# Scanning Laser Optical Tomography SLOT (IQ18)

Laborpraktikum durchgeführt im Block 1 22.10.2018 – 09.11.2018



Leibniz Universität Hannover

Daniel Scheiermann 3227680 Felix Springer 10002537

27. November 2018

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	2
2	Scanning Laser Optical Tomography 2.1 Radontransformation	<b>2</b>
	2.1 Radolitialisiofination	_
	2.2 Funktionsweise	
	2.3 Versuchsaufbau	4
3	Ergebnisse	6
	3.1 Auflösungsvermögen	6
	3.2 Aufnahmen von Heuschreckengehirnen	10



## 1 Einleitung

In diesem Versuch wird die Methode der Tomographie am Beispiel SLOT "Scanning Laser Optical Tomography "untersucht. Dieses ist ein spezielles dreidimensionales Tomographie-Verfahren, das mit Lasern verschiedener Wellenlängen mittels der Ausnutzung von Streuung, Absorption und Fluoreszenz ein bildgebendes Verfahren liefert.

Das dreidimensionale Präparat wird ebenenweise durch zweidimensionale Schnitte (Tomogramme) konstruiert und zu einem dreidimensionalen Bildobjekt zusammengesetzt. Das entstandene Bildobjekt ist nun vom Präparat getrennt und virtuell verfügbar. Daraus ergibt sich der Vorteil das Präparat unbeschädigt lassen zu können und dennoch die innere Struktur des Präparates zu untersuchen [1].

## 2 Scanning Laser Optical Tomography

#### 2.1 Radontransformation

Bei allen Computertomographie-Verfahren ist die Radontransformation die mathematische Grundlage, um das integrierte Signal eines Strahls durch das Präparat für eine Rekonstruktion zu nutzen.

Die Strahlen werden hierfür in Zylinderkoordinaten durch eine Schar mit Laufparameter s und parametrisiert:

$$lin_{p,q}(s) = \begin{pmatrix} \cos(\phi) & -\sin(\phi) \\ \sin(\phi) & \cos(\phi) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \rho \\ s \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \rho \cdot \cos(\phi) - s \cdot \sin(\phi) \\ \rho \cdot \sin(\phi) + s \cdot \cos(\phi) \end{pmatrix}$$
(1)

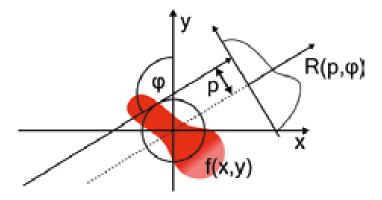


Abbildung 1: Graphische Darstellung der Radontransformation [2]



Für eine zweidimensionale Funktion f(x,y) ist nun die Radontransformierte das integrierte Signal über den parametrisierten Weg durch das Präparat:

$$R(\rho, \phi) = \int_{-\infty}^{\infty} f(\lim_{p,q}(s)) \, ds = \int_{-\infty}^{\infty} f\left(\frac{\rho \cdot \cos(\phi) - s \cdot \sin(\phi)}{\rho \cdot \sin(\phi) + s \cdot \cos(\phi)}\right) \, ds \tag{2}$$

Entscheidend für die Nutzung bei der Tomographie ist die Invertierbarkeit der Radontransformierten  $R(\rho, \phi)$ , denn dies ermöglicht die Rekonstruktion der ursprünglichen Funktion f(x, y), also die Rekonstruktion des Präparates [2].

