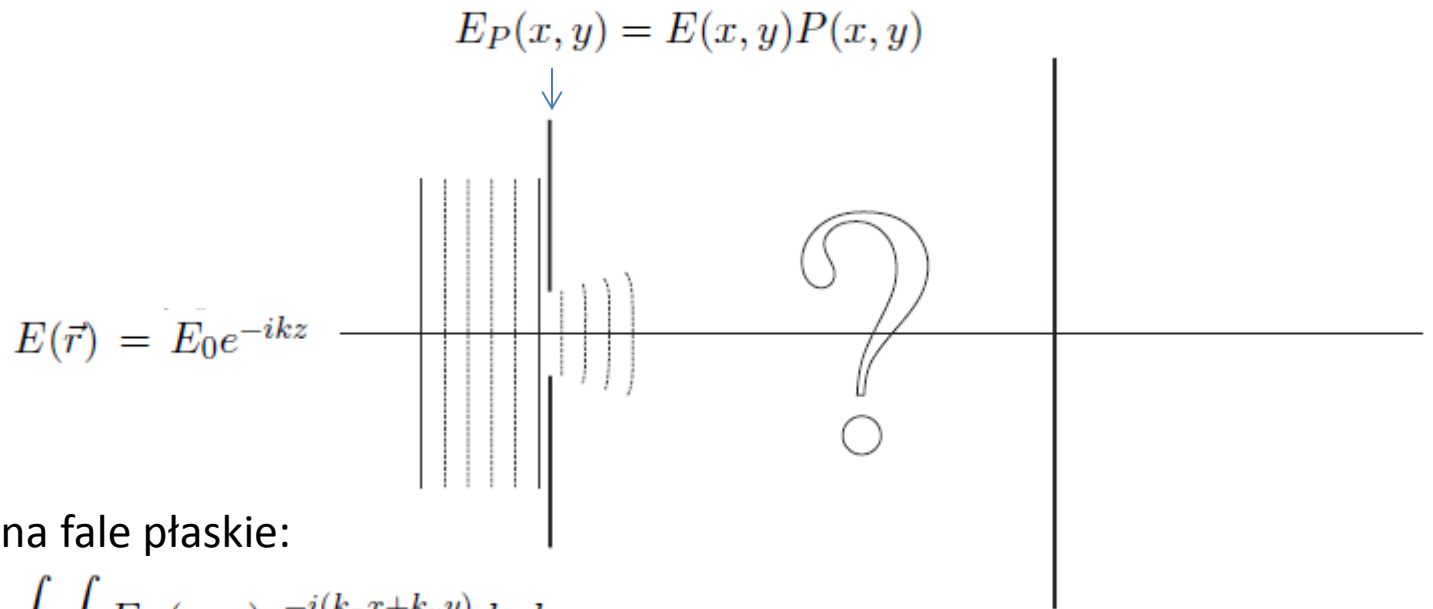
$$\Delta x = \frac{\lambda}{2 \sin(\Theta/2)}$$

Interferometr Michelsona

$$E_{wy} = \frac{A}{2}(e^{-i2kd_1} + e^{-i2kd_2}) \quad I_{wy} = \frac{I_0}{2}\{1 + \cos[2k(d_1 - d_2)]\}$$



Dyfrakcja



Rozkładamy E_P na fale płaskie:

$$\tilde{E}(k_x, k_y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int \int E_P(x, y) e^{-i(k_x x + k_y y)} dx dy$$

2-wym. transformata Fouriera. Rozkład na fale płaskie postaci:

$$\tilde{E}(k_x, k_y) e^{i(k_x x + k_y y + k_z z)}, \quad k_x^2 + k_y^2 + k_z^2 = k^2 = (n\omega)^2 / c^2$$

