

IN103: Introduction à MATLAB

Modélisation d'un système d'imagerie optique et application au traitement d'image

Guillaume Labroille

Janvier-Mars 2010

1 Introduction

1.1 But du projet

Ce cours est un cours d'introduction à Matlab, pas un cours de maths ni un cours d'optique. Les concepts nécessaires à la conduite du projet (définition et propagation de faisceaux gaussiens, optique non-linéaire pour la physique, différences finies au niveau des mathématiques) seront donc introduits directement sans être entièrement démontrés (ce sera le but du cours MA103 en maths, et du module électif de deuxième année pour l'optique). Les différentes parties de ce projet comportent des parties numériques des parties semi-analytiques, et des parties plus proches informatiques/programmation. Dans chaque parties, il y a des questions écrites en **bleu** qui sont obligatoires, alors que les questions en **vert** sont optionnelles.

1.2 Principes de la microscopie non-linéaire

La microscopie non-linéaire est une méthode née dans les années 90 grâce au développement de sources lasers femtosecondes ($1fs = 10^{-15}s$) qui permettent d'obtenir des impulsions de très fortes énergies et ainsi l'apparition de phénomènes non-linéaires. Le principe en est relativement simple : une impulsion laser proche infra-rouge (typiquement entre 800 et 1200 nm) est focalisée à l'aide d'un objectif de microscope dans un échantillon. Au niveau du volume focale de l'objectif, l'intensité du champ électrique est suffisamment importante pour que des phénomènes non-linéaires interviennent. Ces signaux non-linéaires sont détectés, et leurs intensités donnent une valeur pour le volume focal excité. L'échantillon est ensuite scanné dans les 3 dimensions afin d'obtenir un signal pour chaque volume, et l'on peut ainsi reconstituer l'échantillon en 3 dimensions.

1.3 Description du projet

Ce projet comporte 3 parties : tout d'abord nous allons étudier la propagation d'une onde faisceau gaussien dans un milieu homogène linéaire et isotrope, à l'aide d'une méthode matricielle semi-analytique issue de l'optique géométrique. Nous passerons ensuite à une méthode plus générale basée sur de la méthode des différences finies qui nous permettra de sortir de l'hypothèse du faisceau gaussien et d'étudier les aspects de mise en forme spatiale du volume focal. Enfin, nous caractériserons notre système, et imagerons un échantillon virtuel.

2 Introduction : Microscopie Non-Linéaire Incohérente (MNLI)

2.1 Introduction & Propriétés de la MLNI

Le phénomène physique utilisé par la microscopie non-linéaire incohérente est la fluorescence excitée à plusieurs photons. (en pratique, soit 2–et l’on écrira alors 2PEFM (2 Photon Excited Fluorescence Microscopy : Microscopie par fluorescence excitée a deux photons), soit 3–et l’on écrira alors 3PEFM). La probabilité qu’un tel événement arrive est proportionnel à la puissance ènieme de l’intensité d’excitation (I^n), ce qui implique que nous avons un confinement optique : le signal ne peut provenir que de l’endroit où l’intensité est la plus élevée : le foyer de l’objectif. La fluorescence étant un processus incohérent, le signal détecté est directement proportionnel au nombre de molécules fluorescentes présentes dans le volume focale. Bien que l’on ne détecte pas toute la fluorescence émise (une partie peut être absorbé par l’échantillon par exemple) comme l’émission est isotrope, on peut considérer que l’efficacité de détection est la même pour tout les points de l’échantillon. Dans ces conditions, le système est entièrement décrit par la distribution du carré de l’intensité d’excitation : En effet si l’on considère une seule molécule fluorescente, et que l’on en fait un image, on va obtenir la a distribution du carré de l’intensité d’excitation, qui est donc aussi la réponse impulsionnelle du système.

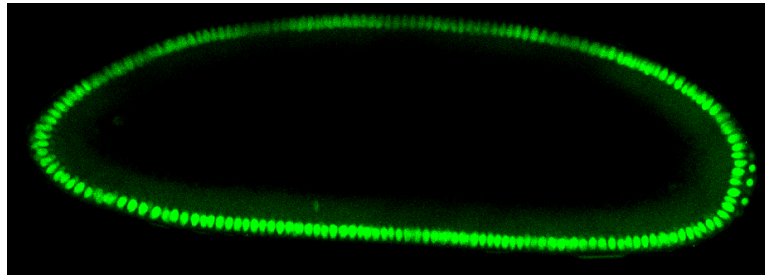


FIGURE 1 – Image de microscopie non-linéaire incohérente d’un embryon mutant de drosophile

2.2 Caractérisation du Microscope

Une des caractéristiques les plus importantes d’un microscope est sa résolution. Selon la théorie d’Abbe, la limite de résolution d’un microscope est la plus petite distance en-dessous de laquelle deux points voisins ne seront plus distingués. Ceci est un point de vue plutôt physique. Du point de vue mathématique, on s’intéresse plutôt à la réponse impulsionnelle du système, c’est à dire à sa Point Spread Function (PSF). En effet, si l’on connaît la psf du système, on peut calculer l’image de n’importe quel échantillon en effectuant le produit de convolution entre la distribution en fluorophores et la psf du système. Au niveau expérimental, elle permet aussi d’effectuer l’opération inverse : la deconvolution qui permet à partir de l’image obtenue de reconstruire l’échantillon.

2.3 PSF

La PSF est définie comme la réponse d’un système à une source ponctuelle. En microscopie, elle est donc calculée en réalisant l’image d’un échantillon le plus petit possible (c’est à dire de taille négligeable devant la résolution du système). La PSF est une donnée 3D (2D dans le cadre de ce projet, puisque nous considererons toujours une symetrie cylindrique par rapport à l’axe optique), et permet de définir une résolution axiale et latérale comme étant sa largeur à mi-hauteur (Full Width Half Maximum en anglais, soit FWHM)).

