

Técnicas de Difração Numérica e Auto-foco para Holografia Digital em Linha Microscópica: Levantamento de Métodos

Lucas Saft Schemes
Universidade Federal de Santa
Catarina – UFSC
Araranguá, Santa Catarina, Brasil
lucas.schemes04@gmail.com

Bruno Binelli Ribeiro
Universidade Federal de Santa
Catarina – UFSC
Araranguá, Santa Catarina, Brasil
bruno.b.ribeiro@grad.ufsc.br

Eduardo Panizzon
Universidade Federal de Santa
Catarina – UFSC
Araranguá, Santa Catarina, Brasil
eduardo.panizzon@grad.ufsc.br

Ana Karol Spricigo
Universidade Federal de Santa
Catarina – UFSC
Araranguá, Santa Catarina, Brasil
karol_sp_ricigo@hotmail.com

Thaynara Mitie Sei Soares
Universidade Federal de Santa
Catarina – UFSC
Araranguá, Santa Catarina, Brasil
thaynara.mitie@gmail.com

Antonio Carlos Sobieranski
Universidade Federal de Santa
Catarina – UFSC
Araranguá, Santa Catarina, Brasil
a.sobieranski@ufsc.br

Resumo

Digital Inline Holographic Microscopy (DIHM) has emerged as a powerful and cost-effective imaging technique for microscopy, enabling the acquisition and numerical reconstruction of three-dimensional information from two-dimensional holograms. A central challenge in DIHM is the phase retrieval problem, which is fundamental for accurate image reconstruction and autofocusing. This paper presents a comprehensive review of numerical diffraction and phase retrieval methods applied to inline digital holography, with emphasis on their theoretical foundations, computational characteristics, and practical implementation. The analyzed approaches are organized into three main categories: direct methods, which numerically solve diffraction integrals using approximations such as Fresnel and Angular Spectrum formulations; iterative methods, including the Gerchberg–Saxton algorithm and its extensions proposed by Fienup; and data-driven methods based on deep learning, which leverage convolutional neural networks to infer phase information directly from holograms. Additionally, classical and learning-based autofocusing strategies are discussed, highlighting criteria based on image sharpness, statistical measures, and neural regression.

Keywords

digital holography, phase retrieval, autofocusing, deep learning

1 Introdução

A Microscopia Holográfica Digital (MHD) tem se consolidado, nas últimas décadas, como uma técnica de imagem poderosa para a aquisição e reconstrução de informações tridimensionais a partir de hologramas bidimensionais, destacando-se por sua implementação de baixo custo, simplicidade instrumental e capacidade de análise quantitativa sem contato físico com a amostra [3, 18]. Diferentemente das técnicas ópticas convencionais, a holografia permite registrar não apenas a intensidade da luz refletida ou transmitida por um objeto, mas também informações de fase do campo óptico, essenciais para a reconstrução fiel da estrutura tridimensional do objeto analisado.

Diversos métodos foram propostos para resolver o problema da recuperação de fase na holografia digital. Abordagens diretas

baseiam-se na solução numérica das integrais de difração, empregando aproximações como a Transformada de Fresnel ou o Método do Espectro Angular, amplamente discutidos na literatura clássica de óptica de Fourier [5, 9]. Em paralelo, métodos iterativos, como o algoritmo de Gerchberg–Saxton e suas extensões propostas por Fienup, exploram estratégias de otimização por aproximações sucessivas, impondo restrições nos domínios do objeto e da frequência para convergir a uma solução viável [2, 4, 13].

Mais recentemente, o avanço das técnicas de aprendizado profundo introduziu uma nova classe de soluções para a recuperação de fase e para o auto-foco em Microscopia Holográfica Digital. Redes neurais convolutivas passaram a ser empregadas para inferir diretamente a fase ou a imagem reconstruída a partir de hologramas, deslocando a complexidade do modelo físico para o processo de treinamento da rede [11, 16, 20]. Essas abordagens têm demonstrado ganhos expressivos em velocidade de processamento e automação, especialmente em aplicações que demandam reconstrução em tempo real ou em sistemas embarcados, embora ainda apresentem desafios relacionados à generalização e à necessidade de grandes bases de dados rotuladas.

Assim, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão da literatura sobre os principais métodos de recuperação de fase e técnicas de auto-foco aplicados à Microscopia Holográfica Digital inline, organizando-os em categorias conceituais e discutindo seus fundamentos teóricos, desempenho computacional e adequação a diferentes cenários experimentais. Este estudo visa fornecer um referencial estruturado que auxilie pesquisadores e profissionais na seleção e no desenvolvimento de estratégias de reconstrução de imagem para aplicações laboratoriais e industriais.