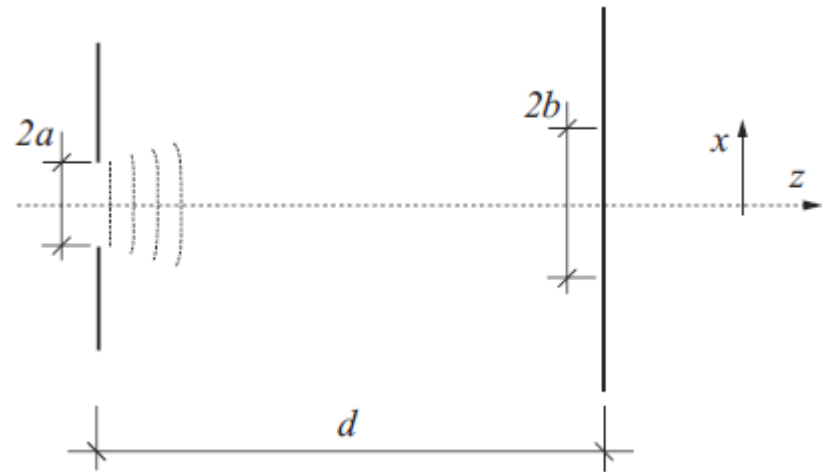
Propagacja na odległość d : $\tilde{E}(k_x, k_y) e^{-i(k_x x' + k_y y' + k_z d)}$

$$\text{Pole wypadkowe: } E(x', y') = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int \int \tilde{E}(k_x, k_y) e^{i(k_x x' + k_y y' + k_z d)} dk_x dk_y \quad k_z = \sqrt{k^2 - k_x^2 - k_y^2}$$

Typowo obliczenia numeryczne.

Konieczna spójność przestrzenna!

Dyfrakcja w dalekim polu (Fraunhofer)



Dalekie pole: $a^2 \ll \lambda d$ $b^2 \ll \lambda d$

$$k_z = \sqrt{k^2 - k_x^2 - k_y^2} \simeq k \left(1 - \frac{k_x^2 + k_y^2}{2k^2} \right) \quad k_x^2 + k_y^2 \ll k^2$$

$$E(x', y') = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-ikd} \int \int \tilde{E}(k_x, k_y) e^{i(k_x x' - \frac{k_x^2 d}{2k})} e^{-i(k_y y' - \frac{k_y^2 d}{2k})} dk_x dk_y$$

$$E(x', y') = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int \int \tilde{E}(k_x, k_y) e^{i(k_x x' + k_y y' + k_z d)} dk_x dk_y$$

Czynniki fazowe: istotny wkład do całki dla maksimum wykładnika, tzn. dla:

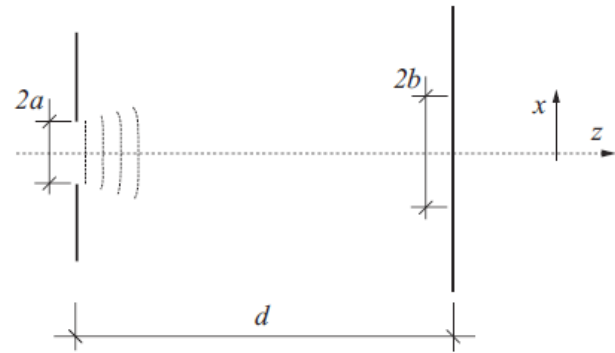
Całka proporcjonalna do $\tilde{E}(x'k/d, y'k/d)$

$$k_x = \frac{x'}{d} k \quad k_y = \frac{y'}{d} k$$

$$E(x', y') = \frac{ik}{2\pi d} e^{-ikd} \tilde{E}\left(\frac{x'}{d} k, \frac{y'}{d} k\right)$$

E w dalekim polu proporcjonalne do transformaty Fouriera pola wejściowego.

