

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA - UFU
INSTITUTO DE FÍSICA - INFIS
GRADUAÇÃO EM FÍSICA MÉDICA

BRUNO RAFAEL DE OLIVEIRA PINHEIRO

**IMAGEM POR REFLETÂNCIA DIFUSA USANDO ILUMINAÇÃO DE INTENSIDADE
ESPACIALMENTE MODULADA**

Uberlândia
17 de agosto de 2022

BRUNO RAFAEL DE OLIVEIRA PINHEIRO

**IMAGEM POR REFLETÂNCIA DIFUSA USANDO ILUMINAÇÃO DE INTENSIDADE
ESPACIALMENTE MODULADA (SFDI)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada
ao Instituto de Física da Universidade Federal
de Uberlândia como requisito parcial para
a obtenção do título de Bacharel em Física
Médica.

Orientador: Prof. Dr. Adamo Ferreira Monte.

Uberlândia
17 de agosto de 2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

P654 Pinheiro, Bruno Rafael de Oliveira, 1997-
2022 Imagem por refletancia difusa usando iluminação de
intensidade espacialmente modulada (SFDI) [recurso
eletrônico] / Bruno Rafael de Oliveira Pinheiro. - 2022.

Orientador: Adamo Ferreira do Monte.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Física
Médica.

Modo de acesso: Internet.

Inclui bibliografia.

1. Física médica. I. Monte, Adamo Ferreira do, 1972-
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia.
Graduação em Física Médica. III. Título.

CDU: 61:53

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Adamo Ferreira Monte, pela oportunidade de realizar este trabalho nas instalações do Laboratório de Imagens Funcionais, gozando de vasta autonomia na realização de testes, procedimentos e treinamento.

Aos professores, em especial, Djalmir Nestor Messias, por me dar a primeira oportunidade como aluno de Iniciação Científica no Laboratório de Espectroscopia Óptica e Profs. Diego Merigue, Jader Cabral, Marcel Novaes e Ana Paula Perini pelo exemplo, excelentes aulas e conversas ao longo de todo o curso.

À secretária Dilza, que já coleciona homenagens, pela paciência e educação em prestar suporte administrativo e esclarecimentos ao longo de todo o curso.

Aos meu colegas do primeiro ano, Antônio Carlos e Pedro Krick, pelo companheirismo naquela tão importante fase acadêmica. Agradeço também aos demais colegas do curso de Física Médica, em seus diferentes graus de proximidade, especialmente Luana Rodrigues e Kelly Nishida.

Aos colegas do curso de Física de Materiais e Licenciatura em Física, especialmente, Rafael Freitas, Bruno Zannatta, Marcelo Rezende, Pedro e Fernanda, em seus diferentes graus de proximidade, pelo companheirismo acadêmico, conselhos e participação nos estudos. Neste grupo, inclui-se os recentes colegas da pós-graduação em Física que me auxiliaram nos últimos passos dessa jornada.

Aos colegas do Laboratório onde desenvolvi este trabalho, Phellipe, Maria, Guilherme Zanatta e Maycon, e aos pós graduandos Ana Caroline e Guilherme Alves, por compartilharem horas de estudo, de forma paciente, solidária e respeitosa, e participarem direta ou indiretamente na produção dos resultados apresentados neste texto. Agradecimentos também a Arnaldo Reis, pelas valorosas discussões sobre os resultados.

Agradeço a minha Mãe por em mim investir, confiar e acreditar. Agradeço também a minha grande amiga e também namorada, Maria Fernanda, pelo companheirismo integral durante todo o período de desenvolvimento deste trabalho.

Resumo

Desde a descoberta dos raios-X por Wilhelm Conrad Röntgen em 1895, o diagnóstico e tratamento de doenças pôde ser feito com mais rapidez, clareza e precisão. Na maioria dos casos, as técnicas de obtenção de imagem adotadas envolvem o uso de radiação ionizante que, apesar dos benefícios, possuem risco associado. Este trabalho mostra como a luz visível, ou seja, radiação *não*-ionizante, pode ser usada para visualizar diferentes estruturas a partir da identificação dos níveis de absorção e espalhamento óptico da luz em diferentes comprimentos de onda da faixa 400-800 nm. Trata-se de uma técnica denominada “Imagem no domínio da frequência espacial” (SFDI - *Spatial Frequency Domain Imaging*), na qual se ilumina um objeto com um padrão de faixas claras e escuras de diferentes espessuras. Os fótons incidentes nestas condições interagem com as moléculas do meio e reemergem do material, em diversas direções, sendo capturados por uma Câmera CCD. A câmera registra a imagem em diferentes comprimentos de onda (457, 488, 532, 580 e 650 nm) e um código em MATLAB® identifica os pontos de maior e menor reflexão num mapa de cor-intensidade. A aplicação da técnica é feita com objetos simuladores, denominados *fantomas* de tecido, compostos por silicone, tinta Nankin e dióxido de Titânio (TiO₂), cujas propriedades ópticas foram determinadas por espectroscopia na Esfera Integradora. A refletância difusa se mostrou inadequada para frequências espaciais acima de 0,20 pl/mm nos comprimentos de onda 532 e 580 nm. Percebeu-se que processamento das imagens leva em conta valores médios de intensidade da região de interesse e que estruturas com grandes diferenças de concentração de absorvedores ou espalhadores têm sua visualização comprometida. No texto, é apresentada a teoria pro trás da técnica de SFDI, a produção e caracterização dos *fantomas* produzidos e os resultados obtidos com o processamento no MATLAB.

Palavras chave: *Fantomas*, Refletância difusa, Frequência espacial, SFDI.

Abstract

Since the discovery of X-rays by Wilhelm Conrad Röntgen in 1895, the diagnosis and treatment of diseases could be done more quickly, clearly and accurately. In most cases, the imaging techniques adopted involve the use of ionizing radiation which, despite the benefits, has an associated risk. This work shows how visible light, that is, *non-ionizing* radiation, can be used to visualize different structures from the identification of absorption levels and optical scattering of light at different wavelengths in the range 400-800 nm. This is a technique called “Spatial Frequency Domain Imaging” (SFDI), in which an object is illuminated with a pattern of light and dark bands of different thicknesses. The incident photons under these conditions interact with the molecules of the medium and re-emerge from the material, in different directions, being captured by a CCD Camera. The camera records the image in different wavelengths (457, 488, 532, 580 and 650 nm) and a code in MATLAB® identifies the points of greatest and least reflection in a color-intensity map. The technique is applied with tissue-phantoms composed by silicone, Nankin ink and titanium dioxide (TiO₂) whose optical properties were determined by spectroscopy in the integrating sphere. Diffuse reflectance proved to be inadequate for spatial frequencies above 0.20 pl/mm at wavelengths 532 and 580 nm. It was noticed that image processing takes into account average intensity values of the region of interest and that structures with large differences in concentration of absorbers or scatters compromise their visualization. In the text, the theory behind the SFDI technique is presented, the production and characterization of the produced phantoms and the results obtained with the processing in MATLAB.

Key Words: Phantoms, Diffuse reflectance, Spatial Frequency, SFDI.

Conteúdo

1	Introdução	8
1.1	Objetivos	9
2	Fundamentos da propagação da Luz em meios difusos	10
2.1	Resumo das interações ópticas de interesse	10
2.2	Equação de Transporte Radiativo	17
2.3	Aproximação da equação de Difusão	18
3	A imagem no Domínio da Frequência Espacial	21
3.1	Resolução e contraste	22
3.2	Função de Transferência de Modulação (MTF)	23
3.3	Demodulação do sinal e obtenção dos parâmetros ópticos	24
4	Métodologia e procedimentos experimentais	27
4.1	Produção dos Fantomas	27
4.2	Análise na esfera	29
4.3	Medidas no SFDI	30
5	Resultados	32
6	Conclusão	37

1 Introdução

O uso de imagem usando radiação não ionizante na prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças em seres humanos e animais desperta interesse por dispensar o controle de dose e efeitos radioinduzidos. Exemplos de imagens desse tipo são a ultrassonografia, que utiliza ondas sonoras de alta frequência e baseia-se na diferença de impedância entre os meios do tecido, e a ressonância magnética, que utiliza variações de momento angular dos átomos do meio. Estas duas técnicas são adequadas na visualização de estruturas em profundidade mas não dão, necessariamente, informações funcionais destas estruturas, como características metabólicas e hemodinâmicas. Técnicas com imagens ópticas baseiam-se na interação dos componentes do meio biológico com a luz incidente, e as diversas técnicas envolvem uma incidência luminosa numa larga faixa de comprimentos de onda. Substâncias como o sangue, a água, melanina e gordura são exemplos de compostos que interagem com a luz na chamada “janela terapêutica”, região do espectro entre 600 a 1400 nm: luz visível e infra vermelho próximo (NIR - *Near infra-red*).

Nesta faixa de baixa energias (< 3 eV), os fótons interagem com o meio por dois processos fundamentais: absorção e espalhamento elástico (Cerussi et al. 2012), ambos sem promover eventos de ionização. Conhecendo as propriedades de absorção de um meio na janela terapêutica, é possível extrair características que sirvam de comparação com o mesmo tecido em estado saudável, como se faz, por exemplo, com tecidos tumorais, que se caracterizam por uma alta atividade metabólica e irrigação sanguínea (Marsden e Rajpar 2009, Weinberg 2014). Neste caso, a região tumoral apresentará absorção excessiva na região de absorção do oxigênio.

Pelo caráter não invasivo, técnicas de imagem óptica já participa da sociedade em dispositivos eletrônicos, como leitores de digitais, oxímetros, sistemas de segurança baseados em reconhecimento facial, e também no controle de qualidade de produtos alimentícios, principalmente derivados de matéria orgânica. Já na saúde, a possibilidade de observar a composição química e inferir anomalias fisiológicas de um meio cria novas aplicações para os diagnósticos de câncer e outras patologias (Lin et al. 2011, Preoperative Mapping of Nonmelanoma Skin Cancer Using Spatial Frequency Domain and Ultrasound Imaging 2014, Mazhar et al. 2012). Na Figura 1.1, é possível ver o uso de três técnicas ópticas para medidas de saturação de oxigênio (Chen e Durr 2020).

Como reportado nas próximas seções, o modelo mais bem sucedido para descrever a propagação da luz no tecido biológico é derivado da Equação de Transferência Radiativa (RTE - *Radiative Transfer Equation*), também conhecida como Equação de Boltzmann. Uma série de aproximações são feitas para caracterizar situações práticas e este trabalho leva em conta a *Aproximação pela equação de Difusão*, que, fundamentalmente, considera maior influência dos eventos de espalhamento durante o trânsito da luz.

A técnica de imagem SFDI, do inglês *Spatial Frequency Domain Imaging*, tem se

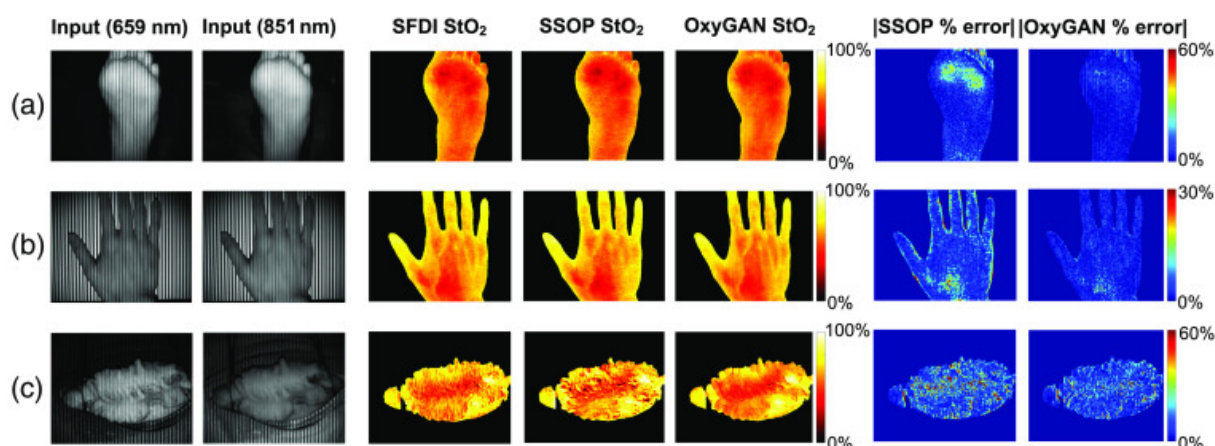


Figura 1.1: Comparação de medidas de oxigenação por três métodos diferentes: SFDI, SSOP e OxyGAN de uma amostra de (a) pé humano *in vivo*, (b) mão humana *in vivo* e (c) cólon de porco *in vivo*. Fonte: (Chen e Durr 2020)

mostrado capaz de medir as propriedades ópticas numa área de campo largo baseando-se em pixel por pixel (Ponticorvo et al. 2017). Ao contrário de outros métodos que aplicam óptica difusa que incidem feixes de luz num ponto do tecido, a SFDI incide luz em padrões de faixas claras e escuras, em uma ou mais de uma direção, em diferentes frequências de “faixas por milímetro”, numa região que vai desde o tamanho de uma macha na pele até um palmo, sobre a qual se extrai suas características. Desta incidência, o interesse está em capturar, com um sistema de imagem, a luz emergente do tecido por reflexão difusa, oriunda de fenômenos de espalhamento no interior do tecido. Esse tipo de reflexão carrega informações sobre o que ocorre com a luz ao penetrar o tecido: o quanto é absorvida e refletida, que tamanho tem suas moléculas, em que profundidade estão, em que faixa de comprimento de onda tem maior ou menor interação, entre outras.

1.1 Objetivos

Este trabalho tem por objetivo principal explicar como se dá o transporte da luz em meios difusos e como funciona a técnica de Imagem no Domínio da Frequência Espacial (SFDI). Para isso, tem-se como meios

- produzir fantomas de silicone, com corante Nankin na função de agente absorvedor e cristais de TiO_2 na função de agente espalhador; e
- obter imagens que indicam os níveis de refletância dos fantomas fabricados.

2 Fundamentos da propagação da Luz em meios difusos

Os processos de interação da luz são conhecidos e geralmente vêm descritos nos livros em função da energia do fóton. São eles, em ordem crescente de propabilidade de ocorrência com a energia: Espalhamento coerente, efeito foto elétrico, espalhamento incoerente, produção de pares e reações fotonucleares (Podgorsak 2010). Destes, apenas o primeiro não retira elétrons da matéria e ocorre na faixa da luz visível, de interesse neste trabalho.

