

Inhoudsopgave

1	Situering en inleiding	7
2	Straling in de ruimte: inleiding	10
2.1	De invloed van magnetische velden	10
2.1.1	Het magnetisch veld van de Aarde	12
2.1.2	Het magnetisch veld van de Zon	12
2.2	Soorten straling	15
2.2.1	Gevangen straling	15
2.2.2	Straling afkomstig van de Zon	16
2.2.3	Galactische kosmische straling (GCR's)	18
2.2.4	Bijdrage van de verschillende soorten straling aan de dosis die een astronaut in de ruimte krijgt	19
3	Gebruikte middelen	20
3.1	Solid State Nuclear Track Detectors (SSNTD's)	20
3.1.1	Inleiding	20
3.1.2	Ontstaan en beschrijving van deeltjessporen	21
3.1.3	Identificatie van deeltjes met SSNTD's	25
3.2	Confocale microscopie	29
3.2.1	Optische beeldvorming: algemene principes	30
3.2.2	Principe van confocale microscopie	36

3.2.3	Confocale versus conventionele microscopen in termen van de PSF	40
3.2.4	Beelddegradatie	41
3.2.5	Beeldcorrectie door deconvolutie	43
4	Analysetechniek: algoritme voor ellipsfitting	60
4.1	Inleiding	60
4.2	Algemene vergelijking van de ellips	61
4.3	Ellipsfitting door kleinste-kwadratenmethode	61
4.4	Oplossen van het stelsel	64
4.5	Reductie van de kwadratische vergelijking van de ellips	67
4.5.1	Bepalen van het middelpunt van de ellips	67
4.5.2	Bepalen van de assen van de ellips	68
4.5.3	Oriëntatie van de ellips	69
4.6	Het programma zelf	70
4.6.1	Numerieke tests	71
4.7	Toekomstig werk	72
4.8	Uitmeten van een aantal detectoren	75
5	Appendices	79
5.1	Fouriertransformaties	79
5.2	De PSF	80
5.3	Afleiding van de halve lange en korte as van de ellips aan het oppervlak van een SSNTD na etsen	81
5.3.1	De halve lange as van de ellips	81
5.3.2	De halve korte as van de ellips	85
5.4	Discretisatie van convoluties en normen	89
5.5	Sourcecode van het programma	91

Lijst van figuren

1-1	De Biobox incubator	8
2-1	Deeltjesspectrum in de buurt van de Aarde	11
2-2	Magnetisch veld van de Aarde	13
2-3	Magnetische veldlijnen van de Zon	14
2-4	De heliosfeer en de heliopauze	14
2-5	Elektronen spiraleren rond veldlijnen	15
2-6	Van Allen stralings gordels	16
3-1	Molecule van het monomeer van CR-39	21
3-2	Stralingsschade in een polymeer	23
3-3	Etsgeometrie bij een loodrecht invallend deeltje	24
3-4	Evolutie van een schadespoor bij steeds langere etstijden	25
3-5	Methode voor deeltjesidentificatie	26
3-6	Principe van Huygens-Fresnel	30
3-7	De rayleighlimiet	31
3-8	De toelatingskegel van een objectief	32
3-9	Wet van Snellius	32
3-10	Diffractionsmaxima van het rooster, en hun bijdrage tot het uiteindelijke beeld	34
3-11	Verstrooiingseigenschappen van kleine transparante deeltjes	35
3-12	Convolutie van beeld met PSF	37
3-13	Principe van een confocale microscoop	38

3-14	opbouw van driedimensionele beelden	39
3-15	PSF en OTF van een wide-field microscoop	40
3-16	PSF en OTF van een confocale microscoop	41
3-17	Bijdrage van steeds meer stabiele en onstabiele componenten tot het resultaat.	47
3-18	“Steepest descent”-methode om in een ellipsvormige vallei af te dalen . .	50
3-19	Foute restauratie van een beeld	56
3-20	Vergelijking van de theoretische PSF met de gemeten PSF op twee verschillende data	57
3-21	Vergelijking van enkele restauratie-algoritmes	58
4-1	Voorbeeld van een coupe door een spoor	62
4-2	Plaatsen van de arctangens in het juiste kwadrant	70
4-3	Test van het ellipsfitalgoritme voor verschillende ruisniveaus	72
4-4	fitten van een kegel aan de verschillende coupes	73
4-5	definitie van de afmetingen van een spoor	75
4-6	correctie voor refractie aan CR-39	76
4-7	Driedimensionale weergaven van de Li-sporen	77
4-8	driedimensionale weergave van de alfasporen (overetst)	78
5-1	betekenis van de fouriertransformatie	80
5-2	Uitsmeren van een punt naarmate het integratie-interval verkleint	82
5-3	halve lange as van de ellips	83
5-4	afleidingen van de halve korte as van de ellips	85
5-5	lijnstukken vanuit b tot hun raakpunt met de cirkel hebben een gelijke lengte	86
5-6	stelling Van Quételet-Dandelin	88

Dankwoord

Hierbij wil ik een woordje van dank richten tot alle mensen die mij rechtstreeks of onrechtstreeks geholpen hebben bij deze thesis.

Allereerst wil ik professor Patric Van Oostveldt en Geert Meesen van harte bedanken voor hun voortdurende hulp bij deze thesis door continue opvolging van de vorderingen, voorzien van artikels en documentatie, nalezen en suggesties. Professor Denis De Frenne wil ik bedanken voor het feit dat hij mijn promotor wilde zijn, en voor de inspirerende lessen waarop een deel van mijn thesis gebaseerd is. Professor Hans De Meyer wil ik bedanken voor zijn hulp bij het probleem van de ellipsfitting.

Verder wil ik Geert Vernaeve bedanken voor zijn hulp en uitleg bij alles wat met computers te maken had en ook zijn bijdrage tot mijn inzicht in beeldverwerking. Ook zijn broer Hans wil ik bedanken voor zijn hulp bij enkele wiskundige afleidingen.

Ook heb ik veel hulp gehad van dr Hans Van der Voort met zijn uitleg over de deconvolutiesoftware en de theorie die erachter zit.

Tenslotte wil ik Philippe Baert, Sofie Bekaert, Nathalie Van Bruaene en Sandra Van-gestel bedanken voor hun hulp en morele steun bij mijn thesiswerk daar, zoals hulp bij het bedienen van de confocale microscoop, maken van preparaten, . . .

“De auteur geeft toelating deze scriptie voor consultatie beschikbaar te stellen en delen van het werk te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de bepaling van het auteursrecht in het bijzonder met betrekking tot de verplichting de bron uitdrukkelijk te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit dit werk.”

Hoofdstuk 1

Situering en inleiding

De eerste mens die de beschermde wieg van de mensheid verliet, was Joeri Gagarin in 1961. Dit was het startschot voor een ware ruimtewedloop tussen Amerikanen en Russen om de ruimte te verkennen en te ontginnen. De eerste vluchten waren kort van duur, en de voornaamste problemen waren toen van technische aard omdat de ruimtevaart toen nog in haar kinderschoenen stond. Het was veel belangrijker om mensen heelhuids te lanceren en veilig terug te brengen op de grond. Ook ging het in het begin om militairen, die de risico's er gewoon bijnamen.

Later echter leerde men de straling in de ruimte beter kennen en de gevaren ervan inschatten. De dosis die de astronauten opliepen werd zoveel mogelijk beperkt door de baan van de tuigen zo te kiezen dat de straling minimaal was. Maar bij toekomstige projecten in de ruimtevaart, zoals het International Space Station (waarvan de eerste modules al gelanceerd zijn) en bemande vluchten naar Mars, zullen mensen (ook burgers, niet enkel militairen) gedurende lange tijd aan straling blootgesteld worden. Daarom is het belangrijk de effecten ervan nauwkeurig te bepalen, en te onderzoeken hoe de mens zich het best kan beschermen in de vijandige stralingsomgeving in de ruimte. Verder moet men bij interplanetaire missies ook rekening houden met het feit dat men dan niet meer op de bescherming door de dampkring en het magnetisch veld van de Aarde kan rekenen.

De Universiteit Gent heeft een onderzoek ingediend bij de ESA (*“European Space Agency”*) om het effect van straling in de ruimte op levende cellen te bestuderen. Het gaat om een samenwerking tussen de Vakgroep *“Subatomaire en Stralingsfysica”* en de Vakgroep *“Biochemie en Moleculaire Cytologie”* van de faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, en wordt gefinancierd door de ESA en het DWTC (*“Dienst voor Wetenschap, Technologie en Cultuur”*).

Ons experiment begint met het kweken van een celcultuur, die aangebracht wordt op een stralingsgevoelig polymeer. Dit polymeer zal dan later dienen om de straling te meten waaraan de cellen blootgesteld geweest zijn tijdens hun verblijf in de ruimte. Cellen en polymeer samen worden ondergebracht in een CIS-container, speciaal ontwikkeld voor biologische experimenten in de ruimte. Deze container wordt samen met experimenten van andere universiteiten geplaatst in een daarvoor door de ESA ontworpen incubator, Biobox genaamd (zie figuur 1-1).



Figuur 1-1: De Biobox incubator

Deze unit is speciaal ontworpen om de omgeving (temperatuur, vochtigheid, samenstelling van de lucht, ...) van de experimenten die in de incubator aanwezig zijn stabiel te houden. Biobox wordt geplaatst in Spacehab, een module in de Space Shuttle die als een labo fungeert. De vlucht waarop ons project mee zal vliegen is STS-107, gepland in

januari 2001.

Het doel van deze thesis kadert in het fysische gedeelte, dat de stralingsmeting vastlegt. De probleemstelling omvat volgende luiken:

- Om de stralingsdetectoren optimaal te kunnen analyseren, moeten de opnamen worden bewerkt met een deconvolutiepakket om een betere resolutie te verkrijgen. Hier wordt zo goed mogelijk gefilterd voor gebreken veroorzaakt door ruis en geometrie van de optica. Er wordt ook ingegaan op de theoretische achtergrond, waarna enkele praktische resultaten worden besproken
- Na bewerking van de kernspooropnames moeten de interessante objecten uit het opgenomen en bewerkte beeld gesegmenteerd (=afgezonderd van de rest van het beeld) worden om op de interessante objecten bewerkingen uit te kunnen voeren. Deze stap zal verder moeten uitgewerkt worden in de toekomst, maar kan voorlopig manueel door de operator worden uitgevoerd.
- Tenslotte moet er door een verband tussen geometrie en eigenschappen (lading en kinetische energie) van de deeltjes de geometrische parameters van de sporen van de verschillende deeltjes bepaald worden. In dit kader moet er een ellipsfitting gebeuren aan de verschillende secties in de opnamen.

Hoofdstuk 2

Straling in de ruimte: inleiding

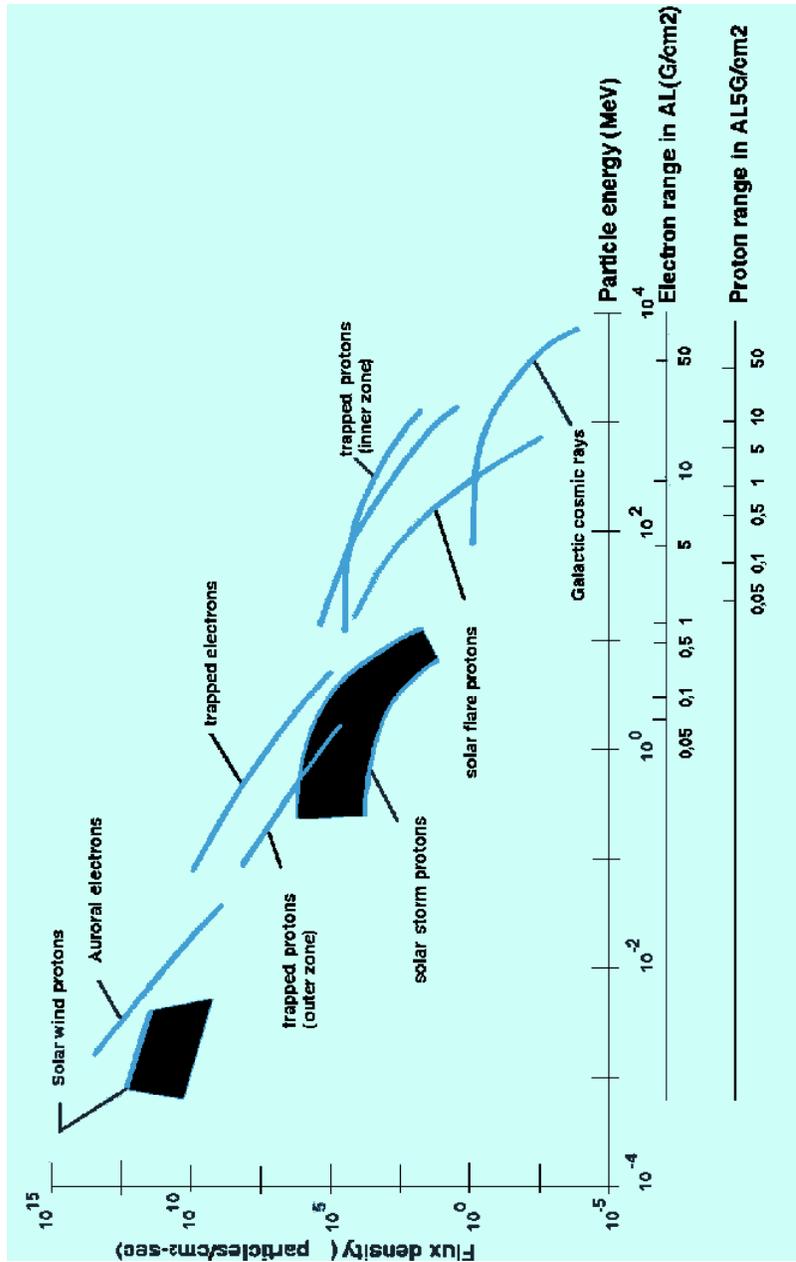
Dit hoofdstuk is gebaseerd op [1], [10] en [14].

Om te beginnen bespreken we eerst kort welke soorten straling er in de ruimte (de omgeving van ons experiment) te vinden zijn. Hier moet wel opgemerkt worden dat met straling niet alleen elektromagnetische straling bedoeld wordt, maar ook deeltjes. Denken we bijvoorbeeld aan α -straling, die in feite uit heliumatomen bestaat, en β -straling, die in feite uit elektronen bestaat. Zo vinden we in de stralingsomgeving in de ruimte onder andere protonen, neutronen, elektronen, positronen en alle atomen uit het periodiek systeem (vooral ijzer speelt een belangrijke rol). We kunnen drie soorten straling onderscheiden, naargelang de oorsprong:

- gevangen straling (de zogenaamde Van Allen gordels)
- straling van de Zon afkomstig
- galactische kosmische straling (deeltjes van buiten het zonnestelsel afkomstig)

2.1 De invloed van magnetische velden

Aangezien bepaalde soorten straling (zoals protonen en elektronen) uit geladen deeltjes bestaan, moeten we rekening houden met magnetische velden in de ruimte, omdat een



Figuur 2-1: Deeltjesspectrum in de buurt van de Aarde

lading in een magnetisch veld onderhevig is aan de Lorentzkracht

$$\vec{F} = q \left(\vec{E} + \vec{v} \times \vec{B} \right) \quad (2.1)$$

waarin \vec{F} staat voor de kracht die een geladen deeltje ondervindt, q voor de lading van dit deeltje, \vec{E} voor het elektrisch veld dat aanwezig is op de plaats van het deeltje, \vec{v} voor de snelheid van dit deeltje en tenslotte \vec{B} voor het magnetisch veld op de plaats waar het deeltje zich bevindt. Het waargenomen deeltjesspectrum wordt gemoduleerd door de volgende magnetische velden:

- magnetisch veld van de Aarde
- magnetisch veld van de Zon
- magnetische velden in de Melkweg buiten het zonnestelsel

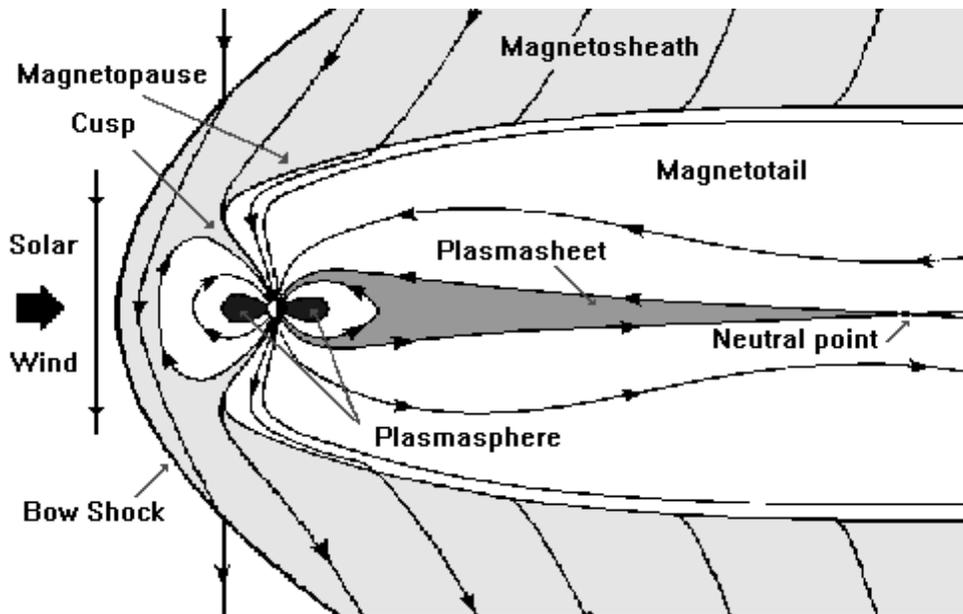
2.1.1 Het magnetisch veld van de Aarde

Vroeger dacht men dat het magnetisch veld van de Aarde een gewone dipool was, maar sinds de ruimtevaart is opgekomen is dit beeld drastisch veranderd. Omdat de Zon een stroom geladen deeltjes uitzendt (de zonnwind: zie verder), wordt het magnetisch veld van de Aarde sterk vervormd tot een komeetvorm. (zie figuur 2-2)

In de richting van de Zon strekt dit veld zich slechts uit tot 10 keer de straal van de Aarde, maar in de tegengestelde richting reikt het tot voorbij de baan van de Maan. In deze magnetosfeer kunnen een hele reeks deeltjes en complexe velden gevonden worden, waarvan de Van Allen gordels van gevangen straling de belangrijkste zijn (zie verder).

2.1.2 Het magnetisch veld van de Zon

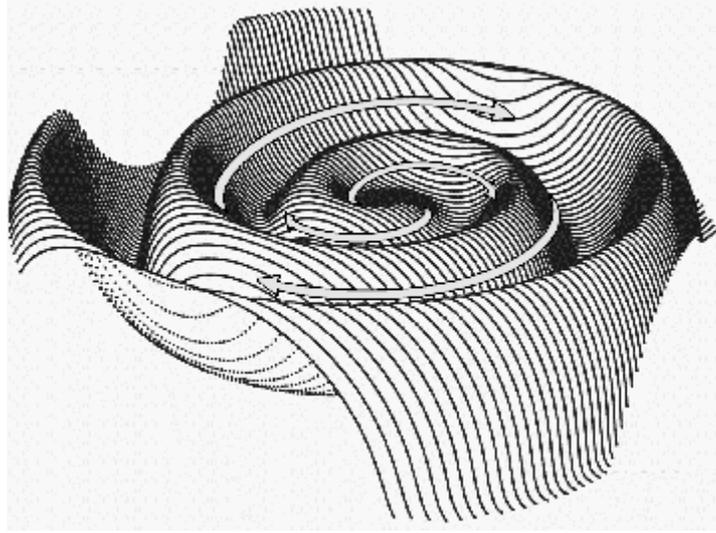
De Zon stuurt radiaal een stroom deeltjes uit in alle richtingen tegen supersonische snelheden, de zogenaamde zonnwind. Deze stromen worden spiraalvormig opgewonden door de rotatie van de Zon. Aangezien bewegende ladingen en magnetische velden met elkaar



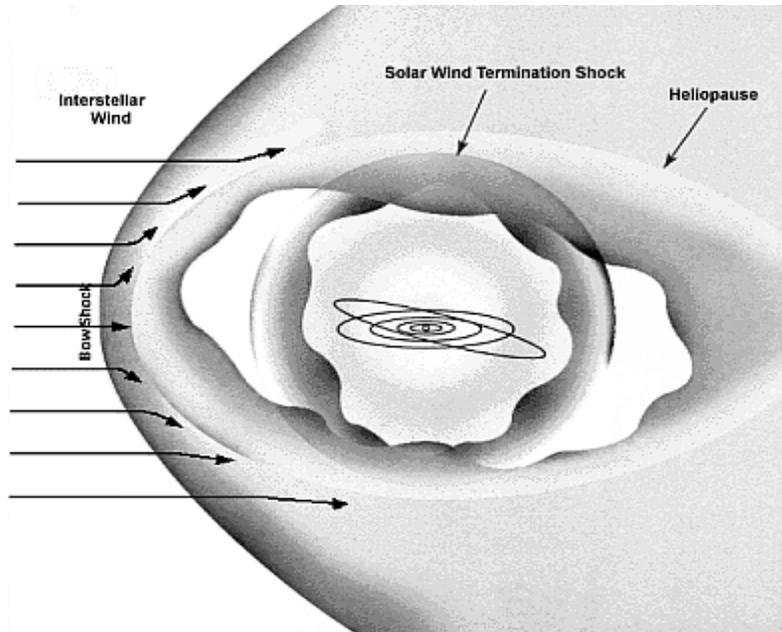
Figuur 2-2: Magnetisch veld van de Aarde

verbonden zijn door de wetten van Maxwell, worden de magnetische veldlijnen van de Zon hierdoor meegeslept (zie figuur 2-3, het zogenaamde *ballerinajurkje van Alfvén*).

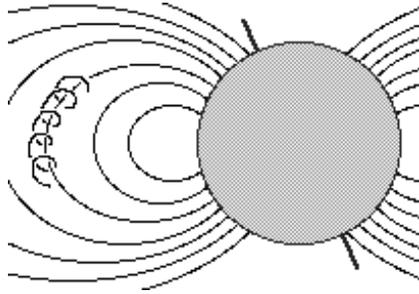
De stralingsdruk door de zonnwind komt op een gegeven plaats in evenwicht met de druk van het interstellair medium, waar haar snelheid van supersonisch overgaat naar subsonisch (schokgolf-overgang). Deze schokgolf begrenst de heliosfeer. De heliosfeer omvat dus het hele ruimtelijke gebied waar het interplanetaire magnetische veld en de zonnwind zich doen gelden. De grens met de interstellaire ruimte noemt men heliopauze. Men verwacht dat deze structuur asymmetrisch is door de beweging van het zonnestelsel ten opzichte van het interstellair medium, waardoor ze een uitgerokken gedaante krijgt als die van een komeet (zie figuur 2-4).



Figuur~2-3: Magnetische veldlijnen van de Zon



Figuur~2-4: De heliosfeer en de heliopauze



Figuur 2-5: Elektronen spiraleren rond veldlijnen

2.2 Soorten straling

2.2.1 Gevangen straling

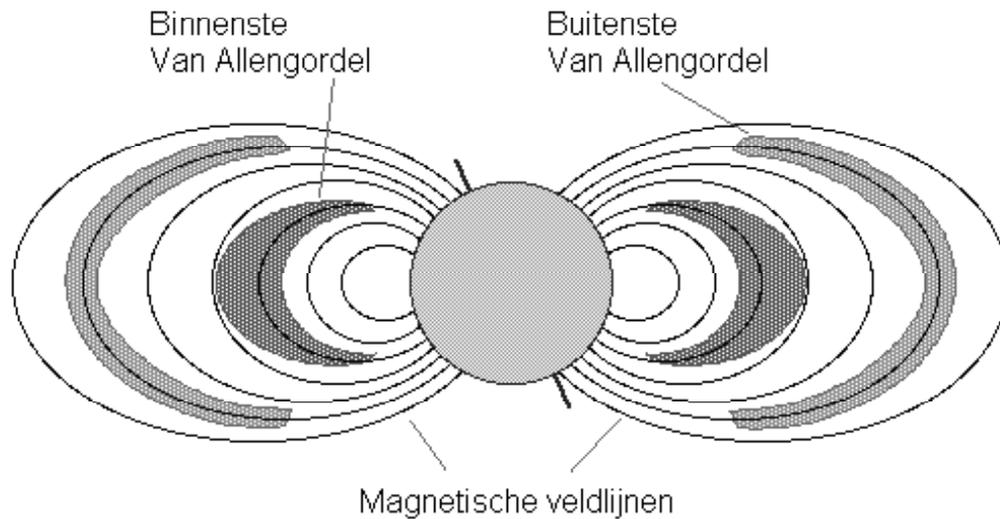
De gevangen straling bestaat uit elektronen en protonen (en een heel kleine fractie zwaardere deeltjes), die ingevangen zijn in het magnetisch veld van de Aarde. De gebieden waar deze straling is geconcentreerd is, noemt men de stralings gordels van Van Allen. Deze geladen deeltjes spiraleren rond de veldlijnen van het aardse magneetveld, waar ze langs quasi stabiele banen bewegen (figuur 2-5).

Aan de polen worden ze gereflecteerd, waardoor ze de hele tijd van pool naar pool reizen. Elektronen vertonen hierbij een oostwaardse drift en protonen ondervinden een westwaardse drift, wegens hun tegengestelde lading.