Dyfrakcja w dalekim polu (Fraunhofer)



$$E(x', y') = \frac{ik}{2\pi d} e^{-ikd} \tilde{E}\left(\frac{x'}{d}k, \frac{y'}{d}k\right)$$

Szczelina o szerokości $2a$:

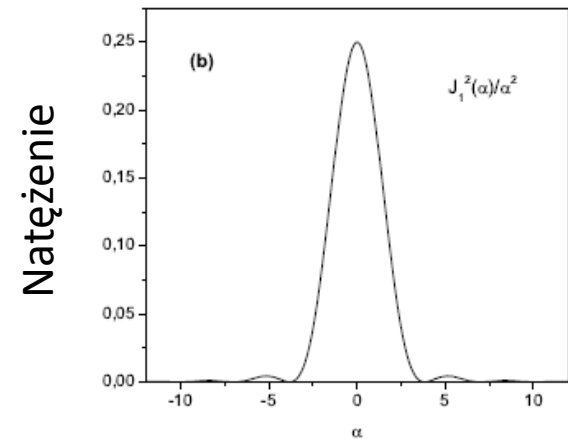
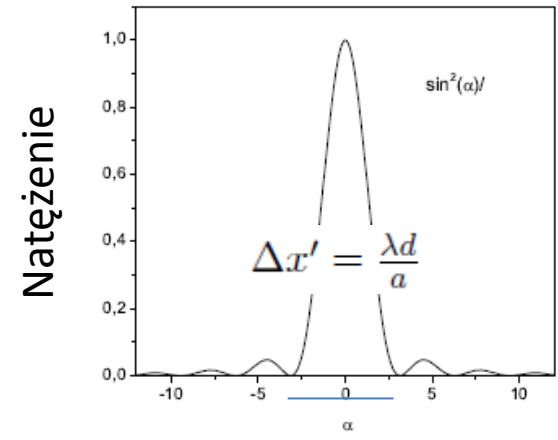
$$E(x', y') = i \frac{2a}{\sqrt{\lambda d}} E_0 e^{ikd} \text{sinc}(\alpha) \quad \alpha = \frac{2\pi a x'}{\lambda d}$$

Otwór kołowy o promieniu a
(t. Fouriera we współrzędnych biegunowych):

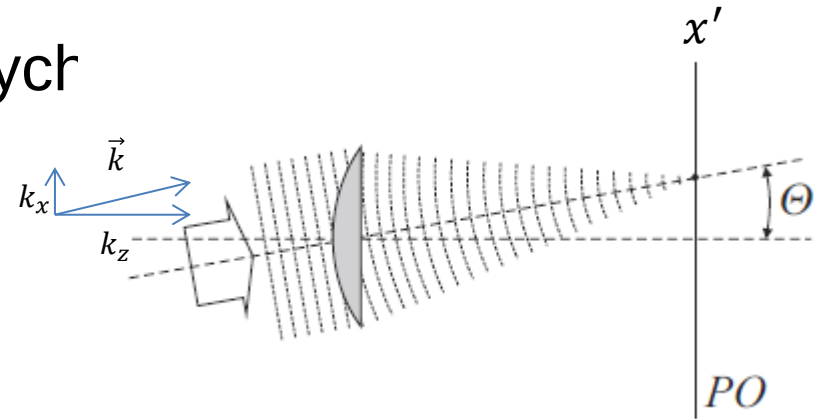
$$E(r') = i \frac{2\pi a^2}{\lambda d} E_0 e^{ikd} \frac{J_1(\alpha)}{\alpha} \quad \alpha = \frac{2\pi a r'}{\lambda}$$

Średnica pierwszego minimum:

$$J_1(\alpha) = 0 \quad 2r' \cong 1,22 \frac{\lambda d}{a}$$



Dyfrakcja w układach obrazujących



Rozkładamy falę padającą na fale płaskie:
dwuwymiarowa TF.

Fala płaska padająca pod kątem Θ ogniskuje się w $x' = f \tan \Theta = f \frac{k_x}{k_z} \approx f \frac{k_x}{k}$

Amplituda w punkcie (x', y') proporcjonalna do amplitudy składowej

fourierskiej pola padającego o wektorze falowym: $[\frac{x'k}{f}, \frac{y'k}{f}, k \sqrt{1 - \frac{x'^2 + y'^2}{f^2}}]$.

