

SIMULAÇÃO DA ILUMINAÇÃO UNIFORME PARA O SISTEMA DE IMAGEM DE UM MICROSCÓPIO

Lucca Muniz Coelho¹; Afonso Oliveira de Matos²; Jéssica Gurerreiro Ramalho³; Valéria Loureiro da Silva⁴

¹ Graduando em Engenharia Elétrica; Iniciação Tecnológica - FAPESB; lmunizcoelho@gmail.com

² Graduando em Engenharia Elétrica; Iniciação Tecnológica - EMBRAPPII; afonso.matos@fbter.org.br

³ Mestre em física; Bolsista PD&I; jessica.ramalho@fbter.org.br

⁴ Doutora em Física; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; valeria.dasilva@fieb.org.br

RESUMO

A técnica Kohler para a iluminação de microscópios ópticos consiste em construir um sistema de lentes que foque a luz em um plano conjugado na entrada da objetiva corrigida para o infinito do microscópio, tornando-a uniforme no plano da amostra. Essa uniformidade depende, além da escolha do conjunto de lentes utilizada, da otimização das distâncias entre elas. O software Zemax Optic Studio permite a modelagem computacional desse sistema óptico e a otimização teórica de todas as suas distâncias a partir das suas funções de mérito nativas. A análise das simulações realizadas mostrou que a variável mais significativa é a distância entre a fibra óptica da iluminação e a primeira lente colimadora. Também foi possível verificar que o colimador comercial analisado apresenta melhor iluminação no plano da amostra do que lentes acromáticas usadas como colimadores.

PALAVRAS-CHAVE: Modelagem; Iluminação Branca; Otimização; Sistema Óptico.

1. INTRODUÇÃO

Em sistemas de iluminação, a iluminação no plano da amostra é um fator decisivo para a qualidade da imagem. Num microscópio, isso fica muito nítido, onde a qualidade da visualização de amostras é muito influenciada pela iluminação do espécime em questão¹. Grande parte dos microscópios utiliza a iluminação da luz de fundo em comparação com a iluminação tradicional por luz direta, que comumente satura o objeto sob inspeção. Um tipo específico de iluminação de fundo difundido em várias aplicações de microscopia é a iluminação Kohler.³ Existem vários outros tipos de iluminação utilizada em microscópios: afocal, difusa. Entretanto a iluminação Kohler apresenta diversas vantagens: uniformidade é uma das preferidas por permitir uma iluminação uniforme no campo de visão.

A implementação da iluminação Kohler implica na construção de um sistema composto de lentes e colimadores configurados de modo a tornar conjugados o plano da fonte de luz e o plano da entrada da objetiva, buscando garantir a uniformidade dos feixes no plano da amostra. Numa modelagem, há diversas variáveis a serem consideradas e o processamento delas é de fundamental importância para a otimização do sistema óptico e o consequente alcance dos resultados esperados. E, para analisar e visualizar esses resultados modela-se o sistema em softwares de simulação, e no caso em questão foi-se modelado o sistema de iluminação branca do tipo Kohler para um microscópio no Software Zemax Optic Studio, onde o mesmo permite implementações que visam a otimização do sistema (Zemax, 2019)⁴.

2. METODOLOGIA

Após o estudo da literatura, e escolha da técnica a ser utilizada, começou-se a idealizar o sistema chegando na Figura 1.

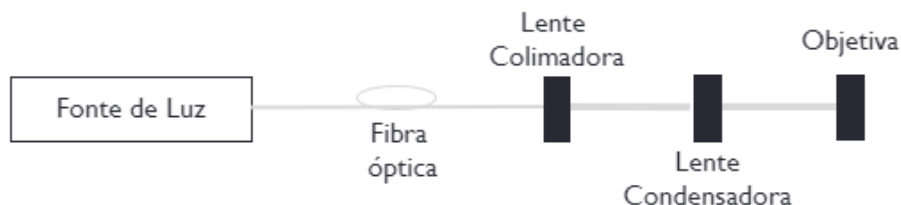


Figura 1 Sistema de Iluminação Branca

Já sabendo como será o sistema, partimos para a análise e escolha dos componentes que serão utilizados juntamente com avaliações de limitações físicas para saber quais seriam os componentes que melhor atenderiam a essas limitações. O software Zemax permite a implementação dos componentes e a variação das