A interação da luz com o meio é determinada pelas propriedades ópticas e, por isso, observar de perto os fenômenos resultantes desta interação possibilita obter informações sobre sua estrutura e composição química. Para entender esses fenômenos, é importante apresentar aos principais processos de interação da luz em baixas energias, como absorção, espalhamento, refração, e, ainda, à ideia de movimento aleatório das partículas. Nesta seção, é falado brevemente sobre tais processos e suas relações com o meio biológico.

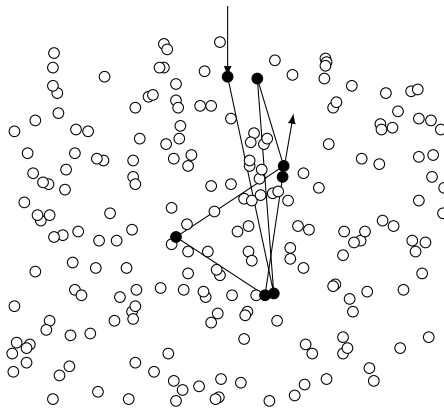


Figura 2.1: Aleatoriedade do percurso da partícula num meio.

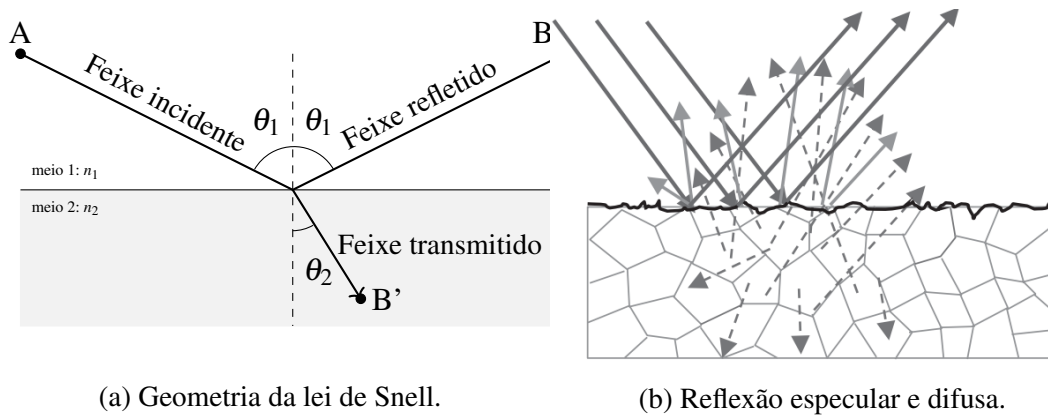
2.1 Resumo das interações ópticas de interesse

Reflexão e Transmissão

O fenômeno da reflexão e transmissão da luz ao incidir sobre a interface de dois meios seguida de uma mudança de direção no meio transmitido é bem conhecido pela óptica geométrica e apresentado já nos cursos iniciais de física como a *Lei da refração de Snell*:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2, \quad n = \frac{c}{v} \quad (2.1)$$

em que os índices 1 e 2 correspondem a dois meios (como ar e água), θ_i é o ângulo que faz a trajetória do feixe de luz no meio i em relação ao eixo normal à superfície e n é o *índice de refração*, uma medida que aumenta quando a luz diminui sua velocidade de propagação. A Figura 2.2a mostra a uma geometria comum para se chegar, com trigonometria simples, à Equação 2.1.



(a) Geometria da lei de Snell.

(b) Reflexão especular e difusa.

Figura 2.2: Fenômenos de Reflexão e transmissão. (a) Geometria da Lei de Snell. A luz migra do meio 1 para o meio 2 com um desvio de trajetória. Parte da luz é refletida em direção ao ponto B; (b) Três tipos de reflexão: reflexão especular (setas contínuas e escuras); reflexão difusa devido à superfície rugosa (setas contínuas e claras); e reflexão difusa devido ao espalhamento no meio (setas tracejadas). Imagem de (Lu 2016)

A quantidade relativa de luz que é refletida e transmitida não é determinada pela Lei de Snell, mas pode ser calculada se levada em conta equações de Maxwell e condições de contorno (Griffiths 2011). Para uma incidência normal ($\theta_1 = 0$), os coeficientes de reflexão (R) e transmissão (T) assumem a forma

$$R = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2; \quad T = 1 - R = \frac{4 n_1 n_2}{(n_1 + n_2)^2} \quad (2.2)$$

e aqui já se percebe a grande influência da relação entre os índices de refração nas duas parcelas. No caso comum em que os meios em questão é ar ($n = 1$) e água ($n = 1.33$), apenas 2% da intensidade é refletida nos termos da lei de Snell. A parcela restante é transmitida à água ou refletida de forma *difusa*.

A equação de Snell trata dos casos em que a superfície de separação entre os meios é plana e ambos são meios homogêneos. Se o meio iluminado não é plano, a rugosidade da superfície gera feixes refletidos em diversas direções. Se o meio iluminado não é homogêneo, ou seja, é composto por partículas de diferentes tamanhos e diferentes composições químicas, outros tipos de interações ocorrem simultaneamente entre os fótons e as partículas, gerando diferenças no percurso do feixe refratado e, conseqüentemente, na sua intensidade. Essas diferentes interações incluem o espalhamento e a absorção, discutidos adiante na Seção 2.1. Aqui, o que é de interesse é que o espalhamento pode resultar na reemissão de alguns fótons de luz de volta para o meio 1 (ou para o lado oposto, efeito denominado *transmissão* do feixe), contribuindo para a intensidade do feixe refletido. Noutras palavras, a reflexão é composta por três partes: (i) reflexão proveniente da lei de Snell (chamada de *reflexão especular*), (ii) reflexão proveniente da rugosidade da superfície, e (iii) reflexão proveniente da emergência de fótons transmitidos. As duas últimas são chamadas de *reflexão difusa* (Figura 2.2b).

Em termos práticos, é difícil separar as duas reflexões difusas, mas a informação principal é que uma trás informações sobre a superfície do material, e outra sobre seus componentes internos. Este trabalho estuda a interação do tecido com luz visível, sobre a qual componentes de interesse como melanina, hemoglobina, água e outros cromóforos podem ser distinguíveis por técnicas espectroscópicas. A Figura 2.3 mostra três técnicas de relativamente fácil implementação usadas para detectar a luz proveniente de uma amostra irradiada. A Figura 2.3a mostra uma configuração baseada na reflectância, que captura a reflexão difusa proveniente tanto da superfície e do meio, mas não é capaz de distinguir os dois sinais. Uma vez que as informações mais relevantes são carregadas pela interação da luz com as partículas do meio, as técnicas baseadas em transmitância e interactância são mais efetivas na análise de propriedades ópticas, mas exigem instrumentação mais sofisticada. Neste trabalho, cada tecnica foi usada em alguma parte do estudo. As técnicas de reflectância e transmitância são base para a medição na Esfera Integradora e a técnica de interactância é base para a imagem modulada respectivamente (Ver Seção 3).

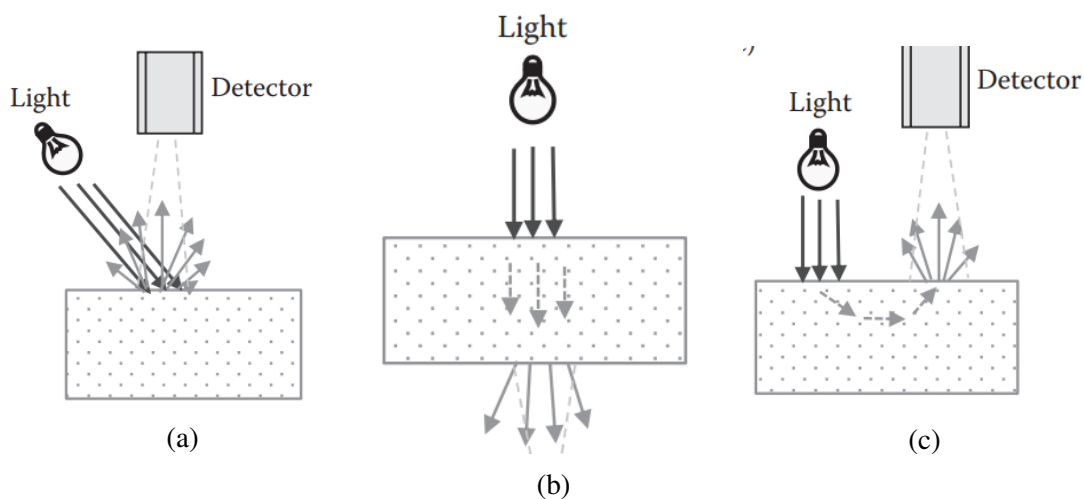


Figura 2.3: Técnicas de detecção de luz difusa: (a) por reflectância (b) transmitância (c) interactância. Imagens de (Lu 2016)

Absorção e Espalhamento

Com a descoberta dos níveis eletrônicos no átomo e o desenvolvimento da teoria quântica para a luz, pôde-se entender melhor o que ocorre quando um fóton de energia $E = hc\lambda^{-1}$ interage com um átomo ou molécula. Numa interação de *absorção*, o fóton desaparece e tem sua energia armazenada no meio absorvedor. Essa deposição pode se apresentar como um aumento no grau de vibração, rotação, excitação eletrônica ou, nos casos de radiação ionizante, na ejeção de um elétron orbital. No caso da luz visível e no infravermelho próximo, apenas os três primeiros comportamentos citados ocorrem e a molécula retorna ao estado menos energético devolvendo a energia adquirida pela luz na forma de calor, reações químicas ou mesmo por fótons, fenômeno chamado de *luminescência*, que pode se subdividir em *fluorescência* e *fosforescência* de acordo

com o tempo de relaxamento (Wang e Wu 2007).

Uma maneira de quantificar a capacidade da amostra absorver a luz é observando a quantidade de fótons que não desaparecem a medida que a luz penetra no material. Matematicamente, a relação entre intensidade (quantidade fótons) e profundidade se estabelece por

$$\frac{dI}{dx} = -\mu_a I_0 \Rightarrow I(x) = I_0 e^{-\mu_a x}, \quad (2.3)$$

em que μ_a é o coeficiente de absorção [comprimento⁻¹] e I_0 a intensidade do feixe incidente. A Equação 2.3 é bem conhecida como *Equação de Lambert-Beer*. Deste raciocínio, outras grandezas relevantes como a *transmitância* (T) e o *livre caminho médio* de absorção (l_a) podem ser calculadas por

$$T(x) = \frac{I(x)}{I_0}; \quad l_a = \frac{1}{\mu_a},$$

sendo a transmitância entendida como a fração de fótons sobreviventes na profundidade x e o livre caminho médio de absorção a distância média que o fóton percorre entre dois absorvedores antes de ser absorvido. Também vale citar a *Absorbância* (A) (ou *densidade optica* (OD)), que descreve quantas vezes a intensidade inicial foi reduzida num fator de dez:

$$I = \frac{I_0}{10^A} \Rightarrow A = -\log_{10} T = C\epsilon L \quad (2.4)$$

Os coeficientes C , ϵ e L são a concentração molar da substância, o coeficiente de extinção molar [mol litro⁻¹ cm⁻¹] e L a espessura da amostra, comuns em trabalhos com aplicações biológicas. Usando a Lei de Beer na Equação 2.4, o coeficiente de absorção pode ser escrito como $\mu_a = \ln 10 \epsilon C$, muito presente em bancos de dados que relacionam número de mols com propriedades de absorção.

A espectroscopia estuda propriedades das luz de acordo com a quantidade de radiação absorvida ou emitida por um material numa ampla faixa de frequências – ou de energia, ou de comprimento de ondas – dando origem ao *espectro*, que nada mais é que um gráfico. Medidas espectroscópicas de interesse deste trabalho se tratam dos valores médios de absorção, espalhamento e transmissão dos fótons por uma amostra que, muitas das vezes, possui forte influência com o comprimento de onda. A Figura 2.4 mostra espectros de absorção de hemácias, água e melanossomas na região da luz visível (luz com comprimento de onda entre 400 e 800 nanômetros). A Melanossoma, presente na pele de seres humanos, possui grande absorção na região do azul ($\lambda = 400$ nm) se comparada com a região do vermelho ($\lambda = 800$ nm). A hemoglobina sem Oxigênio (Hb), por outro lado, tem espectro mais irregular e de picos bastante evidentes em, aproximadamente, 410, 530 e 570 nm, além de uma região de baixa absorção (entre 600 e 700 nm), se comparada com a hemoglobina Oxigenada (HbO₂) nesta mesma região. Essa diferença fornece ferramentas para se estudar a saturação de oxigênio (Foo, Chua e Tan 2013, Meyers et al. 2005).

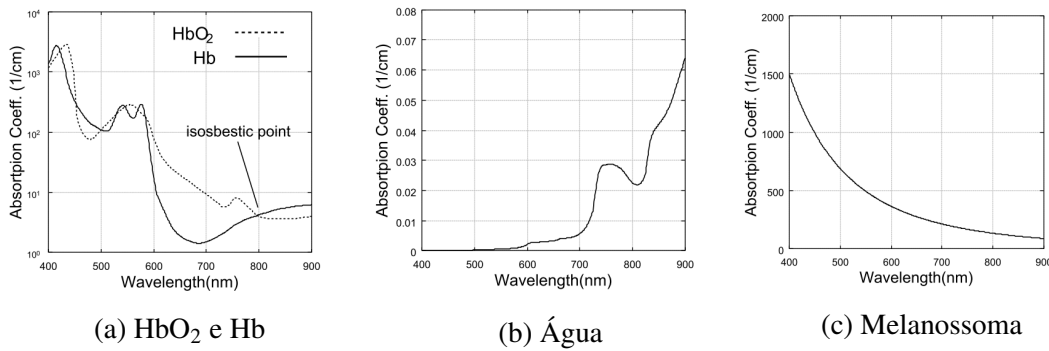


Figura 2.4: Espectros de absorção de componentes comuns do tecido: (a) hemoglobina e deoxyhemoglobina; (b) água; (c) melanossoma, molécula onde ocorre síntese e deposição de melanina. Dados de Jacques, S.L.; Prahl, S.A. 2021 disponíveis em <<http://olmc.ogi.edu/spectra>>. Imagens de (Wang e Wu 2007)

O espalhamento é o fenômeno em que o fóton interage com as partículas do meio e altera sua direção de propagação. A mudança de trajetória já é experimentada devido ao índice de refração, mas também tem grande relação com o tamanho e formato das partículas. O estudo do comportamento da luz espalhada fornece detalhes da estrutura química e física de materiais, como os tecidos biológicos, que revelam o estado do meio em situações de diagnóstico e terapia.

