



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 699 24 129 T2 2006.05.04

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 119 798 B1

(51) Int Cl.⁸: **G03H 1/08** (2006.01)

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 24 129.4**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/CH99/00477**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 945 836.7**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 00/20929**

(86) PCT-Anmeldetag: **07.10.1999**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **13.04.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **01.08.2001**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **09.03.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **04.05.2006**

(30) Unionspriorität:

**103557 P 07.10.1998 US
265364 10.03.1999 US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(73) Patentinhaber:

**Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne
(EPFL), Lausanne, CH**

(72) Erfinder:

**CUCHE, Etienne, CH-1015 Lausanne, CH;
DEPEURSINGE, Christian, CH-1015 Lausanne, CH**

(74) Vertreter:

**Grünecker, Kinkeldey, Stockmair &
Schwanhäusser, 80538 München**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR GLEICHZEITIGEN ABBILDUNG DER AMPLITUDE UND
DES QUANTITATIVEN PHASENKONTRASTS DURCH NUMERISCHE REKONSTRUKTION VON DIGITALEN HO-
LOGRAMMEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**Gebiet der Erfindung**

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur gleichzeitigen Abbildung der Amplitude und des quantitativen Phasenkontrasts durch numerische Rekonstruktion von digital verschlüsselten Hologrammen.

Diskussion des Stands der Technik

[0002] Der Grundgedanke der vorliegenden Erfindung besteht darin, ein Hologramm der Probe aufzuzeichnen und dieses Hologramm mit einem numerischen Verfahren zu rekonstruieren. Von diesem Gedanken wurde zum ersten Mal 1967 von J. W. Goodman und R. W. Laurence, „Digital image formation from electronically detected holograms“, *Appl. Phys. Lett.* 11, 77–79 (1967), die für die Hologrammaufzeichnung einen Vidikon-Detektor verwendeten, und 1971 von M. A. Kronrod et al., „Reconstruction of a hologram with a computer“, *Soviet Phys.-Technical Phys.* 17, 333–334 (1972), die ein digitalisiertes Bild eines auf einer photographischen Platte aufgezeichneten Hologramms verwendeten, berichtet. In diesen beiden Referenzen wurden die Hologramme in der holographischen Fourier-Konfiguration aufgezeichnet, für die Bilder des Amplitudenkontrasts der Probe numerisch rekonstruiert werden können, indem einfach der Modul der zweidimensionalen Fourier-Transformation des Hologramms berechnet wird. Eine kürzliche Entwicklung, die eine CCD-Kamera (CCD = Charge Coupled Device, Ladungskopplungsspeicher) als Aufzeichnungsvorrichtung verwendet, ebenfalls in der Fourier-Konfiguration, zur Röntgenabbildung des Amplitudenkontrasts von biologischen Proben ist patentiert worden (US-Patentschrift 4,955,974 und US-Patentschrift 5,214,581) und W. S. Haddad et al., „Fourier-transform holographic microscope“, *Applied Optics* 31, 4973–4978 (1992), und von K. Boyer et al., „Biomedical three-dimensional holographic microimaging at visible, ultraviolet and X-ray wavelength“, *Nature Medicine* 2, 939–941 (1996), hat von ihr berichtet.

[0003] Schnars et al., „Direct recording of holograms by a CCD target and numerical reconstruction“, *Applied Optics* 33, 179–181 (1994), haben 1994, auf der Basis vorhergehender Arbeiten zur digitalen Holographie (L. P. Yaroslavskii und N. S. Merzlyakov, „Methods of Digital Holography“, Consultants Bureau, New York, 1980), vom ersten Bild mit numerisch rekonstruiertem Amplitudenkontrast eines außeraxialen Hologramms berichtet, das in der holographischen Fresnel-Konfiguration mit einer CCD-Kamera aufgezeichnet wurde. E. Cuche et al., „Optical Tomography at the Microscopic scale by means of a Numerical Low Coherence Holographic Technique“, *Proceedings SPIE on Optical and Imaging techniques for Bioimaging*, Wien, Bd. 2927, 61–66 (1996), haben von einer Anwendung numerischer Holographie zur Tomographieabbildung mit demselben Rekonstruktionsalgorithmus, jedoch mit einer Lichtquelle mit geringer Kohärenz berichtet. O. Coquoz et al., „Performances of endoscopic holography with a multicore optical fiber“, *Applied Optics* 34, 7186–7193 (1995), haben von einer Anwendung in der Mikroendoskopie, die ebenfalls eine Fresnel-Berechnung für die Hologrammrekonstruktion verwendet, berichtet.

[0004] Alle der obenerwähnten Arbeiten betreffen die Abbildung des Amplitudenkontrasts, für die nur der Modul des numerisch rekonstruierten optischen Felds berücksichtigt wird. Wie hier gezeigt ist, ist, wenn das Argument berechnet wird, eine Abbildung des Phasenkontrasts möglich. Schnars et al., „Direct phase determination in hologram interferometry with use of digitally recorded holograms“, *J. Opt. Soc. Am. A* 11, 2011–2015 (1994), haben von der ersten Verwendung einer numerisch rekonstruierten Phasenverteilung aus einem Fresnel-Hologramm für eine Anwendung in der holographischen Interferometrie berichtet. Wie in dieser Referenz dargelegt ist, ist der verwendete Rekonstruktionsalgorithmus derselbe wie bei der Abbildung des Amplitudenkontrasts und ermöglicht nicht wirklich die Abbildung des Phasenkontrasts, da in diesem Fall das rekonstruierte optische Feld das Produkt aus der Objektwelle und dem komplexen Konjugat der Referenzwelle ist (oder das Produkt aus dem komplexen Konjugat der Objektwelle und der Referenzwelle). Dieser Rekonstruktionsalgorithmus kann jedoch in der holographischen Interferometrie verwendet werden, da die Subtraktion zwischen zwei rekonstruierten Phasenverteilungen, die mit derselben Referenzwelle erhalten wurden, ein Bild liefert, das nur die Phasendifferenz zwischen dem verformten und dem unverformten Zustand des Objekts darstellt.

[0005] 1997 haben E. Cuche et al., „Tomographie optique par une technique d'holographie numerique en faible coherence“, *J. Opt.* 28, 260–264 (1997), vom ersten Beispiel eines Bilds mit numerischen rekonstruiertem Phasenkontrast berichtet, wobei sie einen modifizierten Rekonstruktionsalgorithmus einschließlich einer Multiplikation des digitalen Hologramms mit einer digitalen Kopie der Referenzwelle (digitale Referenzwelle) verwendet haben. In dieser Referenz ist das Bild des Phasenkontrasts mit einer ebenen Welle als Referenz und mit direkter Betrachtung erhalten worden, d. h. dass keine Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik entlang des Lichtwegs der Objektwelle eingefügt wird.

KURZDARSTELLUNG DER ERFINDUNG

[0006] Im Vergleich zu bestehenden Verfahren für die Phasenkontrast-Mikroskopie, wie beispielsweise dem Zernicke- oder dem Nomarski-Verfahren, stellt die vorliegende Erfindung eine unkomplizierte Verknüpfung der Abbildung des Phasenkontrasts mit der optischen Metrologie bereit.

[0007] „Quantitativer Phasenkontrast“ bedeutet, dass das Bild des Phasenkontrasts frei von Artefakten oder Aberrationen ist und direkt für quantitative Messungen von optischen Eigenschaften (z. B. Brechungsindex) oder strukturellen Informationen (z. B. Topographie, Dicke) verwendet werden kann. Genauer ausgedrückt bedeutet „quantitativer Phasenkontrast“ hier, dass der Wert jedes Pixels des Bilds des Phasenkontrasts zum Wert der Phase der Objektwelle an der entsprechenden Probenfläche gleich ist, Modulo 2π .

[0008] „Gleichzeitige Abbildung der Amplitude und des quantitativen Phasenkontrasts“ bedeutet, dass zwei Bilder der Probe aus demselben Hologramm rekonstruiert werden können. Eines dieser Bilder mit einem Amplitudenkontrast und das andere mit einem quantitativen Phasenkontrast. Diese Bilder können separat analysiert oder das eine mit dem anderen verglichen werden. Ihre Informationsinhalte (oder der Informationsinhalt mehrerer Paare von Bildern, die für verschiedene Orientierungen der Probe rekonstruiert wurden) können zuordnet werden, um eine berechnete dreidimensionale Beschreibung der Probe zu erstellen, beispielsweise eine dreidimensionale Tomographie von halbtransparenten Proben. Spektroskopische Messungen sind mit der vorliegenden Erfindung ebenfalls möglich, indem zwei oder mehr Hologramme derselben Probe bei verschiedenen Wellenlängen aufgezeichnet werden. Eine solche Multiwellenlängenprozedur kann auch zur präzisen Bestimmung der Abmessungen von Objekten oder des Brechungsindexes in der Metrologie von Nutzen sein.

[0009] Im Vergleich zu Standardinterferenzmikroskopietechniken, die ebenfalls gleichzeitig den Amplitudenkontrast und den quantitativen Phasenkontrast liefern, besteht der Vorteil unserer Erfindung darin, dass die Aufzeichnung nur eines Hologramms notwendig ist, während bei der Interferenzmikroskopie die Aufzeichnung von vier oder mehr Interferogrammen erforderlich ist. Darüber hinaus ist mit der vorliegenden Erfindung keine Verschiebung oder Bewegung von optischen Elementen notwendig. Infolgedessen wird die Erfassungszeit verringert, was eine geringere Empfindlichkeit gegenüber thermischen und mechanischen Drifts liefert. Robustheit ist eine große Gewichtung der vorliegenden Erfindung.

[0010] Ein weiterer wichtiger Vorteil der vorliegenden Erfindung im Vergleich zur Interferenzmikroskopie ist, dass die Phasenaberrationen digital korrigiert werden. In der Tat erzeugt ein Mikroskopobjektiv, das in ein Interferometer eingefügt wird, eine Krümmung der Wellenfronten, die sich auf die Phase der Objektwelle auswirkt. Somit muss zur Abbildung des Phasenkontrasts mit der vorliegenden Erfindung oder allgemeiner in einem beliebigen Interferometriesystem diese Phasenaberrationsfunktion korrigiert werden. Bei der Interferenzmikroskopie wird dieses Problem experimentell gelöst, indem dasselbe Mikroskopobjektiv in den Referenzarm eingefügt wird, in der gleichen Entfernung vom Ausgang des Interferometers. Diese Linnick-Interferometer genannte Anordnung bedingt, dass, wenn eine beliebige Änderung im Objektarm vorgenommen werden muss, die gleiche Änderung im Referenzarm präzise reproduziert werden muss, so dass die Interferenz zwischen in ähnlicher Weise verformten Wellenfronten erfolgt. Infolgedessen bedingt die experimentelle Konfiguration einen sehr hohen Grad an Präzision. Eine andere Möglichkeit (Mirrau-Interferometrie) besteht im Vergrößern des Interferenzmusters. Es ist jedoch schwierig, mit dieser Technik eine hochauflösende Abbildung zu erzielen, da ein miniaturisiertes Interferometer zwischen der Probe und dem Mikroskopobjektiv eingefügt werden muss. Hier schlagen wir ein rein digitales Verfahren vor, das uns ermöglicht, die Korrektur durch Multiplizieren der rekonstruierten Wellenfront mit dem berechneten komplexen Konjugat der Phasenaberrationsfunktion durchzuführen.

[0011] Je nach der zur Aufzeichnung des Hologramms verwendeten Konfiguration variiert die physikalische Interpretation der Amplitude und des quantitativen Phasenkontrasts. Wenn das Hologramm mit der Welle aufgezeichnet wird, die von der Probe reflektiert wird (Reflexionsgeometrie), hängt der Amplitudenkontrast von Schwankungen des Reflexionsgrads an der Probenoberfläche ab und der Phasenkontrast hängt von der Topographie der Probe und/oder Änderungen der Phasenverschiebung bei der Reflexion ab. Wenn das Hologramm mit der Welle aufgezeichnet wird, die von einer transparenten oder halbtransparenten Probe übertragen wird (Transmissionsgeometrie), steht der Amplitudenkontrast mit Änderungen der Absorption in Verbindung und der Phasenkontrast hängt von Schwankungen der Dicke und/oder des Brechungsindexes (oder allgemeiner von Schwankungen des Lichtwegs) ab.

[0012] In den meisten Fällen ist die quantitative Messung von optischen Eigenschaften oder strukturellen Informationen auf der Basis von Phasenmessungen doppeldeutig, da der Phasenkontrast im Allgemeinen mehr

als einen Ursprung hat. Die Messung des Brechungsindexes einer transparenten Probe beispielsweise bedingt die Kenntnis der Dicke und umgekehrt bedingt die Messung der Dicke die Kenntnis des Brechungsindexes. Bei topographischen Messungen mit sich aus mehreren Materialien zusammensetzenen Proben muss die Analyse der Resultate die Schwankung der Phasenänderung an der Reflexionsgrenzfläche berücksichtigen, wenn der komplexe Brechungsindex der verschiedenen Materialien nicht derselbe ist. Wenn eine reine topographische oder eine reine Brechungsindex- oder eine reine Dickemessung erwünscht ist, könnten bekannte Verfahren, wie beispielsweise Ellipsometrie oder Multiwellenlängenmessungen, in Kombination mit der vorliegenden Erfindung verwendet werden. Insbesondere kann die Brechungsindexmessung an einer transparenten Probe von unbekannter Dicke durch Aufzeichnen von zwei oder mehr Hologrammen bei verschiedenen Wellenlängen durchgeführt werden. Angenommen, dass die Dicke der Probe für jedes Hologramm konstant ist, liegen Schwankungen der rekonstruierten Phasenverteilungen aufgrund von Schwankungen des Brechungsindexes in Abhängigkeit von der Wellenlänge vor. Unter Verwendung eines Modells, das die Schwankung des Brechungsindexes in Abhängigkeit von der Wellenlänge beschreibt, kann der Brechungsindex der Probe oder ihre Dicke von den Bildern des quantitativen Phasenkontrasts abgeleitet werden. Bei einer halbtransparenten Probe (z. B. biologische Zellen oder Gewebe) oder allgemeiner mit einer dreidimensionalen Szene, die sich aus mehreren, sich in unterschiedlicher Tiefe befindenden reflektierenden Elementen zusammensetzt, kann, wenn eine Gatingtechnik verwendet wird, wie beispielsweise „Time Gating“ oder „Coherent Gating“, das Hologramm in der Reflexionsgeometrie mit dem Licht aufgezeichnet werden, das von einem ausgewählten Schnitt in der Probe reflektiert wird. In diesem Fall hängen beide Kontraste (Amplitude und Phase) von den optischen Eigenschaften des ausgewählten Schnitts und den optischen Eigenschaften anderer Volumina in der Probe ab, zu denen sich das Licht vor und nach der Reflexion ausgetragen hat.

[0013] Die vorliegende Erfindung stellt ein allgemeineres Verfahren zur numerischen Rekonstruktion von Bildern sowohl der Amplitude als auch des quantitativen Phasenkontrasts aus einem digitalen Hologramm bereit. Das numerische Verfahren zur Hologrammrekonstruktion umfasst die Berechnung einer digitalen Kopie der Referenzwelle, als digitale Referenzwelle bezeichnet. Ein als digitale Phasenmaske bezeichnetes Array komplexer Zahlen wird ebenfalls berechnet, um die Phasenaberrationen des Abbildungssystems zu korrigieren.

[0014] Die vorliegende Erfindung liefert einzigartige Ergebnisse. Die Technik liefert einen quantitativen Phasenkontrast, d. h. dass die rekonstruierte Phasenverteilung direkt für Anwendungen in der Metrologie verwendet werden kann, insbesondere für Oberflächenprofilometrie, Brechungsindexmessungen oder allgemeiner zur quantitativen Materialprüfung (Form- und Positionsmessungen, Oberflächenrauhigkeitsmessung, Messung von optischen Eigenschaften). Darüber hinaus kann ein Bild des Amplitudenkontrasts der Probe aus demselben Hologramm rekonstruiert werden. Es ist ein wichtiges Merkmal der vorliegenden Erfindung, dass eine dreidimensionale Beschreibung der Probe digital mit nur einer Bilder-fassung erhalten werden kann.

[0015] Die Möglichkeit einer sofortigen Erfassung der Amplitude und der quantitativen Phase mit einer gepulsten Quelle oder einer „time gated“ Kamera ist ein großer Vorteil der vorliegenden Erfindung.

[0016] Grundsätzlich führt das numerische Rekonstruktionsverfahren eine Berechnung durch, die die Ausbreitung der Wellenfront beschreibt, die vom Hologramm während einer standardmäßigen Hologrammrekonstruktion gebreutet würde. Die Berechnung besteht in einer numerischen Auswertung des Beugungsmusters, das in einer Betrachtungsebene hergestellt wird, wenn das Hologramm von einer Kopie der Referenzwelle beleuchtet wird. Die skalare Beschreibung der Beugung wird hier berücksichtigt und das Rekonstruktionsverfahren besteht in der numerischen Berechnung des Fresnel-Kirchhoff-Integrals oder des Rayleigh-Sommerfeld-Integrals. Je nach der für die Hologrammerzeugung verwendeten Konfiguration kann die Berechnung der Beugung unter Verwendung einer Annäherung dieser Integrale, wie beispielsweise dem Fraunhofer- oder dem Fresnel-Integral, durchgeführt werden. In einigen Fällen, wie beispielsweise der Fourier-Holographie, kann eine einfache Berechnung der Fourier-Transformation verwendet werden.

[0017] In einer bevorzugten Art und Weise wird die für die Hologrammerzeugung verwendete Konfiguration, insbesondere die Entfernung zwischen dem Hologramm und der Probe, darauf justiert, ein Fresnel-Hologramm zu liefern, für das die Berechnung der Beugung in der Fresnel-Annäherung durchgeführt werden kann. Der Vorteil der Fresnel-Annäherung besteht darin, dass die Berechnungen einfach sind und sehr schnell unter Verwendung einer diskreten Formulierung des in Form einer Fourier-Transformation ausgedrückten Fresnel-Integrals durchgeführt werden kann. Außerdem wird ein großer Bereich experimenteller Konfigurationen von der Fresnel-Annäherung abgedeckt.

[0018] Ein wichtiges Merkmal der vorliegenden Erfindung ist, dass die Bildrekonstruktion, sowohl der Amplitude als auch des Phasenkontrasts, die Justierung mehrerer Konstanten bedingt, die durch das numerische

Rekonstruktionsverfahren involviert sind. Diese Konstanten werden als Rekonstruktionsparameter bezeichnet und ihre Werte sind durch die experimentelle Konfiguration definiert. Die Rekonstruktionsparameter können in drei Kategorien eingeteilt werden: die Rekonstruktionsentfernung, der mit der Bildfokussierung in Verbindung steht; die Referenzwellenparameter, die mit der Definition der digitalen Referenzwelle in Verbindung stehen; und die Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter, die mit der Definition der digitalen Phasenmaske in Verbindung stehen. Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung zu beschreiben, wie diese Rekonstruktionsparameter definiert werden und wie ihre Werte justiert werden müssen. Es ist klar, dass die Werte der Rekonstruktionsparameter für eine gegebene experimentelle Konfiguration feststehen und dass dieselben Werte der Rekonstruktionsparameter zum Rekonstruieren mehrerer Hologramme ohne neue Justierungsprozeduren verwendet werden können, wenn die experimentelle Konfiguration für diese Hologramme dieselbe ist.

[0019] Andere Parameter, wie beispielsweise die Wellenlänge, die Detektorgröße und die Pixelanzahl, werden vom numerischen Rekonstruktionsverfahren angefordert, diese Parameter haben jedoch im Allgemeinen konstante Werte und erfordern keine spezielle Justierung.

[0020] Es wird eine Vorrichtung offenbart, die von den verschiedenen Gesichtspunkten des Verfahrens zur gleichzeitigen Abbildung der Amplitude und des quantitativen Phasenkontrasts durch numerische Rekonstruktion von digitalen Hologrammen Gebrauch macht. Je nach der Größe und Zugänglichkeit des Objekts werden drei verschiedene Ausführungen der Vorrichtung offenbart: numerisches holographisches Teleskop (NHT), numerisches holographisches Mikroskop (NHM) und schließlich numerisches holographisches Endoskop (NHE).

[0021] Weitere Aufgaben und Merkmale der vorliegenden Erfindung werden aus der folgenden ausführlichen Beschreibung, betrachtet in Verbindung mit den begleitenden Zeichnungen, offenbar werden. Es versteht sich jedoch, dass die Zeichnungen lediglich für Darstellungszwecke und nicht als eine Definition der Beschränkungen der Erfindung vorgesehen sind, für die auf die beigefügten Ansprüche verwiesen werden sollte.

KURZBESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0022] [Fig. 1](#) ist eine Ansicht, die diagrammatisch die verschiedenen Schritte der Abbildungsprozedur zeigt.

[0023] [Fig. 2A](#) ist eine Ansicht, die diagrammatisch eine der möglichen Konfigurationen für die Aufzeichnung eines außeraxialen Hologramms zeigt. [Fig. 2B](#), [Fig. 2C](#) und [Fig. 2D](#) sind Ansichten, die diagrammatisch zwei der möglichen Umsetzungen des Aufbaus zeigen. [Fig. 2B](#) in einer Michelson-Konfiguration oder allgemeiner können Twyman-Green-Interferometer in Betracht gezogen werden. [Fig. 2C](#) in einer Mach-Zender-Konfiguration zur Transmissionsabbildung. [Fig. 2D](#) in einer Mach-Zender-Konfiguration zur Reflexionsabbildung.

[0024] [Fig. 3](#) ist eine Ansicht, die diagrammatisch die standardmäßige optische Rekonstruktion eines außeraxialen Hologramms zeigt, das wie in [Fig. 2A](#) dargestellt aufgezeichnet worden ist.

[0025] [Fig. 4](#) ist eine Ansicht, die diagrammatisch die verschiedenen Schritte der Berechnungen des numerischen Verfahrens zur Rekonstruktion eines digitalen Hologramms zeigt.

[0026] [Fig. 5](#) ist eine Ansicht, die diagrammatisch eine andere Möglichkeit zur Berechnung des numerischen Verfahrens zur Rekonstruktion eines digitalen Hologramms zeigt.

[0027] [Fig. 6A](#) bis [Fig. 6C](#) sind Ansichten, die diagrammatisch drei der möglichen Konfigurationen zeigen, wenn eine Vergrößerungsoptik zur Erzeugung eines Hologramms eines vergrößerten Bilds der Probe entlang des Lichtwegs der Objektwelle eingefügt wird.

[0028] [Fig. 7A](#) bis [Fig. 7C](#) zeigen drei Beispiele von Bildern mit numerisch rekonstruiertem Amplitudenkontrast eines USAF-Testziels, die mit unterschiedlichen Rekonstruktionsentfernungen erhalten wurden.

[0029] [Fig. 8A](#) bis [Fig. 8C](#) zeigen Beispiele von Bildern mit numerisch rekonstruiertem Phasenkontrast einer biologischen Zelle. Für diese Bilder ist eine ebene Welle als Referenz für die Hologrammerzeugung und ein Mikroskopobjektiv als Vergrößerungsoptik verwendet worden. [Fig. 8A](#) zeigt das Bild des Phasenkontrasts, das erhalten wird, wenn alle Rekonstruktionsparameter auf angemessene Weise justiert sind, [Fig. 8B](#) zeigt das Resultat, das mit einer unangemessenen Justierung der Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter erhalten wird. [Fig. 8C](#) zeigt das Resultat, das mit einer unangemessenen Justierung der Referenzwellenparameter erhalten wird.

[0030] [Fig. 9](#) ist eine Ansicht, die diagrammatisch die verschiedenen Möglichkeiten zur Justierung der Werte der Rekonstruktionsparameter zeigt.

[0031] [Fig. 10A](#) bis [Fig. 10F](#) zeigen Beispiele gleichzeitig Bilder mit rekonstruiertem Amplitudenkontrast und mit rekonstruiertem quantitativem Phasenkontrast. [Fig. 10A](#) und [Fig. 10B](#) zeigen das Bild des Amplitudenkontrasts bzw. das Bild des quantitativen Phasenkontrasts eines USAF-Testziels. [Fig. 10C](#) und [Fig. 10D](#) zeigen das Bild des Amplitudenkontrasts bzw. das Bild des quantitativen Phasenkontrasts eines reinen Phasenobjekts. [Fig. 10E](#) und [Fig. 10F](#) zeigen das Bild des Amplitudenkontrasts bzw. das Bild des quantitativen Phasenkontrasts einer biologischen Zelle.