distâncias entre eles, e, ademais, por meio deste também há a possibilidade de se criar funções que fazem mudanças nas variáveis definidas (nesse caso a distância entre os componentes), visando otimizar o sistema para o que ele está sendo construído, essa ferramenta é chamada de funções de mérito. Seguindo a técnica Köhler, os feixes devem chegar focados na entrada da objetiva e aproximadamente colimados no plano da amostra. Foram utilizadas 2 funções de mérito para garantir que os feixes cheguem na lente condensadora realmente colimados, e outra destinada à colimação dos feixes no último plano da objetiva, ou seja, no plano da amostra. Foram realizadas diversas simulações onde movimentou-se diversas variáveis que estão presente na Figura 2.

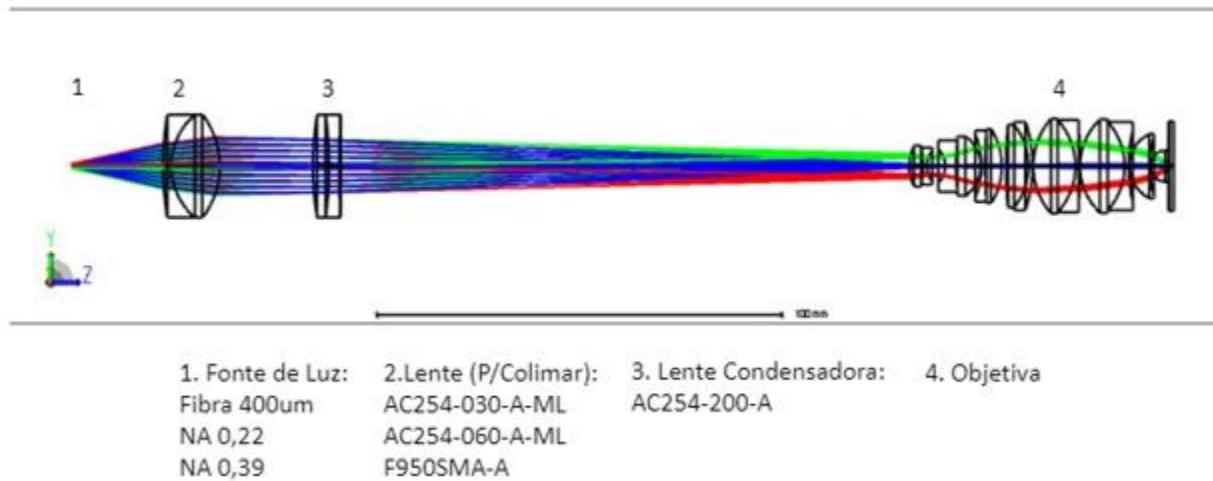


Figura 2 Composição Geral do Sistema + Variáveis

Para simular uma fibra óptica de 400 um utilizamos 11 fontes pontuais espaçadas de -200 a +200 um com espaçamento de 0,04 mm como pode ser visto na Figura 3 e 4.

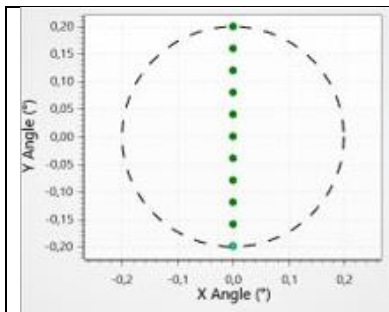


Figura 3 Configuração da fonte de luz simulada com fontes pontuais.