Nos tecidos biológicos, o espalhamento é o fenômeno mais influente na alteração da propagação da luz (Vo-Dinh 2003). Na prática, o espalhamento pode ser classificado em três grupos a partir da relação entre o comprimento de onda do fóton e o tamanho das partículas espalhadoras: espalhamento *Rayleigh* quando as partículas têm diâmetro muito menor que o comprimento de onda dos fótons; espalhamento *Mie*, para partículas de qualquer tamanho e de formato esférico; e espalhamento *Raman*, que, diferente dos demais, excita a amostra em níveis vibracionais e rotacionais, e espalha um fóton num comprimento de onda diferente, deixando a diferença de energia na amostra. O espalhamento Raman não é discutido neste trabalho pois a aplicação das técnicas aqui desenvolvidas se baseia num sistema físico condicionado ao espalhamento Mie.

Uma visão macroscópica do espalhamento possibilita modelar o número de fótons que não sofrem espalhamento em função da profundidade x da mesma maneira que foi feita para a absorção:

$$I(x) = I_0 e^{-\mu_s x}; \quad l_s = \frac{1}{\mu_s},$$

sendo l_s o *livre caminho médio* de espalhamento. Considerando os fenômenos de absorção e espalhamento, pode-se escrever a intensidade como um produto de fatores exponenciais relativos a cada interação

$$I(x) = I_0 e^{-\mu_a x} e^{-\mu_s x} = I_0 e^{-\mu_{tr} x}, \quad (2.5)$$

nos fornecendo um coeficiente que combina os dois fenômenos, chamado de *coeficiente de extinção* ou *coeficiente de transporte*, $\mu_{tr} = \mu_a + \mu_s$. Evidentemente, o coeficiente de extinção

tem seu recíproco para o comprimento, $l_{tr} = \mu_{tr}^{-1}$, que indica a distância média percorrida pela partícula entre dois interagentes (sejam absorvedores ou espalhadores).

Fator de anisotropia e o coeficiente de espalhamento reduzido

O coeficiente de espalhamento μ_s não indica a distribuição espacial dos fótons após a interação. A depender das características do meio, a luz é espalhada em direções preferenciais. Sendo assim, estuda-se as propriedades de espalhamento do meio a partir de dois fatores, que se relacionam entre si: o fator de anisotropia g e o coeficiente de espalhamento reduzido $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$

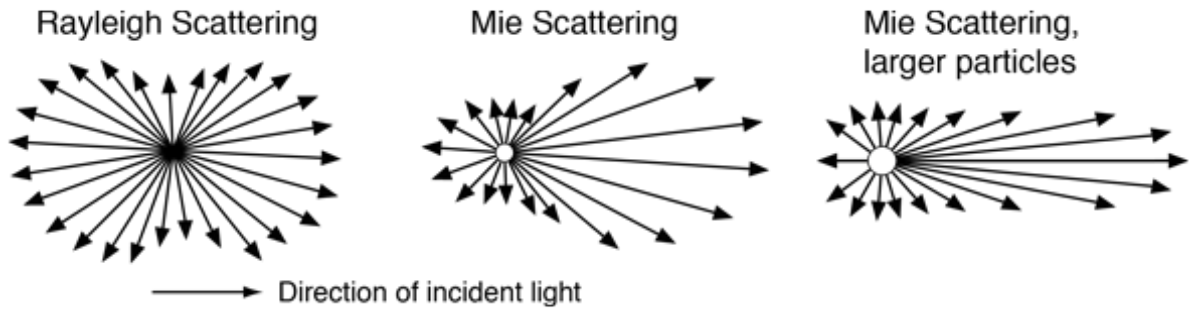


Figura 2.5: Probabilidades das direções de espalhamento nos regimes Mie e Rayleigh. O tamanho das setas se relaciona com a probabilidade de espalhamento nesta direção. De (Hyperphysics, Blue Sky. 2020)

No espalhamento Rayleigh, onde os alvos espalhadores têm dimensão muito menor que o comprimento de onda de interesse, o espalhamento ocorre de maneira aproximadamente homogênea no espaço, enquanto que no espalhamento Mie, para partículas esféricas de tamanho maior, o espalhamento ocorre predominantemente na direção de propagação (\hat{s}), como mostra a Figura 2.5. Em coordenadas polares, a probabilidade de espalhamento numa dada direção \hat{s}' é dado pelo o valor médio do cosseno entre \hat{s} e \hat{s}' , gerando a *função de fase de espalhamento* (p), e se relaciona com o *fator de anisotropia* (g) do meio conforme a Equação 2.6:

$$\int_{4\pi} p(\theta) \cos \theta d\Omega = \int_{4\pi} p(\hat{s}' \cdot \hat{s}) d\Omega = \langle \cos \theta \rangle = g \quad (2.6)$$

Na prática, o fator anisotropia mede a quantidade de luz que mantém a direção de incidência após um evento de espalhamento, sendo o intervalo $0 < g \leq 1$ eventos de espalhamento na direção de \hat{s} e o intervalo $-1 \leq g < 0$ na direção contrária. No caso isotrópico, $g = 0$. Uma forma de calcular o valor de $p(\cos \theta)$ é com a expressão de Henyey-Greenstein's (Henyey e Greenstein 1941) e alguns perfis são mostrados na Figura 2.6:

$$p_{HG}(\cos \theta) = \frac{\Lambda}{4\pi} \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g \cos \theta)^{3/2}}, \quad \Lambda = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \text{ (Albedo)}$$

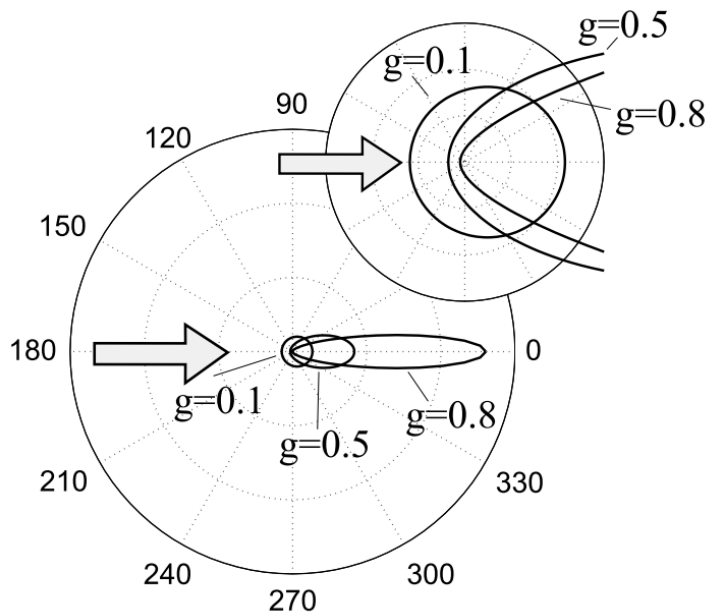


Figura 2.6: Plot em coordenadas polares de funções p_{HG} para diferentes valores de anisotropia (0,1, 0,5 e 0,8). De (Wang e Wu 2007)

Considerando que a medida de anisotropia pode significar um espalhamento não-difuso, isto é, valores altos de g representam pequenos desvios no feixe, o coeficiente de espalhamento μ_s é substituído pelo *coeficiente de espalhamento reduzido*, $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$, e seu recíproco $l'_s = (\mu'_s)^{-1}$. O coeficiente de espalhamento reduzido tem papel importante no regime de transporte da luz nos tecidos, no qual o número de eventos de espalhamento é muito maior que o de absorção e g é constante com valores próximos de 1. Como $(1 - g) < 1$, então o livre caminho médio reduzido (l'_s) é sempre maior que l_s , facilitando o estudo do transporte da luz no meio.

Espalhamento Rayleigh e Mie

A partir do tratamento da luz como uma onda pelas equações de Maxwell, o espalhamento causado por uma partícula, de índice de refração n_s e sobre a qual se incide uma onda plana monocromática dá origem às teorias de Rayleigh e Mie. A teoria de Rayleigh se aplica nos casos em que a partícula espalhadora tem dimensão muito menor que o comprimento de onda da luz, enquanto a teoria de Mie se aplica quando a partícula possui formato esférico. Na prática, modelagem de Mie se reduz à de Rayleigh se o tamanho das esferas for muito menor que o comprimento de onda da luz e se estuda a *eficiência de espalhamento*, Q_s , em cada caso. Como mostrado na Figura 2.5, o espalhamento Mie se caracteriza pelos fótons manterem a direção de propagação após o espalhamento, enquanto Rayleigh distribui “quase igualmente” por todo o espaço.

No espalhamento Rayleigh, a intensidade da luz após a interação de espalhamento

percebida num ponto à distância d da partícula espalhadora é

$$I(d, \theta) = I_0 \left(\frac{1 + \cos^2 \theta}{2d^2} \right) \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right)^4 \left(\frac{n_s^2 - 1}{n_s^2 + 2} \right)^2 a^6, \quad (2.7)$$

em que θ é o ângulo entre o vetor \mathbf{d} e a direção de propagação da onda, λ é ao comprimento de onda da luz no vácuo e a o raio da partícula espalhadora. Essa equação é famosa por mostrar a dependência da intensidade da luz com λ^{-4} , justificando o aspecto azulado do céu (Rocha et al. 2010). A eficiência de espalhamento, Q_s , definida como a razão entre a seção de choque de espalhamento pela área da partícula espalhadora, é dada por

$$Q_s = \frac{\sigma_s}{\pi a^2} = \frac{8(2\pi a)^4}{3\lambda^4} \left| \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right|^2 \stackrel{n \approx 1}{\approx} \frac{32(2\pi a^4)}{27\lambda^4} |n - 1|^2$$

O número n pode ser complexo, sendo a parte imaginária atribuída ao fenômeno de absorção (Wang e Wu 2007). As características matemáticas para a obtenção de Q_s na teoria de Mie está muito além dos objetivos desse trabalho pois passa por funções esféricas de Bessel e de Henkel, mas encontra-se vastamente trabalhada na literatura (Vo-Dinh 2003, Splinter e Hooper 2007, Wang e Wu 2007, Peraiah 2002).

2.2 Equação de Transporte Radiativo

Para a analisar o transporte da luz num meio difuso, considera-se que os meios absorvedores e espalhadores estão uniformemente distribuídos no espaço. Na região do infravermelho e da luz visível, os fótons são espalhados na direção de incidência (*forward*) (ver Seção 2.1) e cada evento de espalhamento é considerado como um espalhamento simples. Para luz não polarizada, a Radiância num ponto \mathbf{r} e numa dada direção $\hat{\mathbf{s}}$ é bem determinada pela Teoria de Transporte Radioativo (RTE), que possui seis variáveis (x, y, z, θ, ϕ, t):

$$\frac{1}{c} \frac{\partial R(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t)}{\partial t} = -\hat{\mathbf{s}} \cdot \nabla R(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t) - \mu_{tr} R(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t) + \int_{4\pi} \mu_s R(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}', t) p(\hat{\mathbf{s}}' \cdot \hat{\mathbf{s}}) d\Omega' + S(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t), \quad (2.8)$$

conhecida também como Equação de Boltzmann.

A Equação 2.8 é uma simples relação de conservação de energia, em que o lado esquerdo é o valor líquido da variação de energia num elemento de volume e o lado direito é a soma de contribuições (positivas e negativas) de efeitos de divergência, espalhamento e absorção na direção de propagação do feixe, anisotropia e termos de fonte. A Figura 2.7 e o quadro abaixo esquematizam este modelo.

Varição líquida da Energia em $dV d\Omega$	=	Diminuição da Energia pela divergência do feixe	+	Diminuição da Energia por μ_s e μ_a	+	Aumento da Energia por esp. de \hat{s}'	+	Aumento da Energia pela fonte
--	---	---	---	---	---	---	---	-------------------------------

Quadro 1: Balanço de Energia que dá origem à equação de Boltzmann.

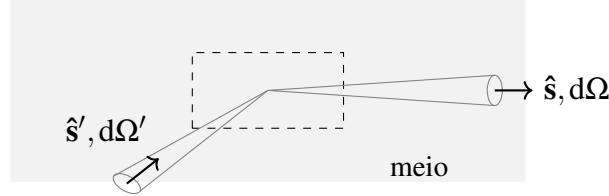


Figura 2.7: Esquema referente à equação 2.8. A região tracejada possui fótons provenientes de espalhamento nos ângulos sólidos $d\Omega$ e $d\Omega'$.

Naturalmente, o tratamento analítico da Equação 2.8 é trabalhoso e Métodos de Monte Carlo são mais apropriados, mas a RTE pode ser simplificada nos casos em que $\mu_s' \gg \mu_a$ e que a dispersão é praticamente isotrópica depois de algum grau de espalhamento (Wang e Wu 2007). Essa simplificação leva à *Equação de Difusão*, com quatro variáveis em lugar daquelas seis, e que considera a taxa de fluência de fótons ($\partial\Phi/\partial t$) em vez de Radiância:

$$\frac{1}{c} \frac{\partial\Phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \mu_a \Phi(\mathbf{r}, t) - D \nabla^2 \Phi(\mathbf{r}, t) = S(\mathbf{r}, t), \quad D = \frac{1}{3(\mu_a + \mu_s')} \quad (2.9)$$

2.3 Aproximação da equação de Difusão

A propagação da luz em meios difusos, como dito, é bem estudada pela equação de Boltzmann (Equação 2.8). Entretanto, o modelo matemático precisa se adequar à capacidade de processamento e instrumentação atuais, bem como às limitações de suas aplicações práticas. A técnica de iluminação periódica, composta por faixas claras e escuras igualmente espaçadas e estáticas no tempo, dá forma harmônica ao termo de fonte,

$$S(x, y, z) = S_0(z) \cos(k_x \cdot x + \alpha) \cos(k_y \cdot y + \beta),$$

onde aparece as frequências espaciais $f_x = k_x/2\pi$ e $f_y = k_y/2\pi$, relativas às direções x e y que formam a superfície do tecido (Cuccia et al. 2009). Além disso, supõe-se que a taxa de fótons não varia no tempo e estuda-se a propagação na profundidade z do tecido. Assim, para uma fonte que possui frequência espacial em uma única direção (direção x), a Equação 2.9 se torna

$$\nabla^2 \Phi(x, z) - \mu_{\text{eff}}^2 \Phi(x, z) = -3\mu_{\text{tr}}' [S_0(x) \cos(k_x \cdot y + \alpha)], \quad (2.10)$$

adotando $3\mu_a(\mu_a + \mu_s') = 3\mu_a\mu_{\text{tr}}' = \mu_{\text{eff}}^2$ e $\mu_{\text{tr}}' = (\mu_a + \mu_s')$ como o coeficiente de transporte reduzido.