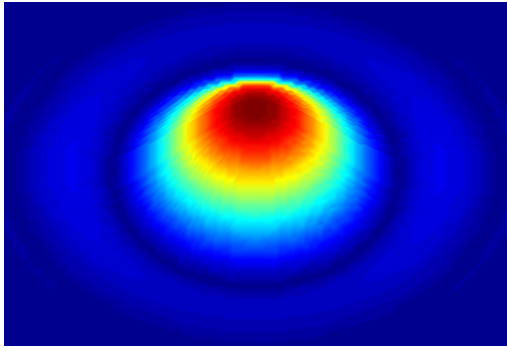


FIGURE 2 – PSF latérale simulée pour une excitation gaussienne du microscope utilisé au LOB

3 De l'optique géométrique au Laser

Cette partie s'inspire notamment du cours électif EPE11 donné par F. Augé-Rochereau, de son polycopié, du cours d'optique non-linéaire de G. Manneberg (KTH) et du livre Quantum Electronics de A. Yariv.

3.1 Ray-tracing

Nous allons ici introduire quelques concepts d'optique géométrique qui ont des équivalents en physique des lasers. Dans ce model, un rayon lumineux se propage selon un axe optique z sous l'hypothèse paraxiale¹ et est décrit comme un vecteur colonne contenant deux éléments : la distance à l'axe optique (d) et l'angle par rapport à l'axe optique (θ). Les divers éléments optiques (lentilles, miroirs...) que peut rencontrer ce rayon, ainsi que la propagation libre sont décrit par des matrices 2×2 .

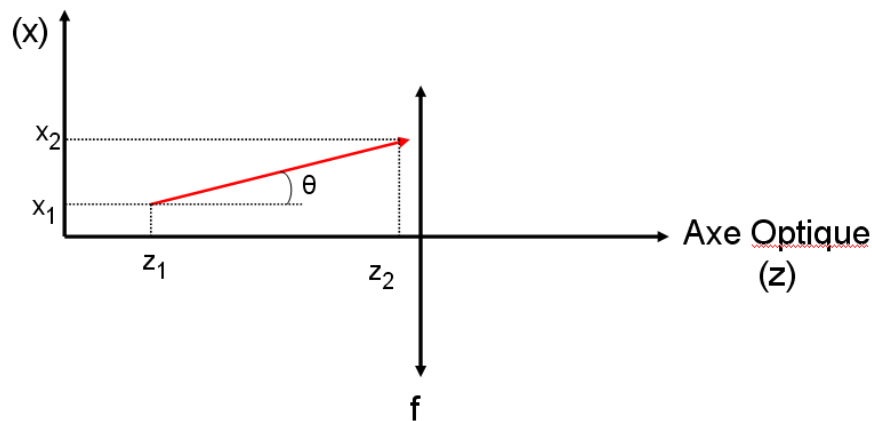


FIGURE 3 – Illustration du formalisme utilisé

Les trois matrices de transfert les plus communes sont la propagation libre (P), le passage à travers

1. L'hypothèse paraxiale dit que l'angle que fait le faisceau avec l'axe optique est 'petit', ce qui veut dire mathématiquement que $\sin(\theta)$ peut être approximé par θ

une lentille de focale f (L), et la réflexion sur un miroir de rayon de courbure R (M) :

$$P(z) = \begin{pmatrix} 1 & z \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (1)$$

$$L(f) = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -1/f & 1 \end{pmatrix} \quad (2)$$

$$M(R) = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -2/R & 1 \end{pmatrix} \quad (3)$$

On remarque que la réflexion sur un miroir plan équivaut à une multiplication par la matrice identité. cela est du au fait que l'axe de propagation est défini de manière relative est non absolue (le sens positive est toujours le sens de propagation du faisceau : si celui si est réfléchi par un miroir, les deux sens changent en même temps). Ainsi, si l'on considère un rayon qui se propage sur $1m$, passe par une lentille de focale $f = 0.5m$, et se propage encore pendant $1m50$, on a le système suivant² :

$$\begin{pmatrix} d_1 \\ \theta_1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 1.5 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -2 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 1 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} d_0 \\ \theta_0 \end{pmatrix} \quad (4)$$

De façon plus générale, on peut décrire un système optique par une matrice dite 'ABCD', qui est le produit matriciel de tous ses composants optiques.

$$\begin{pmatrix} d_1 \\ \theta_1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix} \begin{pmatrix} d_0 \\ \theta_0 \end{pmatrix} \quad (5)$$

ou, si l'on reprend l'exemple précédent, on a :

$$\begin{aligned} \begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix} &= \begin{pmatrix} 1 & 1.5 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -2 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 1 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} -2 & -0.5 \\ -1 & 0 \end{pmatrix} \end{aligned} \quad (6)$$

3.2 Exercice Introductif

On considère tout d'abord un system dit $4f$ qui consiste en deux lentilles identiques de focale f séparées par une distance égale à $2f$, et l'on considère deux plan : un plan de départ situe à une distance f de la première lentille, et un plan d'arrivée située à une distance f de la deuxième lentille.

1. Tracez la trajectoire d'un rayon partant à l'horizontale du premier plan jusqu'au second plan
2. Calculez l'image d'un point source situé dans le plan de départ, c'est à dire d'un point émettant des rayons avec chacun un angle θ différent, mais la meme distance d à l'axe.
3. Calculez la matrice de transfert permettant d'aller du plan de départ au plan d'arrivée. Conclusion ?

2. Attention à l'ordre des matrices! elles sont classés de droite à gauche selon l'ordre ou elles sont traversées

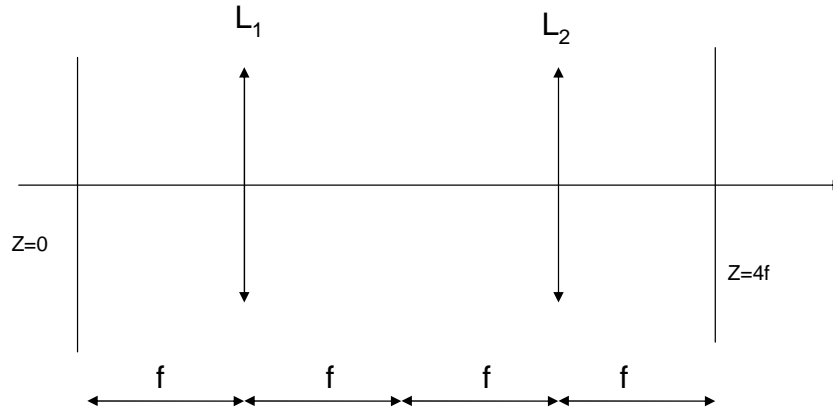


FIGURE 4 – Illustration du système modelisé

3.3 Cavité Optique

La cavité optique est le concept qui permet de passer de l'optique géométrique à l'optique des lasers. En effet la modélisation la plus simple que l'on peut faire d'un laser est de le représenter comme un milieu amplificateur (dans le cas de la microscopie non-linéaire, le laser le plus utilisé possède comme milieu amplificateur un Crystal de Titane-Saphir (un Crystal de saphir (Al_2O_3) dopé aux ions Ti^{2+})) entouré de deux miroirs (dont l'un laisse partiellement passer la lumière). Ces deux miroirs constituent une **cavité optique**.

