

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

ARTUR FALQUETO SONSIN

EFEITO DE AUTORECONSTRUÇÃO APLICADO A MICROSCOPIA

MACEIÓ

2017

ARTUR FALQUETO SONSIN

EFEITO DE AUTORECONSTRUÇÃO APLICADO A MICROSCOPIA

Dissertação apresentada ao Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Física.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Jorge da Silva Fonseca

MACEIÓ

2017

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Janaina Xisto de Barros Lima

S698e Sonsin, Artur Falqueto.
Efeito de autoreconstrução aplicado à microscopia / Artur Folqueto
Sonsin. – 2017.
55 f. : il.

Orientador: Eduardo Jorge da Silva Fonseca.

Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Alagoas.
Instituto de Física. Programa de Pós-Graduação em Física. Maceió, 2017.

Inclui bibliografia e apêndice.

1. Speckle. 2. Autoreconstrução. 3. Microscopia. I. Título

CDU: 535.36



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Física
Programa de Pós Graduação em Física

BR 104 km 14. Campus A.C. Simões
Cidade Universitária
Tabuleiro dos Martins
57072-970 Maceió - AL, Brasil
FONE : (82) 3214-1423/FAX 3214-1645

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

“Efeito de autoreconstrução aplicado a microscopia”

por

Artur Falqueto Sonsin

A Banca Examinadora composta pelos professores Eduardo Jorge da Silva Fonseca (orientador), do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, Alcenísio José de Jesus Silva, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas e José Henrique Araújo Lopes de Andrade, do Campus Arapiraca da Universidade Federal de Alagoas consideram o candidato aprovado com grau “A”.

Maceió, 30 de janeiro de 2017

Prof. Dr. Eduardo Jorge da Silva Fonseca

Prof. Dr. Alcenísio José de Jesus Silva

Prof. Dr. José Henrique Araújo Lopes de Andrade

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Carlos Roberto Sonsin

A minha mãe Bernadete Falqueto Sonsin

Aos meus irmãos Stela Falqueto Sonsin e Luis Falqueto Sonsin

E ao meu sobrinho Felipe Falqueto Vicente

Que sempre me deram forças para sempre seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

- A Deus que sempre me deu forças.
- A minha mãe Bernadete Falqueto Sonsin, ao meu pai Carlos Roberto Sonsin que sempre fizeram de tudo para que eu estudasse e conseguisse alcançar meus objetivos na vida.
- Aos meus irmãos Stela Falqueto Sonsin e Luis Falqueto Sonsin que sempre tiveram paciência para ouvir minhas reclamações e planos para vida.
- Ao meu sobrinho Felipe Falqueto Vicente, mesmo longe ele me ajudou.
- Ao professor Eduardo Fonseca, pela orientação, conselhos e grandes ensinamentos.
- Ao professor Alcenísio, pelos ensinamentos. Muito obrigado.
- As minhas amigas Elaine, Waléria e Camyla, que sempre me fizeram rir quando estava preocupado.
- Ao meu amigo José Fabio que me ajudou inúmeras vezes com muita disposição e ainda me ajuda muito, muito obrigado.
- Aos meus amigos do laboratório Leandro, Caio, Henrique, Danilo e João, pelos momentos de conversa e de companheirismo que tivemos inúmeras vezes no laboratório.
- A todos que não foram citados, mas contribuíram de alguma forma especial para que esse trabalho fosse concluído.
- CNPQ e CAPES pelo apoio financeiro dispensado.

*Este mais lindo sistema [o Universo] somente
poderia proceder do domínio de um ser inteligente
e poderoso.*

Isaac Newton

RESUMO

A luz com amplitude e fase aleatórias, os chamados padrões de speckles, são obtidas através de espalhamento ou modulação espacial de uma luz laser. Este tipo de efeito foi pensado, até recentemente, como algo a ser evitado. No entanto, hoje os fenômenos de dispersão e o campo de speckles relacionado é uma linha de pesquisa muito ativa em física e aplicações básicas. Um efeito estudado é o efeito de auto-reconfiguração, que acontece quando um feixe de speckles passa através de um obstáculo. Quando um campo de speckle atravessa um obstáculo opaco, após alguma distância de propagação a assinatura de obstáculo desaparece completamente. É semelhante ao efeito de auto-cura, que é uma propriedade dos feixes de Bessel. Explorando este efeito, uma aplicação útil foi considerada por nós em microscopia em materiais biológicos. Perguntamo-nos se é possível ver através de camadas diferentes de uma amostra biológica simplesmente usando o efeito de auto-reconfiguração. Para isso, utilizamos o mesentério de um rato, que consiste de um material translúcido coberto por duas paredes celulares e irrigado com pequenos vasos sanguíneos no interior. Analisando o material, podemos ver as paredes celulares que se sobrepunham, e ao visualizar uma área com vasos sanguíneos pudemos ver as paredes celulares que estão na parede interna da veia. Estas análises foram feitas para dois comprimentos de onda diferentes, 534 nm e 810 nm, demonstrando melhores resultados para o maior comprimento de onda. Assim, vemos que o feixe pode ser reconstruído para passar as células de um material biológico, e assim a auto-reconfiguração pode ter uma aplicação à microscopia.

Palavras Chaves: Speckles; Autoreconstrução; Microscopia.

ABSTRACT

The light with random amplitude and phase, so-called speckles patterns, are obtained via scattering or spatial modulation of a laser light. This kind of effect was thought, until recently, as something to be avoided. However, today the scattering phenomena and the related speckles field is a very active research line in both, basic physics and applications. One studied effect is the self-reconfiguration effect, which happens when a speckled beam passes through an obstacle. When a speckle field cross an opaque obstacle, after some propagation distance the obstacle signature disappears completely. It is similar to the self- healing effect, which is a property of the Bessel beams. Exploring this effect, a useful application was envisaged by us in microscopy in biological materials. We wonder if it is possible to see through different layers of a biological sample simply using the self-reconfiguration effect. For this, we use the mesentery of a rat, which consists of a translucent material covered by two cell walls and irrigated with small blood vessels inside. Analyzing the material, we can see the cell walls that were overlapping, and when scanning an area having blood vessels we was able to see the cell walls which are in the inner wall of the vein. These analyzes were made for two different wavelengths 534 nm and 810 nm, demonstrating better results for the longer wavelength. Thus, we see that the beam can be reconstructed to pass the cells of a biological material, and thus the self-reconfiguration can have an application to microscopy.

Key words: Speckles; Self-reconfiguration; Microscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2. 1: Padrão de speckle.....	19
Figura 2. 2: Feixe coerente incidindo em superfície e produzindo um padrão refletido de Speckles.	20
Figura 2. 3: Feixe coerente sendo transmitido por um meio espalhador e formando um padrão de Speckles.	21
Figura 2. 4: Auto-cura e efeito de auto-reconfiguração: de um feixe coerente, coluna (A); Intensidades do padrão speckle a partir de um feixe de Bessel parcialmente coerente, coluna (B); E a coluna (C), autocorrelação das intensidades da coluna (B).	22
Figura 2. 5: Perfis transversais do feixe gaussiano parcialmente coerente medido para diferentes distâncias de propagação: intensidade do speckle (A) e sua autocorrelação (B).....	23
Figura 2. 6: : Efeito de autoreconstrução para diferentes comprimentos de coerência (a) $\delta = 8\mu\text{m}$ (b) $\delta = 24,5\mu\text{m}$ (c) $\delta = 66,5\mu\text{m}$	25
Figura 2. 7: Figura ilustrativa para mostrar o efeito de autoreconstrução e autoreconfiguração. A, Três padrões transversais de um feixe de Bessel coerente, sendo um deles com uma obstrução na sua parte central. Uma sombra se forma ao longo da propagação e desaparece após o comprimento de reconstrução z_{min} . B) Três padrões de speckle com um deles tendo o seu centro obstruído, seguindo o princípio de Huygens, tornando-se homogêneo, após o comprimento de reconfiguração dado pela equação 2.1.	26
Figura 3. 1: Descrição do aparato experimental.....	28
Figura 3. 2: (a) Laser incidindo no DJ com L1 há uma distância d (b) figura transversal do DJ mostrando um raio de tamanho R da cintura do feixe incidente. (c) laser incidindo no DJ com L1 há uma distância $d/2$ (d) figura transversal do DJ mostrando um raio de tamanho r da cintura do feixe incidente.	29

Figura 3. 3: Auto-reconfiguração dos objetos geométricos.....	36
Figura 3. 4: Obstáculos com comprimento de coerência de $\delta = 23,8 \mu\text{m}$ a uma distância de 6 cm uns dos outros.	37
Figura 3. 5: Obstáculos com o feixe totalmente coerente.....	38
Figura 4. 1: Descrição do aparato experimental.....	40
Figura 4. 2: Lamínulas com esferas de Látex.	41
Figura 4. 3: Descrição do mesentério intestinal de rato.	42
Figura 4. 4: Imagens experimentais das esferas de Látex feitas com feixe parcialmente coerente.....	43
Figura 4. 5: Isosuperfície para resultados experimentais de imagens de esferas de látex ao longo de 222 planos longitudinais.	44
Figura 4. 6: Imagens da veia e paredes celulares do mesentério intestinal de rato feito com 532nm.	45
Figura 4. 7: Imagens da veia e paredes celulares do mesentério intestinal de rato feito com 810 nm.	46
Figura 4. 8: Figura ampliada na parte da veia.	47
Figura 4. 9: Camadas da veia.	48
Figura 4. 10: (a) Ampliação da veia em 810 nm (b) Ampliação da veia em 532 nm.	49
Figura 4. 11: Espectro de absorção de vários constituintes de tecido biológico humano para comprimentos de onda entre o ultravioleta e infravermelho.	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 SPECKLE E AUTORECONSTRUÇÃO DE UM FEIXE.....	18
2.1 SPECKLE	18
2.2 AUTORECONSTRUÇÃO DE UM FEIXE.....	21
2.2.1 <i>Auto Reconstrução de um Feixe Parcialmente Coerente</i>	22
3 AUTORECONSTRUÇÃO DE OBSTÁCULOS.....	27
3.1 MONTAGEM EXPERIMENTAL.....	27
3.1.1 <i>Variação do Comprimento de Coerência</i>	28
3.2 TEORIA.....	30
3.2 AUTORECONSTRUÇÃO ATRAVÉS DE OBSTÁCULOS GEOMÉTRICOS.....	35
3.3 VARIAÇÃO DO COMPRIMENTO DE COERÊNCIA.....	37
4. APLICAÇÃO EM AMOSTRA MICROMÉTRICAS E BIOLÓGICAS.....	39
4.1 MONTAGEM EXPERIMENTAL.....	39
4.1.1 <i>Descrição das Amostras</i>	40
4.2 APLICAÇÃO EM OBJETOS MICROMÉTRICOS.....	42
4.3 APLICAÇÃO EM MATERIAL BIOLÓGICO.....	44
4.3.1 <i>Feixe em 532nm</i>	45
4.3.2 <i>Feixe em 810nm</i>	46
4.3.3 <i>Análise Para os Dois Comprimentos de Onda</i>	48
5 CONCLUSÕES.....	51

REFERÊNCIAS52

APÊNDICE56

1 INTRODUÇÃO

A observação das estruturas encontradas na natureza utilizando as técnicas de microscopia, como uma extensão natural da observação realizada pelo olho ¹, vem apresentando um papel fundamental no surgimento de novas linhas de pesquisa onde a observação direta é crucial na caracterização de vários materiais. Esse fato vem descortinando um enorme leque de possibilidade no campo das ciências da natureza, tanto nas ciências biológicas, passando pela histologia e, anatomia, como também em mineralogia, petrografia, dentre outras ². A partir de 1863, quando Sorby apresentou a Royal Society suas observações sobre as estruturas do aço, a observação dos materiais por microscopia ótica esteve sempre presente no centro do conjunto das tecnologias e de campos da ciência que viriam a se aglutinar no que é hoje conhecido como “Ciência e Engenharia dos Materiais”^{3; 4}.

Hoje há diversos tipos de microscópios que permitem uma moderna e detalhada compreensão da arquitetura de materiais, entretanto todos tem as suas especificidades e limitações na forma de visualização de imagens que depende, obviamente de cada tipo de amostra. Alguns deles são ¹:

- Microscópio Óptico (Luz)
- Microscópio de Fluorescência Comum
- Microscópio de Fluorescência Confocal
- Microscópio de Polarização
- Microscópio Eletrônico de Transmissão
- Microscópio Eletrônico de Varredura

Embora o mais antigo dos microscópios, o microscópio óptico ainda bem comum nos vários laboratórios de pesquisa, tem como limitador seu fator de resolução, seu limite de resolução é pequeno, pois depende do limite de difração que está relacionado ao comprimento de onda da luz usada. Já o microscópio de fluorescência, apesar de ter boa resolução, suas amostras possuem um tempo de vida baixo, por conta que a técnica de fluorescência vai decaindo, até não emitir mais nenhum comprimento de onda. Com o surgimento da microscopia de fluorescência confocal tivemos notáveis avanços, porém esse tipo de microscopia confocal apresenta as mesmas limitações que um microscópio de fluorescência convencional. O microscópio de polarização é muito utilizado pois consegue individualizar alguns tipos de

estrutura por meio da polarização da luz, porém ele acaba sendo limitado por ter uma baixa resolução. Outra técnica, a microscopia eletrônica de transmissão apesar de ter uma resolução óptica alta sua principal limitação é o fato do preparo da amostra ser muito demorado e com um baixo volume de amostra. O poder de resolução dos microscópios eletrônicos de varredura é limitado pela espessura do revestimento metálico utilizado e muito menor que o poder de resolução dos instrumentos de transmissão.

De fato, a busca de melhor resolução e adequação ao tipo de amostra ainda é motivo crescente de busca por novas técnicas^{5; 6}. Novas técnicas de microscopia estão sendo constantemente desenvolvidas para atender às necessidades de vários usuários. Em um caso, pode ser uma técnica de contraste melhorada para uma aplicação específica⁷. Em outro caso pode ser um método geral para melhorar a representação de pequenos detalhes na amostra. A maioria das técnicas têm em comum que podem melhorar algum aspecto da resolução e, assim, potencialmente exibir pequenas estruturas de espécime com melhor clareza⁸.

Algumas técnicas não dependem da interação da matéria com luz ou elétrons, caso do STM e AFM. Nelas, o observador utiliza uma pequena sonda que tem a ponta muito afiada e que percorre a superfície da amostra, muito próximo desta. Em AFM, a sonda pode estar em contato com a amostra, mas, na maioria dos casos, está a uma distância muito pequena, de ordem de poucos nanômetros.

Uma técnica que está na vanguarda da ciência e tecnologia atual é a Microscopia Óptica de Varredura de Campo Próximo (SNOM), isso porque combina as potencialidades da tecnologia de varredura por sonda com o poder da microscopia óptica. Uma das formas mais usada nos laboratórios é o SNOM baseado em sondas com abertura, eles varrem uma pequena abertura na extremidade de uma fibra óptica afinada em vez de uma tela opaca plana. A extremidade da fibra com a abertura é colocada muito próxima da superfície de uma amostra, enquanto que a radiação óptica é enviada através da fibra e da abertura para a superfície da amostra. Esta extremidade da ponta da fibra é geralmente revestida com metais para proteger, de forma eficaz, contra o vazamento da luz através das paredes laterais de fibra. No final do revestimento metálico da fibra um pequeno furo é aberto.