Se o meio é linear, ou seja, responde proporcionalmente à intensidade da luz de estímulo, a taxa de fótons também apresentará comportamento harmônico nas direções x e y , de igual fase e frequência, ou seja, $\Phi(x, z) = \Phi_0(z) \cos(k_x \cdot x + \alpha)$, e a Equação 2.3 se torna uma equação de Helmholtz de segunda ordem (Cuccia et al. 2009):

$$\frac{d^2\Phi_0(z)}{dz^2} - \mu_{\text{eff}}'^2\Phi_0(z) = -3\mu_{\text{tr}}'S_0(z), \quad (2.11)$$

em que, $\mu_{\text{eff}}'^2 = \mu_{\text{eff}}^2 + k_x^2$, pode ser entendido como o recíproco da penetração efetiva no tecido $l_{\text{eff}}' = \mu_{\text{eff}}'^{-1}$. A Figura 2.8 mostra que a amplitude de Φ_0 diminui com a profundidade z :

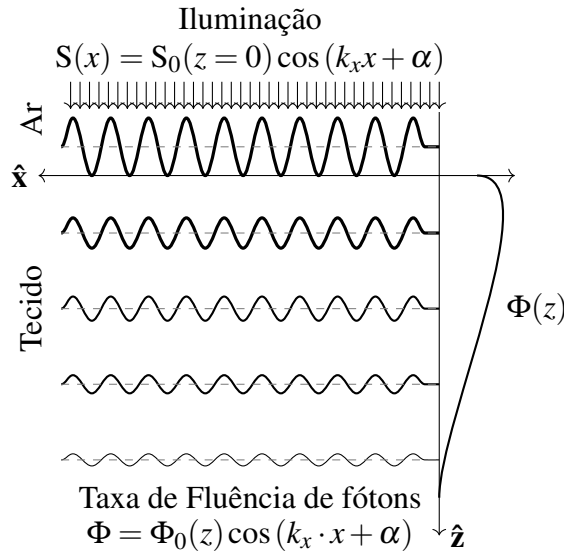


Figura 2.8: Penetração da luz na profundidade z do tecido devido a uma fonte S periódica na direção x . Imagem adaptada de (Cuccia et al. 2009)

O termo de fonte $S_0(z)$ pode ser descrito como uma fonte angularmente isotrópica de potência P_0 , resultante de fenômenos de espalhamento do meio, em todos os pontos da direção x como $S_0(z) = P_0\mu_s'e^{-\mu_{\text{tr}}z}$ (Svaasand et al. 1999). Introduzindo-a na Equação 2.11, a taxa de fluência de fótons na profundidade se torna

$$\Phi_0(z) = \frac{\mu_s'}{\mu_{\text{tr}}} \frac{3P_0}{(\mu_{\text{eff}}'/\mu_{\text{tr}})^2 - 1} e^{-\mu_{\text{tr}}z} + C e^{-\mu_{\text{eff}}'z}, \quad (2.12)$$

em que C é uma constante ajustada com condições de contorno (Haskell et al. 1994). O ajuste de C leva à expressão para a intensidade da Luz refletida de modo difuso (refletância difusa), R_d , para este modelo de propagação (Cuccia et al. 2009, Dognitz e Wagnieres 1998)

$$R_d = \frac{3A\mu_s'}{\mu_{\text{tr}}} \left[\left(\frac{\mu_{\text{eff}}'}{\mu_{\text{tr}}} + 1 \right) \left(\frac{\mu_{\text{eff}}'}{\mu_{\text{tr}}} + 3A \right) \right]^{-1}; \quad A = \frac{1 - R_{\text{eff}}}{2(1 + R_{\text{eff}})}, \quad (2.13)$$

onde R_{eff} é o coeficiente de reflexão efetivo, aproximado pelo índice de refração por

$$R_{\text{eff}} \approx 0,0636n + 0,668 + \frac{0,710}{n} - \frac{1,44}{n^2}$$

A Equação 2.13 mostra que a refletância difusa R_d sofre influencia, além das propriedades ópticas de absorção e espalhamento do meio, da frequência espacial f do sinal de entrada, pois este altera o coeficiente de atenuação μ'_{eff} . Este fato já é mostrado experimentalmente quando se observa que o aumento da frequência também aumenta a atenuação, sugerindo que o modelo de difusão para propagação da luz em meios difusos se limita a frequências muito menores que μ_{tr} e profundidades correspondentes a l'_{tr} (Cuccia et al. 2009, Dognitz e Wagnieres 1998).

3 A imagem no Domínio da Frequência Espacial

Basicamente, a imagem no domínio da frequência espacial utiliza um padrão de iluminação bidimensional composto por franjas claras e escuras, de largura regular (daí o termo *frequência espacial*), para analisar os efeitos de espalhamento e absorção de uma amostra com base na comparação entre o padrão de iluminação e o padrão de reflexão e transmissão. A Figura 3.1 mostra as etapas do processo: ilumina-se a amostra com um padrão regular de faixas claras e escuras num campo de aproximadamente $10 \times 10 \text{ cm}^2$ e uma câmera capta a luz espalhada pela amostra por reflexão difusa. A intensidade de cada pixel é registrada para três fases de iluminação diferentes e as imagens são processadas para, em comparação com o perfil de refletância de um fantoma já conhecido, determinar propriedades ópticas da amostra. Esses passos são realizados para, no mínimo, duas frequências espaciais e as propriedades ópticas, usadas para reconstruir a imagem pixel-a-pixel, são extraídas a partir de um modelo analítico de propagação da luz (ver seção 2.3).

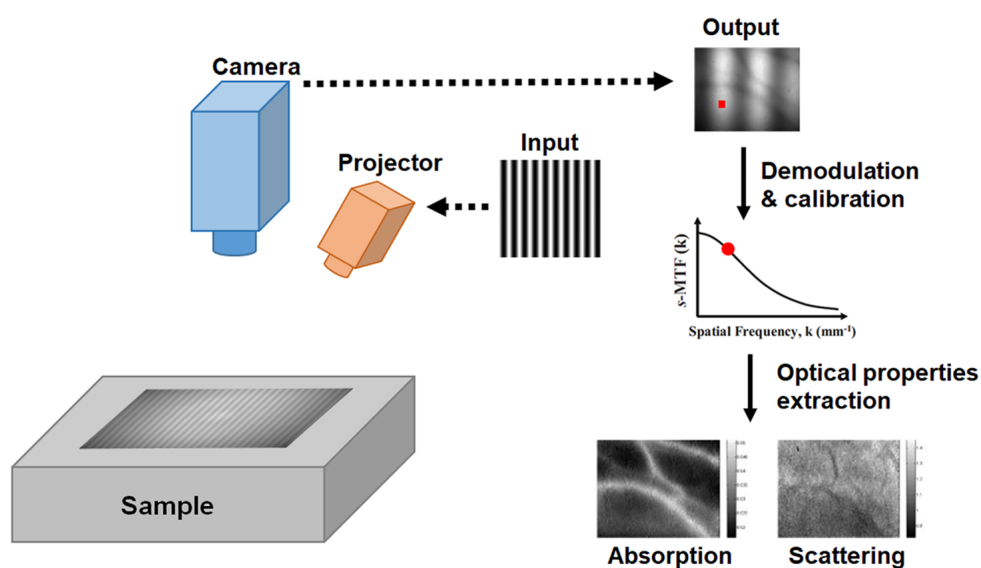


Figura 3.1: Esquema de aquisição do padrão de absorção e espalhamento de uma amostra a partir de um padrão de iluminação bidimensional com franjas claras e escuras. Imagem de (Gioux, Mazhar e Cuccia 2019)

A SFDI tem sido estudada por pesquisadores na área do óptica por se tratar de uma técnica capaz de fornecer, rapidamente, informações sobre cromóforos de interesse biomédico sem o uso de radiação ionizante ou de procedimentos invasivos. No futuro, espera-se que a SFDI seja implementada em dispositivos de fácil manejo e locomoção, servindo de recurso diagnóstico inicial junto ao paciente.

3.1 Resolução e contraste

Resolução pode ser definida como a capacidade que tem um sistema de distinguir diferentes objetos com diferentes sinais. Atualmente, os sistemas de formação e captação de imagens utilizam de *pixels*, pequenas e numerosas estruturas monocromáticas que, ordenadamente e em diferentes cores e graus de intensidade, formam a imagem que se vê na tela. Um dispositivo óptico deve dispor de quantidade suficiente para reproduzir fielmente as características do objeto, especialmente quando se tratar de estruturas diferentes e próximas pois são associados a *pixels* vizinhos, tornando-os indistinguíveis (Burger 2016). Esse entendimento é análogo quando se analisa de sinais no tempo, como é o caso do *tempo morto* de detectores de radiação (Knoll 2010).

O sistema óptico também não reproduz perfeitamente a fronteira entre o objeto e o espaço a sua volta. Aqui surge a *Função de Espalhamento Pontual* do sistema (PSF, do inglês *Point Spread Function*), que indica a capacidade do sistema de detectar bordas e objetos pontuais adequadamente. A distribuição espacial da intensidade dos *pixels* que formam a imagem de um objeto com dimensões pequenas, por menores que sejam, se estende radialmente de um ponto central, gerando o “espalhaento” do ponto, chamado por muitos de “borramento”, devido a efeitos de difração (padrão de difração de Airy, Figura 3.2A) da luz com os componentes ópticos. Se dois objetos estão muito próximos, como mostra a Figura 3.2B, a calda das curvas de intensidade se sobrepõem e formam uma região de intensidade maior, fazendo com que o espaço entre eles seja registrado pelo sistema e associado aos objetos.

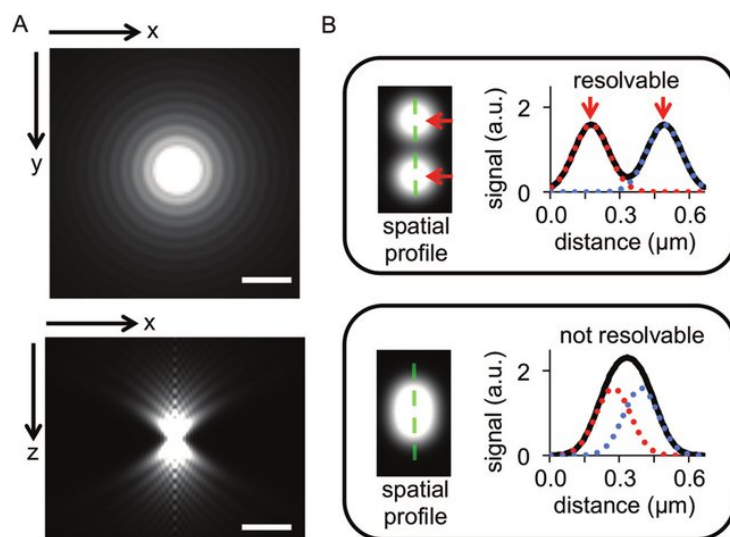


Figura 3.2: PSF e limites de resolução. Em (A), dois objetos pontuais separados observados pelos planos xy e xz . Em (B), o efeito da sobreposição da PSF na resolução da imagem. Imagem retirada de (Herbert et al. 2012)

Uma verificação da resolução do sistema pode ser feita a partir de imagens de padrões formados por faixas claras e faixas escuras, igualmente espaçadas. Nestas figuras, a quantidade

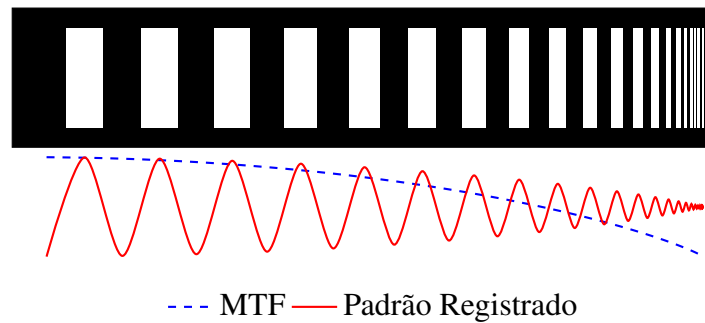


Figura 3.3: Acima, padrão de faixas claras e escuras com frequência crescente (padrão entrada); Linha contínua: perfil detectado pelo sistema; Linha tracejada: Função de Transferência de Modulação do sistema.

de pares-de-linha por unidade de comprimento (pl/mm) é usada para dar significado numérico à resolução a partir do conceito de *frequência espacial*, análogo aos ciclos por segundo do caso temporal. A partir de determinado valor de frequência espacial, o efeito de sobreposição da PSF causa significativa perda de resolução e também de *contraste*.

Imagens de alto contraste são aquelas em que facilmente se distingue objetos através de suas bordas. Os padrões de claros e escuros citados são apresentados na Figura 3.3 num exemplo em que a frequência é crescente. Nossa visão, assim como qualquer outro sistema óptico, observa a região de maior frequência espacial num tom cinza, resultado do valor médio entre a intensidade mais alta e a intensidade mais baixa. Nesta região, contraste é menor e pode ser medido a partir da diferença entre os picos de intensidade, que também diminui. Este entendimento motiva a próxima seção: modulação.