[0032] [Fig. 11A](#) ist eine dreidimensionale Perspektive einer numerisch rekonstruierten Phasenverteilung, um die Topographie eines reinen Phasenobjekts zu zeigen.

[0033] [Fig. 11B](#) ist ein Graph, um ein Beispiel quantitativer Messung (Prolifometrie) mit Abbildung des quantitativen Phasenkontrasts zu zeigen.

[0034] [Fig. 12A](#) stellt einen beispielhaften Teil eines verallgemeinerten Computersystems dar, auf dem Teile der Erfindung umgesetzt werden können, und

[0035] [Fig. 12B](#) veranschaulicht einen beispielhaften Teil einer verallgemeinerten Hardwarekonfiguration, im Format einer Arbeitsstation, auf der Teile der Erfindung umgesetzt werden können.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0036] Die Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung werden in mehr Einzelheiten mit Bezugnahme auf die Zeichnungen beschrieben.

[0037] [Fig. 1](#) zeigt diagrammatisch die verschiedenen Schritte der gesamten Abbildungsprozedur. Der von einer Beleuchtungsquelle **1** emittierte Strahl beleuchtet einen Aufbau **2**, der ein Hologramm **4** der Probe **3** erzeugt. Der Aufbau **2** sammelt das Licht von der Beleuchtungsquelle **1** und liefert Beleuchtung **1** der Probe **3**. Er beinhaltet außerdem ein Gerät zum Erzeugen einer Referenzwelle **R** und ein Gerät zum Erzeugen einer Objektwelle **O** aus dem Licht, das von der Probe **3** übertragen oder reflektiert oder gestreut wird. Die Objektwelle **O** und die Referenzwelle **R** werden derart kombiniert, dass sie in einer Ebene interferieren.

[0038] Im Folgenden wird die Objektwelle als der Teil der Beleuchtungswelle verstanden, der vom Objekt übertragen, reflektiert oder allgemeiner gestreut und vom optischen System eingefangen worden ist.

[0039] Die Interferenz zwischen der Referenzwelle **R** und der Objektwelle **O** erzeugt das Hologramm **4**, das als eine zweidimensionale Intensitätsverteilung beschrieben werden kann:

$$I_H(x, y) = |R|^2 + |O|^2 + R^*O + RO^* \quad (1.1)$$

wobei R^* und O^* die komplexen Konjugate der Referenzwelle bzw. der Objektwelle und $|R|^2$, $|O|^2$ das Quadrat ihrer Module sind.

[0040] Die vorliegende Erfindung ist nicht auf die Optikdomäne beschränkt und kann zur numerischen Rekonstruktion von Hologrammen angewendet werden, die mit einer beliebigen Art von elektromagnetischen (z. B. Röntgenstrahlen) oder nicht elektromagnetischen (z. B. Akustik und Hitze) Wellen aufgezeichnet wurden. Photonendichtewellen können ebenfalls verwendet werden. Aus diesem Grund sind die Beschaffenheit, die Wellenlänge und die Kohärenz der Beleuchtungsquelle **1** nicht hier spezifiziert. Gaslaser, Halbleiterlaser, Festkörperlaser, Laserdioden, Superlumineszdiode, Schmal- und Breitbandquellen, Weißlichtquellen, Röntgenstrahlenquellen und Elektronenstrahl sind Beispiele von Mitteln, die als Beleuchtungsquelle verwendet werden können.

[0041] Eine Kombination von zwei oder mehr Beleuchtungsquellen kann ebenfalls verwendet werden. Beispielsweise können zwei Beleuchtungsquellen verschiedener Wellenlängen kombiniert werden, um eine Beleuchtungsquelle mit einer sogenannten synthetischen Wellenlänge zu erzeugen.

[0042] In einer bevorzugten Art und Weise wird der Aufbau **2** derart konzipiert, dass die Polarisation der Referenzwelle **R** der Polarisation der Objektwelle **O** (so nah wie möglich) entspricht. Diese Nähe der Polarisation

des Objekts zu der der Referenzwellen ist zum Optimieren der Interferenz zwischen diesen beiden Wellen wichtig. Wenn die Objektwelle verschiedene Arten von Photonen mit verschiedenen Polarisationszuständen enthält, wie es beispielsweise vorkommt, wenn Streuungereignisse in der Probe auftreten oder wenn die Doppelbrechung der Probe nicht einheitlich ist, ermöglicht das Arbeiten mit einer feststehenden Polarisation der Referenzwelle, die Photonen der Objektwelle auszuwählen, deren Polarisation der Polarisation der Referenzwelle nah ist.

[0043] Das Gerät, das die Objektwelle O erzeugt, enthält Vergrößerungsoptik oder Verkleinerungsoptik.

[0044] Der Ausdruck „Vergrößerungsoptik“ ist als eine einzige Linse oder eine Baugruppe von Linsen und/oder optischen Fasern zu verstehen, die ein vergrößertes Bild der Probe mit einer besseren Auflösung als mit direkter Abbildung liefert. Der Fall einer Vergrößerungsoptik, die ein Bild der Probe liefert, dessen Größe der Größe der Probe entspricht (Vergrößerung entspricht Einheit), ist ebenfalls hier umfasst.

[0045] Der Ausdruck „Verkleinerungsoptik“ ist als eine einzige Linse oder eine Baugruppe von Linsen und optischen Fasern zu verstehen, die ein kleineres Bild der Probe liefert, um eine Abbildung größerer Proben als mit direkter Abbildung zu ermöglichen.

[0046] In einer bevorzugten Art und Weise wird der Aufbau 2 konzipiert, ein außeraxiales Hologramm zu liefern. Der Ausdruck „außeraxiales Hologramm“ ist so zu verstehen, dass die Ausbreitungsrichtungen der Referenzwelle R und der Objektwelle O nicht an ihrem Einfall auf die Ebene parallel sind, wo das Hologramm erzeugt wird. Die außeraxiale Geometrie gestattet auf vorteilhafte Weise, die Brechung nullter Ordnung, das reelle Bild und das Zwillingsbild während der Rekonstruktion zu trennen. Mehrere Konfigurationen können für die Erzeugung eines außeraxialen Hologramms verwendet werden. **Fig. 2A** stellt eine der möglichen Konfigurationen mit einem Winkel θ zwischen den Richtungen der Objektwelle und der Referenzwelle an ihrem Einfall auf die Hologrammebene dar.

[0047] Je nach der Auflösung der für die Hologrammaufzeichnung verwendeten Medien kann die außeraxiale Geometrie auf kleine Winkel beschränkt sein, um zu vermeiden, dass die Raumfrequenz des erzeugten Interferogramms die Auflösungsleistung der Aufzeichnungsmedien übersteigt. Anders ausgedrückt darf der Winkel zwischen der Referenzwelle und der Objektwelle an ihrem Einfall auf die Ebene, wo das Hologramm erzeugt wird, nicht einen bestimmten Wert überschreiten, bei dem die Interferenzfransen des Hologramms nicht vom Bilderfassungssystem aufgelöst werden. Die außeraxiale Geometrie kann selbst an der Grenze sehr kleiner Winkel in Betracht gezogen werden, aber in diesem Fall kann die Brechung nullter Ordnung Teile oder die Integralität des Zwillingsbilds oder des reellen Bilds abdecken. In diesem Fall können zusätzliche Verfahren verwendet werden, um die Brechung nullter Ordnung zu unterdrücken. Es kann beispielsweise ein von T. M. Kreis und W. P. O. Jüptner, „Suppression of the dc term in digital holography“, Opt. Eng. 36, 2357–2360 (1997), vorgeschlagenes Verfahren vor der numerischen Rekonstruktion angewendet werden. Dieses Verfahren, das aus dem Subtrahieren der durchschnittlichen Intensität vom digitalen Hologramm besteht, gestattet jedoch nur die Eliminierung des sogenannten dc-Terms der Brechung nullter Ordnung von den rekonstruierten Bildern. Anders ausgedrückt kann, wenn eine Referenzwelle mit konstanter Amplitude (beispielsweise eine ebene Welle) für die Hologrammerzeugung verwendet wird, das von M. Kreis und W. P. O. Jüptner vorgeschlagene Verfahren als ein Verfahren beschrieben werden, das ein Hologramm der folgenden Form liefert:

$$I_H(x, y) = |O|^2 + R^*O + RO^* \quad (1.2)$$

[0048] Infolgedessen wird die Objektkomponente der Brechung nullter Ordnung ($|O|^2$), die im Allgemeinen in der Hologrammebene nicht konstant ist, nicht durch dieses Verfahren unterdrückt.

[0049] Wir schlagen hier ein Verfahren zur vollständigen Eliminierung der Brechung nullter Ordnung vor. Grundsätzlich kann dieses Verfahren auch angewendet werden, wenn die Amplitude der Referenzwelle nicht konstant ist. Auf allgemeine Weise kann dieses Verfahren als ein Verfahren beschrieben werden, das ein Hologramm liefert, das nur die interferierenden Terme des Hologramms enthält:

$$I_H(x, y) = R^*O + RO^* \quad (1.3)$$

[0050] Ein solches Resultat kann durch Subtrahieren eines lokal ausgewerteten Werts der Brechung nullter Ordnung ($|R|^2 + |O|^2$) vom digitalen Hologramm erhalten werden. Das digitale Hologramm kann beispielsweise in Teilmatrizes genannte kleine Elemente konstanter (oder nichtkonstanter) Größen unterteilt werden und das von T. M. Kreis und W. P. O. Jüptner vorgeschlagene Verfahren kann auf jede dieser Teilmatrizes angewendet

werden. Die Größe und die Anzahl der Teilmatrizes muss so gewählt werden, um die Schwankungen der Brechung nullter Ordnung in der Hologrammebene mit genug Präzision wiederherzustellen. Die Größe einer Teilmatrix darf jedoch nicht kleiner als eine Mindestgröße sein, bei der eine Teilmatrix nur eine konstruktive und eine destruktive Interferenz enthält.

[0051] Ein weiterer Gesichtspunkt der vorliegenden Erfindung basiert auf der Anwendung eines Bandpassfilters auf die Fourier-Transformation des digitalen Hologramms und die ebenfalls die vollständige Eliminierung der Brechung nullter Ordnung gestattet. Dieses Verfahren basiert auf dem Faktum, dass die den interferierenden Termen (R^*O und RO^*) entsprechenden Raumfrequenzen in außeraxialer Holographie höher sind als die Raumfrequenzen, die der Brechung nullter Ordnung ($|R|^2 + |O|^2$) entsprechen. Infolgedessen schlagen wir vor, wahlweise vor der numerischen Rekonstruktion des digitalen Hologramms, ein digitales Bildverarbeitungsverfahren anzuwenden, das die folgenden Schritte umfasst:

- Berechnen der zweidimensionalen (2D) diskreten Fourier-Transformation des digitalen Hologramms;
- Finden der Raumfrequenzen, die den interferierenden Termen R^*O und RO^* entsprechen, in der Fourier-Transformation des digitalen Hologramms;
- Berechnen der Multiplikation der Fourier-Transformation des Hologramms mit einer 2D-Funktion, die die Raumfrequenzen, die nicht den interferierenden Termen entsprechen, eliminiert oder dämpft. Dieser Arbeitsgang entfernt (oder dämpft) die Raumfrequenzen, die der Brechung nullter Ordnung entsprechen, und kann auch andere parasitische Raumfrequenzen entfernen;
- Berechnung der diskreten inversen Fourier-Transformation.

[0052] Bei diesem Schritt wird als Folge der Unterdrückung der niedrigen Raumfrequenzen des Hologramms ein gefiltertes digitales Hologramm mit einer konstanten nullten Ordnung erhalten. Der Wert der nullten Ordnung ist gleich der für die gesamte Hologrammfläche berechneten durchschnittlichen Intensität. Somit kann die nullte Ordnung durch Subtrahieren der durchschnittlichen Intensität zur Intensität jedes Pixels des gefilterten digitalen Hologramms vollständig unterdrückt werden.

[0053] Mit Bezugnahme auf [Fig. 1](#) ist die Anwendung der obenerwähnten Fourier-Filterungs-Bildverarbeitung eine der möglichen digitalen Bildverarbeitungen, die wahlweise vor und/oder nach der numerischen Rekonstruktion des Hologramms angewendet werden kann. Bei diesem Schritt können mehrere digitale Bildverarbeitungsbehandlungen angewendet werden, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern oder um die Sichtbarkeit der Fransen des digitalen Hologramms [7](#) zu verstärken. Beispielsweise Helligkeits- und Kontrastjustierung, Versatzsubtraktion, Modifikation der Verteilung von Graustufen, Grenzwertanwendung, Anwendung von Phasenabwicklungsverfahren auf das Bild des quantitativen Phasenkontrasts, Anwendung von Histogrammentzerrung, Anwendung von zweidimensionalen Raumfrequenzhochpassfiltern oder Raumfrequenztiefpassfiltern, Anwendung von statistischen Arbeitsgängen auf eine Menge von mehreren Bildern, Anwendung von Bildverarbeitungsbehandlung, um die Brechung nullter Ordnung und/oder das Zwillingsbild und/oder das reelle Bild zu unterdrücken. Es ist auch möglich, die Pixelanzahl des digitalen Hologramms zu erhöhen oder zu verringern. Das digitale Hologramm kann auch mit einer zweidimensionalen Funktion (beispielsweise einem Hanning- oder einem Hamming- oder einem Gauß-Fenster) multipliziert werden, um Datenfenstertechnik durchzuführen.

[0054] Dieses Merkmal einer möglichen digitalen Bildverarbeitungsbehandlung des Hologramms ist einer der Vorteile der vorliegenden Erfindung im Vergleich zu standardmäßige holographische Verfahren, die beispielsweise photographische Platten als Aufzeichnungsmedien verwenden und die nicht eine solche geradlinige Verarbeitung des Hologramms vor dessen Rekonstruktion gestatten.

[0055] Eine besonders interessante digitale Behandlung besteht im Multiplizieren des Hologramms mit einer zweidimensionalen reellen Funktion, die den Transmissionsgrad (oder die Amplitudentransmittanz) der Hologrammblende modifiziert, um eine Apodisation dieser Blende durchzuführen. Blendenapodisation ist eine in der Optik wohl bekannte Technik und wird zum Reduzieren von Beugungseffekten (Fluktuation der Amplitude und der Phase des gebeugten Felds) verwendet, die auftreten, wenn ein Strahl kohärenten Lichts durch eine Blende abgeschnitten wird. Eine apodisierte Blende ist durch eine Amplitudentransmittanz (Transmissionsgrad) gekennzeichnet, die sich am Rand der Blende nicht abrupt von Null zu Einheit, sondern auf gleichmäßige und kontinuierliche Weise ändert. Mehrere Arten von kontinuierlichen Funktionen können zum Definieren des Übergangs des Transmissionsgrads (von Null zu Einheit) am Rand der Blende verwendet werden: Gaußsche, supergaußsche, trigonometrische oder eine Kombination von Funktionen. Es kann auch eine während eines Optimierungsvorgangs iterativ definierte Transmissionsfunktion verwendet werden. In einer bevorzugten Art und Weise wird die Transmissionsfunktion der apodisierten Blende so definiert, dass ein großer Bereich in der Mitte der Blende transparent bleibt.

[0056] Angenommen, dass bei außeraxialer Holographie die Brechung nullter Ordnung niedrigen Raumfrequenzen entspricht, kann deren Unterdrückung auch experimentell durch räumliches Filtern des Hologramms 4 vor der Erfassung des Bilds durchgeführt werden. Dieser Arbeitsgang kann mit einem nichtlinearen optischen Element und einem sogenannten 4-f-System durchgeführt werden, das aus zwei Linsen der Brennweite f mit einer sich in der Fourier-Ebene der ersten Linse befindenden Hochpassmaske besteht. Mit Bezugnahme auf [Fig. 2B](#) kann ein solches 4-f-System als ein Beispiel der optionalen optischen Elemente betrachtet werden, die zwischen dem Strahlenteiler und der Bilderfassung eingefügt werden können.

[0057] Der extreme Fall von In-line- oder Gabor-Hologrammen kann ebenfalls mit der vorliegenden Erfindung in Erwägung gezogen werden. In diesem Fall kann die vorliegende Erfindung in Kombination mit anderen Verfahren (Bildverarbeitungsverfahren oder experimentellen Prozeduren) zur Eliminierung der Brechung nullter Ordnung und/oder zur Eliminierung des Zwillingsbilds oder des reellen Bilds verwendet werden. Ein Verfahren, das der Interferenzmikroskopie ähnelt, ist beispielsweise von I. Yamaguchi und T. Zhang, „Phase-shifting digital holography“, Opt. Lett. 22, 1268–1270 (1997), vorgeschlagen worden. Dieses Verfahren bedingt die Aufzeichnung von vier mit Phasenverschiebungen (von 90°) der Referenzwelle genommenen Interferogrammen und gestattet die Unterdrückung sowohl der Brechung nullter Ordnung als auch des Zwillingsbilds. In diesem Fall oder allgemeiner, wenn eine Prozedur zum Verschieben oder Modulieren der Phase der Referenzwelle und/oder der Phase der Objektwelle verwendet wird, kann die Amplitude und die Phase der Objektwelle in der Hologrammebene gemessen werden. Die vorliegende Erfindung kann dann verwendet werden, um die Amplitude und die Phase an der Oberfläche der Probe wiederherzustellen. Piezobetätigte Spiegel, akusto-optische oder elektro-optische oder photoelastische Modulatoren sind Beispiele optionaler optischer Elemente, die zum Modulieren oder Verschieben der Phase der Referenzwelle und/oder der Objektwelle verwendet werden können.

[0058] Die in der vorliegenden Erfindung berichteten verschiedenen Verfahren betreffen größtenteils die Verwendung von Homodyndetektion: Es wird angenommen, dass die Frequenz oder Wellenlänge der Referenzwelle der Frequenz oder Wellenlänge der Beleuchtungswelle entspricht, was beständige Hologramme ergibt, die gemäß der beschriebenen Erfindung erfasst und digitalisiert werden. Dennoch findet die vorliegende Erfindung auch Anwendung auf optische Systeme, in denen Heterodyndetektion verwendet werden kann.

[0059] Für eine Heterodyndetektion kann das Mittel, das die Referenzwelle R erzeugt, ein Gerät umfassen, das die Wellenlänge der Referenzwelle in Bezug auf die Wellenlänge der Objektwelle modifiziert. Ein ähnliches Gerät kann auch in das Mittel eingefügt werden, das eine Objektwelle O erzeugt. Akusto-optische Modulatoren, elektro-optische Modulatoren, photoelastische Modulatoren, piezoelektrisch angetriebene Spiegel sind Beispiele von Mitteln, die zum Modulieren der Wellenlänge der Referenzwelle und/oder der Objektwelle verwendet werden können. Diese Mittel sind Beispiele optionaler optischer Komponenten, die in [Fig. 2B](#), [Fig. 2C](#), [Fig. 2D](#) dargestellt sind. Physikalisch deutlich unterscheidbare Quellen können ebenfalls zur Beleuchtung und zur Erzeugung der Referenz verwendet werden.

[0060] In einer bevorzugten Art und Weise wird der Aufbau 2 konzipiert, ein Fresnel-Hologramm zu liefern. Der Ausdruck „Fresnel-Hologramm“ ist so zu verstehen, dass die Hologrammrekonstruktion durch eine Berechnung skalarer Beugung in der Fresnel-Annäherung durchgeführt werden kann. Die numerische Berechnung des diskreten Fresnel-Integrals wird in Einzelheiten weiter erläutert werden. Der Vorteil der Fresnel-Annäherung besteht darin, dass die Berechnungen einfach sind und sehr schnell durchgeführt werden können. Außerdem wird ein großer Bereich experimenteller Konfigurationen von der Fresnel-Annäherung abgedeckt.

[0061] Wenn der für die Hologrammerzeugung verwendete Aufbau 2 die Bedingungen der Fresnel-Annäherung nicht erfüllt, können andere Annäherungen oder eine exakte Auswertung des Fresnel-Kirchhoff- oder des Rayleigh-Sommerfeld-Integrals als Modelle für die Berechnung der Beugung verwendet werden.

[0062] Es kann auch eine einfache Berechnung der Fourier-Transformation oder eine Berechnung der Beugung in der Fraunhofer-Annäherung verwendet werden.

[0063] Wenn eine Beleuchtungsquelle mit geringer Kohärenz verwendet wird, wird der Aufbau 2 auch Mittel umfassen, die die Justierung der Länge des Wegs der Referenzwelle R gestatten. Diese Mittel können verschieden zu oder vermenigt mit den Mitteln sein, um die Referenzwelle zu bilden: Prismen, Parallelplatte, Spiegel, Gitter, wahlweise auf mechanischen Schaltern einer beliebigen Art montiert: mechanische, magnetische Schalter und Piezotranslatoren. Es kann auch optionale optische Elemente beinhalten, wie optische Modulatoren: piezoelektrischer Modulator, akusto-optische Modulatoren, elasto-optische Modulatoren und Phasenmodulatoren: elektro-optische Modulatoren, Flüssigkristallmodulatoren. Solch ein Gerät ist ein Beispiel opti-

scher Komponenten, die in [Fig. 2B](#), [Fig. 2C](#), [Fig. 2D](#) dargestellt sind.

[0064] [Fig. 2B](#), [Fig. 2C](#) und [Fig. 2D](#) stellen drei mögliche Umsetzungen des Aufbaus 2 dar. Wie in [Fig. 2B](#) gezeigt ist, besteht der Aufbau grundsätzlich aus einem Michelson-Interferometer oder allgemeiner einem Twyman-Green-Interferometer, das für die Abbildung in der Reflexionsgeometrie konzipiert ist. Der Durchmesser des von der Beleuchtungsquelle emittierten Strahls wird erweitert und das Interferometer umfasst ein Mikroskopobjektiv im Objektarm und einen Spiegel im Referenzarm, der eine ebene Welle als Referenz R reflektiert. Wenn der Spiegel mit zwei Freiheitsgraden geneigt wird, können außeraxiale Hologramme aufgezeichnet werden. Wie in [Fig. 2C](#) gezeigt ist, besteht der Aufbau grundsätzlich aus einem Mach-Zender-Interferometer, das für die Abbildung in der Transmissionsgeometrie konzipiert ist. Das Interferometer umfasst zwei Strahlausweitungsvorrichtungen in jedem Arm des Interferometers. Eine Konfiguration mit nur einer Strahlausweitungsvorrichtung, die knapp hinter der Beleuchtungsquelle liegt, kann ebenfalls verwendet werden. Die Strahlausweitungsvorrichtungen können einen Nadelstich für räumliche Filterung enthalten. Im Objektarm sammelt ein Mikroskopobjektiv das Licht, das von der Probe übertragen wird. Im Referenzarm reflektiert ein Spiegel, der geneigt werden kann, eine ebene Welle als Referenz R. Wie in [Fig. 2D](#) gezeigt ist, besteht der Aufbau grundsätzlich aus einem Mach-Zender-Interferometer, das für die Reflexionsabbildung konzipiert ist. Im Aufbau von [Fig. 2D](#) ist eine Linse mit einer großen Brennweite zwischen der Strahlausweitungsvorrichtung und dem Mikroskopobjektiv eingefügt. Diese Linse fungiert als ein Kondensor und ihre Position wird justiert, um die Probe durch das Mikroskopobjektiv mit einem kollimierten Strahl zu beleuchten. Dieser Kondensor ist für die Reflexionsabbildung wichtig, da, wie später erläutert wird, die Probe in der holographischen Mikroskopie sich in der Nähe der Objektbrennebene des Mikroskopobjektivs befinden kann. Falls erforderlich, wenn beispielsweise eine hohe Intensität für die Objektbeleuchtung gewünscht ist, kann ein Kondensor auch vor der Probe in der in [Fig. 2C](#) dargestellten Transmissionsgeometrie eingefügt werden. Dieser Kondensor ist ein Beispiel optischer Komponenten, die in [Fig. 2C](#) dargestellt sind. Diese Aufbaubeispiele sind zur Erzeugung von außeraxialen Fresnel-Hologrammen geeignet. Zusätzliche Elemente, als optionale optische Elemente bezeichnet (siehe [Fig. 2B](#), [Fig. 2C](#) und [Fig. 2D](#)), können in beide Arme des Interferometers und/oder vor und/oder hinter den Strahlenteilern eingefügt werden, die sich am Eingang und/oder am Ausgang der Interferometer befinden. Neutraldichtefilter, Prismen, Lambda-Halbe-Blättchen, Lambda-Viertel-Platten, polarisierende Platten, Wollaston-Prismen, Irisblenden, Linsen, räumliche Filter, Nadelstiche sind Beispiele optionaler optischer Elemente. Wie in gepunkteten Linien in [Fig. 2C](#) gezeigt ist, kann ein in der Nähe des Rekombinationsstrahlenteilers eingefügtes Wollaston-Prisma verwendet werden, um die Referenzwelle in zwei Komponenten mit Kreuzpolarisation und verschiedenen Ausbreitungsrichtungen zu trennen (gepunktete Linie). Es können auch polarisierende Strahlteiler anstelle einfacher Strahlteiler verwendet werden.