Ook reageren de ingevangen elektronen op veranderingen van het aardse magneetveld, ten gevolge van veranderingen in de zonne-activiteit. Dan is er ook nog een periodieke variatie in intensiteit met een factor 10 tussen dag en nacht. Verder kunnen sporadische magnetische stormen voor een verschil van nogmaals een factor 10 in intensiteit zorgen.

De stralings gordels kunnen opgedeeld worden in twee zones, en zijn voor te stellen als twee torussen rond de Aarde (doorsnede, niet op schaal: zie figuur 2-6).

De binnenste torus strekt zich uit tussen 1,2 en 2 keer de straal van de Aarde. In deze zone is de stralingsdosis door protonen met een energie van 100 MeV dominant. Deze straling is vooral belangrijk bij *Low Earth Orbits*, de zogenaamde LEO's. Deze positieve



Figuur 2-6: Van Allen stralingsgordels

ladingen worden geneutraliseerd door de aanwezigheid van elektronen van enkele MeV, maar de dosis van de elektronen in deze zone is voor bemande ruimtevaart verwaarloosbaar. De buitenste torus strekt zich uit van 2,8 tot 12 keer de straal van de Aarde. Hierin domineren vooral elektronen met een energie van 1 MeV. De intensiteit van de straling is hier 10 keer groter dan in de binnenste torus.

De meest intense regio van de stralingsgordels ligt tussen Afrika en Zuid-Amerika, waar de protonen dichtter bij de Aarde komen dan elders. Deze plaats heet de Zuidatlantische Anomalie, en wordt veroorzaakt doordat het centrum van de Aardse dipool verschoven is ten opzichte van het centrum van de Aarde. Ook is er een anomalie in de samenstelling van de bodem op deze plaats.

2.2.2 Straling afkomstig van de Zon

Bij de deeltjes die van de Zon afkomstig zijn, onderscheiden we de volgende categorieën:

- **Solar Flare particles (Solar particle events SPE's):**

De meest gewelddadige, eruptieve gebeurtenissen op de Zon zijn de flares. Deze komen voor in complexe groepen van zonnevlekken, waar een sterk magnetisch veld heerst. Binnen enkele minuten kan tijdens zo'n flare de temperatuur oplopen tot 5 miljoen Kelvin, en enorme hoeveelheden deeltjes worden de ruimte in uitgestoten, waaronder protonen, heliumkernen en HZE's (kernen met hoge energie en atoomgetal). De HZE's zijn gering in aantal, maar leveren een belangrijke bijdrage aan de dosis die men in de ruimte oploopt doordat zij enorm veel energie afzetten in een kort bereik. Men denkt dat flares het gevolg zijn van plotse veranderingen in het magnetisch veld van de Zon, dat op bepaalde plaatsen zeer sterk is. Een veranderend magnetisch veld geeft aanleiding tot een elektrisch veld, dat de uitgestoten geladen deeltjes versnelt. Echter niet alle flares geven aanleiding tot een hogere flux van geladen deeltjes in de buurt van de Aarde. De grootste evenementen kunnen echter een flux geven van 10^{10} deeltjes per cm^2 over een hele week. Zulke evenementen geven een enorme bijdrage tot de dosis die astronauten oplopen, en moeten ten allen prijze vermeden worden.

- **Zonnewind:**

Zoals reeds vermeld werd bij de magnetische velden, stuurt de Zon continu een stroom deeltjes uit tegen supersonische snelheden. Deze stroom draagt de magnetische veldlijnen van de Zon mee. De samenstelling van de zonnewind is sterk veranderlijk met de tijd. Bijvoorbeeld varieert de verhouding tussen helium en waterstof tussen 0.003 en 0.25, terwijl de verhouding van helium tot zuurstof kan variëren tussen 30 en 400.

- **Suprathermale ionen:**

Deze zijn te vinden in het energiebereik tussen 5 en 50 keV per nucleon, en hun sterkte kan veranderen over enkele uren tot een dag. Ze worden geassocieerd met activiteit van de Zon die in de grootte-orde ligt tussen die van de zonnewind (die

over het hele zonsoppervlak plaatsgrijpt) en de zonnevlekken (wat zeer lokale verschijnselen zijn).

2.2.3 Galactische kosmische straling (GCR's)

Galactische kosmische straling bestaat voor 98% uit protonen en zwaardere deeltjes, en voor 2% uit elektronen en positronen. In het energiegebied tussen 100 MeV en 10 GeV hebben we volgende samenstelling: 87% protonen, 12% He en 1% HZE's. Het hoogst energetisch deeltje dat men tot nu toe heeft waargenomen in de buurt van de Aarde, is een proton met een energie van $3,2 \cdot 10^{20}$ eV[7]. Het spectrum van deze straling wordt echter sterk gemoduleerd door het interplanetair magnetisch veld. Deze modulatie van de kosmische straling vertoont een cyclisch patroon dat samenhangt met de 11-jarige zonnecyclus. Tijdens het minimum van de zonnecyclus is de zonnewind niet zo sterk, waardoor straling van buiten het zonnestelsel minder gehinderd wordt. Dat resulteert in een hogere intensiteit van de GCR's. Omgekeerd is tijdens een zonnemaximum de intensiteit van de kosmische straling laag.

GCR's zijn afkomstig van buiten het zonnestelsel, maar de precieze oorsprong is tot op heden nog niet gekend. Een aanwijzing in verband met hun afkomst krijgen we door het volgende gegeven. Er is namelijk een sterk verschil in samenstelling tussen deeltjes met energie beneden $10^{18.5}$ eV en deeltjes boven deze drempel. Men treft namelijk boven deze waarde veel lichte deeltjes, en bijna geen zwaardere deeltjes meer aan, wat wijst dat ze een andere oorsprong hebben. De lichte deeltjes kunnen nog afkomstig zijn van binnen onze eigen Melkweg, maar zwaardere deeltjes zouden een sterke voorkeursrichting moeten vertonen in de richting van hun oorsprong. Zulke voorkeursrichting is echter nooit waargenomen! Omdat verder hun samenstelling boven $10^{18.5}$ eV verandert, kan men veronderstellen dat deze deeltjes van buiten onze eigen Melkweg moeten komen. Want indien ze van galactische oorsprong zouden zijn, konden ze door de magnetische velden binnen de Melkweg nog niet voldoende verstrooid worden (door hun hoge energie en massa) om een uniforme verdeling te geven. Men kan echter de invloed van magnetische

velden in de galactische halo nog niet uitsluiten.

2.2.4 Bijdrage van de verschillende soorten straling aan de dosis die een astronaut in de ruimte krijgt

- **Lage baan om de aarde (inclinatie 28° , hoogte 450 km):** Het grootste gedeelte van de dosis komt van de gevangen protonen uit de Zuidatlantische Anomalie. GCR's leveren hier een verwaarloosbare bijdrage aan de dosis. Ook deeltjes voortkomend uit SPE's worden in zulke banen voldoende afgeschermd door het magnetisch veld van de Aarde.
- **Banen met een medium inclinatie (inclinatie 57° , hoogte 450 km):** Hierbij is de dosis te wijten aan gevangen straling uit de Zuidatlantische Anomalie kleiner dan in het vorige geval, maar de bijdrage van de GCR's is dan weer groter. Verder zouden SPE's reeds een bijdrage aan de dosis geven.
- **Banen met een grote inclinatie (polaire banen: inclinatie 90° , hoogte 450 km):** Bij zulke banen zijn GCR's de voornaamste oorzaak van de opgelopen dosis, terwijl SPE's een groot gevaar zijn bij zulke missies. Aan de polen is de afscherming door het magnetisch veld van de Aarde uiterst gering.
- **Geostationaire banen (hoogte 36000 km):** Bij zulke banen komt de dosis hoofdzakelijk van elektronen uit de buitenste Van Allengordel, terwijl GCR's in mindere mate tot de dosis bijdragen. SPE's kunnen op deze missies echter een dosis geven die groter is dan de dosis die een mens in zijn hele leven mag krijgen.
- **Reizen naar de Maan en naar Mars:** Men krijgt op zulke reizen een dosis door eerst de stralings gordels te doortrekken, waarna vooral GCR's bijdragen tot de dosis. Het grote gevaar zijn echter de SPE's, aangezien buiten de stralings gordels van de Aarde er geen bescherming meer is tegen deze straling.

Hoofdstuk 3

Gebruikte middelen

3.1 Solid State Nuclear Track Detectors (SSNTD's)

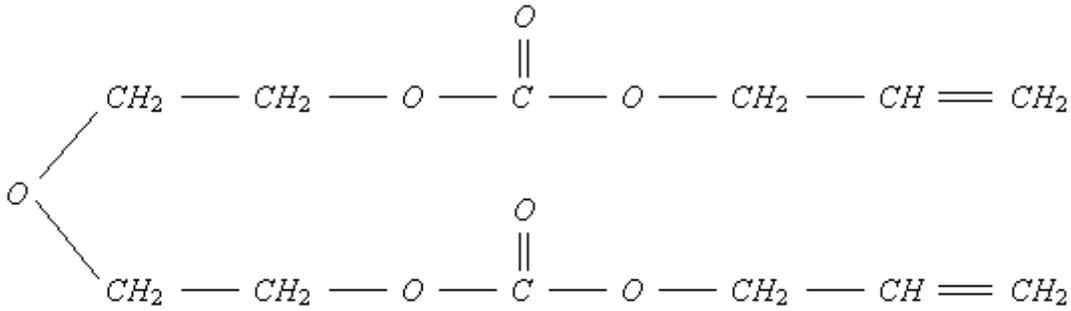
3.1.1 Inleiding

Om de kosmische straling te analyseren waaraan de cellen in de ruimte blootgesteld worden, wordt gebruik gemaakt van stralingsgevoelige polymeren. Het zijn in feite passieve detectoren die geen tijdsinformatie registreren, maar enkel dienen om de totale dosis te bepalen over de hele vlucht. Ook zijn deze detectoren niet gevoelig voor deeltjes met een energie beneden een bepaalde drempelenergie. Enkel deeltjes met een sterke ionisatie (hoge LET: “*linear energy transfer*”, energie afgezet in een weefsel) zullen door dit soort detectors geregistreerd worden. Deze relatieve ongevoeligheid is juist een voordeel, omdat ze toelaat om zware deeltjes te onderscheiden, die in andere detectors gemaskeerd zouden worden door de overvloed aan lichtere deeltjes.

Deze zware deeltjes met hoge energie (HZE's) zijn in vergelijking met de lichte deeltjes vrij zeldzaam, maar ze leveren door hun hoge LET een niet te verwaarlozen bijdrage aan de geabsorbeerde dosis in een biologisch weefsel.

3.1.2 Ontstaan en beschrijving van deeltjessporen

We maken in ons experiment gebruik van PADC (poly diëthyleenglycol bis allylcarbonaat), een stralingsgevoelig polymeer. Dit polymeer is beter gekend onder zijn merknaam, nl. CR-39. In figuur 3-1 wordt het monomeer van de molecule weergegeven.



Figuur 3-1: Molecule van het monomeer van CR-39

Als een snel atoom met atoomnummer Z door een vaste stof beweegt, zal het snel geïoniseerd raken doordat zijn elektronen allemaal of voor een deel weggestript worden door interactie met de elektronen van de atomen in de vaste stof. Daardoor krijgt het invallende atoom een netto lading

$$Z_{eff} = Z \left[1 - \exp \left(\frac{-130 \cdot \beta}{Z^{2/3}} \right) \right] \quad (3.1)$$

waarbij $\beta = v/c$ met v de snelheid van het ion. Wanneer het ion in de detector beweegt, ondergaat het twee soorten botsingen, waarvan de relatieve frequentie sterk afhankelijk is van de snelheid van het ion. Bij hoge snelheden (waarbij $Z \approx Z_{eff}$) is de elektrische wisselwerking tussen het ion en de elektronen van de atomen in de vaste stof veruit de belangrijkste vorm van interactie. Hiervan is het effect

1. elektronen te exciteren naar hogere energieniveaus
2. elektronen los te slaan van hun atomen en deze uit te stoten

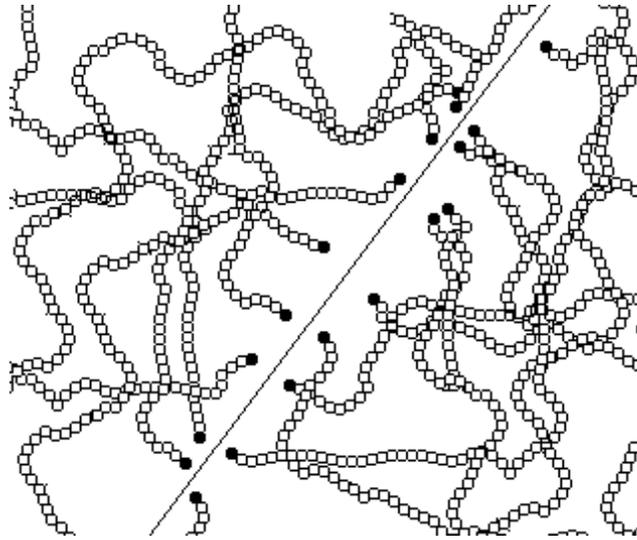
Het eerste proces kan bij polymeren aanleiding geven tot breuken in de ketens bij desexcitatie, terwijl het tweede proces aanleiding geeft tot ladingscentra. De geëjecteerde elektronen worden δ -stralen genoemd en kunnen op hun beurt weer aanleiding geven tot secundaire ionisatie en excitaties. De oorspronkelijke of primaire ionisatie vindt plaats vlak bij het oorspronkelijke pad van het deeltje, terwijl secundaire ionisatie en excitatie zich tot ver buiten het pad van het oorspronkelijke deeltje kunnen uitstrekken. Er bereikt echter maar een kleine fractie van deze δ -elektronen een aanzienlijke afstand van tot spoor.

Wanneer het ion vertraagt naarmate het dieper in de vaste stof doordringt, zal zijn snelheid van dezelfde grootteorde worden als die van de elektronen van de atomen in de vaste stof en zal het de minst gebonden elektronen uit de materie beginnen op te pikken en terug los te laten, zodat zijn effectieve lading Z_{eff} vermindert. De afname in snelheid overcompenseert het effect van vermindering in effectieve lading. Dit proces van oppikken en weer afgeven van elektronen is een statistisch verschijnsel en het betrokken deeltje zal volledig toevallig elektronen invangen en weer afgeven. Deze fluctuaties in effectieve lading leiden zo tot fluctuaties in de dracht van het ion in de vaste stof.

Bij nog lagere energieën zal een ion met hele atomen of ionen uit de vaste stof wisselwerken in plaats van met slechts enkele elektronen uit de elektronenmantel van een atoom. Beneden $\sim 50\text{keV}$ per nucleon is dit de voornaamste manier van energieverlies van het ion.

In polymeren spelen zowel de primaire ionisatie als de secundaire ionisatie door δ -stralen een niet te verwaarlozen rol. Deze kunnen leiden tot breuken in de lange ketens van moleculen en tot creatie van vrije radicalen. Deze breuken en radicalen gaan zich mechanisch stabiliseren, maar gaan zich gedragen als chemisch reactieve centra (figuur 3-2)

Als we de detectors na bestraling in een bad brengen met een middel dat het polymeer gelijkmatig en uniform oplost met snelheid V_B (bijv. met NaOH), dan is het zo dat langs de chemisch reactieve centra op de verbroken uiteinden van de ketens het materiaal sneller oplost (snelheid V_T), waardoor men een situatie heeft als in figuur 3-3



Figuur 3-2: Stralingsschade in een polymeer

waarbij B de dikte van het weggeëtste oppervlak is, L de geëtste lengte van het spoor en R de totale lengte van het shadespoor. Hierbij is

$$L = \int_0^t V_T \cdot dt = V_T \cdot t$$

$$B = \int_0^t V_B \cdot dt = V_B \cdot t$$

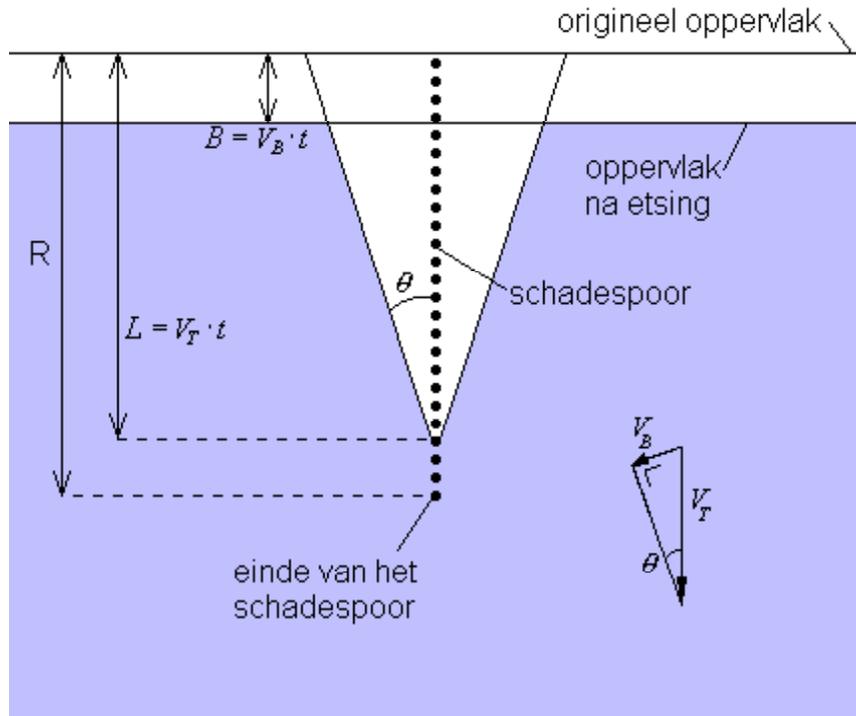
$$\frac{V_B}{V_T} = \sin \theta$$

waaruit volgt dat

$$L = V_T \cdot t = \frac{V_B}{\sin \theta} \cdot t = \frac{B}{\sin \theta} \quad (3.2)$$

In het geval van een kegelvormig spoor krijgen we zo aan het oppervlak van de detector (na etsen) een ellips met halve lange as a en halve korte as b die als volgt in verband staan met de fysische grootheden θ , B , L en δ

$$a = \frac{B \cdot \cos \theta}{\sin \theta + \sin \delta} \quad (3.3)$$



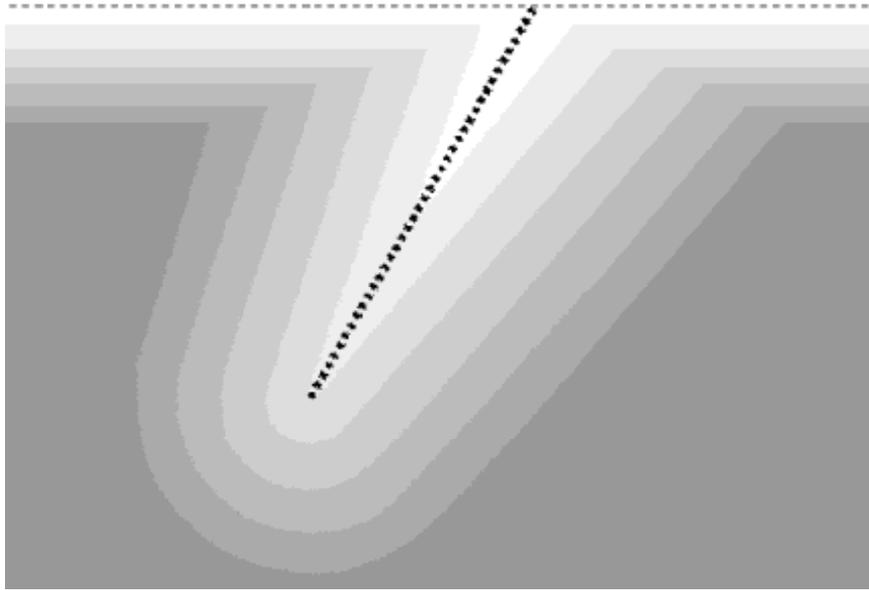
Figuur 3-3: Etsgeometrie bij een loodrecht invallend deeltje

$$b = B \sqrt{\frac{\sin \delta - \sin \theta}{\sin \delta + \sin \theta}}$$

met B de dikte van de detector die weggeëtst is, L de totale geëtste lengte van het schadespoor, θ de halve openingshoek van de kegel en δ de hoek tussen het schadespoor en het oppervlak van de detector. Een volledige afleiding van deze formules is te vinden in appendix 5.3.

Als we de evolutie van een etsspoor volgen in functie van de tijd, dan krijgen we een profiel dat er uitziet als in figuur 3-4. Hierbij zijn de profielen donkerder getekend naarmate men langer heeft geëtst. Het originele oppervlak is voorgesteld door de horizontale stippellijn en het schadespoor is getekend als een rij zwarte bolletjes.

Aangezien V_T kan geschreven worden als een functie van J (de specifieke ionisatie, d.i. de lading gecreëerd per eenheid van massa van het absorberend materiaal) van het



Figuur 3-4: Evolutie van een shadespoor bij steeds langere etstijden

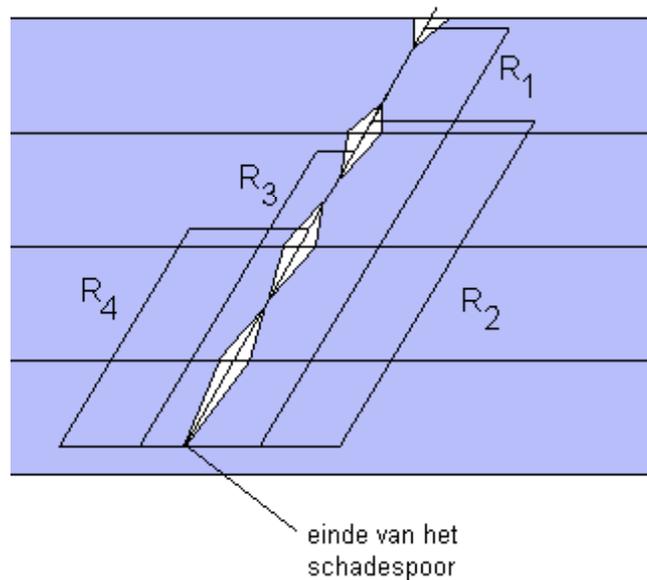
ingevallen deeltje, kunnen we uit de geometrische parameters van het etsspoor het deeltje identificeren. In het geval V_T en V_B constant zijn langs het spoor, zullen we na etsen een kegel krijgen zolang men niet etst voorbij het einde van het shadespoor. Voorbij dit punt etst men namelijk enkel nog met een etssnelheid V_B . Deze staat overal loodrecht op het oppervlak, wat tot gevolg heeft dat het profiel beschreven wordt door een deel van een kegel bovenaan met daarop aansluitend een deel van een bol. Zulke sporen waarbij men voorbij het uiteinde van het shadespoor heeft geëtsd noemt men overetste sporen. Men probeert dit te vermijden, zodat we in normale omstandigheden en voor deeltjes bij hoge energieën te maken hebben met kegelvormige sporen.

3.1.3 Identificatie van deeltjes met SSNTD's

Uit de geometrie van het spoor kunnen we eenvoudig V_T halen, namelijk de etssnelheid langs het shadespoor. Deeltjesidentificatie is afhankelijk van de relatie tussen de etssnelheid en de energie die door het deeltje is afgezet per eenheid van lengte in het

materiaal.

Meestal wordt er voor deeltjesidentificatie gebruik gemaakt van een hele stapel van verschillende lagen detectormateriaal. In het geval dat het deeltje tot stilstand komt in de detector, worden er maar twee parameters gemeten, namelijk de etssnelheid V_T en de overeenkomstige resterende dracht R . De resterende dracht R_i wordt op een gegeven diepte i in de detector gedefinieerd als de afstand vanaf de plaats halverwege een etskegel tot de plaats waar het schadespoor stopt (het deeltje komt daar tot stilstand—zie figuur 3-5).



Figuur 3-5: Methode voor deeltjesidentificatie

De etssnelheid langs een spoor is een functie van de ionisatie, die afhankelijk is van de lading en de snelheid van het deeltje. Daardoor is V_T uit te drukken als

$$V_T = f(Z, \beta)$$

met $\beta = v/c$. De dracht van een deeltje in een bepaald medium is afhankelijk van de

lading, de massa en de snelheid van het deeltje:

$$R = g(Z, M, \beta)$$

Verder kunnen V_T en R gemeten worden op een aantal punten langs het schadespoor, waardoor we een stelsel van vergelijkingen krijgen

$$\begin{cases} V_T(R_i) = f(Z, \beta_i) \\ R_i = g(Z, M, \beta_i) \end{cases}$$

die kunnen worden opgelost naar Z en M . Het deeltje kan dan geïdentificeerd worden door de (V_T, R_i) -curve te vergelijken met de curves voor gekende ionen.

Een andere methode maakt gebruik van de fractionele etsgradiënt G langs het schadespoor, die gedefinieerd wordt als

$$G = \frac{1}{V_T} \cdot \frac{dV_T}{dx} \quad (3.4)$$

Als twee etssnelheden $V_{T,1}$ en $V_{T,2}$ worden gemeten in punten op een afstand Δx van elkaar, dan wordt G gegeven door

$$G = \frac{1}{\left(\frac{V_{T,1} + V_{T,2}}{2}\right)} \cdot \frac{V_{T,2} - V_{T,1}}{\Delta x}$$

Deze methode is ook bruikbaar als het deeltje niet in de stack tot stilstand is gekomen, en we niet kunnen spreken van een residuele dracht. Met de fractionele etssnelheidsgradiënt wordt een effectieve etssnelheid langs het spoor geassocieerd

$$V_{eff} = \frac{2V_{T,1}V_{T,2}}{V_{T,1} + V_{T,2}}$$

Een volledig doorboorde stack van n lagen bevat $2n$ etskegels, en de totale etssnel-

heidsgradiënt wordt gegeven door

$$\bar{G} = \frac{\sum_{i=1}^n 2W_i(V_{2n+1-i}-V_i) / ((V_{2n+1-i}+V_i)\Delta x_i)}{\sum_{i=1}^n W_i} \quad (3.5)$$

De overeenkomstige totale effectieve etssnelheid wordt dan

$$\bar{V}_{eff} = \frac{n}{\sum_{i=1}^n (V_{2n+1-i} + V_i) / (2V_{2n+1-i}V_i)} \quad (3.6)$$

IJken van de SSNTD's

Welke methode men ook gebruikt, de meetresultaten moeten altijd vergeleken worden met metingen van gekende ionen. Experimenteel blijkt het volgende verband tussen etssnelheid en ionisatie goede resultaten te geven:

$$V_T = aJ^n \quad (3.7)$$

De constanten a en n moeten bij de ijking bepaald worden.