3.2 Função de Transferência de Modulação (MTF)

Especialmente para sistemas ópticos de domínio da frequência, a caracterização é feita pela *Função de Transferência de Modulação* (MTF, do inglês *modulation transfer function*), que leva em conta medidas de resolução espacial e contraste para cada valor de pares-de-linha. A Figura 3.4 mostra, à esquerda, o padrão senoidal da intensidade emergente de um objeto iluminado pelo padrão de faixas claras e escuras de frequência constante e, à direita, o padrão mostrado pelos *pixels*. Para essa frequência f , pode-se medir a *modulação* (M_f) pela razão entre as componentes AC e DC, conforme a Equação 3.1 e, se a imagem é iluminada com diversas frequências, a curva formada pelos pontos (M_f, f) é a MTF, mostrada na Figura 3.3.

$$M_f = \frac{I_{\text{máx}} - I_{\text{min}}}{I_{\text{máx}} + I_{\text{min}}} = \frac{\text{AC}}{\text{DC}} \quad (3.1)$$

De forma geral, um padrão de iluminação sinusoidal é graficamente modelado por uma função harmônica na forma $S(x) = \text{DC} + \text{AC} \sin(kx + \phi)$, sendo $\text{DC} \geq \text{AC}$, em que há um valor

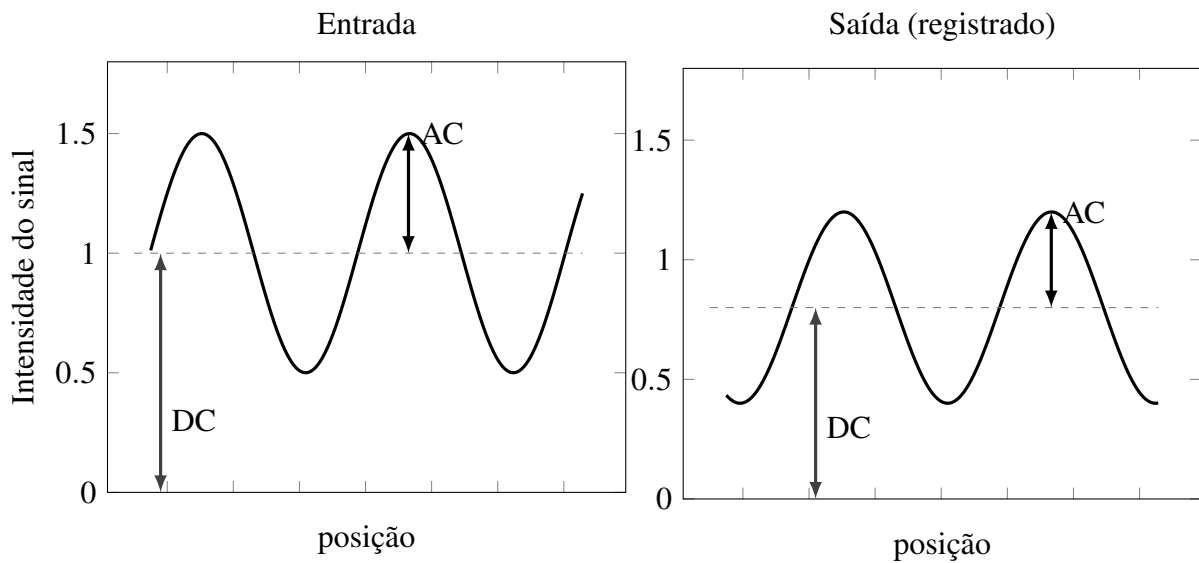


Figura 3.4: Sinal de entrada e saída de um sistema óptico de imagem. Nota-se diferenças na fase, amplitude e eixo central das funções de intensidade.

de intensidade fixo (componente DC) que evita valores negativos de intensidade. Da Figura 3.4, observa-se que o sistema óptico altera (i) o valor da componente DC, (ii) a fase ϕ e (iii) e a amplitude sinal (componente AC), que, conseqüentemente, diminui a modulação (M) naquele ponto. Esse efeito ocorre para cada componente interno e cada modulação contribui para modulação total do sistema, que resulta na MTF_{SYS} (Boreman 2001). Em processamento de imagens, obtém-se a MTF com diferentes modelagens e padrões de iluminação (fontes pontuais e fendas), mas em geral, a MTF pode ser determinada pela transformada de Fourier da PSF.

3.3 Demodulação do sinal e obtenção dos parâmetros ópticos

Apesar de a fonte possuir amplitude constante, a intensidade do sinal refletido devido à contribuição da componente AC, variável, pode ser modelada conforme Equação 3.2b, em que se mantém a frequência do padrão de iluminação (Equação 3.2a), mas com amplitude (M_{AC}) variável na posição:

$$S = \frac{S_0}{2} (1 + M_0 \cos(kx + \phi)) \quad (3.2a)$$

$$I_{AC}(x) = M_{AC}(x) \cdot \cos(kx + \phi) \quad (3.2b)$$

$$I_{tot} = I_{AC} + I_{DC}$$

A forma da Equação 3.2b é a mesma de sinais com *Amplitude Modulada*, presente na maioria dos dispositivos de comunicação eletrônica. O valor da amplitude do sinal em cada ponto

(M_{AC}), chamada frequentemente de “envelope”, tem papel fundamental na técnica de SFDI pois, a partir dela, obtém-se características físicas do objeto, como a refletância difusa. Sendo assim, várias formas de *demodular* o sinal são estudadas.

Dos processos de demodulação mais práticos e acessíveis, encontra-se o por *deslocamento de fase* (ou *phase-shift*). Esse processo envolve iluminar o objeto com a Equação 3.2a de mesma frequência e em pelo menos duas fases, geralmente igualmente espaçadas. Sendo $S \propto I$, para três fases, tem-se $\Delta\phi = 360^\circ/3 = 120^\circ$:

$$\begin{cases} I_{1,AC} = (I_0/2) [1 + M_0 \cos(kx)] \\ I_{2,AC} = (I_0/2) [1 + M_0 \cos(kx + 120^\circ)] \\ I_{3,AC} = (I_0/2) [1 + M_0 \cos(kx + 240^\circ)] \end{cases}$$

Destas três equações, chega-se algebricamente numa expressão da amplitude $M_{f,AC}$ para a frequência $f = k/2\pi$ que depende apenas da intensidade dos pixels, em cada posição, para as três fases (Bassi et al. 2008) (adotando $I_{j,AC} = I_j$):

$$M_{f,AC}(x) = \frac{\sqrt{2}}{3} \sqrt{[I_1(x) - I_2(x)]^2 + [I_1(x) - I_3(x)]^2 + [I_2(x) - I_3(x)]^2} \quad (3.3)$$

Já que o deslocamento da fase usado aqui foi aquele que anula a sobreposição de três sinais harmônicos, numericamente, a M_{AC} tem valor constante e seu uso trás vantagens: não depende de constantes como S_0 e M_0 , que carregam fontes de erro como iluminação do ambiente e ruídos, e dispensa de informações sobre a frequência espacial usada, já que o que aparece na equação 3.3 é o valor da intensidade do *pixel* medida pelo sistema eletrônico. Mas isso não significa que o ambiente não contribui na amplitude do sinal, sendo de interesse retirar a influência de uma possível amplitude de componente DC, M_{DC} , aplicando do método para um objeto totalmente iluminado ($kx = 0$). Neste caso:

$$M_{f=0,AC} = M_{DC}(x) = \frac{1}{3} [I_1(x) + I_2(x) + I_3(x)]$$

No domínio da frequência, a M_{AC} , numa dada frequência f de um dado pixel x , pode ser relacionada com a refletância difusa por

$$M_{f,AC}(x) = I_0 MTF_{f,SYS}(x) R_{f,d}(x) \quad (3.4)$$

Por fim, a refletância difusa do objeto a ser analisado, R_d , medida em cada pixel da câmera, pode ser determinada por comparação com a refletância difusa de um objeto de referência, $R_{d,ref}$, cujas propriedades ópticas são conhecidas (um *fantoma*) aplicando a Equação 3.4 para

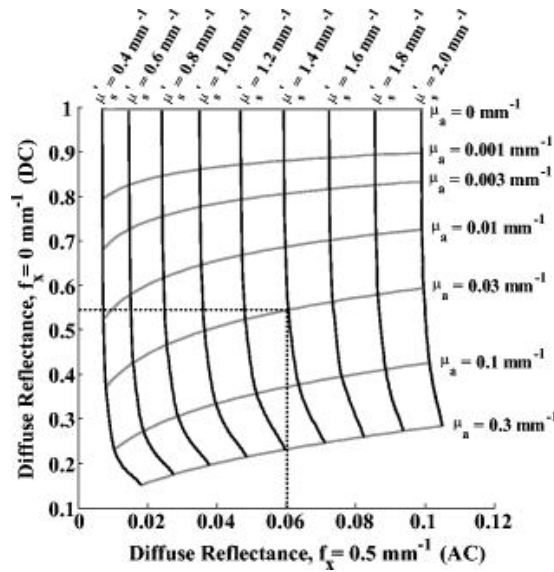


Figura 3.5: Look up Table para obtenção de μ_a e μ_s' a partir de duas frequências espaciais: 0 e $0,5 \text{ mm}^{-1}$. De (Cuccia et al. 2009)

nos dois objetos (Cuccia et al. 2009):

$$R_d(x) = \frac{M_{AC}(x)}{M_{AC,ref}(x)} R_{d,ref}(x) \quad (3.5)$$

O valor da refletância difusa de um objeto de referência, $R_{d,ref}$, é ponto chave nesta etapa e corresponde a valores experimentais compartilhado entre pesquisadores. Existem três formas principais: 1) cálculo analítico utilizando as equações da Seção 2 deste trabalho a partir de parâmetros como μ_a , μ_s , g e n do objeto de referência; 2) simulações de Monte Carlo para o transporte da luz, também conhecendo parâmetros ópticos; e 3) testes experimentais com *phantoms* de parâmetros ópticos conhecidos, utilizado neste trabalho. Nos três casos, a ideia é capturar um sinal (refletância difusa) e, a partir deste, consultar numa base de dados confiável os valores dos parâmetros ópticos correspondentes.

O terceiro método citado é chamado de *Lookup-table* (LUT) e é vantajoso por considerar dados obtidos em laboratório, em equipamentos bem calibrados e munidos de correções experimentais. O método envolve utilizar uma série de *phantoms* com parâmetros ópticos conhecidos e deles captar a refletância difusa proveniente da iluminação de faixas claras e escuras em diferentes frequências espaciais utilizando a equação 3.4.

A Figura 3.5, obtida de (Cuccia et al. 2009) e amplamente usada em trabalhos da área, mostra valores de reflectância difusa quando a frequência espacial é $f_x = 0,5 \text{ mm}^{-1}$ (0.06 medido no eixo x) e $f_x = 0,0 \text{ mm}^{-1}$ (isto é, a componente DC do sinal, medindo 0.55 no eixo y). Cruzando os dois valores, o ponto de coordenadas $(R_{d,AC}, R_{d,DC}) = (0.06, 0.55)$ corresponde ao par $(\mu_a, \mu_s') = (0.03, 1.4) \text{ mm}^{-1}$.

4 Metodologia e procedimentos experimentais

Nesta seção, são descritos os métodos de produção de fantasmas de tecido, dopados de tinta Nankin e dióxido de Titânio TiO_2 numa matriz de Polidimetilssiloxano (PDMS). O uso destes materiais se deve ao baixo custo e à proximidade de suas propriedades ópticas com o tecido biológico, em especial à pele de seres humanos, em que a tinta Nankin é o componente responsável por quase toda absorção da luz, como a melanina (Vo-Dinh 2003).

4.1 Produção dos Fantasmas

Para a detecção de níveis de absorção e espalhamento utilizando a técnica de SFDI, foram produzidos oito fantasmas de PDMS com diferentes quantidades de corante Nankin e outros 36 fantasmas do corante com sólido iônico de Dióxido de Titânio (TiO_2). O corante e o PDMS não se misturam quimicamente, portanto, o silicone atua como uma malha de suporte para as moléculas de Nankin. O PDMS é um fluido que em temperatura ambiente é viscoso, semelhante a mel, e que após algum (longo) tempo assume textura mais sólida, como uma borracha. Trata-se de um polímero biocompatível e de baixa toxicidade, de coloração transparente e o conjunto PDMS + Nankin possui índice de refração próximo a de tecidos (aproximadamente 1,4). Esta combinação é utilizada em grande quantidade de trabalhos de espectroscopia de luz difusa e em aplicações biomédicas. Para acelerar o processo de enrijecimento da amostra, uma quantidade de catalizador líquido é adicionada à mistura em proporção equivalente a 20% da massa de PDMS. A proporção em massa de corante em relação à massa total da amostra é

$$C = \frac{M_{\text{corante}}}{M_{\text{corante}} + M_{\text{PDMS}} + M_{\text{cat}}} = \frac{M_{\text{corante}}}{M_{\text{Total}}}, \quad (4.1)$$

definida como a razão entre a massa de corante usada e a massa total do composto (corante + catalizador + PDMS).

Malha de fantasmas com TiO_2 : F_{ij}

Outro grupo de fantasmas foi feitos em conjunto com demais membros do laboratório de forma não recursiva, ou seja, sem o a diluição seriada da série Ph1-Ph8. Aqui, o corante Nankin foi misturado a 20 gramas de PDMS, diminuindo a proporção em massa deste corante em relação aos fantasmas da série diluída. Também foram adicionadas diferentes quantidades de Dióxido de Titânio (TiO_2) à mistura para aumentar a quantidade de luz espalhada pela amostra. Da mesma forma, foram depositados em moldes para aguardar enrijecimento (Figura 5.1a).

A Tabela 1 mostra a quantidade de corante Nankin (aqui em volume) e TiO_2 em cada fantasma. Dois deles são mostrados na Figura 5.1b:

Tabela 1: Malha de fantomas produzidos com corante Nankin e agente espalhador TiO_2 .

		Nankin (μL)					
		0	10	20	30	40	50
TiO ₂ (mg)	0	F11	F12	F13	F14	F15	F16
	5	F21	F22	F23	F24	F25	F26
	10	F31	F32	F33	F34	F35	F36
	15	F41	F42	F43	F44	F45	F46
	20	F51	F52	F53	F54	F55	F56
	25	F61	F62	F63	F64	F65	F66

Série diluída: Ph1–Ph8

A metodologia descrita a seguir aplica-se aos corantes da série Ph1 a Ph8, que contém variações de Nankin. Essa metodologia é prática, rápida, econômica e adequada para estudo de grandes quantidades em diferentes concentrações.