De fato, as técnicas de microscopia por sonda, como AFM, SNOM, etc, traz consigo um poder tal de resolução que a utilização da luz laser para a microscopia parece ter atingido seu limite de resolução. Entretanto nos últimos 10 anos, a luz laser transmitida ou refletida por meio rugoso vem sendo uma importante ferramenta no desenvolvimento de novas técnicas de microscopia, inclusive com resolução que alcança a resolução de algumas técnicas de microscopia por sonda. Interessante é que a difusão da luz por materiais que possuem uma certa

rugosidade é um fenômeno considerado de pouca relevância em nossas vidas diárias⁹. Além disso, no campo da fotônica, o surgimento de padrões formados pela luz difusa é muitas vezes indesejável e que durante muito tempo foi considerada apenas um efeito prejudicial que deveria ser evitado. No entanto, estudos recentes mostraram que o uso de iluminação espacialmente não uniforme melhora significativamente a resolução da microscopia óptica¹⁰. No cenário de hoje existem várias técnicas envolvendo iluminação espacialmente não uniforme, com melhoria de imagem e ampliação.

A luz laser quando transmitida ou refletida por um meio rugoso tipo, pele, parede, folhas, etc gera um tipo de padrão granuloso conhecido, em inglês como speckles. Uma característica desse tipo de padrão é perda da coerência espacial se comparado com a luz laser, que é uma luz extremamente coerente. Justamente por isso padrão de speckles é também conhecido como luz parcialmente coerente.

Dos vários trabalhos que usam speckles como fonte de iluminação para microscopia, podemos citar o método de imagem baseado em bio-speckles utilizado para visualização do fluxo sanguíneo de organismos vivos e tem sido utilizado para analisar a condição ou o estado de saúde dos corpos vivos. Na verdade, a sensibilidade do fluxo sanguíneo é influenciada pelas propriedades ópticas dos tecidos, que dependem do comprimento de onda da luz laser iluminante^{11; 12}. Um trabalho realizado por Yokoi et al, mostrou a investigação da propagação da luz dentro de tecido cutâneo em relação ao comprimento de onda da luz laser iluminante e resposta dinâmica de speckles à velocidade do fluxo sanguíneo para dois comprimentos de onda de 780 e 830 nm na região próxima ao infravermelho¹¹.

Uma outra técnica envolvendo speckles é a denominada microscopia HiLo, ela uma técnica simples de imagem em campo amplo, que é capaz de produzir imagens em tempo real, comparáveis em qualidade à microscopia confocal de varredura a laser. A técnica baseia-se na fusão de duas imagens brutas, uma adquirida com iluminação de speckles e outra com iluminação uniforme padrão. A fusão pode ser ajustada numericamente, usando um único parâmetro, para produzir imagens seccionadas opticamente de espessuras variadas com os mesmos dados brutos. A comparação direta entre o microscópio HiLo e um microscópio confocal comercial de varredura a laser é feita com base na força de corte e desempenho de imagem. A microscopia HiLo é capaz de imagens de taxa de vídeo mais rápidas e próximas de campos de visão maiores do que atingíveis com microscópios confocal padrão¹³. Mudry et al, mostraram que utilizando a microscopia de iluminação estruturada (SIM), obtém-se uma resolução cerca de duas vezes melhor do que a da microscopia de campo distante convencional simplesmente iluminando a amostra com vários speckles aleatórios não controlados¹⁴.

Alguns trabalhos demonstram que métodos para alta resolução em escala nano utilizando um tipo de lente que explora a dispersão múltipla de luz para gerar um foco óptico de dimensões nanométricas de varredura¹⁵. Putter et al, mostrou utilizando um meio espalhado de Fosfeto de Galio (GaP), e modulando a frente de onda conseguiu imagens de nanopartículas de ouro com resolução óptica de 97 nm ¹⁵. Já Yilmaz et al, demonstrou utilizando o mesmo meio espalhador de GaP que é possível obter uma resolução óptica de até 100 nm com materiais resolução nano¹⁶. Outro trabalho feito por Jung-Hoon Park et al, utilizando nanopartículas aleatórias de um spreí de tinta branca de e Óxido de Zinco (ZnO) e modulando a frente de onda, é capaz de ter a mesma resolução que um microscópio óptica de varredura de campo próximo (SNOM/ NSOM)¹⁷.

Nesta dissertação, exploramos a capacidade da autoreconstrução dos “speckles”, abordando seu aspecto teórico, experimental e aplicações. No capítulo 2 apresentamos, inicialmente, o fenômeno do “speckle” e, na sequência, abordamos a definição e as características principais da propriedade de autoreconstrução.

No capítulo 3 mostraremos autoreconstrução dos “speckles” através de obstáculos, atravessando três objetos geométricos independentes. Veremos também a influência do comprimento de coerência e o comprimento de onda na autoreconstrução.

No capítulo 4 mostraremos as aplicações feitas em uma estrutura de escala micrométrica e em um material biológico. Foram realizadas medidas para dois comprimentos de ondas distintos afim de analisar os efeitos para ambos.

Finalmente, no capítulo 5, mostramos nossas conclusões, fazendo uma síntese de todo o trabalho realizado e apresentado nos capítulos desta dissertação.

2 SPECKLE E AUTORECONSTRUÇÃO DE UM FEIXE

Neste capítulo estudaremos a formação do padrão de speckles associado a luz parcialmente coerente. Também analisaremos, para fins de aplicação, o efeito de autoreconstrução de um feixe parcialmente coerente quando ele é obstruído por algum obstáculo.

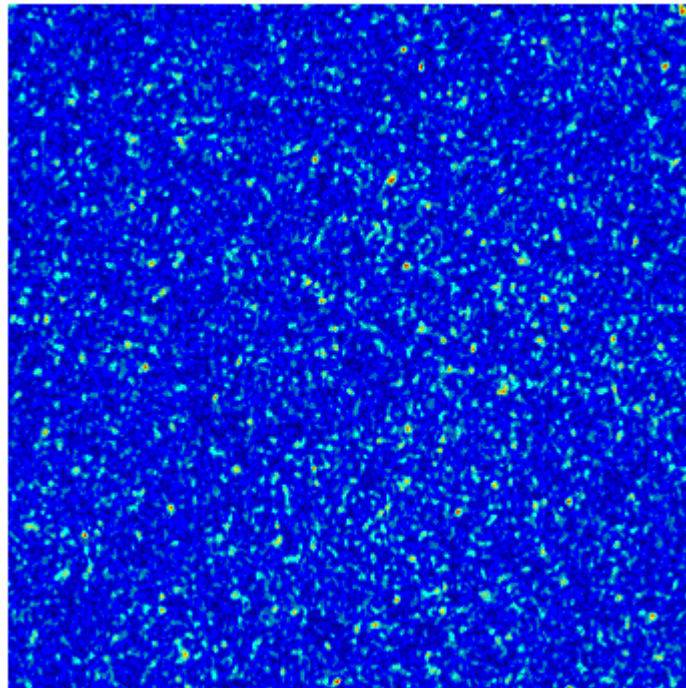
2.1 Speckle

A pesquisa envolvendo Speckles não é recente. Em 1877, Exner¹⁸ descreveu a estrutura fibrosa de uma placa de vidro quando a mesma era atravessada por luz de uma lâmpada de mercúrio¹⁹. Já nas primeiras décadas do século XX, muitos trabalhos teóricos foram produzidos abordando o assunto. Entretanto, somente com o surgimento do laser, nos anos de 1960, houve um impulso nas pesquisas²⁰. O laser por sua vez possui luz totalmente coerente, a luz coerente é aquela formada por ondas de mesma frequência e direção que mantem uma relação de fase constante entre si²¹.

Quando a luz coerente de um laser incide em uma superfície opticamente rugosa, ela pode ser transmitida ou refletida ocorrendo um espalhamento aleatório distorcendo fortemente sua frente de onda, tornando ela parcialmente coerente e num dado ponto de observação é gerando uma estrutura granulada, os Speckles. Trata-se de um fenômeno provocado pela interferência das ondas secundárias originárias a partir das rugosidades, onde a forma de configuração do padrão tende a variar, mesmo quando pequenas alterações surgem na direção do feixe incidente ou no ponto iluminado^{19; 20; 22}. Se observarmos cada onda que surge de uma superfície rugosa, a mesma apresentará fase e amplitude diferente uma das outras. Se medirmos a largura em meia altura de um perfil linear de cada grão de Speckles obteremos o denominado “comprimento de coerência”.

Para termos melhor uma visão de como é esse padrão de Speckles, vemos na figura 2.1 um padrão formado pela transmissão da luz coerente através de um vidro jateado.

Figura 2. 1: Padrão de speckle.



Fonte: autor.

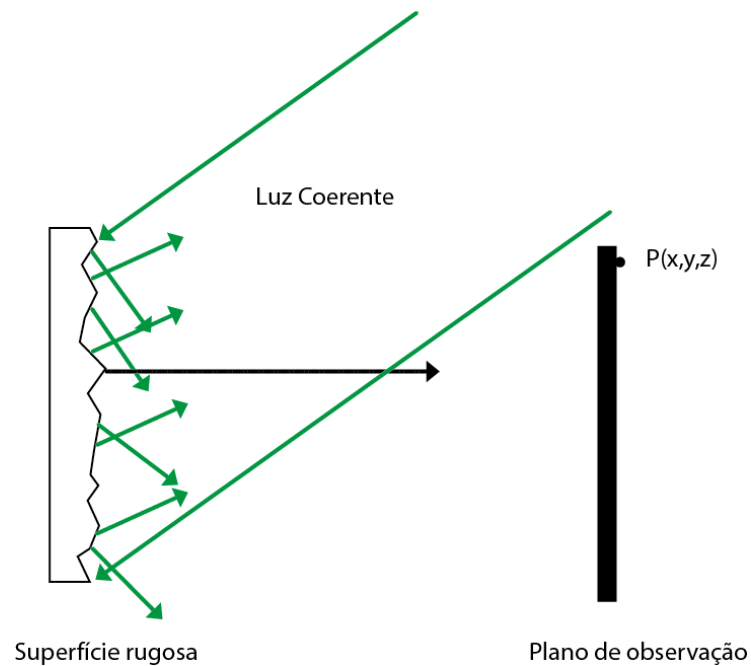
Os grãos desse padrão podem ser maiores ou menores, isso depende da rugosidade da superfície e da incidência da luz. Onde a grande maioria das superfícies, sintéticas ou naturais, são extremamente ásperas na escala do comprimento de onda óptico. Podendo assim fazer com que a luz se torne parcialmente coerente, formando o padrão de Speckles.

A propagação desta luz refletida para um ponto distante de observação resulta na adição destes vários componentes dispersos com atrasos relativos que podem variar dependendo do comprimento de onda, dependendo da superfície microscópica e da geometria. A interferência dessas defasagens nas ondas permite resultados no padrão granular que conhecemos como speckles. Notamos que, se o ponto de observação é movido, o caminho percorrido pelos comprimentos de componentes dispersos muda e um valor novo e independente para a intensidade pode resultar do processo de interferência. Assim, o padrão de speckles consiste de uma infinidade de pontos brilhantes. Assim, observamos um contínuo de valores de irradiância que tem a aparência de uma desordem caótica de “speckles”. Essas características fazem com que a descrição do grânulo óptico seja feita em termos estatísticos, seguindo tratamento semelhante ao dado para o passeio aleatório no plano complexo²³.

Agora vamos admitir que um feixe de luz coerente colimado de certo comprimento de onda λ incide sobre uma superfície rugosa. Como a superfície rugosa possui elevações

aleatórias, as pequenas ondas esféricas refletidas apresentarão distribuição de fase e amplitude aleatórias, assim como mostra a figura 2.2.

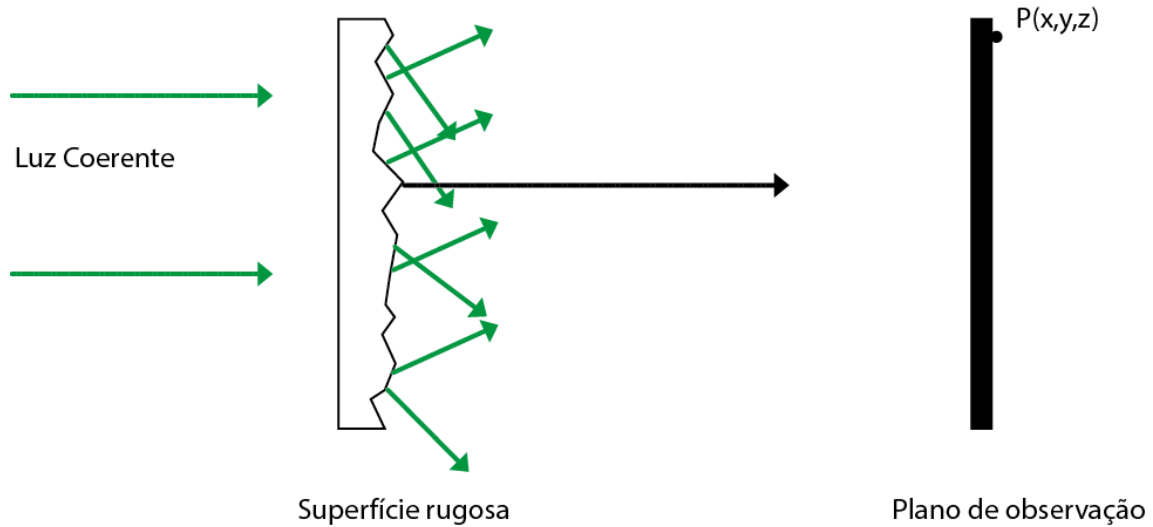
Figura 2. 2: Feixe coerente incidindo em superfície e produzindo um padrão refletido de Speckles.



Fonte: Autor.

Outra forma seria, considerando um meio espalhador, onde é iluminado por um feixe coerente colimado, como demonstrado na figura 2.3. Aqui o feixe é transmitido, as irregularidades na superfície de saída irão espalhar a luz em ondas esféricas, podendo levar a formação de ondas secundárias dependendo da variação da espessura e também da rugosidade do meio.

Figura 2. 3: Feixe coerente sendo transmitido por um meio espalhador e formando um padrão de Speckles.



Fonte: Autor.

2.2 Autoreconstrução de um Feixe

Assim como foi visto anteriormente o padrão de speckles é formado pela mistura de todos os vetores de entrada de uma forma aleatória. Embora aparentemente evitado em um passado recente, hoje, a dispersão aleatória surgiu como um campo de pesquisa rica. Por exemplo, a dispersão desordenada tem sido aplicada para melhorar o foco e a resolução de imagens^{24; 25}. Além disso, foi mostrado que é possível obter imagens através de processo não invasivo de um objeto fluorescente atrás de um meio de forte dispersão²⁶. Esse trabalho, em particular, apresenta-se como uma técnica potencial para aplicação em imagens biomédicas²⁷, entre outros exemplos.

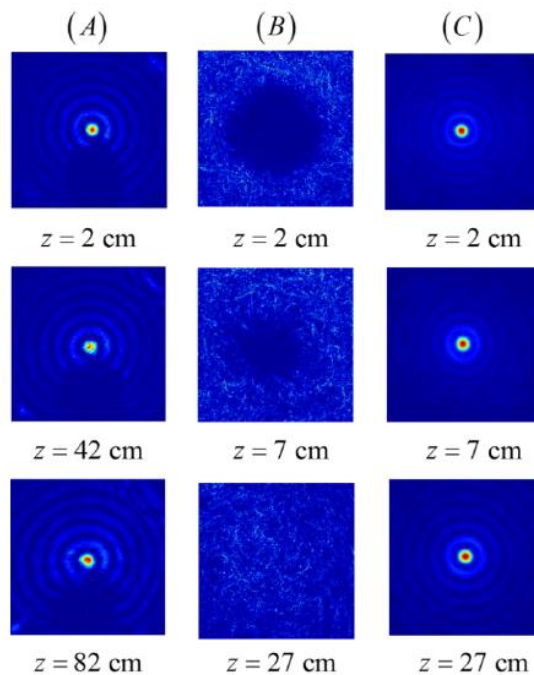
De facto, superar a dispersão e as distorções da luz propagada por meio de forte dispersão tem sido um passo importante no desenvolvimento de novas técnicas em microscopia e comunicação óptica através de meios turbulentos. Associado a isso, a capacidade que alguns feixes possuem de auto-reconstruir ou auto-cura mesmo na presença de partículas maciças pode oferecer novas possibilidades de olhar mais afundo em tecidos biológicos, por exemplo. O feixe de Bessel é um exemplo de uma classe especial de tal feixe^{28; 29}. O feixe de Bessel tem sido amplamente utilizado em diversas aplicações, incluindo manipulação óptica³⁰, biofônica³¹ e tomografia de coerência óptica³².