#### 2.2 Funktionsweise

SLOT basiert auf einem x-y-Scanner-System mit zwei Silberspiegeln, das den auf die Mitte des Präparates fokussierten Laser abläuft. Das Präparat muss "aufgeklart"sein, um Streuung beim Übergang zwischen Präparat und Träger des Präparats zu verringern und eine höhere Transmission zu erreichen. Hierzu wird Wasser oder Glycerin genutzt, da dieses einen ähnlichen Brechungsindex wie organische Präparate haben. Das transmittierte Laserlicht wird von einer Photodiode hinter der Probenkammer detektiert. Um eine Rekonstruktion durchführen zu können sind Aufnahmen des Präparats von verschiedenen Richtungen aus nötig, Hintergrund ist die Radontransformation. Diese verschiedenen Aufnahmen werden durch einen Motor ermöglicht der die Kapillare und damit das Präparat dreht. Weiterhin regt das Laserlicht das Präparat zur Fluoreszenz an, welches mittels plankovexen Linsen mit dazwischen liegendem Fluoreszenz-Filter gesammelt und auf den sensitiven Photomuliplier (PMT) geleitet wird [1].

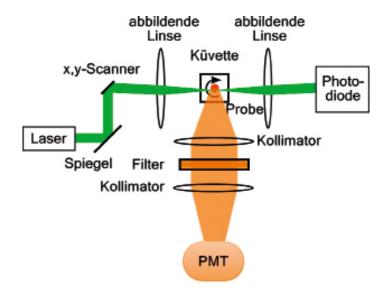


Abbildung 2: Schema eines scannenden laseroptischen Tomographen (SLOT) [2]

#### 2.3 Versuchsaufbau

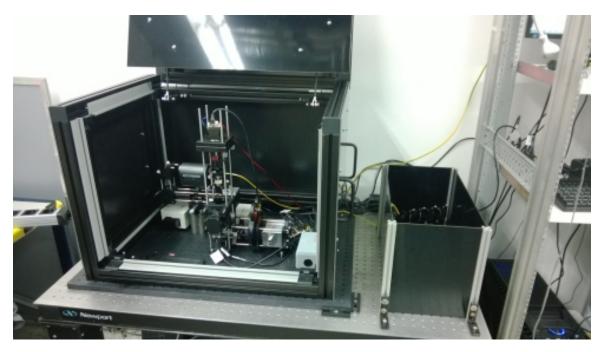


Abbildung 3: Versuchsaufbau [1]

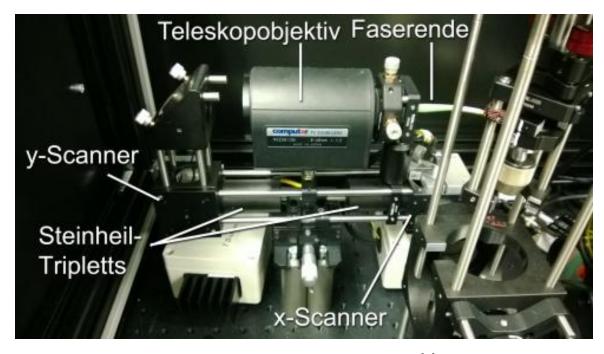


Abbildung 4: Teleskop und Scanner [1]

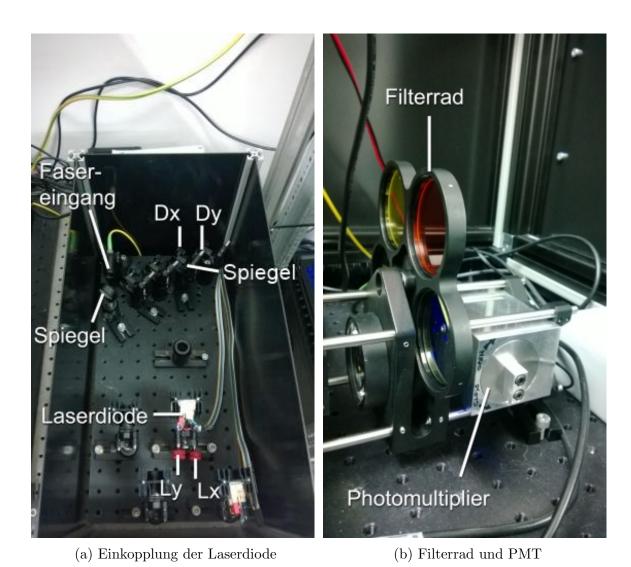


Abbildung 5: Die Laserkonfiguration ist vom restlichen Versuchsaufbau getrennt  $\left[1\right]$ 