Rozkład jak w dalekim polu!

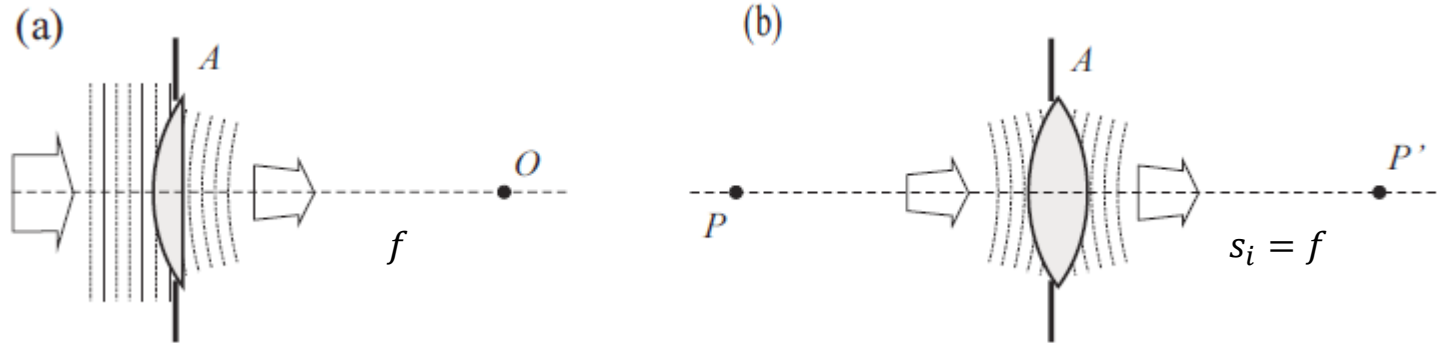
$$E(x', y') = \frac{ik}{2\pi d} e^{-ikd} \tilde{E}(\frac{x'}{d}k, \frac{y'}{d}k)$$

Soczewka o aperturze o średnicy $2a$: $E(r') \sim \frac{J_1(\alpha)}{\alpha}$ $\alpha = \frac{2\pi a r'}{f \lambda}$

Zamiast punktu plamka o promieniu (do pierwszego minimum) $w_{\text{ogn}} = \frac{0,61\lambda f}{a} = \frac{1,22\lambda f}{d}$

Odwrotność
apertury
względnej!

Dyfrakcja w układach obrazujących



Ogniskowanie soczewką o ogniskowej f vs. obrazowanie soczewką o ogniskowej $f/2$.

$$E(r') \sim \frac{J_1(\alpha)}{\alpha} \quad \alpha = \frac{2\pi a r'}{s_i \lambda}$$

$$w_{obr} \cong \frac{0,61 \lambda s_i}{2a} \quad \text{– dyfrakcyjnie ograniczony rozmiar plamki.}$$

W rzeczywistych układach aberracje (zniekształcenia frontu falowego) powodują dalsze rozmycie plamki.

Dla ogólnej funkcji apertury $P(x, y)$: $E'(x, y) = E(x, y)P(x, y)$.

W płaszczyźnie obrazowej TF $E'(x, y)$: $E(x', y') \sim \tilde{E}\left(\frac{x'}{s_i}k, \frac{y'}{s_i}k\right) \star \tilde{P}\left(\frac{x'}{s_i}k, \frac{y'}{s_i}k\right)$ (splot)

Widmo fal elektromagentycznych

Amplituda widmowa (spektralna) dla pola elektrycznego (rzeczywistego) $E(t)$:

$$\tilde{E}(\omega) \equiv \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} E(t)e^{-i\omega t} dt$$

Transformata Fouriera: rozkład na fale monochromatyczne o częstościach ω .

