



¹Výzkumné centrum speciální optiky a optoelektronických systémů (TOPTEC), Ústav fyziky plazmatu, AVČR v.v.i., Za Slovankou 1782/3, 182 00 Praha 8, Česká republika
²Technická univerzita v Liberci, fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií, ústav NTI, Studentská 1402/2, 461 17 Liberec, Česká republika
jiri.junek@tul.cz, zidek@ipp.cas.cz

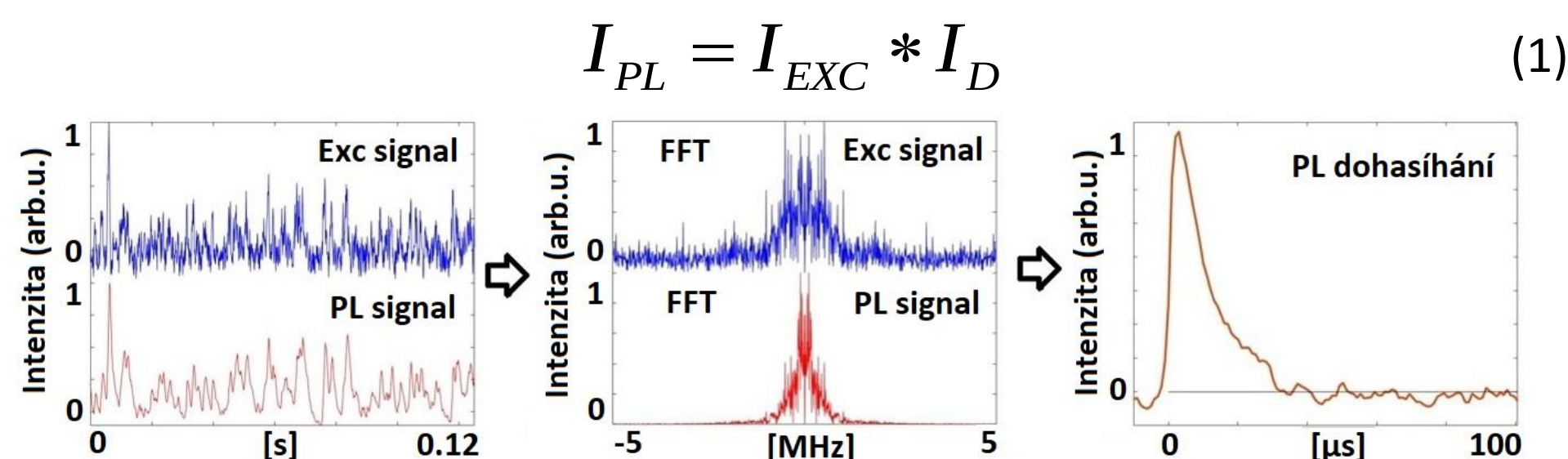


ABSTRAKT

Představujeme nový přístup k zobrazování fluorescenčního dohasínání. Ten je založen na metodě RATS využívající náhodných časových světelných fluktuací (speklí) a používá metody komprimovaného snímání (jedno-pixelová kamera). Tato kombinace umožňuje zobrazovat dohasínání fluorescence s dobou života v řádu mikrosekund. Oproti standartním metodám je prezentovaný přístup unikátní svojí bezkonkurenční jednoduchostí a nízkonákladovostí optického uspořádání. To však nijak metodě neubírá na preciznosti a efektivnosti. Dvourozměrné mapování fluorescenčního dohasínání je velmi žádoucí především chemii, biologii a medicíně [1].

METODA RATS

Princip spočívá v excitaci měřeného vzorku náhodným signálem I_{EXC} , který dle vztahu (1) zapříčiní také náhodnost fluorescenčního signálu I_{PL} . Pomocí dekonvolučního teorému je rekonstruováno dohasínání fluorescence. Díky náhodnosti signálů je průběh dohasínání precizně rekonstruován, jelikož v každém časovém úseku snímání nalezneme široký interval frekvencí. Náhodný signál I_{EXC} lze vhodně generovat kombinací rotačního difusoru a apertury [2].