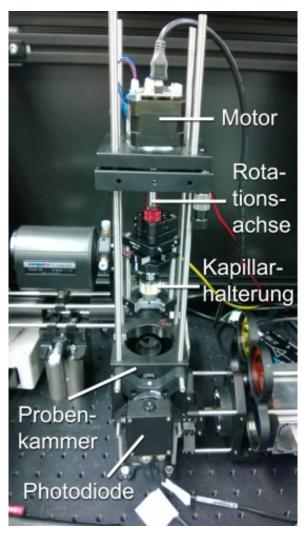


Abbildung 6: Turm mit Rotationsachse [1]

# 3 Ergebnisse

### 3.1 Auflösungsvermögen

Der Kontrast in Abhängigkeit von der horizontalen und vertikalen Auflösung wurde für verschiedene Fokussierungen, Strahlendurchmesser und Wellenlängen des Lasers gemessen. Dadurch ergibt sich die Modulationsübertragungsfunktion.

Bei allen Messungen wurde die Dunkelaufnahme von der normalen abgezogen, um ein Rauschen herauszurechnen.



Für geringe Auflösung wurde die Modulationsübertragungsfunktion in Abhängikeit zur horizontalen Auflösung in Abbildung 7 und zur vertikalen Auflösung in Abbildung 8 dargestellt.

Für hohe Auflösung ist diese zur horizontalen Auflösung in Abbildung 9 und zur vertikalen Auflösung in Abbildung 10 dargestellt.

Außerdem sind die Modulationsübertragungsfunktionen für hohe Auflösungen in Abbildung 11 dargestellt, um diese untereinander besser vergleichen zu können.

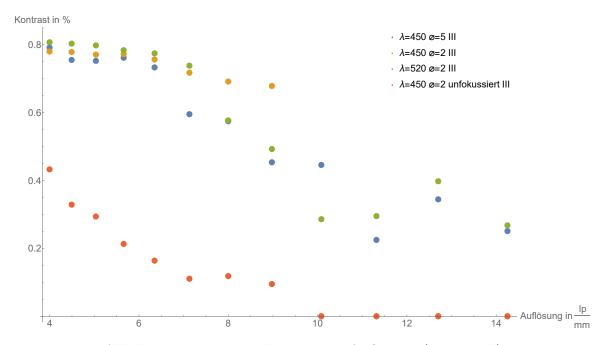


Abbildung 7: Kontrast bei geringer Auflösung (horizontal)

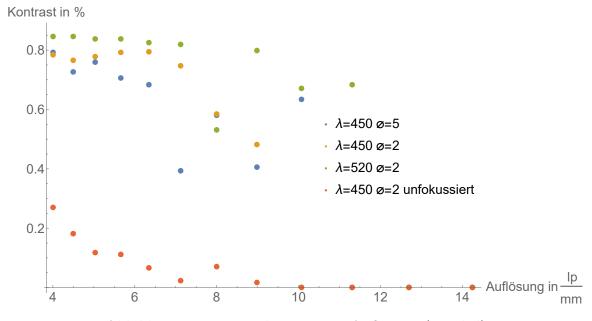


Abbildung 8: Kontrast bei geringer Auflösung (vertikal)

Ein erhöhter Strahlendurchmesser verbessert den Kontrast. Bei geringer Auflösung ist der Kontrast für eine höhere Wellenlänge höher. Der Kontrast ist in horizontaler und vertikaler Richtung von vergleichbarer Höhe. Weiterhin sinkt der Kontrast rapide, falls ohne Fokussierung gemessen wird.