O grupo de fantomas é produzido de forma sequencial e recursiva, em que cada amostra é produzida a partir da anterior. Inicia-se misturando uma quantidade de massa do corante, M_{corante} , em gramas, com as quantidades de massa $M_{\text{PDMS}} = 16,67$ g e $M_{\text{cat}} = 3,33$ g do catalizador num recipiente. Esses itens são misturados até uma aparente homogeneidade e, então, uma quantidade de cerca de $m = 2,5$ g dessa mistura são depositadas num molde de dimensões $27,5 \times 35 \times 3$ mm. Em seguida, esse molde que contém a amostra da mistura é levado a uma câmara de vácuo onde bolhas de ar presentes no interior são retiradas (aqui não são relevantes as medidas de pressão; uma pena diminuição já é suficiente para que o ar seja completamente retirado em alguns minutos). Esta última etapa contribui para uma melhor uniformidade da matriz de PDMS + corante e evita que bolhas de ar interfiram nas medidas de absorção e espalhamento. No passo seguinte, uma quantidade em massa M_{PDMS}^+ de PDMS e M_{cat}^+ de catalizador são repostas na intenção de diminuir a proporção entre as massas do corante e do PDMS e manter o percentual de catalizador na amostra. Neste momento ocorre a diluição e um novo fantoma, de menor “concentração”, é formado.

Esse protocolo é repetido algumas vezes até que toda a série fantomas seja formada nos moldes e são armazenados por, pelo menos, 2 dias ao abrigo da luz até que, já em textura de borracha, possam ser retirado para análise. As concentrações podem ser obtidas recursivamente a através da relação

$$C_{i+1} = \frac{M_{i,\text{Total}} - m_i}{M_{i+1,\text{Total}}} C_i, \quad i = 1, 2, 3 \dots \quad (4.2)$$

em que m_i é a quantidade retirada da mistura de concentração C_i para formar o fantoma Ph_i e $M_{i+1,\text{Total}}$ é a massa total da mistura que origina o fantoma $\text{Ph}(i+1)$. O valor de $M_{i+1,\text{Total}}$ é o que aparece no denominador da Equação 4.1 e pode ser determinado durante o procedimento por

$$M_{i,\text{Total}} = M_{i-1,\text{Total}} - m + M_{\text{PDMS}}^+ + M_{\text{cat}}^+$$

O procedimento se torna mais simples se fixarmos alguns valores: $M_{\text{Total}} = 20 \text{ g}$, $m = 5 \text{ g}$, $M_{\text{PDMS}}^+ = 4,17 \text{ g}$ e $M_{\text{cat}}^- = 0,83$ – note que $m = M_{\text{PDMS}}^+ + M_{\text{cat}}^-$, ou seja, $M_{i,\text{Total}} = M_{i-1,\text{Total}} = 20 \text{ g}$. Assim, de forma ideal e aproximada, a série de fantoms é produzida com concentrações exponencialmente decrescentes, conforme Equação 4.2:

$$C_i = (0,75)^{i-1} C_1, \quad i = 1, 2, 3 \dots$$

4.2 Análise na esfera

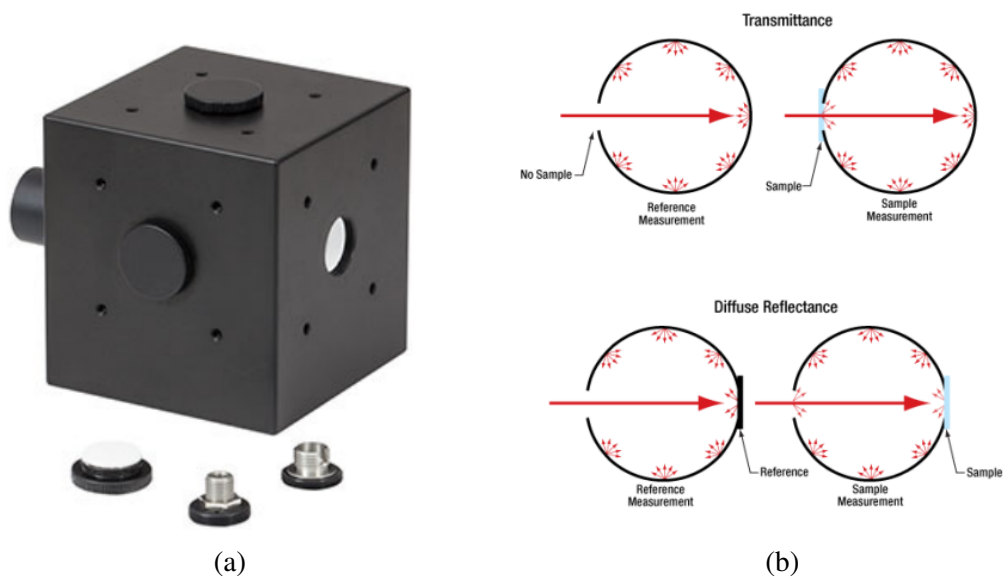


Figura 4.1: Esfera integradora IS200-4 da ThorLabs® e modos de medida de transmitância e reflectância. Disponíveis em <<https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=IS200-4>>

A caracterização as amostras quanto suas propriedades ópticas são feitas com o uso de uma *esfera integradora* (Figuras 4.1 e 4.2). Este equipamento consiste de uma casca esférica, feita de material altamente reflexível em sua superfície interna na faixa de 250 - 2500 nm (sulfato de Bário – BaSO_4 , por exemplo), que possibilita determinar espectros de absorvância, transmitância e reflectância de amostras com o uso de uma fibra óptica ($400\mu\text{m}$ de diâmetro) e um espectrômetro (Ocean Optics HR400®). Os dados são processados em MATLAB® com o código de Monte Carlo desenvolvido por Scott Prahl e disponível online, passível de adaptações, que recebe o espectro, valor de anisotropia e espessura da amostra como dados de entrada para aplicação da teoria de Mie (Prahl 1995).

A esfera integradora utilizada foi uma de modelo IS2000-4 distribuída pela ThorLabs® (Figura 4.1a). É um modelo pequeno em que a casca esférica possui 2 polegadas de diâmetro e é abrigada no interior de uma gaiola de $61 \times 61 \times 65 \text{ mm}$. Nas faces da gaiola, encontram-se portas esféricas de 12,5 mm de diâmetro que dão acesso ao interior da esfera. Na quinta face há um suporte apropriado para acoplamento de fibra óptica (item 4 na Figura 4.2a). Uma vez que a luz

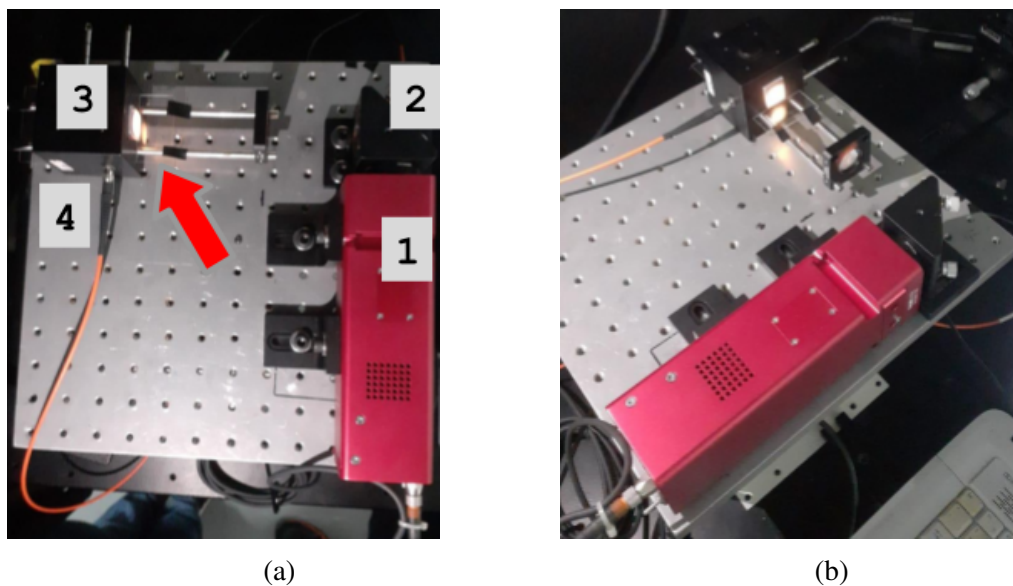


Figura 4.2: Análise na esfera integradora: (1) fonte de luz; (2) espelho; (3) esfera integradora; (4) fibra óptica. A seta aponta para uma amostra na entrada da esfera.

entra na cavidade da esfera, inúmeras reflexões são feitas até que toda a informação carregada pelo feixe chega na entrada da fibra, que leva o sinal até um espectrômetro para análise.

As análises de reflectância e transmitância são esquematizadas nas partes superior e inferior da Figura 4.1b, respectivamente. Na primeira, a amostra é colocada na entrada da esfera para que a luz que chega à fibra carregue informações sobre índices de transmissão do feixe, que será estudado pelo espectrômetro em cada comprimento de onda. O mesmo ocorre para medidas de reflectância, em que a amostra é colocada na porta oposta para que a luz refletida pela amostra chegue à fibra.

Todo este arranjo está mostrado na Figura 4.2, em que a seta na Figura 4.2a mostra a medida de transmitância de uma amostra. A fibra óptica é indicada por (4), a fonte de Luz indicada por (1) e um espelho de 45° indicado por (2). A fonte de luz usada foi uma lâmpada de tungstenio-halogênio modelo SLS201 ThorLabs® de 12 V, 40 W, e os resultados das análises da série Ph1 – Ph8 estão mostrados na Figura 5.3.

4.3 Medidas no SFDI

Com os fantasmas prontos, as medidas no equipamento de SFDI são feitas na montagem da Fig 4.3b, desenvolvido por Arnaldo Reis em sua tese de Doutorado (Reis 2019). Um projetor de luz da marca Vivitek® modelo DH559 ilumina o fantoma com imagens de com 5 padrões de faixas claras e escuras (Figura 5.5a): 0,05, 0,10, 0,20, 0,40 pares de linha por mm (pl/mm), além de uma iluminação contínua (0 pl/mm). A reflexão difusa da luz é captada por uma câmera digital CCD da ThorLabs® e uma imagem de 1280×1024 pixels é registrada. Aqui, é importante citar que a câmera é posicionada numa direção diferente daquela seguida pela reflexão especular.

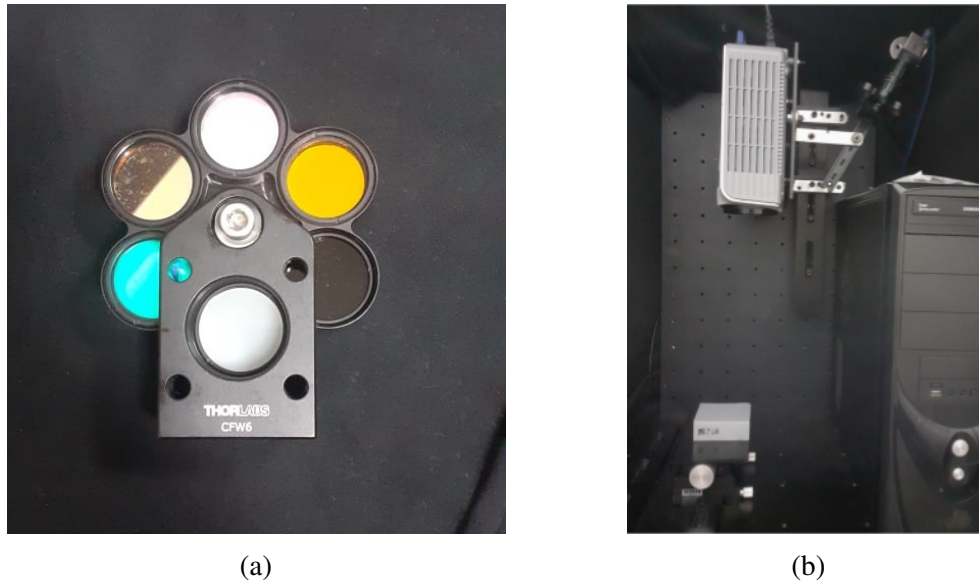


Figura 4.3: Filtros usados no experimento e *Set-up* do SFDI.

As imagens são feitas para todos os 5 valores de frequência espacial, em 3 diferentes fases (0° , 120° e 240°) e são registradas após passar por filtros de seleção de comprimento de onda. Uma estrutura giratória foi acoplada à câmera para alternância de 6 filtros (Figura 4.3a), dos quais 5 foram utilizados: 457, 488, 532, 580 e 650 nm. Sendo assim, são armazenadas $5 \times 3 \times 5 = 75$ imagens para cada amostragem.

Os mesmo passos são repetidos para um fantoma, usado exclusivamente para esta etapa, cujos parâmetros são conhecidos e pertence a uma base de dados pré-existent. O fantoma utilizado é o BLI6, produzido com 0,078 gramas de corante Nankin, 0,2075 gramas de TiO_2 misturados a 150 mL de PDMS (cerca de 175 gramas) (Reis 2019). Nesta etapa se obtém os valores de $R_{d,\text{ref}}$ e $M_{AC,\text{ref}}$ da Equação 3.5 para a situação atual.

Todo esse procedimento de iluminação modulada em cada frequência, em cada fase, e a movimentação de filtros é feita utilizando rotinas de automação em LabView® e depois processados em MATLAB®. Processamento utiliza um Software desenvolvido e disponibilizado por Prahl, passível de adaptações, que executa e interpreta todas etapas descritas na Seção 3, capturando modulações, níveis de refletância e cruzando os valores obtidos com a LUT do sistema.

As amostras foram separadas em três grupos: os mais escuros, Ph1–Ph4; os mais claros, Ph5–Ph8; e os que contém espalhador, F41 e F51, para serem analisadas no SFDI junto com o Fantoma BLI6, usado na calibração. Nestas imagens, é possível selecionar regiões de interesse e estivar os valores absolutos de absorção e espalhamento em termos de seus coeficientes.

5 Resultados

Aqui são apresentados os mapas de refletância obtidos com o aparelho de SFDI com os fantoms Ph1 – Ph8, F63 e F52 sobre o fantom BLI06. Também são mostrados os espectros de absorção e espalhamento da série Ph1–Ph8 medidos na Esfera Integradora e como a concentração responde à formulação na Lei de Lambert-Beer. A diferença de concentração do corante Nankin em relação ao fantom BLI6 aparece nítida nas imagens de reflectância no SFDI nos três grupos, ao contrário dos níveis de espalhamento do fantoma F52 que sofreu influência da alta concentração de Nankin.