[0065] Der Vorteil einer Konfiguration auf Basis einer Standardinterferometerkonfiguration besteht darin, dass sie die Aufzeichnung außeraxialer Hologramme mit sehr kleinen Winkeln zwischen den Ausbreitungsrichtungen der Objektwelle und der Referenzwelle gestattet. Dieses Merkmal ist wichtig, wenn Medien mit geringer Auflösung, wie beispielsweise CCD-Kameras, als Bilder-fassungssysteme verwendet werden. Außerdem sind diese auf einer Standardinterferometergeometrie basierenden Konfigurationen zur Erzeugung von Fresnel-Hologrammen von kleinen Proben geeignet.

[0066] In den in [Fig. 2B](#), [Fig. 2C](#) und [Fig. 2D](#) dargestellten Aufbaubeispielen oder allgemeiner in einer beliebigen Aufbauart können optionale optische Elemente entlang der Wege der Referenzwelle und/oder entlang des Wegs der Objektwelle eingefügt werden. Beispielsweise Modulatoren, die die Wellenlänge und/oder die Amplitude und/oder die Frequenz und/oder die Polarisation und/oder die Phase und/oder die optische Weglänge der Wellen modifizieren. Polarisatoren, Lambda-Halbe-Blättchen und Lambda-Viertel-Platten, Wollaston-Prismen, Neutraldichtefilter, akusto-optische Modulatoren, Flüssigkristallgeräte, Baugruppen von Prismen und/oder Spiegeln sind Beispiele von Mitteln, die als optionale optische Elemente verwendet werden können.

[0067] Viele andere Konfigurationen können für die Ausgestaltung des Aufbaus 2 verwendet werden; [Fig. 2B](#), [Fig. 2C](#) und [Fig. 2D](#) sind hier nur als Veranschaulichungen möglicher Beispiele gezeigt. Die meisten Ausgestaltungen von Interferometern können zum Bilden eines digitalen holographischen Aufbaus verwendet werden.

[0068] Zwischen der Ebene, wo das Hologramm erzeugt wird, und der Ebene, wo ein Bild des Hologramms erfasst wird, kann eine Baugruppe von Optikkomponenten (beispielsweise Linsen, Hopkins-Übertragungsoptik und optische Fasern) eingefügt werden. Das Hologramm kann beispielsweise am Distalende eines starren oder biegsamen Endoskops aufgezeichnet werden.

[0069] Mit einer entlang des Wegs der Objektwelle eingefügten Vergrößerungsoptik oder Verkleinerungsoptik

beinhaltet die vorliegende Erfindung ein digitales Verfahren zur Korrektur der zugeordneten Aberrationen.

[0070] Der Ausdruck „Phasenaberrationsfunktionen“ ist als eine Verformung der Wellenfronten zu verstehen, die sich über eine Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik ausbreiten. Die Korrektur der Phasenaberrationsfunktionen gleicht diese Verformung der Wellenfronten aus und gestattet das Wiederherstellen der Phasenverteilung der ursprünglichen Wellenfronten.

[0071] Ein Bilderfassungssystem **5** erfasst ein Bild des Hologramms **4** ([Fig. 1](#)). Es kann eine beliebige Art eines bestehenden oder weiterentwickelten Bilderfassungssystems oder Bildsensors verwendet werden. Da das numerische Rekonstruktionsverfahren schnell ist, können schnelle oder Echtzeiterfassungssysteme, wie beispielsweise eine Videokamera, verwendet werden. CCD-Kamera (CCD = Charge Coupled Device, Ladungskopplungsspeicher), verstärkter oder gekühlter CCD, CCD mit progressiver Abtastung, Line-Scan-Kamera, Elektronenbeschuss-CCD (EB CCD), hochauflösende Kamera, integrierender CCD, numerische oder digitale Kamera, CMOS-Bildsensoren, Array von Photodioden, Array von Sensoren, Array von Akustiksensoren sind Beispiele von Mitteln, die als Bilderfassungssystem verwendet werden können. Langsamere Bilderfassungssysteme, die ein Bild des Hologramms durch Scannen eines Sensors in einer Ebene mit einem mechanischen Gerät erfassen, können ebenfalls verwendet werden. Ein Bild des Hologramms kann auch auf einer photographischen Platte, auf einem Photopolymerfilm oder unter Verwendung eines anderen lichtchemischen Vorgangs aufgezeichnet werden. Ein photorefraktiver Kristall kann ebenfalls als Bilderfassungssystem verwendet werden.

[0072] Um den Transfer des Bilds auf einen Computer zu gestatten, führt ein Bilddigitalisierer **6** die Digitalisierung (in der Regel ein Framegrabber oder allgemeiner ein Gerät, das eine Analog-Digital-Umsetzung durchführt) des erfassten Bilds des Hologramms durch.

[0073] Aufgaben und Merkmale des Verfahrens zur numerischen Rekonstruktion des digitalen Hologramms werden im Folgenden in mehr Einzelheiten beschrieben.

[0074] Das aus den zuvor beschriebenen, verschiedenen Mitteln resultierende Bild wird als ein digitales Hologramm **7** bezeichnet und ist ein Array $I_H(k\Delta x, l\Delta y)$ von $N_x \times N_y$ digital verschlüsselten Zahlen, das aus dem zweidimensionalen räumlichen Abtasten der Hologrammintensität $I_H(x, y)$ resultiert. Dieses zweidimensionale räumliche Abtasten kann von dem Bilderfassungssystem und/oder dem Bilddigitalisierer durchgeführt werden. In einer bevorzugten Art und Weise ist der Bildsensor rechteckig und das räumliche Abtasten ist regelmäßig (mit konstanten Abtastintervallen). In diesem Fall kann $I_x(k\Delta x, l\Delta y)$ aus $I_H(x, y)$ wie folgt ausgedrückt werden:

$$I_H(k\Delta x, l\Delta y) = I_H(x, y) \text{rect}\left(\frac{x}{L_x}, \frac{y}{L_y}\right) \sum_{k=1}^{N_x} \sum_{l=1}^{N_y} \delta(x - k\Delta x, y - l\Delta y) \quad (1.4)$$

wobei $\delta(x, y)$ eine zweidimensionale Dirac-Deltafunktion ist, k, l ganze Zahlen sind, $L_x \times L_y$ die Fläche des erfassten Bilds des Hologramms (die Fläche der empfindlichen Oberfläche des Bilderfassungssystems) ist, $\text{rect}(x, y)$ eine Funktion des Werts ist, der 1 ist, wenn der Koordinatenpunkt (x, y) sich im erfassten Teil des Hologramms befindet, und 0 an anderer Stelle. Δx und Δy sind die Abtastintervalle entlang der $0x$ - bzw. der $0y$ -Richtung. Wenn das Bilderfassungssystem oder der Bilddigitalisierer beispielsweise ein rechteckiges Bild liefert, das N_x Linien entlang der $0x$ -Achse und N_y Punkte pro Linie entlang der $0y$ -Achse enthält, haben wir:

$$\Delta x = \frac{L_x}{N_x} \quad (1.5)$$

$$\Delta y = \frac{L_y}{N_y} \quad (1.6)$$

wobei L_x und L_y die Abmessungen des digitalen Bilds entlang der $0x$ - bzw. der $0y$ -Achse sind.

[0075] Ein Bild des Amplitudenkontrasts **9** und ein Bild des quantitativen Phasenkontrasts **10** der Probe **3** werden aus dem digitalen Hologramm **4** numerisch rekonstruiert. Das Rekonstruktionsverfahren bedingt die Justierung mehrerer Rekonstruktionsparameter **8**, die die für die Hologrammerzeugung verwendete Geometrie definieren (Probenlage, Eigenschaften der Referenzwelle und der Vergrößerungsoptik). Die zur numerischen Rekonstruktion des Hologramms verwendeten Verfahren und die Prozedur zur Justierung der Rekonstruktionsparameter werden weiter in Einzelheiten erläutert werden.

[0076] Der Ausdruck „Rekonstruktionsparameter“ **8** ist als eine Menge von Konstanten zu verstehen, die dem Programm geliefert werden müssen, das die numerische Rekonstruktion des Hologramms ausführt. Diese Konstanten können dem Computer, der das Programm ausführt, von einem menschlichen Bediener geliefert werden, durch eine Vorrichtung, die mit dem Computer kommuniziert, oder durch ein anderes Programm, das auf demselben (oder einem anderen) Computer läuft.

[0077] Bei der klassischen Holographie kann das Hologramm auf einer photographischen Platte aufgezeichnet werden und die Hologrammrekonstruktion wird optisch durch Beleuchten des Hologramms mit einer Kopie der Referenzwelle R durchgeführt, wie in [Fig. 3](#) gezeigt ist. Die übertragene Wellenfront $\psi(x, y) = R(x, y)I_H(x, y)$ enthält vier Terme:

$$\psi(x, y) = R|R|^2 + R|O|^2 + |R|^2O + R^2O^* \quad (1.7)$$

[0078] Die zwei ersten Terme von Gl. (1.7) entsprechen der Brechung nullter Ordnung, der dritte Term dem Zwillingsbild und der vierte Term dem reellen Bild. Wie in [Fig. 3](#) gezeigt ist, können diese drei Terme, wenn das Hologramm in einer außeraxialen Geometrie aufgezeichnet worden ist, separat in der Betrachtungsebene $0\zeta\eta$ betrachtet werden. Für einen sich vor dem Hologramm (hinter der beleuchteten Seite) befindenden Betrachter erscheint das virtuelle Bild als von einer Kopie der sich an ihrer anfänglichen Position befindenden Probe emittiert, während das reelle Bild ein konvergierender Term ist, der in Bezug auf das Hologramm symmetrisch fokussiert ist. Die Brechung nullter Ordnung entspricht dem Teil des Lichts, das nicht vom Hologramm gebeugt wird und sich entlang der Richtung der Referenzwelle ausbreitet. Wie in [Fig. 3](#) gezeigt ist, bilden die Richtungen der Betrachtung des Zwillingsbilds und des reellen Bilds einen Winkel von $+θ$ bzw. $-θ$ in Bezug auf die Richtung der Referenzwelle, wobei $θ$ der Winkel zwischen den Ausbreitungsrichtungen der Referenzwelle R und der Objektwelle O während der wie in [Fig. 2A](#) gezeigten Aufzeichnung des außeraxialen Hologramms ist. Wenn $θ$ gering ist oder wenn das Hologramm ohne Einfallswinkel zwischen der Objektwelle und der Referenzwelle ($θ = 0$) aufgezeichnet wird, können das reelle Bild, das Zwillingsbild und die nullte Ordnung teilweise oder vollständig überlagert werden.

[0079] Im Folgenden bezeichnet $0xy$ die Koordinaten der Hologrammebene und $0\zeta\eta$ die Koordinaten der Betrachtungsebene (die Ebene, wo die Rekonstruktion des Hologramms stattfindet).

[0080] Aus der vorliegenden Erfindung resultierend simuliert das numerische Verfahren zur Hologrammrekonstruktion die standardmäßige optische Rekonstruktion eines Hologramms. Wie in [Fig. 3](#) dargestellt ist, wird die optische Rekonstruktion durch Beleuchten des Hologramms mit der Referenzwelle R durchgeführt und die übertragene Wellenfront (Gl. (1.7)) breitet sich von der Hologrammebene $0xy$ zu einer Betrachtungsebene $0\zeta\eta$ aus, wo das reelle Bild fokussiert wird. Mit der vorliegenden Erfindung wird, während wir ein digitales Hologramm rekonstruieren, eine digitale übertragene Wellenfront $\psi_D(k\Delta x, l\Delta y)$ durch Multiplikation des digitalen Hologramms $I_H(k\Delta x, l\Delta y)$ mit einer digital berechneten Referenzwelle $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ berechnet, die weiter als die digitale Referenzwelle bezeichnet wird. Unter Berücksichtigung der Definition der Hologrammintensität (Gl. (1.1)) haben wir in der Hologrammebene:

$$\begin{aligned} \psi_D(k\Delta x, l\Delta y) &= R_D(k\Delta x, l\Delta y)I_H(k\Delta x, l\Delta y) \\ &= R_D|R|^2 + R_D|O|^2 + R_DR^*O + R_DRO^* \end{aligned} \quad (1.8)$$

wobei R die Referenzwelle ist, die für die Hologrammaufzeichnung verwendet worden ist, als die experimentelle Referenzwelle bezeichnet, und O die Objektwelle ist. Die Berechnung der digitalen Referenzwelle $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ bedingt die Justierung mehrerer Rekonstruktionsparameter und wird in Einzelheiten weiter beschrieben werden.

[0081] Diese Multiplikation mit einer digitalen Referenzwelle ist für die Phasenkontrastabbildung wesentlich, da, wie in Gl. (1.8) dargestellt ist, wir erkennen können, dass, wenn R_D der experimentellen Referenzwelle R entspricht, das Produkt $R_D R^*$ zu reellen Daten wird, die langsam in der Hologrammebene variieren, und die Phase des Zwillingsbilds (O) korrekt rekonstruiert wird. Analog dazu wird, wenn $R_D R^*$ entspricht, das Produkt $R_D R$ zu reellen Daten, die langsam in der Hologrammebene variieren, und die Phase des reellen Bilds (O^*) wird korrekt rekonstruiert. Anders ausgedrückt muss die digitale Referenzwelle eine digitale Kopie der experimentellen Referenzwelle oder eine digitale Kopie von ihres komplexem Konjugats sein, um die Phasenkontrastabbildung durchzuführen.

[0082] [Fig. 4](#) stellt diagrammatisch die Schritte der Berechnungen zur Rekonstruktion eines digitalen Hologramms **7** dar. Die Ausdrücke „Referenzwellenparameter“ **13**, „Rekonstruktionsentfernung“ **12** und

„Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter“ **14** sind als „Rekonstruktionsparameter“ **8** (siehe [Fig. 1](#)) zu verstehen, wie zuvor in diesem Abschnitt definiert. Die gesamte Prozedur kann in sieben Schritte unterteilt werden:

a. Berechnung der digitalen Referenzwelle: Die digitale Referenzwelle ist ein Array $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ komplexer Zahlen, das auf der Basis eines analytischen Ausdrucks der Referenzwelle $f(x, y)$ **15** berechnet wird, deren Ausdruck durch die geometrischen und optischen Eigenschaften des Aufbaus definiert ist. Der analytische Ausdruck der Referenzwelle involviert zwei Mengen von Referenzwellenparametern $\{p_{amp}\}$ und $\{p_{ph}\}$ **13**, die für eine präzise Beschreibung der Wellenfronten der digitalen Referenzwelle justiert werden müssen. $f(x, y)$ ist eine zweidimensionale komplexe Funktion, die so definiert ist, dass die digitale Referenzwelle die Referenzwelle R , die zum Erzeugen des Hologramms verwendet worden ist, so gut wie möglich reproduziert. $f(x, y)$ kann wie folgt ausgedrückt werden:

$$f(x, y) = A_m P(x, y, \{p_{amp}\}) \exp[i \phi(x, y, \{p_{ph}\})] \quad (1.9)$$

wobei $A_m(x, y, \{p_{amp}\})$ und $\phi(x, y, \{p_{ph}\})$ reelle Funktionen sind, die die Amplitude bzw. die Phase von $f(x, y)$ definieren.

[0083] Die Berechnung der digitalen Referenzwelle wird durch Auswerten von $f(x, y)$ für diskrete Werte von x und y durchgeführt: $R_D(k\Delta x, l\Delta y) = f(k\Delta x, l\Delta y)$, wobei k und l ganze Zahlen sind ($-N_x/2 \leq k \leq N_x/2$ und $-N_y/2 \leq l \leq N_y/2$) und wobei Δx und Δy die Abtastintervalle in der Hologrammebene sind, wie durch Gl. (1.5) und (1.6) definiert. Wenn die räumliche Abtastung des Hologramms an einem unregelmäßigen und/oder nicht rechteckigen Netzwerk durchgeführt wird, muss die Berechnung der digitalen Referenzwelle am selben Netzwerk durchgeführt werden.

[0084] Wenn beispielsweise eine ebene Welle (oder eine gute Annäherung einer ebenen Welle) einer gegebenen Wellenlänge λ für die Hologrammerzeugung verwendet wird, kann die digitale Referenzwelle mit dem folgenden Ausdruck berechnet werden:

$$R_D(k\Delta x, l\Delta y) = A_R \exp\left(i \frac{2\pi}{\lambda} (k_x k\Delta x + k_y l\Delta y)\right) \quad (1.10)$$

wobei k_x , k_y und A_R die Referenzwellenparameter sind. k_x und k_y sind zwei reelle Zahlen, die die Komponenten des normierten Wellenvektors (Ausbreitungsrichtung der ebenen Welle) darstellen und A_R ist eine reelle Zahl, die die Amplitude der Referenzwelle darstellt.

[0085] Wenn beispielsweise eine Kugelwelle (oder eine gute Annäherung einer Kugelwelle) einer gegebenen Wellenlänge λ für die Hologrammerzeugung verwendet wird, kann die digitale Referenzwelle mit dem folgenden Ausdruck berechnet werden:

$$R_D(k\Delta x, l\Delta y) = \frac{A_R}{\sqrt{(k\Delta x - x_R)^2 + (l\Delta y - y_R)^2 + z_R^2}} \exp\left(i \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{(k\Delta x - x_R)^2 + (l\Delta y - y_R)^2 + z_R^2}\right) \quad (1.11)$$

wobei (x_R, y_R, z_R) die Koordinaten der Punktquelle bezüglich der Mitte der Hologrammebene 0xy sind und A_R die Amplitude der Kugelwelle bei der Punktquelle ist.

[0086] Parabolwellen, Gaußsche Strahlen oder Wellenfrontdarstellung mit Zernike-Polynomen sind andere Beispiele von Modellen, die zur Berechnung der digitalen Referenzwelle verwendet werden können.

[0087] Die Funktion, die die Amplitude von $f(x, y)$ ($A(x, y)$) beschreibt, kann ebenfalls durch einfaches Erfassen eines Bilds der Referenzintensität in Abwesenheit von Interferenz mit der Objektwelle gemessen werden.

[0088] Die Phase der digitalen Referenzwelle kann ebenfalls unter Verwendung eines Interferometrieverfahrens mit einem Referenzobjekt gemessen werden (es kann beispielsweise auch ein Spiegel oder eine Goldmilchperle verwendet werden). Die gemessene Phase kann direkt zum Definieren der digitalen Referenzwelle verwendet werden. Das Interferogramm kann auch mit einem Fransenanalyseverfahren oder mit einem Wellenfrontanpassungsverfahren analysiert werden. Die gemessene Wellenfront kann beispielsweise mit einer Hochrechnung in Zernike-Polynomen angepasst werden, um einen gemessenen analytischen Ausdruck der

Referenzwelle zu erhalten.

b. Multiplikation des digitalen Hologramms 7 mit der digitalen Referenzwelle:

[0089] Berechnung der Multiplikation zwischen der digitalen Referenzwelle und dem digitalen Hologramm. Das Resultat dieser Multiplikation ist ein Array komplexer Zahlen, das die digitale übertragene Wellenfront in der Hologrammebene darstellt, wie durch Gl. (1.8) definiert.

[0090] c. Numerische Berechnung der skalaren Beugung: Während dieses Schritts wird die Ausbreitung der digitalen übertragenen Wellenfront von der Hologrammebene $0xy$ zu einer Betrachtungsebene $0\xi\eta$ durch eine numerische Berechnung der skalaren Beugung berechnet. Die Entfernung zwischen dem Hologramm und der Betrachtungsebene ist durch die Rekonstruktionsentfernung d_R 12 definiert. Hier muss spezifiziert werden, dass der Ausdruck „Betrachtungsebene“ (Koordinaten $0\xi\eta$) als die Ebene zu verstehen ist, in der das Resultat der Berechnung der skalaren Beugung ausgewertet wird. Um gut fokussierte rekonstruierte Bilder zu erhalten, muss die Rekonstruktionsentfernung d_R der Entfernung zwischen der Probe und dem Hologramm während der Hologrammaufzeichnung entsprechen. Mit Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik muss die Rekonstruktionsentfernung der Entfernung zwischen dem Hologramm und dem vergrößerten (oder verkleinerten) Bild der Probe entsprechen. Die Berechnung der skalaren Beugung kann durch eine numerische Berechnung des Fresnel-Kirchhoff- oder des Rayleigh-Sommerfeld-Integrals oder durch numerische Berechnung einer Annäherung dieser Integrale durchgeführt werden. Insbesondere kann die Fresnel-Annäherung verwendet werden und wird in Einzelheiten weiter beschrieben werden. Das Resultat dieses Schritts wird als die rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene $\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ 17 bezeichnet, wobei m, n ganze Zahlen sind ($-N_x/2 \leq m \leq N_x/2$ und $-N_y/2 \leq n \leq N_y/2$) und $\Delta\xi, \Delta\eta$ die Abtastintervalle in der Betrachtungsebene sind.

[0091] d. Berechnung der Phasenmaske: Dieser Schritt und der nächste Schritt e. sind mit dem für die Hologrammerzeugung verwendeten optischen Aufbau erforderlich, der Phasenaberrationen in der Betrachtungsebene erzeugt. Beispielsweise wenn eine Vergrößerungsoptik oder eine Verkleinerungsoptik entlang des Lichtwegs der Objektwelle eingefügt wird. Beispiele einer solchen Konfiguration sind in [Fig. 6A](#) bis [Fig. 6C](#) mit einer Vergrößerungsoptik (V.O.) mit der Brennweite f gezeigt, die ein vergrößertes Bild der Probe liefert. In [Fig. 6A](#) befindet sich die Bildebene $0x,y_i$ in einer Entfernung d_i von der Ebene der V.O. ($0x,y_\phi$), die Probe befindet sich in der Objektebene $0x,y_o$ in einer Entfernung d_o von der V.O. und die Hologrammebene $0xy$ ist zwischen der V.O. und dem vergrößerten Bild in einer Entfernung d von der Bildebene eingefügt. Die dargestellten Beispiele möglicher Anordnungen ([Fig. 6A](#) bis [Fig. 6C](#)) entsprechen Standardkonfigurationen für die holographische Mikroskopie: siehe: M. Pluta, Hographic Microscopy, in Advances in optical and electron microscopy Bd. 10 (Academic Press, London, 1987). In diesen Fällen ist das erzeugte Hologramm nicht ein Hologramm des Objekts selbst, sondern das des vergrößerten Bilds. Aus diesem Grund bezeichnet dasselbe Symbol d die Probe-Hologramm-Entfernung bei direkter Abbildung (wie beispielsweise in [Fig. 2A](#) dargestellt) und die Entfernung des vergrößerten (oder verkleinerten) Bilds vom Hologramm bei Vorliegen von Vergrößerungsoptik (oder Verkleinerungsoptik) (wie beispielsweise in [Fig. 6A](#) bis [Fig. 6C](#) dargestellt). Drei Möglichkeiten bestehen für die Lage der Hologrammebene $0xy$ hinsichtlich der Lage des vergrößerten (oder verkleinerten) Bilds der Probe. In [Fig. 6A](#) wird das Hologramm (durch Interferenz mit der Referenzwelle R) zwischen der V.O. und dem vergrößerten Bild erzeugt. In [Fig. 6B](#) wird das Hologramm hinter dem vergrößerten Bild erzeugt. Es ist auch möglich, ein Hologramm eines virtuellen (vergrößerten, wie in [Fig. 6C](#), oder verkleinerten) Bilds der Probe zu erzeugen.