Twierdzenia Parsewala:
$$\int_{-\infty}^{\infty} f(t) \cdot g^*(t) dt = \int_{-\infty}^{\infty} \tilde{f}(\omega) \cdot \tilde{g}^*(\omega) d\omega$$

Dla $E(t) \cdot E^*(t) = |E(t)|^2$
$$\int_{-\infty}^{\infty} |E(t)|^2 dt = \int_{-\infty}^{\infty} |\tilde{E}(\omega)|^2 d\omega \quad \tilde{E}(-\omega) = \tilde{E}^*(\omega) \quad \text{gdyż } E(t) \in \mathbf{R}$$

$$\int_{-\infty}^{\infty} |E(t)|^2 dt = 2 \int_0^{\infty} |\tilde{E}(\omega)|^2 d\omega$$

Widmowa gęstość promieniowania (widmo): $G(\omega) = |\tilde{E}(\omega)|^2$

$G(\omega)\Delta\omega$ – natężenie fali w przedziale częstości $(\omega - \Delta\omega/2, \omega + \Delta\omega/2)$

Okienkowa TF (gdy zwykła TF nie istnieje):

$$\tilde{E}_T(\omega) \equiv \frac{1}{\sqrt{2\pi T}} \int_{-T/2}^{T/2} E(t)e^{i\omega t} dt \quad G(\omega) = \lim_{T \rightarrow \infty} |\tilde{E}_T(\omega)|^2$$

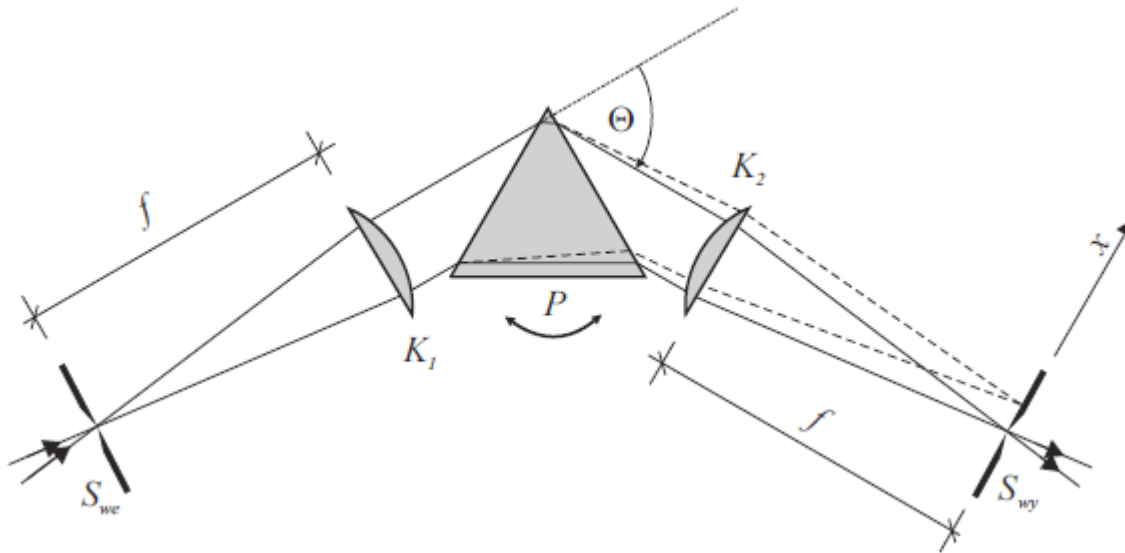
Przyrządy spektralne

- Spektrometry, spektrografy, monochromatory
- Interferometry

Parametry:

