# 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	2 2 3 4
3	Ergebnisse 3.1 Auflösungsvermögen	6



## 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. Als Konfortmechanimen mutzt.

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

, basierendien

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

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

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

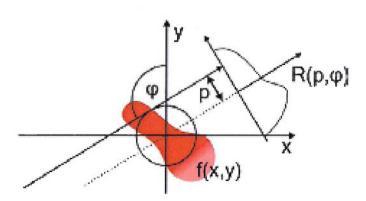


Abbildung 1: Graphische Darstellung der Radontransformation [2]

Gerauere Jeschierbung Auch hier immer ein

A

2

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

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

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

able 124 and somit die Probe dorastert.

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].

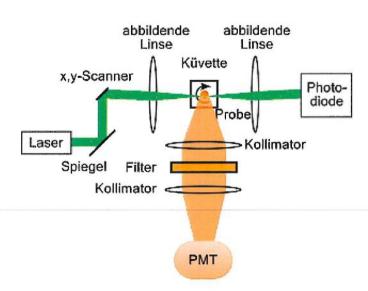


Abbildung 2: Schema eines scannenden laseroptischen Tomographen (SLOT), [2]

promer

ooks -

#### 2.3 Versuchsaufbau

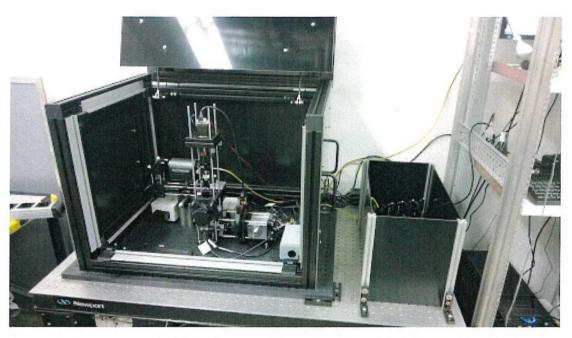
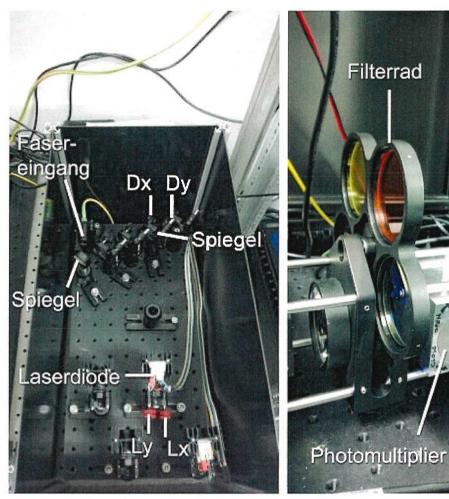


Abbildung 3: Versuchsaufbau [1]



Abbildung 4: Teleskop und Scanner [1]

geneure



(a) Einkopplung der Laserdiode

(b) Filterrad und Photomuliplier (PMT)

Abbildung 5: Trennung der Laserkonfiguration vom restlichen Versuchsaufbau [1]

5.0.

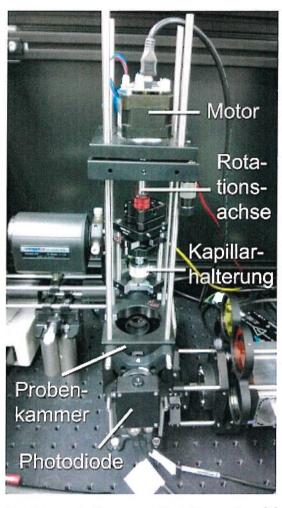


Abbildung 6: Turm mit Rotationsachse [1]

S.O.

nicht so ganz richtig

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Auflösungsvermögen

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

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

Für geringe <del>Auflösung w</del>urde die Modulationsübertragungsfunktion in <del>Abhängikeit zur horizontalen Auflösung in Abbildung 7 und zur vertikalen <del>Auflösung in Abbildung 8 dargestellt.</del></del>

**USAF** togets

Dos machi zur horizonta alles Zeiren 8 dargestellt.

Lienen /mm.