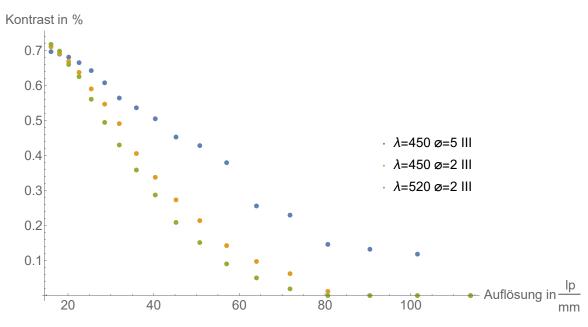


Abbildung 9: Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal)

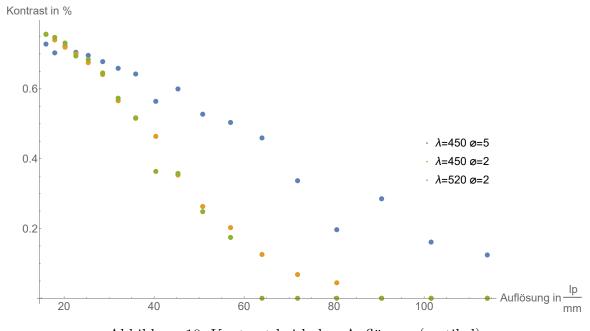


Abbildung 10: Kontrast bei hoher Auflösung (vertikal)

Auch bei hoher Auflösung ist verbessert ein erhöhter Strahlendurchmesser den Kontrast. Zwar ist der Kontrast bei einer geringen Auflösung bei einer höheren Wellenlänge höher, aber ab etwa einer Auflösung von  $20\frac{lp}{mm}$  erhöht eine kleine Wellenlänge den Kontrast.

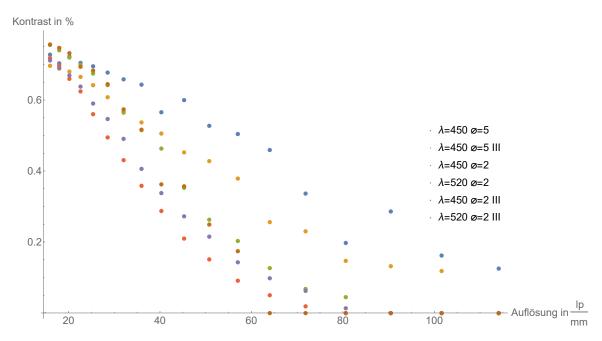


Abbildung 11: Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal & vertikal)

#### 3.2 Aufnahmen von Heuschreckengehirnen

In diesem Versuchsabschitt haben wir als Probe ein präpariertes Heuschreckengehirn in den SLOT-Aufbau gestellt. Die Probe war in einer Küvette und hat sich mit dieser um die z-Achse gedreht. Mit einer 360°-Drehung um die z-Achse haben wir also unsere Aufnahmen unter verschieden Einstellungen aufgenommen. Interessant war bei dieser Messung, dass wir die Fluoreszenz mit dem Photomultiplier (PMT) darstellen konnten, da es sich hier, im Gegensatz zum USAF-Target, um eine 3-dimensionale Probe handelt.

Wichtig für die Auswertung dieser Messung war, dass die Drehachse der Probe nicht präzessiert, was wir leider durch ausporbieren am Aufbau nicht ganz vermeiden konnten. Die Achse wandert also ca. 4 Pixel von links nach rechts.

Die durchschnitttliche Schieflage  $\alpha$  konnten wir bei der Auswertung jedoch ausgleichen. Dazu haben wir den Drehachsendurchlauf am oberen und unteren Bildrand gemessen und den Winkel  $\alpha$  mit

$$\alpha = \arcsin\left(\frac{\Delta x_{\text{oben}} - \Delta x_{\text{unten}}}{y_{\text{max}}}\right)$$

berechnet. Hier entspricht  $y_{\text{max}}$  der Anzahl an Pixel auf der y-Achse im Bild.



Um  $\Delta x_{\text{oben}}$  und  $\Delta x_{\text{unten}}$  messen zu können haben wir die jeweilige Ebene mit 100 verschiedenen x-Achsenverschiebungen mit "tilt" rekonstruiert und anschließend das beste Bild herausgesucht (möglichst keine Ringartefakte).

