

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET ELEKTROTEHNIKE I RAČUNARSTVA

DIPLOMSKI RAD br. 1467

Rekonstrukcija mikroskopskog objekta metodom sažimajućeg očitanja

Ana Škaro

Zagreb, lipanj 2017.

*Umjesto ove stranice umetnite izvornik Vašeg rada.
Da bi ste uklonili ovu stranicu obrišite naredbu \izvornik.*

Hvala.

SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Optički sustav mikroskopa	2
2.1. Fresnelova optika	2
2.2. Model tanke leće	4
2.3. Rekonstrukcija objekta	5
3. Sažimajuće očitavanje	8
3.1. Uzorkovanje signala	8
3.2. Mjerne matrice	8
3.3. Rekonstrukcija signala	8
4. Algoritam	9
4.1. Pregled sustava	9
5. Zaključak	10
Literatura	11

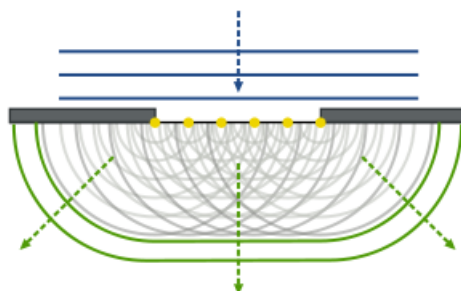
1. Uvod

U laserskoj mikroskopiji promatrani objekt se osvjetljava koherentnim laserskim svjetlom određene valne duljine, a optički sustav mikroskopa zasnovan je na Fresnelovoj optici. To znači da se umjesto klasičnih leća koriste rupičaste odnosno rešetkaste strukture. Ukoliko je promatrani objekt proziran, s različitom brzinom prostiranja svjetlosti od vakuumu, moguće je rekonstruirati sliku objekta koristeći informaciju o kutu za koji objekt zakreće svjetlost lasera. Navedeni postupak opisan je u radu [1]. Postavljena je pretpostavka da je pomoću navedenog postupka i sažimajućeg očitavanja, moguće razviti simulacijski model koji bi bio u stanju rekonstruirati sliku visoke rezolucije.

2. Optički sustav mikroskopa

2.1. Fresnelova optika

Modeliranje optičkog sustava mikroskopa započinje modeliranjem kretanja svjetlosti kroz prazni prostor. Huygens - Fresnelovo načelo nazvano prema nizozemskom fizičaru Huygensu i francuskom fizičaru Fresnelu govori kako se svaka točka valne fronte može smatrati izvorom novog kuglastog vala (Slika 2.1). Prethodno načelo objašnjava nastajanje interferencijskih pruga prilikom difrakcije (ogiba) svjetlosti na uskoj pukotini. !!prugeslika



Slika 2.1: Slika prikazuje Huygens-Fresnelovo načelo.

Promatraju se dvije ravnine (ξ, η) označena kao P_0 i (x, y) označena kao P_1 . Definirano je da svjetlost prolazi sustavom u pozitivnom smjeru z -osi, koja probada obje ravnine u njihovom ishodištu. Cilj je izračunati valno polje na ravnini P_1 .

Pretpostavimo li da je udaljenost izvorišne točke svjetlosti (na ravnini P_0) do točke upada svjetlosti na senzor (P_1 ravnina) mnogo veća od valne duljine svjetlosti $r_{01} \gg \lambda$, Huygens-Fresnelovo načelo može se prikazati jednadžbom

$$U(P_0) = \frac{1}{j\lambda} \iint U(P_1) \frac{\exp(jkr_{01})}{r_{01}} \cos(\theta) ds, \quad (2.1)$$

gdje je θ kut između normale \vec{n} na ravninu P_0 i vektora \vec{r}_{01} koji prati zraku svjetlosti između ravnine P_0 i P_1 . Član $\cos(\theta)$ je dan izrazom

$$\cos(\theta) = \frac{z}{r_{01}} \quad (2.2)$$

i jednačba 2.1 se može napisati kao

$$U(x, y) = \frac{z}{j\lambda} \iint U(\xi, \eta) \frac{\exp(jkr_{01})}{r_{01}^2} d\xi d\eta, \quad (2.3)$$

gdje je udaljenost r_{01} preko Pitagorinog poučka moguće odrediti s

$$r_{01} = \sqrt{z^2 + (x - \xi)^2 + (y - \eta)^2}. \quad (2.4)$$

Prilikom modeliranja ponašanja koherentne svjetlosti unutar mikroskopa moguće je iskoristiti nekoliko daljnjih aproksimacija i pojednostavljenja.