Pour qu'une cavité optique soit une cavité laser, il faut qu'elle remplisse plusieurs conditions :

- Il faut qu'un faisceau revienne à sa position initiale apres avoir fait un tour complet de la cavité.
- Il faut que la taille d'un faisceau dans la cavité ne diverge pas
- Il faut que le faisceau reste en phase, et donc que la taille de la cavité soit un multiple de la longueur d'onde.
- Il faut que le gain à chaque tour de cavité soit égal aux pertes (en régime permanent)

Le résultat à la sortie de ce type de cavité peut etre modelisé assez fidèlement par un faisceau Gaussien.

4 Le Faisceau Gaussien

Cette partie s'inspire notamment du cours électif EPE11 donné par F. Augé-Rochereau, et de son polycopié.

4.1 Mode Gaussien

Le mode gaussien est une solution de l'équation des ondes sous l'hypothèse paraxiale, et est le mode le plus simple³ vérifiant l'équation d'une cavité laser. Dans le cas de la propagation selon l'axe z , il s'écrit :

$$E(x, y, z) = \frac{E_0 e^{-ikz}}{(1 + 2iz/kw_0^2)} e^{-\frac{(x^2+y^2)}{w_0^2} \frac{1}{(1+2iz/kw_0^2)}} \quad (7)$$

ou w_0 désigne le waist du faisceau.

De façon équivalente, en introduisant les grandeurs suivantes :

$$Z_R = \frac{kw_0^2}{2} \text{ Distance de Rayleigh} \quad (8)$$

$$w(z) = w_0 \sqrt{1 + z^2/Z_R^2} \text{ Rayon du faisceau} \quad (9)$$

$$R(z) = z + \frac{Z_R^2}{z} \text{ Rayon de courbure du faisceau} \quad (10)$$

$$\eta(z) = \arctan(z/Z_R) \text{ Phase de Gouy} \quad (11)$$

on peut écrire :

$$E(x, y, z) = E_0 \frac{w_0}{w(z)} e^{-\frac{(x^2+y^2)}{w(z)^2}} e^{i(kz - \eta(z) + k(x^2+y^2)/(2R(z)))} \quad (12)$$

Comme nous étudions ici la microscopie incohérente, seul l'intensité du faisceau nous intéresse, ce qui permet de simplifier l'écriture en :

$$I(x, y, z) = E_0^2 \frac{w_0^2}{w(z)^2} e^{-\frac{2(x^2+y^2)}{w(z)^2}} \quad (13)$$

On peut enfin réécrire cette expression en introduisant le rayon de courbure complexe $q(z)$ défini par :

$$\frac{1}{q(z)} = \frac{1}{R(z)} - \frac{i\lambda}{\pi w^2(z)} \quad (14)$$

A partir de cette expression, on peut définir le *waist* du faisceau que l'on a utilisé plus haut : le waist d'un faisceau gaussien est situé à l'endroit où la taille (rayon) de celui-ci est minimum. De plus, à cet endroit son rayon de courbure est infini (onde plane), ce qui veut dire que l'on peut écrire :

3. 'simple' ne veut pas dire grand chose, mais cela correspond ici au fait que les autres modes peuvent s'écrire comme des polynômes multipliés par le mode gaussien fondamental.

$$\begin{aligned}\frac{1}{q(z_w)} &= -\frac{i\lambda}{\pi w_0^2} \\ &\rightarrow \operatorname{Re}(q(z_w)) = 0\end{aligned}\tag{15}$$

4.2 Lois ABCD

Le formalisme des matrices de transfert reste valable pour un faisceau gaussien, mais il n'agit plus sur des paramètres tels que l'angle et la distance à l'axe optique, mais sur le paramètre q . On a alors pour un système optique décrit par une matrice de la forme :

$$M = \begin{pmatrix} A & B \\ C & D \end{pmatrix}\tag{16}$$

Les paramètres q du faisceau avant et après ce système vérifient alors l'équation :

$$q(z) = \frac{A(z)q_0 + B(z)}{C(z)q_0 + D(z)}\tag{17}$$

ou, de façon équivalente :

$$\frac{1}{q(z)} = \frac{C(z) + D(z)/q_0}{A(z) + B(z)/q_0}\tag{18}$$

4.3 Implementation

On s'intéresse à partir d'ici à la focalisation d'un faisceau Gaussien, pour lequel la présence d'outils analytiques tels que les matrices de transfert permet des calculs rapides. L'objectif de microscope est ainsi représenté par une simple lentille mince, et l'on s'intéresse donc au système décrit par la matrice de transfert suivante :

$$M(z) = \begin{pmatrix} 1 & z \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -1/f & 1 \end{pmatrix}\tag{19}$$

Paramètres expérimentaux

On prendra pour effectuer les simulations numériques les valeurs suivantes :

- $f = 2mm$

- $w_0 = 5mm$

A partir de la définition de $q(z)$, on peut exprimer le paramètres $w(z)$:

$$w^2(z) = \frac{\lambda \|q(z)\|^2}{\pi \operatorname{Im}(q(z))}\tag{20}$$

et de meme pour l'intensité (on se place en coordonnées cylindrique pour réduire la dimension du système) :

$$I(\rho, z) = E_0^2 \frac{w_0^2}{w(z)^2} e^{-\frac{2\rho^2}{w(z)^2}} \quad (21)$$

Si on introduit l'expression de $w^2(z)$ dans l'équation 21, on obtient :

$$I(\rho, z) \propto \frac{Im(q) e^{-\frac{2\pi\rho^2 Im(q)}{\lambda \|q\|^2}}}{\lambda \|q\|^2} \quad (22)$$