2.2.1 Auto Reconstrução de um Feixe Parcialmente Coerente

A propriedade de autoreconstrução de um padrão de speckle é caracterizada pelo fato de o perfil de autocorrelação ser o mesmo antes e depois do obstáculo a partir do ponto em que a distribuição de speckle de intensidade é restabelecida³³. O espectro do feixe Bessel pode ser descrito como uma superposição de componentes de ondas planas cujos vetores de onda criam uma superfície cônica. A propriedade de autoreconfiguração de um feixe Bessel coerente pode ser observada através do bloqueio parcial do mesmo, no qual uma sombra é projetada. Contudo, as ondas planas no cone, que não são obstruídas, podem reconstruí-lo em um ponto um pouco além do obstáculo³².

Alves, C. R. et al, mostraram que é possível reconstruir um feixe parcialmente coerente após uma obstrução³⁴. Onde a figura 2.4 mostra o perfil do padrão de speckles, após ser parcialmente bloqueado por um obstáculo circular opaco.

Figura 2. 4: Auto-cura e efeito de auto-reconfiguração: de um feixe coerente, coluna (A); Intensidades do padrão speckle a partir de um feixe de Bessel parcialmente coerente, coluna (B); E a coluna (C), autocorrelação das intensidades da coluna (B).

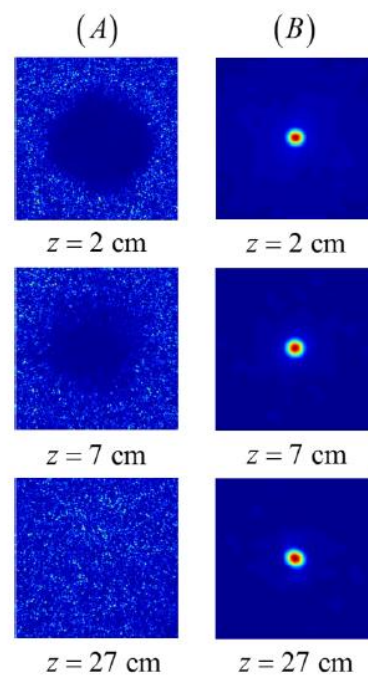


Fonte: [32]

A figura 2.4A compara resultados experimentais para duas propriedades: autocura, devido ao feixe Bessel coerente, com a de autor-reconstrução, com o feixe Bessel parcialmente coerente. A coluna (A) mostra o perfil transversal do feixe Bessel coerente; a coluna (B) mostra as intensidades dos padrões de “speckles” para o feixe Bessel parcialmente coerente e suas autocorrelações são mostradas na coluna (C). Um obstáculo com diâmetro de $D \approx 2 \text{ mm}$ foi usado para bloquear parte do feixe. Os resultados mostram a superioridade de reconstrução do campo de “speckles” comparada ao feixe Bessel coerente³⁴.

Um interessante aspecto dos “speckles é que a reconfiguração da intensidade do padrão, após o bloqueio, independe de como os “speckles” foram gerados. Este não é o caso para o feixe coerente, onde somente uma classe especial de feixes possui a habilidade de reconstrução³⁴. Alves, C. R. et al, mostrou a partir de um feixe Gaussiano em sua forma parcialmente coerente que ela possui as mesmas propriedades de reconstrução que o feixe Bessel. A figura 2.5(A) mostra as intensidades dos padrões de “speckles” geradas a partir de um feixe Gaussiano, que se autoreconstrói de maneira similar aqueles gerado pelo feixe Bessel parcialmente coerente, onde o obstáculo é o mesmo que o do feixe Bessel. A figura 2.5(B) mostra a auto correlação na coluna (A)³⁴.

Figura 2. 5: Perfis transversais do feixe gaussiano parcialmente coerente medido para diferentes distâncias de propagação: intensidade do speckle (A) e sua autocorrelação (B).

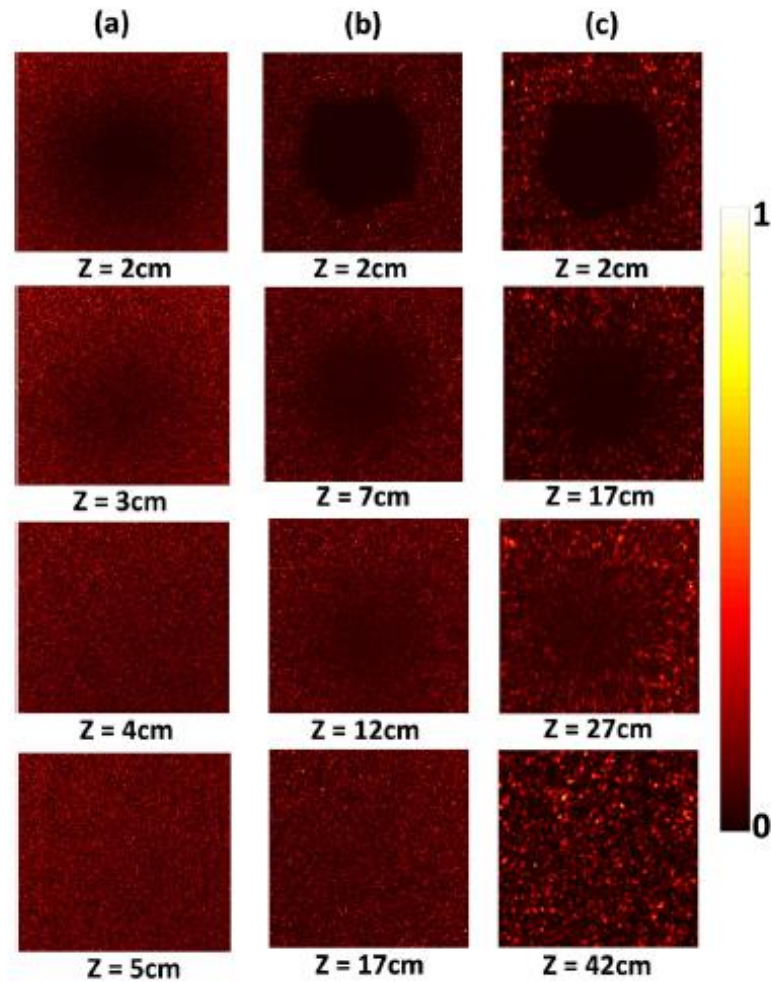


Fonte: [32].

Em outro trabalho publicado por Alves, C. R. et al, é mostrado usando as habilidades de autoreconstrução dos speckles para transmitir uma imagem através de um obstáculo, onde demonstraram que é possível recuperar uma imagem, sem distorções, mesmo quando um obstáculo é colocado em seu caminho³⁵. Já Alves, C. R. et al, mostrou que a quantidade de MAO é preservada na correlação de intensidades dos campos eletromagnéticos de coerção, mesmo quando esses campos são bloqueados por um obstáculo opaco. Foi gerado e propagado dois feixes parcialmente coerentes, possuindo cada um, diferente carga topológica (CT), m_1 e m_2 , e foi colocado um obstáculo no caminho dos mesmos. A CT de um vórtice representa a quantidade de MAO que o mesmo possui, vindo assim que é possível recuperar um vórtice de coerência ao longo da propagação através de obstáculos³⁶.

Em um trabalho publicado recentemente, mostra-se que para diferentes tamanhos de “speckles” (comprimento de coerência espacial) a distância em que acontece a autoreconstrução muda. A figura 2.6 mostra que para diferentes comprimentos de coerência a distância de reconfiguração muda, onde temos que em 2.6 A, B e C para comprimentos de coerência de $\delta = 8\mu m$, $\delta = 24,5\mu m$ e $\delta = 66,5\mu m$, a reconfiguração é de 5, 17 e 42 cm, respectivamente. Assim é possível ver que a distância de reconfiguração é proporcional ao comprimento de coerência³³.

Figura 2. 6: : Efeito de autoreconstrução para diferentes comprimentos de coerência (a) $\delta = 8\mu m$ (b) $\delta = 24,5\mu m$ (c) $\delta = 66,5\mu m$.



Fonte: [31].

A partir disso foi apresentado um modelo teórico onde o comprimento de reconfiguração de um obstáculo circular pode ser escrito pela seguinte equação³³:

$$z_r = 2\sqrt{\ln(2)} \delta D / (1.22\lambda) \quad (2.1)$$

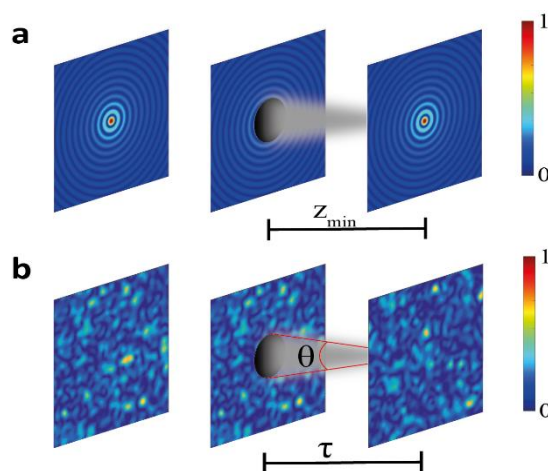
onde δ é o comprimento de coerência, D é o diâmetro do objeto que está obstruindo e λ o comprimento de onda.

Essa equação mostra uma dependência linear da distância de reconfiguração como uma função do comprimento de coerência espacial do campo de “speckles”. O mesmo comportamento é observado para o tamanho do obstáculo. Aumentando o seu tamanho, também aumenta a distância de reconfiguração de forma linear. Além disso, a distância de reconfiguração é inversamente proporcional ao comprimento de onda da luz³³.

Vemos que a equação é compatível, pois ao calcularmos a distância de reconfiguração da figura 2.7, de qualquer coluna, o valor teórico é próximo do experimental. Além disso, Alves, C. R. et al. mostrou dados numéricos que são compatíveis³³, mas não iremos mostrar nesse trabalho.

A equação 2.1 pode ser prevista com base no princípio de Huygens. Suponha que um obstáculo opaco seja colocado no caminho do feixe, como mostra a figura 2.7. Os pontos de speckles brilhantes no campo que superam o obstáculo opaco age como fonte secundária que irradiam para dentro da sombra do obstáculo, preenchendo-a. Devido as fases dos diferentes pontos dos speckles serem aleatórios, o campo gerado é novamente um campo de speckle. Assumindo pequenos ângulos e tendo o diâmetro de um ponto de speckle como comprimento de coerência transversal δ , o ponto irradia em um cone de dispersão angular $\theta \propto \lambda/\delta$, onde λ é o comprimento de onda. Os pontos, na borda do obstáculo, preenchem a sombra em uma distância $z = D/\theta \propto \delta D/\lambda$, onde D é o diâmetro do obstáculo, semelhante a equação 2.1.

Figura 2. 7: a) Três padrões transversais de um feixe de Bessel coerente, sendo um deles com uma obstrução na sua parte central. Uma sombra se forma ao longo da propagação e desaparece após o comprimento de reconstrução z_{min} . B) Três padrões de speckle com um deles tendo o seu centro obstruído, seguindo o princípio de Huygens, tornando-se homogêneo, após o comprimento de reconfiguração dado pela equação 2.1.



Fonte: Autor.

3 AUTORECONSTRUÇÃO DE OBSTÁCULOS

Atualmente, estudos mostram que o espalhamento da luz coerente pode ser útil para diversos fins como melhoramento de foco e resolução de imagens⁹, dentre outros.

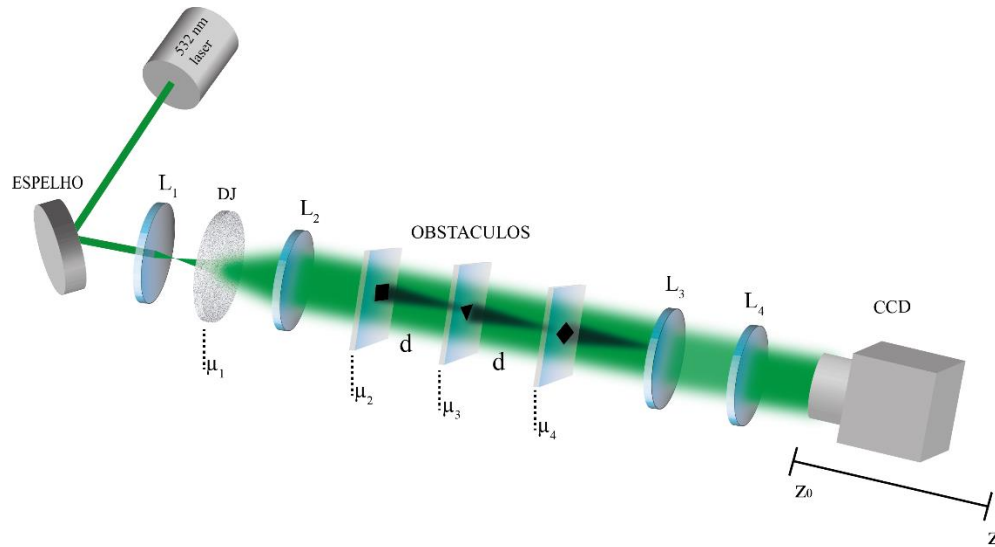
Nos capítulos anteriores, estudamos as propriedades do campo de “speckles” e como o mesmo é gerado. Estudamos ainda o fenômeno da autoreconstrução de um feixe parcialmente coerente ao atravessar um obstáculo^{33; 34}.

Neste capítulo apresentaremos e discutiremos os resultados obtidos a partir da autoreconstrução de um feixe parcialmente coerente, ao atravessar vários obstáculos independentes. Veremos também que a variação do comprimento de coerência é proporcional ao comprimento de reconfiguração de um obstáculo³³.

3.1 Montagem Experimental

A figura 3.1 mostra o arranjo experimental que foi utilizado. Como fonte de luz foi usado um laser da marca Coherent, modelo Verdi V-6, operado em um comprimento de onda de 532 nm, iluminando um disco jateado (DJ) que espalha o feixe formando luz parcialmente coerente. Esse luz incidiu em três objetos geométricos, isto é por um quadrado, um triângulo e um losango. Eles estão alinhados um atrás do outro e foram colocadas a uma distância d uns dos outros. Todos possuem a mesma área $A \approx 0,04\text{cm}^2$ e eles foram fixados em uma lamínula de espessura de aproximadamente $L = 0,08 - 0,13\text{ mm}$.

Figura 3. 1: Descrição do aparato experimental.