De detector wordt dan blootgesteld aan een bundel ionen met gekende lading, massa en snelheid, waarna de dracht-energielaties voor deze ionen bepaald worden. Deze worden bepaald aan de hand van een gegevensbestand van drachten van ideale protonen bij verschillende energieën. Daaruit bepaalt men de dracht van reële protonen. Daarna bepaalt men de ionisatie van het zware ion, gegeven door

$$J = \frac{C' Z_{eff}^2}{I_0 \beta^2} \left[\ln \left(\frac{W_{max}}{I_0} \right) - \beta^2 - \delta + K \right] \quad (3.8)$$

met

C', K = detectorafhankelijke constanten

Z_{eff} = effectieve lading, zie hoger

$$W_{max} = \frac{2mc^2\beta^2}{\sqrt{1-\beta^2}}$$

$$\beta = v/c$$

I_0 = ionisatiepotentiaal van de minst sterk gebonden elektronen van de atomen in de detector

δ = correctie voor relativistische effecten

De etsnelheid langs het spoor en de corresponderende residuele dracht worden bepaald langs een groot aantal punten langs het spoor van een aantal ijkionen. De relatie tussen V_T en R wordt gegeven in de (V_T, R) -curven. Hieraan kan men volgende uitdrukking fitten:

$$V_T = xR^y$$

met x en y te fitten constanten. Nemen we verder volgende relatie aan:

$$J = uR^w$$

dan kunnen u en w uit de dracht-energielaties bepaald worden. Daaruit haalt men dan de waarden voor a en n . Nu de responscurve voor de detector bepaald is, kunnen we (V_T, R) - en (V_T, G) -curves genereren voor willekeurige ionen. De experimentele data worden vergeleken met de gegenereerde curven, en het deeltje kan worden geïdentificeerd. Men kan zo een resolutie halen van $\Delta Z \leq 0.5e$.

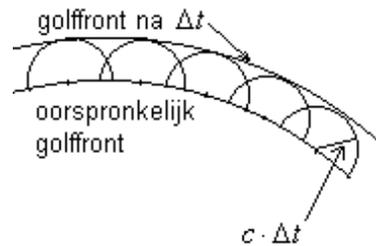
3.2 Confocale microscopie

Om de kernspoordetectoren te kunnen analyseren, worden er opnames van gemaakt met een confocale microscoop. Deze opnames worden achteraf bewerkt om een betere beeldkwaliteit te bekomen. Om deze verbetering beter te kunnen begrijpen, gaan we eerst dieper in op de theorie van de beeldvorming, om zo een beter inzicht te krijgen op hoe een beeld degradeert. Tenslotte worden verschillende methodes voor beeldrestauratie

besproken.

3.2.1 Optische beeldvorming: algemene principes

Optische beeldvorming kan beredeneerd worden aan de hand van het principe van Huygens-Fresnel (figuur 3-6).



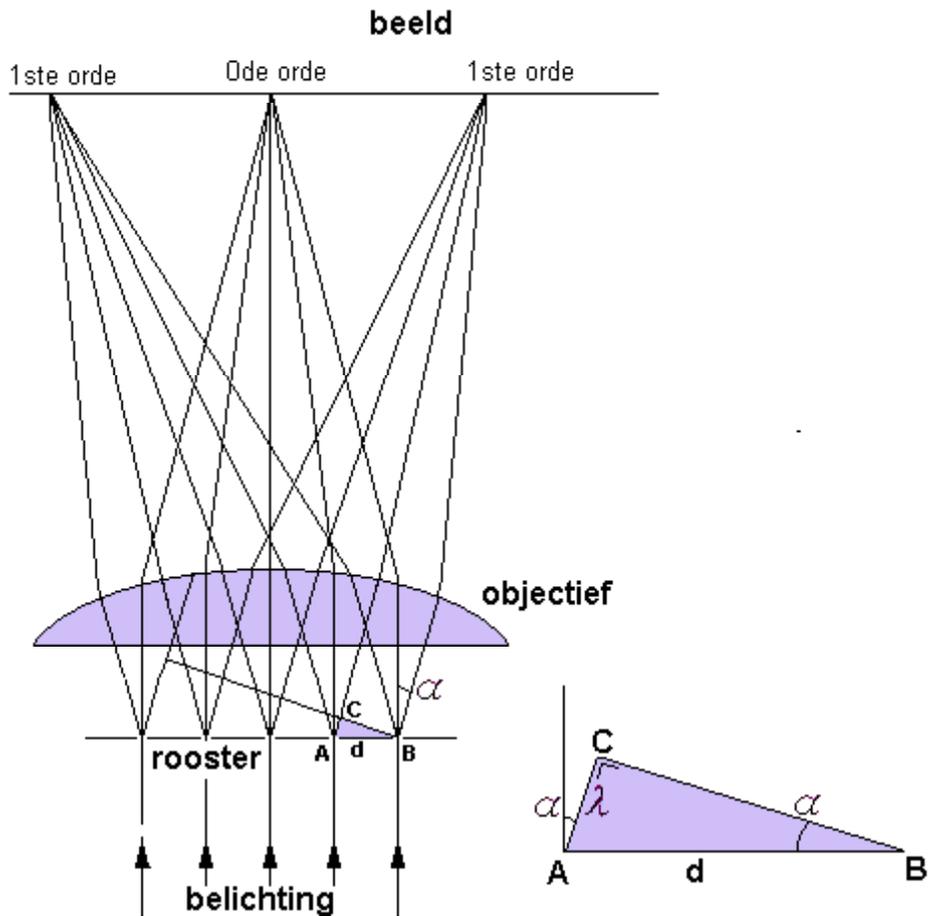
Figuur 3-6: Principe van Huygens-Fresnel

Dit principe zegt dat elk punt van een golffront een bron is van secundaire sferische golven. De intensiteit van een punt in het focaalvlak van de microscoop wordt bepaald door het diffractiepatroon van al deze secundaire golven.

De rayleigh-limiet

Een eerste benadering voor optische resolutie kunnen we vinden in de Rayleighlimiet. Deze kan als volgt teruggevonden worden. Beschouwen we het beeld van een rooster met roosterafstand d dat belicht wordt met een evenwijdige, coherente lichtbundel met golflengte λ . Deze situatie zal aanleiding geven tot een diffractiepatroon, dat zal afgebeeld worden door een objectief. Het nulde orde maximum ligt in dezelfde richting als de invallende bundel, terwijl hogere orde maxima steeds verder van dit nulde orde maximum zullen liggen (figuur 3-7).

We definiëren de hoek α als de hoek tussen de stralen naar het nulde orde maximum en het eerste orde maximum. Zo kunnen we inzien dat in



Figuur 3-7: De rayleighlimiet

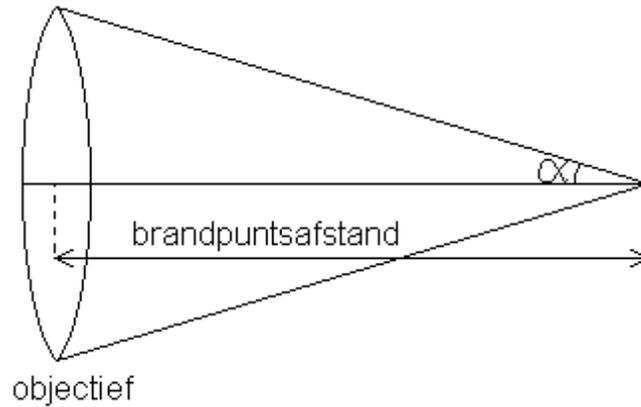
de paraxiale benadering (α klein) geldt dat

$$\alpha \approx \sin \alpha = \frac{|AC|}{|AB|} = \frac{\lambda}{d}.$$

Om nu de roosterafstand d nog net te kunnen onderscheiden met het objectief, moeten zowel nulde als eerste orde door het objectief worden afgebeeld (de reden daarvoor vinden we in de fourieroptica, zie verder). Om een resolutie van minimaal d te kunnen halen, moeten stralen die onder een hoek α uitgezonden worden, dus nog afgebeeld worden door

het objectief (figuur 3-8).

Hieruit concluderen we dat de resolutie van een objectief

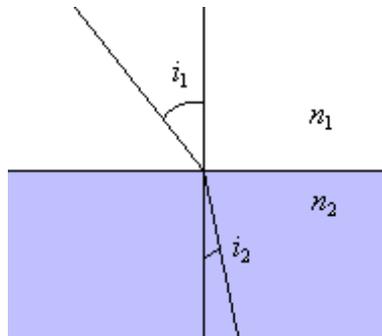


Figuur 3-8: De toelatingskegel van een objectief

gegeven wordt door

$$d = \frac{\lambda}{\sin \alpha}. \quad (3.9)$$

Als we echter een geval beschouwen waarin de brekingsindex van het medium tussen het specimen dat bestudeerd wordt en het objectief niet gelijk is aan 1 (geval van lucht), dan moeten we rekening houden met de wet van Snellius (figuur 3-9):



Figuur 3-9: Wet van Snellius

$$n_1 \cdot \sin i_1 = n_2 \cdot \sin i_2 \quad (3.10)$$

Noemen we n de brekingsindex van het medium tussen het objectief en het specimen, dan definiëren we de numerieke apertuur van het objectief als

$$NA_{obj} = n \sin \alpha \quad (3.11)$$

met α de openingshoek van het objectief. Dan volgt er voor de formule van de Rayleigh-limiet

$$d = \frac{\lambda}{NA_{obj}} \quad (3.12)$$

Dit is op een factor na juist. Deze factor wordt bepaald door de vorm van de apertuur, en volgt uit de berekening van het fraunhofer-diffractiepatroon van een cirkelvormige opening. Precieze berekening van deze factor zou ons hier echter te ver voeren. We vinden dan

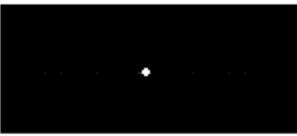
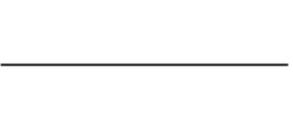
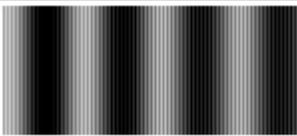
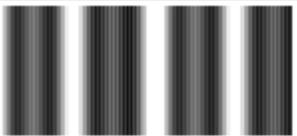
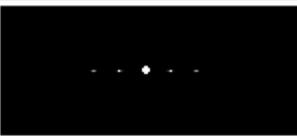
$$n \cdot \alpha \approx n \cdot \sin \alpha = 1,22 \cdot \frac{\lambda}{d}$$

Uit de formule volgt dat het scheidend vermogen toeneemt bij kleinere golflengtes en grotere numerieke apertures.

Theorie van Abbe

Een volgende stap werd gezet door Abbe, die de basis legde voor de moderne theorie van de beeldvorming, en waarop de fourier-optica verder bouwt. Beschouwen we om de gedachten te vestigen weer het beeld van een periodiek raster, dat belicht wordt met coherente, parallelle lichtstralen. Dit geeft weer aanleiding tot een diffractiepatroon met discrete maxima. Het meest intense maximum (nulde orde) ligt in dezelfde richting als de invallende stralen. Hogere orde maxima worden echter onder steeds grotere hoeken afgebogen, tot wanneer ze niet meer door de lens onderschept worden. Abbe realiseerde zich dat de periodiciteit van het rooster maar tot zijn recht kwam als zowel nulde als eerste orde maximum door het objectief konden worden onderschept. Hogere ordes dragen verder bij tot een steeds nauwkeurigere weergave van het originele object (figuur 3-10). Om een perfect beeld te bekomen, moeten dus alle gediffracteerte componenten door de

lens onderschept worden.

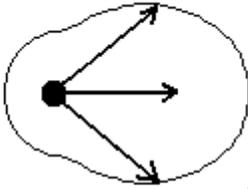
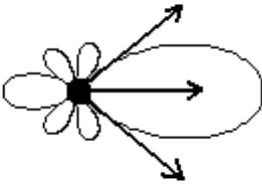
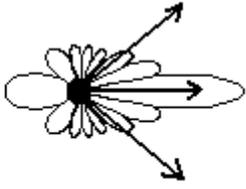
 origineel object			
			enkel nulde orde
			enkel nulde en eerste orde
			nulde, eerste en tweede orde
			nulde tot en met derde orde
beeld	interferentiemaxima doorgelaten	helderheidsprofiel	

Figuur 3-10: Diffractiemaxima van het rooster, en hun bijdrage tot het uiteindelijke beeld

Om tenslotte tot de fourieroptica te komen, moeten we inzien dat in het focaalvlak van een lens het fourierspectrum (of frequentiespectrum: zie appendix 5.1) van het originele beeld gevonden wordt. Daarom staat er in de tweede kolom van figuur 3-10 niets anders dan het fourierspectrum van de beelden uit de eerste kolom. De lens voert dus een fou-

riëranalyse uit in het focaalvlak, waarbij hoge frequenties niet kunnen afgebeeld worden door de lens. In het beeldvlak worden al de fouriercomponenten weer samengesteld tot het waargenomen beeld. De vorige beschouwing kan eenvoudig worden uitgebreid naar beeldvorming van ingewikkelder objecten door de discrete punten in de fourierruimte te vervangen door een continue functie.

Beschouwen we nogmaals figuur 3-8, dan zien we dat licht dat meer dan een hoek α van de optische as van de lens afwijkt, niet meer door de lens onderschept wordt. Daardoor worden de corresponderende frequenties uit de fourierruimte niet afgebeeld in het beeld van de lens.

	<p>straal deeltje is $d/3$ intensiteit = 1</p>
	<p>straal deeltje = d intensiteit = 81</p>
	<p>straal deeltje = $3d$ intensiteit = 6560</p>

Figuur 3-11: Verstrooiingseigenschappen van kleine transparante deeltjes

Beschouwen we tenslotte als voorbeeld de lichtverstrooiingseigenschappen van kleine transparante deeltjes. De lichtverstrooiingseigenschappen van kleine deeltjes worden vaak

gegeven in polaire diagrammen (figuur 3-11). Hierin wordt de intensiteit van het verstrooide licht gegeven in functie van de hoek die het maakt met de richting van het invallende licht. Deze diagrammen hebben een lobvormige structuur, overeenkomstig met de richtingen van de verschillende interferentiemaxima. Beschouwen we hieronder het beeld door een zeker optisch systeem van een deeltje met als straal achtereenvolgens een derde van de rayleigh-resolutie, de rayleigh-resolutie en drie keer de rayleigh-resolutie.

De middelste pijl stelt de optische as voor, en de uiterste pijlen geven de maximale hoek weer die het objectief toelaat (grotere hoeken vallen erbuiten). De intensiteit die weergegeven is in de figuur, is de maximale intensiteit in de voorwaartse richting, in relatieve eenheden. Hoe meer lobben er in de toelatingskegel vallen, hoe getrouwer de beeldvorming zal zijn, volledig overeenkomstig met de bovenstaande theorie van de beeldvorming.

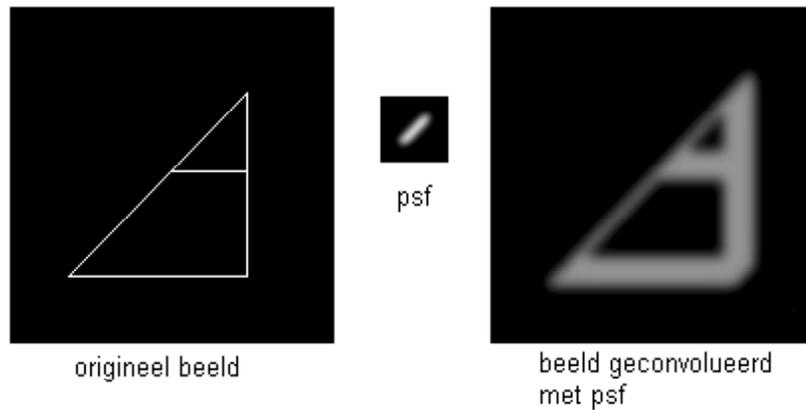
De Point Spread Function

Wanneer we het beeld beschouwen van een mathematisch punt door een objectieflens, is de lichtverdeling voor passage door de lens een deltafunctie (zie appendix 5.2). De fouriergetransformeerde van een deltafunctie bevat alle frequenties tot $+\infty$. Er worden echter slechts frequenties tot een gegeven maximale frequentie ν_{max} onderschept door de objectieflens, en enkel deze kunnen een bijdrage leveren tot het beeld. Het resultaat is dat het licht dat oorspronkelijk in een mathematisch punt te vinden was, uitgesmeerd zal worden over een zekere distributie van licht rond dit punt. Dit uitgesmeerde beeld van een mathematisch punt door een lens noemt men de Point Spread Function (PSF) van een lens. Het uiteindelijke beeld van een object kan dan worden beschouwd als het originele beeld geconvolueerd met de PSF (figuur 3-12):

3.2.2 Principe van confocale microscopie

Voor deze paragraaf werd gebruik gemaakt van [15].

Confocale microscopie is een interessante techniek die werd uitgedacht door Marvin

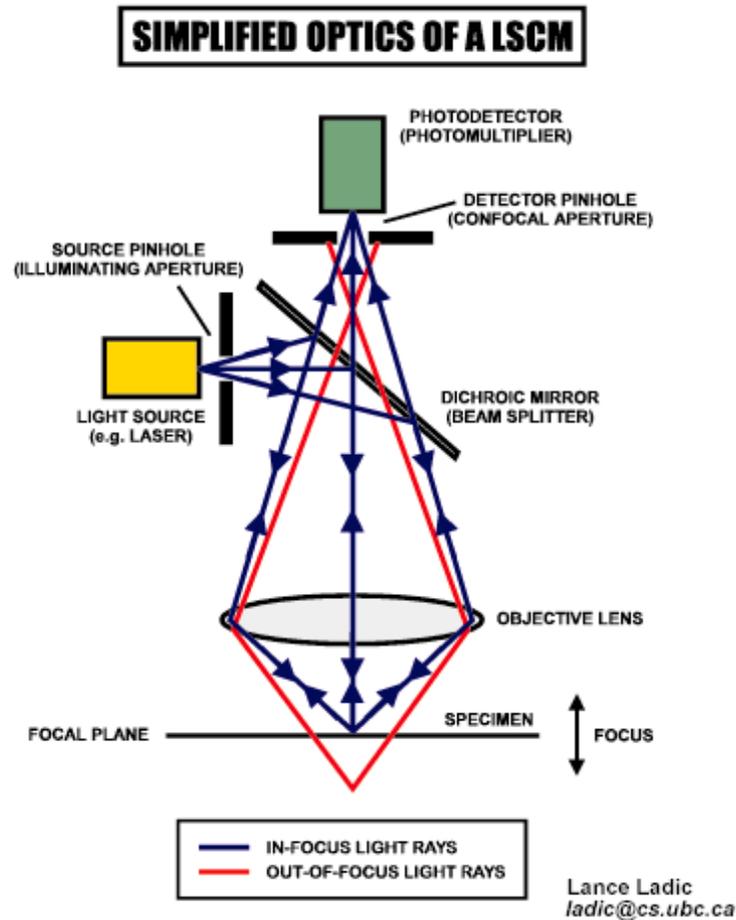


Figuur 3-12: Convolutie van beeld met PSF

Minsky in de jaren '50. In conventionele microscopie wordt het beeldcontrast sterk beperkt door de zogenaamde “out of focus blur”. Wanneer men namelijk probeert scherp te stellen op een punt onder het oppervlak van het specimen, dan wordt het beeld waziger met de diepte omdat in het beeld ook licht aanwezig is van punten die op andere diepten liggen dan het vlak dat in focus is. Dat strooilicht zorgt voor de “out of focus blur”. Om een ideaal beeld te verkrijgen, zou men enkel licht van op de diepte die men wil bestuderen mogen beschouwen en geen licht van erboven of eronder.

Minsky bracht daarom enkele wijzigingen aan bij een standaard microscoop. Een eerste verbetering was het feit dat hij het licht van de lichtbron mee door het objectief stuurde via een “beam splitter”. Hierdoor ontstaat één enkele intense lichtvlek op een bepaalde diepte in het specimen. Deze vlek is het meest intens verlicht gedeelte van het specimen, en zal ook het meeste licht weerkaatsen. Buiten deze vlek daalt de intensiteit enorm snel, zodat de omgeving niet bijdraagt tot de beeldvorming van een gegeven punt (hetgene bij gewone microscopie wel het geval is). Maar ook deze techniek kan niet verhinderen dat materiaal boven het punt in focus licht zal verstrooien, en zo het beeld zal vertroebelen. Maar Minsky vond ook daar een oplossing voor. Hij wist namelijk dat het beeld van de intense lichtvlek gevormd wordt in een vlak ver boven het specimen. In

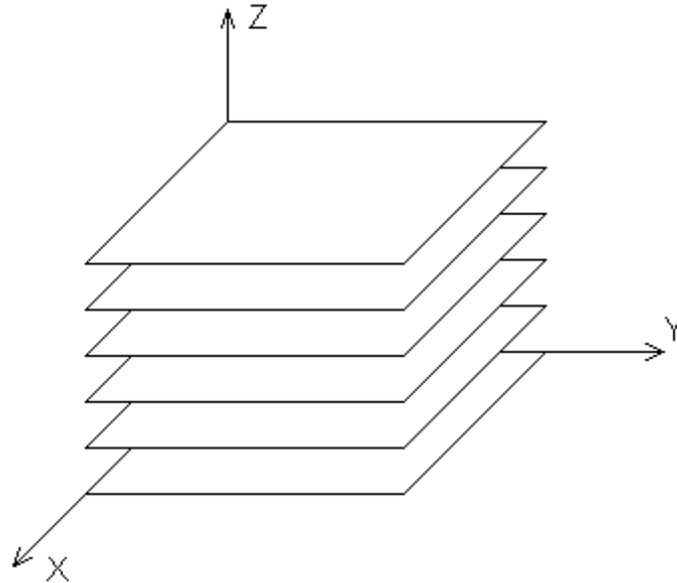
dat vlak plaatste hij een scherm met een klein gaatje in. Zo kan enkel licht van het punt in focus de detector bereiken, terwijl licht dat niet van dit punt afkomstig is niet door dit gaatje kan omdat dat licht niet in focus is (zie figuur 3-13).



Figuur 3-13: Principe van een confocale microscoop

Hierdoor werd een scherp beeld verkregen, maar enkel van één punt van het specimen. Daarom voegde Minsky een scanning mechanisme toe aan zijn microscoop. Zo wordt punt per punt, rij per rij in beeld gebracht en via een fotomultiplier versterkt naar een beeldscherm gestuurd. Op die manier kan een heel vlak afgebeeld worden. Door de objectieflens naar boven of naar onder te bewegen brengt men andere dieptes in focus, en

als men dan het scanning proces herhaalt, kan men vlakken op verschillende dieptes in het specimen in beeld brengen, en zo met een stapel 2D-beeldjes een volume weergeven (figuur 3-14).

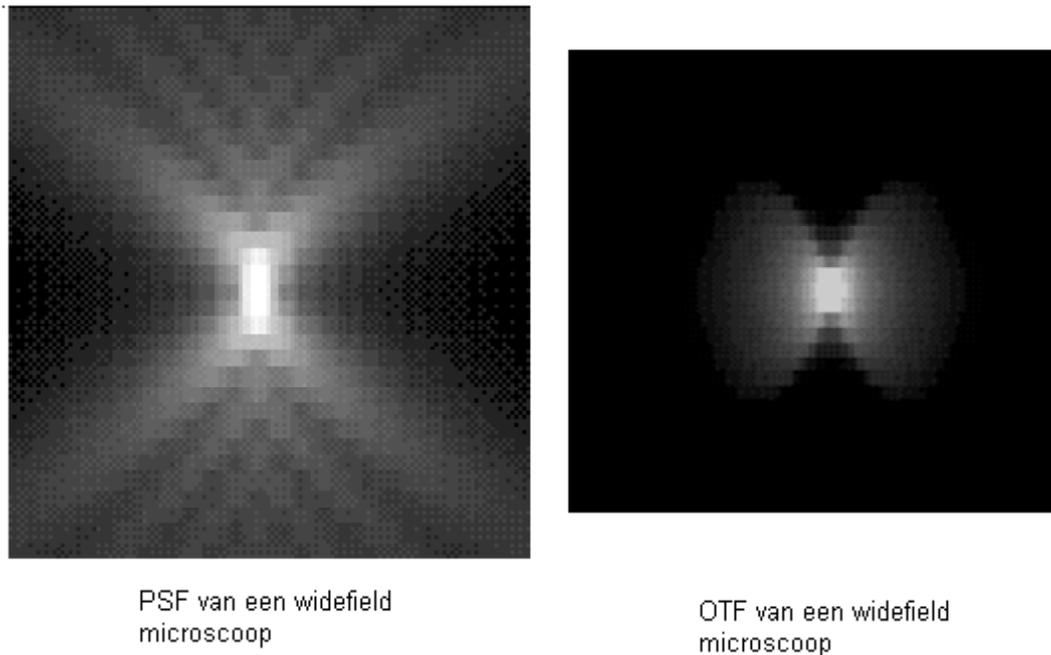


Figuur 3-14: opbouw van driedimensionele beelden

Tegenwoordig zijn krachtige computers beschikbaar, die de hele stapel beeldjes kunnen manipuleren, en het mogelijk maken om niet alleen van boven naar onder door de stapel te bewegen, maar van links naar rechts verticale coupes te bekijken, en zelfs het volledige object tegelijk in beeld te brengen, het laten roteren en zo verder. Ook is het tegenwoordig mogelijk om verschillende punten op te nemen in parallel, wat een aanzienlijke tijds winst oplevert. Deze techniek is een aanzienlijke verbetering van een conventionele microscoop, en laat een aanzienlijk groter contrast toe. En wat vooral interessant is, is dat zij toelaat om een volume in beeld te brengen door verschillende focaalvlakken afzonderlijk te bekijken.