1. Ecrivez un programme permettant de calculer l'évolution de $q(z)$
2. Ecrivez un programme permettant de calculer l'évolution de $w(z)$
3. Ecrivez un programme permettant de calculer l'évolution de $I(\rho, z)$
4. Etudiez l'influence de f^4 , λ et w_0 sur $w(z)$ et $I(\rho, z)$

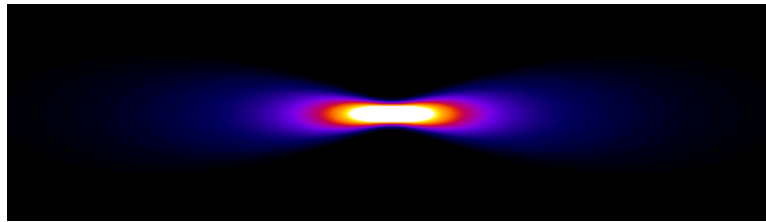


FIGURE 5 – $I(\rho, z)$ obtenu pour une focale de $f = 1.5mm$ et un waist de départ de $300\mu m$ et $\lambda = 1.2\mu m$. 1pixel = 500nm, temps de calcul $\approx 1s$

4. Attention au domaine de validité de l'hypothèse paraxiale!

5 Cas Général, Fondation Théorique : Équations de Maxwell

Le point de départ de tout problème d'optique sont les équations de Maxwell :

$$\nabla \cdot \mathbf{D}(\mathbf{r}, t) = \rho(\mathbf{r}, t) \quad (23)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{B}(\mathbf{r}, t) = 0 \quad (24)$$

$$\nabla \times \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = -\frac{\partial \mathbf{B}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} \quad (25)$$

$$\nabla \times \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{c^2} \frac{\partial \mathbf{D}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) \quad (26)$$

avec :

$$\mathbf{D}(\mathbf{r}, t) = \epsilon_0 \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \mathbf{P}(\mathbf{r}, t) \quad (27)$$

$$\mathbf{H}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{\mu_0} \mathbf{B}(\mathbf{r}, t) - \mathbf{M}(\mathbf{r}, t) \quad (28)$$

ou $\mathbf{P}(\mathbf{r}, t)$ et $\mathbf{M}(\mathbf{r}, t)$ sont la polarisation et la magnétisation, qui sont elles mêmes fonction de $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$ et $\mathbf{H}(\mathbf{r}, t)$

Si l'on combine les équations précédentes, on peut obtenir l'équation des ondes inhomogènes :

$$\nabla \times \nabla \times \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} = -\mu_0 \frac{\partial}{\partial t} \left(\mathbf{j}(\mathbf{r}, t) + \frac{\partial \mathbf{P}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \nabla \times \mathbf{M}(\mathbf{r}, t) \right) \quad (29)$$

$$\nabla \times \nabla \times \mathbf{H}(\mathbf{r}, t) + \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \mathbf{H}(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} = \nabla \times \frac{\partial \mathbf{P}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \nabla \times \mathbf{j}(\mathbf{r}, t) + \mu_0 \frac{\partial \mathbf{M}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} \quad (30)$$

5.1 Cas linéaire isotrope

Nous considérons ici un milieu homogène isotrope, sans sources, non dispersif et linéaire. Nous avons alors :

$$\mathbf{D} = \epsilon_0 \epsilon \mathbf{E} \quad (31)$$

$$\mathbf{B} = \mu_0 \mu \mathbf{H} \quad (32)$$

Et l'équation des ondes devient :

$$\nabla \times \nabla \times \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} = -\mu_0 \epsilon_0 \chi_e \frac{\partial^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} \quad (33)$$

ou bien, en introduisant l'indice optique du milieu $n^2 = (1 + \mu_0 \epsilon_0 \chi_e)$:

$$\nabla \times \nabla \times \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = -\frac{n^2}{c^2} \frac{\partial^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} \quad (34)$$

finalemt, en utilisant l'identité :

$$\nabla \times \nabla \times = \nabla \cdot \nabla - \Delta \quad (35)$$

on obtient :

$$\Delta \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \frac{n^2}{c^2} \frac{\partial^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} \quad (36)$$

On fait de plus l'hypothèse que les ondes sont monochromatiques à la fréquence ω :

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \mathbf{E}(\mathbf{r}) \cdot e^{i\omega t} \quad (37)$$

et l'on obtient :

$$\Delta \mathbf{E}(\mathbf{r}) + k^2 \mathbf{E}(\mathbf{r}) = 0 \quad (38)$$

avec $k = n\omega/c$.

Les ondes qui nous intéressent ici sont des ondes issues d'un Laser, ce qui fait qu'elles ont une direction de propagation bien définie, qui est par convention l'axe \mathbf{e}_z . De plus afin de simplifier les calculs, on se ramène au cas 2D d'une onde étendue en x se propageant selon z et polarisée selon \mathbf{e}_y . On peut ainsi séparer dans les équations un terme dit d'enveloppe $A(x, z)$ d'un terme de propagation e^{ikz} :

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}) = \mathbf{E}(x, z) \quad (39)$$

$$= A(x, z) e^{ikz} \mathbf{e}_y \quad (40)$$

Si l'on introduit ce développement dans l'équation [38], on obtient pour le terme d'enveloppe l'équation :

$$\frac{\partial^2 A(x, z) e^{ikz}}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 A(x, z) e^{ikz}}{\partial z^2} + k^2 A(x, z) e^{ikz} = 0 \quad (41)$$

qui se simplifie en :

$$\frac{\partial^2 A(x, z)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 A(x, z)}{\partial z^2} + 2ik \frac{\partial A(x, z)}{\partial z} = 0 \quad (42)$$

de plus, on utilisera l'hypothèse de l'**enveloppe lentement variable** qui dit que :

$$\left| \frac{\partial^2 A(x, z)}{\partial z^2} \right| \ll \left| 2ik \frac{\partial A(x, z)}{\partial z} \right| \quad (43)$$

On obtient alors pour $A(x, z)$:

$$\frac{\partial^2 A(x, z)}{\partial x^2} + 2ik \frac{\partial A(x, z)}{\partial z} = 0 \quad (44)$$

6 Propagation libre

6.1 Modèle utilisé

On s'intéresse à l'enveloppe d'un faisceau, dans le cadre des hypothèses décrites dans la partie précédente :

$$\frac{\partial^2 A(x, z)}{\partial x^2} + 2ik \frac{\partial A(x, z)}{\partial z} = 0 \quad (45)$$

6.1.1 Discrétisation

Dans cette partie nous allons remplacer l'équation aux dérivées partielles par des équations locales reliant les points de l'espace discrétisé. Nous discrétisons ainsi notre espace avec un pas dx en x et dz en z .