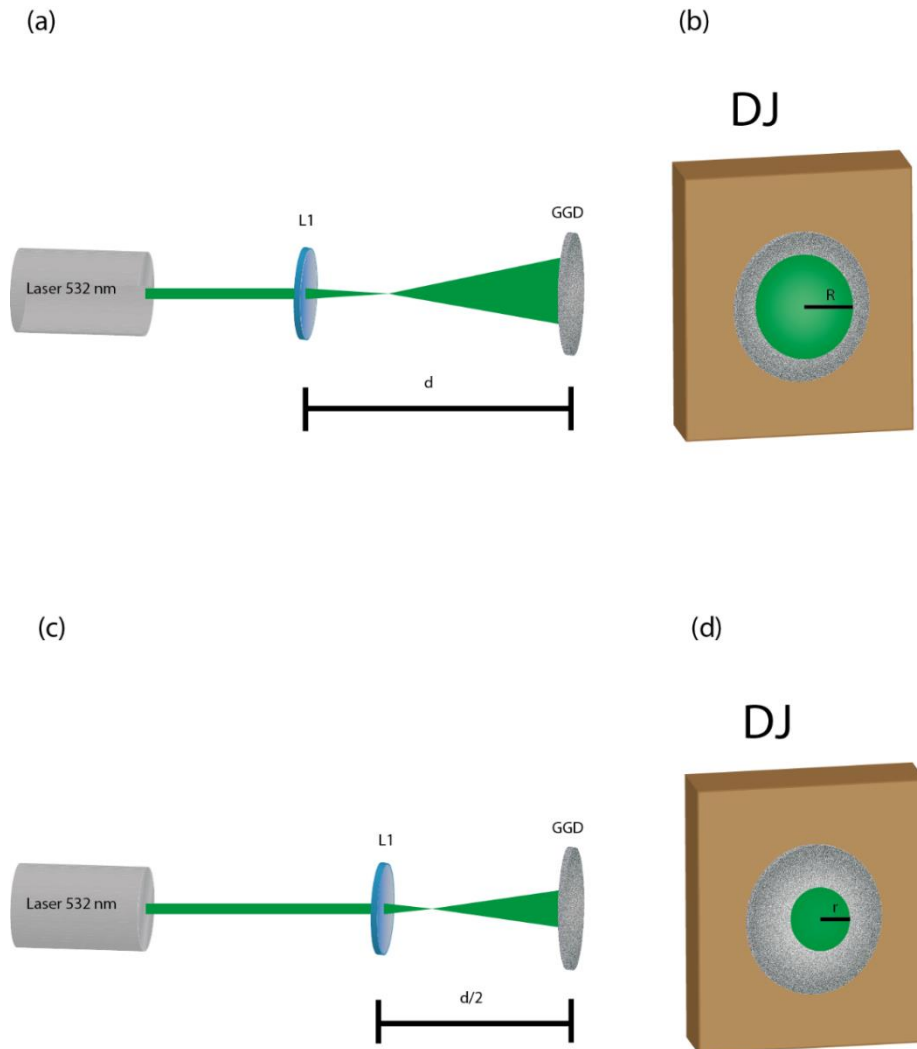
Fonte: Autor.

A lente L_1 com o comprimento focal de 11 mm , foi usada para controlar o tamanho do feixe incidente no DJ. A lente L_2 de comprimento focal de 140 mm foi usada afim de colimar os speckles. As lentes L_3 e L_4 , ambas de comprimento focal de 200 mm , são usadas para levar a informação das figuras geométricas até uma câmera CCD, que detectou essas informações em algumas distâncias entre Z_0 e Z . Para cada distância as imagens são feitas a partir da média espacial das medidas de intensidade dos padrões de speckles, onde usamos um tempo de exposição de 300 ms e uma média de 50 imagens capturadas. O DJ é colocado em uma montagem que permite a rotação do mesmo. Portanto cada padrão adquirido vem de pontos de espalhamentos diferentes no disco e o tempo de exposição da câmera CCD é controlado para aquisição de médias de cada imagem.

3.1.1 Variação do Comprimento de Coerência

A figura 3.2 a ilustra como é feita essa variação do comprimento de coerência dos "speckles" experimentalmente. Fizemos esta variação com o objetivo de vermos a relação entre o comprimento de reconfiguração e o comprimento de coerência.

Figura 3. 2: (a) Laser incidindo no DJ com L1 há uma distância d (b) figura transversal do DJ mostrando um raio de tamanho R da cintura do feixe incidente. (c) laser incidindo no DJ com L1 há uma distância $d/2$ (d) figura transversal do DJ mostrando um raio de tamanho r da cintura do feixe incidente.



Fonte: Autor.

A figura 3.2a ilustra o controle do tamanho da cintura do feixe do laser no DJ que é feito pela lente L1. A ilustração na figura 3.2b a imagem do perfil transversal do laser incidindo no DJ. Para esse caso, vemos que o feixe toma praticamente toda a área do DJ, com um raio R . Por outro lado, variando a distância d (figura 3.2c) é possível diminuir a área do laser incidente no DJ como mostra a figura 3.2d. É já bem estabelecido na literatura que variando o tamanho da cintura do feixe do laser no DJ varia também o tamanho do speckle, consequentemente o comprimento de coerência do mesmo³³. Quanto maior o tamanho da cintura do feixe no perfil transversal do laser no DJ menor o tamanho dos speckles gerados, menor o comprimento de

coerência. Assim podemos entender como é feita a variação do comprimento de coerência experimentalmente.

3.2 Teoria

A propagação do campo a partir do DJ até o primeiro obstáculo pode ser descrita por³⁷; ³⁸:

$$E_1(\vec{\mu}_2) = \int g(\vec{\mu}_1)G(\vec{\mu}_1) \exp\left(\frac{ik}{f_1} \vec{\mu}_1 \vec{\mu}_2\right) d^2 \mu_1 \quad (3.1)$$

onde k é o módulo do vetor de onda e é dado por $k = 2\pi/\lambda$, e λ é o comprimento de onda.

$G(\vec{\mu}_1)$ descreve o efeito aleatório do DJ e $g(\vec{\mu}_1)$ é a função do feixe gaussino.

Assim temos que a propagação até o primeiro obstáculo, seja descrita como:

$$E_2(\vec{\mu}_3) = \int E_1(\vec{\mu}_2)C(\vec{\mu}_2) \exp\left[-\frac{i\pi}{\lambda d}(\vec{\mu}_2 - \vec{\mu}_3)^2\right] d^2 \mu_2 \quad (3.2)$$

onde $C(\vec{\mu}_2)$ é o primeiro obstáculo.

Agora fazendo a propagação até o segundo obstáculo, temos:

$$E_3(\vec{\mu}_4) = \int E_2(\vec{\mu}_3)T(\vec{\mu}_3) \exp\left[-\frac{i\pi}{\lambda d}(\vec{\mu}_3 - \vec{\mu}_4)^2\right] d^2 \mu_3 \quad (3.3)$$

Para a propagação do terceiro obstáculo até a CCD podemos usar a matriz ABCD. Assim o campo pode ser representado por:

$$E_4(\vec{\mu}_5) = \int E_3(\vec{\mu}_4)S(\vec{\mu}_4) \exp\left[-\frac{ik}{2(2d-z)}(\vec{\mu}_4 + \vec{\mu}_5)^2\right] d^2 \mu_4 \quad (3.4)$$

A correlação espacial do campo nos pontos $\vec{\mu}_5$ e \vec{v}_5 da CCD é dado por:

$$\langle E_4(\vec{\mu}_5)E_4^*(\vec{v}_5) \rangle \quad (3.5)$$

onde $\langle \dots \rangle$ é o processo de média e $*$, o complexo conjugado.

Desta forma substituindo a equação 3.4 em 3.5, temos:

$$\begin{aligned}
\langle E_4(\vec{\mu}_5)E_4^*(\vec{\mu}_5') \rangle &= \left\langle \iint S(\vec{\mu}_4)S^*(\vec{v}_4) \exp\left\{\frac{i\pi}{\lambda(2d-z)}[(\vec{\mu}_4 + \vec{\mu}_5)^2 - (\vec{v}_4 + \vec{\mu}_5)^2]\right\} \right. \\
&\times \iint T(\vec{\mu}_3)T^*(\vec{v}_3) \exp\left\{-\frac{i\pi}{\lambda d}[(\vec{\mu}_3 - \vec{\mu}_4)^2 - (\vec{v}_3 - \vec{v}_4)^2]\right\} \\
&\times \iint C(\vec{\mu}_2)C^*(\vec{v}_2) \exp\left\{-\frac{i\pi}{\lambda d}[(\vec{\mu}_2 - \vec{\mu}_3)^2 - (\vec{v}_2 - \vec{v}_3)^2]\right\} \\
&\times \iint g(\vec{\mu}_1)g^*(\vec{v}_1)G(\vec{\mu}_1)G^*(\vec{v}_1) \exp\left[\frac{ik}{f_1}(\vec{\mu}_1\vec{\mu}_2 - \vec{v}_1\vec{v}_2)\right] d^2\mu_1 d^2v_1 d^2\mu_2 d^2v_2 d^2\mu_3 d^2v_3 d^2\mu_4 d^2v_4 \Big\rangle
\end{aligned} \tag{3.6}$$

Com espalhamento suficiente, o efeito aleatório do DJ pode ser descrito, aproximadamente, por um delta de Dirac $\langle G(\vec{\mu}_1)G^*(\vec{v}_1) \rangle = \delta(\vec{\mu}_1 - \vec{v}_1)$. Com isso as integrais em $\vec{\mu}_1$ e \vec{v}_1 na equação 3.6 ficam:

$$\Gamma(\vec{\mu}_1, \vec{v}_1) = \int |g(\vec{\mu}_1)| \exp\left[\frac{ik}{f_1}\mu_1(\vec{\mu}_2 - \vec{v}_2)\right] d^2\mu_1 \tag{3.7}$$

Considerando o feixe incidente no DJ é um Gaussiano, dado por:

$$g(\vec{\mu}_1) = \exp\left(-\frac{\vec{\mu}_1^2}{\omega_0^2}\right) \exp[i\psi(\vec{\mu}_1)] \tag{3.8}$$

Com ω_0 sendo a largura do feixe e $\psi(\vec{\mu}_1)$ sua fase, a integral na equação 3.7 torna-se a intensidade mútua do feixe de saída:

$$\Gamma(\vec{\mu}_1, \vec{v}_1) = \exp\left[-\frac{(\vec{\mu}_2 - \vec{v}_2)^2}{2\delta^2}\right] \tag{3.9}$$

Onde $\delta = \lambda f_1 / \pi \omega_0$ é o comprimento de coerência espacial. Como δ é muito pequeno, podemos aproximar $\Gamma(\vec{\mu}_2, \vec{v}_2) = \delta(\vec{\mu}_2 - \vec{v}_2)$. Assim a integral na variável de $\vec{\mu}_2$ na equação 3.6 fica:

$$P(\vec{\mu}_3, \vec{v}_3) = \exp\left[-\frac{i\pi}{\lambda d}(\vec{\mu}_3^2, \vec{v}_3)\right] \int C(\vec{\mu}_2) \exp\left\{-\frac{i\pi}{\lambda d}[\mu_2(v_3 - \mu_3)]\right\} d^2\mu_2 \tag{3.10}$$

Substituindo na equação 3.6, obtemos:

$$\begin{aligned}
I(\vec{\mu}_5) &= \iint S(\vec{\mu}_4)S^*(\vec{v}_4) \exp\left[\frac{i\pi\lambda d}{\lambda(2d-z)\lambda d}(\mu_4^2 + 2\vec{\mu}_4\vec{\mu}_5 - v_4^2 + 2\vec{v}_4\vec{\mu}_5)\right] \\
&\times \iint T(\vec{\mu}_3)T^*(\vec{v}_3) \exp\left[-\frac{i\pi\lambda(2d-z)}{\lambda(2d-z)\lambda d}(\mu_3^2 - 2\vec{\mu}_3\vec{\mu}_4 + \mu_4^2 - v_3^2 + 2\vec{v}_3\vec{v}_4 - v_4^2)\right] \\
&\times \int C(\vec{\mu}_3) \exp\left[-\frac{i\pi\lambda(2d-z)}{\lambda(2d-z)\lambda d}(-2\vec{\mu}_2\vec{\mu}_3 + \mu_3^2 + 2\vec{\mu}_2\vec{v}_3 - v_3^2)\right] d^2\mu_2 d^2\mu_3 d^2v_3 d^2\mu_4 d^2v_4
\end{aligned} \quad (3.11)$$

Agora fazendo para uma distância $z = 0$, e substituindo na equação 3.11, obtemos:

$$\begin{aligned}
I(\vec{\mu}_5) &= \iint S(\vec{\mu}_4)S^*(\vec{v}_4) \exp\left[\frac{i\pi}{2\lambda d}(\mu_4^2 + 2\vec{\mu}_4\vec{\mu}_5 - v_4^2 + 2\vec{v}_4\vec{\mu}_5)\right] \\
&\times \iint T(\vec{\mu}_3)T^*(\vec{v}_3) \exp\left[-\frac{2i\pi\lambda}{2\lambda d}(\mu_3^2 - 2\vec{\mu}_3\vec{\mu}_4 + \mu_4^2 - v_3^2 + 2\vec{v}_3\vec{v}_4 - v_4^2)\right] \\
&\times \int C(\vec{\mu}_2) \exp\left[-\frac{2i\pi\lambda}{2\lambda d}(-2\vec{\mu}_2\vec{\mu}_3 + \mu_3^2 + 2\vec{\mu}_2\vec{v}_3 - v_3^2)\right] d^2\mu_2 d^2\mu_3 d^2v_3 d^2\mu_4 d^2v_4
\end{aligned} \quad (3.12)$$

Fazendo uma substituição de variáveis $\vec{v}_3 = \vec{\mu} + \vec{\mu}_3$ e $v_3^2 = \mu^2 + 2\vec{\mu}\vec{\mu}_3 + \mu_3^2$, na equação 3.12 teremos:

$$\begin{aligned}
I(\vec{\mu}_5) &= \iint S(\vec{\mu}_4)S^*(\vec{v}_4) \exp\left[\frac{i\pi}{2\lambda d}(\mu_4^2 + 2\vec{\mu}_4\vec{\mu}_5 - v_4^2 + 2\vec{v}_4\vec{\mu}_5)\right] \\
&\times \iint T(\vec{\mu}_3)T^*(\vec{\mu} + \vec{\mu}_3) \exp\left[-\frac{2i\pi\lambda}{2\lambda d}(\mu_3^2 - 2\vec{\mu}_3\vec{\mu}_4 + \mu_4^2 - \mu^2 - 2\vec{\mu}\vec{\mu}_3 - \mu_3^2 + 2\vec{\mu}\vec{v}_4 + 2\vec{\mu}_3\vec{v}_4 - v_4^2)\right] \\
&\times \int C(\vec{\mu}_2) \exp\left[-\frac{2i\pi\lambda}{2\lambda d}(2\vec{\mu}_2\vec{\mu} + \mu_3^2 - \mu^2 + 2\vec{\mu}\vec{\mu}_3 - \mu_3^2)\right] d^2\mu_2 d^2\mu_3 d^2\mu d^2\mu_4 d^2v_4
\end{aligned} \quad (3.13)$$

A integral na variável $\vec{\mu}_3$, é escrita como:

$$M = \iint T(\vec{\mu}_3)T^*(\vec{\mu} + \vec{\mu}_3) \exp\left\{-\frac{i2\pi}{2\lambda d}[-2\vec{\mu}_3(\vec{\mu}_4 - \vec{v}_4 + 2\vec{\mu})]\right\} d^2\mu_3 \quad (3.14)$$

Temos assim que M pode ser aproximado para $M \approx \delta(\vec{\mu}_4 - v_4 + \vec{\mu})$. Fazendo uma substituição de variáveis $\vec{v}_4 = 2\vec{\mu} + \vec{\mu}_4$ e $v_4^2 = 4\mu^2 + 4\vec{\mu}\vec{\mu}_4 + \mu_4^2$. Substituindo na equação 3.13 ela pode ser reescrita como:

$$I(\vec{\mu}_5) = \iiint C(\vec{\mu}_2)S(\vec{\mu}_4)S^*(2\vec{\mu} + \vec{\mu}_4) \exp\left[-\frac{i\pi}{2\lambda d}(-4\vec{\mu}\vec{\mu}_5 - 4\vec{\mu}\vec{\mu}_2)\right] d^2\mu_2 d^2\mu_4 d^2\mu \quad (3.15)$$