3.2.3 Confocale versus conventionele microscopen in termen van de PSF

Een gewone microscoop is veel minder geschikt voor het soort onderzoek dat wij willen doen dan een confocale microscoop. Dit is ook te begrijpen in termen van PSF's. In figuur 3-15 wordt de PSF van een conventionele of een "wide field" microscoop afgebeeld (doorsnede langs de z-as).

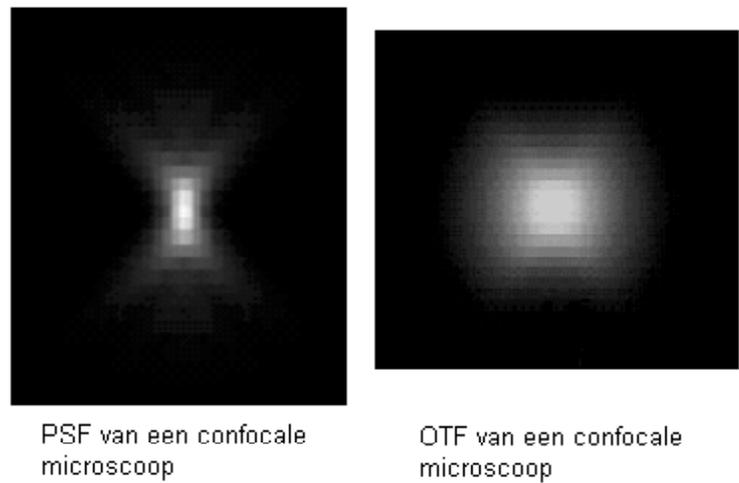


Figuur 3-15: PSF en OTF van een wide-field microscoop

We zien dus dat het licht van een mathematisch punt dat door een gewone microscoop wordt afgebeeld, sterk in de z-richting wordt uitgesmeerd. Als we van dit beeld de fouriergetransformeerde nemen, krijgen we de optische transferfunctie (OTF). Deze geeft aan welke ruimtelijke frequenties door de microscoop worden doorgelaten (licht) en welke niet (zwart).

Op deze foto is duidelijk te zien dat er door de brede uitsmering van licht langs de z-as details verdwijnen in de z-richting bij een gewone microscoop, wat te zien is als een zwarte

kegel van ontbrekende frequenties in de optische transferfunctie. Als we echter vergelijken met de PSF van een confocale microscoop (figuur 3-16), dan valt op dat er veel minder licht langs de z-as wordt uitgesmeerd. Als we hiervan de fouriergetransformeerde nemen, verkrijgen we de optische transferfunctie van de confocale microscoop. Merk op dat deze geen kegel van ontbrekende frequenties bevat (figuur 3-16).



Figuur 3-16: PSF en OTF van een confocale microscoop

Vermelden we nog dat de OTF van een systeem dat een punt ook effectief als een punt afbeeldt, een volledig wit vlak zou zijn. De witte punten van de OTF stellen dus de frequenties voor die doorgelaten worden door het systeem, de zwarte degenen die niet weergegeven worden in het uiteindelijke beeld.

3.2.4 Beelddegradatie

Een waargenomen beeld is altijd in meer of mindere mate gedegradeerd door volgende factoren:

- beperking van de resolutie door diffractie wegens frequentiefiltering door een lens (hoge frequenties worden niet onderschept door een lens, en als gevolg vinden we een PSF)

- fouten van de optiek (vb. chromatische en sferische abberatie)
- samplen in discrete meetpunten geeft additionele beelddegradatie (informatie van een bepaald meetpunt wordt uitgemiddeld over een sample-interval: pixelgrootte van beelden)
- stochastische ruis doordat de fotonen at random aankomen, terwijl elk waarne-
mingsinstrument een beperkte opnametijd heeft
- ruis eigen aan de gebruikte instrumenten (vb thermische ruis bij halfgeleiders)

Deze beelddegradatie kan mathematisch weergegeven worden:

$$\begin{aligned}
g(x, y, z) &= (h \otimes f)(x, y, z) + n(x, y, z) \\
&= \iiint h(x - s, y - t, z - v) \cdot f(s, t, v) \cdot ds \cdot dt \cdot dv + n(x, y, z) \\
&= \iiint h(x, y, z) \cdot f(x - s, y - t, z - v) \cdot ds \cdot dt \cdot dv + n(x, y, z)
\end{aligned}$$

Hierin is $g(x, y, z)$ het waargenomen beeld en $n(x, y, z)$ geeft de ruis weer. Verder is $f(x, y, z)$ het originele object, en $h(x, y, z)$ is de PSF. Deze geeft weer hoe de intensiteit door een mathematisch punt uitgezonden door de optiek wordt verspreid over een zeker volume in de ruimte. De bewerking \otimes noemt men convolutie.

Vermits we werken met discrete pixels in plaats van met een continu beeld, gaan we over op de discrete vorm (en beschouwen we geen bijdrage van ruis):

$$\begin{aligned}
g(i, j, k) &= (h \otimes f)(i, j, k) \\
&= \sum_{m=-\infty}^{+\infty} \sum_{n=-\infty}^{+\infty} \sum_{p=-\infty}^{+\infty} h(m, n, p) \cdot f(i - m, j - n, k - p)
\end{aligned} \tag{3.13}$$

3.2.5 Beeldcorrectie door deconvolutie

Er bestaan nu verschillende algoritmes om, gegeven het waargenomen beeld g en de PSF h , het originele beeld te reconstrueren. Deze reconstructie, namelijk f te berekenen uit gegeven g en h , noemt men deconvolutie. De beelddegradatie kan als volgt voorgesteld worden:

$$g(x, y, z) = (h \otimes f)(x, y, z) + n(x, y, z) \quad (3.14)$$

We nemen van beide leden de fouriergetransformeerde. Een eigenschap van fouriertransformaties is dat de fouriergetransformeerde van een convolutie het product is van de fouriergetransformeerden:

$$G(\xi, \eta, \zeta) = H(\xi, \eta, \zeta) \cdot F(\xi, \eta, \zeta) + N(\xi, \eta, \zeta) \quad (3.15)$$

We noteren met hoofdletters de fouriergetransformeerden van de corresponderende functies in kleine letters. Griekse letters duiden de coördinaten in de fourierruimte aan. Men werkt vaak met de fouriergetransformeerden van de functies, aangezien het veel minder rekentijd vraagt om een fouriertransformatie uit te voeren (via het Fast Fourier Transform algoritme), de vermenigvuldiging uit te voeren en daarna de inverse fouriertransformatie te doen, dan dat het zou vragen om een convolutie-integraal te berekenen.

H is de fouriergetransformeerde van de PSF, en wordt optische transferfunctie (OTF) genoemd. Elk punt van het originele beeld F in de fourieruimte wordt hiermee vermenigvuldigd, en daarom kan H gezien worden als een filter in de fourierruimte. Indien de microscoop een oneindige resolutie zou hebben, zou H overal gelijk aan één zijn. In werkelijkheid echter wordt H nul bij de resolutielimiet, en worden boven deze limiet geen frequenties doorgelaten.

Op het eerste zicht zou het voor de hand liggen beide leden te delen door H , en F af te zonderen:

$$\frac{G(\xi, \eta, \zeta)}{H(\xi, \eta, \zeta)} - \frac{N(\xi, \eta, \zeta)}{H(\xi, \eta, \zeta)} = F(\xi, \eta, \zeta)$$

Maar voor optische systemen is $H(\xi, \eta, \zeta)$ echter maar verschillend van nul binnen een klein gebied rond de oorsprong, zodat op vele plaatsen zou worden gedeeld door nul (zwarte pixels bij bovenstaande transferfuncties zijn nullen). Daarom werden er een aantal werkwijzen bedacht om deze moeilijkheid te omzeilen.

”Jansson-Van Cittert” methode

Het eenvoudigste algoritme voor iteratieve beeldrestauratie heeft al een lange geschiedenis achter de rug, en werd opgesteld door Van Cittert in 1931, en werd later uitgebreid door Jansson in 1968. In essentie is de methode gebaseerd op minimalisatie van de functionaal

$$\Phi = \|g(x, y, z) - (h \otimes f)(x, y, z)\|^2 \quad (3.16)$$

waarbij de norm gedefinieerd is als volgt:

$$\|a\|^2 = \int |a(x, y, z)|^2 dx \cdot dy \cdot dz = (2\pi)^{-3} \int |A(\xi, \eta, \zeta)|^2 d\xi \cdot d\eta \cdot d\zeta. \quad (3.17)$$

De minimalisatie van Φ gebeurt door middel van de kleinste-kwdratenmethode. Men lost het stelsel lineaire vergelijkingen dat daaruit volgt op met de methode van Gauss-Jacobi. In woorden uitgedrukt komt het algoritme hierop neer:

1. genereer een schatting van het uiteindelijke beeld (om te beginnen wordt meestal het waargenomen beeld zelf hiervoor genomen)
2. convolveer dit beeld met de PSF
3. vergelijk dit beeld met het origineel waargenomen beeld
4. als dit beeld goed genoeg overeenkomt met waargenomen beeld, wordt het programma beëindigd, en het geschatte beeld wordt behouden
5. indien het verschil te groot is, verander dan de schatting rekening houdend met het waargenomen verschil
6. pas de randvoorwaarden toe: negatieve waarden worden nul

7. ga terug naar stap 2

De minimalisatie van Φ leidt tot de volgende iteratie:

$$f_{k+1}(x, y, z) = f_k(x, y, z) + \|g(x, y, z) - (h \otimes f)(x, y, z)\|^2$$

of praktisch gezien:

$$\begin{cases} f_{k+1}(x, y, z) = f_k(x, y, z) + [g(x, y, z) - (h \otimes f_k)(x, y, z)] \\ f_0(x, y, z) = 0 \end{cases} \quad (3.18)$$

Men kan 3.18 eenvoudiger noteren door alle pixels van een beeld in één rij achter elkaar te schrijven. Dit gebeurt door alle rijen achter elkaar, vlak na vlak in één lange rij te schrijven. Dit noemt men lexicografisch ordenen. Men noteert dan

$$\mathbf{g} = \mathbf{H}\mathbf{f} + \mathbf{n}$$

met \mathbf{g} , \mathbf{f} en \mathbf{n} lexicografisch geordende vectoren van lengte $M \cdot N \cdot P$ (M , N en P zijn de dimensies van de opname) en \mathbf{H} is een $M \cdot N \cdot P \times M \cdot N \cdot P$ matrix, die “blurring” matrix genoemd wordt. Hierboven staat dan niets meer dan een matrixvermenigvuldiging van H en f . Zulke lexicografisch genoteerde vectoren noteren we met vette letters. In lexicografische vectornotatie wordt bovenstaande iteratieformule gegeven door:

$$\begin{cases} \mathbf{f}_{k+1} = \mathbf{f}_k + (\mathbf{g} - \mathbf{H}\mathbf{f}_k) = \mathbf{g} + (\mathbf{I} - \mathbf{H}) \mathbf{f}_k \\ \mathbf{f}_0 = \mathbf{0} \end{cases} \quad (3.19)$$

met \mathbf{I} de identiteitsmatrix. Door directe berekening vinden we dat

$$\mathbf{f}_{k+1} = \sum_{\gamma=1}^k (\mathbf{I} - \mathbf{H})^\gamma \mathbf{g} = \left(\mathbf{I} - (\mathbf{I} - \mathbf{H})^{k+1} \right) \mathbf{H}^{-1} \mathbf{g} \quad (3.20)$$

Dit convergeert, voor $k \rightarrow \infty$, naar

$$\mathbf{f}_k \longrightarrow \mathbf{H}^{-1}\mathbf{g}.$$

Hier werd echter nergens expliciet rekening gehouden met de bijdrage van ruis, zodat deze techniek enkel bruikbaar is als er weinig of geen ruis aanwezig is in de waargenomen opname. Wanneer er echter wel een aanzienlijke bijdrage is van ruis, zal deze in de iteraties enorm versterkt worden en uiteindelijk de restauratie nutteloos maken. Deze techniek heeft een aantal voordelen:

- De iteratie kan worden stopgezet vooraleer convergentie optreedt, waardoor de versterking van ruis in de hand kan worden gehouden.
- De inverse operator \mathbf{H}^{-1} moet niet expliciet worden uitgedrukt, aangezien in de iteratieformule enkel \mathbf{H} voorkomt.

Quick Tikhonov-Miller

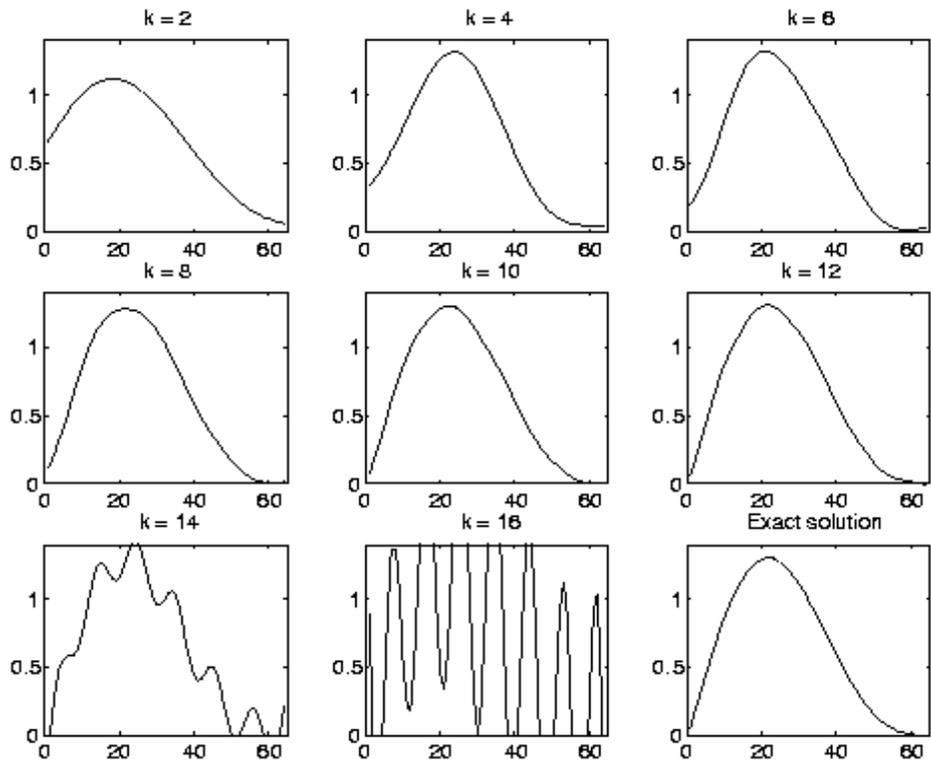
Deze paragraaf is grotendeels gebaseerd op [17].

Bij de methode van Van Cittert werd getracht te zorgen dat:

$$\|g - h \otimes f\|^2 \leq \varepsilon$$

waarbij ε een schatting is voor de norm van de ruis. Doordat h echter een beperkte bandbreedte heeft, kan men nieuwe oplossingen construeren door bij een oplossing een “spook”functie bij te tellen die enkel frequenties bevat buiten de bandbreedte van h . In figuur 3-17 hebben we hier een voorbeeld van bij een ééndimensionale deconvolutie. We zien de bijdrage van opeenvolgende componenten tot het eindresultaat, waarbij spookfuncties beginnen op te treden vanaf $k = 14$.

Daarom wordt een stabiliserende functionaal $\Omega(f)$ ingevoerd en wordt er een ener-



Figuur 3-17: Bijdrage van steeds meer stabiele en onstabiele componenten tot het resultaat.

gierandvoorwaarde opgelegd:

$$\Omega(f) = \|c \otimes f\|^2 \leq E$$

waarin c de regularisatie-operator en E een energiegrens. Deze energie wordt gedefinieerd als de integraal van de PSF als functie van de afstand r tot het centrum van de PSF:

$$E = \int_0^r \int_0^{2\pi} h(r, \theta) \cdot dr \cdot d\theta \quad (3.21)$$

Het is eenvoudig in te zien dat $E \rightarrow 1$ als $\rho \rightarrow \infty$, want een optisch systeem voegt nooit energie toe aan een beeld. Dan komt er voor de te minimaliseren functionaal

$$\Phi(f) = \|g - h \otimes f\|^2 + \left(\frac{\varepsilon}{E}\right)^2 \|c \otimes f\|^2 \quad (3.22)$$

$$= \|G - H \cdot F\|^2 + \left(\frac{\varepsilon}{E}\right)^2 \|C \cdot F\|^2 \quad (3.23)$$

Het invoeren van de extra term zorgt voor een stabiel resultaat (onderdrukken van de spookfuncties) en heet Tikhonov-regularisatie, waaraan deze methode van beeldrestauratie haar naam dankt. Stellen we voortaan

$$\left(\frac{\varepsilon}{E}\right)^2 = \eta.$$

Als we deze functionaal minimaliseren, vinden we door variatierekening de directe (ongebonden) Tikhonov-Miller oplossing:

$$F = \frac{H^*G}{\|H\|^2 + \eta \|C\|^2} \quad (3.24)$$

waarbij hoofdletters weer staan voor de fouriergetransformeerden van de corresponderende functies aangeduid in kleine letters. De functie c is een soort gewichtsfunctie en bepaalt de graad van regularisatie. Maar omdat we geen a priori informatie hebben, wordt vaak $c = \delta(x, y, z)$ gesteld, wat overeenkomt met een uniforme gewichtsfunctie.

Iteratieve gebonden Tikhonov-Miller methode

Hierbij werd vooral gebruik gemaakt van [19]. Men gaat in dit geval de functionaal (3.22) niet rechtstreeks minimaliseren, maar door middel van een iteratief algoritme. Dat levert ons volgende voordelen op:

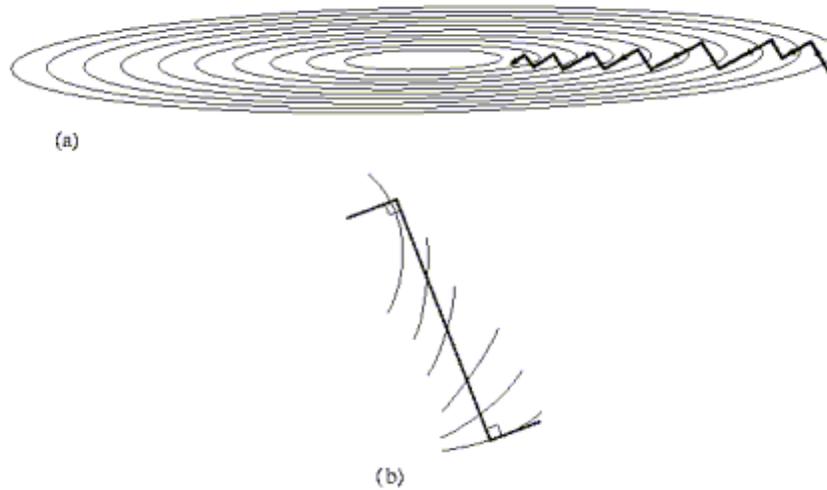
- we kunnen in het algoritme een voorwaarde opleggen dat de pixels niet negatief mogen worden (\rightarrow **gebonden** Tikhonov-Miller methode)
- we kunnen het aantal iteraties gebruiken als een extra regularisatiefactor. De norm van de resterende fout tussen gerestaureerde beeld en ideale beeld wordt kleiner als het aantal iteraties toeneemt, maar de fout door versterking van de ruis zal toenemen als het aantal iteraties toeneemt. We leggen dan een voorwaarde op zodat de iteraties beëindigd worden als de som van beide fouten minimaal is.
- bij de iteraties is geen inverteren van h of delen door H noodzakelijk

Voorbeelden van deze iteratieve methode zijn de methode van steilste helling (*steepest descent*) en de methode van de toegevoegde gradiënten (*conjugate gradients*). Bij de methode van steilste helling wordt de schatting veranderd in de richting waarin de afname van de Tikhonov-functionaal bij een bepaalde iteratie het sterkst is. Deze richting wordt bepaald door de negatieve gradiënt van (3.22) te nemen, waardoor er komt

$$\begin{aligned} \mathbf{r}_k &= -\frac{1}{2} \nabla_f \Phi(f) \\ &= -\frac{1}{2} \nabla_F (\|g - h \otimes f\|^2 + \eta \|f\|^2) \\ &= (\|h\|^2 + \eta) f + h^* \otimes g \end{aligned} \tag{3.25}$$

(De expliciete vorm is verder uitgewerkt in de appendices). Hoewel het idee om de schatting elke keer te veranderen in de richting waarin het verschil op die plaats het sterkst afneemt wel interessant lijkt, is het geen ideale werkwijze bij een kwadratische functionaal. In het geval dat we bijvoorbeeld in een elliptische vallei naar het diepste

punt zoeken, zullen we bij de meeste startpunten wel lokaal in de richting van sterkste afname bewegen, maar niet in de richting van het minimum (a). Uitvergroting van een stap in (a) zien we in (b). Zo de bodem maar bereikt na een groot aantal iteraties, waardoor de methode niet erg efficiënt is.[13] (figuur 3-18)



Figuur 3-18: “Steepest descent”-methode om in een ellipsvormige vallei af te dalen

De methode van toegevoegde gradiënten houdt hiermee rekening, en berekent na een initiële stap naar beneden een nieuw pad naar het diepste punt. Deze zogenaamde toegevoegde richting wordt gegeven door

$$\mathbf{p}_k = \mathbf{r}_k + \gamma_k \cdot \mathbf{p}_{k-1} \quad (3.26)$$

waarbij

$$\gamma_k = \frac{\|\mathbf{r}_k\|^2}{\|\mathbf{r}_{k-1}\|^2}$$

waardoor de nieuwe schatting wordt:

$$f_{k+1} = f_k + \beta_{\mathbf{p}_k} \quad (3.27)$$

met $\beta_{\mathbf{p}_k}$ de grootte van de stap die in de richting \mathbf{p}_k wordt gezet. Deze stapgrootte kan analytisch worden berekend, maar wordt in de meeste praktische gevallen toch iteratief bepaald.

Maximum Likelihood Estimation: Richardson-Lucy

Deze paragraaf werd mede mogelijk gemaakt door [18], [20] en [21].

Bij de vorige methoden werd gebruik gemaakt van variaties op de methode van de kleinste kwadraten, dus er werd getracht om de gemiddelde kwadratische afwijking (MSE: *mean square error*) tussen het waargenomen beeld g en het geschatte beeld \hat{g} te minimaliseren:

$$MSE(g, \hat{g}) = \|g - \hat{g}\|^2.$$

Dit is wel het beste criterium wanneer g ook negatief mag worden, maar bij beeldrestauratie hebben negatieve waarden (negatieve intensiteiten) geen betekenis. Er werd wel in bovenstaande algoritmes telkens een extra voorwaarde van positiviteit ingevoerd, maar die werd van buitenaf opgelegd. Daarom zoeken we naar een betere kwaliteitsmaat voor geschatte oplossingen dan de MSE.

Op basis van statistische beschouwingen kunnen we schrijven dat de dichtheid *a priori* van het beeld gegeven is door $p(\mathbf{f})$. Dit geeft onze kennis vooraf weer over \mathbf{f} . De voorwaardelijke dichtheid $p(\mathbf{g} | \mathbf{f})$ stelt het vertroebelde beeld voor bij een gegeven object \mathbf{f} . De regel van Bayes geeft dat voor de dichtheid *a posteriori* geldt:

$$p(\mathbf{f} | \mathbf{g}) = \frac{p(\mathbf{g} | \mathbf{f}) \cdot p(\mathbf{f})}{p(\mathbf{g})} \quad (3.28)$$

We moeten deze uitdrukking maximaliseren. De noemer is enkel een normalisatiefactor en is onafhankelijk van \mathbf{f} . Daarom kunnen we ons beperken tot het maximaliseren van de teller alleen. Het is echter eenvoudiger om de negatieve logaritme van deze

uitdrukking te minimaliseren:

$$-\ln(p(\mathbf{g} | \mathbf{f}) \cdot p(\mathbf{f})) = -\ln p(\mathbf{g} | \mathbf{f}) - \ln p(\mathbf{f})$$

Men gaat dan verder met het minimaliseren van de functionaal

$$\Phi = L(\mathbf{g}, \mathbf{f}) + \gamma P(\mathbf{f})$$

waarbij

$$\begin{aligned} L(\mathbf{g}, \mathbf{f}) &= -\ln p(\mathbf{g} | \mathbf{f}) \\ P(\mathbf{f}) &= -\ln p(\mathbf{f}) \end{aligned}$$

Hierbij wordt $L(\mathbf{g}, \mathbf{f})$ de waarschijnlijkheidsfunctie genoemd. Deze functie fit de oplossing aan de gegevens. $P(\mathbf{f})$ is de *penalty* functie, die voor regularisatie van de oplossing kan worden gebruikt. De regularisatieparameter γ zorgt voor een evenwicht tussen de fitting door $L(\mathbf{g}, \mathbf{f})$ en de regularisatie (“*smoothing*”) door $P(\mathbf{f})$. De expliciete uitdrukking van deze functies wordt bepaald door het gekozen model voor de ruis.