2 Sistema de Aquisição de Imagens em Microscopia Holográfica Digital Inline

Um sistema típico de Microscopia Holográfica Digital inline caracteriza-se por sua arquitetura óptica simples, compacta e de baixo custo, sendo particularmente adequado para aplicações laboratoriais, sistemas portáteis e dispositivos point-of-care. Nessa configuração, o registro do holograma é realizado a partir da interferência direta entre o feixe de iluminação coerente e o feixe difratado pela amostra, sem a necessidade de trajetórias ópticas separadas para os feixes de

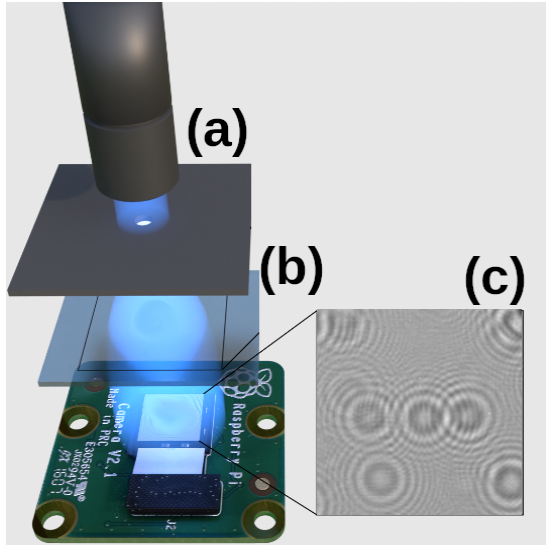


Figura 1: Setup típico de Microscopia Holográfica Digital in-line físico e computacional, implementado nesta abordagem.

referência e de objeto [3, 18]. A Figura 1 ilustra esquematicamente um setup básico de microscopia holográfica inline, composto por três elementos principais: (a) uma fonte de iluminação coerente, (b) a amostra a ser imageada, tipicamente em meio fluido, e (c) o holograma gerado e digitalizado por um sensor de imagem do tipo CMOS ou CCD.

A fonte de iluminação coerente, ilustrada em (a), é normalmente composta por um laser de estado sólido ou por um diodo emissor de luz parcialmente coerente acoplado a um pinhole ou fibra óptica, de forma a garantir coerência espacial suficiente para a formação do padrão de interferência. O comprimento de onda da fonte é um parâmetro crítico do sistema, influenciando diretamente a resolução espacial e a sensibilidade à fase da reconstrução holográfica [9].

A amostra, apresentada em (b), é usualmente posicionada em um microcanal ou câmara fluidica diretamente sobre o sensor de imagem. Essa configuração é amplamente empregada em aplicações biomédicas, como a análise de células, microorganismos e partículas em suspensão, pois permite a observação de amostras vivas em ambientes controlados [8, 14]. A proximidade entre a amostra e o sensor reduz significativamente a necessidade de componentes ópticos adicionais, ao mesmo tempo em que impõe desafios relacionados à separação entre a imagem real, a imagem virtual e o termo de fundo durante a reconstrução.

O holograma digitalizado, mostrado em (c), corresponde ao padrão de interferência resultante da superposição do feixe de referência, que atravessa o meio sem sofrer difração significativa, e do feixe difratado pela amostra. Esse padrão contém, de forma implícita, informações de amplitude e fase do campo óptico. O sensor de imagem, tipicamente do tipo CMOS ou CCD, registra apenas a intensidade luminosa, tornando necessária a aplicação de métodos numéricos de difração e recuperação de fase para a reconstrução da imagem do objeto [17].

3 Métodos de Difração Numérica

3.1 Métodos Diretos de Reconstrução

Os métodos diretos de difração numérica são aqueles que resolvem explicitamente a propagação do campo óptico por meio de aproximações matemáticas da integral de difração. Esses métodos apresentam como principais vantagens a previsibilidade dos resultados, a estabilidade numérica e o baixo custo computacional, sendo amplamente utilizados em aplicações laboratoriais e industriais [9, 13]. O Método da Transformada de Fresnel, também conhecido como método 1-FFT, baseia-se na aproximação de Fresnel da integral de difração, válida quando a distância de propagação é grande em relação às dimensões transversais do holograma. Sob essa hipótese, a reconstrução do campo óptico pode ser expressa como

$$U(x, y, z) = \frac{e^{ikz}}{i\lambda z} \exp\left(\frac{ik}{2z}(x^2 + y^2)\right) \mathcal{F}\left\{H(x', y') \exp\left(\frac{ik}{2z}(x'^2 + y'^2)\right)\right\}, \quad (1)$$