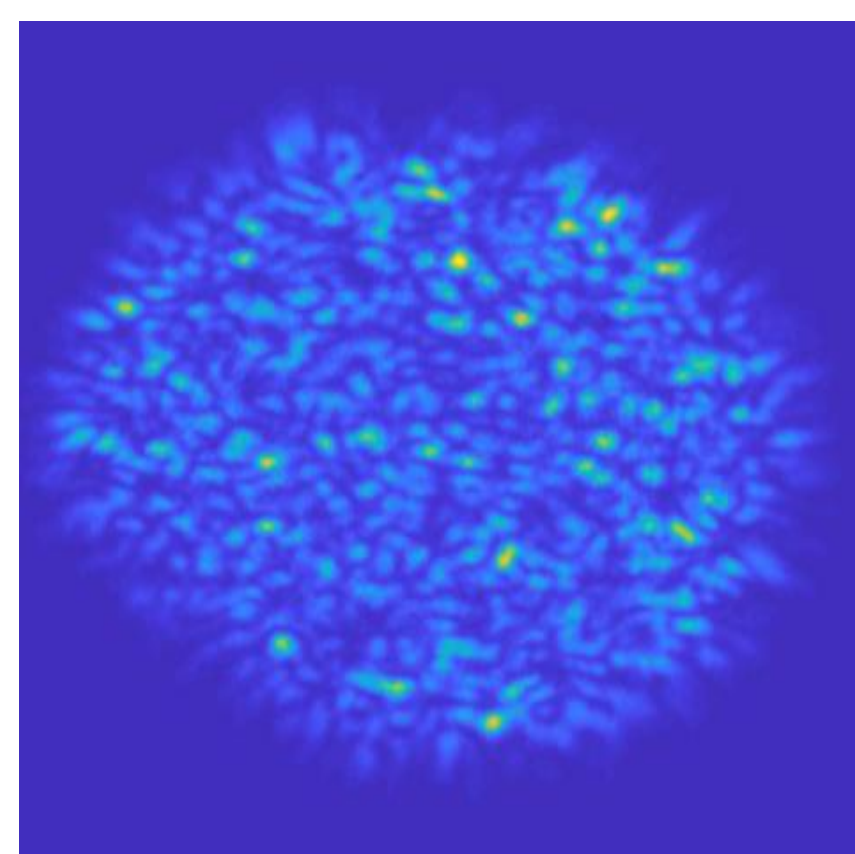


Obrázek 1: Princip metody RATS.

PRINCIP JEDNO-PIXELOVÉ KAMERY

Princip spočívá v osvětlování měřeného vzorku často náhodnými maskami (vzory), které mohou mít binární nebo šedou škálu. Snímá se pouze celková intenzita (jediná hodnota) signálu pro každou masku. Přes vhodné algoritmy kompr. zobrazování je možné celkový obraz rekonstruovat.

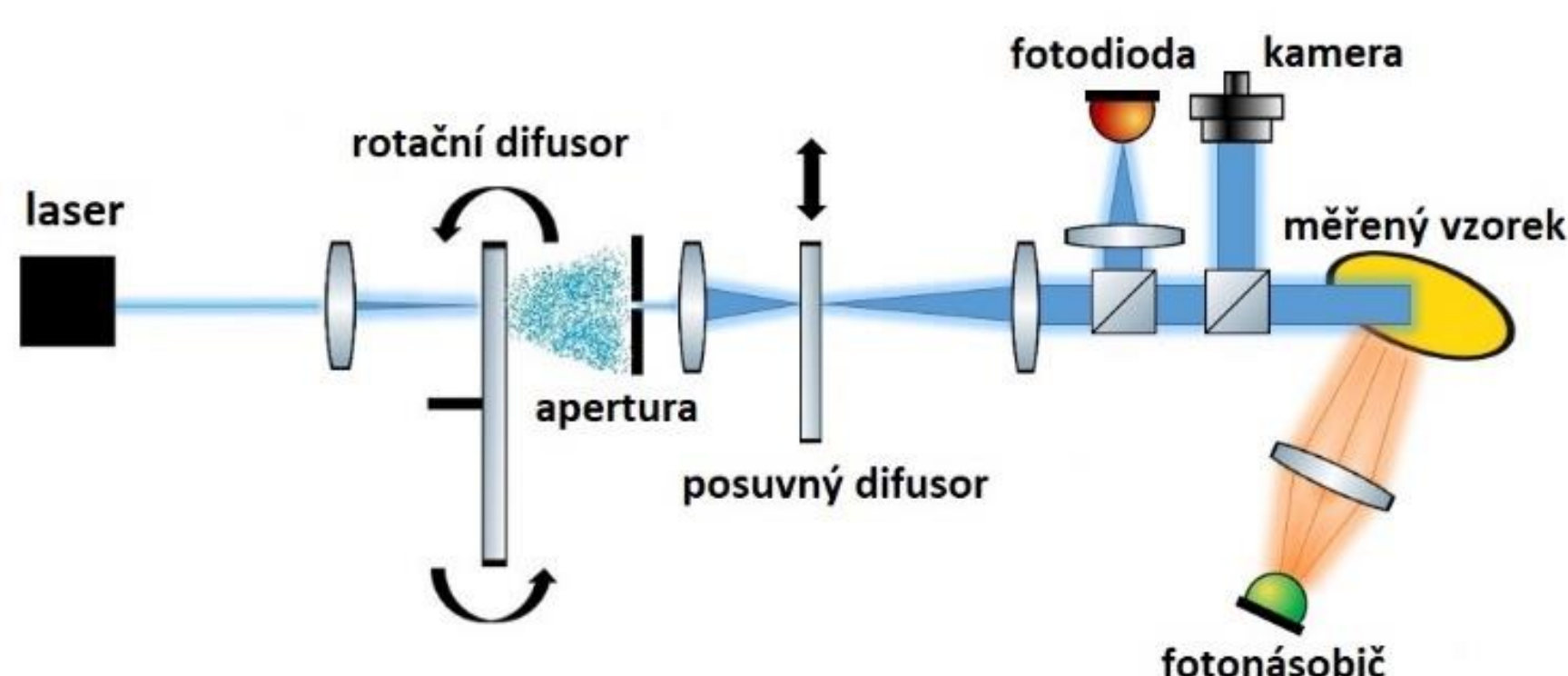
Dobrých výsledků zobrazování lze také dosáhnout pomocí difusoru, který se vhodně použije pro generování masek náhodného charakteru pro osvětlení vzorku [3]. Příklad osvětlovací náhodné masky ukazuje obrázek 2.