In het geval van gaussiaanse ruis wordt de waarschijnlijkheidsfunctie gegeven door:

$$L_G(\mathbf{g}, \mathbf{f}) = \|\mathbf{g} - \mathbf{H}\mathbf{f}\|^2.$$

en bij minimalisatie hiervan vinden we de methode van Van Cittert terug. Kiezen we daarbij $\eta \|f\|^2$ als *penalty* functie, dan vinden we de Tikhonov-methode terug.

Nemen we echter aan dat de ruis een poissonverdeling heeft (wat voor fluorescentie correcter is), dan is de waarschijnlijkheidsfunctie te schrijven als:

$$L_P(\mathbf{g}, \mathbf{f}) = \sum_{i=1}^M [\mathbf{H}\mathbf{f}]_i - \mathbf{g}^T \ln(\mathbf{H}\mathbf{f} + \mathbf{b}) \quad (3.29)$$

waarbij T de getransponeerde voorstelt en \mathbf{b} staat voor de achtergrond in het beeld. De \ln werkt op elke component afzonderlijk van de vector in. Verder kiezen we voor de *penalty* functie de zogenaamde entropiefunctie:

$$P_E = \mathbf{f}^T \ln \left(\frac{\mathbf{f}}{\mathbf{m}} \right) - \sum_{i=1}^M \mathbf{f}_i - \sum_{i=1}^M \mathbf{m}_i. \quad (3.30)$$

De vergelijking 3.30 staat ook bekend als de I-divergentie tussen f en m . Csiszár toonde aan dat de I-divergentie de optimale afstandsmaat is tussen f en m als beide niet-negatief zijn. Verder heeft men aangetoond dat minimaliseren van $L_P(\mathbf{g}, \mathbf{f})$ equivalent is met het minimaliseren van P_E .

We werken dit nu verder uit. Allereerst beschouwen we de vergelijking van de beeldvorming:

$$I(i) = \sum_j P(i | j) \cdot O(j)$$

waarbij $O(j)$ het ongeblurde object is, en $P(i|j)$ de PSF is, namelijk de kans dat licht afkomstig van de oorspronkelijke plaats j terecht komt in pixel i in het beeld. I is dan het geblurde beeld, waarbij nog geen rekening gehouden werd met ruis. Wanneer $P(i|j)$ gelijk is over het hele beeld, is

$$P(i | j) = P(i - j)$$

en de som wordt een convolutie. De waarschijnlijkheid om N fotonen te detecteren in een pixel, terwijl de verwachtingswaarde \bar{N} is, wordt gegeven door de Poissonverdeling:

$$\mathcal{P}(N | \bar{N}) = \frac{e^{-\bar{N}} \cdot \bar{N}^N}{N!}$$

waardoor de uiteindelijke waarschijnlijkheid L om als waargenomen aantal fotonen $D(i)$

in elke pixel de waarde $I(i)$ te vinden, gegeven wordt door

$$L = \prod_i \mathcal{P}(D(i) | I(i)) = \prod_i \frac{e^{-I(i)} \cdot I(i)^{D(i)}}{D(i)!}$$

$$\implies \ln L = \sum_i \ln \left(\frac{e^{-I(i)} \cdot I(i)^{D(i)}}{D(i)!} \right)$$

waarin we kunnen schrijven

$$I(i)^{D(i)} = e^{D(i) \cdot \ln I(i)}$$

Dus

$$\begin{aligned} \ln L &= \sum_i \ln \left(\frac{e^{-I(i)} \cdot I(i)^{D(i)}}{D(i)!} \right) \\ &= \sum_i \ln \left(\frac{e^{-I(i) + D(i) \cdot \ln I(i)}}{D(i)!} \right) \\ &= \sum_i [-I(i) + D(i) \cdot \ln I(i) - \ln(D(i)!)] \end{aligned}$$

Dit komt overeen met 3.29 wat we kunnen dit inzien met:

$$\begin{aligned} I(i) &= \sum_j P(i | j) O(j) && \longleftrightarrow \mathbf{Hf} \\ D(i) \cdot \ln I(i) - \ln(D(i)!) && \longleftrightarrow \mathbf{g}^T \ln(\mathbf{Hf} + \mathbf{b}) \end{aligned}$$

We vinden de meest waarschijnlijke oplossing terug wanneer voor alle partieel afgeleiden naar $O(j)$ geldt dat

$$\frac{\partial \ln L}{\partial O(j)} = 0$$

of anders

$$\frac{\partial}{\partial O(j)} \sum_i \left[\left(- \sum_j P(i | j) \cdot O(j) \right) + D(i) \cdot \ln \left(\sum_j P(i | j) \cdot O(j) \right) - \ln(D(i)!) \right] = 0$$

$$\begin{aligned}
&\Rightarrow \sum_i \left[-P(i | j) + D(i) \cdot \left(\frac{1}{\sum_j P(i | j) \cdot O(j)} \right) \cdot P(i | j) \right] = 0 \\
&\Rightarrow \sum_i \left[-P(i | j) + D(i) \cdot \left(\frac{1}{I(i)} \right) \cdot P(i | j) \right] = 0 \\
&\Rightarrow \sum_i \left[\frac{D(i)}{I(i)} - 1 \right] \cdot P(i | j) = 0
\end{aligned}$$

waardoor de Richardson-Lucy iteratie wordt:

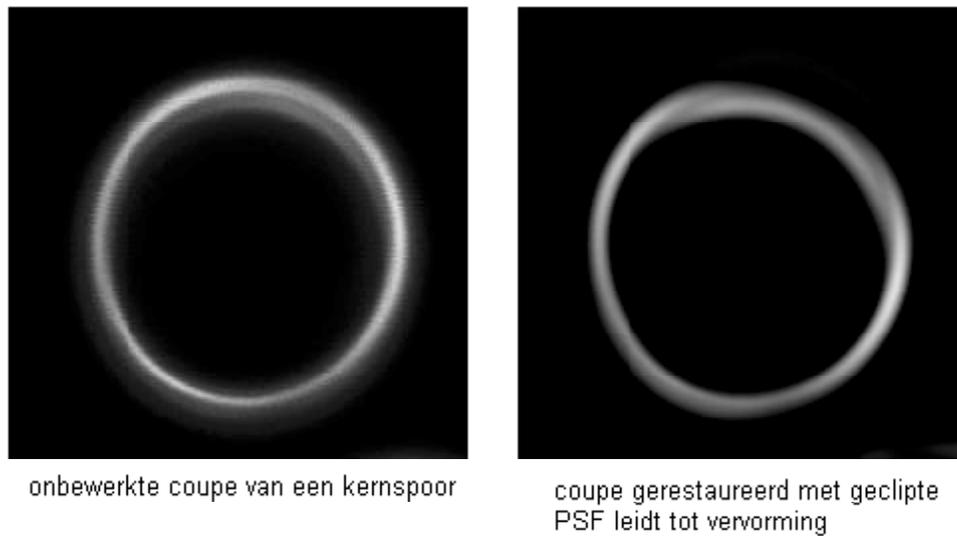
$$O_{nieuw} = O(j) \cdot \frac{\sum_i \left[P(i | j) \cdot \frac{D(i)}{I(i)} \right]}{\sum_i P(i | j)} \quad (3.31)$$

Praktische resultaten

Voor praktisch bruikbare resultaten is het uitermate belangrijk dat de experimentator zich zeer strikt houdt aan het Nyquist-theorema wanneer hij samplet. Dat wil zeggen dat om stapgroottes in de x-richting te nemen van ongeveer 45nm en in de z-richting van 150nm bij gebruik van fluorescerende kleurstoffen met emissie rond de 520nm. Deze waarden zijn vooral belangrijk voor de beadopnames, waaruit de exacte PSF wordt berekend. Men raadt aan beads te gebruiken met een diameter van rond 200nm, aangezien hun beeld anders te groot wordt, en dit door de software geclipt wordt. Daardoor gaat er informatie van de PSF verloren, waardoor er bij de reconstructie informatie verloren kan gaan, zoals gebeurde in figuur 3-19:

Ook is het belangrijk elke keer dat men opnames maakt, eveneens beadopnames te maken, aangezien de PSF van de microscoop snel verandert (o.a. door temperatuurschommelingen, uitlijning van de optiek,..), zoals weergegeven wordt in figuur 3-20.

Hieronder vergelijken we de resultaten van een aantal deconvolutie-algoritmes. Het contrast is na de deconvolutie wel verhoogd door op elke opname een gamma-factor 1,98 toe te passen. Hierdoor worden de sterke en de zwakke kanten van de verschillende algoritmes beter zichtbaar. Er is telkens een diepteprofiel van een aantal kernsporen te

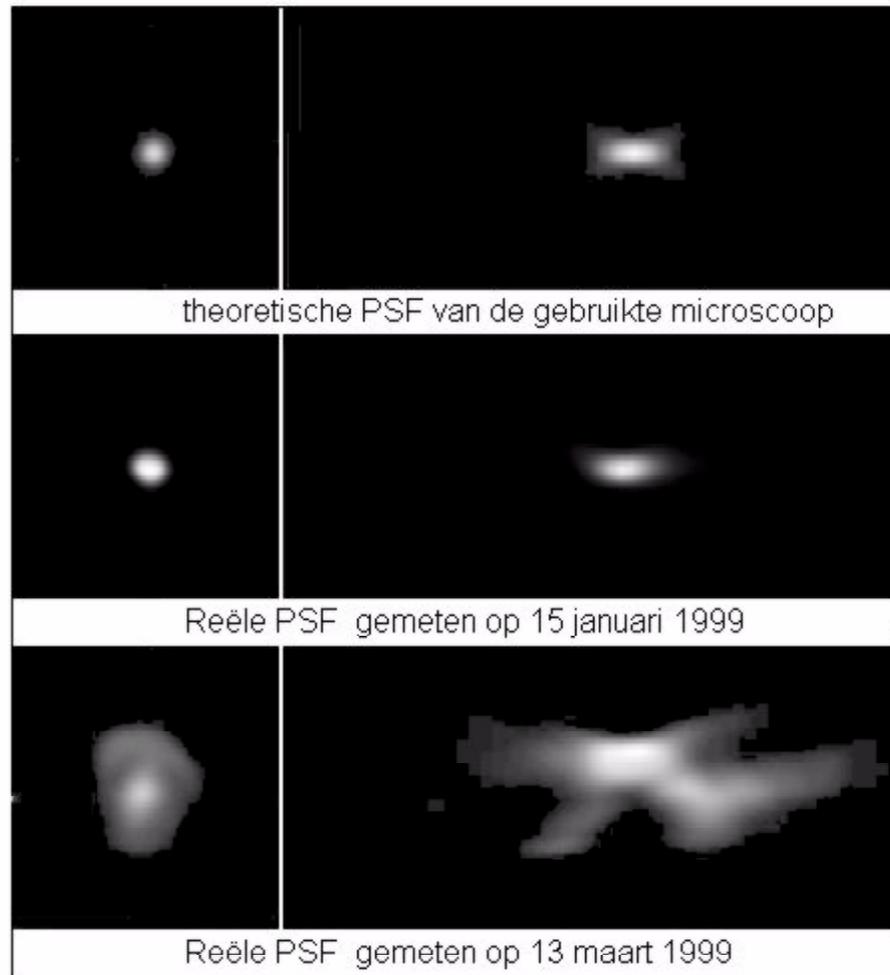


Figuur 3-19: Foute restauratie van een beeld

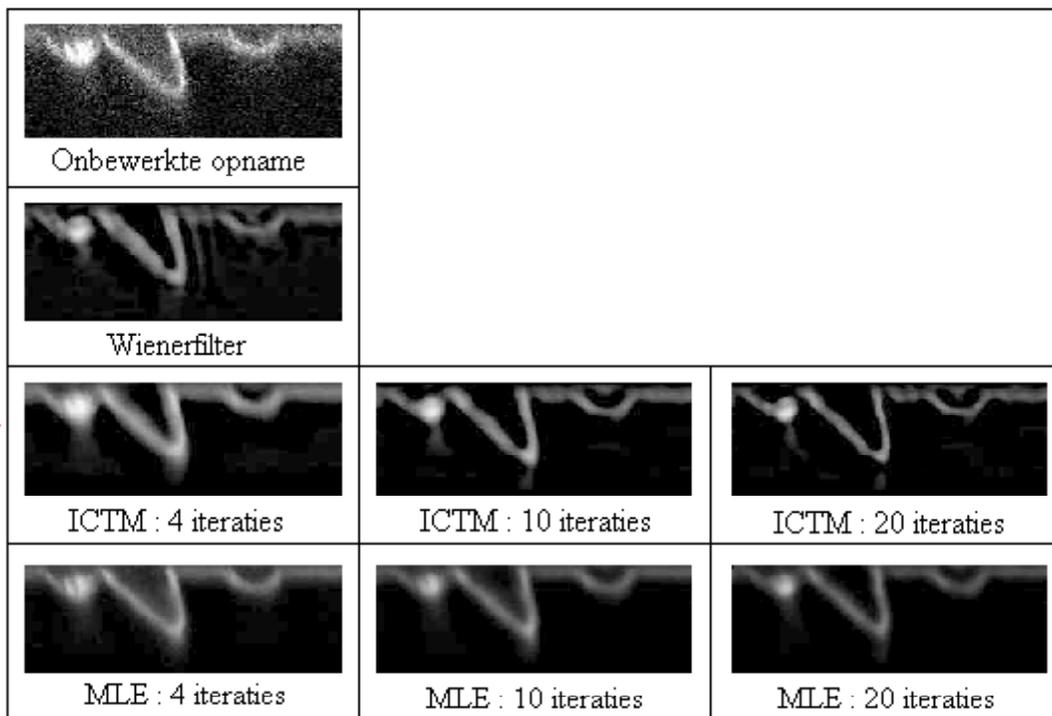
zien. Deze werden opgenomen met een confocale microscoop, en daarna werd er een yz-doorsnede gemaakt. (figuur 3-21)

Op de eerste rij is de onbewerkte opname te zien. De tweede rij toont toepassing van een Wienerfilter, terwijl op de derde rij de Tikhonov-Miller methode werd toegepast, met resp. 4, 10 en 20 iteraties. Tenslotte werd op de derde rij Maximum Likelihood toegepast, weer met resp. 4, 10 en 20 iteraties. De resultaten in figuur 3-21 tonen duidelijk de sterke en de zwakke punten van de verschillende algoritmes. Er is tot op heden echter geen objectief criterium om de kwaliteit van de gerestaureerde beelden te beoordelen. Daarom moet de experimentator zelf een oordeel vellen over de kwaliteit van de reconstructie.

- De **Quick Tikhonov-Miller methode** (QTM) is een snelle methode, maar laat duidelijk nog een aantal fouten zien, waaronder het “ringing” effect.
- De **Iteratieve Constraint Tikhonov-Miller methode**(ICTM) methode is al een stuk beter en verscherpt telkens de rand van de sporen, maar probeert ook ruis en andere onzuiverheden in het beeld te fitten. Daardoor ontstaat er weliswaar een



Figuur 3-20: Vergelijking van de theoretische PSF met de gemeten PSF op twee verschillende data



Figuur 3-21: Vergelijking van enkele restauratie-algoritmes

scherp beeld, maar naarmate het aantal iteraties toeneemt, worden meer en meer de onzuiverheden en de ruis ook in het beeld gefit.

- Tenslotte is de **Maximum Likelihood Methode** (MLE) statistisch gezien de meest verantwoorde methode, wat ook blijkt uit de meest getrouwe resultaten (weinig artefacten of fitten van onzuiverheden). Als keerzijde van de medaille is deze methode bijzonder rekenintensief.

Als besluit kunnen we stellen dat, naarmate het algoritme gesofisticeerder wordt (van boven naar onder beschouwd), er betere resultaten worden verkregen, maar dat ten koste gaat van een langere rekentijd (kan lopen tot in de orde van uren bij MLE). Het is dan aan de experimentator om uit te maken wat het beste aan zijn eisen en mogelijkheden beantwoordt.

Hoofdstuk 4

Analysetechniek: algoritme voor ellipsfitting

Voor dit hoofdstuk werd gebruik gemaakt van [3], [11] en [12].

4.1 Inleiding

Zoals hierboven werd beschreven, kan men de stralingsschade in de SSNTD's zichtbaar maken door middel van etsen, waardoor kegels worden gevormd. De geometrische parameters van deze kegels zijn, zoals reeds besproken werd, rechtstreeks in verband te brengen met de karakteristieken van de straling die het spoor veroorzaakt heeft. Dus komt het erop aan de geometrische parameters van het spoor te bepalen.

In het geval van een kegelvormig spoor zien we op de achtereenvolgende coupes steeds kleiner wordende ellipsen. Om de parameters van de sporen af te leiden uit de gerestaurerde confocale opnames, kunnen we proberen deze in te lezen en rechtstreeks aan een kegel te fitten met een gegeven oriëntatie, diepte en openingshoek. Maar we vinden enkel kegels terug bij deeltjes met hoge energieën, en daarom was het aangewezen om niet rechtstreeks aan een kegel te fitten, maar per coupe een tweedimensionale contour te fitten, waarna nog altijd een omhullende aan al deze contouren kan gefit worden. Omdat

een spoor altijd axiaal symmetrisch is, leek het het best om de verschillende coupes te fitten aan ellipsen.

4.2 Algemene vergelijking van de ellips

De algemene vergelijking van een willekeurige kegelsnede in cartesische coördinaten is:

$$a_{11}x^2 + a_{22}y^2 + a_{33} + 2a_{12}xy + 2a_{13}x + 2a_{23}y = 0.$$

Deze vergelijking is op een willekeurige factor na bepaald. Laten we voor de eenvoud onderstellen dat de term die voorkomt bij $x^2 = 1$, waardoor we kunnen schrijven dat

$$f(x, y) = x^2 + ay^2 + bxy + cx + dy + e = 0. \quad (4.1)$$

Het enige wat we kennen is een groot aantal (x, y) -waarden waaraan we een ellips moeten fitten. Dus passen we de methode toe van de kleinste kwadraten, en proberen de parameters a tot en met e in de bovenstaande vergelijking zo te bepalen dat de corresponderende kegelsnede zo goed mogelijk bij de meetpunten aansluit. Een kritische lezer zal opmerken dat in bovenstaande redenering nergens impliciet verondersteld werd dat we specifiek een ellips willen fitten. In situaties waarin men enkel over een boog van meetpunten beschikt, kan men namelijk ook parabolische of hyperbolische oplossingen vinden. Maar aangezien we in confocale opnames van sporen altijd een gesloten contour terugvinden (figuur 4-1), mogen we aannemen dat de oplossing ook een ellips zal zijn.

4.3 Ellipsfitting door kleinste-kwadratenmethode

De uitdrukking $f(x, y)$ drukt een zogenaamde algebraïsche afstand uit van een punt (x, y) tot de ellips. Wat we dus moeten doen, is de som van alle algebraïsche afstanden van de



Figuur 4-1: Voorbeeld van een coupe door een spoor

gegeven punten tot de ellips minimaliseren:

$$\mathcal{D}_s = \sum_{i=1}^N (f(x_i, y_i))^2 \quad (4.2)$$

We proberen dus de volgende uitdrukking te minimaliseren

$$\mathcal{D}_s = \sum_{i=1}^N (x_i^2 + ay_i^2 + bx_iy_i + cx_i + dy_i + e)^2 \quad (4.3)$$

Hiermee stellen we de partiele afgeleiden

$$\frac{\partial \mathcal{D}_s}{\partial a}, \frac{\partial \mathcal{D}_s}{\partial b}, \frac{\partial \mathcal{D}_s}{\partial c}, \frac{\partial \mathcal{D}_s}{\partial d} \text{ en } \frac{\partial \mathcal{D}_s}{\partial e}$$

gelijk aan nul. Daardoor verkrijgen we het volgende stelsel:

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{i=1}^N (x_i^2 + ay_i^2 + bx_iy_i + cx_i + dy_i + e) \cdot y_i^2 = 0 \\ \sum_{i=1}^N (x_i^2 + ay_i^2 + bx_iy_i + cx_i + dy_i + e) \cdot x_iy_i = 0 \\ \sum_{i=1}^N (x_i^2 + ay_i^2 + bx_iy_i + cx_i + dy_i + e) \cdot x_i = 0 \\ \sum_{i=1}^N (x_i^2 + ay_i^2 + bx_iy_i + cx_i + dy_i + e) \cdot y_i = 0 \\ \sum_{i=1}^N (x_i^2 + ay_i^2 + bx_iy_i + cx_i + dy_i + e) \cdot 1 = 0 \end{array} \right.$$

of nog:

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{i=1}^N (x_i^2y_i^2 + ay_i^4 + bx_iy_i^3 + cx_iy_i^2 + dy_i^3 + ey_i^2) = 0 \\ \sum_{i=1}^N (x_i^3y_i + ax_iy_i^3 + bx_i^2y_i^2 + cx_i^2y_i + dx_iy_i^2 + ex_iy_i) = 0 \\ \sum_{i=1}^N (x_i^3 + ax_iy_i^2 + bx_i^2y_i + cx_i^2 + dx_iy_i + ex_i) = 0 \\ \sum_{i=1}^N (x_i^2y_i + ay_i^3 + bx_iy_i^2 + cx_iy_i + dy_i^2 + ey_i) = 0 \\ \sum_{i=1}^N (x_i^2 + ay_i^2 + bx_iy_i + cx_i + dy_i + e) = 0 \end{array} \right.$$

wat kan herschreven worden als:

$$\left\{ \begin{array}{l} \left(\sum_{i=1}^N x_i^2y_i^2 \right) + a \left(\sum_{i=1}^N y_i^4 \right) + b \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i^3 \right) + c \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i^2 \right) + d \left(\sum_{i=1}^N y_i^3 \right) + e \left(\sum_{i=1}^N y_i^2 \right) = 0 \\ \left(\sum_{i=1}^N x_i^3y_i \right) + a \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i^3 \right) + b \left(\sum_{i=1}^N x_i^2y_i^2 \right) + c \left(\sum_{i=1}^N x_i^2y_i \right) + d \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i^2 \right) + e \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i \right) = 0 \\ \left(\sum_{i=1}^N x_i^3 \right) + a \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i^2 \right) + b \left(\sum_{i=1}^N x_i^2y_i \right) + c \left(\sum_{i=1}^N x_i^2 \right) + d \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i \right) + e \left(\sum_{i=1}^N x_i \right) = 0 \\ \left(\sum_{i=1}^N x_i^2y_i \right) + a \left(\sum_{i=1}^N y_i^3 \right) + b \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i^2 \right) + c \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i \right) + d \left(\sum_{i=1}^N y_i^2 \right) + e \left(\sum_{i=1}^N y_i \right) = 0 \\ \left(\sum_{i=1}^N x_i^2 \right) + a \left(\sum_{i=1}^N y_i^2 \right) + b \left(\sum_{i=1}^N x_iy_i \right) + c \left(\sum_{i=1}^N x_i \right) + d \sum_{i=1}^N y_i + e \left(\sum_{i=1}^N 1 \right) = 0 \end{array} \right.$$

Hierin zijn de voorfactoren a , b , c , d en e te bepalen. Beschouwen we volgende eenvoudige

notatie:

$$\sum_{i=1}^N x_i^k y_i^l = a_{kl} \quad (4.4)$$

en schrijven we dit stelsel in matrixvorm, dan komt er:

$$\begin{pmatrix} a_{04} & a_{13} & a_{12} & a_{03} & a_{02} \\ a_{13} & a_{22} & a_{21} & a_{12} & a_{11} \\ a_{12} & a_{21} & a_{20} & a_{11} & a_{10} \\ a_{03} & a_{12} & a_{11} & a_{02} & a_{01} \\ a_{02} & a_{11} & a_{10} & a_{01} & a_{00} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} a \\ b \\ c \\ d \\ e \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -a_{22} \\ -a_{31} \\ -a_{30} \\ -a_{21} \\ -a_{20} \end{pmatrix} \quad (4.5)$$

Dit is van de vorm $A \cdot x = b$, waarbij:

$$x = \begin{pmatrix} a \\ b \\ c \\ d \\ e \end{pmatrix}, \quad b = \begin{pmatrix} -a_{22} \\ -a_{31} \\ -a_{30} \\ -a_{21} \\ -a_{20} \end{pmatrix}.$$

4.4 Oplossen van het stelsel

Deze paragraaf is gebaseerd op [12]. In mijn eerste pogingen werd het stelsel door Gauss-eliminatie opgelost, maar dat leverde onnauwkeurige resultaten. Gauss-eliminatie voert nergens benaderingen in, maar is bijzonder gevoelig voor afrondingsfouten, vooral bij uitdrukkingen waarbij het conditiegetal van de matrix A groot is. Het conditiegetal wordt als volgt gedefinieerd:

$$K(A) = \|A\| \cdot \|A^{-1}\|.$$

Daarom is er in het onderstaande algoritme Gauss-Seidel toegepast, met sor (Successive OverRelaxation) omdat dit algoritme veel stabiel is en veel nauwkeuriger resultaten

geeft. Herschrijven we om te beginnen het stelsel

$$A \cdot x = b$$

als

$$\begin{aligned} \sum_j a_{ij} x_j &= b_i \\ a_{ii} x_i &= b_i - \sum_{j \neq i} a_{ij} x_j \end{aligned}$$

dan leidt dit tot volgend iteratieschema:

$$x_i^{(k+1)} = \frac{1}{a_{ii}} \left(b_i - \sum_{j \neq i} a_{ij} x_j^{(k)} \right). \quad (4.6)$$

Splitsen we de matrix A op als volgt:

$$\begin{aligned} A &= -L + D - R \\ -L &= \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ * & 0 & 0 & 0 & 0 \\ * & * & 0 & 0 & 0 \\ * & * & * & 0 & 0 \\ * & * & * & * & 0 \end{pmatrix}, \quad D = \begin{pmatrix} * & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & * & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & * & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & * & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & * \end{pmatrix}, \quad -R = \begin{pmatrix} 0 & * & * & * & * \\ 0 & 0 & * & * & * \\ 0 & 0 & 0 & * & * \\ 0 & 0 & 0 & 0 & * \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \end{aligned}$$

dan krijgt het iteratieschema de volgende vorm:

$$x^{(k+1)} = D^{-1}(L + R)x^{(k)} + D^{-1}b.$$

Hierbij wordt bij elke iteratie enkel gebruik gemaakt van de gevonden waarden van de vorige iteratie. Maken we echter bij de berekening van $x_i^{(k+1)}$ gebruik van de reeds

berekende $x_1^{(k+1)}, \dots; x_{i-1}^{(k+1)}$ dan hebben we de methode van Gauss-Seidel

$$x_i^{(k+1)} = \frac{1}{a_{ii}} \left(b_i - \sum_{j=1}^{i-1} a_{ij} x_j^{(k+1)} - \sum_{j=i+1}^n a_{ij} x_j^{(k)} \right) \quad (4.7)$$

of in matrixnotatie:

$$x^{(k+1)} = ((D - L)^{-1} R) x^{(k)} + (D - L)^{-1} b.$$

De verplaatsingsvector in elke iteratie bij Gauss-Seidel wordt als volgt gedefinieerd:

$$\begin{aligned} d^{(k)} &= x^{(k+1)} - x^{(k)} \\ &= D^{-1} (Lx^{(k+1)} + Rx^{(k)} - Dx^{(k)} + b) \end{aligned}$$

en als iteratieschema komt er

$$\begin{aligned} x^{(k+1)} &= x^{(k)} + \omega \cdot d^{(k)} \\ &= (I - \omega D^{-1} L)^{-1} ((1 - \omega) I + \omega D^{-1} R) x^{(k)} + \omega (I - \omega D^{-1} L)^{-1} D^{-1} b \end{aligned}$$

waaruit dan volgt dat

$$(I - \omega D^{-1} L) x^{(k+1)} = ((1 - \omega) I + \omega D^{-1} R) x^{(k)} + \omega D^{-1} b \quad (4.8)$$

met ω een parameter ($1 \leq \omega \leq 2$). Deze parameter is analytisch te berekenen, maar in feite probeert men “*experimenteel*” verschillende waarden uit om te zien bij welke waarde het snelst convergentie optreedt. Voor het gemak werd in mijn programma $\omega = 1,25$ gekozen.