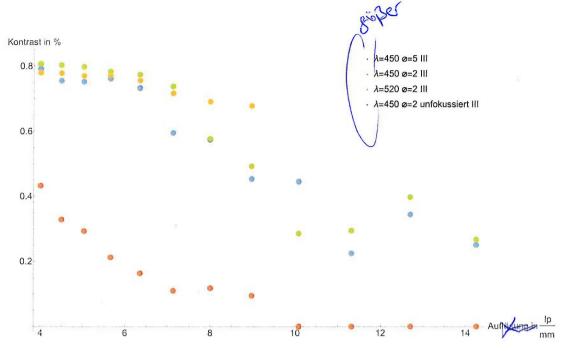


Abbildung 7: Kontrast bei geringer Auflösung (horizontal).

gnower. Firben? Achsen?

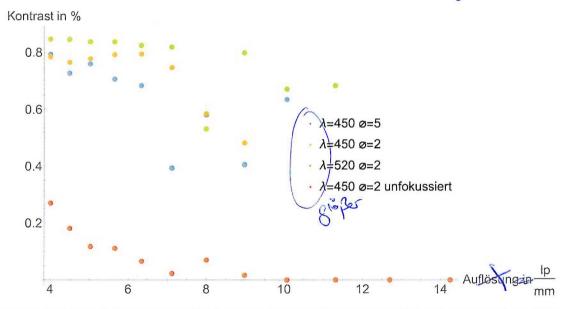


Abbildung 8: Kontrast bei geringer Auflösung (vertikal).

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.

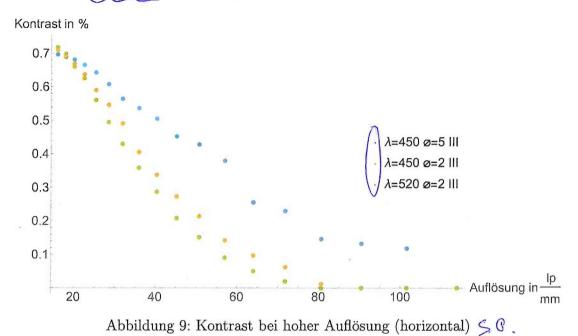
Weiterhin sinkt der Kontrast rapide, falls ohne Fokussierung gemessen wird.

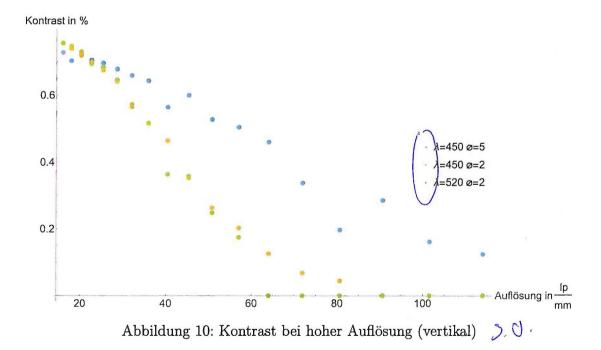
the maint LP/mm

beschieben wis man sieht und später Diskutiven ab das aur Thank asst mbr nicht.

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







Auch bei hoher Auflösung 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.



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

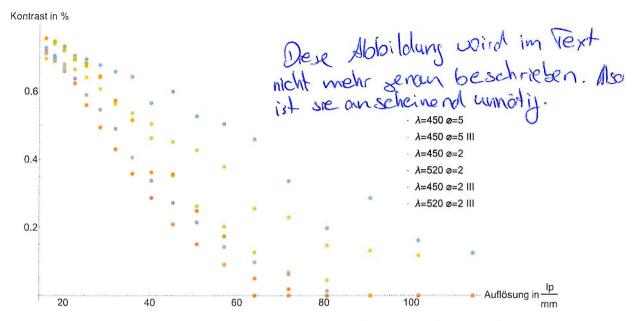


Abbildung 11: Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal & vertikal)

#### 3.2 Aufnahmen von Heuschreckengehirnen

In diesem Versuchsabschitt wurde als Probe ein präpariertes Heuschreckengehirn für die Rekonstruktion mittels SLOT gewählt. Die Probe wurde in einer Küvette fixtert von oben in und wurde mit dieser um die z-Achse gedreht. Mit einer 360°-Drehung um die z-Achse und wurde mit dieser um die z-Achse gedreht. Mit einer 360°-Drehung um die z-Achse wurden die Aufnahmen unter verschiedenen Einstellungen aufgenommen. Interessant war bei dieser Messung, dass die Fluoreszenz mit dem Photomultiplier (PMT) darstellen konnten, da es sich hier, im Gegensatz zum USAF-Target, um eine dreidimensionale Probe handelt, die fluoresziert.