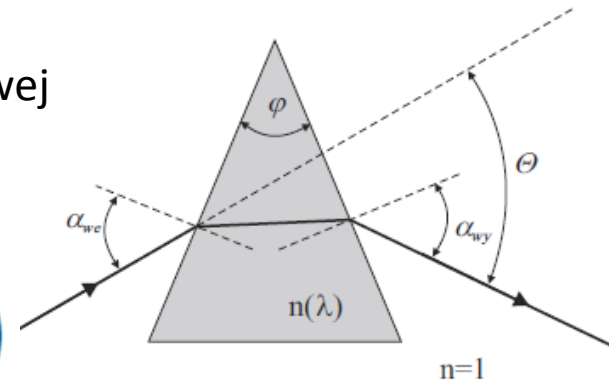
- Zakres widmowy
- Widmowa zdolność rozdzielcza $R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda}$, $\Delta\lambda$ – minimalna odległość dwóch linii widmowych; $10^3 - 10^5$ (10^6)
- Jasność (światłość): $F = \frac{a}{f}$ (a – apertura).
- Przedział dyspersji (FSR – *free spectral range*)
 - Zakres długości fali, dla których odczyt jest jednoznaczny.
- Poziom tła (szumy optyczne, szumy detektora)
- Szybkość odczytu (częstotliwość powtarzania, skanowanie vs. pomiar „jednostrzałowy”)

Spektrometry i monochromatory pryzmatyczne



- Obrazowanie szczeliny wejściowej w płaszczyźnie wyjściowej przez 2 kolimatory.
- Na pryzmat pada wiązka skolimowana.
- Kąt ugięcia przez pryzmat (z prawa Snella):

$$\Theta = \alpha_{we} - \varphi + \arcsin \left(\sin \varphi \sqrt{n^2(\lambda) - \sin^2 \alpha_{we}} - \sin \alpha_{we} \cos \varphi \right)$$



- Dla kąta minimalnego odchylenia (Θ_{\min} , $\alpha_{we} = \alpha_{wy}$)

$$\sin \left(\frac{\Theta + \varphi}{2} \right) = n \sin \left(\frac{\varphi}{2} \right)$$

Dyspersja kątowa:

$$\frac{d\Theta}{d\lambda} = \frac{2 \sin(\frac{\varphi}{2})}{\sqrt{1 - n^2 \sin^2(\frac{\varphi}{2})}} \frac{dn}{d\lambda}$$

Dyspersja liniowa:

$$\frac{dx}{d\lambda} = f \frac{d\Theta}{d\lambda}$$

Zdolność rozdzielcza monochromatora pryzmatycznego

- (Prostokątna) apertura – w płaszczyźnie wyjściowej rozkład dyfrakcyjny:

$$I(x) = I_0 \frac{\sin^2 u}{u^2} \quad u = 2\pi a \frac{x-x_0}{f\lambda}$$

- Kryterium lorda Rayleigha: dwie linie spektralne są rozdzielone jeśli maksimum natężenia jednej linii pokrywa się z minimum natężenia drugiej linii.

W minimum:

$$\frac{2a\pi x_1}{f \cdot (\lambda + \Delta\lambda)} = \pi \quad \lambda + \Delta\lambda = \frac{2ax_1}{f}$$

$$\lambda + \Delta\lambda = 2a \frac{d\theta}{d\lambda} \Delta\lambda \quad \frac{\lambda}{\Delta\lambda} + 1 = 2a \frac{d\theta}{d\lambda}$$

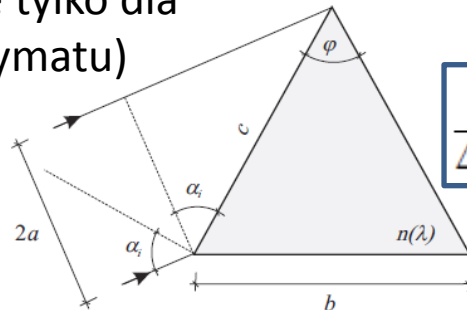
$$\frac{\lambda}{\Delta\lambda} \gg 1$$

$$\frac{\lambda}{\Delta\lambda} \simeq 2a \frac{d\theta}{d\lambda}$$

(nie tylko dla pryzmatu)

Pryzmat:

$$2a = \frac{b \cos \alpha_i}{2 \sin(\varphi/2)}$$



$$\frac{\lambda}{\Delta\lambda} = b \frac{dn}{d\lambda}$$

Dobra rozdzielczość: duży pryzmat ze szkła o dużej dyspersji (SF10, 10 cm, 500 nm: $R = 10^{-4}$)