Dijeljenjem izraza 2.4 sa z dobije se

$$r_{01} = z \sqrt{1 + \left(\frac{x - \xi}{z}\right)^2 + \left(\frac{y - \eta}{z}\right)^2}. \quad (2.5)$$

Udaljenost r_{01} se može pojednostavniti aproksimacijom pomoću razvoja drugog korijena u red. Ako je broj b manji od 1, razvoj drugog korijena dan je izrazom

$$\sqrt{1 + b} = 1 + \frac{1}{2}b - \frac{1}{8}b^2 + \dots \quad (2.6)$$

Broj članova koji je potrebno uzeti da bi razvojem dobili zadovoljavajuću preciznost ovisi o veličini b . U našem slučaju dovoljno je uzeti samo prva dva člana razvoja u red:

$$r_{01} \approx z \left[1 + \frac{1}{2} \left(\frac{x - \xi}{z}\right)^2 + \frac{1}{2} \left(\frac{y - \eta}{z}\right)^2 \right]. \quad (2.7)$$

U izrazu 2.3 se član r_{01} pojavljuje na dva mjesta. Za kvadrirani član u nazivniku možemo zanemariti čak i drugi član razvoja u red i ostaviti samo prvi z . Međutim, kod drugog pojavljivanja r_{01} (u eksponentu), njegova vrijednost se množi s valnim brojem k^1 , a kako čak i male promjene u fazi mogu promijeniti značajno vrijednost eksponencijale, uzimaju se oba člana razvoja u red. Kao rezultat se dobiva izraz

$$U(x, y) = \frac{e^{jkz}}{j\lambda z} \iint_{-\infty}^m U(\xi, \eta) \exp \left\{ j \frac{k}{2z} [(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2] \right\} d\xi d\eta. \quad (2.8)$$

U izrazu 2.8 su dodane i granice integriranja, odnosno definiran je konačan otvor pukotine. Kada bi se dobiveni izraz promatrao u diskretnoj domeni, kao na računalu,

¹ $k = \frac{2\pi}{\lambda}$

sa sumama umjesto integrala, primjećuje se da je on računalno vrlo složen. Potrebno je za svaku točku na poziciji (x, y) proći svaku točku na pozicijama određenim s (ξ, η) . Razmišljajući o tome, primjećuje se da izraz 2.8 ustvari predstavlja konvoluciju, koju je moguće izraziti u obliku

$$U(x, y) = \iint_{-\infty}^{\infty} U(\xi, \eta) h(x - \xi, y - \eta) d\xi d\eta, \quad (2.9)$$

gdje je konvolucijska jezgra

$$h(x, y) = \frac{e^{jkz}}{j\lambda z} \exp \left[\frac{jk}{2z} (x^2 + y^2) \right]. \quad (2.10)$$

Na ovaj način se izračun valnog polja svjetlosti u ravnini P_1 svodi na množenje s konvolucijskim kernelom u frekvencijskoj domeni, što je korištenjem modernih alata (poput MATLAB-a) s ugrađenim funkcijama koje brzo provode Fourierovu transformaciju, moguće izvesti znatno brže nego običnim sumiranjem (integriranjem).

2.2. Model tanke leće

Leća je izrađena od materijala čiji je indeks refrakcije tj. indeks loma svjetlosti veći od indeksa loma u zraku i obično iznosi 1.5. To znači da je u tom sredstvu brzina širenja svjetlosti manja nego u zraku. Leću smatramo **tankom** ukoliko zraka koja u leću uđe na koordinatama (x, y) iz nje izađe na približno istim koordinatama na drugoj strani. Može se reći da tanka leća jednostavno uzrokuje kašnjenje valne fronte za iznos proporcionalan debljini leće u odgovarajućoj točki.

Jedna tanka leća prikazana je na slici ???. S D_{max} je označena maksimalna debljina leće, a $D(x, y)$ je funkcija ovisnosti debljine leće o (x, y) koordinatama. Ukupni pomak u fazi svjetlosnog vala može se zapisati kao

$$\phi(x, y) = knD(x, y) + k [D_{max} - D(x, y)], \quad (2.11)$$

gdje je n indeks loma svjetlosti u materijalu od kojeg je leća izrađena, a k je valni broj. Tada se prvi član jednadžbe 2.11 $knD(x, y)$ može smatrati faznim pomakom uzrokovanim lećom, a drugi član $k [D_{max} - D(x, y)]$ je fazni pomak uzrokovan prolaskom svjetlosti kroz preostali slobodni prostor.