A integral na variável $\vec{\mu}$, é escrita como:

$$N = \int S^*(2\vec{\mu} + \vec{\mu}_4) \exp\left[-\frac{2i\pi}{\lambda d} \vec{\mu}(\vec{\mu}_5 + \vec{\mu}_2)\right] d^2\mu \quad (3.16)$$

Podemos aproximar $N \approx \delta(\vec{\mu}_5 + \vec{\mu}_2)$, e substituindo na equação 3.15,

$$I(\vec{\mu}_5) = \int S(\vec{\mu}_4) d^2\mu_4 \int C(\vec{\mu}_2) \delta(\vec{\mu}_5 + \vec{\mu}_2) d^2\mu_2 \quad (3.17)$$

A primeira integral é constante, e ao aplicarmos a δ na equação 3.17, ela pode ser reescrita como:

$$I(\vec{\mu}_5) \propto C(-\vec{\mu}_5) \quad (3.18)$$

Agora fazendo para uma distância $z = 2d$, para a primeira parte da equação 3.11, temos:

$$\lim_{z \rightarrow 2d} \exp\left\{\frac{i\pi}{\lambda(2d-z)} [(\vec{\mu}_4 + \vec{\mu}_5)^2 - (\vec{v}_4 + \vec{\mu}_5)]\right\} = \delta(\vec{\mu}_4 + \vec{\mu}_5, \vec{v}_4 + \vec{\mu}_5) \quad (3.19)$$

Agora aplicando a equação 3.19 podemos reescrever a equação 3.11 como:

$$\begin{aligned} I(\vec{\mu}_5) &= \iint S(\vec{\mu}_4) S^*(\vec{v}_4) \delta(\vec{\mu}_4 + \vec{\mu}_5, \vec{v}_4 + \vec{\mu}_5) \\ &\times \iint T(\vec{\mu}_3) T^*(\vec{v}_3) \exp\left[-\frac{i\pi}{\lambda d} (\mu_3^2 - 2\vec{\mu}_3\vec{\mu}_4 + \mu_4^2 - v_3^2 + 2\vec{v}_3\vec{v}_4 - v_4^2)\right] \\ &\times \int C(\vec{\mu}_2) \exp\left[-\frac{i\pi}{\lambda d} (-2\vec{\mu}_2\vec{\mu}_3 + \mu_3^2 + 2\vec{\mu}_2\vec{v}_3 - v_3^2)\right] d^2\mu_2 d^2\mu_3 d^2v_3 d^2\mu_4 d^2v_4 \end{aligned} \quad (3.20)$$

Fazendo mudança de variáveis $\vec{v}_3 = \vec{\mu} + \vec{\mu}_3$ e $v_3^2 = \mu^2 + 2\vec{\mu}\vec{\mu}_3 + \mu_3^2$ na equação 3.20, obtemos:

$$\begin{aligned} I(\vec{\mu}_5) &= S(-\vec{\mu}_5) \times \iint T(\vec{\mu}_3) T^*(\vec{\mu} + \vec{\mu}_3) \exp\left[-\frac{4i\pi}{\lambda d} \vec{\mu}\vec{\mu}_3\right] \\ &\times \int C(\vec{\mu}_2) \exp\left[-\frac{i\pi\lambda}{\lambda d} (-2\mu^2 + 2\vec{\mu}_5\vec{\mu} - 2\vec{\mu}\vec{\mu}_2)\right] d^2\mu_2 d^2\mu \end{aligned} \quad (3.21)$$

O termo de integral dupla se torna uma $\delta(\vec{\mu})$, Aplicando o delta na segunda integral, temos:

$$I(\vec{\mu}_5) = S(-\vec{\mu}_5) \int C(\vec{\mu}_2) d^2\vec{\mu}_2 \quad (3.22)$$

O termo com a integral é uma constante, assim:

$$I(\vec{\mu}_5) \propto S(-\vec{\mu}_5) \quad (3.23)$$

Agora para uma distância de $z = d$, aplicando na equação 3.11, temos:

$$\begin{aligned} I(\vec{\mu}_5) = & \int \int S(\vec{\mu}_4) S^*(\vec{v}_4) \exp \left[\frac{i\pi}{\lambda d} (\mu_4^2 + 2\vec{\mu}_4 \vec{\mu}_5 - v_4^2 + 2\vec{v}_4 \vec{\mu}_5) \right] \\ & \times \int \int T(\vec{\mu}_3) T^*(\vec{v}_3) \exp \left[-\frac{i\pi}{\lambda d} (\mu_3^2 - 2\vec{\mu}_3 \vec{\mu}_4 + \mu_4^2 - v_3^2 + 2\vec{v}_3 \vec{v}_4 - v_4^2) \right] \\ & \times \int C(\vec{\mu}_2) \exp \left[-\frac{i\pi}{\lambda d} (-2\vec{\mu}_2 \vec{\mu}_3 + \mu_3^2 + 2\vec{\mu}_2 \vec{v}_3 - v_3^2) \right] d^2 \mu_2 d^2 \mu_3 d^2 v_3 d^2 \mu_4 d^2 v_4 \end{aligned} \quad (3.24)$$

Organizando pelas dependentes de $\vec{\mu}_4$ e \vec{v}_4 , teremos:

$$\int S(\vec{\mu}_4) \exp \left[-\frac{2i\pi}{\lambda d} \vec{\mu}_4 (\vec{\mu}_5 + \vec{\mu}_3) \right] d^2 \mu_4 = \delta(\vec{\mu}_5 + \vec{\mu}_3) \quad (3.25)$$

$$\int S(\vec{v}_4) \exp \left[-\frac{2i\pi}{\lambda d} \vec{v}_4 (\vec{\mu}_5 + \vec{v}_3) \right] d^2 v_4 = \delta(\vec{\mu}_5 + \vec{v}_3) \quad (3.26)$$

Assim, aplicando as equações 3.25 e 3.26 em 3.24, obtemos,

$$\begin{aligned} I(\vec{\mu}_5) = & \int \int \int T(\vec{\mu}_3) T^*(\vec{v}_3) C(\vec{\mu}_2) \exp \left[\frac{2i\pi}{\lambda d} (-\vec{\mu}_2 \vec{\mu}_3 + \mu_3^2 + \vec{\mu}_2 \vec{v}_3 - \mu_3^2) \right] \\ & \delta(\vec{\mu}_5 + \vec{\mu}_3) \delta(\vec{\mu}_5 + \vec{v}_3) d^2 \mu_2 d^2 \mu_3 d^2 v_3 \end{aligned} \quad (3.27)$$

Resolvendo as integrais na equação 3.27 ela pode ser reescrita como:

$$I(\vec{\mu}_5) = T(-\vec{\mu}_5) \int C(\vec{\mu}_2) d^2 \mu_2 \quad (3.28)$$

Como a integral é um constante, temos que

$$I(\vec{\mu}_5) \propto T(-\vec{\mu}_5) \quad (3.29)$$

Assim para cada distância $z = 0$, $z = d$ e $z = 2d$, temos um objeto geométrico diferente, equações 3.18, 3.23 e 3.29.

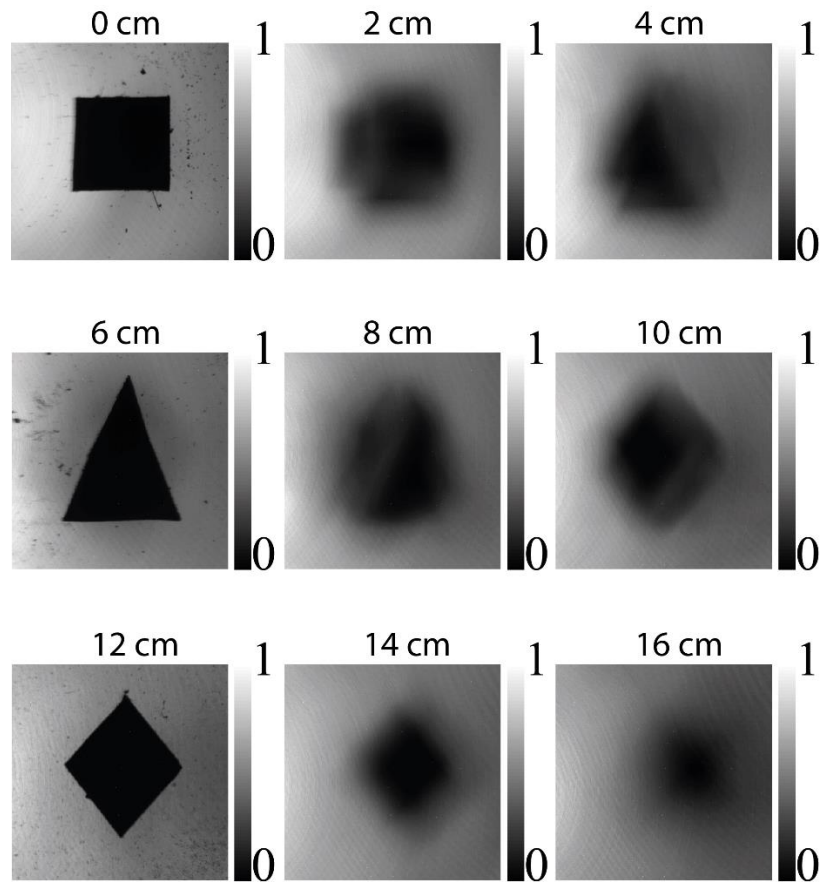
3.2 Autoreconstrução Através de Obstáculos Geométricos

Assim como foi apresentado no capítulo 2 dessa dissertação, um feixe que é parcialmente coerente possui propriedades de autoreconstrução, ou seja, após uma certa distância, ao ser obstruído por um obstáculo, a assinatura do obstáculo desaparece³⁴. Agora se ao invés de termos apenas um obstáculo, tivéssemos vários obstáculos obstruindo o feixe parcialmente coerente.

Na figura 3.1, temos três objetos geométricos alinhados, um quadrado (C), um triângulo (T) e um losango (S) todos com a mesma área, onde por eles passam um feixe parcialmente coerente. Considerando, a princípio, apenas o primeiro objeto (C) no aparato experimental, vemos que além de uma certa distância d sua assinatura desaparece³⁴. Afim de recolher informação do objeto C um pouco depois dessa distância, usamos os componentes ópticos ($L3$ e $L4$) após o objeto que são usados para levar a informação das figuras geométricas até uma câmera CCD, com isso percebemos que a propriedade de autoreconstrução não se altera.

Agora colocando os outros objetos, o triângulo (T), na distância fixa d de C e o losango (S) a uma distância fixa $2d$ de C , onde d corresponde ao comprimento de reconfiguração do feixe em relação ao primeiro obstáculo, a assinatura de C é mantida sem a interferência dos outros objetos. Também, na medida em que a câmera CCD é deslocada afim de reconstruir o obstáculo C , quando ele chegasse em sua distância de reconfiguração o que aconteceria? A figura 3.3 mostra os resultados obtidos.

Figura 3. 3: Auto-reconfiguração dos objetos geométricos.



Fonte: Autor.

Inicialmente, na figura 3.3 ao colocarmos em Z_0 o ponto inicial $z = 0 \text{ cm}$, vemos o quadrado totalmente nítido sem nenhuma imagem sobreposta, ao passo que quando nós deslocamos a CCD em Z em passos de dois centímetros observamos que o círculo desaparece e começa a ser exibido o triângulo, que se forma por completo em $z = 6 \text{ cm}$. Continuando a mover a CCD o mesmo processo é repetido, mas agora entre o triângulo e o losango, que fica totalmente nítido em $z = 12 \text{ cm}$ e, além desta distância a figura começa a desaparecer, até ser completamente suprimida. Temos assim que como os objetos estão na distância de reconstrução do feixe em cada objeto, cada um aparece individualmente sem a interferência do outro.

Para a imagem 3.3, a lente L1 foi colocada há 12,5 cm do DJ, afim de ter o feixe em uma forma mais incoerente possível, nessa distância seu comprimento de coerência foi de $\delta = 7,2 \mu\text{m}$, assim a distância de reconfiguração medida experimentalmente de cada objeto era de $z_r = 6 \text{ cm}$. Fazendo o cálculo teórico a partir da equação 2.1 sua distância de reconfiguração foi de $z_r \approx 6 \text{ cm}$. Portanto, é possível ver vários obstáculos de forma nítida sem a interferência

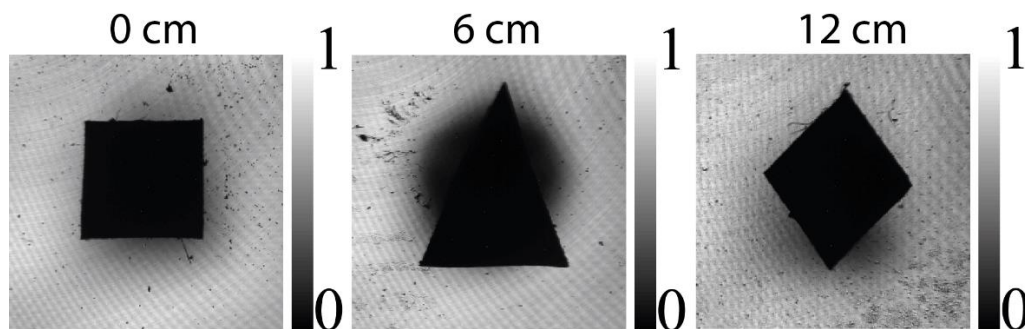
dos demais, desde que a distância entre os obstáculos seja igual a distância de reconfiguração dos speckles. Isso permite a aplicação em outras áreas, caso que será mostrado no capítulo 4.

3.3 Variação do Comprimento de Coerência

Para entendermos melhor a influência do comprimento de coerência em relação ao comprimento de reconfiguração, foram feitas medidas variando o comprimento de coerência.

Como já mostrado no capítulo 2 a equação (2.1) tem que o comprimento de reconfiguração é proporcional ao comprimento de coerência e inversamente proporcional ao comprimento de onda. A partir disso temos que, para um comprimento de coerência maior, o comprimento de reconfiguração aumenta. A figura 3.4 mostra os obstáculos sobrepostos, onde as distâncias foram mantidas mudando apenas a lente L1 que foi colocada há 3 cm do DJ proporcionando assim que seu comprimento de coerência seja igual a $\delta = 23,8 \mu m$. Sendo esse comprimento de coerência maior que o da figura 3.3.

Figura 3. 4: Obstáculos com comprimento de coerência de $\delta = 23,8 \mu m$ a uma distância de 6 cm uns dos outros.

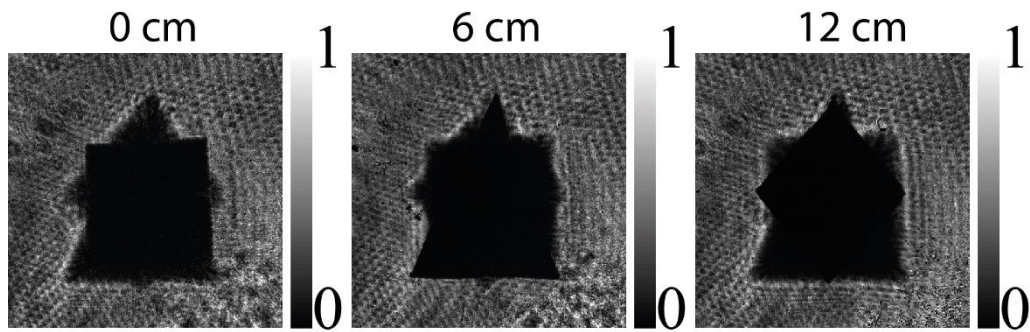


Fonte: Autor.