On notera ainsi :

$$A(x_0 + k.dx, z_0 + n.dz) = A_n^k \quad (46)$$

Pour obtenir le système d'équation discrètes à partir de l'équation aux dérivées partielles, nous nous positionnons en un point $A(x_0 + k.dx, z_0 + n.dz)$. En ce point, nous avons :

$$\left(\frac{\partial A}{\partial z} \right)_{x=x_0+k.dx} = \frac{A_{n+1}^k - A_n^k}{dz} \quad (47)$$

On s'attend de même à exprimer la dérivée seconde en x de la façon suivante :

$$\left(\frac{\partial^2 A(x, z)}{\partial x^2} \right)_{n,k} = \frac{A_n^{k+1} - 2A_n^k + A_n^{k-1}}{dx^2} \quad (48)$$

Cependant, comme nous avons déjà fait une hypothèse sur le faisceau, qui est qu'il se propage selon z , nous n'allons pas résoudre le système de différences finies 2D auxquelles nous sommes confrontés, mais nous allons résoudre un système 1D en x à chaque pas en z . Pour cela, nous commençons par écrire :

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial^2 A(x, z)}{\partial x^2} \right)_{n+1/2,k} &= \frac{1}{2} \left(\left(\frac{\partial^2 A}{\partial x^2} \right)_{n,k} + \left(\frac{\partial^2 A}{\partial x^2} \right)_{(n+1),k} \right) \\ &= \frac{1}{2} \left(\frac{A_{n+1}^{k+1} - 2A_{n+1}^k + A_{n+1}^{k-1}}{dx^2} + \frac{A_n^{k+1} - 2A_n^k + A_n^{k-1}}{dx^2} \right) \end{aligned} \quad (49)$$

Nous pouvons ainsi écrire un système linéaire au point $A(n, k)$ choisit :

$$2ik \left(\frac{A_{n+1}^k - A_n^k}{dz} \right) = \frac{1}{2} \left(\frac{A_{n+1}^{k+1} - 2A_{n+1}^k + A_{n+1}^{k-1}}{dx^2} + \frac{A_n^{k+1} - 2A_n^k + A_n^{k-1}}{dx^2} \right) \quad (50)$$

Qui est équivalent à :

$$(1 + 2\alpha)A_{n+1}^k - \alpha A_{n+1}^{k+1} - \alpha A_{n+1}^{k-1} = (1 - 2\alpha)A_n^k + \alpha A_n^{k+1} + \alpha A_n^{k-1} \quad (51)$$

avec :

$$\alpha = \frac{idz}{4kdx^2} \quad (52)$$

Cette equation est en fait vrai pour tout n et pour tout k .
Ainsi, en utilisant la notation :

$$\underline{A}_n = [A_n^1 A_n^2 \dots A_n^k \dots A_n^{k_{max}}]' \quad (53)$$

On peut écrire un système matriciel équivalent au système (51) de la forme $\underline{\underline{M}}_1 \cdot \underline{A}_{n+1} = \underline{\underline{M}}_2 \cdot \underline{A}_n$ tel que :

$$\left(\underline{\underline{M}}_1 \cdot \underline{A}_{n+1} \right)_k = \sum_i M_1(i, k) A_{n+1}^i \quad (54)$$

$$= (1 + 2\alpha)A_{n+1}^k - \alpha A_{n+1}^{k+1} - \alpha A_{n+1}^{k-1} \quad (55)$$

$$\left(\underline{\underline{M}}_2 \cdot \underline{A}_n \right)_k = (1 - 2\alpha)A_n^k + \alpha A_n^{k+1} + \alpha A_n^{k-1} \quad (56)$$

– Écrivez les matrice $\underline{\underline{M}}_1$ et $\underline{\underline{M}}_2$ dont les coefficients vérifient ces équations.

6.1.2 Implémentation

L'implémentation sous Matlab des équations discrétisées est ensuite simple :

- Les conditions initiales donnent le vecteur \underline{A}_0 .
- La résolution du système linéaire $\underline{\underline{M}}_1 \cdot \underline{A}_1 = \underline{\underline{M}}_2 \cdot \underline{A}_0$ permet d'obtenir \underline{A}_1 .
- Sauvegarde de \underline{A}_1
- On itère ce procédé sur la distance voulue en sauvegardant les \underline{A}_i obtenus.
- [En utilisant la méthode des différences finies, propagez cette impulsion.](#)
- [On utilisera les paramètres suivants :](#)

$$\lambda = 1.2\mu m \quad (57)$$

$$k = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (58)$$

$$\omega = \frac{2\pi c}{\lambda} \quad (59)$$

$$w_0 = 10\mu m, 100\mu m \text{ et } 1mm \quad (60)$$

$$z \geq 5w_0 \quad (61)$$

$$[x_{min} \dots x_{max}] \geq 3w_0 \quad (62)$$

- Prenez des valeurs de dx et dz 'adaptées', et regardez leur influence sur le temps de calcul ainsi que sur le bruit numérique présent (indication : commencez avec $dz \leq \lambda$ & $dx \leq dz$)