Laten we bovenstaand iteratieschema uitschrijven in een bruikbare vorm. Onderstellen we verder dat $x^{(k)}$ een (3×1) -vector is, en dat de matrices I , D en L (3×3) -matrices

zijn, dan komt er:

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ \omega \cdot \frac{a_{21}}{a_{22}} & 1 & 0 \\ \omega \cdot \frac{a_{31}}{a_{33}} & \omega \cdot \frac{a_{32}}{a_{33}} & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} x_1^{(k+1)} \\ x_2^{(k+1)} \\ x_3^{(k+1)} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 - \omega & -\omega \cdot \frac{a_{12}}{a_{11}} & -\omega \cdot \frac{a_{13}}{a_{11}} \\ 0 & 1 - \omega & -\omega \cdot \frac{a_{23}}{a_{22}} \\ 0 & 0 & 1 - \omega \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} x_1^{(k)} \\ x_2^{(k)} \\ x_3^{(k)} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \omega \cdot \frac{b_1}{a_{11}} \\ \omega \cdot \frac{b_2}{a_{22}} \\ \omega \cdot \frac{b_3}{a_{33}} \end{pmatrix}$$

wat zich algemeen vertaalt in volgend iteratieschema:

- Voor $x_1^{(k+1)}$ wordt dit:

$$x_1^{(k+1)} = (1 - \omega) x_1^{(k)} - \omega \frac{\sum_{j=2}^n (a_{1j} \cdot x_j^{(k)})}{a_{11}} + \omega \frac{b_1}{a_{11}}. \quad (4.9)$$

- Voor de $x_i^{(k+1)}$, met $2 \leq i \leq n - 1$ vinden we:

$$x_i^{(k+1)} = (1 - \omega) x_i^{(k)} - \omega \frac{\sum_{j=2}^{i-1} (a_{ij} \cdot x_j^{(k)})}{a_{ii}} - \omega \frac{\sum_{j=i+1}^n (a_{ij} \cdot x_j^{(k)})}{a_{ii}} + \omega \frac{b_i}{a_{ii}}. \quad (4.10)$$

- En voor $x_n^{(k+1)}$ komt er tenslotte:

$$x_n^{(k+1)} = (1 - \omega) x_n^{(k)} - \omega \frac{\sum_{j=1}^{n-1} (a_{nj} \cdot x_j^{(k)})}{a_{nn}} + \omega \frac{b_n}{a_{nn}}. \quad (4.11)$$

4.5 Reductie van de kwadratische vergelijking van de ellips

4.5.1 Bepalen van het middelpunt van de ellips

Als de vergelijking van de ellips wordt gegeven door:

$$f(x, y) = x^2 + a \cdot y^2 + b \cdot xy + c \cdot x + d \cdot y + e = 0,$$

dan wordt het middelpunt van de ellips gegeven door het volgende stelsel naar x en y op te lossen:

$$\begin{cases} \frac{\partial f(x,y)}{\partial x} = 2 \cdot x + b \cdot y + c = 0 \\ \frac{\partial f(x,y)}{\partial y} = 2a \cdot y + b \cdot x + d = 0 \end{cases} \quad (4.12)$$

Hieruit volgt dat:

$$\begin{cases} y_0 = \frac{bc-2d}{4a-b^2} \\ x_0 = -\frac{1}{2}(b \cdot y + c) \end{cases} \quad (4.13)$$

4.5.2 Bepalen van de assen van de ellips

Om de assen van de ellips terug te vinden, moeten we volgende eigenwaardenvergelijking oplossen:

$$\begin{vmatrix} 1 - \lambda & \frac{b}{2} \\ \frac{b}{2} & a - \lambda \end{vmatrix} = 0 \quad (4.14)$$

wat we kunnen uitwerken als:

$$\begin{aligned} \Rightarrow (1 - \lambda) \cdot (a - \lambda) - \frac{b^2}{4} &= 0 \\ \Rightarrow \lambda_{1,2} &= \frac{(1 + a) \pm \sqrt{(1 + a)^2 - 4a + b^2}}{2} \end{aligned}$$

De gereduceerde vergelijking van de ellips wordt dan:

$$\lambda_1 \cdot x^2 + \lambda_2 \cdot y^2 + f(x_0, y_0) = 0$$

of nog:

$$\frac{x^2}{\frac{-f(x_0, y_0)}{\lambda_1}} + \frac{y^2}{\frac{-f(x_0, y_0)}{\lambda_2}} = 1.$$

Dus hebben we uiteindelijk voor de halve lange as en halve korte as:

$$\begin{aligned} a &= \sqrt{\left| \frac{-f(x_0, y_0)}{\lambda_1} \right|} \\ b &= \sqrt{\left| \frac{-f(x_0, y_0)}{\lambda_2} \right|} \end{aligned} \tag{4.15}$$

4.5.3 Oriëntatie van de ellips

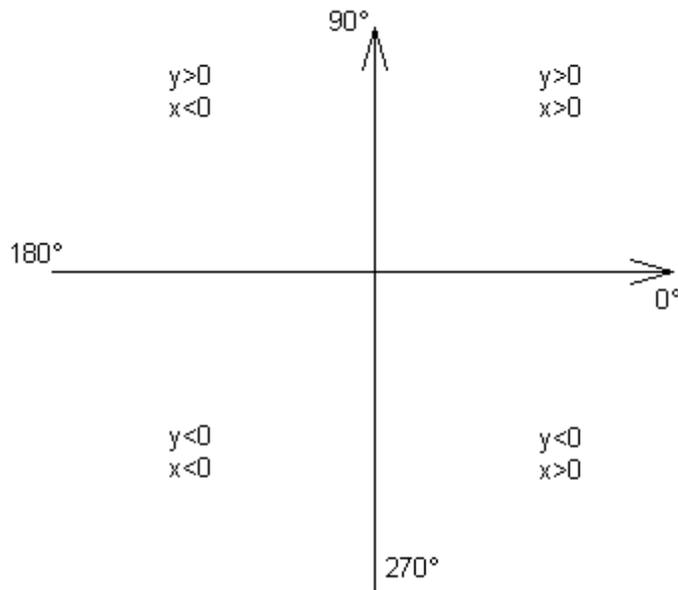
De hoek waarover de hoofdassen van de ellips gedraaid zijn ten opzichte van de x-as, wordt gegeven door de volgende formule (af te leiden uit de coördinatentransformatie om over een hoek θ te roteren, en de coëfficiënt van xy nul stellen)

$$\tan(2\theta) = \frac{b}{1-a} \tag{4.16}$$

De arctangens van deze uitdrukking nemen geeft een waarde die niet eenduidig bepaald is. Daarom moeten we bij de arctangens veelvoud van 180° bijtellen of aftrekken tot de waarde in het juiste kwadrant ligt. Stellen we

$$\tan \theta = \frac{y}{x}$$

dan kan men controleren of de overeenkomstige waarde van $\arctan\left(\frac{y}{x}\right)$ in het juiste kwadrant ligt (figuur 4-2), en indien nodig veelvoud van 180° bijtellen of aftrekken.



Figuur 4-2: Plaatsen van de arctangens in het juiste kwadrant

4.6 Het programma zelf

Het programma werd in Turbo-Pascal geschreven, en dient voornamelijk om het algoritme te ontwikkelen en de betrouwbaarheid ervan te controleren. Het is namelijk later de bedoeling om een programma te schrijven dat de verschillende coupes van een confocale opname van een spoor inleest en rechtstreeks de fitting uitvoert. In deze thesis blijft het programma echter beperkt tot het genereren van een ellips aan de hand van eigen gekozen beginparameters, daarna op deze dataset een zekere hoeveelheid ruis aan te brengen en tenslotte te checken in hoeverre de fitting overeenkomt met de gegenereerde ellips.

De ellips wordt gegenereerd door eerst de volgende parameters in te geven:

- halve lange as: a
- halve korte as: b
- x -coördinaat van het midden van de ellips: x_0
- y -coördinaat van het midden van de ellips: y_0

- hoek die de halve lange as met de x-as maakt: φ

Dan wordt de parametervoorstelling van de ellips gegeven door

$$\begin{cases} x = x_0 + (a \cdot \cos \varphi \cdot \cos \theta + b \cdot \sin \varphi \cdot \sin \theta) \\ y = y_0 + (-a \cdot \cos \varphi \cdot \sin \theta + b \cdot \sin \varphi \cdot \cos \theta) \end{cases} \quad (4.17)$$

Daarna wordt er op zowel de x - als de y -coördinaat een gaussiaanse ruis aangebracht. Eerst wordt de σ -waarde van de gaussdistributie gekozen:

$$f(x) = \frac{e^{-\frac{1}{2}(x^2/\sigma^2)}}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \quad (4.18)$$

waarna er waarden worden gegenereerd met verwachtingswaarde nul en variantie σ^2 . Deze waarden worden afwisselend bij de gegenereerde x - en y -coördinaten van de punten van de ellips opgeteld. Men kan willekeurige punten met een gaussiaanse distributie als volgt genereren. Zijn U_1 en U_2 onafhankelijke toevalsveranderlijken die uniform verdeeld zijn over $[0, 1]$, dan is:

$$X := \sqrt{-2 \cdot \ln(U_1)} \cdot \sin(2\pi U_2) \quad (4.19)$$

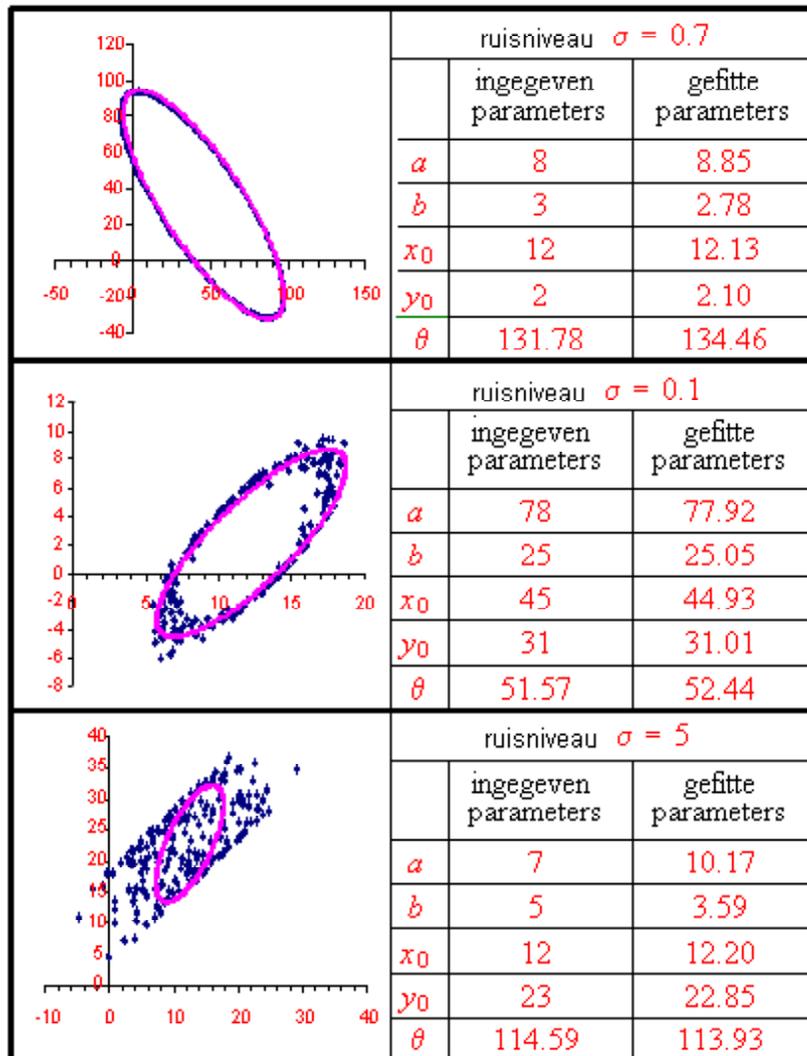
standaardnormaal verdeeld, en heeft $\sigma \cdot X$ een normale verdeling met verwachtingswaarde 0 en variantie σ^2 .

Daarna volgen nog de ellipsfitting door middel van de kleinste-kwadratenmethode, en de reductie van de vergelijking van de ellips, zoals hierboven reeds beschreven werd. De broncode van het programma is achteraan in de appendices volledig gegeven.

4.6.1 Numerieke tests

Hieronder zijn een aantal numerieke voorbeelden gegeven. De σ -waarde geeft aan hoeveel ruis er initieel werd gegenereerd op de datapunten, die op de grafieken als losse punten te zien zijn. In de linkerkolom van de tabel naast de figuur staan de oorspronkelijke parameters van de ellips, in de rechterkolom de parameters van de gefitte ellips. De

gesloten contour stelt de gefitte ellips voor.

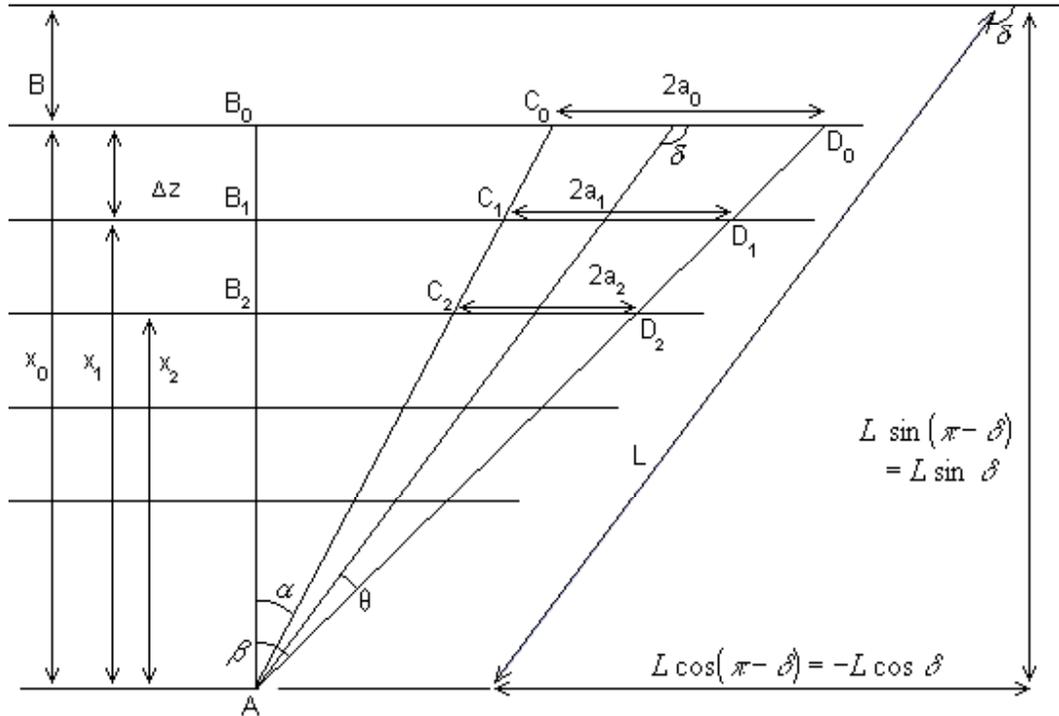


Figuur 4-3: Test van het ellipsfitalgoritme voor verschillende ruisniveaus

4.7 Toekomstig werk

Wanneer we met kegelvormige sporen te maken hebben, is het mogelijk om uit de parameters van al de ellipsen uit de verschillende coupes deze kegel volledig te beschrijven.

Als we een doorsnede beschouwen van alle coupes door de lange assen van de ellipsen op de verschillende dieptes, dan hebben we volgende situatie (figuur 4-4)



Figuur 4-4: fitten van een kegel aan de verschillende coupes

Uit figuur 4-4 blijkt dat

$$\begin{aligned}
 \tan \beta &= \frac{|B_0 D_0|}{|AB_0|} = \frac{|B_1 D_1|}{|AB_1|} = \frac{|B_2 D_2|}{|AB_2|} = \dots \\
 \tan \alpha &= \frac{|B_0 C_0|}{|AB_0|} = \frac{|B_1 C_1|}{|AB_1|} = \frac{|B_2 C_2|}{|AB_2|} = \dots \\
 \tan \beta - \tan \alpha &= \frac{|B_0 D_0| - |B_0 C_0|}{|AB_0|} = \frac{|B_1 D_1| - |B_1 C_1|}{|AB_1|} = \frac{|B_2 D_2| - |B_2 C_2|}{|AB_2|} = \dots \\
 &= \frac{2a_0}{|AB_0|} = \frac{2a_1}{|AB_1|} = \frac{2a_2}{|AB_2|} = \dots \\
 \implies \frac{a_0}{x_0} &= \frac{a_1}{x_1} = \frac{a_2}{x_2} = \dots
 \end{aligned}$$

waarbij er geldt voor

$$\begin{aligned}
 x_0 &= L \sin \delta - B \\
 &= B \frac{\sin \delta}{\sin \theta} - B \\
 &= B \left(\frac{\sin \delta}{\sin \theta} - 1 \right)
 \end{aligned}$$

met B de dikte van de detector die is weggeëtst, L de totale geëtste lengte van het spoor, θ de openingshoek van de kegel en δ de hoek tussen het spoor en het oppervlak van de detector

$$x_i = B \left(1 - \frac{\sin \delta}{\sin \theta} \right) - i \cdot \Delta z$$

dus vinden we dat

$$\frac{a_0}{x_0} = \frac{a_i}{x_i} \implies a_i = \frac{a_0}{x_0} \cdot x_i \quad (4.20)$$

$$\implies a_i = \frac{B \left(\frac{\sin \delta}{\sin \theta} - 1 \right) - i \cdot \Delta z}{B \left(\frac{\sin \delta}{\sin \theta} - 1 \right)} \cdot a_0 \quad (4.21)$$

We kunnen dus een kegel fitten door bij alle ellipsen de halve grote as in functie van a_0 uit te drukken, en dan kleinste kwadraten toe te passen voor de enig overblijvende onbekende parameters δ en θ door te stellen dat

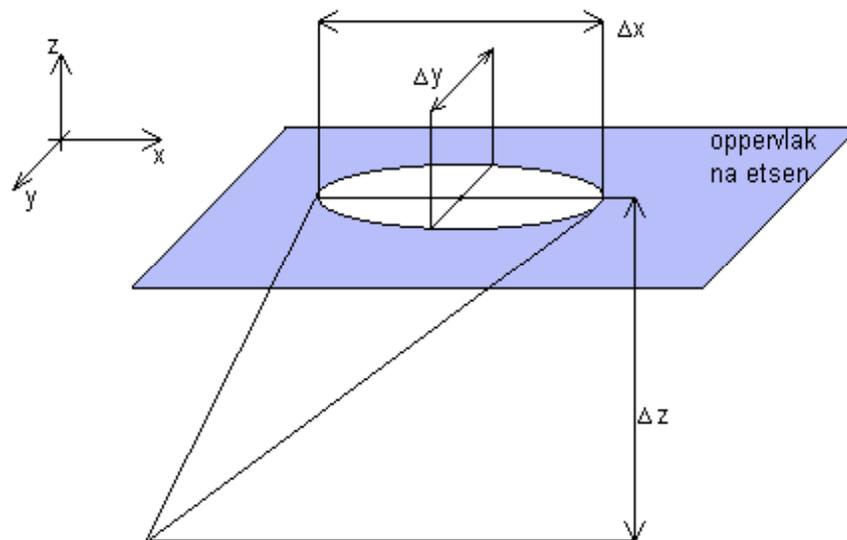
$$\begin{aligned}
 \frac{\partial}{\partial \delta} \left(\sum_i \left(a_i - \frac{B \left(\frac{\sin \delta}{\sin \theta} - 1 \right) - i \cdot \Delta z}{B \left(\frac{\sin \delta}{\sin \theta} - 1 \right)} \cdot a_0 \right)^2 \right) &= 0 \\
 \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sum_i \left(a_i - \frac{B \left(\frac{\sin \delta}{\sin \theta} - 1 \right) - i \cdot \Delta z}{B \left(\frac{\sin \delta}{\sin \theta} - 1 \right)} \cdot a_0 \right)^2 \right) &= 0
 \end{aligned}$$

waardoor de hele kegel bepaald is. Deze formules werd op het laatst reeds even getest met Excel, waarbij we goede resultaten bekwamen.

4.8 Uitmeten van een aantal detectoren

Hieronder worden een aantal praktische resultaten gegeven van **manueel uitgemeten spoordetectoren**. We beschouwen twee verschillende detectoren, de ene bestraald met lithiumionen, de andere met alfa's. Bij elk van de detectoren werd bestraald met een mono-energetische bundel die loodrecht op het oppervlak inviel. Daarna werden beide detectoren geëtsd en gekleurd met nijlblauw in een bad van $60^{\circ}C$, dat in CR-39 omslaat naar nijlrood. Deze laatste is namelijk een fluorescerende stof, waardoor opnamen met een confocale fluorescentiemicroscop mogelijk zijn. Er werd geëxciteerd met laserlicht van 488nm, en de emissie gebeurde met licht van 520nm. Om de PSF van de microscoop te bepalen, werd gebruik gemaakt van 500nm beads gekleurd met FITC, dat bijna dezelfde excitatie- en emissiegolflengte heeft als nijlrood.

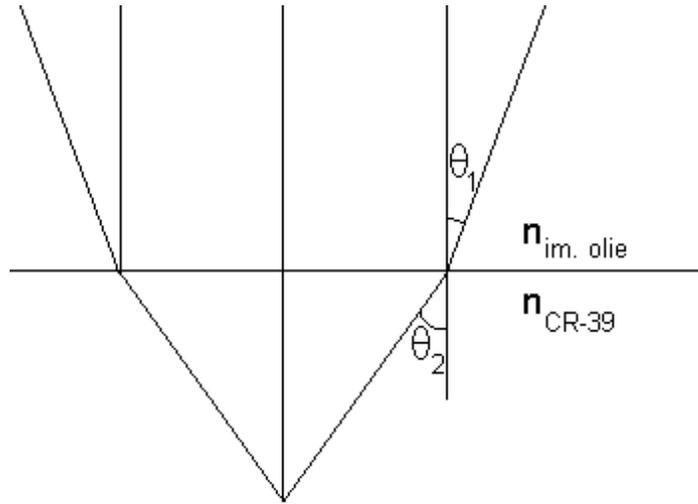
Het Huygens deconvolutiepakket laat toe om een aantal afmetingen van het spoor te bepalen. De waarde Δx en Δy stellen de diameter van het spoor aan het oppervlak voor, terwijl Δz de diepte voorstelt (figuur 4-5).