Percebemos que na mesma distância de reconfiguração da figura 3.3, onde seu comprimento de coerência era de $\delta = 7,2 \mu m$, os obstáculos ficaram sobrepostos.

Para termos uma forma de analisar melhor os resultados anteriores, foram feitas medidas com o feixe totalmente coerente, ou seja, sem o uso do meio espalhador (DJ). O laser incide diretamente nos obstáculos, onde as distâncias dos obstáculos não foram alteradas.

Figura 3. 5: Obstáculos com o feixe totalmente coerente.



Fonte: Autor.

Na figura 3.5, para o qual utilizamos um feixe coerente, todas as imagens são sobrepostas uma sobre a outra. Os resultados apresentados nas figuras 3.3, 3.4 e 3.5 mostram que o comprimento de reconfiguração realmente controla a resolução axial do sistema de imagem³⁴.

4. APLICAÇÃO EM AMOSTRA MICROMÉTRICAS E BIOLÓGICAS

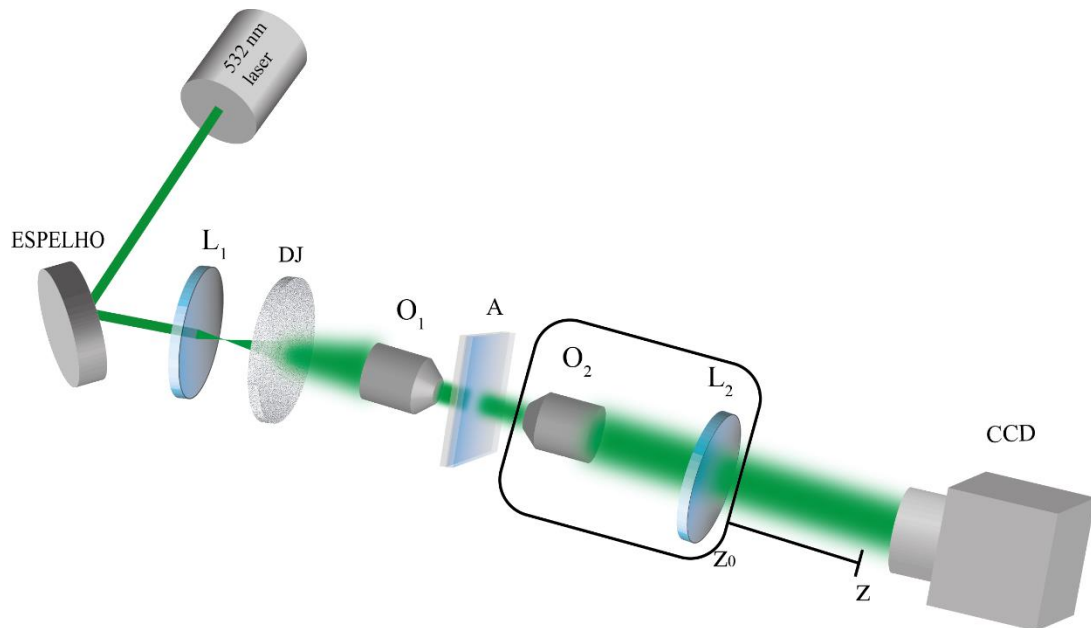
Na introdução dessa dissertação, vimos que o feixe parcialmente coerente vem sendo utilizado para a aplicação em novas técnicas de microscopia^{12; 17}.

Neste capítulo veremos a aplicação da autoreconstrução de um feixe parcialmente coerente em amostras sintéticas e em amostras biológicas. Vendo a aplicação nos materiais sintéticos em escala micrométrica com três planos distintos e variando o comprimento de onda nas amostras biológicas, veremos assim os resultados obtidos com a aplicação da autoreconstrução.

4.1 Montagem Experimental

A figura 4.1 mostra a montagem experimental para obtenção dos resultados. Foi utilizado um laser da marca Coherent, modelo Verdi V-6, operado em um comprimento de onda de $532nm$, e outro laser da marca Coherent, modelo Mira 900, onde seu comprimento de onda foi fixado em $810nm$, iluminando um disco jateado (DJ) que espalha o feixe formando luz parcialmente coerente até chegar as amostras, que serão descritas na próxima seção. Essas amostras foram fixados em uma lamínula de espessura entre $L = 0,08 - 0,13 mm$.

Figura 4. 1: Descrição do aparato experimental.



Fonte: Autor.

Para as esferas de látex a lente L_1 tem o comprimento focal de 11 mm , já para o mesentério a lente L_1 tem o comprimento focal de 100 mm , ambas foram usadas para controlar o tamanho do feixe incidente no DJ. Uma lente O_1 de comprimento focal de $0,13\text{ mm}$ foi usada afim de colimar os “speckles”. As lentes O_2 e L_2 , para as esferas de látex com $f_{O_2} = 4,5\text{ mm}$ e $f_{L_2} = 100\text{ mm}$, para o mesentério com $f_{O_2} = 6,2\text{ mm}$ e $f_{L_2} = 100\text{ mm}$, são usadas para levar a informação das amostras até uma câmera CCD, as lentes foram fixadas em um translador e movidas por um pico motor, onde cada passo corresponde há $\approx 140\text{ nm}$, as informações foram tiradas em algumas distâncias entre Z_0 e Z . Para cada distância as imagens são feitas a partir da média espacial das medidas de intensidade dos padrões de speckles, onde usamos um tempo de exposição de 300 ms e uma média de 50 imagens capturadas. O DJ é colocado em uma montagem que permite a rotação do mesmo. Portanto cada padrão adquirido vem de pontos de espalhamentos diferentes no disco e o tempo de exposição da câmera CCD é controlado para aquisição de médias de cada imagem.

4.1.1 Descrição das Amostras

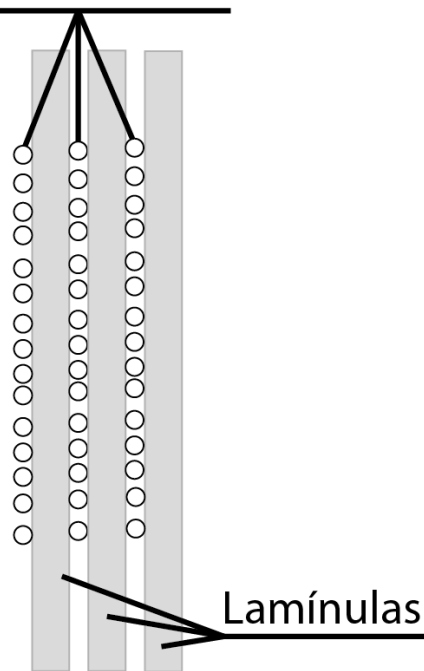
Neste trabalho utilizamos dois tipos de amostras, um sintético e um orgânico. Na amostra sintética foram utilizadas esferas de látex que foram disponibilizadas pelo professor Djalma do Instituto Federal de Alagoas, onde foram fabricadas. Na amostra biológica foram

utilizados mesentérios intestinais de rato, que foi fornecida pelo Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas.

A amostra sintética, as esferas de látex, são fixadas em uma lamínula de espessura entre $L = 0,08 - 0,13 \text{ mm}$. Foram utilizadas três lamínulas com esferas, afim de ter três planos, assim como é observado na figura 4.2.

Figura 4. 2: Lamínulas com esferas de Látex.

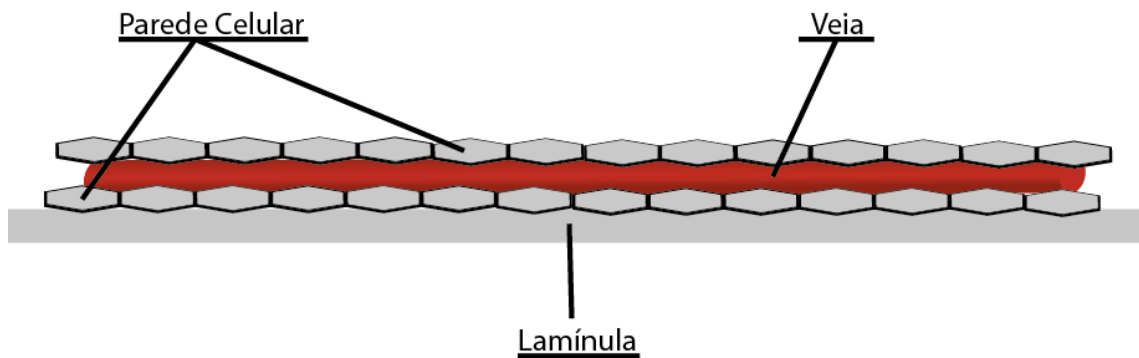
Esferas de Latéx



Fonte: Autor.

A amostra biológica, mesentério intestinal de rato, foi fixada em uma lamínula de espessura entre $L = 0,08 - 0,13 \text{ mm}$, assim como é mostrado na figura 4.3.

Figura 4. 3: Descrição do mesentério intestinal de rato.



Fonte: Autor.

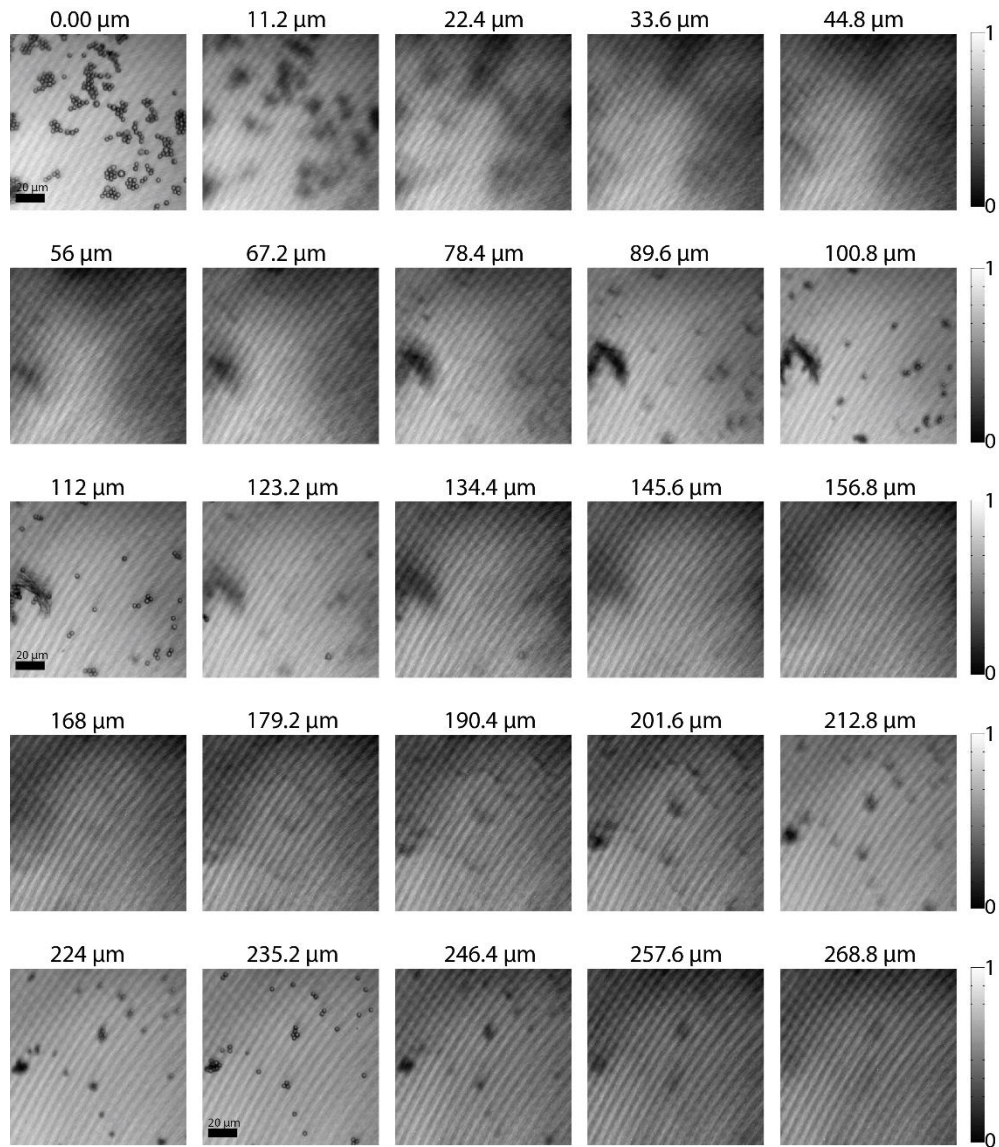
Como podemos observar, o mesentério intestinal de rato é formado por duas paredes celulares, cujo interior possui vasos sanguíneos. As paredes celulares são totalmente translúcidas e não foi feito nenhum tratamento com corantes. Não é retirado o sangue dos vasos sanguíneos.

4.2 Aplicação em Objetos Micrométricos

Assim como foi descrito anteriormente as esferas de látex, que estão na faixa de comprimento em micrômetros, são colocadas uma sobre a outra, afim de se ter várias camadas.

Na figura 4.4 é possível ver o padrão de reconstrução de cada plano distinto, considerando que cada lamínula varia de $0,08 - 0,13 \text{ mm}$, já que as lamínulas não são especificamente todas da mesma espessura. Foram feitas 222 imagens, onde para cada imagem o translador andou 10 passos. Isso mostra que podemos ver objetos sobrepostos em escala micrométrica sem a interferência de outros objetos. A ampliação foi de aproximadamente 22,22 vezes.

Figura 4. 4: Imagens experimentais das esferas de Látex feitas com feixe parcialmente coerente.

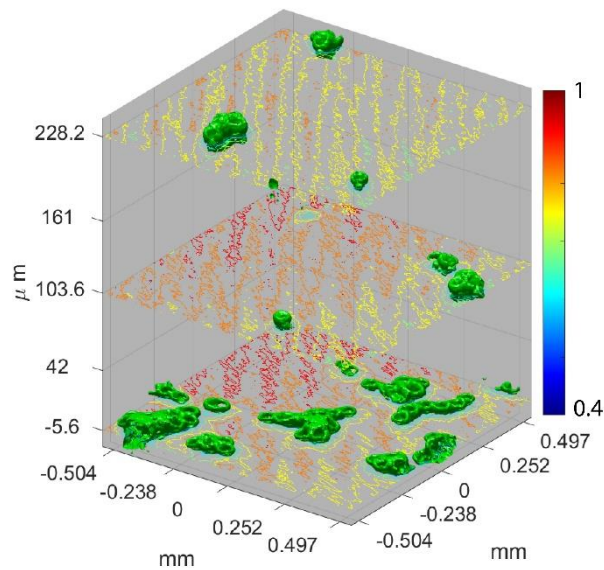


Fonte: Autor.

Percebemos que ao deslocarmos a câmera CCD ao longo de z em $112 \mu m$ conseguimos obter o primeiro plano totalmente nítido. Ao se deslocar até a posição $z = 235,2 \mu m$ observamos o terceiro plano. Notamos que são totalmente distintos um plano do outro, fazendo com que conseguimos ver cada camada independente.

Agora para termos uma visão tridimensional das esferas alinhadas uma sobre a outra, fizemos a partir dos resultados obtidos uma isosuperfície, mostrada na figura 4.5.

Figura 4. 5: Isosuperfície para resultados experimentais de imagens de esferas de látex ao longo de 222 planos longitudinais.



Fonte: Autor

Foi construído a partir de imagens medidas ao longo da posição longitudinal e numeradas de 1 a 222, que representa a quantidade e imagens obtidas. Os contornos de intensidade, que variando de 0,4 a 1, são mostrados para planos de número 16, 94, 183. Os planos longitudinais são marcados de baixo para cima com a imagem correspondente à primeira imagem ilustrada na figura 4.4, que é o plano do número 20. Os presentes resultados constituem um conceito de iluminação 3D para um sistema de microscópio inovador.