Fantomas produzidos e medidas de absorção e espalhamento

A Figura 5.1a mostra a série de 8 fantomas produzidos com Nankin a partir de uma quantidade inicial $M_{\text{corante}} = 0,11$ gramas do corante. As respectivas concentrações são mostradas no gráfico da Figura 5.2. Os espectros de absorção e espalhamento dos fantoms Ph1 a Ph8 medidos na esfera são mostrados na Figura 5.3. Na faixa de 450 a 800 os coeficientes apresentam valores levemente decrescentes com o comprimento de onda e proporcionais à concentração, como sugere a Lei Lambert-Beer.

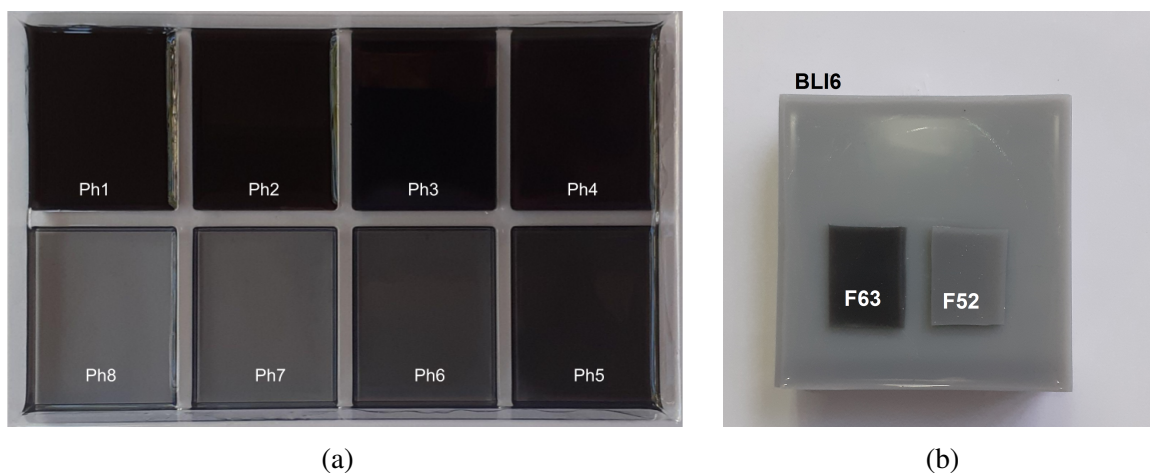


Figura 5.1: Fantomas usados no experimento. (a) Sequência de fantoms de Nankin. Do mais concentrado (Ph1) ao menos concentrado (Ph8), cujas proporções em massa decrescem exponencialmente de $5,64E-3$ a $9,4E-4$. (b) Fantomas com espalhador TiO_2 usados nas medidas: BLI6, usado como parâmetro de referência; e F51 e F41, desenvolvido em conjunto com outros membros do grupo.

O fantoma Ph1, que possui maior concentração em massa de corante Nankin da série, apresentou pior resultado as medições na Esfera Integradora a julgar pelo ruído nas medidas. Por conter maior quantidade de moléculas absorvedoras, é esperado que menos luz chegue ao detector e, portanto, o coeficiente de absorção atinja valores altos. Ainda, a relação de linearidade deste coeficiente com a concentração deixa de valer para concentrações mais altas.

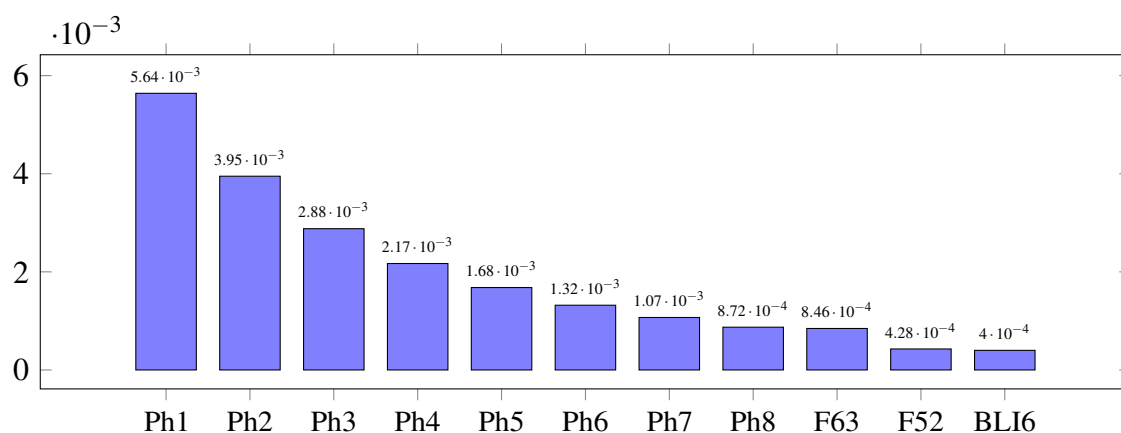


Figura 5.2: Proporções em massa de corante Nankin dos fantoms de nankin mostrados na Figura 5.1a

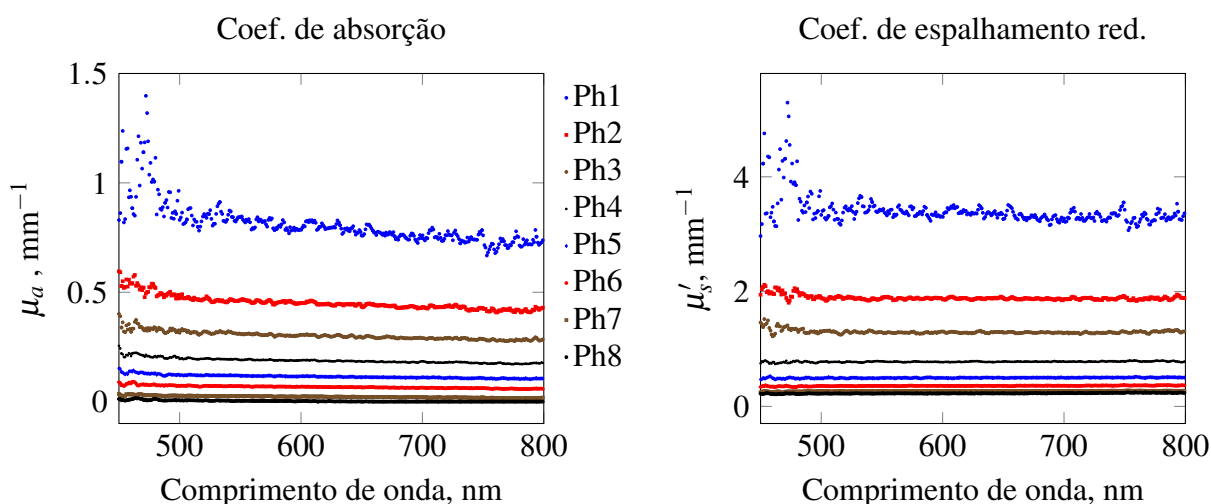


Figura 5.3: Coeficientes de Absorção e espalhamento dos fantoms Ph1–Ph8.

Esse comportamento é mostrado no gráfico da Figura 5.4, em que ocorre certa linearidade entre a concentração e o coeficiente de espalhamento dos fantomas. Esse ponto de corte da saturação deve ser identificado em todo corante para implementação adequada de instrumentação e uso do fantoma como objeto simulador.

Também vale perceber que as retas coincidem em todos os comprimentos de onda, exceto no menor, onde há maior ruído nas medidas. A coincidência nas retas é prevista porque o coeficiente de extinção molar, ϵ , que é função do comprimento de onda, é o mesmo para todos os fantomas deste grupo porque depende exclusivamente dos corantes, aqui, apenas Nankin.

O espalhamento do corante Nankin se mostrou diferente e zero para a maior parte dos fantomas, chegando a $3,5 \text{ mm}^{-1}$ para o fantoma Ph1 e não ultrapassando 2 mm^{-1} para os demais fantomas em toda faixa do espectro. Outras marcas do mesmo corante têm absorção praticamente nula, ao contrário da usada neste trabalho, e podem ser utilizada para mimetizar cromóforos absorvedores em técnicas que utilizam luz reflexão difusa como forma de medida.

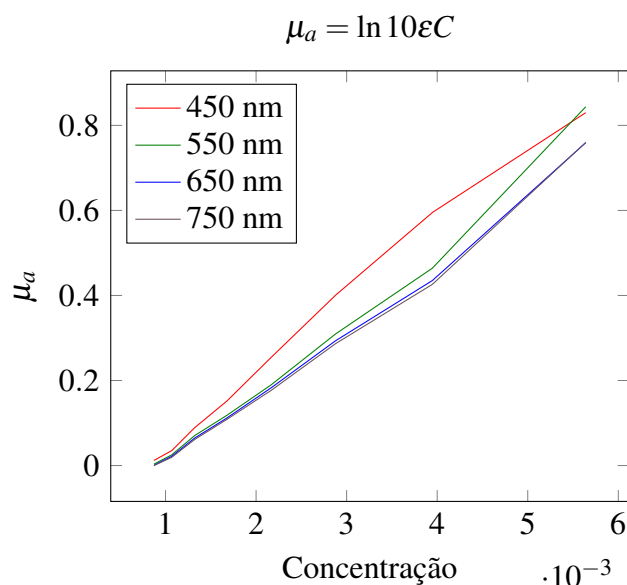


Figura 5.4: Coeficiente de absorção dos fantoms Ph1 a Ph8 em 450, 550, 650, 750. Linha tracejada indica faixa de concentração em que a linearidade da lei de Lambert-Beer sofre desvio.

Medidas de reflectância no SFDI

A Figura 5.5a mostra os fantomas iluminados nas frequências espaciais de 0,05, 0,10, 0,20 e 0,40 pl/mm. Na parte superior estão os fantomas F63 e F52 e na parte inferior estão Ph5–Ph8 (inferior esquerda) e Ph1–Ph4 (inferior direita). As diferentes frequências foram aplicadas em três diferentes fases e a aplicação da Equação 3.5 gera os mapas das Figuras 5.5b, 5.5c e 5.5d, referentes aos fantomas Ph1–Ph4 (mais escuros), Ph4–Ph8 (mais claros) e F63 e F52 (com espalhador de TiO_2).

Nas imagens 5.5b, 5.5c e 5.5d, os tons mais quentes indicam maior intensidade de luz refletida. Nas colunas estão as imagens em diferentes frequências espaciais e nas linhas as imagens em diferentes comprimentos de onda. As figuras com excesso de laranja correspondem a elevados níveis de reflexão e foram destacadas para facilitar visualização pois há risco de saturação da exposição da câmera devido à movimentação manual dos filtros. Outro equipamento de SFDI vem sendo desenvolvido e nele há recursos automáticos para este problema.

Em qualquer uma das imagens, percorrendo colunas num dado comprimento de onda, percebe-se que o nível de reflexão foi identificado como decrescente pelo equipamento quando a frequência espacial aumenta, atingindo valores quase nulos em 0,40 pl/mm na faixa de 532 e 580 nm. Nesta região do espectro fantomas de silicone dopados de tinta Nankin não são os mais adequados para visualização da técnica. Resultado oposto para os demais filtros, nos quais se pôde identificar com clareza os limites geométricos das amostras estudadas.

No grupo de amostras menos concentradas, Figura 5.5c foi possível identificar quais dos pequenos fantomas absorviam menos a luz, sendo no grupo Ph1–Ph4 os dois localizados à

direita (fantomas Ph1 e Ph2). Na realidade, como as amostras estão sobre uma base que possui espalhador (fantoma BLI6), a quantidade de nankin presente nos dois fantomas mais claros não é suficiente para barrar toda a luz proveniente da reflexão difusa da base, alterando o nível de refletância naquela região, embora ainda de tonalidade mais fria. Este fato é importante em estudos de tomografia óptica e na visualização de estruturas submersas em tecidos. Há um limite de penetração da luz, mas também uma espessura ou concentração mínima para a qual o meio adjacente não influencia no sinal.

O terceiro grupo, composto pelos fantomas que possuem espalhador de TiO_2 (como a base BLI6, Figura 5.5d), revela que estas amostras possuem maior proximidade com o fantoma BLI6. A amostra em posição inferior, mais escura, referente ao fantoma F63 possui o dobro de corante nankin que o mais claro, F52, que por sua vez possui concentração de Nankin semelhante à base de BLI6 (Figura 5.2). Este resultado ocorre porque o mapa de refletância difusa é feito a partir de valores médios entre os *pixels* da região iluminada, e portanto acentua as diferenças relativas entre os absorvedores. Por possuir o dobro de corante Nankin e apenas 25% a mais de material espalhador (de 60 para 75 mg), é razoável que a amostra F63 se mostre mais escura em relação à base BLI6 enquanto a amostra F52 se mostra mais próxima (ambos possuem percentual de TiO_2 próximos a 0,1%).