Dann haben wir die Aufnahme mit "ImageJ" um den jeweiligen Winkel gedreht und das Ergebnis wieder mit "tilt" aber dieses mal für alle Ebenen rekonstruiert. Dabei haben wir auch die mittlere x-Achsenverschiebung

$$\Delta x = \frac{\Delta x_{\text{oben}} - \Delta x_{\text{unten}}}{2}$$

beachtet.

Eine Verlängerung der Integrationszeit  $\Delta t$  von 1s zu 2s hatte nur eine Aufhellung des PMT-Bildes zu Folge. Da wir bei dieser Aufnahme jedoch einen unpassenden Filter verwendeten, zeigt das PMT-Bild auch nur das gestreute Licht. Das Ergebnis ist in Abbildung 12 zu sehen.

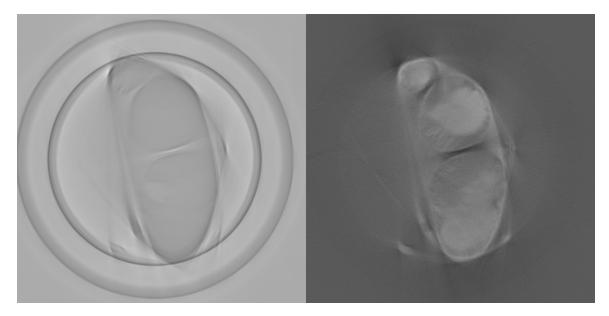


Abbildung 12: Rekonstruktion: Photodiode links, PMT rechts;  $\lambda=450$ nm,  $\Delta t=2$ s,  $\lambda_{\rm Filter}=(520\pm36)$ nm,  $d_{\rm Strahl}=5$ mm

Mit der Photodiode lassen sich die äußeren Umrisse gut erkennen, mit dem PMT auch die Dichte im Inneren.

In Abbildung 13 sind 2 Rekonstruktionen der Bilder der Photodiode dargestellt. Man erkennt, dass das Bild mit der längeren Wellenlänge feinere Strukturen im Heuschreckengehirn darstellt.

In Abbildung 14 wurden Bilder des PMT vom jeweiligen Fluoreszenzlicht der Laser rekonstruiert. Im Vergleich stellt man fest, dass man bei  $\lambda = 520$ nm mehr erkennt.



Abbildung 13: Rekonstruktion:  $\lambda=520 \mathrm{nm}$  links,  $\lambda=450 \mathrm{nm}$  rechts; Photodiode,  $\Delta t=1 \mathrm{s},~\lambda_{\mathrm{Filter}}=(520\pm36) \mathrm{nm},~d_{\mathrm{Strahl}}=5 \mathrm{mm}$ 

Mit dem Image J-Plugin "Volume Viewer" ist es nach der Rekonstruktion möglich verschiedene Ansichten auf das Heuschreckengehirn zu generieren. Ein anschauliches Beispiel ist in Abbildung 15 zu finden.

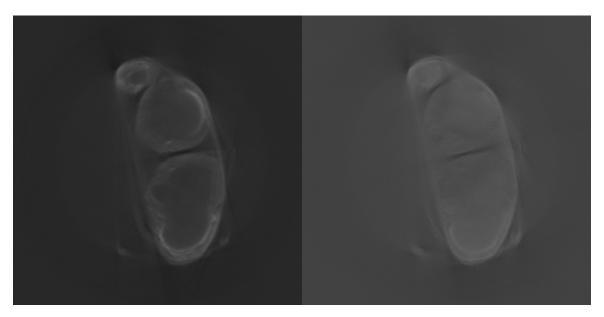


Abbildung 14: Rekonstruktion:  $\lambda=520 \mathrm{nm}$  links mit  $\lambda_{\mathrm{Filter}}=(676\pm29) \mathrm{nm}$  links,  $\lambda=450 \mathrm{nm}$  mit  $\lambda_{\mathrm{Filter}}\geq570 \mathrm{nm}$  rechts; Photodiode,  $\Delta t=1 \mathrm{s},\,d_{\mathrm{Strahl}}=5 \mathrm{mm}$ 