Figuur 4-5: definitie van de afmetingen van een spoor

We moeten echter rekening houden met de refractie aan het oppervlak van de detector

($n_{CR-39} = 1.501$), die in contact is met immersie-olie ($n_{im.olie} = 1.518$). (figuur 4-6)



Figuur 4-6: correctie voor refractie aan CR-39

Dat betekent dat een axiale verplaatsing door de focusmotor over Δ_s , een schijnbare verplaatsing van de focus over Δ_f veroorzaakt. In ons geval, waar $n_{im.olie} > n_{CR-39}$ zal de diepte schijnbaar groter worden dan ze in feite is. De correctiefactor wordt gegeven door

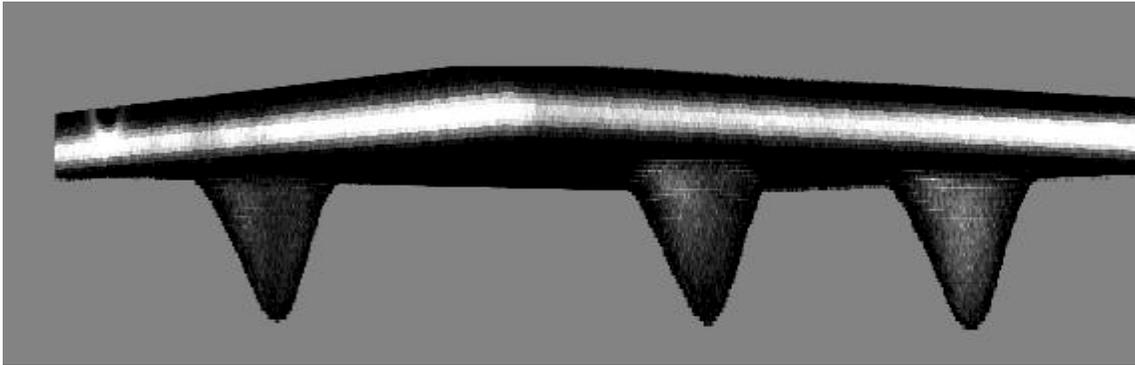
$$\Delta_f = \frac{\tan(\sin^{-1}(NA/n_{im.olie}))}{\tan(\sin^{-1}(NA/n_{CR-39}))} \Delta_s \quad (4.22)$$

waarbij

$$NA = n_{im.olie} \cdot \sin \theta_1$$

De sporen zijn opgenomen met een 60×objectief voor immersie-olie dat een numerieke apertuur heeft van 1.4. Dus wordt deze factor $\Delta_f = 0.9224$. Dat wil zeggen dat, als de motor over 1 eenheid verplaatst, de focus maar over 0.92 eenheden zal verplaatsen. Hierdoor lijkt het object een factor 1.08 langer langs de z-richting.

Lithiumsporen



Figuur 4-7: Driedimensionale weergaven van de Li-sporen

Hieronder zijn de metingen weergegeven van een aantal lithiumsporen, waarbij er reeds gecorrigeerd is voor de afwijking in de z-richting.

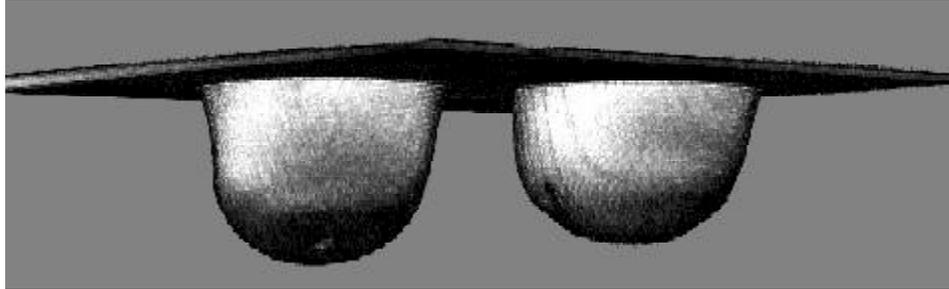
Δx	Δy	Δz
	6600	7800
5500	6200	9700
6000	5700	9200
5900	6200	10000
5700	6100	8800
5700	6100	8500

Berekenen we gemiddelde en standaarddeviatie, dan komt er

$$\begin{aligned} \overline{\Delta x} &= 5800nm & \overline{\Delta y} &= 6200nm & \overline{\Delta z} &= 9400nm \\ \sigma \{ \overline{\Delta x} \} &= 200nm & \sigma \{ \overline{\Delta y} \} &= 300nm & \sigma \{ \overline{\Delta z} \} &= 800nm \end{aligned}$$

alfasporen

Hiervoor zijn de metingen de volgende



Figuur 4-8: driedimensionale weergave van de alfasporen (overetst)

Δx	Δy	Δz
17550	18300	16300
18300	19200	14800
18150	18300	16000
18094	18100	14500
17712	18200	14500

met als gemiddelde en standaarddeviatie

$$\begin{aligned} \overline{\Delta x} &= 18000nm & \overline{\Delta y} &= 18400nm & \overline{\Delta z} &= 15200nm \\ \sigma \{ \overline{\Delta x} \} &= 300nm & \sigma \{ \overline{\Delta y} \} &= 400nm & \sigma \{ \overline{\Delta z} \} &= 900nm \end{aligned}$$

Hoofdstuk 5

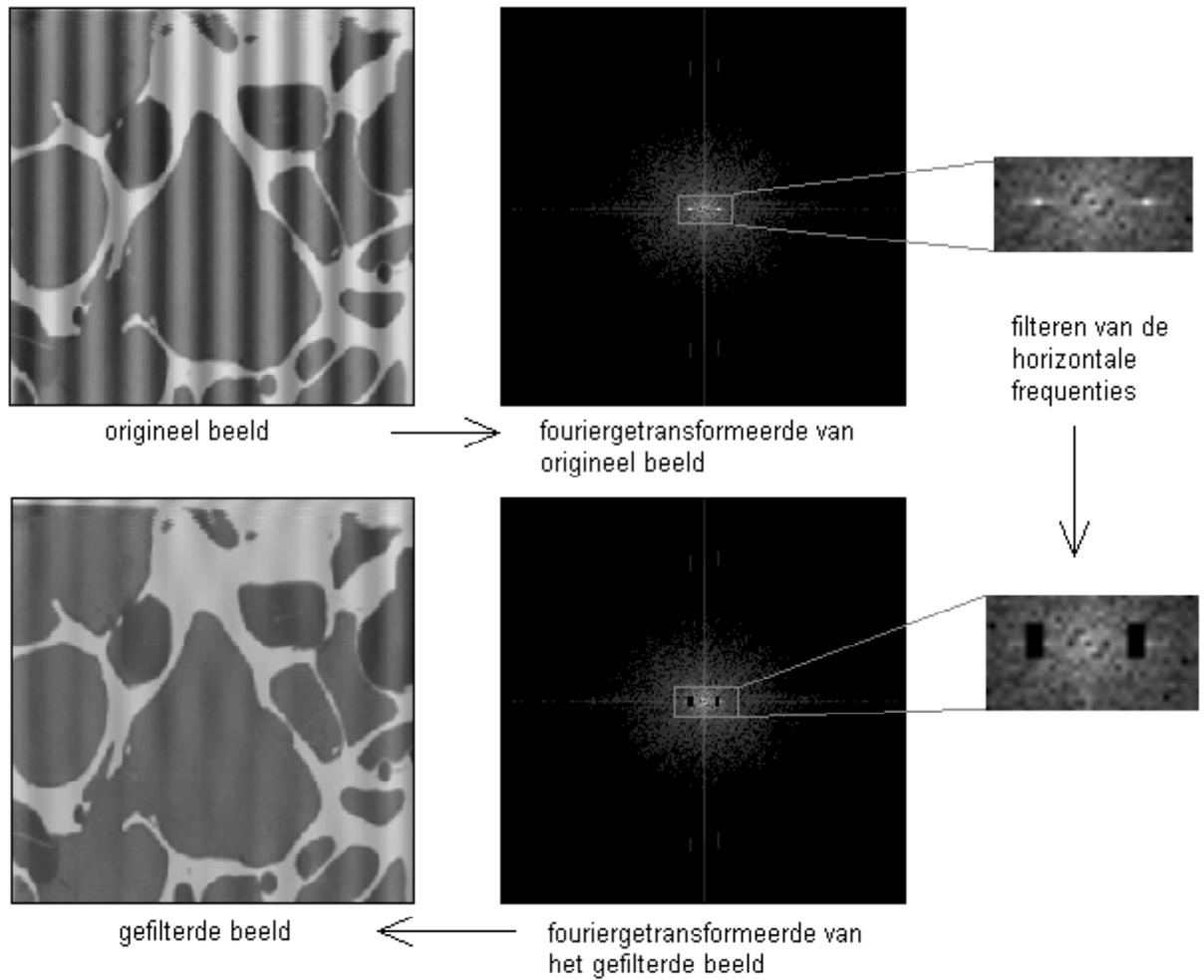
Appendices

5.1 Fouriertransformaties

Men kan een beeld zien als zijnde opgebouwd uit reeksen evenwijdige lijnen in verschillende richtingen, met verschillende intervallen, en verschillende intensiteiten. Deze geven de frequenties in de verschillende richtingen weer. Elke reeks evenwijdige lijnen met een bepaald interval en gelijke intensiteit komt zo overeen met een punt in de fourierruimte. De fouriergetransformeerde van een foto ontleedt deze in de verschillende frequenties die erin voorkomen. Met andere woorden: een patroon evenwijdige lijnen met een bepaald interval zal aanleiding geven tot een punt in de fourierruimte. Verticale lijnen geven aanleiding tot twee punten op de x -as, die symmetrisch liggen t.o.v. de oorsprong. Analooeg geven horizontale lijnen aanleiding tot frequenties op de y -as, en schuin lopende frequenties kunnen ontbonden worden in een x - en een y -component, om zo een punt in de fourierruimte te geven dat niet op de assen ligt.

Op deze manier is het mogelijk om de frequenties te gaan verwijderen of toe te voegen door in de fourierruimte te gaan ingrijpen. Als we de reeks heldere verticale stroken willen verwijderen, kunnen we gewoon de overeenkomstige frequentie verwijderen in de fourierruimte. De frequenties die van linksboven naar rechtsonder lopen op de foto, geven aanleiding tot punten in de fourierruimte die van rechtsboven naar linksonder lopen.

Door deze punten te verwijderen en de inverse transform te nemen, houden we enkel de onderliggende structuur over...(figuur 5-1)



Figuur 5-1: betekenis van de fouriertransformatie

5.2 De PSF

Zoals reeds eerder vermeld, is de PSF de afbeelding van een mathematisch punt door de optiek. Deze puntverdeling wordt in de wiskunde gegeven door een deltafunctie, die in

integraalvorm gegeven wordt door

$$\begin{aligned}\delta(t-x) &= \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} e^{i\omega(t-x)} d\omega \\ &= \frac{1}{2\pi} \left[\int_{-\infty}^{+\infty} \cos \omega(t-x) d\omega + i \int_{-\infty}^{+\infty} \sin \omega(t-x) d\omega \right]\end{aligned}$$

Aangezien de sinus een oneven functie is, valt bij integratie over symmetrische grenzen de tweede term weg. Aangezien we nu weten dat een optisch systeem enkel frequenties ω toelaat beneden een bepaalde maximale absolute waarde, vinden we :

$$\begin{aligned}\hat{\delta} &= \frac{1}{2\pi} \left[\int_{-\nu_{max}}^{+\nu_{max}} \cos \omega(t-x) d\omega + i \int_{-\nu_{max}}^{+\nu_{max}} \sin \omega(t-x) d\omega \right] \\ &= \frac{1}{2\pi} \int_{-\nu_{max}}^{+\nu_{max}} \cos \omega(t-x) d\omega\end{aligned}$$

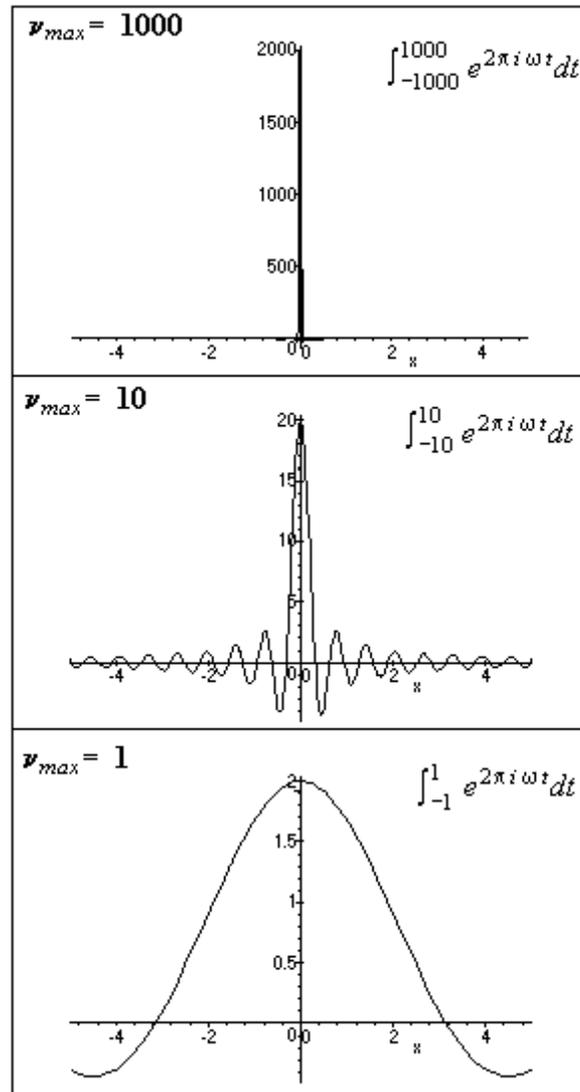
Bekijken we als voorbeeld een aantal verschillende waarden voor kleinere integratie-intervallen:

Hieruit is duidelijk te zien dat de piek voor een klein integratie-interval een breed uitgesmeerde piek vertoont, terwijl deze voor toenemende frequentie-intervallen steeds beter de deltafunctie gaat benaderen.

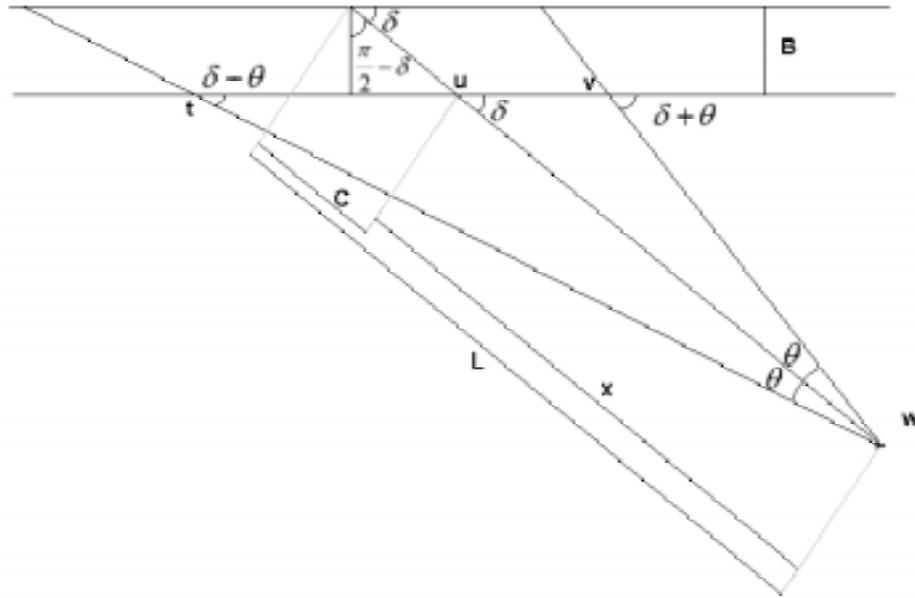
5.3 Afleiding van de halve lange en korte as van de ellips aan het oppervlak van een SSNTD na etsen

5.3.1 De halve lange as van de ellips

De halve grote as van de ellips die aan het oppervlak van een detector teruggevonden wordt, is als volgt terug te vinden. Bovenstaande tekening geeft een spoor weer die doorgesneden is met een vlak loodrecht op het oppervlak van de detector, waarbij de as van het spoor in het snijvlak ligt. De lange as van de ellips is dan op bovenstaande tekening voorgesteld door het lijnstuk $|tv|$. Om de lengte van dit lijnstuk uit te drukken



Figuur 5-2: Uitsmeren van een punt naarmate het integratie-interval verkleint



Figuur 5-3: halve lange as van de ellips

in waar te nemen grootheden, zijnde de hoek δ die de kegel met het oppervlak maakt, de openingshoek van de kegel θ , de lengte L van het spoor en de weggeëtste dikte B van de detector. De lengte van de as van de kegel tot het oppervlak

$$\begin{aligned}
 x &= L - C \\
 &= L - \frac{B}{\sin \theta} \\
 &= \frac{B}{\sin \delta} - \frac{B}{\sin \theta}
 \end{aligned}$$

Toepassen van de sinusregel op $\Delta u w v$ levert

$$\frac{x}{\sin(\pi - (\delta + \theta))} = \frac{|uw|}{\sin(\theta)}$$

Toepassen van de sinusregel op $\triangle tuw$ levert

$$\begin{aligned}\frac{x}{\sin(\delta - \theta)} &= \frac{|tu|}{\sin(\theta)} \\ \implies \frac{|uw| + |tu|}{\sin(\theta)} &= \frac{2a}{\sin(\theta)}\end{aligned}\tag{5.1}$$

waarbij $2a$ twee keer de halve lange as van de ellips is. Verder uitwerken van deze uitdrukking levert

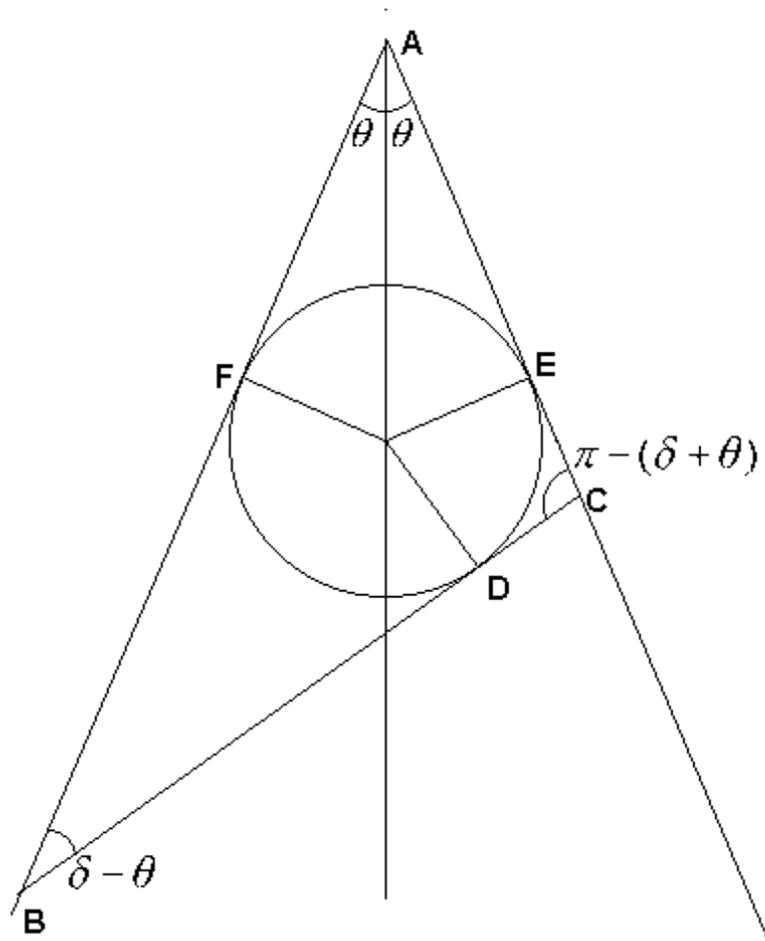
$$\begin{aligned}\frac{2a}{\sin(\theta)} &= \frac{x}{\sin(\pi - (\delta + \theta))} + \frac{x}{\sin(\delta - \theta)} \\ &= x \left(\frac{1}{\sin(\delta + \theta)} + \frac{1}{\sin(\delta - \theta)} \right) \\ &= x \left(\frac{1}{\sin \delta \cos \theta + \cos \delta \sin \theta} + \frac{1}{\sin \delta \cos \theta - \cos \delta \sin \theta} \right)\end{aligned}$$

Stellen we voor de eenvoud van notatie $\sin \delta \cos \theta = u$ en $\cos \delta \sin \theta = v$ dan kunnen we schrijven dat

$$\begin{aligned}a &= \frac{\sin(\theta)}{2} \cdot x \left(\frac{1}{u + v} + \frac{1}{u - v} \right) \\ &= \frac{\sin(\theta)}{2} \cdot x \cdot \frac{2u}{u^2 - v^2} \\ &= \frac{\sin(\theta)}{2} \cdot \left(\frac{B}{\sin \delta} - \frac{B}{\sin \theta} \right) \cdot \frac{2 \sin \delta \cos \theta}{(\sin \delta \cos \theta)^2 - (\cos \delta \sin \theta)^2} \\ &= B \sin(\theta) \left(\frac{\sin \theta - \sin \delta}{\sin \delta \cdot \sin \theta} \right) \cdot \frac{\sin \delta \cos \theta}{\sin^2 \delta \cdot (1 - \sin^2 \theta) - (1 - \sin^2 \delta) \sin^2 \theta} \\ &= B \cdot \frac{\cos \theta (\sin \theta - \sin \delta)}{\sin^2 \delta \cdot (1 - \sin^2 \theta) - (1 - \sin^2 \delta) \sin^2 \theta} \\ &= B \cdot \frac{\cos \theta (\sin \theta - \sin \delta)}{\sin^2 \delta - \sin^2 \delta \sin^2 \theta - \sin^2 \theta + \sin^2 \theta \sin^2 \delta} \\ &= B \cdot \frac{\cos \theta (\sin \theta - \sin \delta)}{\sin^2 \delta - \sin^2 \theta} \\ &= B \cdot \frac{\cos \theta (\sin \theta - \sin \delta)}{(\sin \theta - \sin \delta) (\sin \theta + \sin \delta)}\end{aligned}$$

$$= B \cdot \frac{\cos \theta}{(\sin \theta + \sin \delta)}$$

5.3.2 De halve korte as van de ellips



Figuur 5-4: afleidingen van de halve korte as van de ellips

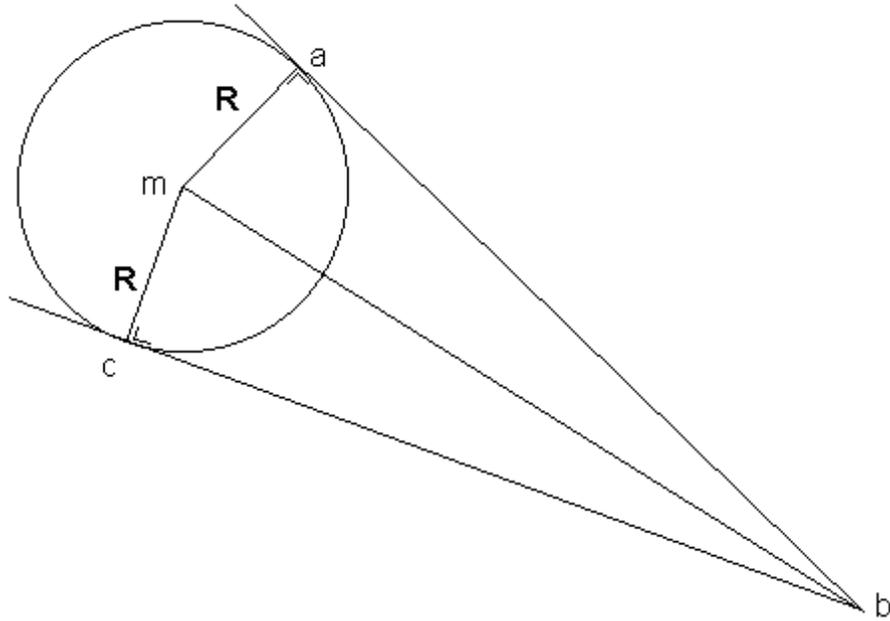
Op bovenstaande tekening is een tekening te zien van het spoor in dezelfde geometrie als hierboven. We weten reeds dat $|BC| = 2a$

In $\triangle ABC$ kunnen we weer de sinusregel toepassen, waardoor we verkrijgen dat

$$\frac{|AB|}{\sin(\theta + \delta)} = \frac{2a}{\sin(2\theta)} = \frac{|AC|}{\sin(\delta - \theta)}$$

Verder is

$$2a - |CD| = |BD|$$



Figuur 5-5: lijnstukken vanuit b tot hun raakpunt met de cirkel hebben een gelijke lengte

Op figuur 5-5 duidelijk te zien dat lijnstukken vanuit een punt b tot hun raakpunt met een zelfde cirkel (respectievelijk a en c) een gelijke lengte hebben: $|ac| = |bc|$, aangezien $\triangle amb$ en $\triangle bmc$ congruent zijn. Dus zijn ook de hoeken \widehat{cbm} en \widehat{mba} gelijk zijn.