Para descobrirmos o fator de ampliação, foi feito os cálculos a partir da matriz ABCD, que se encontra no apêndice desse trabalho.

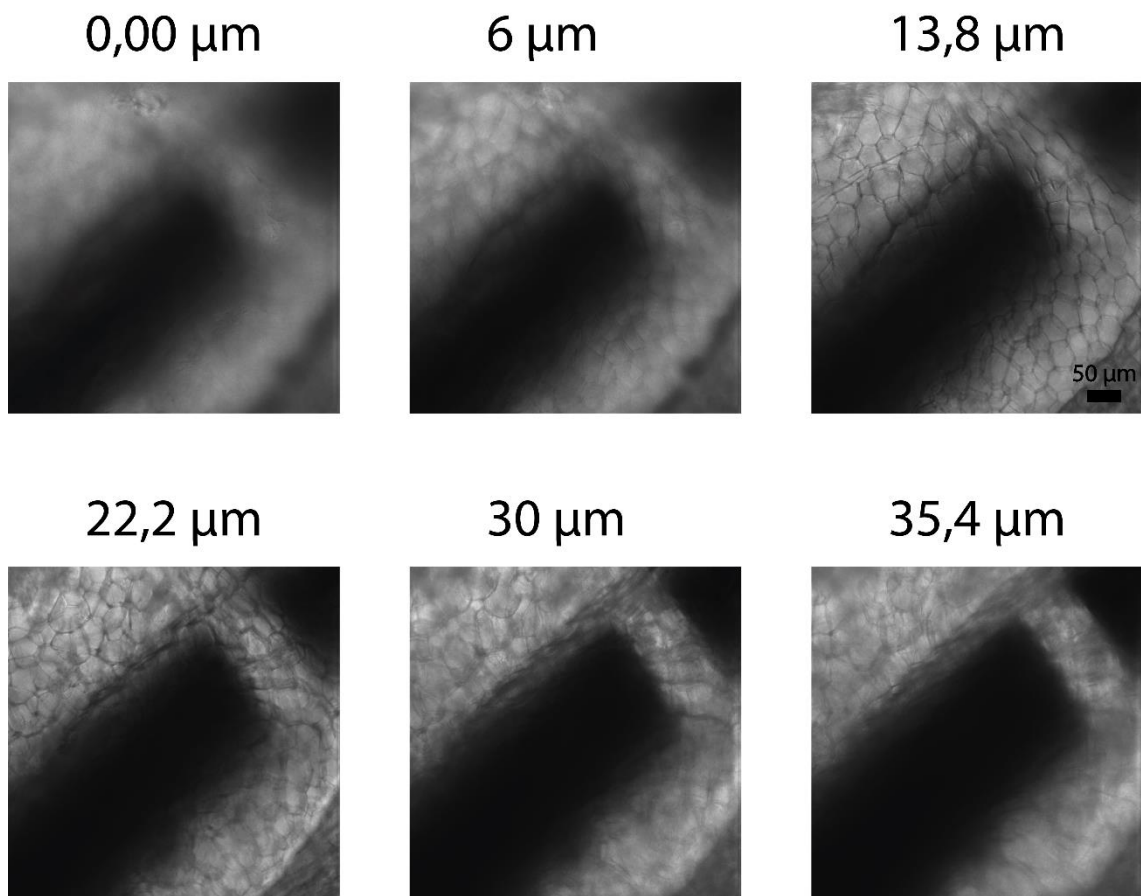
4.3 Aplicação em Material Biológico

Anteriormente no capítulo 3 vimos que ao alinharmos objetos geométrico e incidirmos um feixe parcialmente coerente conseguimos ver cada objeto individualmente. Observamos também essa propriedade em escalas micrométricas. Nesta seção mostraremos a aplicação em imagens de um mesentério intestinal de rato, afim de obtermos informações do interior do material.

4.3.1 Feixe em 532nm

Inicialmente utilizamos um laser com o comprimento de onda em 532nm. O feixe foi incidido em uma parte do mesentério intestinal do rato, que apresenta o mesmo formato que foi mencionado anteriormente na seção 4.2.

Figura 4. 6: Imagens da veia e paredes celulares do mesentério intestinal de rato feito com 532nm.



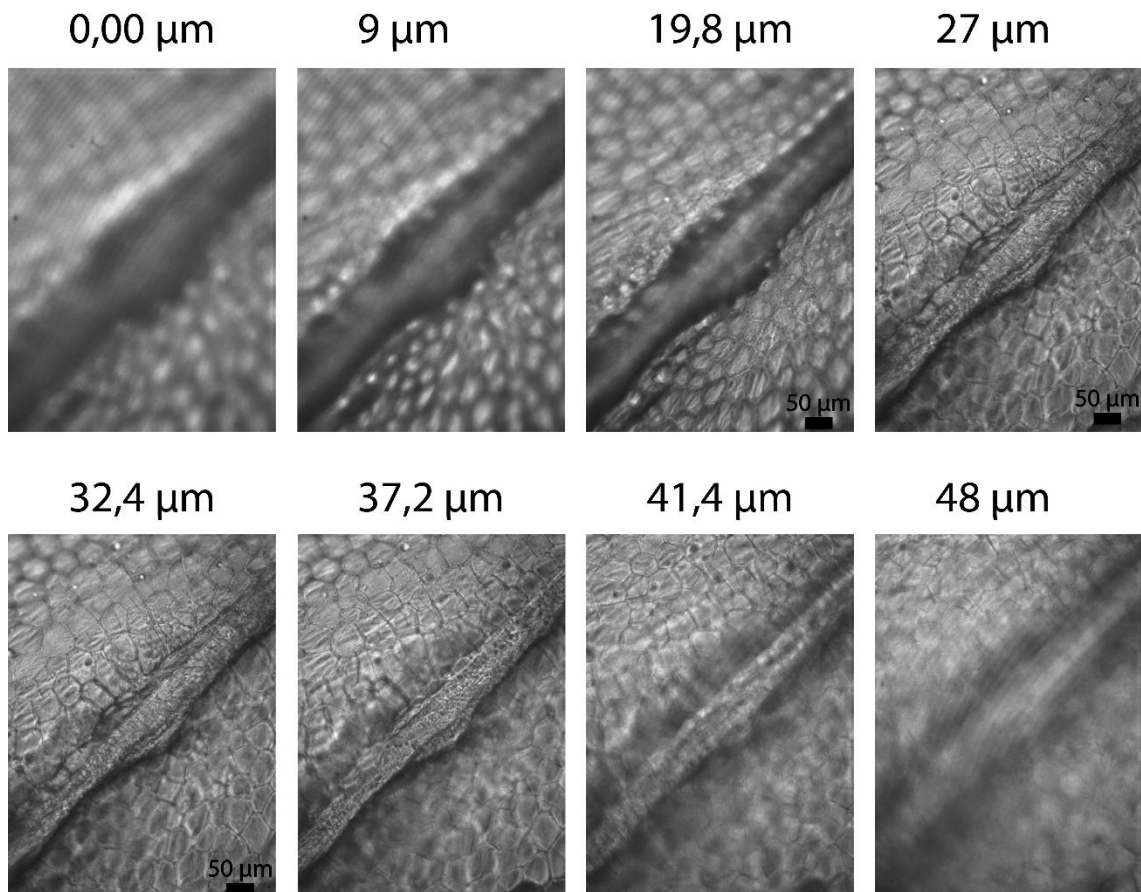
Fonte: Autor.

Determinamos na figura 4.5 o ponto inicial Z_0 e variamos Z até o ponto final $Z = 35,4 \mu m$. Inicialmente, percebemos que após ser deslocado por uma distância $Z = 13,8 \mu m$ é possível ver a primeira camada da parede celular, que é atravessada por uma veia (parte totalmente opaca da imagem) que está cheia de sangue. Quando afastamos para $Z = 22,2 \mu m$, vemos que a segunda parede celular aparece, apesar de estar um pouco sobreposta conseguimos identificar bem sua estrutura e as divisões das células. Apesar de termos visto as paredes celulares, a veia ficou totalmente opaca, não conseguindo observar o seu interior.

4.3.2 Feixe em 810nm

Para termos um comparativo, usamos outro comprimento de onda, já na faixa do infravermelho com $\lambda = 810 \text{ nm}$. O mesentério usado nesses resultados não é o mesmo usado na subsecção anterior. Por se tratar de um material biológico, o tempo de utilização da amostra é pequeno, da ordem de horas.

Figura 4. 7: Imagens da veia e paredes celulares do mesentério intestinal de rato feito com 810 nm.



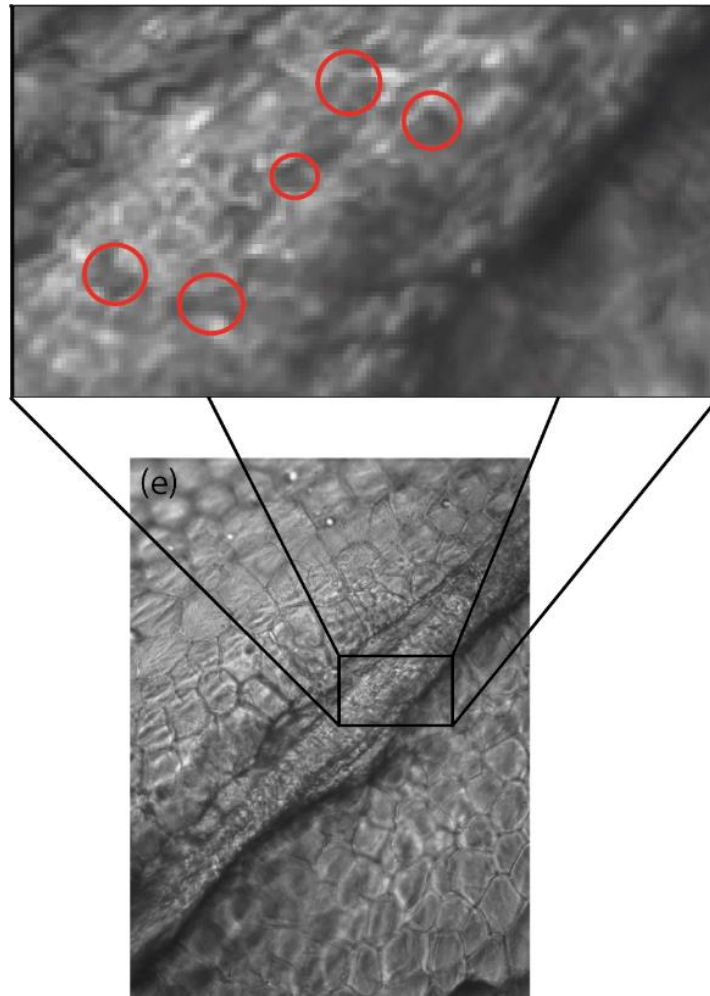
Fonte: Autor.

Determinamos na figura 4.6 o ponto inicial Z_0 e variamos Z até a profundidade final de $Z = 48 \mu\text{m}$ no interior da amostra. Ao analisarmos a figura, vemos que ao chegarmos em $Z = 19,8 \mu\text{m}$, conseguimos ver uma parede celular com uma veia, que a princípio é opaca por conter sangue em seu interior. Quando deslocamos para $Z = 27 \mu\text{m}$, notamos que a veia já não

está opaca e que é possível ver algumas informações, que antes não se via. Essa parte se trata do interior da veia. E em $Z = 32,4 \mu m$ já se tem mais nitidez de seu interior.

Para observarmos melhor a parte interior da veia em $Z = 32,4 \mu m$, ampliamos uma região em cima dessa, conforme vemos abaixo.

Figura 4. 8: Figura ampliada na parte da veia.



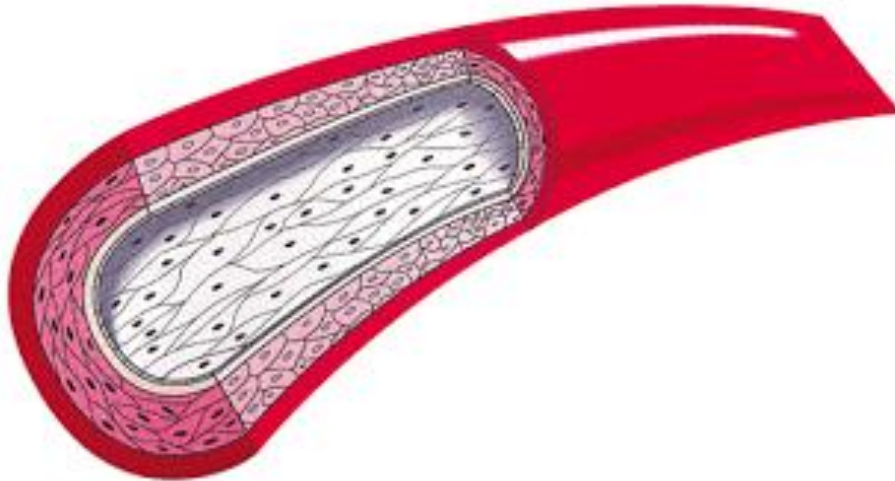
Fonte: Autor.

Ao analisarmos a figura 4.7 vemos pontos que são pequenas cavidades, alguns dos quais estão circulados. Segundo análise feita por um biólogo do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas essas cavidades se tratam do núcleo das células do interior da veia. Estas células da parte interior da veia são chamadas de “túnica interna”.

Para melhor entender a descrição feita acima, mostramos na figura 4.8 um esquema da estrutura interna da veia. Na figura, as veias são constituídas por várias camadas, cuja “túnica

interna” é representada pelas células brancas. Percebemos assim que conseguimos passar por todas as camadas sem danificar ou interferir em alguma anterior³⁹.

Figura 4. 9: Camadas da veia.

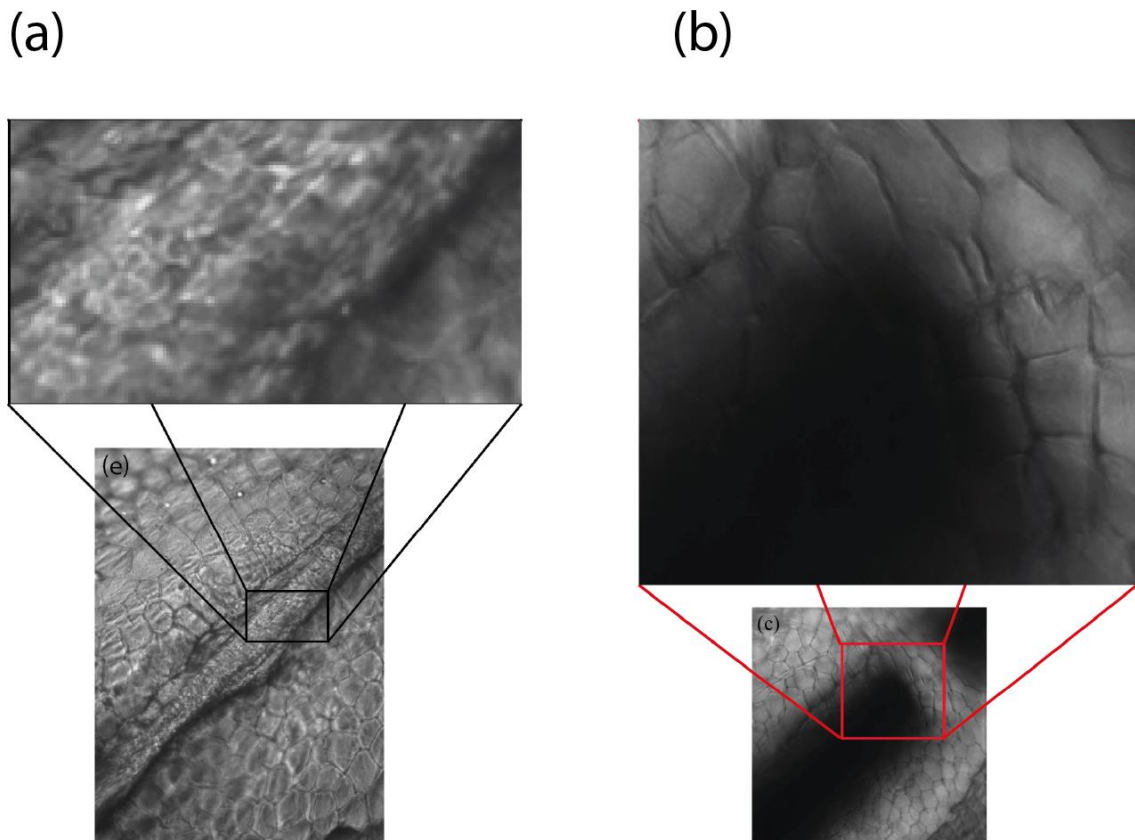


Fonte: [39].

