

Introdução

Os microscópios sem lentes surgiram como uma alternativa eficaz aos instrumentos ópticos de imagens microscópicas. (1) A ausência de lentes possibilita o maior atrativo dessa técnica: a dissociação do campo de visão com a resolução especial. (2) Além disso, se destacam com relação aos microscópios tradicionais por serem sistemas simples, portáteis e também por serem sistemas versáteis que são facilmente adaptados para uso em diversos tipos de ambientes, podendo fazer imagem de fase e em profundidade. (3)

Neste trabalho, apresentamos o desenvolvimento de um microscópio holográfico digital para amostras semitransparentes com campo de visão de aproximadamente 30 mm^2 e resolução abaixo de $7 \mu\text{m}$, com o uso do método de multialturas (4).

Materiais e Método

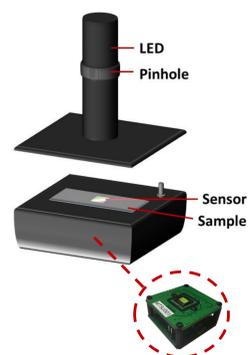
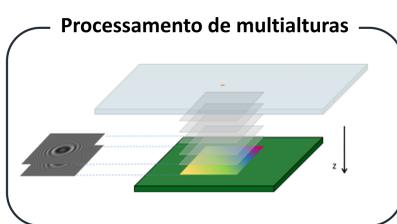


Figura 1: Ilustração esquemática do microscópio sem lentes, com detalhes do sistema da câmera na fotografia.



$$E(x, y, z) = \mathcal{F}^{-1} \left\{ A(k_x, k_y) \cdot \exp \left(i \sqrt{k^2 - k_x^2 - k_y^2} z \right) \right\}$$

$\mathcal{F}\{E(x_0, y_0)\}$
Espectro angular

Função transferência

Distância de propagação

Comprimento de onda (LED)	λ	455 nm
Distância fonte de luz-amostra	z_1	$\sim 10 \text{ cm}$
Distância amostra-sensor da câmera	z_2	$\sim 2 \text{ mm}$
Tamanho do pixel	dx	$1.67 \mu\text{m}$

Processamento das imagens

Reconstrução de fase	Focalização
Método Multialturas	Método do Espectro Angular
Entrada: 6 imagens com diferentes z_2	Entrada: 1 imagem com qualquer z_2

Nesse microscópio, o padrão de intensidade, adquirido pelo sensor de uma câmera monocromática (de 1/2,3" com pixels de $1,67 \mu\text{m}$, pertencente ao módulo de uma ArduCam 10MP), é chamado holograma e resulta da interferência da luz transmitida pela amostra com a luz difratada pela mesma. Essas imagens capturadas pela câmera são posteriormente reconstruídas de modo a gerar uma imagem microscópica final da amostra, com melhor qualidade, por meio de um processamento digital das imagens obtidas. Tal processamento de baseia na equação de propagação da luz por meio do Método do Espectro Angular e conta com a reconstrução da fase por um método de multialturas. Esse último método necessita, como entrada, de algumas imagens com diferentes distâncias amostra-sensor. Em nosso microscópio, essa variação de posição é feita por um atuador da Thorlabs que translada o sensor por 6 diferentes posições com passo de $50 \mu\text{m}$, distanciando-o da amostra.

Resultados

Montagem do equipamento



O microscópio foi construído com uma montagem baseada na holografia *in-line* em que todos os componentes do sistema estão sobre um mesmo eixo. Dessa forma, conta com a transmissão da luz pela amostra e, por isso é necessário que a amostra a ser observada seja semitransparente. Uma estrutura 3D foi desenhada e impressa para servir de base ao nosso microscópio, sendo também apoio para amostras das quais serão feitas imagens. Seu tamanho reduzido e sua característica versátil permite com que esse equipamento seja facilmente transportado e usado dentro e fora de laboratórios. A integração entre os softwares da câmera e do atuador está sendo desenvolvida em Python para garantir um fácil uso desse equipamento.

Figura 2: Foto da montagem do microscópio sem lentes.

Processamento digital de imagem

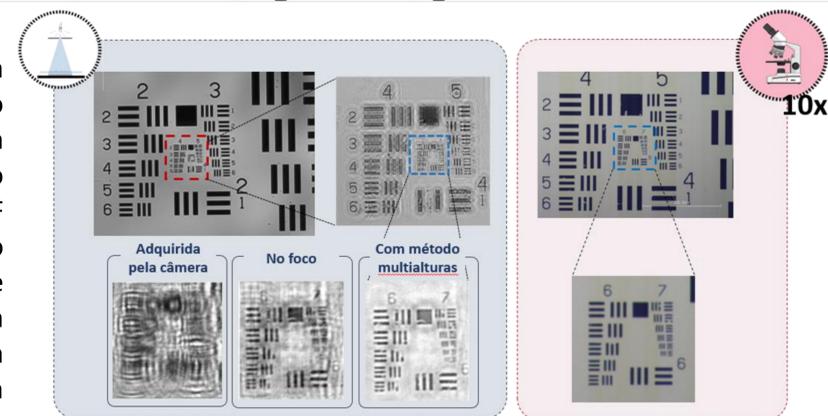


Figura 3: Campo de visão total do nosso microscópio sem lentes, com detalhes da imagem adquirida e processada (à esquerda). Campo de visão total da mesma amostra com a imagem feita por um microscópio tradicional com uma objetiva de 10x, para comparação (à direita).

Para confirmar a performance do nosso microscópio, fizemos a imagem de um alvo padrão positivo USAF 1951. O campo de visão e a imagem adquirida e digitalmente processada pode ser vista na figura 3 e comparada com a imagem ao lado, da mesma amostra, feita em um microscópio óptico tradicional.

Os processamentos foram feitos por algoritmos desenvolvidos em Python e permitem com que tenhamos imagens com resolução abaixo de $7 \mu\text{m}$.

Conclusão

Em conclusão, desenvolvemos um microscópio óptico holográfico que utiliza o método de multialturas para o processamento suas imagens e que tem a capacidade de fazer imagens de amostras semitransparentes com campo de visão de aproximadamente 30 mm^2 e menos de $7 \mu\text{m}$ de resolução.

Referências

- ROY, Mohendra et al. A review of recent progress in lens-free imaging and sensing. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 88, p. 130-143, 2017.
- [WU, Yichen; OZCAN, Aydogan. Lensless digital holographic microscopy and its applications in biomedicine and environmental monitoring. *Methods*, v. 136, p. 4-16, 2018.
- OZCAN, Aydogan; MCLEOD, Euan. Lensless imaging and sensing. *Annual review of biomedical engineering*, v. 18, p. 77-102, 2016. GREENBAUM, Alon;
- OZCAN, Aydogan. Maskless imaging of dense samples using pixel super-resolution based multi-height lensfree on-chip microscopy. *Optics express*, v. 20, n. 3, p. 3129-3143, 2012.

Agradecimentos