Wichtig für die Auswertung dieser Messung war, dass die Drehachse der Probe nicht präzessiert, was durch die Justage am Aufbau nicht ganz vermieden werden konnte. Die Achse wandert folglich circa 4 Pixel in horizontaler Richtung.

Die durchschnittliche Schieflage  $\alpha$  konnte bei der Auswertung jedoch ausgeglichen werden. Dazu wurde der Drehachsendurchlauf am oberen und unteren Bildrand gemessen und der Winkel  $\alpha$  nach folgender Formel berechnet:

$$lpha = \arcsin\left(rac{\Delta x_{
m oben} - \Delta x_{
m unten}}{y_{
m max}}
ight)$$



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

 $\operatorname{Um}(\Delta x_{\mathrm{oben}})$  und  $\Delta x_{\mathrm{unten}}$  zu messen wurde die jeweilige Ebene mit 100 verschiedenen x-Achsenverschiebungen mit "tilt"rekonstruiert und anschließend das beste Bild herausgesucht (Reduzierung der Ringartefakte).

Im Folgenden wurde die Aufnahme mit "ImageJ"um den jeweiligen Winkel gedreht und das Ergebnis wieder mit "tilt", aber dieses mal für alle Ebenen rekonstruiert. Dabei wurde auch die mittlere x-Achsenverschiebung beachtet: Fir das Produzell aziquer:

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

In Absolussaboit masse vel promer beschneben werden a arum dieses IX überhampt borrigtet weden Eine Verlängerung der Integrationszeit  $\Delta t$  von 1s zu 2s hatte nur eine Aufhellung des PMT-Bildes zur Folge. Da bei dieser Aufnahme jedoch ein unpassender Filter verwendetet wurde, zeigt das PMT-Bild auch nur das gestreute Licht. Das Ergebnis ist in Abbildung 12 zu sehen.

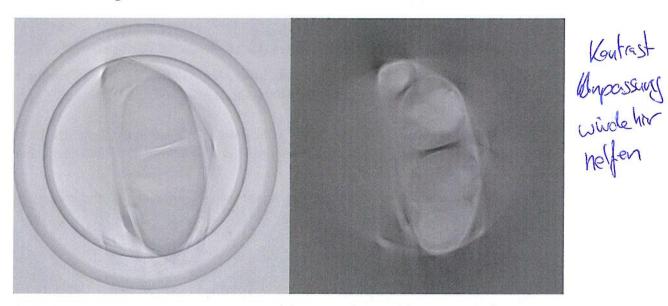


Abbildung 12: Rekonstruktion: Photodiode links, PMT rechts;  $\lambda = 450 \text{nm}$ ,  $\Delta t = 2 \text{s}$ ,  $\lambda_{\text{Filter}} = (520 \pm 36) \text{nm}, d_{\text{Strahl}} = 5 \text{mm}$ 

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

In Abbildung 13 sind 2 Rekonstruktionen der Bilder der Photodiode dargestellt. Es ist erkennbar, dass das Bild mit der längeren Wellenlänge feinere Strukturen im Heuschreckengehirn auflöst.

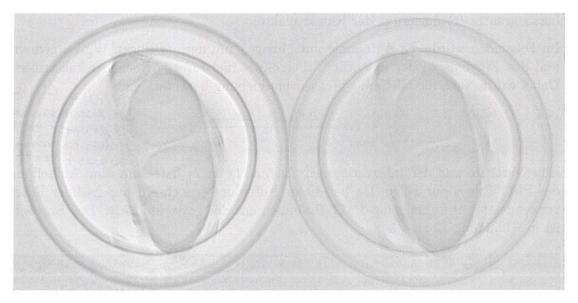


Abbildung 13: Rekonstruktion:  $\lambda = 520 \text{nm}$  links,  $\lambda = 450 \text{nm}$  rechts; Photodiode,  $\Delta t = 1 \text{s}$ ,  $\lambda_{\text{Filter}} = (520 \pm 36) \text{nm}$ ,  $d_{\text{Strahl}} = 5 \text{mm}$ 

In Abbildung 14 wurden Bilder des PMT vom jeweiligen Fluoreszenzlicht der Laser rekonstruiert. Im Vergleich ist festzustellen, dass bei  $\lambda=520$ nm die Auflösung höher ist.