[0092] Ein besonderer Fall tritt auf, wenn sich die Probe in der Objektbrennebene der V.O. befindet. In diesem Fall ist die Entfernung zwischen dem Bild und der V.O. (d_i) unendlich und das Hologramm wird mit der Fourier-Transformation des Objektfelds aufgezeichnet. Infolgedessen kann die Rekonstruktion einfach durch Berechnen der Fourier-Transformation der Hologrammintensität durchgeführt werden. Bei dieser Konfiguration, die manchmal als Fourier-Holographie bezeichnet wird, ist keine Justierung der Rekonstruktionsentfernung erforderlich und das reelle Bild und das Zwillingsbild befinden sich beide im Fokus.

[0093] Im Allgemeinen erzeugt eine Vergrößerungsoptik (oder Verkleinerungsoptik) aufgrund ihrer optischen oder geometrischen Eigenschaften eine Phasenaberrationsfunktion in der Bildebene $0x,y_i$. Auf eine allgemeine Weise kann das optische Feld $O_i(x_i, y_i)$ in der Bildebene einer Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik wie folgt ausgedrückt werden:

$$O_i(x_i, y_i) = \exp\{i\phi_{ab}(x_i, y_i)\}O_c(x_i, y_i) \quad (1.12)$$

wobei $\exp\{i\phi_{ab}(x_i, y_i)\}$ aus der Phasenaberrationsfunktion $\phi_{ab}(x_i, y_i)$ berechnet wird und wobei $O_c(x_i, y_i)$ das „kor-

rekte" oder nicht aberrierte optische Feld in der Bildebene ist, das einem von Phasenschwankungen, einschließlich möglicherweise Aberrationen, freien Abbildungssystem entsprechen würde. $\varphi_{ab}(x_i, y_i)$ wird als analytischer Ausdruck der Phasenaberrationsfunktion **16** bezeichnet und wird für die Berechnung der Phasenmaske verwendet werden. $\varphi_{ab}(x_i, y_i)$ involviert eine Menge von Rekonstruktionsparametern (**8** in [Fig. 1](#)), die als Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter $\{p_{ab}\}$ **14** bezeichnet werden. Der analytische Ausdruck der Phasenaberrationsfunktion $\varphi_{ab}(x_i, y_i)$ **16** und die Anzahl von Elementen in $\{p_{ab}\}$ hängt von der Form, vom Material und von der geometrischen Anordnung der Komponenten der Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik ab. In den meisten Fällen hängt die Phasenaberrationsfunktion auch von der Entfernung zwischen der Probe und der Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik ab (z. B. d_o , wie in [Fig. 6A](#) definiert).

[0094] Mit Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik wird die Rekonstruktionsentfernung d_R **12** korrekt justiert (das reelle Bild oder das Zwillingsbild befinden sich im Fokus), wenn die Betrachtungsebene $0\xi\eta$ der Bildebene $0x_iy_i$ entspricht. Infolgedessen erscheint, wenn während der Hologrammerzeugung in der Bildebene eine Phasenaberrationsfunktion erzeugt wird, dieselbe Phasenaberrationsfunktion in der Betrachtungsebene. Als Folge kann die rekonstruierte Wellenfront $\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ **17** als eine Funktion einer korrekt rekonstruierten Wellenfront $\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ **18** in einer zu der in Gl. (1.9) dargestellten ähnlichen Weise ausgedrückt werden. Infolgedessen kann, wenn $\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ **17** mit dem komplexen Konjugat der Phasenaberrationsfunktion multipliziert wird, eine korrigierte rekonstruierte Wellenfront $\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ **18** erhalten werden. Der Zweck der Schritte d. und e. besteht darin, diesen Arbeitsgang digital durchzuführen.

[0095] Ein als digitale Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ bezeichnetes Array komplexer Zahlen wird auf der Basis eines analytischen Ausdrucks der Phasenaberrationsfunktion $\varphi_{ab}(\xi, \eta)$ **16** berechnet: $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta) = \exp[i\varphi_{ab}(m\Delta\xi, n\Delta\eta)]$, wobei m, n ganze Zahlen sind ($-N_x/2 \leq m \leq N_x/2$ und $-N_y/2 \leq n \leq N_y/2$) und $\Delta\xi, \Delta\eta$ die Abtastintervalle in der Betrachtungsebene sind. Der analytische Ausdruck der Phasenaberrationsfunktion wird so definiert, dass die digitale Phasenmaske das komplexe Konjugat der Phasenaberrationsfunktion in der Betrachtungsebene so gut wie möglich darstellt. Eine Menge von Rekonstruktionsparametern, als Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter $\{p_{ab}\}$ **14** bezeichnet, werden durch $\varphi_{ab}(\xi, \eta)$ involviert und gestatten eine präzise Justierung der digitalen Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$.

[0096] Wenn beispielsweise eine einzelne Kugellinse (oder eine gute Annäherung dieser) als Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik verwendet wird, kann die digitale Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ wie folgt ausgedrückt werden:

$$C(m\Delta\xi, n\Delta\eta) = \exp \left\{ -\frac{i\pi}{\lambda D} \left((m\Delta\xi)^2 + (n\Delta\eta)^2 \right) \right\} \quad (1.13)$$

wobei D der Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter ist, der von der Probe-Linse-Entfernung d_o und von der Entfernung der Linse vom vergrößerten Bild d_i abhängt (siehe z. B. [Fig. 6A](#)):

$$\frac{1}{D} = \frac{1}{d_i} \left(1 - \frac{d_o}{d} \right) \quad (1.14)$$

Gl. (1.14) kann auch als eine Funktion der Brennweite f der einzelnen Linse unter Verwendung der Standardbeziehung ausgedrückt werden:

$$1/f = 1/d_o + 1/d_i$$

[0097] Der wie in Gl. (1.13) dargestellte Ausdruck der digitalen Phasenmaske entspricht tatsächlich einer paraboloiden Annäherung der Phasenaberrationsfunktion. Diese einfache Annäherung kann effizient angewendet werden, um die von standardmäßiger Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik, wie beispielsweise Mikroskopobjektiven, erzeugte Phasenaberrationsfunktion zu korrigieren. Der Vorteil dieser Annäherung besteht darin, dass nur ein Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter (D) involviert ist.

[0098] Es ist jedoch bekannt, dass die von einem Mikroskopobjektiv erzeugte Phase komplexere und mehr verfeinerte Modelle sind, die zur Berechnung der digitalen Phasenmaske verwendet werden können. Die digitale Phasenmaske kann beispielsweise auf der Basis einer Hochrechnung der Phasenaberrationsfunktion in Zernike-Polynomen berechnet werden.

[0099] Die Wellenfrontverformung, die die Phasenaberrationsfunktion erzeugt, kann ebenfalls unter Verwendung eines Interferometrieverfahrens mit einem Referenzobjekt (beispielsweise einem Spiegel) gemessen

werden. Die gemessene Phase kann direkt zum Definieren der digitalen Referenzwelle verwendet werden. Das Interferogramm kann auch mit einem Fransenanalyseverfahren oder mit einem Wellenfrontanpassungsverfahren analysiert werden. Die gemessene Wellenfront kann beispielsweise mit einer Hochrechnung in Zernike-Polynomen angepasst werden, um einen gemessenen analytischen Ausdruck der Phasenaberrationsfunktion zu erhalten.

e. Multiplikation zwischen der digitalen Phasenmaske und der rekonstruierten Wellenfront in der Hologrammebene:

[0100] Die korrigierte rekonstruierte Wellenfront $\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ **18** kann durch Berechnen der Multiplikation zwischen der rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene $\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ **17** und der digitalen Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ erhalten werden:

$$\begin{aligned}\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta) &= C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta) \\ &= \exp\{-i\phi_{ab}(m\Delta\xi, n\Delta\eta)\}\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)\end{aligned}\quad (1.15)$$

wobei m, n ganze Zahlen sind und $\Delta\xi, \Delta\eta$ die Abtastintervalle in der Betrachtungsebene sind. Diese Multiplikation führt eine digitale Korrektur der Phasenaberrationsfunktion durch. Diese Einzelheit ist für die vorliegende Erfindung im Vergleich zu anderen bestehenden Interferometrietechniken zur optischen Abbildung spezifisch, da für gewöhnlich, wenn Optikkomponenten in einen Arm eines Interferometers eingefügt werden, die zugeordneten Phasenaberrationen durch Einfügen derselben Optik in den anderen Arm des Interferometers optisch kompensiert werden (Linnick-Interferometer).

[0101] f. Berechnung der Intensität oder des Moduls: Die Intensitätsverteilung $I(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ des rekonstruierten Felds in der Betrachtungsebene wird durch Berechnen des Quadratmoduls der korrigierten rekonstruierten Wellenfront **18** berechnet:

$$\begin{aligned}I(m\Delta\xi, n\Delta\eta) &= |\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta)|^2 \\ &= \text{Re}(\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta))^2 + \text{Im}(\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta))^2\end{aligned}\quad (1.16)$$

[0102] Das Resultat ist ein Array reeller Zahlen, das das Bild des Amplitudenkontrasts **9** darstellt. Wenn anstelle des Quadratmoduls der Modul berechnet wird, kann auch ein anderes Bild des Amplitudenkontrasts erhalten werden. Wie in [Fig. 1](#) gezeigt ist, können wahlweise digitale Bildverarbeitungsbehandlungen auf die berechnete Amplitude oder Intensitätsverteilung angewendet werden, um die Qualität des Bilds des Amplitudenkontrasts zu verbessern.

[0103] g. Berechnung des Arguments: Die Phasenverteilung $\Phi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ des rekonstruierten Felds in der Betrachtungsebene wird durch Berechnen des Arguments der korrigierten rekonstruierten Wellenfront **18** berechnet:

$$\Phi(m\Delta\xi, n\Delta\eta) = \text{arc tan}\left(\frac{\text{Im}(\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta))}{\text{Re}(\psi_c(m\Delta\xi, n\Delta\eta))}\right) \quad (1.17)$$

[0104] Das Resultat ist ein Array reeller Zahlen, dessen Werte im $[-\pi, \pi]$ - (oder $[0, 2\pi]$ -) Intervall beschränkt sind. Dieses Array stellt das Bild des quantitativen Phasenkontrasts **10** dar. Auf das Bild des quantitativen Phasenkontrasts können Phasenabwicklungsverfahren angewendet werden, wenn die Verteilung der der Probe zugeordneten optischen Phase das $[-\pi, \pi]$ - (oder $[0, 2\pi]$ -) Intervall übersteigt. Wie in [Fig. 1](#) gezeigt ist, können wahlweise digitale Bildverarbeitungsbehandlungen auf die berechnete Phasenverteilung angewendet werden, um die Qualität des Bilds des quantitativen Phasenkontrasts zu verbessern. In diesem Fall muss insbesondere auf das Faktum geachtet werden, dass die angewendeten digitalen Bildverarbeitungsbehandlungen sich nicht auf die quantitative Eigenschaft der rekonstruierten Phasenverteilung auswirken.

[0105] Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein numerisches Verfahren zur Hologrammrekonstruktion, das dieselben Berechnungsschritte wie in [Fig. 4](#) dargestellt beinhaltet, aber mit einer anderen Ausführungsreihenfolge. [Fig. 5](#) beispielsweise stellt eine andere Möglichkeit zur numerischen Rekonstruktion eines digitalen Hologramms **7** dar. Wie in [Fig. 5](#) gezeigt ist, wird die numerische Berechnung der skalaren Beugung (Schritt c.) direkt auf das digitale Hologramm $I_H(k\Delta x, l\Delta y)$ **7** angewendet und das erhaltene Resultat (rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene $\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$, **17** mit einer digitalen Referenzwelle in der Betrachtungsebene $R_D(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ multipliziert. Die digitale Referenzwelle wird gemäß dem in Schritt a. erläuterten Rezept berechnet. Der analytische Ausdruck für die Referenzwelle **15** und die Referenzwellenparameter **13** können je-

doch von [Fig. 4](#) zu [Fig. 5](#) variieren. Dann erfolgen die anderen Berechnungsschritte wie für [Fig. 4](#). Die Ausführungsreihenfolge der zwei Multiplikationen (mit der digitalen Referenzwelle und mit der digitalen Phasenmaske) kann umgekehrt werden. Diese Prozedur ist vom Gesichtspunkt der Berechnungen her effizienter, insbesondere während der Ausführung der Prozedur zur Justierung der Rekonstruktionsparameter.

[0106] Wenn das Hologramm in einer außeraxialen Geometrie erzeugt worden ist, enthält die rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene $\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ **17** eine Brechung nullter Ordnung, ein Zwillingsbild und ein reelles Bild, die sich an verschiedenen Stellen der Betrachtungsebene befinden (siehe [Fig. 3](#)). Aus diesem Grund müssen die Berechnungsschritte nach der Berechnung der Beugung (nach Schritt c.) nicht unbedingt für das gesamte Bild, sondern nur für einen ausgewählten Bereich von Interesse (siehe [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#)) durchgeführt werden, der das Zwillingsbild oder das reelle Bild enthält.

[0107] Wie in [Fig. 1](#) gezeigt ist, können wahlweise vor der Anwendung des numerischen Verfahrens zur Hologrammrekonstruktion digitale Bildverarbeitungsverfahren, wie beispielsweise Helligkeits- und Kontrastjustierungen, Versatzsubtraktion, Bandpassfilterung der Raumfrequenzen in der Fourier-Ebene, Über- oder Unterabtastung des digitalen Hologramms oder andere bestehende oder weiterentwickelte digitale Bildverarbeitungsverfahren angewendet werden, um die Qualität des digitalen Hologramms **7** zu verbessern. Beispielsweise um die Sichtbarkeit der Fransen zu verstärken oder das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern. Statistische Berechnungen können ebenfalls auf eine Menge von erfassten Hologrammen angewendet werden. Wie ebenfalls in [Fig. 1](#) gezeigt ist, können wahlweise auch ähnliche Arbeitsgänge auf die rekonstruierten [Abb. 9](#) und [10](#) angewendet werden. Grundsätzlich kann, selbst wenn dies nicht systematisch in den Figuren dargestellt ist, eine ähnliche digitale Bildverarbeitungsbehandlung auf alle berechneten Bilder (digitale Referenzwelle, digitale Phasenmaske, übertragene Wellenfront in der Hologrammebene, rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene und korrigierte rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene) angewendet werden.

[0108] Insbesondere wenn das Hologramm in der außeraxialen Geometrie erzeugt worden ist, werden die Raumfrequenzen grundsätzlich an drei verschiedenen Stellen verteilt. Die den nicht-interferierenden Termen $|R|^2$ und $|O|^2$ (siehe Gl. (1.1)) entsprechenden Raumfrequenzen befinden sich in der Mitte der Fourier-Ebene (niedrige Raumfrequenzen) und die den interferierenden Termen R^*O und RO^* (siehe Gl. (1.1), (1.2), (1.3)) entsprechenden Raumfrequenzen befinden sich bei höheren Raumfrequenzen, deren Positionen mit den Eigenschaften der außeraxialen Geometrie in Verbindung stehen. Vor ihrer numerischen Rekonstruktion können derartige außeraxiale Hologramme Fourier-transformiert und in der Fourier-Domäne gefiltert werden, um nur die Raumfrequenzen der interferierenden Terme zu bewahren. Nach der Anwendung dieses Filters kann das Hologramm invers Fourier-transformiert und numerisch rekonstruiert werden.

[0109] Wenn das digitale Hologramm **7** ein digitales Fresnel-Hologramm ist, kann die numerische Berechnung der skalaren Beugung (Schritt c.) unter Verwendung einer diskreten Formulierung des Fresnel-Integrals durchgeführt werden. In diesem Fall wird der Algorithmus für die numerische Rekonstruktion des digitalen Hologramms durch Gl. (1.18) gegeben:

$$\begin{aligned} \psi_C(m\Delta\xi, n\Delta\eta) = & C(m\Delta\xi, n\Delta\eta) \\ & A \exp \left\{ \frac{i\pi}{\lambda d_R} [m^2 \Delta\xi^2 + n^2 \Delta\eta^2] \right\} DFT[R_D(k\Delta x, l\Delta y)] \\ & I_H(k\Delta x, l\Delta y) \exp \left\{ \frac{i\pi}{\lambda d_R} [k^2 \Delta x^2 + l^2 \Delta y^2] \right\}_{m,n} \end{aligned} \quad (1.18)$$

wobei λ die Wellenlänge der Beleuchtungsquelle ist, $A = \exp(i2\pi d_R/\lambda)/(i\lambda d_R)$ eine komplexe Konstante ist, k, l, m, n ganze Zahlen sind ($-N_x/2 \leq k, m \leq N_x/2$ und $-N_y/2 \leq l, n \leq N_y/2$) und DFT der Operator der diskreten Fourier-Transformation ist. Δx und Δy sind die Abtastintervalle in der Hologrammebene, wie durch Gl. (1.5) und (1.6) definiert. d_R ist die Rekonstruktionsentfernung **12**. $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ ist die digitale Phasenmaske und $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ ist die digitale Referenzwelle.

[0110] In der Fresnel-Annäherung werden die Abtastintervalle in der Betrachtungsebene $0\Delta\xi$ durch $\Delta\xi$ und $\Delta\eta$ definiert. Diese Intervalle stehen mit den Abtastintervallen in der Hologrammebene (Δx und Δy), mit der Anzahl von Proben (Pixeln) entlang beider Richtungen des digitalen Hologramms (N_x und N_y) und mit der Rekonstruktionsentfernung (d_R) durch die folgenden Beziehungen in Verbindung:

$$\Delta\xi = \frac{\lambda d_R}{N_x \Delta x} = \frac{\lambda d_R}{L_x} \quad (1.19)$$

$$\Delta\eta = \frac{\lambda d_R}{N_y \Delta y} = \frac{\lambda d_R}{L_y} \quad (1.20)$$

[0111] Mit Ausnahme der Multiplikation mit $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ kann der wie durch Gl. (1.18) beschriebene Rekonstruktionsalgorithmus als eine diskrete Berechnung des Fresnel-Integrals oder der diskreten Fresnel-Transformation der übertragenen Wellenfront $\psi(x, y) = R(x, y)I_H(x, y)$ verstanden werden. Da die Berechnung des DFT mit Algorithmen der schnellen Fourier-Transformation (fast fourier transform, FFT) durchgeführt werden kann, kann Gl. (1.18) auch als der Ausdruck einer schnellen Fresnel-Transformation angesehen werden.

[0112] Wie bereits durch [Fig. 5](#) dargestellt ist, kann eine andere Umsetzung des Verfahrens durch direktes Berechnen des skalaren Beugungsmusters des digitalen Hologramms $I_H(k\Delta x, l\Delta y)$ und durch Multiplizieren des erhaltenen Resultats mit einer digitalen Referenzwelle in der Betrachtungsebene erhalten werden. In diesem Fall wird der Rekonstruktionsalgorithmus in der Fresnel-Annäherung durch folgende Gleichung gegeben:

$$\begin{aligned} \psi_C(m\Delta\xi, n\Delta\eta) = & C(m\Delta\xi, n\Delta\eta) R_D(m\Delta\xi, n\Delta\eta) \\ & A \exp \left\{ \frac{i\pi}{\lambda d_R} [m^2 \Delta\xi^2 + n^2 \Delta\eta^2] \right\} DFT[I_H(k\Delta x, l\Delta y)] \\ & \left. \exp \left\{ \frac{i\pi}{\lambda d_R} [k^2 \Delta x^2 + l^2 \Delta y^2] \right\} \right]_{m,n} \end{aligned} \quad (1.21)$$

[0113] Der Ausdruck „digitales Fresnel-Hologramm“ ist so zu verstehen, dass die numerische Rekonstruktion des Hologramms unter Verwendung eines der durch Gl. (1.18) oder (1.21) beschriebenen Algorithmen durchgeführt werden kann.

[0114] Wie bereits erwähnt, werden mehrere Rekonstruktionsparameter **8** vom Verfahren zur numerischen Rekonstruktion des Hologramms erfordert. Mit Bezugnahme auf [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) bestehen drei Arten von Rekonstruktionsparametern:

[0115] Die Rekonstruktionsentfernung d_R **12** stellt die Entfernung zwischen der Hologrammebene $0xy$ und der Betrachtungsebene $0\xi\eta$ dar. Die Justierung des Werts von d_R gestattet das Fokussieren der rekonstruierten Bilder. Um gut fokussierte rekonstruierte Bilder zu erhalten, muss der Wert der Rekonstruktionsentfernung so gut wie möglich der Entfernung zwischen der Probe und der Ebene, wo das Hologramm erzeugt wird, gleichen (wir müssen beispielsweise $d_R = d$ haben, wobei d wie in [Fig. 2A](#) und in [Fig. 3](#) definiert ist). Wenn nichtleitende Medien zwischen der Probe und dem Hologramm eingefügt werden, muss d_R der optischen Weglänge zwischen der Probe und dem Hologramm gleichen. Es versteht sich, dass die optische Weglänge durch den Quotienten zwischen der reellen Entfernung und dem Brechungsindex der nichtleitenden Medien definiert ist. Mit einer Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik muss der Wert von d_R der Entfernung zwischen dem vergrößerten (oder verkleinerten) Bild und der Ebene, wo das Hologramm erzeugt wird, gleichen (wir müssen beispielsweise $d_R = d$ haben, wobei d wie in [Fig. 6A](#) bis [Fig. 6C](#) definiert ist).

[0116] Die Justierung von d_R kann mit der Justierung der Fokalisation bei der Lichtmikroskopie oder der Fotografie verglichen werden. Bei der optischen Mikroskopie wird die Fokalisation durch Parallelverschieben der Probe entlang der optischen Achse des Mikroskops durchgeführt. Bei der Fotografie wird die Probe fixiert und die Fokalisation wird durch Parallelverschieben einer Linse entlang der optischen Achse des Abbildungsgeräts durchgeführt. Mit der vorliegenden Erfindung kann dieselbe Art von Arbeitsgang digital durch Justieren der Rekonstruktionsentfernung d_R durchgeführt werden. [Fig. 7](#) zeigt drei Bilder des Amplitudenkontrasts eines USAF-Testziels, die mit unterschiedlichen Werten der Rekonstruktionsentfernung erhalten wurden, und ist hier dargestellt, um den Effekt von der Justierung von d_R zugeordneter digitaler Fokussierung zu veranschaulichen. [Fig. 7A](#) ist für einen zu kleinen Wert von d_R , [Fig. 7B](#) für den korrekten Wert von d_R und [Fig. 7C](#) für einen zu großen Wert erhalten worden.

[0117] Es muss mit Bezugnahme auf [Fig. 3](#) bemerkt werden, dass das Vorzeichen von d_R von Bedeutung ist. Wenn d_R positiv ist, befindet sich das reelle Bild im Fokus, und wenn d_R negativ ist, befindet sich die Betrachtungsebene hinter dem Hologramm und das Zwillingsbild ist im Fokus.

[0118] Die Referenzwellenparameter **13** sind zwei Mengen von Rekonstruktionsparametern; $\{p_{amp}\}$ für die Definition der Amplitude und $\{p_{ph}\}$ für die Definition der Phase der digitalen Referenzwelle. Die Anzahl der Elemente in diesen Mengen hängt vom analytischen Ausdruck der Referenzwelle **15** ab. Eine präzise Justierung der Referenzwellenparameter, die die Phase der digitalen Referenzwelle ($\{p_{ph}\}$) definiert, ist zur Abbildung des quantitativen Phasenkontrasts wichtig. Wie oben erläutert wurde (siehe Gl. (1.8) und verwandte Erklärungen), müssen die Werte dieser Parameter mit Präzision derart justiert werden, dass die Wellenfronten der digitalen Referenzwelle R_D denen der experimentellen Referenzwelle R (von denen ihres komplexen Konjugats) so gut wie möglich entsprechen.