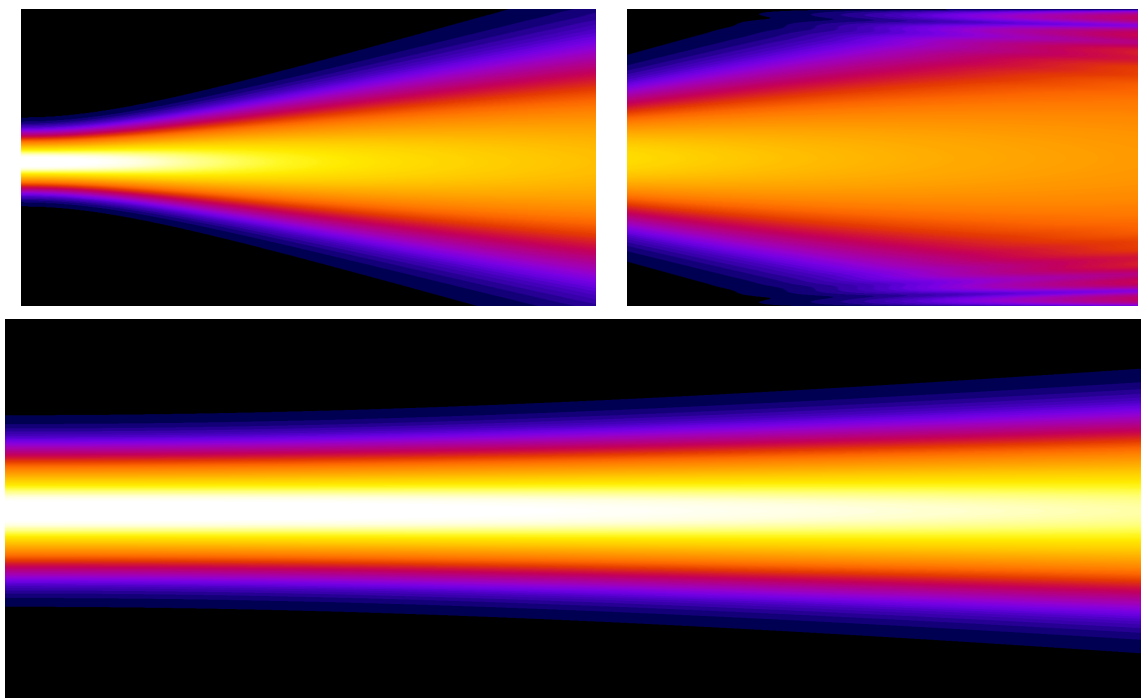


FIGURE 6 – A gauche : Propagation sur 3cm d'un faisceau gaussien avec un *waist* initial de $30\mu\text{m}$. A droite apparition d'erreur numérique due aux effets de bord. En bas : propagation sur 3cm d'un faisceau gaussien avec un *waist* initial de $500\mu\text{m}$

6.2 Vérification Qualitative : Comparaison avec le faisceau Gaussien

Une méthode numérique donne toujours un résultat, il est donc important de vérifier sur des cas connus qu'elle donne le BON résultat. Le faisceau gaussien ayant été beaucoup étudié et utilisé, il est facile de comparer les résultats numériques aux solutions analytiques.

- [Retrouvez les caractéristiques du faisceau gaussien calculé dans la partie précédente](#)

7 Focalisation

7.1 Propagation Numérique

- Nous allons utiliser le programme de propagation déjà écrit pour pouvoir focaliser le faisceau.
- Nous utiliserons ici la modèle de la lentille mince, et nous considérerons qu'elle agit comme un masque de phase sur le faisceau. Pour une lentille de focale f , nous avons ainsi :

$$lensmask(x) = exp\left(\frac{-ikx^2}{2f}\right) \quad (63)$$

- Focalisez le faisceau en utilisant le masque de phase donné, pour différentes valeurs de f
- Étudiez l'importance de la taille de l'échantillonnage pour le faisceau focalisé

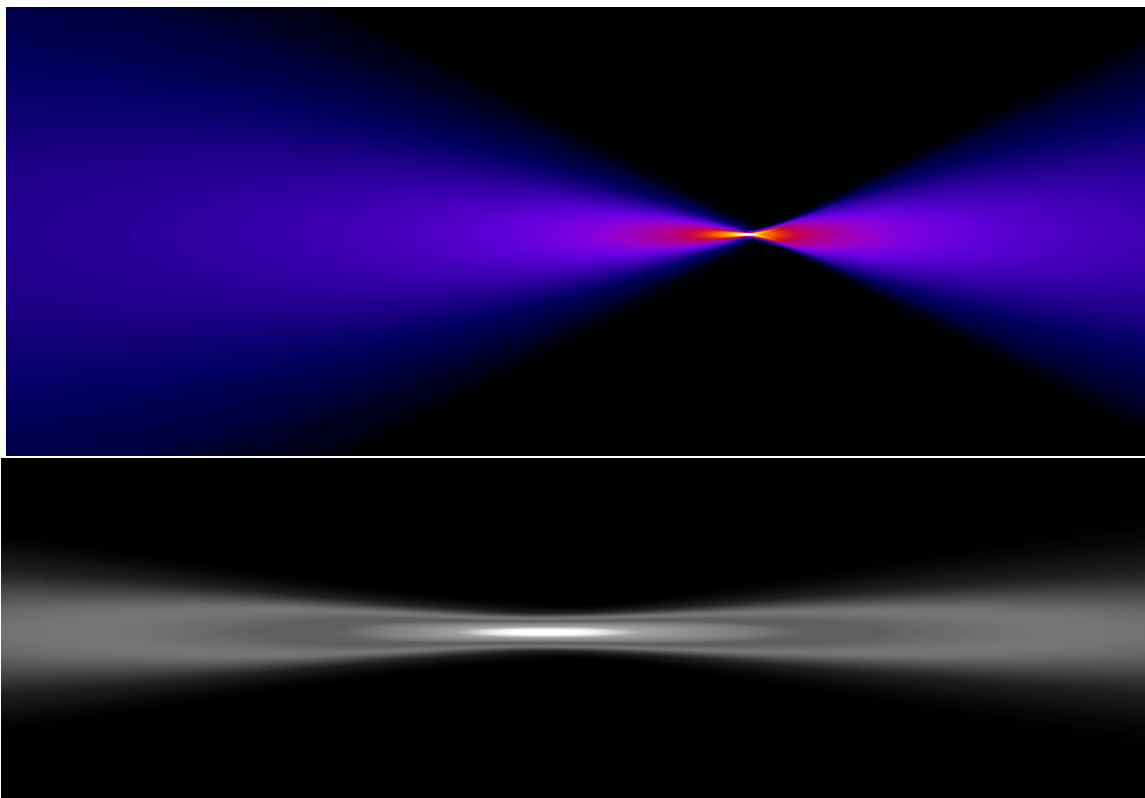


FIGURE 7 – En haut : Amplitude d'un faisceau gaussien focalisé. Conditions : $\lambda = 1.2\mu m$, $w_0 = 300\mu m$, $f = 1.5mm$, $dx = dz = 250nm$, $x_{max} = 500\mu m$. Temps de calcul : une minute. En bas : zoom sur l'intensité du faisceau au niveau du volume focal. Conditions : $\lambda = 1.2\mu m$, $w_0 = 200\mu m$, $f = 1.5mm$, $dx = dz = 200nm$, $x_{max} = 400\mu m$ temps de calcul :45s

7.2 Vérification Quantitative : Méthode ABCD

Il est possible de calculer la propagation d'une onde gaussienne de façon analytique en utilisant un formalisme matriciel pour décrire le système optique et en utilisant la loi ABCD. (voir partie précédente)

- Comparez les résultats obtenus avec la méthode numérique et en utilisant une méthode semi-analytique reposant sur la méthode ABCD
- On considérera que l'on a une phase plate au niveau de la lentille.