Kompleksno polje $U'_l(x, y)$ na ravnini neposredno iza leće može se izraziti pomoću

$$U'_l(x, y) = t_l(x, y) U_l(x, y). \quad (2.12)$$

Član $t_l(x, y)$ izraza 2.12 je fazna transformacija oblika

$$t_l(x, y) = \exp[jkD_{max}] \exp[jk(n-1)D(x, y)]. \quad (2.13)$$

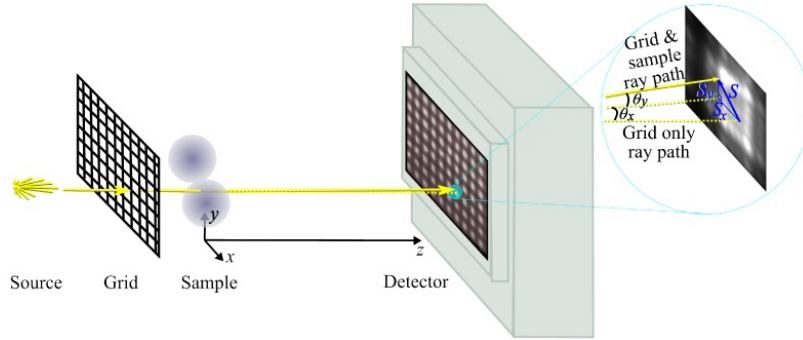
Prilikom modeliranja objekta postavljenog između optičke rešetke i senzora (mikroskopski uzorak) potrebno je prema izrazu 2.13 izračunati funkciju debljine objekta $D(x, y)$. Na ovaj način moguće je modelirati objekt proizvoljnog oblika.

U nastavku ovog poglavlja su izvedeni izrazi za model plano-konveksne leće i prizme.

!!dokaz, pronadi u papirima

2.3. Rekonstrukcija objekta

Prema [1], objekt promatran pod laserskim mikroskopom moguće je rekonstruirati iz faznih gradijenata koristeći samo jedno uzorkovanje (ekspoziciju). Autori postavljaju uzorak (objekt) između senzora i optičke rešetke (slika 2.2).

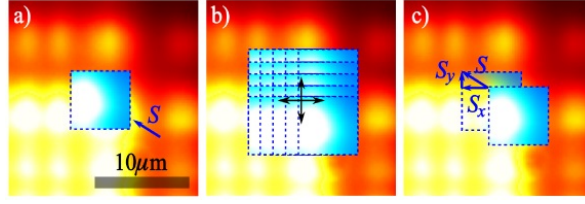


Slika 2.2: Sustav korišten u eksperimentu iz rada [1]. X-zrake upadaju na optičku rešetku, a objekt postavljen između rešetke i senzora (detektora) ih zakreće za određeni kut, koji se određuje mjerenjima. Slika je preuzeta iz rada [1].

Uzorak nastao prolaskom snopa laserske svjetlosti preko optičke rešetke koristi se kao referenca za mjerenje pomaka odnosno gradijenta faze uzrokovanog prolaskom svjetlosti kroz uzorak. Pomak u fazi φ za svaku točku se pronalazi pomoću pomaka S uzorka u odnosu na referentni uzorak, razdvojen na horizontalni pomak S_x i vertikalni pomak S_y . Korištenjem jednostavne trigonometrije kutevi θ_x i θ_y mogu se izraziti kao

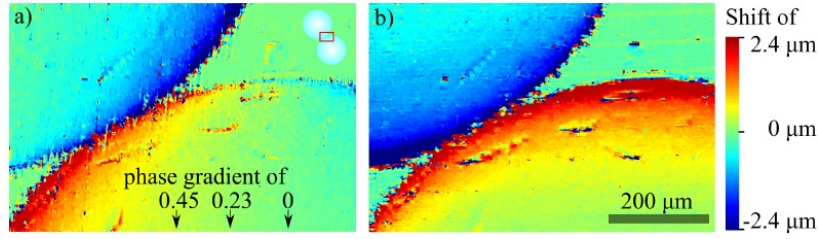
$$\tan \theta_x = \frac{S_x}{z} \text{ i } \tan \theta_y = \frac{S_y}{z}. \quad (2.14)$$

Usporedbom slika sa uzorkom i bez, određuje se magnituda pomaka S za svaki piksel unutar slike. Na slici 2.3 je prikazano kako se vrši mjerenje iz rada [1].



Slika 2.3: Crvenom bojom je prikazan referentni prozor, dok je ispitni prozor plave boje. Pomaci S_x i S_y se računaju pomoću kros-korelacije. Slika je preuzeta iz rada [1].

Mjerenje pomaka S_x i S_y za svaki piksel unutar slike optička rešetka–uzorak rezultira s dvije slike diferencijala faze, kao što je vidljivo na slici 2.4.