[0119] Die Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter **14** bilden eine Menge von Rekonstruktionsparametern $\{p_{ab}\}$. Die Anzahl der Elemente in dieser Menge hängt vom analytischen Ausdruck der Phasenaberrationsfunktion **16** ab. Eine präzise Justierung der Phasenaberrationsfunktionsparameter ist zur Abbildung des quantitativen Phasenkontrasts wichtig. Die Werte dieser Parameter müssen mit Präzision derart justiert werden, dass die Multiplikation der rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene $\psi(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ mit der digitalen Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ die Phasenaberrationsfunktionen in der Betrachtungsebene so gut wie möglich korrigiert.

[0120] Die Ausdrücke „gleichen so gut wie möglich“, „entspricht so gut wie möglich“ oder „korrigiert so gut wie möglich“ sind so zu verstehen, dass die Qualität der rekonstruierten Bilder für eine gegebene Anwendung ausreichend ist, selbst wenn die Rekonstruktionsparameter nicht exakt justiert sind, d. h. die berechnete digitale Referenzwelle und die digitale Phasenmaske nicht exakte Kopien ihrer experimentellen Äquivalente sind. Dieselbe Anmerkung gilt auch für die Definition der analytischen Ausdrücke der Referenzwelle und der Phasenaberrationsfunktion. Anders ausgedrückt sind bei den Beispielen der Rekonstruktionsentfernung und der digitalen Referenzwelle die Gleichheiten $d = d_R$ und $R_D = R$ (digitale Referenzwelle = für die Hologrammerzeugung verwendete Referenzwelle) nicht strengstens erforderlich, um ein Bild des quantitativen Phasenkontrasts der Probe zu erhalten; die erforderliche Präzision dieser Gleichheit kann jedoch von Anwendung zu Anwendung variieren, je nach dem gewünschten Präzisions- und Bildqualitätsniveau. Dieselbe Art von Überlegungen ist auf bekannte Situationen in der klassischen Mikroskopie oder in der Fotografie anwendbar, in denen beispielsweise der Präzisionsgrad der Fokalisationen eines Bilds durch die Qualität der Optik und durch die zum Auswerten dieser Fokalisation verwendeten Kriterien (manchmal subjektiv) beschränkt. Natürlich ist mit der vorliegenden Erfindung eine exakte (oder fast exakte) Justierung der Rekonstruktionsparameter und der Definition von exakten analytischen Ausdrücken erzielbar, dies kann jedoch die Verwendung verfeinerter Modelle für die Definitionen der analytischen Ausdrücke mit einer steigenden Anzahl von Rekonstruktionsparametern und infolgedessen eines Anstiegs der Berechnungszeit bedingen.

[0121] In einer bevorzugten Art und Weise wird die Justierung der Rekonstruktionsparameter, die das quantitative Bild des Phasenkontrasts beeinflussen (Referenzwellenparameter und Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter) mit einer optisch flachen Referenzoberfläche in der und/oder in der Nähe der oder um die Probe herum durchgeführt. Diese optische flache Referenzoberfläche ist beispielsweise eine polierte metallische oder nichtleitende Oberfläche oder eine Teststruktur, auf der die Probe liegt, in der Regel eine Glasplatte, die wie in der klassischen Mikroskopie als Probenhalterung verwendet wird. Wenn eine derartige Oberfläche bekannter Form in der Nähe der Probe vorliegt, können die Rekonstruktionsparameter justiert werden, um die vorhergesagte Phasenverteilung in der entsprechenden Fläche des Bilds mit rekonstruiertem quantitativem Phasenkontrast zu erhalten. Die Rekonstruktionsparameter können beispielsweise justiert werden, um eine konstante Phasenverteilung zu erhalten, wenn die Referenzoberfläche eben ist. [Fig. 8A](#) zeigt ein Beispiel eines Bilds mit rekonstruiertem quantitativem Phasenkontrast einer biologischen Zelle auf einer Glasplatte. Bei diesem Beispiel sind die Rekonstruktionsparameter justiert worden, um eine konstante Phasenverteilung um die Zelle herum zu erhalten, wobei nur die Glassplatte, die flach und eben ist, zur Ausbildung des Bilds beiträgt. Der Fall, in dem die Probe nicht auf einer nichtleitenden Platte oder auf einem Spiegel liegt, aber in freiem Raum isoliert ist (gestützt, aufgehängt oder schwebend), kann natürlich auch in Betracht gezogen werden.

[0122] Eine die Auswirkung einer schlechten Justierung der Referenzwellenparameter und der Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter zeigende Abbildung ist in [Fig. 8](#) gezeigt. Für dieses Beispiel ist eine ebene Welle für die Hologrammaufzeichnung und ein Mikroskopobjektiv als Vergrößerungsoptik verwendet worden, mit einer wie in [Fig. 6A](#) gezeigten geometrischen Anordnung. In diesem Fall wird die digitale Referenzwelle $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ unter Verwendung von Gl. (1.8) mit den Referenzwellenparametern A_R , k_x und k_y berechnet und die digitale Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ wird unter Verwendung von Gl. (1.10) und (1.11) mit dem Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter D berechnet. [Fig. 8A](#) zeigt das erhaltene Bild des quantitativen Phasenkontrasts mit einer korrekten Justierung aller Rekonstruktionsparameter (d_R , D , k_x , k_y und A_R). In diesem Bild sind die Zellmembran, der Kern und ein paar intrazelluläre Strukturen zu sehen. Wenn der Wert

des Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameters D in Bezug auf seinen korrekten Wert modifiziert wird, das erhaltene Bild des quantitativen Phasenkontrasts, das in [Fig. 8B](#) gezeigt ist. In diesem Fall beobachten wir, dass gekrümmte konzentrische Fransen, die für die quadratische Phasenaberrationsfunktion des Mikroskopobjektivs charakteristisch sind, auf dem Bild erscheinen. Diese gekrümmten Fransen erscheinen, wenn die Phasendifferenz zwischen der berechneten digitalen Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ und dem komplexen Konjugat der Phasenaberrationsfunktionen des Mikroskopobjektivs (experimentelle Phasenaberrationsfunktion) einem Vielfachen von 2π entspricht. Der Wert von D wird justiert, um die Krümmung dieser Fransen zu minimieren. Wenn D korrekt justiert wird, die Werte der Referenzwellenparameter k_x und k_y jedoch modifiziert werden, beobachten wir in [Fig. 8C](#), dass gerade Fransen mit einer feststehenden Orientierung und einem feststehenden Abstand auf dem erhaltenen Bild des quantitativen Phasenkontrasts erscheinen. Diese geraden Fransen erscheinen, wenn die Phasendifferenz zwischen den Wellenfronten von $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ und den Wellenfronten der experimentellen ebenen Referenzwelle $R(x, y)$ (oder den Wellenfronten ihres komplexen Konjugats) einem Vielfachen von 2π entspricht. Die Werte von k_x und k_y werden justiert, um die Entfernung zwischen zwei benachbarten Fransen zu maximieren. Wenn keine Fransen mehr auf den rekonstruierten Bildern erscheinen, wird eine feinere Justierung von k_x und k_y durchgeführt, um restliche konstante Gradienten in der rekonstruierten Phasenverteilung zu unterdrücken.

[0123] Wenn die Referenzwelle sphärisch (oder fast sphärisch) ist, wird eine schlechte Justierung der Referenzwellenparameter auf dem Bild des Phasenkontrasts gekrümmte Fransen erzeugen und die Referenzwellenparameter werden justiert, um diese Fransen zu eliminieren. In diesem Fall wird eine feinere Justierung der Rekonstruktionsparameter durchgeführt, um restliche konstante Krümmungen der rekonstruierten Phasenverteilung zu unterdrücken.

[0124] Wie in [Fig. 9](#) gezeigt ist, sind vier verschiedene Prozeduren zur Justierung der korrekten Werte der Rekonstruktionsparameter möglich (eine Kombination dieser verschiedenen Prozeduren ist ebenfalls möglich):

A. Messung der Rekonstruktionsparameter: Da die Rekonstruktionsparameter eine physikalische Bedeutung haben (Entferungen, Winkel, Lichtstärken), können ihre Werte auf dem Aufbau gemessen werden. Diese Messung kann mit einer Vorrichtung durchgeführt werden, die mit dem Computer kommuniziert. In einem Aufbau ohne Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik beispielsweise kann die Entfernung zwischen der Probe und der Ebene, wo das Hologramm erzeugt wird (d in [Fig. 2A](#)), gemessen werden und der erhaltene Wert kann als Rekonstruktionsentfernung d_R verwendet werden.

B. Iterative Justierung: Die Justierung der Rekonstruktionsparameter kann iterativ durch mehrmaliges Ausführen der numerischen Rekonstruktion desselben digitalen Hologramms in einer Schleife durchgeführt werden. Am Ende jeder Iteration (jeder numerischen Rekonstruktion) werden die erhaltenen Bilder des Amplitudenkontrasts und des Phasenkontrasts analysiert und die Werte der Rekonstruktionsparameter modifiziert. Die für diese neue Menge von Rekonstruktionsparametern erhaltenen rekonstruierten Bilder werden mit dem am Ende der vorausgegangenen Iteration erhaltenen Bildern verglichen und die Werte der Rekonstruktionsparameter werden modifiziert, um die Bildqualität zu verbessern. Diese Schleife wird wiederholt, bis die Werte der Rekonstruktionsparameter ihre optimalen Werte erreichen.

[0125] Dieser Arbeitsgang kann von einem menschlichen Bediener oder automatisch von einem Computer auf der Basis eines numerischen Verfahrens durchgeführt werden. Die Justierung der Rekonstruktionsentfernung kann beispielsweise unter Verwendung eines Autofokusverfahrens durchgeführt werden, das den Hochfrequenzinhalt des rekonstruierten Bilds automatisch maximiert. Es können bekannte Fokuskriterien, wie beispielsweise die sogenannte Intensitätsveränderung, „Sum Modulus Difference“ (SMD), Entropie von Graustufen oder „Square Plane Sum Modulus Difference“ (SPSMD) verwendet werden, um die Fokalisation der rekonstruierten Bilder quantitativ auszuwerten. Die Anwendung eines Sobel- oder Prewitt-Filters auf das rekonstruierte Bild, gefolgt von einer Integration, kann ebenfalls als ein Fokuskriterium verwendet werden, das maximiert werden muss.

[0126] Ähnliche automatische Verfahren können zur Justierung der Referenzwellen- oder Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter verwendet werden.

[0127] C. Experimentelle Justierung: Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die numerische Rekonstruktion der erfassten digitalen Hologramme mit feststehenden Werten der Rekonstruktionsparameter durchzuführen und die für die Hologrammaufzeichnung verwendete experimentelle Konfiguration durch Parallelverschieben und/oder Drehen der Probe und/oder der Komponenten des Aufbaus zu modifizieren. Die Rekonstruktion des digitalen Hologramms kann beispielsweise mit einem feststehenden Wert der Rekonstruktionsentfernung d_R durchgeführt werden und die Probe kann von der Ebene, wo das Hologramm erzeugt wird, weg oder näher an

diese heran bewegt werden, bis die rekonstruierten Bilder sich im Fokus befinden. Wenn der experimentelle Aufbau eine Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik umfasst, kann die Fokalisation der rekonstruierten Bilder wie gewöhnlich in der klassischen Mikroskopie oder in der klassischen Fotografie durch Parallelverschieben der Probe und/oder der Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik entlang der optischen Achse des Abbildungssystems durchgeführt werden. Wenn die Referenzwelle von einem Spiegel in Richtung der Ebene reflektiert wird, wo das Hologramm erzeugt wird (wie beispielsweise in [Fig. 2A](#) und [Fig. 2B](#) gezeigt), kann die Justierung der Referenzwellenparameter durch Drehen und/oder Parallelverschieben des Spiegels durchgeführt werden. Wenn eine Vergrößerungsoptik oder eine Verkleinerungsoptik verwendet wird, kann, da die Phasenaberrationsfunktion in der Betrachtungsebene im Allgemeinen von der Entfernung zwischen der Probe und der Vergrößerungsoptik abhängt, die Justierung der Phasenaberrationsfunktionsparameter durch Parallelverschieben der Probe und/oder der Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik entlang der optischen Achse des Abbildungssystems durchgeführt werden.

[0128] Diese experimentelle Justierung der Rekonstruktionsparameter kann von einem menschlichen Bediener oder von einer Vorrichtung, wie beispielsweise piezoelektrisch angetriebenen Schaltern oder Translatoren, durchgeführt werden. Wenn eine Vorrichtung verwendet wird und wenn diese Vorrichtung von einem Computer oder von einem Prozessor gesteuert wird, kann diese experimentelle Justierung der Rekonstruktionsparameter automatisch unter Verwendung eines iterativen Verfahrens durchgeführt werden. Fokussierte Bilder können beispielsweise unter Verwendung eines Autofokusverfahrens erhalten werden, das das Parallelverschieben der Probe oder das Parallelverschieben der Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik steuert.

[0129] D. Analyse des digitalen Hologramms: Das Hologramm selbst enthält Informationen zur experimentellen Konfiguration, die für die Hologrammerzeugung verwendet worden ist, und das digitale Hologramm kann analysiert werden, um die Werte der Rekonstruktionsparameter abzuschätzen. Das digitale Hologramm kann beispielsweise Fourier-transformiert werden und die Verteilung der Raumfrequenzen kann analysiert werden. Insbesondere wenn das Hologramm in der außeraxialen Geometrie erzeugt worden ist, werden die Raumfrequenzen grundsätzlich an drei verschiedenen Stellen verteilt. Die den nicht-interferierenden Termen $|R|^2$ und $|O|^2$ (siehe Gl. (1.1)) entsprechenden Raumfrequenzen befinden sich in der Mitte der Fourier-Ebene (niedrige Raumfrequenzen) und die den interferierenden Termen R^*O und RO^* (siehe Gl. (1.1)) entsprechenden Raumfrequenzen befinden sich bei höheren Raumfrequenzen, deren Positionen mit den Eigenschaften der außeraxialen Geometrie in Verbindung stehen. Wenn das Hologramm beispielsweise in der außeraxialen Geometrie mit einer ebenen Welle als Referenz aufgezeichnet worden ist, können die Werte der Referenzwellenparameter k_x und k_y (siehe Gl. (1.8)) aus der Verteilung der Raumfrequenzen in der Fourier-Domäne abgeschätzt werden.

[0130] Im Allgemeinen wird eine erste numerische Rekonstruktion des digitalen Hologramms unter Verwendung einer vorläufigen Menge von Rekonstruktionsparametern **19** mit Vorgabewerten durchgeführt und die Justierung der Rekonstruktionsparameter wird unter Verwendung einer Kombination der wie oben beschriebenen Prozeduren A, B, C und D durchgeführt.

[0131] Die obenerwähnten Verfahren zur Justierung der Rekonstruktionsparameter gehen davon aus, dass die digitale Referenzwelle und die digitale Phasenmaske auf der Basis bekannter analytischer Ausdrücke berechnet werden. Eine weitere Möglichkeit besteht im experimentellen Auswerten der digitalen Referenzwelle und der digitalen Phasenmaske unter Verwendung einer Probe bekannter Phasenverteilung. Wenn beispielsweise eine optische flache Oberfläche (z. B. ein Spiegel) als Probe verwendet wird, wird eine konstant rekonstruierte Phasenverteilung versucht. Wenn die numerische Rekonstruktion des Hologramms ohne Korrektur der Phasenaberrationsfunktion und ohne Multiplikation mit einer digitalen Referenzwelle durchgeführt wird, wird die rekonstruierte Phasenverteilung das Ergebnis von drei Beiträgen sein: die versuchte Konstante (Probenbeitrag), die Phasenaberrationsfunktion (Vergrößerungsoptikbeitrag) und die Phase der Referenzwelle in der Betrachtungsebene (Referenzwellenbeitrag). Durch Subtraktion des Konstantenbeitrags der Probe kann man die Phase sowohl der digitalen Referenzwelle als auch der digitalen Phasenmaske erhalten. Mit dieser Phaseninformation kann ein Array komplexer Zahlen gebildet werden und die Multiplikation des erhaltenen Resultats mit dem komplexen Konjugat dieses Arrays sollte gestatten, die Phase der Probe wiederherzustellen.

[0132] [Fig. 10](#) zeigt sechs Beispiele der numerischen Rekonstruktion von digitalen Hologrammen und ist hier dargestellt, um den Gedanken der gleichzeitigen Abbildung des Amplitudenkontrasts und des quantitativen Phasenkontrasts zu verdeutlichen. [Fig. 10A](#) und [Fig. 10B](#) stellen das Bild des Amplitudenkontrasts bzw. das Bild des quantitativen Phasenkontrasts eines USAF-Testziels dar. Das Hologramm ist in der Reflexionsgeometrie (die Objektwelle wird von der Probe reflektiert) aufgezeichnet worden. Die Probe (USAF-Testziel) setzt sich aus einer Glasplatte zusammen, auf der rechteckige reflektierende Elemente unterschiedlicher Größen durch

Verdampfung von Chrom erzeugt werden. Beim Amplitudenkontrast ([Fig. 10A](#)) offenbart das erhaltene Bild Veränderungen des Reflexionsgrads der Probe und beim quantitativen Phasenkontrast ([Fig. 10B](#)) offenbart das erhaltene Bild Veränderungen sowohl der Topographie der Probe als auch der optischen Phasenverschiebung bei Reflexion an der Oberfläche. Sowohl das Bild des Amplitudenkontrasts als auch das Bild des quantitativen Phasenkontrasts offenbaren das gleiche Muster, da die höchsten Teile der Probe auch die am meisten reflektierenden sind.

[0133] [Fig. 10C](#) und [Fig. 10D](#) stellen das Bild des Amplitudenkontrasts bzw. das Bild des quantitativen Phasenkontrasts eines reinen Phasenobjekts dar. Das Hologramm ist in der Reflexionsgeometrie aufgezeichnet worden. Die Probe ist durch Verdampfen einer dünnen Aluminiumschicht (70 nm) über der Oberfläche eines USAF-Testziels gefertigt worden. Bei der Amplitude ([Fig. 10C](#)) ist kein Kontrast sichtbar, da die optischen Eigenschaften über die gesamte Oberfläche der Probe gleich sind, und beim quantitativen Phasenkontrast ([Fig. 10D](#)) offenbart das erhaltene Bild ausschließlich die Topographie der Probe.

[0134] [Fig. 10E](#) und [Fig. 10F](#) stellen das Bild des Amplitudenkontrasts bzw. das Bild des quantitativen Phasenkontrasts einer biologischen Zelle dar. Das Hologramm ist in der Transmissionsgeometrie (die Objektwelle wird von dem Licht erzeugt, das von der Probe übertragen wird) aufgezeichnet worden. Da biologische Zellen fast transparent sind, offenbart das rekonstruierte Bild beim Amplitudenkontrast ([Fig. 10E](#)) weniger Details als das Bild des quantitativen Phasenkontrasts ([Fig. 10F](#)), dessen Kontrast infolge von Unterschieden beim Brechungsindex und/oder bei der Dicke der Probe vorliegt.

[0135] [Fig. 11](#) wird hier dargestellt, um den Gedanken des quantitativen Phasenkontrasts zu verdeutlichen, und zeigt ein Beispiel mit der vorliegenden Erfindung durchgeföhrter quantitativer Messung. [Fig. 11A](#) zeigt eine Ansicht des in [Fig. 10D](#) dargestellten Bilds des Phasenkontrasts in einer dreidimensionalen Perspektive. Da die Probe ein reines Phasenobjekt ist, ist die rekonstruierte Phasenverteilung $\Phi(\xi, \eta)$ direkt proportional zur Höhenverteilung $h(\xi, \eta)$ auf der Musteroberfläche (Topographie der Probe):

$$h(\xi, \eta) = \frac{\lambda}{4\pi} \Phi(\xi, \eta) \quad (1.22)$$

[0136] [Fig. 11B](#) ist ein Graph, um ein Beispiel quantitativer Oberflächenprofilometrie zu zeigen. Ein Phasenprofil ist aus den Daten gewonnen worden, die dem in [Fig. 11A](#) dargestellten Bild entsprechen. Die gemessenen Phasenwerte sind unter Verwendung von Gl. (1.22) in Höhenmessungen umgewandelt und auf dem Graph von [Fig. 11B](#) wiedergegeben worden; das entsprechende Profil wird als „Digitale Holographie“ bezeichnet und ergibt eine Messung von etwa 55 Nanometer (nm) für die Stufenhöhe. Zum Vergleich: Die gleiche Stufenhöhe ist durch Scannen eines Standardfühlnadelsonden-Prolifometer (Alpha-step 500) über die entsprechende Fläche des Musters gemessen worden. Wie in [Fig. 11B](#) gezeigt ist, stimmen beide Techniken hervorragend miteinander überein.

[0137] Mit der vorliegenden Erfindung kann eine Menge von Hologrammen (mindestens zwei) von derselben Probe oder von mehreren verschiedenen Proben unter Verwendung der verschiedenen oben beschriebenen Verfahren aufgezeichnet, erfasst, digitalisiert und numerisch rekonstruiert werden. Es ist auch klar, dass jedes individuelle Hologramm gleichzeitig das Hologramm vieler Proben sein kann oder anders ausgedrückt dass die Probe sich aus mehreren Proben zusammensetzen kann.

[0138] Diese Menge von Hologrammen kann beispielsweise eine Zeitsequenz von Hologrammen sein, die mit derselben oder mit einer anderen Probe zu verschiedenen Zeitpunkten erzeugt worden sind. Die entsprechende numerisch rekonstruierte Amplituden- und/oder Phasenkontrastmenge von Bildern stellt dann die Probe (oder die verschiedenen Proben) zu diesen verschiedenen Zeitpunkten dar und diese Menge von rekonstruierten Bildern kann verwendet werden, um eine berechnete Computervideoanimation zu erstellen und/oder eine Verformung der Probe und/oder eine Bewegung der Probe und/oder eine Modifikation der optischen Eigenschaften der Probe zu überwachen.

[0139] Diese Menge von Hologrammen kann beispielsweise Hologramme derselben Probe enthalten, die zum selben Zeitpunkt unter Verwendung mehrerer Bilderfassungssysteme und eines entsprechenden Aufbaus aufgezeichnet worden sind. Die entsprechenden rekonstruierten Bilder stellen die Probe mit verschiedenen Richtungen von Betrachtungen dar.

[0140] Diese Menge von Hologrammen kann beispielsweise Hologramme enthalten, die in der Transmissionsgeometrie für verschiedene Orientierungen einer halbtransparenten oder transparenten Probe erzeugt

worden sind. Die Probe kann beispielsweise zwischen jeder Hologrammerfassung gedreht werden. Dann kann der wohlbekannte Fourier-Schnitt-Satz auf die Menge von entsprechenden numerisch rekonstruierten Amplituden- und/oder quantitativen Phasenkontrastmengen von Bildern angewendet werden, die als die Projektionen der Probe entlang der optischen Weglänge angesehen werden. Rückprojektionstechniken sind ebenfalls für die Rekonstruktion geeignet. In einer weiterentwickelten Version des Verfahrens ist Beugungstomographie ein bekannter Ansatz, der auf die Behandlung der Menge von rekonstruierten Bildern angewendet werden kann, um eine berechnete dreidimensionale Tomographie der Probe zu erstellen.

[0141] Ein weiteres aus der vorliegenden Erfindung resultierendes Verfahren basiert auf der Behandlung einer Menge von Hologrammen, die nach aufeinanderfolgenden Modifikationen der Bestrahlungswellenlänge λ erhalten wurden. Wenn die Hologramme in der Transmissionsgeometrie mit einer halbtransparenten Probe aufgezeichnet werden und vorausgesetzt, dass das Streuungsgesetz des Brechungsexponenten bekannt ist, kann die exakte Dicke der Probe abgeleitet werden.