onde λ é o comprimento de onda, $k = 2\pi/\lambda$ e $\mathcal{F}\{\cdot\}$ representa a Transformada de Fourier [9]. Esse método apresenta implementação simples e elevada eficiência computacional, porém sua precisão diminui para pequenas distâncias de propagação. O Método do Espectro Angular, ou método 2-FFT, oferece uma formulação mais geral da propagação do campo óptico ao considerar o campo como uma superposição de ondas planas. Nesse caso, o campo reconstruído é obtido por

$$U(x, y, z) = \mathcal{F}^{-1}\left\{\mathcal{F}\{H(x, y)\} \cdot \exp\left[iz\sqrt{k^2 - k_x^2 - k_y^2}\right]\right\}, \quad (2)$$

onde k_x e k_y correspondem às frequências espaciais nas direções x e y . Esse método apresenta maior precisão para curtas distâncias de propagação e para reconstruções de alta resolução, embora seja mais sensível a ruídos e a componentes evanescentes [1, 5].

3.2 Métodos Iterativos de Recuperação de Fase

Diferentemente dos métodos diretos, que buscam resolver explicitamente a propagação do campo óptico, os métodos iterativos de recuperação de fase formulam o problema como um processo de otimização por aproximações sucessivas. Nessas abordagens, a fase do campo óptico é estimada iterativamente a partir da intensidade medida no plano do holograma, impondo-se restrições físicas nos domínios espacial e espectral [4, 10]. O algoritmo clássico dessa categoria é o método de Gerchberg-Saxton (GSA), proposto originalmente em 1972. Nesse algoritmo, a fase inicial é assumida de forma arbitrária, normalmente aleatória, e o campo óptico é propagado alternadamente entre o plano do holograma e o plano do objeto por meio da Transformada de Fourier e de sua inversa. Em cada iteração, as restrições conhecidas de amplitude são impostas, enquanto a fase é atualizada progressivamente até que um critério de convergência seja atingido [4].

Formalmente, considerando a intensidade medida $I(x, y)$ e uma estimativa inicial de fase $\phi_0(x, y)$, o campo inicial pode ser expresso como

$$U_0(x, y) = \sqrt{I(x, y)} e^{i\phi_0(x, y)}. \quad (3)$$

A partir desse campo, aplica-se uma sequência iterativa de propagação direta e inversa, com atualização da fase a cada ciclo. Embora conceitualmente simples, o GSA apresenta limitações relacionadas

à convergência lenta e à possibilidade de estagnação em mínimos locais.

3.3 Métodos Baseados em Deep Learning

As Redes Neurais Convolutivas (CNNs) tornaram-se a arquitetura predominante nessa categoria, devido à sua capacidade de extrair características espaciais hierárquicas a partir de imagens. Nesse contexto, o problema de recuperação de fase pode ser formulado como uma tarefa de regressão, na qual a rede estima diretamente a fase ou a imagem reconstruída a partir do holograma de entrada [15, 20]. Assim, embora os métodos baseados em deep learning apresentem ganhos expressivos em velocidade e automação, a literatura converge para a visão de que essas abordagens devem ser consideradas complementares aos métodos diretos e iterativos, e não substitutas definitivas, especialmente em aplicações científicas que exigem rastreabilidade física e interpretabilidade dos resultados [6].

4 Métodos de Autofoco

Os métodos de autofocus podem ser classificados, de forma geral, em duas categorias principais: métodos clássicos baseados em métricas de nitidez e métodos baseados em aprendizado profundo. Ambos buscam maximizar ou minimizar uma função critério associada à qualidade da imagem reconstruída, porém diferem quanto à complexidade computacional, robustez e dependência de dados prévios. Os métodos clássicos de autofocus baseiam-se na avaliação de métricas de nitidez calculadas a partir das imagens reconstruídas em diferentes planos axiais. Nessa abordagem, o holograma é numericamente propagado para um conjunto discreto de distâncias z , e uma função de foco $F(z)$ é computada para cada plano. O plano focal é então determinado como aquele que maximiza ou minimiza essa função [7, 12].

Com o avanço das técnicas de aprendizado profundo, métodos baseados em redes neurais passaram a ser explorados como alternativa aos algoritmos clássicos de autofocus. Nessas abordagens, o problema é formulado como uma tarefa de regressão ou classificação, na qual a rede neural estima diretamente a distância focal ou o plano de melhor foco a partir de um único holograma ou de um conjunto reduzido de reconstruções parciais [15, 19].

5 Resultados Experimentais, Validação e Discussões

Este trabalho apresentou uma revisão sistemática dos principais métodos de recuperação de fase e técnicas de autofocus aplicados à Microscopia Holográfica Digital, com ênfase na configuração inline. Ao longo do estudo, foram discutidos os fundamentos físicos da difração, os métodos diretos de reconstrução numérica, as abordagens iterativas clássicas e, mais recentemente, os métodos baseados em aprendizado profundo. Essa organização permitiu analisar de forma estruturada as vantagens, limitações e aplicações de cada classe de técnicas. Validação microscópica visual das técnicas demonstradas neste artigo são apresentadas na Figura 3, onde os resultados obtidos pelo Setup holográfico descrito neste artigo, foram validados com imagens microscópicas convencionais.