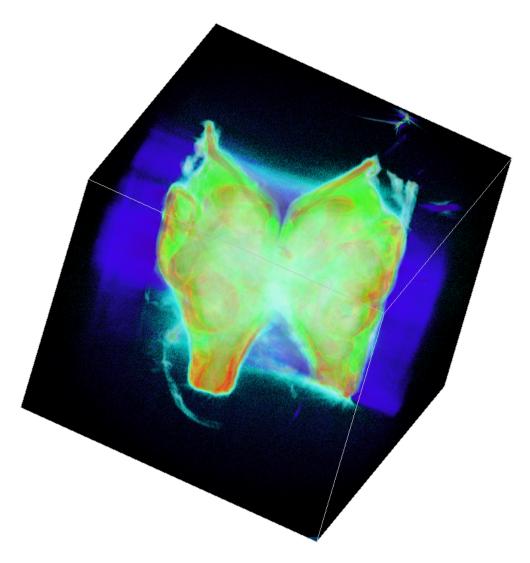


Abbildung 15: 3-dimensionale Ansicht einer PMT-Aufnahme:  $\lambda=520$ nm mit  $\lambda_{\rm Filter}=(676\pm29)$ nm,  $\Delta t=1$ s,  $d_{\rm Strahl}=5$ mm



# Abbildungsverzeichnis

1	Graphische Darstellung der Radontransformation [2]	2
2	Schema eines scannenden laseroptischen Tomographen (SLOT) [2]	3
3	Versuchsaufbau [1]	4
4	Teleskop und Scanner $[1]$	4
5	Die Laserkonfiguration ist vom restlichen Versuchsaufbau getrennt [1]	5
6	Turm mit Rotationsachse [1]	6
7	Kontrast bei geringer Auflösung (horizontal)	8
8	Kontrast bei geringer Auflösung (vertikal)	8
9	Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal)	9
10	Kontrast bei hoher Auflösung (vertikal)	9
11	Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal & vertikal)	10
12	Rekonstruktion: Photodiode links, PMT rechts; $\lambda = 450 \text{nm}, \Delta t = 2 \text{s},$	
	$\lambda_{\text{Filter}} = (520 \pm 36) \text{nm}, d_{\text{Strahl}} = 5 \text{mm} \dots \dots \dots \dots \dots \dots$	11
13	Rekonstruktion: $\lambda = 520 \text{nm}$ links, $\lambda = 450 \text{nm}$ rechts; Photodiode,	
	$\Delta t = 1$ s, $\lambda_{\text{Filter}} = (520 \pm 36)$ nm, $d_{\text{Strahl}} = 5$ mm	12
14	Rekonstruktion: $\lambda = 520 \text{nm}$ links mit $\lambda_{\text{Filter}} = (676 \pm 29) \text{nm}$ links, $\lambda =$	
	450nm mit $\lambda_{\text{Filter}} \geq 570$ nm rechts; Photodiode, $\Delta t = 1$ s, $d_{\text{Strahl}} = 5$ mm	13
15	3-dimensionale Ansicht einer PMT-Aufnahme: $\lambda = 520 \text{nm}$ mit $\lambda_{\text{Filter}} =$	
	$(676 \pm 29)$ nm, $\Delta t = 1$ s, $d_{\text{Strahl}} = 5$ mm	14

## Literatur

- [1] LENA NOLTE, Versuchsanleitung: IQ18 SLOT für das Laborpraktikum Atomund Molekühlphysik der Leibniz Universität Hannover (2015)
- [2] RAOUL-AMADEUS LORBEER,  $Dreidimensionale\ und\ effiziente\ Erfassung\ mesoskopischer\ Proben\ (2013)$