Passen we dit toe op bovenstaande situatie, dan bekommen we dat $|BD| = |BF|$, $|AF| = |AE|$ en $|CE| = |CD|$, waaruit volgt dat

$$\begin{aligned} 2a - |CD| &= |BF| = |AB| - |AF| \\ &= |AB| - |AE| \\ &= |AB| - (|AC| - |CE|) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= |AB| - (|AC| - |CD|) \\
&= |AB| - |AC| + |CD|
\end{aligned}$$

Dus komt er dat

$$\begin{aligned}
2a - 2|CD| &= |AB| - |AC| \\
&= \frac{2a}{\sin(2\theta)} \cdot (\sin(\delta + \theta) - \sin(\delta - \theta)) \\
&= \frac{2a}{\sin(2\theta)} \cdot ((\sin \delta \cos \theta + \cos \delta \sin \theta) - (\sin \delta \cos \theta - \cos \delta \sin \theta)) \\
&= \frac{2a}{\sin(2\theta)} \cdot 2 \cos \delta \sin \theta \\
&= \frac{4a \cos \delta \sin \theta}{2 \sin \theta \cos \theta} \\
&= \frac{2a \cos \delta}{\cos \theta}
\end{aligned}$$

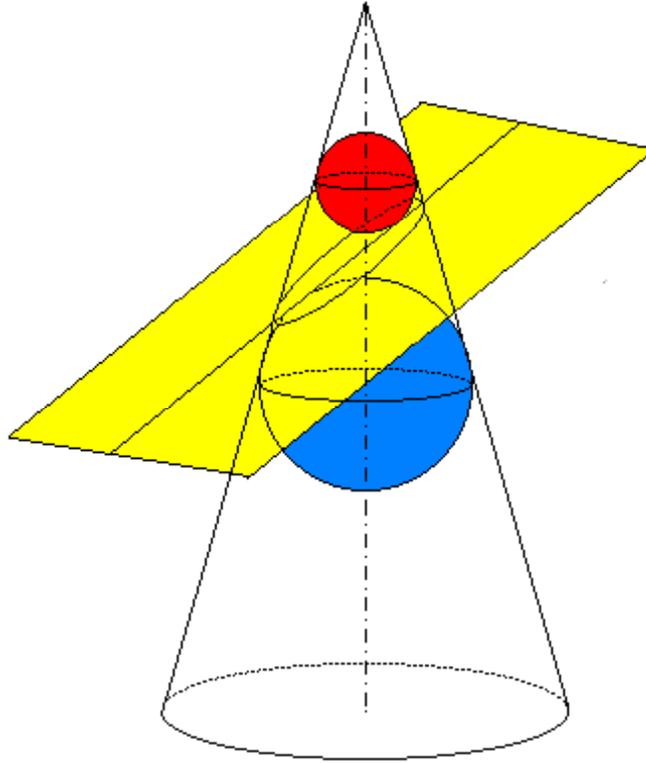
waaruit volgt dat

$$a - |CD| = \frac{a \cos \delta}{\cos \theta}$$

Maken we nu gebruik van de stelling van Quételet-Dandelin. Deze zegt dat men in een kegel die wordt doorsneden met een snijvlak dat een ellips oplevert, men precies één bol boven en één bol onder het snijvlak kan passen die aan de kegel en het snijvlak raken, waarbij de bollen het snijvlak raken in de brandpunten van de ellips (figuur 5-6)

Hieruit volgt dat

$$\begin{aligned}
b &= \sqrt{a^2 - (a - |CD|)^2} \\
&= \sqrt{a^2 - \left(\frac{a \cos \delta}{\cos \theta}\right)^2} \\
&= a \cdot \sqrt{1 - \left(\frac{\cos \delta}{\cos \theta}\right)^2}
\end{aligned}$$



Figuur 5-6: stelling Van Quételet-Dandelin

$$\begin{aligned}
 &= a \cdot \sqrt{\frac{\cos^2 \theta - \cos^2 \delta}{\cos^2 \theta}} \\
 &= \frac{a}{\cos \theta} \cdot \sqrt{(1 - \sin^2 \theta) - (1 - \sin^2 \delta)} \\
 &= \frac{a}{\cos \theta} \cdot \sqrt{\sin^2 \delta - \sin^2 \theta} \\
 &= B \cdot \frac{\cos \theta}{\cos \theta (\sin \theta + \sin \delta)} \sqrt{(\sin \delta - \sin \theta) (\sin \delta + \sin \theta)} \\
 &= B \sqrt{\frac{(\sin \delta - \sin \theta)}{(\sin \theta + \sin \delta)}}
 \end{aligned}$$

5.4 Discretisatie van convoluties en normen

Omdat beelden geen continue functies zijn, maar enkel discrete waarden hebben, kunnen we de integralen vervangen door sommaties. In deze appendix probeer ik enkele uitdrukkingen in een discrete gedaante uit te werken. Meer informatie over discrete behandeling van deconvolutie is te vinden op <http://www.imm.dtu.dk/~pch/Regularization/deconv.html>.

We schrijven een integraal in discrete vorm door gebruik te maken van de kwadratuurregels :

$$\int \widehat{f}(t) \cdot dx \approx \sum_{i=1}^n \widehat{f}(t_i) \cdot w_i$$

met t_i de discrete meetpunten, en de factoren w_i de overeenkomstige gewichtsfactoren ($1/n$ voor de regel van Simpson). Dan vinden we voor een convolutie

$$\begin{aligned} g(t) &= (h \otimes \widehat{f})(t) = \int h(s-t) \cdot \widehat{f}(t) dt \\ \implies g(t_i) &= \sum_{j=1}^n h(s_i - t_j) \widehat{f}(t_j) \cdot w_j \end{aligned} \quad (5.2)$$

of in matrixnotatie

$$\begin{pmatrix} w_1 h(s_1 - t_1) & w_2 h(s_1 - t_2) & \dots & w_n h(s_1 - t_n) \\ w_1 h(s_2 - t_1) & w_2 h(s_2 - t_2) & \dots & w_n h(s_2 - t_n) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ w_1 h(s_n - t_1) & w_2 h(s_n - t_2) & \dots & w_n h(s_n - t_n) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \widehat{f}(t_1) \\ \widehat{f}(t_2) \\ \vdots \\ \widehat{f}(t_n) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} g(t_1) \\ g(t_2) \\ \vdots \\ g(t_n) \end{pmatrix}$$

of kortweg

$$H \cdot \widehat{f} = g$$

De elementen $[H]_{ij}$ zijn enkel afhankelijk van het verschil $i - j$ wat we kunnen inzien uit 5.2. Zulke matrices worden Toeplitz-matrices genoemd, en komen altijd voor bij

convoluties. Algemeen is een Toeplitz-matrix van de vorm:

$$H = \begin{pmatrix} h_0 & h_{-1} & h_{-2} & h_{-3} & \dots & h_{1-n} \\ h_1 & h_0 & h_{-1} & h_{-2} & \dots & h_{2-n} \\ h_2 & h_1 & h_0 & h_{-1} & \dots & h_{3-n} \\ h_3 & h_2 & h_1 & h_0 & \dots & h_{4-n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots \\ h_{n-1} & h_{n-2} & h_{n-3} & h_{n-4} & \dots & h_0 \end{pmatrix}$$

We kunnen de volgende uitdrukking herwerken tot

$$\begin{aligned} \mathbf{r}_k &= -\frac{1}{2} \nabla_f \Phi(\hat{f}) \\ &= -\frac{1}{2} \nabla_F \left(\|g - h \otimes \hat{f}\|^2 + \eta \|\hat{f}\|^2 \right) \\ &= -\frac{1}{2} \nabla_f \left(|g - H\hat{f}|^2 + \eta |\hat{f}|^2 \right) \\ &= -\frac{1}{2} \nabla_f \left((g - H\hat{f})^T (g - H\hat{f}) + \eta \cdot \hat{f}^T \cdot \hat{f} \right) \\ &= H^T (g - H\hat{f}) + \eta \cdot \hat{f} \end{aligned}$$

Verder geldt dat

$$\begin{aligned} G(\omega) &= \int g(x) \cdot e^{-2\pi i \omega x} dx \\ \Rightarrow G(-\omega) &= \int g(x) \cdot e^{2\pi i \omega x} dx = G^*(\omega) \end{aligned}$$

Dit belangrijke resultaat voor reëelwaardige functies zegt het volgende: de fouriergetransformeerde van de gespiegelde functie $G(-\omega)$ is de complex toegevoegde van de fouriergetransformeerde van die functie $G^*(\omega)$. Dat wil dan zeggen dat met de functie H^* in het fourierdomein de matrix H^T overeenkomt, waardoor er uiteindelijk komt:

$$\begin{aligned} \mathbf{r}_k &= -\frac{1}{2}\nabla_f\Phi(\hat{f}) \\ &= (\|h\|^2 + \eta)\hat{f} + h^* \otimes g \end{aligned}$$

5.5 Sourcecode van het programma

```

program fitting;
uses crt;
const
  n = 5;
  omega = 1.25;
  pi=3.14159265359;
  maxrij = 200;
  maxkol = 2;
type
  matrix = array [1..maxrij,1..maxkol] of real;
  uit = text;
var
  aa, bb, cc, dd, ee : real;
  i, j, k, l : integer;
  xmid, ymid, thetauit, a0, b0, lam1, lam2 : real;
  tg2theta, thetana, fxy : real;
  A : array [1..5,1..5] of real;
  b, g, h, x : array [1..5] of real;
  ellipsvoor, ellipsna : uit;
  mat : matrix;
  rij : 1..maxrij;

```

```

kol : 1..maxkol;
a04, a03, a02, a01, a00, a13, a12 : real;
a11, a10, a23, a22 : real;
a21, a20, a31, a30 : real;
xi, yi, phi, xx, yy : real;
u1, u2, u3, u4, ruis1, ruis2 : real;
mu, sigma, som, som1 : real;
theta, x0, y0, ael, bel : real;
begin
  assign (ellipsvoor, 'ellipsvoor.txt');
  assign (ellipsna, 'ellipsna.txt');
  rewrite (ellipsvoor);
  writeln('ruis met verwachtingswaarde 0 en variantie sigma');
  writeln('geef sigma : ');read(sigma);
  mu:=0;
  randomize;

  write('geef orientatie : '); readln(theta);
  write('geef halve lange as : '); readln(ael);
  write('geef halve korte as : '); readln(bel);
  write('geef x-coördinaat van midden ellips : '); readln(x0);
  write('geef y-coördinaat van midden ellips : '); readln(y0);

{invoer van te fitten punten}
  for rij := 1 to maxrij do
    begin
      phi := ((2*pi)/maxrij)*rij;
      u1:=random;

```

```

        u2:=random;
        ruis1:=sqrt(-2*ln(u1))*sin(2*pi*u2);
        ruis1:=sigma*ruis1+mu;
    xx := x0 + ( ael*cos(phi)*cos(theta) + bel*sin(phi)*sin(theta) );
    xx := xx+ruis1;
write (ellipsvoor, xx:5:3,','');
        u3:=random;
        u4:=random;
        ruis2:=sqrt(-2*ln(u1))*sin(2*pi*u2);
        ruis2:=sigma*ruis2+mu;
    yy := y0 + (-ael*cos(phi)*sin(theta) + bel*sin(phi)*cos(theta) );
    yy:=yy+ruis2;
writeln (ellipsvoor, yy:5:3);
    for kol := 1 to maxkol do
        begin
            if kol = 1 then
                begin
                    mat[rij,kol] := xx;
                end;
            if kol = 2 then
                begin
                    mat[rij,kol] := yy;
                end;
        end;
    end;
end;
    close(ellipsvoor);
{initialisatie coëfficiënten kl kw stelsel}
    a04:=0; a03:=0; a02:=0; a01:=0; a00:=0;

```

```

a13:=0; a12:=0; a11:=0; a10:=0;
a23:=0; a22:=0; a21:=0; a20:=0;
a31:=0; a30:=0;

{berekening coeff stelsel kl kwad}
for rij := 1 to maxrij do
  begin
xi := mat[rij,1];
yi := mat[rij,2];
a04:=a04 + yi*yi*yi*yi;
a03:=a03 + yi*yi*yi;
a02:=a02 + yi*yi;
a01:=a01 + yi;
a00:=a00 + 1;
a13:=a13 + xi*yi*yi*yi;
a12:=a12 + xi*yi*yi;
a11:=a11 + xi*yi;
a10:=a10 + xi;
a23:=a23 + xi*xi*yi*yi*yi;
a22:=a22 + xi*xi*yi*yi;
a21:=a21 + xi*xi*yi;
a20:=a20 + xi*xi;
a31:=a31 + xi*xi*xi*yi;
a30:=a30 + xi*xi*xi;
end;

{bouwen matrix}
A[1,1]:=a04; A[1,2]:=a13; A[1,3]:=a12; A[1,4]:=a03; A[1,5]:=a02;
A[2,1]:=a13; A[2,2]:=a22; A[2,3]:=a21; A[2,4]:=a12; A[2,5]:=a11;

```

```

A[3,1]:=a12; A[3,2]:=a21; A[3,3]:=a20; A[3,4]:=a11; A[3,5]:=a10;
A[4,1]:=a03; A[4,2]:=a12; A[4,3]:=a11; A[4,4]:=a02; A[4,5]:=a01;
A[5,1]:=a02; A[5,2]:=a11; A[5,3]:=a10; A[5,4]:=a01; A[5,5]:=a00;

```

```

b[1]:=-a22; b[2]:=-a31; b[3]:=-a30; b[4]:=-a21; b[5]:=-a20;

```

```

{Gauss Seidel met SOR}

```

```

for l:=1 to 100 do

```

```

    begin{for l}

```

```

        for i:=1 to n do

```

```

            begin

```

```

                g[i]:=0; h[i]:=0;

```

```

            end;

```

```

        for j:=2 to n do

```

```

            begin{for i}

```

```

                g[1]:= g[1] + a[1,j] * x[j];

```

```

            end;{for i}

```

```

        x[1]:=(1-omega)*x[1]-(omega/a[1,1])*(g[1])+omega*b[1]/a[1,1];

```

```

    for i:=2 to n-1 do

```

```

        begin{for i}

```

```

            for j:=i+1 to n do

```

```

                begin{for j}

```

```

                    g[i]:=g[i]+a[i,j]*x[j];

```

```

                end;{for j}

```

```

            for j:=1 to i-1 do

```

```

                begin{for j}

```

```

                h[i]:=h[i]+a[i,j]*x[j];
            end;{for j}
            x[i]:=(1-omega)*x[i]-(omega/a[i,i])*(g[i]+h[i]-b[i]);
        end;{for i}

        for j:= 1 to n-1 do
            begin{for j}
                h[n]:=h[n]+a[n,j]*x[j];
            end;{for j}
            x[n]:=(1-omega)*x[n]-(omega*(h[n]-b[n])/a[n,n]);
        end;{for l}

```

{reductie van de vgl van de ellips}

{invoer}

aa:=x[1];

bb:=x[2];

cc:=x[3];

dd:=x[4];

ee:=x[5];

{middelpunt}

ymid:=(bb*cc-2*dd)/(4*aa-bb*bb);

xmid:=(-1/2)*(bb*y0+cc);

{hoofdassen}

fxy:=sqr(x0)+aa*sqr(y0)+bb*x0*y0+cc*x0+dd*y0+ee;

lam1:=(0.5)*((1+aa)+sqrt(sqr(1+aa)-4*aa+sqr(bb)));

```
lam2:= (0.5)*((1+aa)-sqrt(sqr(1+aa)-4*aa+sqr(bb)));
```

```
a0:=sqrt(abs(-fxy/lam2));
```

```
b0:=sqrt(abs(-fxy/lam1));
```

```
{orientatie}
```

```
if abs(1-aa)>0.00000000001
```

```
then
```

```
begin
```

```
tg2theta:=bb/(1-aa);
```

```
thetana:=thetait;
```

```
thetait:=-arctan(tg2theta)/2;
```

```
thetait:=(thetait/(2*pi))*360;
```

```
if (bb>=0) and (aa<0) then
```

```
thetait:=thetait+180;
```

```
if (bb<=0) and (aa<0) then
```

```
thetait:=thetait+180;
```

```
if (bb<=0) and (aa>0) then
```

```
thetait:=thetait+360;
```

```
end
```

```
else
```

```
begin
```

```
thetait := 90;
```

```
thetait:=thetait/2;
```

```
end;
```

```
{uitvoer}
```

```

clrscr;
for i := 1 to n do
begin
  writeln('x',i,' = ',x[i]);
end;
writeln('lambda 1 : ',lam1);
writeln('lambda 2 : ',lam2);
writeln('f(x0,y0) : ',fxy);
writeln('halve lange as a : ',a0);
writeln('halve korte as b : ',b0);
writeln('midden (x0,y0) : (',xmid,' , ',ymid,')');
writeln('gevonden hoek : ',thetait);
writeln('originele hoek : ',(theta/(2*pi))*360);

som:=0;
som1:=0;
for i:= 1 to maxrij do
  begin
    som:=som+sqr(sqr(mat[i,1])+aa*sqr(mat[i,2])+bb*mat[i,1]*mat[i,2]+
    cc*mat[i,1]+dd*mat[i,2]+ee);
  end;
som:=som/(maxrij-5);
writeln('gem kwad afw : ',som);
for i:= 1 to maxrij do
  begin
    som1:=som1 + sqr(sigma)*(2*x0+2*sqr(aa)*y0+sqr(bb)*(sqr(x0)+sqr(y0))
+sqr(cc)+sqr(dd));
  end;

```

```

    end;
som1:=sqr(sigma)*(2*x0+2*sqr(aa)*y0+sqr(bb)*(sqr(x0)+sqr(y0))+sqr(cc)+sqr(dd));
writeln(sqr(som1));
rewrite (ellipsna);
for rij := 1 to maxrij do
    begin
        phi := ((2*pi)/maxrij)*rij;
        xx := xmid + ( a0*cos(phi)*cos(thetana) + b0*sin(phi)*sin(thetana) );
write (ellipsna, xx:5:3,','');
        yy := ymid + (-a0*cos(phi)*sin(thetana) + b0*sin(phi)*cos(thetana) );
writeln (ellipsna, yy:5:3);

end;
    close(ellipsna);
repeat until keypressed;

end.

```

Bibliografie

- [1] *Nuclear Tracks in Solids* (Robert L. Fleischer, P. Buford Price & Robert M. Walker) University of California Press 1975
- [2] *Principles of Three-Dimensional Imaging in Confocal Microscopes* (Min Gu) World Scientific Publishing 1996
- [3] *Direct Least Square Fitting of Ellipses* (A.W. Fitzgibbon, M Pilu, R.B Fisher)
- [4] *On geometry of tracks in dielectric nuclear track detectors* (R.P. Henke, E.V. Benton) Nuclear Instruments and Methods 97 (1971)
- [5] *Development of etched nuclear tracks* (G. Somogyi) Nuclear instruments and methods 173 (1980)
- [6] *Track-diameter kinetics in dielectric track detectors* (G. Somogyi, S.A. Szalay) Nuclear instruments and methods 109 (1973)
- [7] *Evidence for Correlated Changes in the Spectrum and Composition of Cosmic Rays at extremely high Energies* (D.J Bird, S.C Corbato, ...) Physical Review Letters vol. 71 nr. 21
- [8] *A study of Cosmic Ray Nuclei, with Charge $Z \geq 2$, at Civil Aviation Altitudes in the Earth's Atmosphere* (Julie M. Byrne) Master in Science Thesis in 1995 at the University of Dublin
- [9] *cursus Kernfysische Instrumentatie* (prof. H Ferdinande) Universiteit Gent

- [10] cursus *Stralingsdosimetrie* (prof D. De Frenne) Universiteit Gent
- [11] cursus *Statistiek* (prof. H De Meyer) Universiteit Gent
- [12] cursus *Numerieke Analyse* (prof. J Van der Jeugt) Universiteit Gent
- [13] *Numerical Recipes in C* (Press, Flannery, Teukolsky, Vetterling) Cambridge University Press
- [14] *Guidance on Radiation recieved in Space Activities* (National Council on Radiation Protection and Measurements) NCRP Report nr. 98 (Juli 1989)
- [15] *Confocal Microscopy* (J.W. Lichtman) Scientific American (augustus 1994)
- [16] *Numerical Aspects of Deconvolution* (Per C. Hansen) Technical University of Dublin 1998
- [17] *Computational Deblurring of Fluorescence Microscope Images* (P.J. Shaw)
- [18] *A Comparisson of image restoration approaches applied to three-dimensional confocal and wide-field fluorescence microscopy* (P.J. Verveer, M.J. Gemkow, T.M. Jovin) Journal of Microscopy Vol 193 (januari 1999)
- [19] *Restoration of confocal images for quantitative image analysis* (H.T.M. van der Voort, K.C. Strasters) Journal of Microscopy Vol 178 (december 1994)
- [20] *Restoration Newsletter of STScI's Image Restoration Project* (zomer 1993, nr1)
- [21] *The Restoration of HST Images and Spectra II* (proceedings of a workshop held at The Space Telecope Science Institute Baltimore Maryland USA 18/19 novemer 1993)
- [22] cursus *Optica en Quantumelectronica* (Prof. P Clauws) Universiteit Gent
- [23] *Die Auflösung wellenoptisch gesehen*

[24] *Transmitted-light Microscopy for Biology: A Physicists' point of view part 1* (Jaromir Plášek en Josef Reichig) Vol 33/2 Proceedings RMS juni '98

Interessante internetadressen

- <http://www.estec.esa.nl>
ESA Estec
- <http://www.svi.nl>
Scientific Volume Imaging: schreven het Huygens deconvolutiepakket
- <http://www.cs.ubc.ca/spider/ladic/confocal.html>
3D confocal microscopy, met freeware, interessante links, ...
- <http://brcweb.bio.cornell.edu/BRC/MIFHome/MIFHome.html>
MIF, analoog met het vorige
- http://www.ibr.wustl.edu/~josec/research/alg_compare/index.html
vergelijking van deconvolutie-algoritmes
- <http://www.comm.toronto.edu/~deepa/pub.html>
artikels en thesissen over beeldrestauratie
- <http://www.stsci.edu/stsci/meetings/irw/tablecon.html>
Image Restoration Workshop of Hubble Space Telescope
- http://ikpe1101.ikp.kfa-juelich.de/briefbook_data_analysis/AN16pp.html
handboek met uitleg over termen ivm data-analyse
- <http://extreme.indiana.edu/~tveldhui/papers/>

Todd Veldhuizen: Papers, articles, talks...

- <http://www.fourmilab.ch/documents/ohmygodpart.html>

Oh my God particle

- <http://www.physics.utah.edu/research/astro.html>

Experimental particle astrophysics (University Utah)

- http://www.cs.technion.ac.il/Labs/IsI/projects_done/aer/DIP_1998/Iterative_Restoration/

iterative image restoration

- http://mac03.gsi.de/web-docs/material_science/projects.html

gebruiken van kernsporen en etsen in de industrie

- <http://cygnus.uwa.edu.au/~cloder/thesis/thesis.html>

object recognition in computer images

- <http://www.eso.org/projects/esomidas/doc/user/vol2/vol2.html>

MIDAS, beeldbewerkingspakket van ESO

- <http://www.math.montana.edu/~vogel/#publications>

image restoration (Curt Vogel, University of Montana)

- <http://www.oulu.fi/~spaceweb/textbook/magnetosphere.html>

stralingsomgeving in deruimte

- <http://satori2.lerc.nasa.gov/DOC/seeov/seeov.html>

straling en magnetische velden in het zonnestelsel

- <http://www.total.net/~najma/>

Image restoration (medical image processing)

- http://sepwww.stanford.edu/sep/prof/toc_html/index.html

Earth sciences, fourier analysis (free publications on line)

- <http://www.ph.tn.tudelft.nl/Courses/FIP/noframes/fip-Contents.html>

fundamentals of Image processing

- <http://www.imm.dtu.dk/~pch/Regularization/deconv.html>

Numerical Aspects of deconvolution

- <http://inf-n-bo-macro1.bo.infn.it:8080/intercast/>

eigenschappen en gebruik van CR-39

- <http://vision.dai.ed.ac.uk/maurizp/EllFitDemo/>

Direct Least Square fitting of ellipses

Index

- algebraïsche afstand, 61
- ballerinajurkje van Alfvèn, 13
- beelddegradatie, 41
- Biobox, 8
- conditiegetal, 64
- confocale microscoop, 36
- conjugate gradients, 49
- convolutie, 36, 42, 43
- CR-39, 21
- Csiszar, 53
- δ -stralen, 22
- deconvolutie, 43
- dracht-energie relaties, 28
- effectieve lading, 22
- entropiefunctie, 53
- ESA, 8
- fraunhofer-diffractie, 33
- frequentiefiltering, 41
- galactische kosmische straling (GCR), 18
- Gauss-Seidel, 64
- heliopauze, 13
- heliosfeer, 13
- Huygens-Fresnel, 30
- HZE's, 17, 18, 20
- I-divergentie, 53
- ICTM
 - praktische resultaten, 56
- International Space Station, 7
- interstellair medium, 13
- ionisatie, 28
- Janson-Van Cittert, 44
- ketenbreuken, 22
- kwadratuur, 89
- LET, 20
- Lorentzkracht, 12
- Mars, 7
- mean square error, 51
- Minsky, 37
- MLE
 - Maximum Likelihood Estimation, 51
 - praktische resultaten, 59
- optische transferfunctie, 43

optische transferfunctie (OTF), 40

PADC, 21

penalty functie, 52

Point Spread Function (PSF), 36

rayleigh limiet, 30

reactiviteitscentra, 22

Richardson-Lucy, 51

schokgolf overgang, 13

Solar Particle Events, 17

Spacehab, 8

spatiële frequenties, 79

SSNTD's, 20

steepest descent, 49

Successive Overrelaxation (SOR), 64

suprathermale ionen, 17

Tikhonov-Miller

- iteratieve methode, 49
- rechstreekse methode, 46

Toeplitz-matrix, 90

Van Allen gordels, 10, 12, 15

wide field microscoop, 40

Wienerfilter

- praktische resultaten, 56

zonnewind, 12, 17

Zuidatlantische Anomalie, 16