Os métodos diretos de difração numérica, como o Método da Transformada de Fresnel e o Método do Espectro Angular, permanecem amplamente utilizados devido à sua previsibilidade, estabilidade numérica e baixo custo computacional. Essas abordagens são particularmente adequadas para ambientes controlados e aplicações industriais, nas quais os parâmetros ópticos são bem definidos e a rastreabilidade física do processo de reconstrução é essencial [5, 18]. Entretanto, sua precisão pode ser limitada em cenários que envolvem ruído elevado ou pequenas distâncias de propagação. Os métodos iterativos de recuperação de fase, exemplificados pelo algoritmo de Gerchberg-Saxton e pelas variantes propostas por Fienup, oferecem maior flexibilidade e capacidade de lidar com ambiguidades e restrições físicas adicionais. Em contrapartida, esses métodos apresentam maior custo computacional e dependem de critérios de convergência cuidadosamente definidos, o que restringe sua aplicação em sistemas que exigem processamento em tempo real [10, 13].

Referências

- [1] R. Y. Dovhaliuk. 2018. Review of Digital Holography Reconstruction Methods. In *International Conference on Correlation Optics*.
- [2] James R. Fienup. 1982. Phase Retrieval Algorithms: A Comparison. *Applied Optics* 21, 15 (1982), 2758–2769.
- [3] Dennis Gabor. 1948. A New Microscopic Principle. *Nature* 161 (1948), 777–778.
- [4] R. Gerchberg and W. O. Saxton. 1972. A Practical Algorithm for the Determination of Phase from Image and Diffraction Plane Pictures. *Optik* 35, 2 (1972), 237–246.
- [5] Joseph W. Goodman. 1969. *Introduction to Fourier Optics*. McGraw-Hill.
- [6] Zhengzhong Huang and Liangcai Cao. 2024. Quantitative Phase Imaging Based on Holography: Trends and New Perspectives. *Light: Science and Applications* 13, 1 (2024), 118.
- [7] H. A. Ilhan, M. Doğar, and M. Özcan. 2014. Digital Holographic Microscopy and Focusing Methods Based on Image Sharpness. *Journal of Microscopy* 255, 3 (2014), 138–149.
- [8] Bahram Javidi, Enrique Tajahuerce, and Pedro Andres. 2014. *Multi-Dimensional Imaging*. Wiley.
- [9] Myung K. Kim. 2011. *Digital Holographic Microscopy: Principles, Techniques and Applications*. Springer.
- [10] Tatiana Latychevskaia. 2019. Iterative Phase Retrieval for Digital Holography: Tutorial. *Journal of the Optical Society of America A* 36, 12 (2019), D15–D28.
- [11] Yann LeCun, Yoshua Bengio, and Geoffrey Hinton. 2015. Deep Learning. *Nature* 521 (2015), 436–444.
- [12] C. Liu et al. 2009. Autofocusing of Digital Hologram Based on Image Contrast. *SPIE Proceedings* (2009).
- [13] Andreas Erik Gejl Madsen et al. 2023. On-axis Digital Holographic Microscopy: Current Trends and Algorithms. *Optics Communications* 537 (2023), 129405.
- [14] Melania Paturzo et al. 2018. Digital Holography, a Metrological Tool for Quantitative Analysis: Trends and Future Applications. *Optics and Lasers in Engineering* 104 (2018), 64–89.
- [15] Yair Rivenson et al. 2018. Deep Learning Microscopy. *Optica* 4, 11 (2018), 1437–1443.
- [16] Yair Rivenson, Yichen Wu, and Aydogan Ozcan. 2019. Deep Learning in Holography and Coherent Imaging. *Light: Science and Applications* 8, 1 (2019), 85.
- [17] Ulf Schnars and Werner P. O. Jüptner. 2002. Digital Recording and Numerical Reconstruction of Holograms. *Measurement Science and Technology* 13, 9 (2002), R85–R101.
- [18] Ulf Schnars and Werner P. O. Jüptner. 2015. *Digital Holography and Wavefront Sensing: Principles, Techniques and Applications* (2 ed.). Springer.
- [19] Y. Wu et al. 2019. Deep Learning for Single-shot Autofocus Microscopy. *Optica* 6, 6 (2019), 794–797.
- [20] Tianjiao Zeng, Yanmin Zhu, and Edmund Y. Lam. 2021. Deep Learning for Digital Holography: A Review. *Optics Express* 29, 26 (2021), 43755–43777.