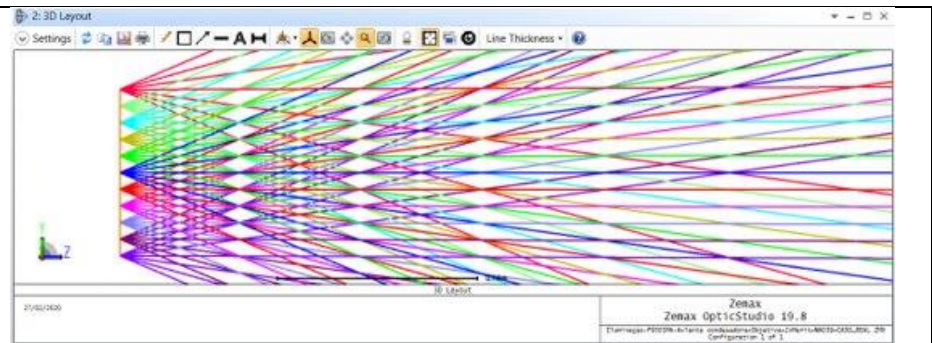


Figura 4 Traçamento de raio para a Fonte de Luz simulada pelo Software

Nas simulações foram consideradas fontes de luz com NA 0,22 e 0,39, lentes colimadoras AC254-030-A-ML e AC254-060-A-ML e um colimador F950SMA-A, todos da Thorlabs e uma lente condensadora AC254-200-A. Os modelos das lentes utilizadas nas simulações foram encontrados na própria biblioteca do software, enquanto o modelo de objetiva utilizado foi o encontrado no artigo de Kurvits et al. (2015)². Nas simulações foram estudados os resultados com a otimização proposta pelo ZEMAX assim como com otimizações manuais quando necessário. Foram utilizadas as funções de mérito Image Quality “Spot” e Image Quality “Angular” para a otimização automática do Zemax, aquela busca otimizar o foco dos raios em uma dada superfície, esta busca otimizar a colimação dos raios em uma dada superfície.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise das simulações ficou claro que a variável mais significativa do sistema modelado é a distância entre a fibra (saída de luz) até a lente condensador, isso porque quando mais distante a fibra estiver da

lente condensadora, maior será a área usada da mesma ocasionando raios marginais que não estão colimados. Ocasionalmente assim uma iluminação pouco uniforme no plano da amostra, lembrando que a uniformidade dos raios é um dos objetivos da iluminação Köhler.

Colocando como variável a ser processada pelo software a distância da fibra até a lente colimadora, os melhores resultados na simulação foram obtidos com o colimador. Nesse caso, no entanto, e a alteração das variáveis posteriores influenciam pouco no resultado como mostrado nos *footprints* (*spot diagram* em função da posição no plano e defocus) das Figuras 3 e 4 antes e após a otimização.