Obrázek 2: Osvětlovací maska.

OPTICKÉ USPOŘÁDÁNÍ

Základní prvky optického uspořádání tvoří dva difusory (viz obrázek 3). Rotační slouží ke generování I_{EXC} a posuvný ke generování masek. Tento přístup umožňuje velmi nízkonákladově měřit dvourozměrné mapy PL dohasínání.



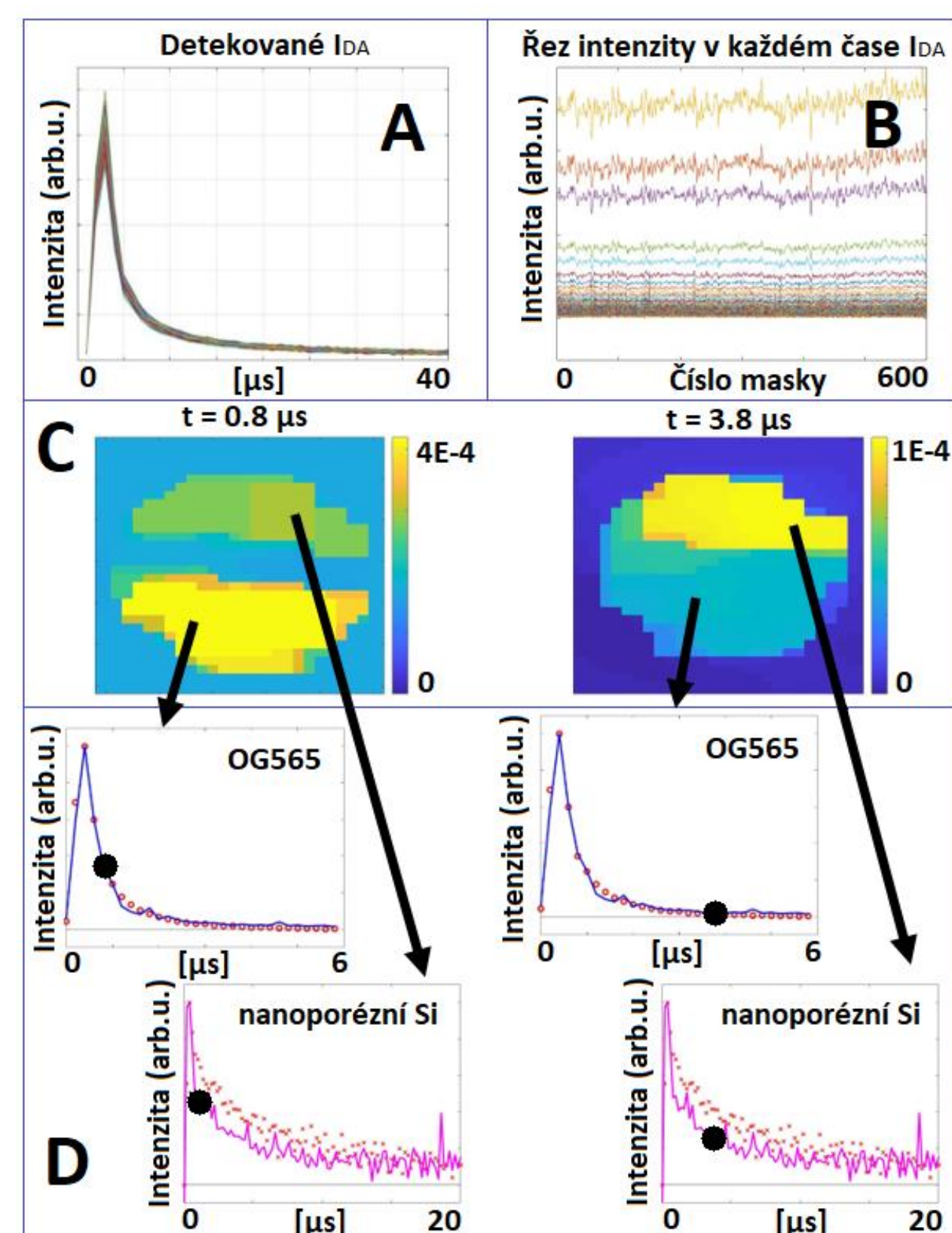
Obrázek 3: Optické uspořádání.