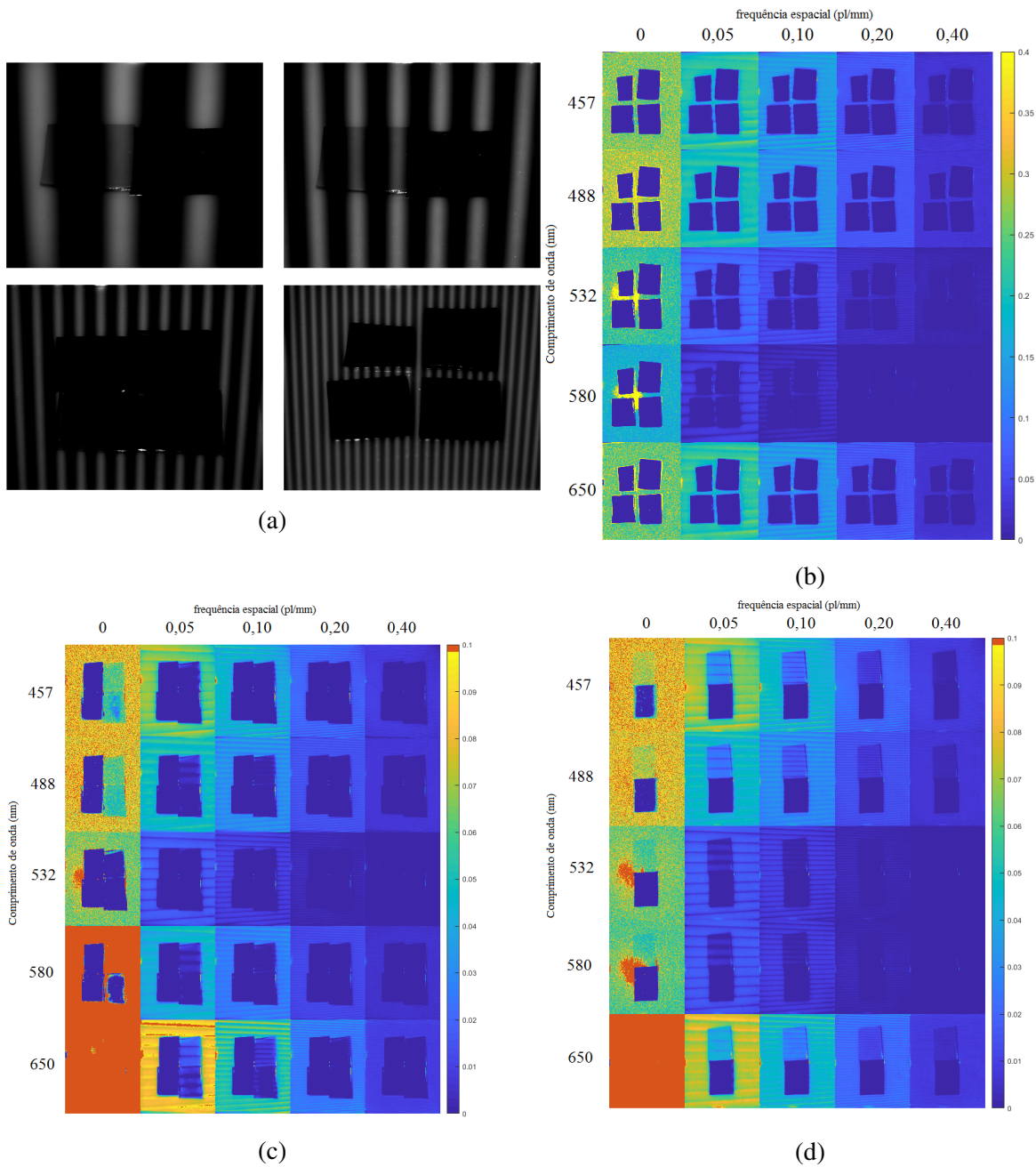


Figura 5.5: (a) Fantomas iluminados nas frequência espaciais e Imagens por reflectância do grupo de fantomas (b) Ph1 – Ph4, (c) Ph4 – Ph8 e (d) F63 e F42, para os filtros e as frequências utilizadas.

6 Conclusão

Neste trabalho, foram produzidos fantasmas de silicone com agentes espalhadores e absorvedores de luz visível para aplicação de técnica de imagem. O interesse no desenvolvimento de técnicas de imagens ópticas está na possibilidade de usar a instrumentação envolvida para observar o comportamento fisiológico de tecidos e componentes de interesse diagnóstico, como tumores, níveis de oxigenação e cromóforos.

Foram produzidos oito fantasmas com variações de tinta Nankin (Ph1–Ph8, Figura 5.1) e as propriedades de absorção e espalhamento na faixa da luz visível foram medidas através dos espectros de seus coeficientes com a Esfera Integradora (Figura 5.3). A produção do grupo foi feita inspirada em diluições seriadas, na qual cada novo fantoma possuía aproximadamente 75% da massa do fantoma produzido anteriormente reduzindo, assim, o desperdício de material e aumentando a velocidade de produção (Equação 4.2). A proporção de massa de corante em relação a massa total das amostras desta série variavam de $1,2\text{E-}3$ a $5,64\text{E-}3$ (Figura 5.2). Com essa série foi possível verificar que o coeficiente de absorção é função linear e crescente da concentração de moléculas absorvedoras, como descreve a Lei de Lambert-Beer, para 450, 550, 650 e 750 nm. O gráfico da Figura 5.4 mostra que essa linearidade ocorre para todos os fantasmas, exceto para o mais concentrado (Ph8), com curvas coincidentes em todos os comprimentos de onda, exceto 450 nm, cujas medidas apresentaram maior ruído.

Também foi produzido um grupo de 36 fantasmas de PDMS com variações de absorvedores e espalhadores, (tinta Nankin e Dióxido de Titânio, respectivamente), em conjunto com demais membros do grupo como material de apoio a pesquisa. Nesse grupo, é possível estudar o efeito de uma variação linear nas concentrações de absorvedores e espalhadores, ao selecionar fantasmas do tipo F_{ij} fixando i ou j . Dois fantasmas deste grupo, F63 e F52, foram usados para verificar os níveis de refletância medidos pelo equipamento de SFDI.

O equipamento de SFDI iluminou os fantasmas em três grupos: os quatro mais escuros da série Ph1–Ph8, os quatro mais claros desta mesma série e os dois do grupo F, que possuem espalhador. Cada grupo foi analisado sobre um fantoma de referência que possuía nível de espalhador semelhante ao do fantoma F52. Percebeu-se que o equipamento de SFDI do laboratório trabalha com níveis médios para detectar as regiões mais absorvedoras. Por esse motivo, não foi satisfatória a visualização entre os fantasmas mais concentrados devido ao entorno possuir grande reflexão relativa. O mesmo não ocorre com o grupo menos concentrado da série Ph1–Ph8 que, apesar da menor concentração, sofreu influência da reflexão difusa de regiões mais profundas do BLI6. Já nos fantasmas que possuíam espalhador, percebeu-se que o mapa de refletância permitia a distinção entre as três amostras (BLI6, F63 e F52), porém, o uso de níveis relativos destacou aquela que possuía maior diferença de concentração de espalhador no lugar de apresentar números absolutos.

Apesar destes apontamentos, é possível utilizar-se deste algoritmo, que baseia-se nas

diferenças relativas de absorção e espalhamento para a formação dos mapas, em aplicações clínicas caso o objeto estudado se beneficie desta condição. A técnica já está bem estabelecida e vem apresentando constante desenvolvimento na área biomédica, cabendo a este trabalho inspirar futuros estudiosos da Universidade Federal de Uberlândia a melhorar o algoritmo de reconstrução das imagens, apresentando valores absolutos de espalhamento e absorção baseados em dados obtidos com a esfera integradora.

A produção dos fantasmas também é ponto de interesse, já que objetos simuladores na área médica são opção para poupar o uso de tecido saudável em testes de calibração. Sendo assim, o método de produção baseado em diluição seriada apresentado aqui mostrou-se eficiente para a confecção de futuros fantasmas em que a concentração deve ser conhecida.

Referências

BASSI, A. et al. Spatial shift of spatially modulated light projected on turbid media. *J. Opt. Soc. Am. A*, Optica Publishing Group, v. 25, n. 11, p. 2833–2839, Nov 2008. Disponível em: <http://opg.optica.org/josaa/abstract.cfm?URI=josaa-25-11-2833>.

BOREMAN, G. *Modulation Transfer Function in Optical and Electro-optical Systems*. Society of Photo Optical, 2001. (SPIE tutorial texts). ISBN 9780819441430. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=57MqyPorTQMC>.

BURGER, W. *Digital image processing: an algorithmic introduction using Java*. New York, NY: Springer Berlin Heidelberg, 2016. ISBN 9781447166832.

CERUSSI, A. E. et al. Tissue phantoms in multicenter clinical trials for diffuse optical technologies. *Biomedical Optics Express*, v. 3, n. 5, p. 966, maio 2012. ISSN 2156-7085, 2156-7085. Disponível em: <https://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?uri=boe-3-5-966>.

CHEN, M. T.; DURR, N. J. Rapid tissue oxygenation mapping from snapshot structured-light images with adversarial deep learning. *Journal of Biomedical Optics*, v. 25, n. 11, nov. 2020. ISSN 1083-3668. Disponível em: <https://www.spiedigitallibrary.org/journals/journal-of-biomedical-optics/volume-25/issue-11/112907/Rapid-tissue-oxygenation-mapping-from-snapshot-structured-light-images-with/10.1117/1.JBO.25.11.112907.full>.

CUCCIA, D. J. et al. Quantitation and mapping of tissue optical properties using modulated imaging. *Journal of Biomedical Optics*, SPIE, v. 14, n. 2, p. 1 – 13, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1117/1.3088140>.

DOGNITZ, N.; WAGNIERES, G. Determination of tissue optical properties by steady-state spatial frequency-domain reflectometry. *Lasers in Medical Science*, v. 13, n. 1, p. 55–65, 1998. ISSN 0268-8921, 1435-604X. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF00592960>.

FOO, J. Y. A.; CHUA, K. P.; TAN, X. J. A. Clinical applications and issues of oxygen saturation level measurements obtained from peripheral sites. *Journal of Medical Engineering & Technology*, v. 37, n. 6, p. 388–395, ago. 2013. ISSN 0309-1902, 1464-522X. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/03091902.2013.816380>.

GIOUX, S.; MAZHAR, A.; CUCCIA, D. J. Spatial frequency domain imaging in 2019: principles, applications, and perspectives. *Journal of Biomedical Optics*, SPIE, v. 24, n. 7, p. 1 – 18, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1117/1.JBO.24.7.071613>.

GRIFFITHS, D. J. D. *Eletrodinamica*. Sao Paulo: Pearson Addison Wesley, 2011. OCLC: 817258799. ISBN 9788576058861.

HASKELL, R. C. et al. Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer. *J. Opt. Soc. Am. A*, Optica Publishing Group, v. 11, n. 10, p. 2727–2741, Oct 1994. Disponível em: <http://opg.optica.org/josaa/abstract.cfm?URI=josaa-11-10-2727>.

Henye, L. G.; Greenstein, J. L. Diffuse radiation in the Galaxy. v. 93, p. 70–83, jan. 1941.

HERBERT, S. et al. Single-molecule localization super-resolution microscopy: Deeper and faster. *Microscopy and Microanalysis*, Cambridge University Press, v. 18, n. 6, p. 1419–1429, 2012.

HYPERPHYSICS, Blue Sky. 2020. Disponível em <<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/atmos/blusky.html>>. Acesso em 21 de maio de 2021.

JACQUES, S.L.; PRAHL, S.A. 2021. Disponível em <<https://omlc.org/spectra/>>. Acesso em 06 de junho de 2021.

KNOLL, G. F. *Radiation detection and measurement*. 4th ed. ed. Hoboken, N.J: John Wiley, 2010. OCLC: ocn612350364. ISBN 9780470131480.

LIN, A. J. et al. Spatial Frequency Domain Imaging of Intrinsic Optical Property Contrast in a Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *Annals of Biomedical Engineering*, v. 39, n. 4, p. 1349–1357, abr. 2011. ISSN 0090-6964, 1573-9686. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10439-011-0269-6>>.

LU, R. (Ed.). *Light scattering technology for food property, quality and safety assessment*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2016. (Contemporary food engineering). OCLC: ocn953151802. ISBN 9781482263343.

MARSDEN, J. R.; RAJPAN, S. F. *ABC of Skin Cancer*. [S.l.: s.n.], 2009. OCLC: 939151885.

MAZHAR, A. et al. Spatial frequency domain imaging of port wine stain biochemical composition in response to laser therapy: A pilot study. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 44, n. 8, p. 611–621, out. 2012. ISSN 01968092. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lsm.22067>>.

MEYERS, D. E. et al. Noninvasive method for measuring local hemoglobin oxygen saturation in tissue using wide gap second derivative near-infrared spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics*, SPIE, v. 10, n. 3, p. 1 – 18, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1117/1.1925250>>.

PERAIAH, A. *An introduction to radiative transfer: methods and applications in astrophysics*. Cambridge ; New York: Cambridge University Press, 2002. ISBN 9780521770019 9780521779890.

PODGORSAK, E. B. *Radiation physics for medical physicists*. 2nd, enl. ed. ed. Heidelberg: Springer, 2010. (Biological and medical physics, biomedical engineering). OCLC: ocn390943075. ISBN 9783642008740.

PONTICORVO, A. et al. Quantitative long-term measurements of burns in a rat model using spatial frequency domain imaging (sfdi) and laser speckle imaging (lsi). *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 49, n. 3, p. 293–304, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/lsm.22647>>.

PRAHL, S. A. The adding-doubling method. In: _____. *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*. Boston, MA: Springer US, 1995. p. 101–129. ISBN 978-1-4757-6092-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6092-7_5>.

PREOPERATIVE Mapping of Nonmelanoma Skin Cancer Using Spatial Frequency Domain and Ultrasound Imaging. *Academic Radiology*, v. 21, n. 2, p. 263–270, 2014. ISSN 1076-6332.

REIS, A. *Estudo de fantasmas e tecidos biológicos por meio de mapas de absorção e espalhamento ópticos obtidos pela técnica de imagem no domínio da frequência espacial*. Tese (Doutorado) — Universidade Federal de Uberlândia, jul. 2019. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/28996>>.

ROCHA, M. et al. O azul do céu e o vermelho do pôr-do-sol. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v. 32, n. 3, p. 1–3, set. 2010. ISSN 1806-1117. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-11172010000300013&lng=pt&tlng=pt>.

SPLINTER, R.; HOOPER, B. A. *An introduction to biomedical optics*. New York: Taylor & Francis, 2007. (Series in optics and optoelectronics). OCLC: ocm70874166. ISBN 9780750309387.

SVAASAND, L. O. et al. Reflectance measurements of layered media with diffuse photon-density waves: a potential tool for evaluating deep burns and subcutaneous lesions. *Physics in Medicine and Biology*, IOP Publishing, v. 44, n. 3, p. 801–813, jan 1999. Disponível em: <<https://doi.org/10.1088/0031-9155/44/3/020>>.

VO-DINH, T. (Ed.). *Biomedical photonics handbook*. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2003. ISBN 9780849311161.

WANG, L. V.; WU, H.-i. *Biomedical optics: principles and imaging*. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience, 2007. OCLC: ocm71427127. ISBN 9780471743040.

WEINBERG, R. A. *The biology of cancer*. Second edition. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, 2014. ISBN 9780815342199 9780815342205.