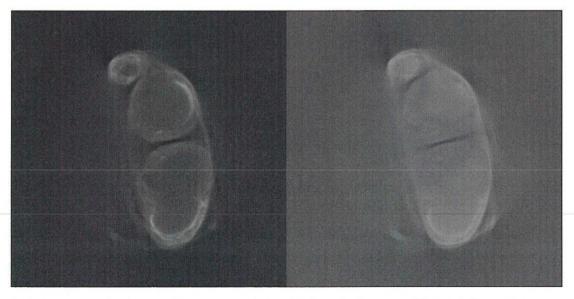


Abbildung 14: Rekonstruktion:  $\lambda=520 \mathrm{nm}$  links mit  $\lambda_{\mathrm{Filter}}=(676\pm29) \mathrm{nm}$  links,  $\lambda=450 \mathrm{nm}$  mit  $\lambda_{\mathrm{Filter}}\geq 570 \mathrm{nm}$  rechts; Photodiode,  $\Delta t=1 \mathrm{s}$ ,  $d_{\mathrm{Strahl}}=5 \mathrm{mm}$ 

Mit dem ImageJ-Plugin "Volume Viewer" ist es nach der Rekonstruktion möglich verschiedene Ansichten auf das Heuschreckengehirn zu generieren. Ein mögliche Ansicht ist in Abbildung 15 dargestellt.

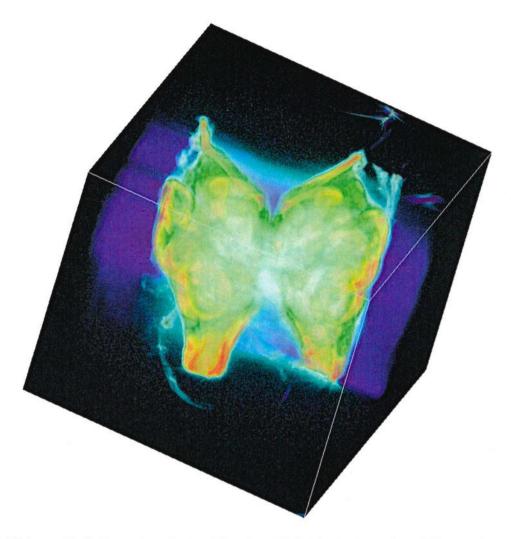


Abbildung 15: 3-dimensionale Ansicht einer PMT-Aufnahme:  $\lambda = 520$ nm mit  $\lambda_{\text{Filter}} = (676 \pm 29)$ nm,  $\Delta t = 1$ s,  $d_{\text{Strahl}} = 5$ mm

Eine Dis Knssion / Fazit Jeht.

Im Ergebnis Veil werden nur die Messungen / Beobachtungen gezeigt.

Noch zeine Interpretation

Jun der Ds Eussion wird donn nachmal verslichen, obie Ergebnisse mit der diksatur stimmig siral



# 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	Trennung der Laserkonfiguration vom restlichen Versuchsaufbau [1] .	5
6	Turm mit Rotationsachse [1]	6
7	Kontrast bei geringer Auflösung (horizontal)	7
8	Kontrast bei geringer Auflösung (vertikal)	7
9	Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal)	8
10	Kontrast bei hoher Auflösung (vertikal)	8
11	Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal & vertikal)	9
12	Rekonstruktion: Photodiode links, PMT rechts; $\lambda = 450$ nm, $\Delta t = 2$ s,	
	$\lambda_{\mathrm{Filter}} = (520 \pm 36) \mathrm{nm}, \ d_{\mathrm{Strahl}} = 5 \mathrm{mm}$	10
13	Rekonstruktion: $\lambda = 520$ nm links, $\lambda = 450$ nm rechts; Photodiode,	
	$\Delta t = 1$ s, $\lambda_{\mathrm{Filter}} = (520 \pm 36)$ nm, $d_{\mathrm{Strahl}} = 5$ mm	11
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	11
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	12

#### 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)