7.3 Caractérisation du microscope

Une des caractéristiques les plus importantes d'un microscope est sa résolution. Selon la théorie d'Abbe, la limite de résolution d'un microscope est la plus petite distance en-dessous de laquelle deux points voisins ne seront plus distingués. Ceci est un point de vue plutôt physique. Du point de vue mathématique, on s'intéresse plutôt à la réponse impulsionnelle du système, c'est à dire à sa Point Spread Function (PSF). En effet, si l'on connaît la psf du système, on peut calculer l'image de n'importe quel échantillon en effectuant le produit de convolution entre la distribution en fluorophores et la psf du système. Au niveau expérimental, elle permet aussi d'effectuer l'opération inverse : la deconvolution qui permet à partir de l'image obtenue de reconstruire l'échantillon.

7.4 PSF

La PSF est définie comme la réponse d'un système à une source ponctuelle. En microscopie, elle est donc calculée en réalisant l'image d'un échantillon le plus petit possible (c'est à dire de taille négligeable devant la résolution du système). La PSF est une donnée 3D (2D dans le cadre de ce projet), et permet de définir une résolution axiale et latérale comme étant sa largeur à mi-hauteur (Full Width Half Maximum en anglais, soit FWHM).

- Ecrivez un programme permettant de calculer les FWHM axiales et latérales de votre système
- Etudiez l'influence des paramètres suivants⁵ sur les psf de votre système :
 - λ
 - w_0 (ou plutôt w_0/x_{max} , qui correspond au remplissage de votre lentille)
 - f

7.5 Mise en forme de l'excitation

L'avantage de travailler sur un modèle général est que l'on est pas obligé d'étudier seulement les faisceaux gaussien. On peut en particulier s'intéresser aux masques de phase et d'intensité que l'on peut mettre avant l'objectif. On considère par convention que le faisceau incident est un faisceau gaussien (puisque c'est le type de faisceau qui sortent du laser) mais l'on ajoute un masque avant l'objectif pour modifier ses propriétés.

l'exemple le plus simple de masque de ce type est un masque en amplitude (donc en pratique absorbant) qui permet de passer d'un faisceau gaussien à une onde plane (ce qui revient en terme de résolution à considérer que l'on sur-couvre l'objectif de façon infinie) et donc d'augmenter la résolution. Un autre exemple type de masque d'amplitude est celui qui ne laisse passer qu'un anneau de lumière (idéalement un Dirac, mais en pratique un anneau aussi fin que possible). On obtient alors au foyer de l'objectif une distribution de l'intensité décrite par une fonction de Bessel.

Il y a trois applications principales de ce genre de masques :

5. En pratique le degré de liberté sur ces paramètres est faible, mais cela montre les limites fondamentales de la microscopie non-linéaire par rapport à d'autres méthodes très haute résolution qui ont des longueurs d'ondes et des focales très faibles.

1. La sur-résolution : consiste à essayer d'améliorer la résolution latérale le plus possible, même si cela implique une réduction de la résolution axiale (en général utilisé pour regarder des spécimens très fin à très haute résolution)
2. L'isotropie : La résolution axiale est dans le cas gaussien bien moins bonne que la résolution latérale, ce qui pose des problèmes d'anisotropie dans le traitement des images. Certains filtres permettent ainsi d'obtenir une résolution quasi isotrope.
3. L'augmentation de la profondeur de champ. Dans certains cas, il est plus utile de savoir ce qui se passe dans un grand volume, quitte à perdre de l'information selon une direction

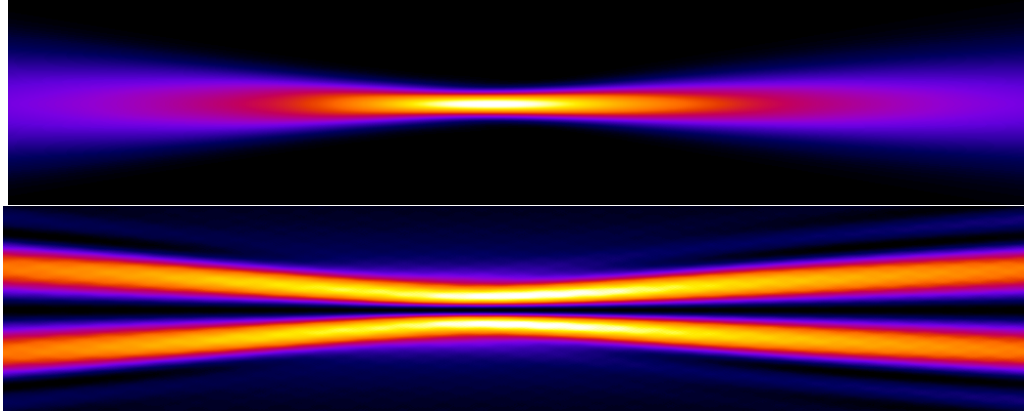


FIGURE 8 – Comparaison entre focalisation d'un faisceau gaussien avec (en bas) et sans (en haut) masque de phase

8 Traitement d'image

Dans cette dernière partie du projet, donc allons illustrer l'importance de la résolution optique d'un système en étudiant comment une image est transformée par le système. Nous allons ici considérer notre système comme un filtre, et le vocabulaire utiliser sera donc identique a celui du traitement du signal.