[0142] Ein weiteres aus der vorliegenden Erfindung resultierendes Verfahren basiert auf der Behandlung einer Menge von Hologrammen, die nach aufeinanderfolgenden Modifikationen der Bestrahlungswellenlänge λ erhalten wurden. Eine berechnete dreidimensionale Beschreibung der Probe kann aus der Fourier-Transformation der Menge von entsprechenden Bildern mit rekonstruiertem Amplitudenkontrast und mit rekonstruiertem quantitativen Phasenkontrast erhalten werden, die regelmäßig an durch Ändern der Wellenlänge erhaltenen Wellenvektoren k_2 abgetastet wurden. Wenn die Menge von Hologrammen in der Fourier-Konfiguration aufgezeichnet wird, kann die dreidimensionale Rekonstruktion der Probe unter Verwendung einer dreidimensionalen Fourier-Transformation durchgeführt werden. Wenn die Menge von Hologrammen Fresnel-Hologramme enthält, kann die dreidimensionale Rekonstruktion der Probe unter Verwendung von Fourier-Transformation entlang der Richtung der optischen Achse und einer Fresnel-Transformation in den Querebenen durchgeführt werden.

[0143] Die vorliegende Erfindung kann auch zum Rekonstruieren eines Hologramms verwendet werden, das aus der Interferenz zwischen einer Objektwelle und mehr als einer Referenzwelle resultiert. Die verschiedenen Referenzwellen können beispielsweise verschiedenen außeraxialen Konfigurationen entsprechen und die entsprechenden rekonstruierten Bilder werden an verschiedenen Stellen der Betrachtungsebene erscheinen.

[0144] Das Hologramm kann beispielsweise unter Verwendung von zwei Referenzwellen mit gekreuzter Polarisation und verschiedenen Ausbreitungsrichtungen erzeugt werden. Es kann beispielsweise ein Wollaston-Prisma verwendet werden, um diese Trennung der Richtung und Polarisation durchzuführen. In diesem Fall können zwei der gekreuzten Polarisation entsprechende rekonstruierte Bilder separat betrachtet und verwendet werden, um die Doppelbrechung und den Dichroismus der Probe zu messen.

[0145] Die vorliegende Erfindung kann auch zum Rekonstruieren eines Hologramms verwendet werden, das aus der Interferenz zwischen einer Referenzwelle und mehr als einer Objektwelle resultiert.

[0146] Die vorliegende Erfindung kann auch zum Rekonstruieren eines Hologramms verwendet werden, das aus der Interferenz zwischen mehr als einer Referenzwelle und mehr als einer Objektwelle resultiert. Anders ausgedrückt kann die vorliegende Erfindung zum Rekonstruieren eines Hologramms angewendet werden, das wie folgt ausgedrückt werden kann:

$$I_H = \left(\sum_i R_i + \sum_j O_j \right) \left(\sum_i R_i + \sum_j O_j \right)^* \quad (1.23)$$

wobei i und j ganze Zahlen sind ($i, j \geq 1$). Die Rekonstruktion solcher Hologramme liefert mehrere Bilder, die separat mit verschiedenen Werten der Rekonstruktionsparameter rekonstruiert werden können.

[0147] Wenn die Ausbreitungsrichtung der Referenzwelle synchron mit einer Modifikation der Objektwellenfront in einer Zeitsequenz, die kürzer als die Hologrammerfassung ist, geändert wird, kann die Zeit aufgezeichnet werden.

[0148] Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein neues Verfahren zur Interferogrammanalyse vorzuschlagen oder anders ausgedrückt ein Verfahren zum Analysieren eines Hologramms, das unter Verwendung eines Abbildungssystems aufgezeichnet wurde, das ein Bild der Probe liefert, das auf dem CCD fokussiert ist. In diesem Fall erfordert das Rekonstruktionsverfahren keine Berechnung der skalaren Beugung. In der standardmäßigen optischen Interferometrie besteht ein häufig verwendetes Verfahren im Analysieren

des Interferogramms mit einem Fourier-Verfahren. Das Hologramm wird digital Fourier-transformiert und das erhaltene zweidimensionale Spektrum wird räumlich gefiltert, um alle Raumfrequenzen mit Ausnahme jener eines der Interferenzterme R^*O oder RO^* zu eliminieren. Die ausgewählten Raumfrequenzen werden dann zur Mitte des Spektrums parallelverschoben und die Amplitude und die Phase des ausgewählten Interferenzterms kann durch Berechnen der inversen Fourier-Transformation des gefilterten Spektrums erhalten werden. Ein Nachteil dieser Verfahren besteht darin, dass die erhaltene Phasenverteilung die des Produkts R^*O oder RO^* ist. Aus diesem Grund werden in der standardmäßigen optischen Interferometrie Phasenabwicklungsverfahren (die oftmals zeitaufwendig sind) zum Eliminieren des Beitrags der Referenzwelle angewendet, um die Phasenverteilung der Objektwelle zu erhalten. Wir schlagen hier vor, denselben Arbeitsgang wie das Phasenabwicklungsverfahren unter Verwendung einer berechneten digitalen Referenzwelle und einer berechneten Phasenmaske durchzuführen, die das nach der Berechnung der inversen Fourier-Transformation erhaltene komplexe Feld multiplizieren. In diesem Fall können die digitale Phasenmaske und die digitale Referenzwelle ebenfalls mit den oben beschriebenen Verfahren justiert werden.

[0149] [Fig. 12a](#) stellt einen beispielhaften Teil eines verallgemeinerten Computersystems **500** dar, auf dem Teile der Erfindung umgesetzt werden können. Die in den [Fig. 1](#)–[Fig. 3](#) und [Fig. 5](#)–[Fig. 6](#) dargestellten Konfigurationen können beispielsweise jeweils in mehreren Computern mit einer wie durch [Fig. 12a](#) beispielhaft gezeigten verallgemeinerten Konfiguration oder durch mehrere Computer mit den Konfigurationen der unten beschriebenen [Fig. 12a](#) und [Fig. 12b](#) ähnlichen Konfigurationen umgesetzt werden.

[0150] Eine Eingabe **502** von [Fig. 12a](#) kommuniziert mit einem Speicher **504** und einer zentralen Recheneinheit **508**. Die zentrale Recheneinheit **508** kommuniziert mit dem Speicher **504**. Die zentrale Recheneinheit **508** kann eine Arithmetik-/Logikeinheit und eine Steuereinheit in der Form von Hardware und/oder Software (nicht gezeigt) enthalten. Eine oder mehrere Eingaben **502** können jeweils mit einem oder mehreren Speichern **504** und/oder zentralen Recheneinheiten **508** in Verbindung stehen. Eine oder mehrere zentrale Recheneinheiten **508** können mit einer oder mehreren Ausgaben **506** und/oder Speichern **504** und/oder Eingaben **502** in Verbindung stehen. Eine oder mehrere Speicher **504** können mit einer oder mehreren Eingaben **502** und/oder zentralen Recheneinheiten **508** und/oder Ausgaben **506** in Verbindung stehen. Offensichtlich können mehrere Variationen von Computerhardwarekonfigurationen in einem Netzwerk von Computersystemen realisiert werden, auf denen Teile der Erfindung umgesetzt werden können.

[0151] [Fig. 12b](#) veranschaulicht eine beispielhafte Hardwarekonfiguration eines verallgemeinerten Computersystems **520**, auf dem Teile der Erfindung umgesetzt werden können. Ein oder mehrere Prozessoren **524** sind mit einem Kommunikationsbus **522** verbunden. Der Kommunikationsbus **522** kommuniziert auch mit einem Hauptspeicher **526**, vorzugsweise einem Direktzugriffsspeicher (random access memory, „RAM“). Ein mit dem Kommunikationsbus **522** kommunizierender sekundärer Speicher **528** kann ebenfalls im Computersystem **520** enthalten sein. Der sekundäre Speicher **528** kann beispielsweise ein Festplattenlaufwerk, ein austauschbares Speicherlaufwerk, wie beispielsweise ein Floppylaufwerk, ein Magnetbandlaufwerk, ein optisches Plattenlaufwerk, eine Programmsteckkarte und eine Steckkartenschnittstelle, einen austauschbaren Speicherchip (z. B. EPROM, PROM, ROM) oder ein beliebiges anderes ähnliches Speichermedium enthalten. Der sekundäre Speicher **528** kann mit einer Speichereinheit **530**, wie beispielsweise einer Floppy, einem Magnetband, einer optischen Platte oder einem anderen Speichermedium, das von einem sekundären Speichergerät gelesen und beschrieben wird, in Verbindung stehen. Die Speichereinheit **530** enthält ein vom Computer nutzbares Speichermedium zum Speichern von Computersoftware und -daten.

[0152] Das Computersystem **520** kann auch eine mit dem Kommunikationsbus **522** in Verbindung stehende Kommunikationsschnittstelle **532** zum Übermitteln von Software und Daten zwischen dem Computersystem **520** und externen Geräten enthalten. Beispiele von Kommunikationsschnittstellen **532** beinhalten ein Modem, eine Netzwerkschnittstelle (z. B. eine Netzwerkkarte), einen Kommunikationsanschluss, einen PCMCIA-Steckplatz und eine PCMCIA-Karte und andere ähnliche Schnittstellen. Über die Kommunikationsschnittstelle **532** übermittelte Software und Daten sind in der Form von Signalen **536**, die der Kommunikationsschnittstelle **532** über einen Kanal **534** geliefert werden. Die Signale **536** können elektronische, elektromagnetische, optische oder andere Signale sein, die von der Kommunikationsschnittstelle **532** empfangen werden können. Der Kanal **534** kann unter Verwendung von Draht, Kabel, Faseroptik, einer Telefonleitung, einer Mobiltelefonverbindung, einer HF-Verbindung, einer IR-Verbindung oder anderen Kommunikationskanälen umgesetzt werden.

[0153] Computerprogramme werden im Hauptspeicher **526** und/oder sekundären Speicher **528** gespeichert. Computerprogramme können über die Kommunikationsschnittstelle **532** empfangen werden. Computerprogramme ermöglichen, wenn sie vom Prozessor **524** ausgeführt werden, dem Computersystem **520**, die Funktionen der vorliegenden Erfindung durchzuführen.

[0154] Die Erfindung kann in geeigneter Weise unter Verwendung eines Netzwerks von herkömmlichen Computern und/oder Mikroprozessoren umgesetzt werden, die gemäß der Lehren der vorliegenden Anmeldung programmiert wurden, wie Fachmännern der Computertechnik durch Lesen der obigen Beschreibungen hinsichtlich der [Fig. 1–Fig. 12b](#) offensichtlich sein wird. Eine geeignete Softwarekodierung kann von qualifizierten Programmierern auf Basis der Lehren der vorliegenden Offenbarung leicht ausgearbeitet werden, wie Fachmännern der Softwaretechnik offensichtlich sein wird. Die Erfindung kann auch durch die Ausarbeitung von anwendungsspezifischen integrierten Schaltkreisen oder durch Verbinden eines geeigneten Netzwerks von herkömmlichen Komponentenschaltkreisen umgesetzt werden, wie Fachmännern leicht offensichtlich sein wird.

[0155] Die vorliegende Erfindung beinhaltet ein Computerprogrammprodukt, das ein Speichermedium ist, das die Befehle enthält, die zum Programmieren eines Computers oder von mehreren vernetzten Computern zum Durchführen eines Vorgangs der Erfindung verwendet werden können. Das Speichermedium kann unter anderem jegliche Typen von Disketten, einschließlich Floppys, optischen Platten, CD-ROMs und magnetooptischen Disketten, ROMs, RAMs, EPROMs, EEPROMs, magnetischen oder optischen Karten eines beliebigen Medientyps, der zum Speichern elektronischer Befehle geeignet ist, beinhalten.

Patentansprüche

1. Verfahren zur gleichzeitigen Abbildung der Amplitude und des quantitativen Phasenkontrasts einer Probe durch numerische Rekonstruktion eines digitalen Hologramms der Probe, resultierend aus der Interferenz einer durch eine Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik hindurchlaufenden Objektwelle und einer Referenzwelle und mit den folgenden Schritten:

- a) Bereitstellen eines Hologramms der Probe unter Verwendung einer Beleuchtungsquelle;
- b) Erfassen des Hologramms durch ein Bilderfassungssystem;
- c) Digitalisieren des Hologramms mit einem Bilddigitalisierer, um ein digitales Hologramm zu erzeugen;
- d) Übertragen des digitalen Hologramms zu einem Computer oder zu einem Prozessor;
- e) Bestimmen einer digitalen Referenzwelle auf der Basis der Referenzwelle und einer zweiten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als Referenzwellenparameter;
- f) Berechnen der Multiplikation zwischen dem digitalen Hologramm und der digitalen Referenzwelle, um eine digitale übertragene Wellenfront in einer Hologrammebene zu erzeugen;
- g) Bestimmen Definieren einer ersten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als die Rekonstruktionsentfernung;
- h) Berechnen der Ausbreitung der digitalen übertragenen Wellenfront von der Hologrammebene zu einer Betrachtungsebene, um die digitale rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene zu berechnen, wobei die Berechnung durch eine numerische Berechnung eines die Beugung von Wellen in der skalaren Annäherung beschreibenden Integrals durchgeführt wird und wobei eine Entfernung zwischen der Hologrammebene und der Betrachtungsebene durch die Rekonstruktionsentfernung definiert ist
- i) Bestimmen einer digitalen Phasenmaske auf der Basis der Phasenaberrationsfunktion und einer dritten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter, wobei die Phasenaberrationsfunktion die Verformung der Wellenfronten darstellt, die sich über die Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik ausbreiten
- j) digitales Korrigieren der Phasenaberrationsfunktion durch Berechnung der Multiplikation zwischen der digital rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene und der digitalen Phasenmaske, um die digital korrigierte rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene zu erhalten
- k) Berechnen des Moduls oder des Quadrats des Moduls der digital korrigierten rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene, um von der Probe ein Amplitudenkontrastbild zu erhalten;
- l) Berechnen des Arguments der digital korrigierten rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene, um ein Bild des quantitativen Phasenkontrasts der Probe zu erhalten
- m) Justieren der Rekonstruktionsparameter durch Ausführen einer iterativen Justierung mit einer Schleife, die die Iteration der Schritte f), h), k), j) und l) involviert und zu der Bestimmung der präzisen Rekonstruktionsparameter führt.

2. Verfahren zur gleichzeitigen Abbildung der Amplitude und des quantitativen Phasenkontrasts einer Probe durch numerische Rekonstruktion eines digitalen Hologramms der Probe, resultierend aus der Interferenz einer durch eine Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik hindurchlaufenden Objektwelle und einer Referenzwelle und mit den folgenden Schritten:

- a) Bereitstellen eines Hologramms der Probe unter Verwendung einer Beleuchtungsquelle;
- b) Erfassen des Hologramms durch ein Bilderfassungssystem;
- c) Digitalisieren des Hologramms mit einem Bilddigitalisierer, um ein digitales Hologramm zu erzeugen;
- d) Übertragen des digitalen Hologramms zu einem Computer oder zu einem Prozessor;

- e) Bestimmen und Definieren einer ersten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als die Rekonstruktionsentfernung;
- f) Berechnen einer digitalen rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene durch Berechnung des Beugungsmusters des digitalen Historamms, wobei die Berechnung durch eine numerische Berechnung eines die Beugung von Wellen in der skalaren Annäherung beschreibenden Integrals durchgeführt wird und wobei eine Entfernung zwischen der Hologrammebene und der Betrachtungsebene durch die Rekonstruktionsentfernung definiert ist;
- g) Bestimmen einer digitalen Referenzwelle auf der Basis der Referenzwelle und einer zweiten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als Referenzwellenparameter;
- h) Berechnen der Multiplikation zwischen der digitalen rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene und der digitalen Referenzwelle, um die durch die Referenzwelle in der Betrachtungsebene induzierte Phasenzerzerrung zu korrigieren;
- i) Bestimmen einer digitalen Phasenmaske auf der Basis der Phasenaberrationsfunktion und einer dritten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter, wobei die Phasenaberrationsfunktion die Verformung der Wellenfronten darstellt, die sich über die Vergrößerungs- oder Verkleinerungsoptik ausbreiten;
- j) digitales Korrigieren der Phasenaberrationsfunktion durch Berechnung der Multiplikation zwischen der digitalen Phasenmaske und dem Ergebnis von Schritt h), um die digital korrigierte rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene zu erhalten;
- k) Berechnen des Moduls oder des Quadrats des Moduls der digital korrigierten rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene, um von der Probe ein Amplitudenkontrastbild zu erhalten;
- l) Berechnen des Arguments der digital korrigierten rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene, um ein Bild des quantitativen Phasenkontrasts der Probe zu erhalten;
- m) Justieren der Rekonstruktionsparameter, umfassend:
 - A. die Messung der Rekonstruktionsparameter;
 - B. die iterative Justierung mit einer Schleife, die die Iteration der Schritte f), h), j), k) und l) involviert und zu der Bestimmung der präzisen Rekonstruktionsparameter führt;
 - C. die experimentelle Justierung der Rekonstruktionsparameter;
 - D. die Analyse des digitalen Hologramms, um die Rekonstruktionsparameter direkt auszuwerten;wobei jede Prozedur A, B, C, D als eine einzelne Prozedur oder in Kombination ausgeführt werden kann.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Schritt der Bestimmung einer digitalen Referenzwelle den Schritt umfaßt, die Referenzwelle experimentell zu messen und zu digitalisieren, beispielsweise unter Verwendung eines Referenzspiegels oder einer Metallperle in Nanometergröße.

4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die digitale Phasenmaske experimentell gemessen wird, beispielsweise unter Verwendung eines Referenzspiegels oder einer Metallperle in Nanometergröße.

5. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Schritt der Bestimmung einer digitalen Referenzwelle die folgenden Schritte umfaßt:

- Bestimmen eines analytischen Ausdrucks einer Referenzwelle und Bestimmen und Definieren der zweiten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als Referenzwellenparameter,
- Berechnen, über den Computer, eines Arrays komplexer Zahlen als eine digitale Kopie der Referenzwelle, als digitale Referenzwelle bezeichnet, wobei das Berechnen auf der Basis des analytischen Ausdrucks der Referenzwelle und auf der Basis der Referenzwellenparameter durchgeführt wird,
und wobei der Schritt der Bestimmung einer digitalen Phasenmaske die folgenden Schritte umfaßt:
 - Bestimmen und Definieren eines analytischen Ausdrucks der Phasenaberrationsfunktion und Bestimmen und Definieren der dritten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter,
 - Berechnen eines Arrays komplexer Zahlen, als die digitale Phasenmaske bezeichnet, die das komplexe Konjugat der Phasenaberrationsfunktion in der Betrachtungsebene darstellt, wobei die Berechnung auf der Basis des analytischen Ausdrucks der Phasenaberrationsfunktion und auf der Basis der Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter ausgeführt wird.

6. Verfahren nach Anspruch 2, wobei der Schritt der Bestimmung einer digitalen Referenzwelle die folgenden Schritte umfaßt:

- Bestimmen eines analytischen Ausdrucks einer Referenzwelle und Bestimmen und Definieren der zweiten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als Referenzwellenparameter,
- Berechnen eines Arrays komplexer Zahlen als eine digitale Kopie der Referenzwelle, als digitale Referenzwelle bezeichnet, wobei das Berechnen auf der Basis eines analytischen Ausdrucks der Referenzwelle

und auf der Basis der Referenzwellenparameter durchgeführt wird, und wobei der Schritt der Bestimmung einer digitalen Phasenmaske die folgenden Schritte umfaßt:

- Bestimmen und Definieren eines analytischen Ausdrucks der Phasenaberrationsfunktion und Bestimmen und Definieren der dritten Gruppe von Rekonstruktionsparametern als Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter,
- Berechnen eines Arrays komplexer Zahlen, als die digitale Phasenmaske bezeichnet, die das komplexe Konjugat der Phasenaberrationsfunktion in der Betrachtungsebene darstellt, wobei die Berechnung auf der Basis des analytischen Ausdrucks der Phasenaberrationsfunktion und auf der Basis der Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter ausgeführt wird.

7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei die Rekonstruktionsparameter eine Menge von Konstanten sind, die dem Programm geliefert werden müssen, daß die numerische Rekonstruktion des digitalen Hologramms durchführt, und wobei die Konstanten dem Computer, der das Programm ausführt, von einem menschlichen Bediener geliefert werden, beispielsweise auf der Basis einer vorausgegangenen Justierung oder durch eine Meßvorrichtung, die mit dem Computer oder einem anderen Programm kommuniziert, das auf dem gleichen oder auf einem anderen Rechner läuft.

8. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, mit der Anwendung von digitalen Bildverarbeitungsverfahren vor und/oder nach der numerischen Rekonstruktion des digitalen Hologramms, wobei die Bildverarbeitungsverfahren vor dem Schritt e) auf das digitale Hologramm und/oder nach Schritt k) und/oder nach Schritt l) für die Ansprüche 1 und 2 auf das Amplitudenkontrastbild der Probe und/oder auf das Phasenkontrastbild angewendet werden.

9. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm von einem außeraxialen Hologramm geliefert wird, wobei die Richtungen der Ausbreitung der Referenz- und Objektwelle bei ihrem Einfall auf die Ebene, wo das Hologramm erzeugt wird, nicht parallel sind, wobei die Erfassung und Rekonstruktion eines außeraxialen Hologramms die Trennung der Brechung nullter Ordnung, des Zwillingsbilds und des reellen Bilds gestattet, die in der Betrachtungsebene separat betrachtet werden können.

10. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm ein außeraxiales Hologramm ist und wobei das digitale Hologramm vor Schritt e) durch ein Bildverarbeitungsverfahren verarbeitet wird, mit den folgenden Schritten:

- Berechnen der zweidimensionalen diskreten Fourier-Transformation des digitalen Hologramms
- Finden der Raumfrequenzen, die den interferierenden Termen entsprechen, in der Fourier-Transformation des digitalen Hologramms
- Berechnung der Multiplikation der Fourier-Transformation des Hologramms mit einer 2D-Funktion, die die Raumfrequenzen eliminiert oder dämpft, die den interferierenden Termen nicht entsprechen;
- Berechnen der diskreten inversen Fourier-Transformation.

11. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm durch Anwenden eines optischen Verfahrens räumlich gefiltert wird, einschließlich einer Kombination aus einer nichtlinearen Komponente und einem 4-f-System und einer für die Hochpaßfilterung ausgelegten Maske.

12. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das die Beugung von Wellen in der skalaren Annäherung beschreibende Integral das Fresnel-Kirchhoff Integral oder ein Rayleigh-Sommerfeld-Integral oder eine Annäherung dieser Integrale wie etwa ein Fresnel-Integral ist.

13. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die numerische Berechnung eines die Beugung von Wellen in der skalaren Annäherung beschreibenden Integrals durch die numerische Berechnung einer diskreten Formulierung des Fresnel-Integrals durchgeführt wird, das als die Fresnel-Transformation bezeichnet wird und unter Verwendung der folgenden Gleichungen berechnet wird:

$$F(m\Delta\xi, n\Delta\eta) = A \exp \left\{ \frac{i\pi}{\lambda d_R} [m^2 \Delta\xi^2 + n^2 \Delta\eta^2] \right\}$$

$$DFT \left[f(k\Delta x, l\Delta y) \exp \left\{ \frac{i\pi}{\lambda d_R} [k^2 \Delta x^2 + l^2 \Delta y^2] \right\} \right]$$

wobei $F(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ die diskrete Fresnel-Transformation der diskreten Funktion $f(k\Delta x, l\Delta y)$ bezeichnet, $F(m\Delta\xi,$

$n\Delta\eta$) ein Array komplexer Zahlen ist, $f(k\Delta x, l\Delta y)$ ein Array komplexer Zahlen oder ein Array reeller oder ganzzahliger Zahlen sein kann, λ die Wellenlänge der Beleuchtungsquelle, d_R die Rekonstruktionsentfernung, $A = \exp(i2\pi d_R/\lambda)/(i\lambda d_R)$ eine komplexe Konstante und k, λ, m, n ganze Zahlen sind

$$-N_x/2 \leq k, m \leq N_x/2,$$

$$-N_y/2 \leq l, n \leq N_y/2,$$

wobei das Produkt $N_x \times N_y$ die Anzahl der Elemente von $F(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ und von $f(k\Delta x, l\Delta y)$ darstellt, DFT der Operator der diskreten Fourier-Transformation ist, der unter Verwendung eines Algorithmus der schnellen Fourier-Transformation (FFT) berechnet werden kann, Δx und Δy die Abtastintervalle in der Hologrammebene sind und wenn das Bilderfassungssystem und der Bilddigitalisierer ein rechteckiges Bild erzeugen, das N_x Linien entlang der 0x-Achse und N_y Punkte pro Linie entlang der 0y-Achse enthält,

$$\Delta x = \frac{L_x}{N_x} \quad j$$

$$\Delta y = \frac{L_y}{N_y} \quad j$$

wobei L_x und L_y die Abmessungen des digitalen Bilds sind oder in anderen Worten die Abmessungen der empfindlichen Oberfläche des Bilderfassungssystems, entlang der 0x- bzw. der 0y-Achse und die Abtastintervalle in der Betrachtungsebene $0\xi n$ durch $\Delta\xi$ und $\Delta\eta$ definiert sind und durch die folgenden Beziehungen zu Δx und Δy , zu N_x und N_y und zu der Rekonstruktionsentfernung (d_R) in Beziehung stehen:

$$\Delta\xi = \frac{\lambda d_R}{N_x \Delta x} = \frac{\lambda d_R}{L_x},$$

$$\Delta\eta = \frac{\lambda d_R}{N_y \Delta y} = \frac{\lambda d_R}{L_y}.$$

14. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm durch einen Aufbau geliefert wird, der ein Fresnel-Hologramm liefert, bei dem die numerische Berechnung eines die Beugung von Wellen in der skalaren Annäherung beschreibenden Integrals durch die numerische Berechnung einer Fresnel-Transformation ausgeführt wird.

15. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm durch einen Aufbau geliefert wird, der Fourier-Hologramme liefert, bei dem die numerische Berechnung eines die Beugung von Wellen in der skalaren Annäherung beschreibenden Integrals durch eine Fourier-Transformation ausgeführt wird.

16. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, bei dem das Hologramm der Probe unter Verwendung einer Referenzwelle erzeugt wird, die durch Mittel hergestellt wird, die die Justierung der Weglänge der Referenzwelle gestatten.

17. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei eine Objektwelle durch eine Anordnung von Optikkomponenten erzeugt wird, die ein vergrößertes oder ein verkleinertes Bild der Probe erzeugt.

18. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei Schritt b) durch Ausbreitung einer Kopie des Hologramms über eines der folgenden optischen Mittel ausgeführt wird: Eine Kombination von einer oder mehreren Linsen und/oder einer Hopkins-Übertragungsoptik, die in einem Endoskop verwendet wird, und/oder Gradientenindexstäben und/oder optischen Fasern und/oder Bündeln von optischen Fasern und/oder Mehrkernfasern.

19. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei der Bilddigitalisierer zum Transformieren des Hologramms in eine Form verwendet wird, die an den Computer oder einen Prozessor übertragen werden kann.

20. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei der analytische Ausdruck der digitalen Referenzwelle als eine zweidimensionale Funktion komplexer Zahlen berechnet wird.

21. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Referenzwellenparameter als Parameter definiert und

verwendet werden, die am analytischen Ausdruck der Referenzwelle beteiligt sind und für die Definition der digitalen Referenzwelle benötigt werden.

22. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Referenzwelle eine ebene Welle einer gegebenen Wellenlänge λ ist und die digitale Referenzwelle $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ mit dem folgenden Ausdruck berechnet werden kann:

$$R_D(k\Delta x, l\Delta y) = A_R \exp\left(i \frac{2\pi}{\lambda} (k_x k \Delta x + k_y l \Delta y)\right),$$

wobei k_x , k_y und A_R die Referenzwellenparameter, k_x und k_y zwei reelle Zahlen sind, die die Komponenten des die Ausbreitungsrichtung der ebenen Welle definierenden normierten Wellenvektors darstellen, und A_R eine reelle Zahl ist, die die Amplitude der Referenzwelle darstellt, und Δx und Δy die Abtastintervalle in der Hologrammebene sind.

23. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Referenzwelle eine Kugelwelle mit einer gegebenen Wellenlänge λ ist und die digitale Referenzwelle $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ mit dem folgenden Ausdruck berechnet werden kann:

$$R_D(k\Delta x, l\Delta y) = \frac{A_R}{\sqrt{(k\Delta x - x_R)^2 + (l\Delta y - y_R)^2 + z_R^2}} \exp\left(i \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{(k\Delta x - x_R)^2 + (l\Delta y - y_R)^2 + z_R^2}\right)$$

wobei (x_R, y_R, z_R) die Koordinaten der Punktquelle bezüglich der Mitte der Hologrammebene 0xy sind und A_R die Amplitude bei der Punktquelle ist.

24. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die digitale Referenzwelle $R_D(k\Delta x, l\Delta y)$ unter Verwendung einer Kombination von Zernike-Polynomen berechnet wird.

25. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei der Wert der Rekonstruktionsentfernung justiert wird, um so gut wie möglich der Entfernung oder der Länge des Lichtwegs zwischen der Probe und der Ebene zu entsprechen, wo das Hologramm erzeugt wird, wobei der Ausdruck „so gut wie möglich“ so zu verstehen ist, daß er eine beliebige oder alle der beschriebenen Prozeduren der Justierung der Rekonstruktionsparameter einhält.

26. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Objektwelle durch eine Vergrößerungs- oder eine Verkleinerungsoptik geliefert wird und der Wert der Rekonstruktionsentfernung justiert wird, um so gut wie möglich der Entfernung zwischen einem Bild der Probe und der Ebene zu entsprechen, wo das Hologramm erzeugt wird, wobei der Ausdruck „so gut wie möglich“ so zu verstehen ist, daß er eine beliebige oder alle der Prozeduren der Justierung der Rekonstruktionsparameter einhält.

27. Verfahren nach den Ansprüchen 5 oder 6, wobei die Objektwelle durch eine Vergrößerungs- oder eine Verkleinerungsoptik bereitgestellt wird und eine Phasenverzerrung in der Betrachtungsebene erscheint und folglich die digitale rekonstruierte Wellenfront in der Betrachtungsebene korrigiert werden muß, um eine korrigierte Rekonstruktion des quantitativen Phasenkontrastbilds der Probe zu gestatten, wodurch der analytische Ausdruck der Phasenaberrationsfunktion eine zweidimensionale Funktion komplexer Zahlen derart ist, daß die digitale Phasenmaske so gut wie möglich dem komplexen Konjugat der Phasenaberrationsfunktion in der Betrachtungsebene entspricht und wobei der Ausdruck „so gut wie möglich“ so zu verstehen ist, daß er eine beliebige oder alle der Prozeduren der Justierung der Rekonstruktionsparameter einhält.

28. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter Parameter sind, die am analytischen Ausdruck der Phasenaberrationsfunktion beteiligt sind, wobei die Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter derart justiert werden, daß die Multiplikation der rekonstruierten Wellenfront in der Betrachtungsebene durch die digitale Phasenmaske die Phasenaberrationsfunktionen einschließlich Aberrationen in der Betrachtungsebene so gut wie möglich korrigiert, wobei der Ausdruck „so gut wie möglich“ so zu verstehen ist, daß er eine beliebige oder alle der Prozeduren der Justierung der Rekonstruktionsparameter einhält.

29. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Objektwelle von einer einzigen sphärischen Linse als eine Vergrößerungs- oder eine Verkleinerungsoptik bereitgestellt wird und die digitale Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ unter Verwendung des folgenden Ausdrucks berechnet werden kann:

$$C(m\Delta\xi, n\Delta\eta) = \exp\left\{-\frac{i\pi}{\lambda D} \left((m\Delta\xi)^2 + (n\Delta\eta)^2 \right) \right\}$$

wobei λ die Wellenlänge der Beleuchtungsquelle, $\Delta\xi$ und $\Delta\eta$ die Abtastintervalle in der Betrachtungsebene sind und D der Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter ist, der von der Probe-Linse-Entfernung d_0 und von der Linse-Bild-Entfernung d abhängt entsprechend

$$\frac{1}{D} = \frac{1}{d_0} \left(1 - \frac{d_0}{d} \right).$$

30. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die digitale Phasenmaske $C(m\Delta\xi, n\Delta\eta)$ unter Verwendung einer Kombination von Zernike-Polynomen berechnet wird, wobei die Phasenaberrationsfunktionskorrekturparameter die Zernike-Polynomkoeffizienten enthalten.

31. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Justierung der Rekonstruktionsparameter derart durchgeführt wird, daß das reelle Bild der Probe rekonstruiert wird.

32. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Justierung der Rekonstruktionsparameter derart durchgeführt wird, daß das Zwillingsbild der Probe rekonstruiert wird.

33. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Justierung der Rekonstruktionsparameter durchgeführt wird durch Messen der zugeordneten physikalischen Größen an dem für die Hologrammerzeugung verwendeten Aufbau und wobei die Messung durch eine Vorrichtung durchgeführt werden kann, die mit dem Computer kommuniziert.

34. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Justierung der Rekonstruktionsparameter iterativ durch mehrmaliges Ausführen der numerischen Rekonstruktion des Hologramms in einer Schleife und Modifizieren der Rekonstruktionsparameter zum Verbessern der Bildqualität und/oder Plausibilität ausgeführt wird, wobei die Schleife wiederholt wird, bis die Werte der Rekonstruktionsparameter ihre Konvergenzwerte erreicht haben.

35. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Justierung der Rekonstruktionsparameter durch Parallelverschieben und/oder Drehen der Probe und/oder von Komponenten des für die Erzeugung des Hologramms verwendeten Aufbaus ausgeführt wird.

36. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Justierung der Rekonstruktionsparameter durch Analyseren des digitalen Hologramms mit einem numerischen Verfahren ausgeführt wird.

37. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Bild des Amplitudenkontrasts und das Bild des quantitativen Phasenkontrasts gleichzeitig rekonstruiert werden und zwei verschiedene Darstellungen der gleichen Probe zum gleichen Zeitpunkt sind.

38. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei der quantitative Phasenkontrast berechnet und für quantitative Messungen von optischen Eigenschaften und/oder strukturellen Informationen verwendet wird, beispielsweise Brechungsindexmessungen oder Dickemessungen.

39. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei mit dem Ziel, die Topographie der Probe festzustellen, die Oberflächenhöhe aus dem quantitativen Phasenkontrast an jedem Punkt der Oberfläche der Probe berechnet wird.

40. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei mit dem Ziel, das Profil der Oberfläche der Probe festzustellen, die Oberflächenhöhe aus dem quantitativen Phasenkontrast an jedem Punkt der Linie berechnet wird, entlang derer das Profil gezeichnet ist.

41. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Bilderfassungssystem eine Echtzeitbilderfassung liefert und wobei die numerische Rekonstruktion der erfaßten digitalen Hologramme sofort nach der Bilderfassung ausgeführt wird, um die Abbildung der Amplitude und des quantitativen Phasenkontrasts in Echtzeit zu gestalten.

42. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Beleuchtungsquelle eine Beleuchtungsquelle mit geringer Kohärenz oder eine gepulste Beleuchtungsquelle ist und wobei das Hologramm mit dem Licht erzeugt wird, das von einem ausgewählten Schnitt in einer halbtransparenten Probe reflektiert wird und wobei die Referenzwelle durch Mittel bereitgestellt wird, die die Justierung der Weglänge der Referenzwelle gestatten und somit ein Mittel zum Auswählen der Tiefe des Schnitts liefern.

43. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Objektwelle und die Referenzwelle die gleiche Wellenlänge aufweisen, um eine Homodyndetektion des Hologramms durchzuführen.

44. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei mindestens die Referenzwelle oder die Objektwelle durch Mittel bereitgestellt werden, die mindestens die Wellenlänge, die Amplitude, die Frequenz, die Polarisation, die Phase oder die optische Weglänge der Wellen modifizieren.

45. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei mindestens die Referenzwelle oder die Objektwelle mit Mitteln bereitgestellt werden, die verschiedene Wellenlängen oder Frequenzen für die Objektwelle und für die Referenzwelle produzieren, um eine Heterodyndetektion des Hologramms zu erzielen.

46. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm durch einen Aufbau bereitgestellt wird, der so ausgelegt ist, daß er ein In-line- oder Gabor-Hologramm erzeugt.

47. Verfahren, bei dem eine Menge von Hologrammen des gleichen Musters gemäß dem Verfahren einer der unabhängigen Ansprüche 1 oder 2 erzeugt, erfaßt und rekonstruiert wird.

48. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe in einer Reflexionsgeometrie für verschiedene Orientierungen der Probe aufgezeichnet wird und wobei die Informationsinhalte der Bilder mit rekonstruiertem Amplitudenkontrast und der Bilder mit quantitativem Phasenkontrast entsprechend den verschiedenen Orientierungen der Probe dazu verwendet werden können, um eine berechnete dreidimensionale Kopie der Probe aufzubauen.

49. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe in einer Transmissionsgeometrie für verschiedene Orientierungen der Probe aufgezeichnet wird und wobei die Informationsinhalte der Bilder mit rekonstruiertem Amplitudenkontrast und der Bilder mit quantitativem Phasenkontrast entsprechend den verschiedenen Orientierungen der Probe dazu verwendet werden können, um eine berechnete dreidimensionale Tomographie der Probe aufzubauen.

50. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe für verschiedene Wellenlängen der Beleuchtungsquelle oder mit verschiedenen Beleuchtungsquellen mit verschiedenen Wellenlängen aufgezeichnet wird und wobei der Informationsinhalt der Bilder mit rekonstruiertem Amplitudenkontrast und der Bilder mit quantitativem Phasenkontrast entsprechend den verschiedenen Wellenlängen für spektroskopische Untersuchungen der dreidimensionalen Probe verwendet werden können.

51. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe für verschiedene Wellenlängen der Beleuchtungsquelle oder mit verschiedenen Beleuchtungsquellen mit verschiedenen Wellenlängen aufgezeichnet wird und wobei die Daten entsprechend den verschiedenen Hologrammen verknüpft werden, um eine dreidimensionale Konformation der Probe durch Berechnen der 3D-Fourier-Transformation oder der kombinierten 1D-Fourier-2D-Fresnel-Transformation der Menge von Hologrammen zu erhalten.

52. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Probe halbtransparent ist und wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe in einer Transmissionsgeometrie für verschiedene Wellenlängen der Beleuchtungsquelle oder mit verschiedenen Beleuchtungsquellen mit verschiedenen Wellenlängen aufgezeichnet wird und wobei ein das Verhalten des Brechungsexponenten als Funktion der Wellenlänge beschreibendes Modell verwendet wird, um die dreidimensionale Verteilung des Brechungsexponenten und/oder der Dicke der Probe auf der Basis der Daten entsprechend den verschiedenen Wellenlängen zu messen.

53. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe mit verschiedenen außeraxialen Geometrien aufgezeichnet wird, beispielsweise mit verschiedenen Orientierungen eines Spiegels, der die Referenzwelle reflektiert, so daß die rekonstruierten Bilder an verschiedenen Stellen der Beobachtungsebene erscheinen und die Probe zu verschiedenen Zeitpunkten darstellen.

54. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe mit verschiede-

nen Polarisationszuständen der Referenzwelle aufgezeichnet wird, beispielsweise mit einer anderen Orientierung einer linear polarisierten Referenzwelle, und wobei den verschiedenen Polarisationszuständen der Referenzwelle entsprechende rekonstruierte Bilder dazu verwendet werden können, die Doppelbrechung, den Dichroismus des streuenden Verhaltens der Probe zu untersuchen.

55. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe zu verschiedenen Zeitpunkten aufgezeichnet wird und wobei den verschiedenen Zeitpunkten entsprechende rekonstruierte Bilder dazu verwendet werden, eine Computervideoanimation zu erstellen und eine Verformung der Probe und eine Bewegung der Probe und eine Modifikation der optischen Eigenschaften der Probe zu überwachen.

56. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen zu verschiedenen Zeitpunkten mit der gleichen Probe aufgezeichnet wird, die über die Zeit hinweg transformiert worden sein kann und wobei den verschiedenen Zeitpunkten entsprechende rekonstruierte Bilder dazu verwendet werden, eine Computervideoanimation zu erstellen.

57. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Menge von Hologrammen der gleichen Probe unter Verwendung mehrerer Bilderfassungssysteme und eines entsprechenden Aufbaus aufgezeichnet wird, wobei entsprechende rekonstruierte Bilder die Probe mit verschiedenen Richtungen von Betrachtungen zu verschiedenen Zeitpunkten darstellen.

58. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei die Probe mehrere deutlich unterscheidbare Objekte enthält, die an verschiedenen Stellen in einem dreidimensionalen Volumen liegen.

59. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm unter Verwendung von mehreren Referenzwellen hergestellt wird.

60. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm unter Verwendung einer Referenzwelle und mehrerer Objektwellen hergestellt wird.

61. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm unter Verwendung mehrerer Referenzwellen und mehrerer Objektwellen hergestellt wird.

62. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm unter Verwendung von zwei Referenzwellen mit gekreuzten Polarisationen und verschiedenen Ausbreitungsrichtungen und einer Objektwelle hergestellt wird.

63. Verfahren nach Anspruch 55, wobei die Probe mehrere deutlich unterscheidbare Objekte enthält, die an verschiedenen Stellen in einem dreidimensionalen Volumen liegen.

64. Verfahren nach Anspruch 47, wobei die Probe mehrere deutlich unterscheidbare Objekte enthält, die an verschiedenen Stellen in einem dreidimensionalen Volumen liegen.

65. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm unter Verwendung einer Referenzwelle und von zwei Objektwellen mit gekreuzten Polarisationen und verschiedenen Ausbreitungsrichtungen hergestellt wird.

66. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das Hologramm unter Verwendung von zwei Referenzwellen mit gekreuzter Polarisation und verschiedenen Ausbreitungsrichtungen und zwei Objektwellen mit gekreuzter Polarisation und verschiedenen Ausbreitungsrichtungen hergestellt wird.

67. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei eine synchronisierte Serie von Objektwellen mit einer Serie von Referenzwellen unter Ausbildung eines einzelnen Hologramms interferiert und wobei die Bilder der rekonstruierten Amplitude und des Phasenkontrasts die zeitliche Entwicklung des Objekts an verschiedenen Stellen der Betrachtungsebene liefern, um die Untersuchung der Objektänderungen bei der Modifizierung eines externen Parameters in einer schnellen Zeitsequenz zu gestatten.

68. Verfahren nach Anspruch 6, wobei das Hologramm ein außeraxiales Hologramm ist, das mit einem auf das Bilderfassungssystem fokussierten Bild der Probe aufgezeichnet wird und wobei das digitale Hologramm vor Schritt e) über ein Bildverarbeitungsverfahren verarbeitet werden kann, mit den folgenden Schritten:
– Berechnen der zweidimensionalen diskreten Fourier-Transformation des digitalen Hologramms;

- Finden der Raumfrequenzen, die einem der interferierenden Terme entsprechen, in der Fourier-Transformation des digitalen Hologramms;
- Berechnung der Multiplikation der Fourier-Transformation des digitalen Hologramms mit einer 2D-Funktion, die alle Raumfrequenzen außer jenen des ausgewählten Interferenzterms eliminiert oder dämpft;
- Parallelverschieben der Raumfrequenzen des ausgewählten Interferenzterms in die Mitte der Fourier-Transformation des digitalen Hologramms;
- Berechnen der diskreten inversen Fourier-Transformation.

69. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei das digitale Hologramm vor Schritt e) digital verarbeitet wird, um eine Apodisation seiner Blende durchzuführen, um die Fluktuationen der Amplitude oder Intensität und der Phase der numerisch rekonstruierten Wellenfront zu reduzieren.

70. Numerisches holographisches Teleskop oder digitales holographisches Teleskop für die gleichzeitige Abbildung der Amplitude und des Phasenkontrasts eines Objekts, das folgendes umfaßt: eine Beleuchtungsquelle, optische Komponenten, die Licht von der mindestens einen Beleuchtungsquelle zum Objekt und zu mindestens einem Bilddetektor oder mindestens einer Kamera leiten, und mindestens ein Bilderfassungssystem und mindestens eine mit dem Bilderfassungssystem verbundene Bildverarbeitungseinheit, wobei das Bilderfassungssystem und die Bildverarbeitungseinheit so ausgelegt sind, daß sie das Verfahren der Ansprüche 1 bis 69 ausführen.

71. Numerisches holographisches Mikroskop oder digitales holographisches Mikroskop für die gleichzeitige Abbildung der Amplitude und des Phasenkontrasts eines Objekts, das folgendes umfaßt: eine Beleuchtungsquelle, optische Komponenten, die Licht von der mindestens einen Beleuchtungsquelle zum Objekt und zu mindestens einem Bilddetektor oder mindestens einer Kamera leiten, mindestens ein Bilderfassungssystem und mindestens eine mit dem Bilderfassungssystem verbundene Bildverarbeitungseinheit, wobei das Bilderfassungssystem und die Bildverarbeitungseinheit so ausgelegt sind, daß sie das Verfahren der Ansprüche 1 bis 69 ausführen.

72. Numerisches holographisches Endoskop oder digitales holographisches Endoskop für die gleichzeitige Abbildung der Amplitude und des Phasenkontrasts eines Objekts, das folgendes umfaßt: eine Beleuchtungsquelle, optische Komponenten, die Licht von der mindestens einen Beleuchtungsquelle zum Objekt und zu mindestens einem Bilddetektor oder mindestens einer Kamera leiten, mindestens ein Bilderfassungssystem und mindestens eine mit dem Bilderfassungssystem verbundene Bildverarbeitungseinheit, wobei das Bilderfassungssystem und die Bildverarbeitungseinheit so ausgelegt sind, daß sie das Verfahren der Ansprüche 1 bis 69 ausführen.