METODIKA A EXPERIMENT

Pomocí vztahu (2) lze získat I_{DA} odpovídající jednotlivé masce (viz obrázek 2A). Každý časový bod I_{DA} vykreslíme vzhledem k jednotlivým maskám (viz obrázek 2B). Celý obraz měřeného vzorku je v každém časovém bodě rekonstruován (viz obrázek 2C) a I_D je získáno v každém pixelu obrazu (viz obrázek 2D).

$$I_{DA} = \text{Re} \left\{ \mathbb{F}^{-1} \left[\frac{\mathbb{F} \left(\sum_{i=1}^n I_{PL(i)} \right)}{\mathbb{F} (I_{EXC})} \right] \right\} = \text{Re} \left\{ \mathbb{F}^{-1} \left[\frac{\left(\sum_{i=1}^n \mathbb{F} (I_{EXC}) \mathbb{F} (I_{D(i)}) \right)}{\mathbb{F} (I_{EXC})} \right] \right\} \quad (2)$$

K ověření principu byl použit uměle vyrobený vzorek, ve kterém byl zkombinován křemíkový plátek s nano-porézním povrchem a absorpční optický filtr OG565. Při rozlišení obrazu 42x34 pixelů činila měřená plocha vzorku 18 mm². Pro dané rozlišení bylo snímáno s kompresním poměrem 0,42.



Obrázek 4: (A) Jednotlivá I_{DA} , (B) Intenzita I_{DA} v řezu pro každý časový bod, (C) zobrazení PL map v různých časech, (D) Verifikace metody (červené body – 1D RATS, plné čáry – prezentovaná metoda (2D RATS)).

ZÁVĚR

Příspěvek představuje nový nízkonákladový a jednoduchý přístup k FLIM, který kombinuje metodu RATS s jedno-pixelovou kamerou. Díky přístupu RATS jsou rekonstruovaná data robustní vůči šumu. Doba akvizice dat závisí na rozlišení a velikosti obrázku. Přesto je možné získat mapu dohasínání PL za několik desítek minut. Proto je tato metoda velmi zajímavá především pro měření rozpadu PL v řádu mikrosekund a sub-mikrosekund.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena z projektu Studentské grantové soutěže (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2020.

REFERENCE

- [1] X. Liu, D. Lin, W. Becker, J. Niu, B. Yu, L. Liu, and J. Qu, "Fast fluorescence lifetime imaging techniques: A review on challenge and development," J. Innov. Opt. Health Sci. **12**, 1930003 (2019).
- [2] J. Junek, L. Ondič, and K. Židek, "Random temporal laser speckles for the robust measurement of sub-microsecond photoluminescence decay," Opt. Express, OE **28**, 12363–12372 (2020).
- [3] K. Židek, O. Denk, and J. Hlubuček, "Lensless Photoluminescence Hyperspectral Camera Employing Random Speckle Patterns," Scientific Reports **7**, 15309 (2017).