8.1 Qu'est ce qu'une image sous Matlab ?

Une image sous Matlab sera décrite par une matrice 2D ou 3D, ou chaque élément de la matrice représente le niveau de signal sur le pixel correspondant. (ce sont donc des images en noir et blanc, mais cela convient parfaitement à la microscopie nonlinéaire)

Les fonctions d'entrée/sortie

- *imread* permet d'importer une image sous Matlab (voir l'aide)
 - *imwrite* permet de sauvegarder une matrice du bon format comme image (voir l'aide)
- Les images étant ensuite des matrices, elles sont manipulées avec les outils matriciels standard.

8.2 Comment représenter le système ?

On représente notre système par sa psf, c'est a dire par sa fonction de transfert optique. Pour obtenir une image après qu'elle ait été filtrée par le microscope, on considère qu'elle est constituée d'une somme de points arbitrairement petits. Or la fonction de transfert optique est justement l'image d'un tel point : l'image d'une somme de point devient donc la somme des images de points, c'est à dire que l'image obtenue est le produit de convolution entre l'image de départ et la fonction de transfert optique, soit mathématiquement :

$$I_1(\mathbf{r}) = (PSF * I_0)(\mathbf{r}) \quad (64)$$

$$= \int PSF(\mathbf{r} - \rho) I_0(\rho) d\rho \quad (65)$$

Dans le cas de la microscopie nonlinéaire, nous n'avons pas affaire à des fonctions continues, mais à des fonctions discrètes, pour lesquelles on peut écrire :

$$I_1(x, y, z) = (PSF * I_0)(x, y, z) \quad (66)$$

$$= \sum_{\xi} \sum_{\gamma} \sum_{\zeta} PSF(x - \xi, y - \gamma, z - \zeta) I_0(\xi, \gamma, \zeta) \quad (67)$$

1. [Ecrivez une fonction qui calcul l'image de l'échantillon donné par votre microscope pour la psf obtenue dans la première partie.](#)
2. [Même chose pour la psf modifiée pour la psf obtenue dans la deuxième partie.](#)

8.3 Espace des fréquences

Une autre façon de voir le microscope est de passer dans l'espace des fréquences grâce à la transformée de Fourier. En effet, l'équation de convolution y devient beaucoup plus simple :

$$F[I_1(\mathbf{r})] = F[(PSF * I_0)(\mathbf{r})] \quad (68)$$

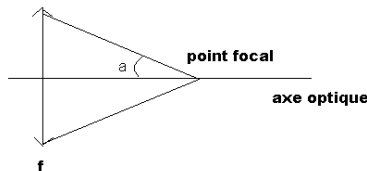
$$= F[PSF(r)] * F[I_0(r)]d \quad (69)$$

1. Ecrivez une fonction qui calcul l'image de l'échantillon donné par votre microscope pour la psf obtenue dans la première partie en utilisant la transformée de Fourier.
2. Même chose pour la psf modifiée pour la psf obtenue dans la deuxième partie.

A Définitions

A.1 Résolution

La résolution d'un système optique, est défini historiquement comme la distance (ou l'angle) nécessaire entre deux points pour que leur images soient séparables par l'oeil. Tout système optique est intrinsèquement limité par la diffraction due à la taille finie des optiques employées. En microscopie classique par exemple, la théorie d'Abe donne pour un système décrit par le demi-angle a qui est donné par le triangle lentille-point focal.



$$d = \frac{\lambda}{2n \sin(a)} \quad (70)$$

ou λ est la longueur d'onde, et n est l'indice du milieu.

A.2 Point Spread Function (PSF)

La PSF d'un système, aussi appelée OTF (Optical Transfer Function, ou fonction de transfert optique) est la réponse impulsionnelle d'un système optique. En théorie, c'est l'image par le système d'une fonction de Dirac, et en pratique, c'est l'image d'un point beaucoup plus petit que la résolution. L'avantage de la psf sur la résolution, c'est qu'elle décrit complètement le système. En effet, si le système est linéaire, on peut décrire l'échantillon comme une somme de points. Comme on connaît l'image de chacun de ces points, on peut facilement calculer l'image de cette somme de points comme la somme des images de ces points. Cela se généralise au cas continu, et on a alors une image qui est égale au produit de convolution entre l'échantillon de départ et la psf du microscope.

Dans le cas de la microscopie non-linéaire incohérente d'ordre 2 (2PEF), la psf est égale au carré de la distribution en intensité au voisinage du foyer, puisque le signal obtenu en un point est égal à l'intensité au carré convoluée par la densité d'émetteurs. Comme on considère une distribution de Dirac, on a directement une psf égale à la distribution en intensité au carré.

B Fonctions Matlab

B.1 Fonctions Usuelles

Ce sont en gros les fonctions que vous avez sur une calculatrice, il faut savoir les utiliser sans avoir recours à l'aide. Par exemple :

- les operateurs : $+$, $-$, \times , $*$, \wedge , $:\dots$ et leur utilisations vectoriels.
- les fonctions trigonometriques : *cos*, *sin*, *tan*, *asin*, *acos*, *tanh*, \dots
- les fonctions complexes : *real*, *imag*, *norm*, *angle*
- les fonctions vectorielles de base : *min*, *max*, *abs*, *size*,
- les boucles⁶ et conditions : *for*, *while*, *if*, *then*
- les operateurs de comparaison et les booléens associés : $>$, $<$, $==$, $\&$, $|$, *not*
- les fonctions d'affichage 1D : *plot*

B.2 Fonctions Utiles

Ce sont les fonctions qui servent souvent, mais qui nécessite parfois de devoir faire un tour dans l'aide pour etre utilisées correctement :

- les arrondis : *floor*, *round*, *ceil*, *fix*
- les fonctions de declarations : *ones*, *zeros*, *sparse*
- les fonctions d'affichage 2D : *surf*, *mesh*
- Les tranformées de Fourier : *fft*, *ifft*, *fft2*
- les solveurs : *solve*

B.3 Fonctions utiles pour ce projet

Peuvent vous reservire un jour, mais probablement pas tous les jours. :

- les entrées/sorties d'images : *imread*, *imwrite*
- les fonctions chronometres : *tic*, *toc*
- les convolutions : *conv*, *conv2*
- les fonctions de fit : *polyfit*, *nlinfit*

6. Meme si Matlab est beaucoup plus efficace en vectoriel, il est parfois beaucoup plus simple d'utiliser des boucles *for*