Es folgen 14 Blatt Zeichnungen

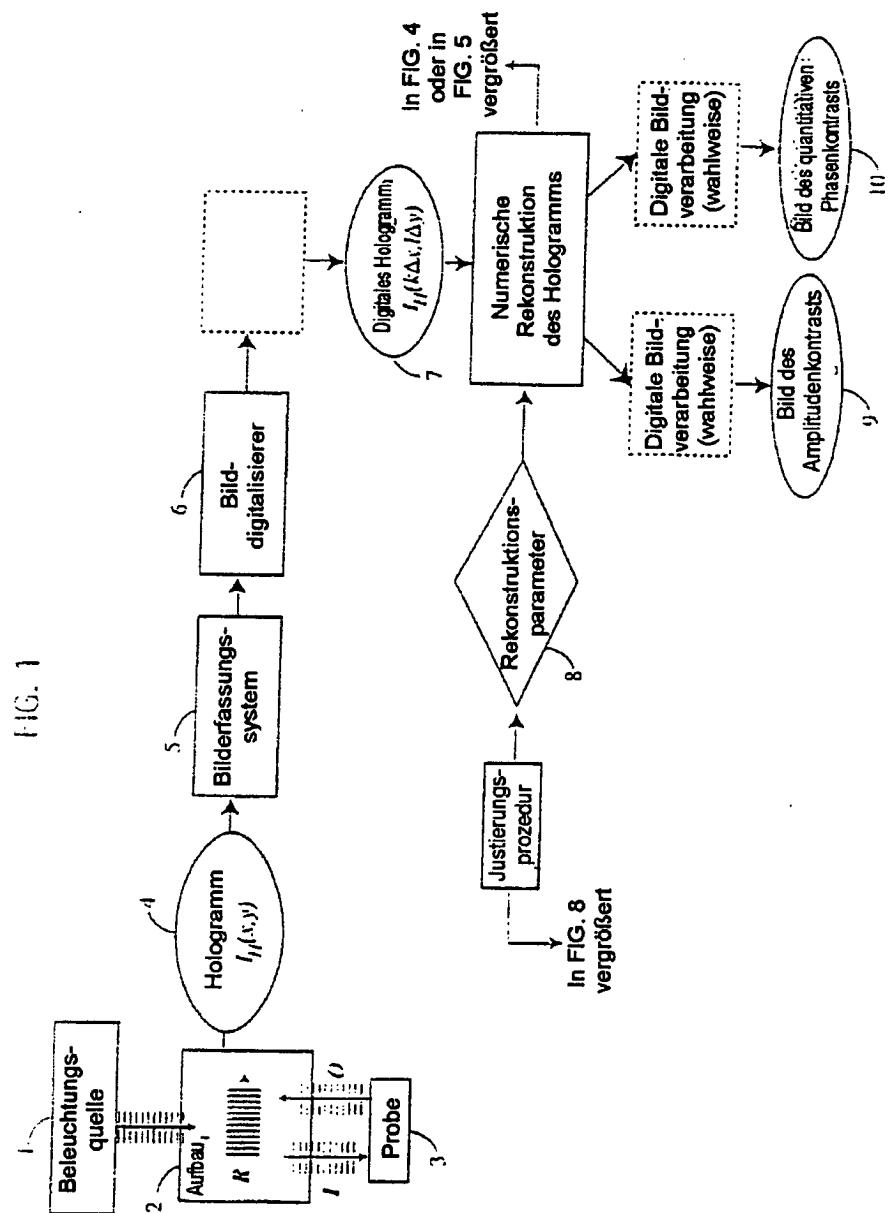


FIG. 2A

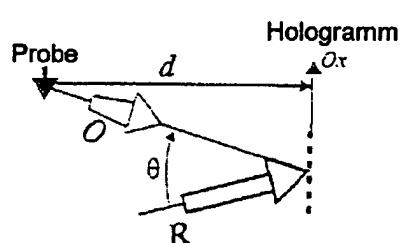


FIG. 2B

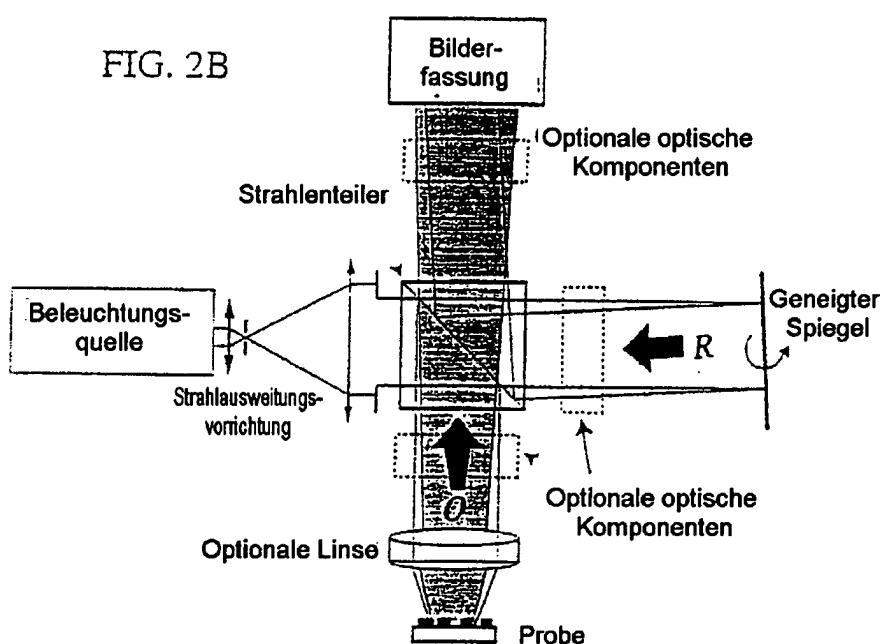


FIG. 2C

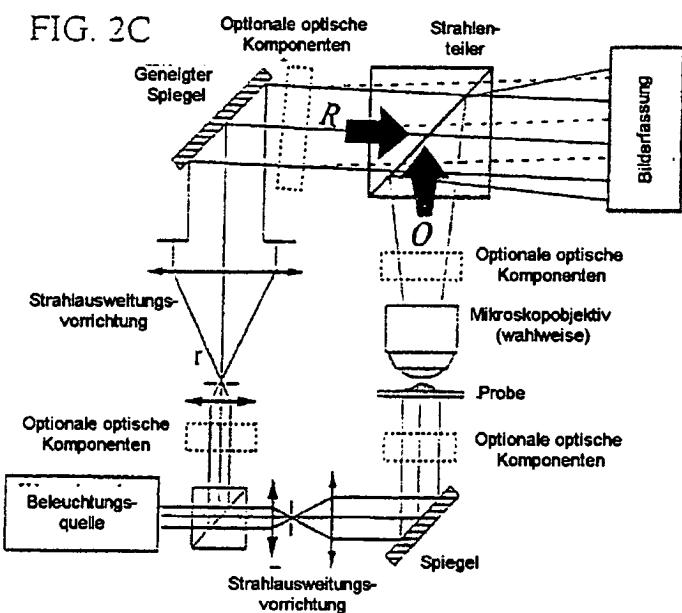


FIG. 2D

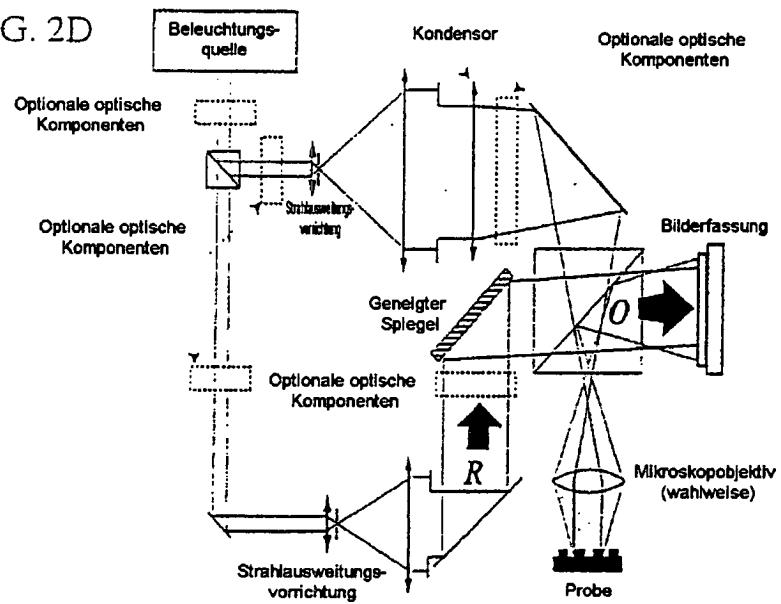


FIG. 3

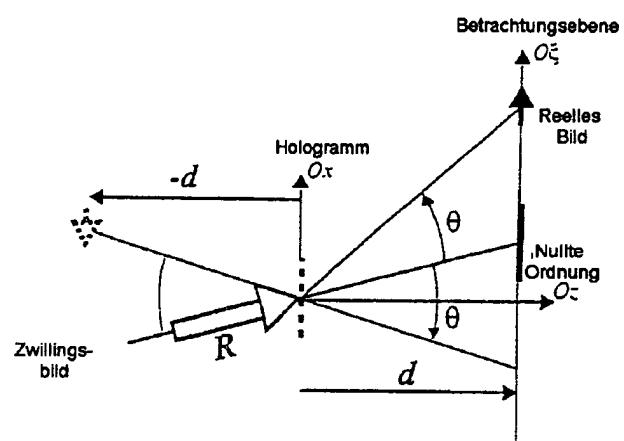


FIG. 4

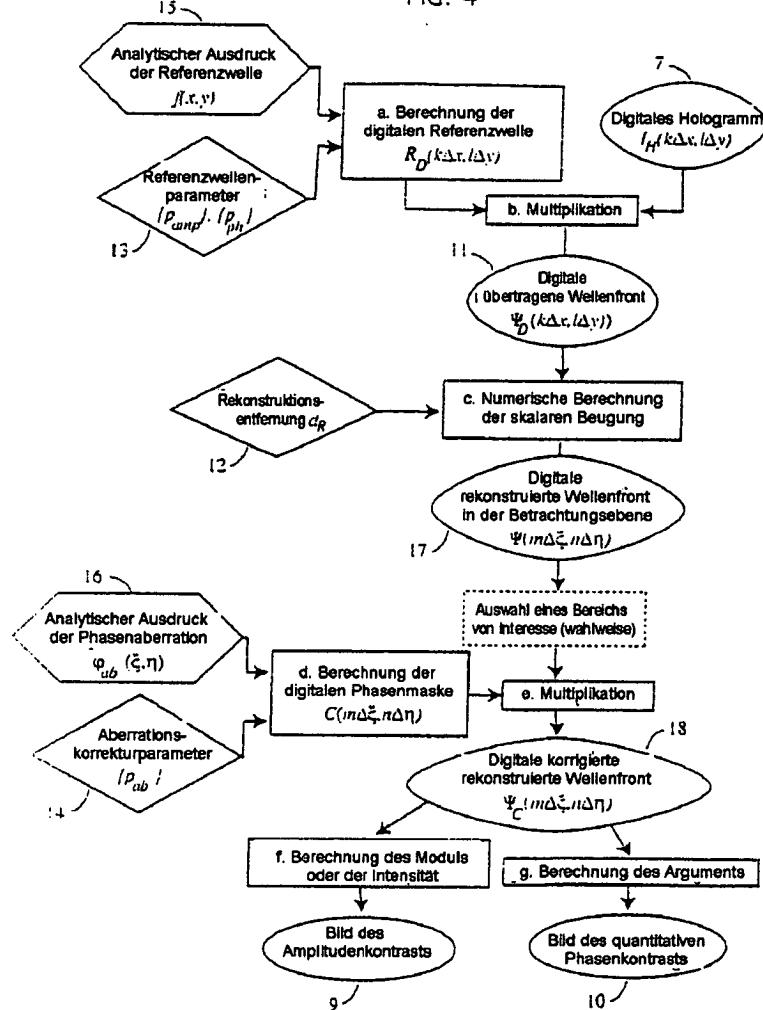


FIG. 5

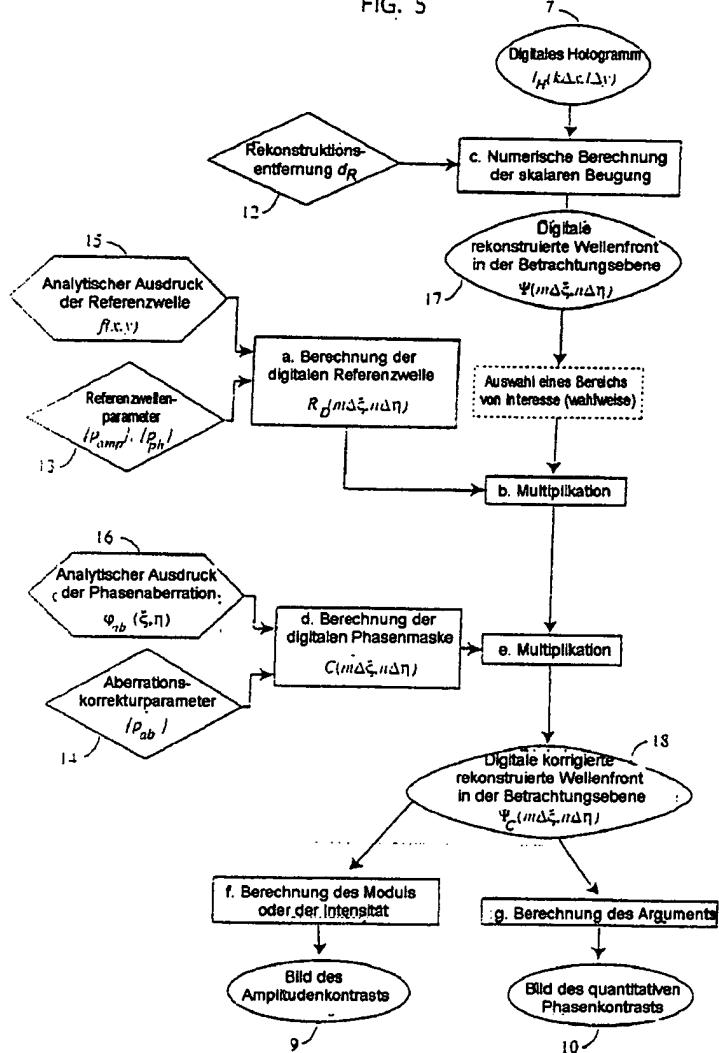


FIG. 6A

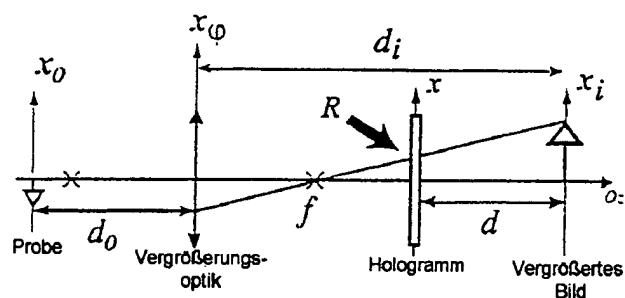


FIG. 6B

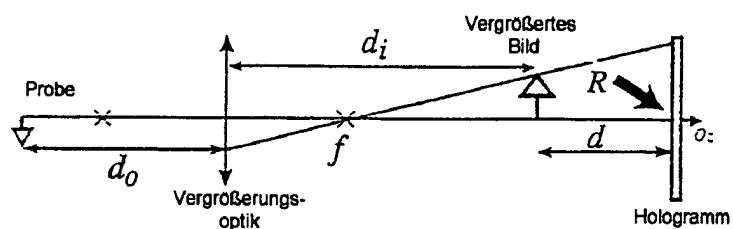


FIG. 6C

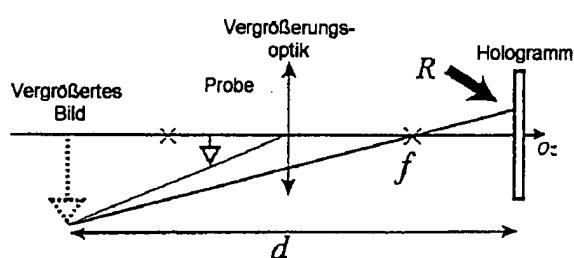


FIG. 7A

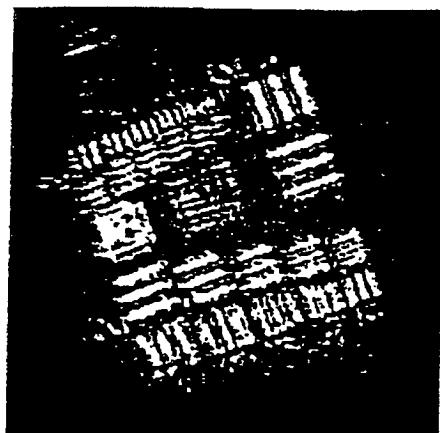


FIG. 7B

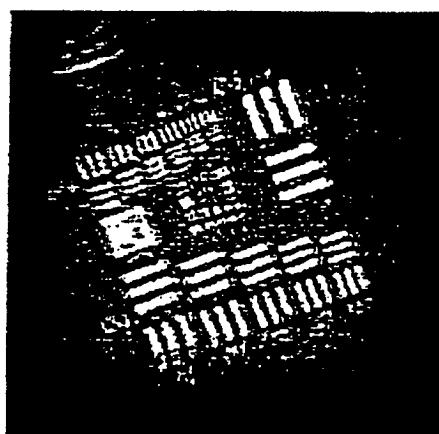


FIG. 7C

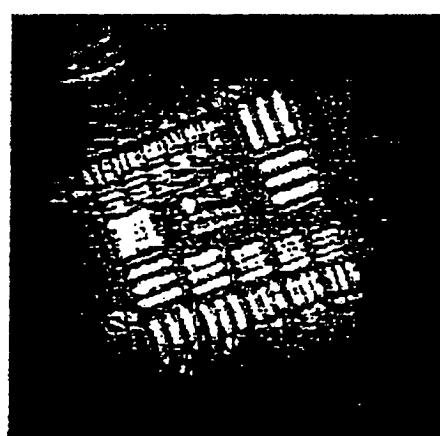


FIG. 8A

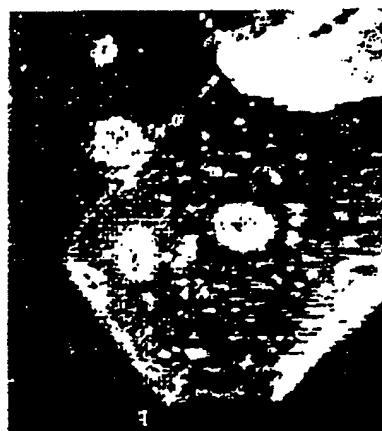


FIG. 8B



FIG. 8C

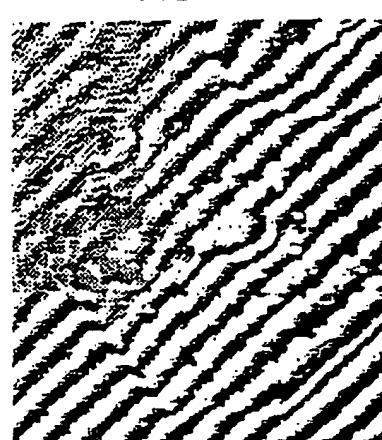


FIG. 9

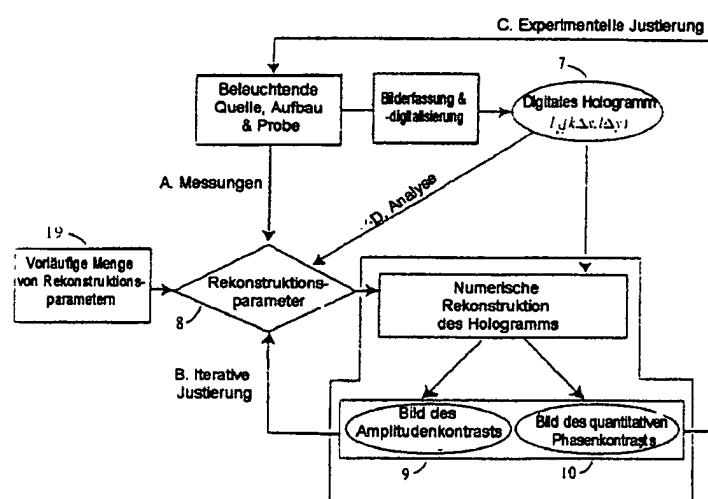


FIG. 10A

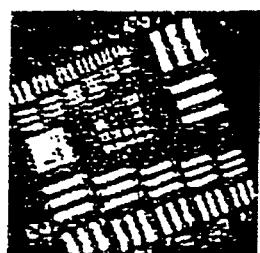


FIG. 10B

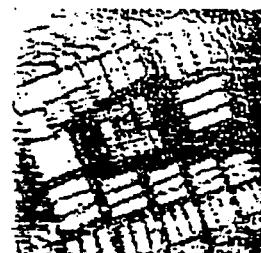


FIG. 10C

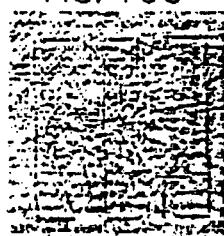


FIG. 10D



FIG. 10E

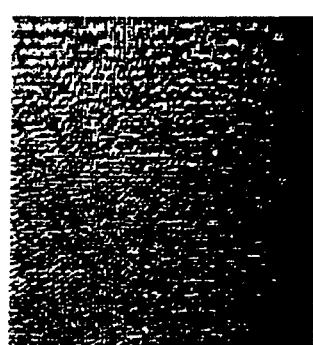


FIG. 10F

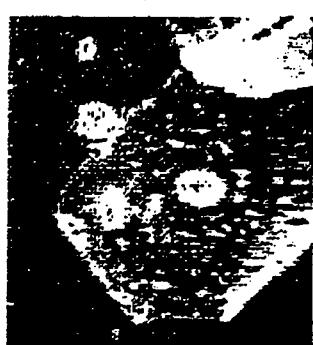


FIG. 11A

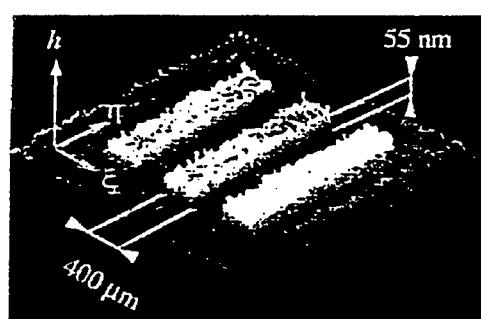
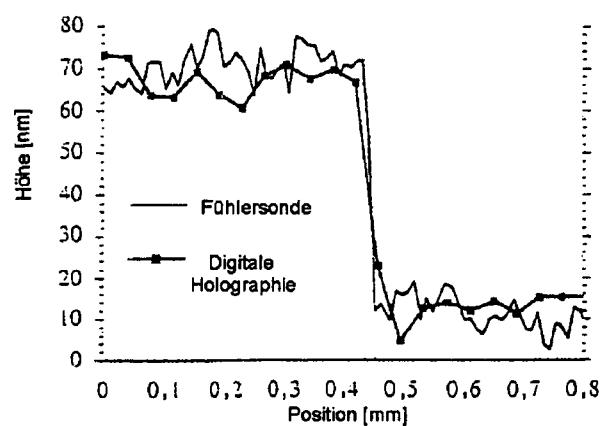


FIG. 11B



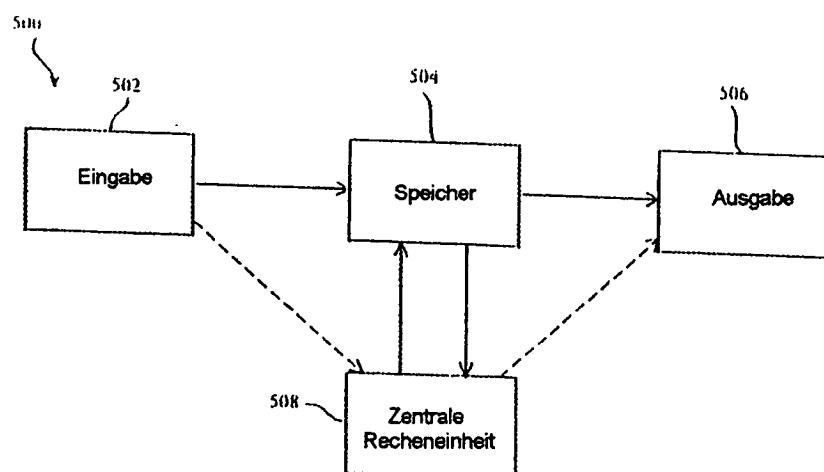


FIG. 12A

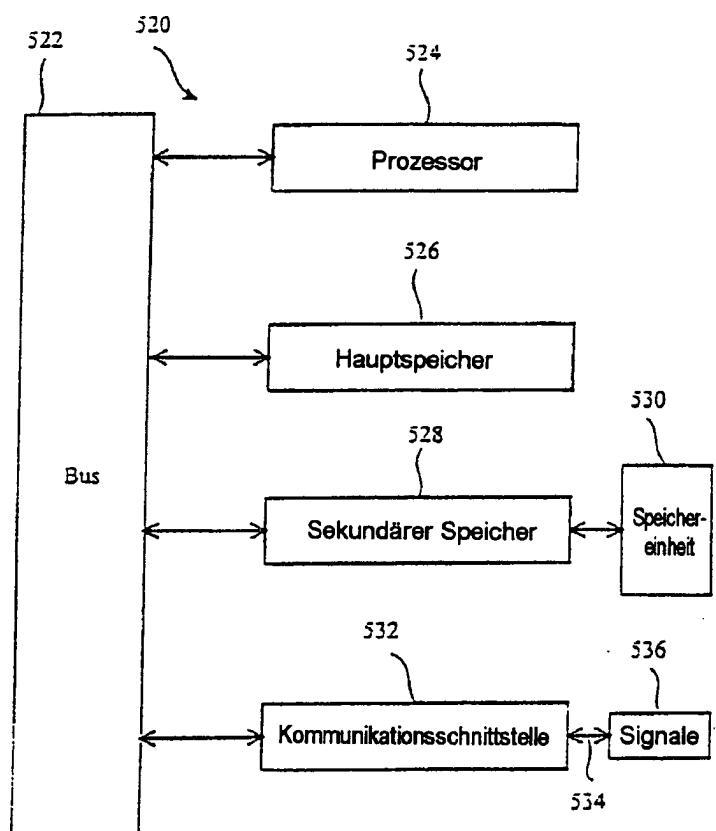


FIG. 12B