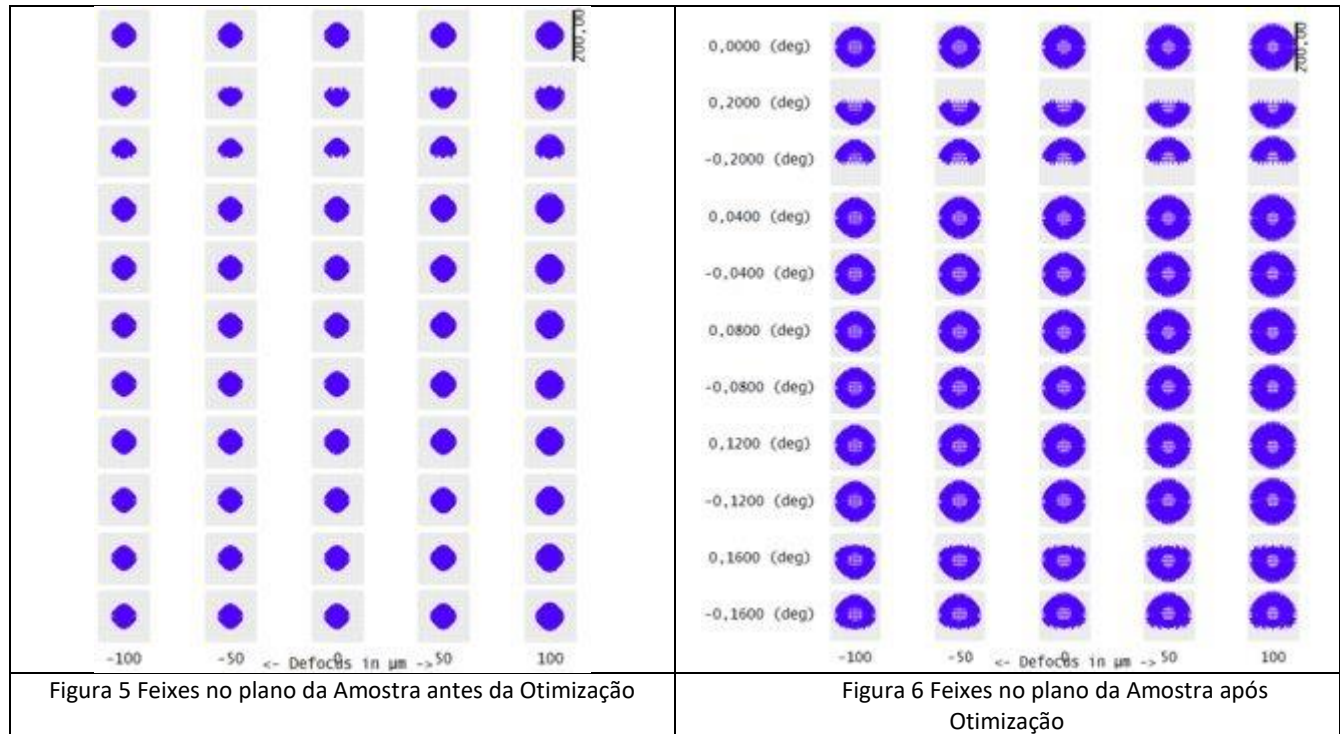


Figura 5 Feixes no plano da Amostra antes da Otimização

Figura 6 Feixes no plano da Amostra após Otimização

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um sistema de iluminação branca para microscópio utilizando a arquitetura Kohler foi simulado e otimizado com o software Optic Studio da Zemax. Os resultados obtidos através das simulações tanto com as lentes como com o colimador mostram a possibilidade de se otimizar o sistema de iluminação branca utilizando fibra óptica para alimentar o sistema de iluminação branca e que a distância entre a fibra e a primeira lente é o parâmetro mais crítico para o desempenho do sistema, pois a menor variação na mesma desencadeia aberrações ópticas, fazendo com que os resultados não sejam condizentes com o esperado, como comprovam as simulações realizadas. O próximo passo desta pesquisa é a montagem de bancada para validar experimentalmente os resultados da simulação e fazer ajustes necessários.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fapesb, EMBRAPII, SENAI-CIMATEC e CODEMGE pelo apoio financeiro e ao LabNS e DCC da UFMG pelo apoio técnico.

5. REFERÊNCIAS

¹Pallister, D. M., & Morris, M. D. (1994). Laser Koehler Epi-Illumination for Raman and Fluorescence Microscopic Imaging. *Applied Spectroscopy*, 48(10), 1277–1281. <https://doi.org/10.1366/0003702944027480>

²KURVITS et al. 2015. Comparative analysis of imaging configurations and objectives for Fourier microscopy. *Journal of the Optical Society of America A* Vol. 32, Issue 11, pp. 2082-2092 (2015).

³ MURPHY, Douglas. *Fundamentals of Light Microscopy*. Wiley-Liss, Inc. 2001.

⁴Zemax OpticStudio: Software para simulações e otimizações em sistemas ópticas. Version 19.8. [STANDARD]: ZEMAX LLC, 2020. Disponível em: <<https://www.zemax.com/>>. Acesso em: 20 março 2020.