Slika 2.4: a) S_x i b) S_y diferencijali faze. Slika je preuzeta iz rada [1].

Autori dalje tvrde da za elektromagnetski val valnog broja k , fazna dubina uzorka $\varphi(x, y)$ skreće upadne zrake za kuteve θ_x i θ_y prema izrazima

$$\theta_x = \frac{1}{k} \frac{\partial \phi}{\partial x} \text{ i } \theta_y = \frac{1}{k} \frac{\partial \phi}{\partial y}. \quad (2.15)$$

Kombinirajući izraze 2.14 i 2.15 te pretpostavljajući homogenost materijala od kojeg je sastavljen objekt, vrijedi da je $\varphi = -k\delta T$, gdje je δ indeks loma svjetlosti, a T projicirana debljina objekta. Gradijenti debljine mogu se tada pisati kao

$$\frac{\partial T}{\partial x} = \frac{1}{\delta} \tan^{-1} \left(\frac{S_x}{z} \right) \text{ and } \frac{\partial T}{\partial y} = \frac{1}{\delta} \tan^{-1} \left(\frac{S_y}{z} \right) \quad (2.16)$$

Jednadžbom 2.16 se dvije slike pomaka (2.4) pretvaraju u slike gradijenta debljine objekta. Integriranjem dobivenih slika gradijenata debljine se dobiva konačna debljina $T(x, y)$. Autori [1] pritom koriste Fourierovu transformaciju \mathcal{F} i derivacijski teorem,

$$\mathcal{F} \left(\frac{\partial T}{\partial x} \right) = ik_x \mathcal{F}(T). \quad (2.17)$$

Fourierova transformacija definirana je izrazom

$$\mathcal{F}(T(x, y)) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} T(x, y) e^{-i(k_x x + k_y y)} dx dy. \quad (2.18)$$

Parametri (k_x, k_y) su Fourierove koordinate odgovarajuće (x, y) . Projecirana debljina uzorka (objekta) se tada može izračunati korištenjem dviju slika gradijenata debljine $(\frac{\partial T}{\partial x}$ i $\frac{\partial T}{\partial y})$.

Autori rada [1] dolaze do konačnog izraza

$$T = \mathcal{F}^{-1} \left[\frac{\mathcal{F} \left(\frac{\partial T}{\partial x} + i \frac{\partial T}{\partial y} \right)}{ik_x - k_y} \right]. \quad (2.19)$$

Do dokaza indentiteta se dolazi supstitucijom Fourierovog derivacijskog teorema 2.17 u jednadžbu 2.19.

3. Sažimajuće očitavanje

3.1. Uzorkovanje signala

3.2. Mjerne matrice

3.3. Rekonstrukcija signala

4. Algoritam

4.1. Pregled sustava

Zamišljeni optički sustav simuliran u ovom radu sastoji se od He-Ne¹ lasera valne duljine $\lambda = 632.8$ nm, jedne optičke rešetke, m mjernih rešetki i senzora. Opisani sustav prikazan je na slici ??.

Laserska zraka upada pod pravim kutem na optičku rešetku, stvarajući difrakcijske pruge na senzoru. Između rešetke i senzora postavlja se prozirni objekt, npr. tanka leća ili prizma, indeksa loma $n_{\text{objekt}} > n_{\text{zrak}}$. Razlika u sredstvu kroz koje svjetlost prolazi za posljedicu ima promjenu faze svjetlosti lasera. Korištenjem informacije o pomaku u fazi moguće je rekonstruirati debljinu odnosno oblik promatranog objekta. Rezolucija tj. broj piksela ovako dobivene slike je jednaka broju pukotina u optičkoj rešetki. Kako je osnovna ideja ovog rada pokazati da je sažimajućim očitavanjem iz prethodno opisanog postupka moguće dobiti sliku visoke rezolucije, između optičke rešetke i objekta se postavljaju mjerne rešetke. Mjerne rešetke su dizajnirane na poseban način, opisan u poglavlju 3.2, kako bi rekonstrukcija postupkom sažimajućeg očitavanja bila moguća.

¹Helij-neon

5. Zaključak

Zaključak.

LITERATURA

- [1] Kaye S. Morgan, David M. Paganin, and Karen K. W. Siu. Quantitative single-exposure x-ray phase contrast imaging using a single attenuation grid. *Opt. Express*, 19(20):19781–19789, Sep 2011. doi: 10.1364/OE.19.019781. URL <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-19-20-19781>.

Rekonstrukcija mikroskopskog objekta metodom sažimajućeg očitavanja

Sažetak

Sažetak na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Ključne riječi, odvojene zarezima.

Title

Abstract

Abstract.

Keywords: Keywords.