4.3.3 Análise Para os Dois Comprimentos de Onda

Por fim, vamos comparar os resultados com os comprimentos de onda diferentes. Ampliando uma área que contém uma veia, mostrada na figura 4.9, vemos que assim como foi analisado anteriormente, para o comprimento de onda de 532 nm a veia fica totalmente opaca, ao passo que, para 810 nm conseguimos ver o interior da veia.

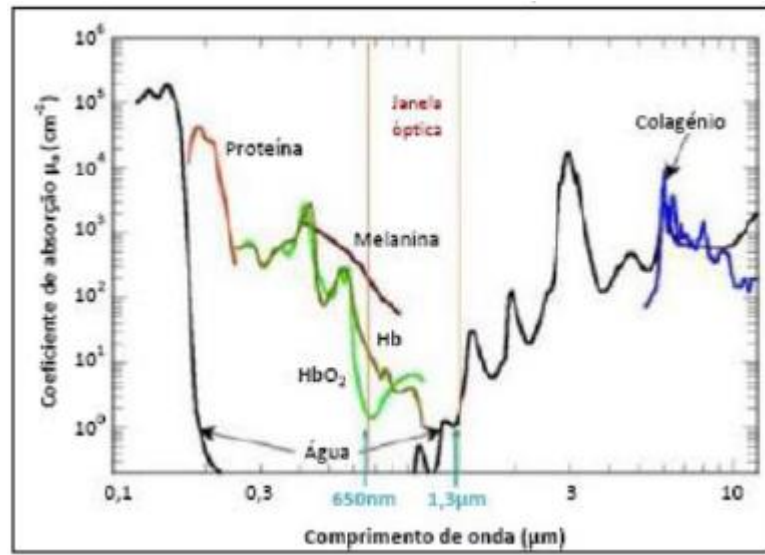
Figura 4. 10: (a) Ampliação da veia em 810 nm (b) Ampliação da veia em 532 nm.



Fonte: Autor.

Isso acontece por conta da chamada “janela óptica biológica” (figura 4.10). A absorção da luz pela água é predominante no espectro do infravermelho (comprimentos de onda superiores a 1200 nm) e no espectro ultravioleta (comprimentos de ondas inferiores a 200 nm). Nestas zonas as propriedades de absorção dos tecidos são muito idênticas às da água. Porém, para comprimentos de onda entre 300 e 700 nm a água é praticamente transparente. O intervalo de comprimentos de ondas situado entre os 650 e 1300 nm , onde a absorção da água e das moléculas orgânicas é mais baixa, esse intervalo que é denominado “Janela óptica biológica”^{40; 41}.

Figura 4. 11: Espectro de absorção de vários constituintes de tecido biológico humano para comprimentos de onda entre o ultravioleta e infravermelho.



Fonte: [40].

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, realizamos o estudo das aplicações da propriedade de autoreconstrução de um feixe parcialmente coerente. Inicialmente, analisamos o comportamento do padrão de “speckles” ao ser obstruído por três objetos geométricos opacos consecutivos. Mostramos que é possível ver estes obstáculos de forma nítida sem a interferência dos demais, desde que a distância entre os obstáculos seja igual a distância de reconfiguração dos speckles.

Também analisamos o padrão ao atravessar pequenas esferas de látex de escala micrométrica. Vimos que o uso do feixe parcialmente coerente proporciona uma melhor nitidez da amostra em relação ao feixe incoerente. Assim, a propriedade de autoreconstrução sem mantém mesmo o obstáculo tendo escala micrométrica.

Por fim, estudamos esse comportamento através de um material biológico afim de ver várias camadas da amostra, que é referente a um mesentério intestinal de rato. No material biológico foi possível identificar paredes celulares distintas para os dois comprimentos de onda estudados (532 *nm* e 810 *nm*). Por sua vez, apenas em 810 *nm* conseguimos uma penetração melhor da amostra, onde foi possível ver a parte interior de uma veia.

Com isso temos que nosso estudo pode ser útil na microscopia, onde temos um método que não danifica o material e como perspectivas, a análise de biópsia para certos tipos de diagnósticos.

REFERÊNCIAS

- 1 CARDONA., C. L. S. M. C. M. L. M. C. M. M. P. T. C. A.-J. T. S. “**Microscopia I: descobrindo um mundo invisível**”.
- 2 HOOKE, R. **Micrographia: Or Some Physiological Descriptions of Minute Bodies Made by Magnifying Glasses. With Observations and Inquiries Thereupon. By R. Hooke, Fellow of the Royal Society.** Jo. Martyn, and Ja. Allestry, printers to the Royal Society, and are to be sold at their shop at the Bell in S. Paul's church-yard, 1966.
- 3 EVANKO, D.; HEINRICHS, A.; ROSENTHAL, C. Milestones in light microscopy. **Nature**, 2011.
- 4 PISTON, D. W.; SWEDLOW, J. R. The impact of technology on light microscopy. **Nature Cell Biology**, v. 11, p. S23-S24, 2009.
- 5 FREIRE, P. G. et al. **Deteção de leucócitos em imagens de vídeo de microscopia intravital.** Anais do XXXII Congresso da Sociedade Brasileira de Computação (CSBC). XII Workshop de Informática Médica (WIM 2012), 2012. p.
- 6 SILVA, B. C. et al. **Estabilização de imagens de vídeo de microscopia intravital aplicado à detecção e rastreamento automático de leucócitos.** XII Workshop de Informática Médica, 2012. 16-17 p.
- 7 WATERMAN-STORER, C. M. et al. Fluorescent speckle microscopy, a method to visualize the dynamics of protein assemblies in living cells. **Current biology**, v. 8, n. 22, p. 1227-S1, 1998. ISSN 0960-9822.
- 8 DÜRIG, U.; POHL, D. W.; ROHNER, F. Near- field optical- scanning microscopy. **Journal of applied physics**, v. 59, n. 10, p. 3318-3327, 1986. ISSN 0021-8979.
- 9 HEINTZMANN, R.; GUSTAFSSON, M. G. Subdiffraction resolution in continuous samples. **Nature Photonics**, v. 3, n. 7, p. 362-364, 2009. ISSN 1749-4885.
- 10 WIERSMA, D. S. Disordered photonics. **Nature Photonics**, v. 7, n. 3, p. 188-196, 2013. ISSN 1749-4885.
- 11 YOKOI, N.; AIZU, Y. Probing depth and dynamic response of speckles in near infrared region for spectroscopic blood flow imaging. **Optics & Laser Technology**, v. 78, p. 106-114, 2016. ISSN 0030-3992.

- ¹² DUNN, A. K. et al. Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 21, n. 3, p. 195-201, 2001. ISSN 0271-678X.
- ¹³ LIM, D. et al. Optically sectioned in vivo imaging with speckle illumination HiLo microscopy. **Journal of biomedical optics**, v. 16, n. 1, p. 016014-016014-8, 2011. ISSN 1083-3668.
- ¹⁴ MUDRY, E. et al. Structured illumination microscopy using unknown speckle patterns. **Nature Photonics**, v. 6, n. 5, p. 312-315, 2012. ISSN 1749-4885.
- ¹⁵ VAN PUTTEN, E. et al. Scattering lens resolves sub-100 nm structures with visible light. **Physical review letters**, v. 106, n. 19, p. 193905, 2011.
- ¹⁶ YILMAZ, H. et al. Speckle correlation resolution enhancement of wide-field fluorescence imaging. **Optica**, v. 2, n. 5, p. 424-429, 2015. ISSN 2334-2536.
- ¹⁷ PARK, J.-H. et al. Subwavelength light focusing using random nanoparticles. **Nature photonics**, v. 7, n. 6, p. 454-458, 2013. ISSN 1749-4885.
- ¹⁸ EXNER, K. Sitzungsber. **Kaiserl. Akad. Wiss.(Wien)**, v. 76, p. 522, 1877.
- ¹⁹ EXNER, K. **S. Acad: Wiss** 1877.
- ²⁰ OLIVER, B. Sparkling spots and random diffraction. **Proceedings of the IEEE**, v. 51, n. 1, p. 220-221, 1963. ISSN 0018-9219.
- ²¹ DA SILVA, E. R.; MURAMATSU, M. O fenômeno do speckle como introdução à metrologia óptica no laboratório didático. **Rev. Brasileira de Ensino de Física (São Paulo)**, v. 29, p. 283-286, 2007.
- ²² ALLEN, L.; JONES, D. An analysis of the granularity of scattered optical maser light. **Physics Letters**, v. 7, n. 5, p. 321-323, 1963. ISSN 0031-9163.
- ²³ GOODMAN, J. W. Statistical properties of laser speckle patterns. In: (Ed.). **Laser speckle and related phenomena**: Springer, 1975. p.9-75.
- ²⁴ VELLEKOOP, I. M.; LAGENDIJK, A.; MOSK, A. Exploiting disorder for perfect focusing. **arXiv preprint arXiv:0910.0873**, 2009.

- 25 CHOI, Y. et al. Scanner-free and wide-field endoscopic imaging by using a single multimode optical fiber. **Physical review letters**, v. 109, n. 20, p. 203901, 2012.
- 26 BERTOLOTTI, J. et al. Non-invasive imaging through opaque scattering layers. **Nature**, v. 491, n. 7423, p. 232-234, 2012. ISSN 0028-0836.
- 27 YANG, X.; PU, Y.; PSALTIS, D. Imaging blood cells through scattering biological tissue using speckle scanning microscopy. **Optics express**, v. 22, n. 3, p. 3405-3413, 2014. ISSN 1094-4087.
- 28 DURNIN, J.; MICELI JR, J.; EBERLY, J. Diffraction-free beams. **Physical review letters**, v. 58, n. 15, p. 1499, 1987.
- 29 DURNIN, J. Exact solutions for nondiffracting beams. I. The scalar theory. **JOSA A**, v. 4, n. 4, p. 651-654, 1987. ISSN 1520-8532.
- 30 GARCES-CHAVEZ, V. et al. Simultaneous micromanipulation in multiple planes using a self-reconstructing light beam. **Nature**, v. 419, n. 6903, p. 145-147, 2002. ISSN 0028-0836.
- 31 TSAMPOULA, X. et al. Femtosecond cellular transfection using a nondiffracting light beam. **Applied Physics Letters**, v. 91, n. 5, p. 053902, 2007. ISSN 0003-6951.
- 32 BAI, J. et al. The BES detector. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment**, v. 344, n. 2, p. 319-334, 1994. ISSN 0168-9002.
- 33 ALVES, C. R.; JESUS-SILVA, A. J.; FONSECA, E. J. Effect of the spatial coherence length on the self-reconfiguration of a speckle field. **Physical Review A**, v. 94, n. 1, p. 013835, 2016.
- 34 _____. Self-reconfiguration of a speckle pattern. **Optics letters**, v. 39, n. 21, p. 6320-6323, 2014. ISSN 1539-4794.
- 35 _____. Using speckles to recover an image after its transmission through obstacles. **Physical Review A**, v. 93, n. 4, p. 043816, 2016.
- 36 ALVES, C. R.; JESUS-SILVA, A. J.; FONSECA, E. J. Robustness of a coherence vortex. **Applied Optics**, v. 55, n. 27, p. 7544-7549, 2016. ISSN 1539-4522.

- 37 NEWMAN, J.; WEBB, K. Fourier magnitude of the field incident on a random scattering medium from spatial speckle intensity correlations. **Optics letters**, v. 37, n. 7, p. 1136-1138, 2012. ISSN 1539-4794.
- 38 NEWMAN, J. A.; WEBB, K. J. Imaging optical fields through heavily scattering media. **Physical review letters**, v. 113, n. 26, p. 263903, 2014.
- 39 LE HUCHE, F.; ALLALI, A. **La voz: anatomía y fisiología, patología-terapéutica**. Elsevier España, 2004. ISBN 8445812475.
- 40 GOMES, R. F. D. S. **Optimização da focagem de feixes laser em tecidos biológicos: desenvolvimento de um simulador óptico**. 2011. FCT-UNL
- 41 COURTEILLE, P. Distribuição de Luz em Meios Túrbidos.

APÊNDICE

Para sabermos o tamanho real das esferas foi utilizado a matriz ABCD para poder achar o fator de ampliação. Onde temos que a matriz do espaço livre da CCD à lente L2

$$M_5 = \begin{bmatrix} 1 & d_1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (1)$$

propagação através de L2, cuja matriz de transferência é

$$M_4 = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ -\frac{1}{f_{L_2}} & 1 \end{bmatrix} \quad (2)$$

Temos outra propagação no espaço livre que vai da lente L2 à O2, sua matriz fica

$$M_3 = \begin{bmatrix} 1 & d_2 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (3)$$

A propagação através de O2 fica

$$M_2 = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ -\frac{1}{f_{O_2}} & 1 \end{bmatrix} \quad (4)$$

E finalmente a propagação de O1 até a amostra é de

$$M_1 = \begin{bmatrix} 1 & d_3 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (5)$$

Multiplicando as matrizes temos:

$$M = M_5 M_4 M_3 M_2 M_1$$

$$\begin{bmatrix} A & B \\ C & D \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & d_1 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ -\frac{1}{f_{L_2}} & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & d_2 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ -\frac{1}{f_{O_2}} & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & d_3 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (6)$$

Assim temos que

$$\begin{bmatrix} A & B \\ C & D \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 - \frac{d_1}{f_{L_2}} - \frac{\left(1 - \frac{d_1}{f_{L_2}}\right)d_2 + d_1}{f_{O_2}} & \left\{ 1 - \frac{d_1}{f_{L_2}} - \frac{\left(1 - \frac{d_1}{f_{L_2}}\right)d_2 + d_1}{f_{O_2}} \right\} d_3 + \left[1 - \frac{d_1}{f_{L_2}} \right] d_2 + d_1 \\ \left(-\frac{1}{f_{L_2}} \right) - \frac{\left(-\frac{d_2}{f_{L_2}} \right) + 1}{f_{O_2}} & \left[-\frac{1}{f_{L_2}} - \frac{\left(-\frac{d_2}{f_{L_2}} \right) + 1}{f_{O_2}} \right] d_3 - \left(\frac{d_2}{f_{L_2}} \right) + 1 \end{bmatrix} \quad (7)$$

Como as distâncias são iguais aos comprimentos focais $d_1 = f_{L_2}$, $d_2 = f_{O_2} + f_{L_2}$ e $d_3 = f_{O_2}$, a matriz ABCD da equação 7, pode ser reescrita como:

$$\begin{bmatrix} A & B \\ C & D \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -\frac{f_{L_2}}{f_{O_2}} & \left[\left(\frac{f_{L_2}}{f_{O_2}} \right) f_{O_2} + f_{L_2} \right] \\ 0 & -\frac{f_{O_2}}{f_{L_2}} \end{bmatrix} \quad (8)$$

onde o termo A da matriz é o fator de ampliação.