



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

**APLICAÇÃO DA TÉCNICA DA IMAGEM NO DOMÍNIO DA
FREQUÊNCIA ESPACIAL PARA MAPEAMENTO ÓPTICO EM
PROFUNDIDADES DO TECIDO EPITELIAL VOLTADA PARA O
DIAGNÓSTICO DE LESÕES**

Ana Caroline Moreira Mendes

Uberlândia

2024

**APLICAÇÃO DA TÉCNICA DA IMAGEM NO DOMÍNIO DA
FREQUÊNCIA ESPACIAL PARA MAPEAMENTO ÓPTICO EM
PROFUNDIDADES DO TECIDO EPITELIAL VOLTADA PARA O
DIAGNÓSTICO DE LESÕES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do Título de Doutora em Física.

Uberlândia, 13 de dezembro de 2024

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

M538
2025 Mendes, Ana Caroline Moreira, 1988-
 APLICAÇÃO DA TÉCNICA DA IMAGEM NO DOMÍNIO DA
 FREQUÊNCIA ESPACIAL PARA MAPEAMENTO ÓPTICO EM
 PROFUNDIDADES DO TECIDO EPITELIAL VOLTADA PARA O
 DIAGNÓSTICO DE LESÕES [recurso eletrônico] / Ana
 Caroline Moreira Mendes. - 2025.

 Orientador: Adamo Ferreira Gomes do Monte.
 Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Pós-graduação em Física.
 Modo de acesso: Internet.
 Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2025.12>
 Inclui bibliografia.

 1. Física. I. Monte, Adamo Ferreira Gomes do, 1972-,
 (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-
 graduação em Física. III. Título.

CDU: 53

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Física				
Defesa de:	Defesa de Doutorado				
Data:	Treze de dezembro de 2024	Hora de início:	09:30	Hora de encerramento:	13:02
Matrícula do Discente:	12013FIS001				
Nome do Discente:	Ana Caroline Moreira Mendes				
Título do Trabalho:	<i>Aplicação da técnica da imagem no domínio da frequência espacial para mapeamento óptico em profundidades do tecido epitelial voltada para o diagnóstico de lesões</i>				
Área de concentração:	Física				
Linha de pesquisa:	Síntese e desenvolvimento de materiais avançados				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	N.A				

Reuniu-se, por meio de videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Física, assim composta: Professores Doutores: Gustavo Foresto Brito de Almeida- INFIS/UFU, Fabrício Macedo de Souza - INFIS/UFU, Guilherme Azevedo Alves - UFTM, Luismar Barbosa da Cruz Junior - USP e Adamo Ferreira Gomes do Monte - INFIS/UFU, orientador da discente.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Adamo Ferreira Gomes do Monte, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu a discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Foresto Brito de Almeida, Professor(a) do Magistério Superior**, em 13/12/2024, às 21:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luismar Barbosa da Cruz Junior, Usuário Externo**, em 13/12/2024, às 21:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabício Macedo de Souza, Professor(a) do Magistério Superior**, em 14/12/2024, às 05:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Azevedo Alves, Usuário Externo**, em 14/12/2024, às 13:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adamo Ferreira Gomes do Monte, Professor(a) do Magistério Superior**, em 15/12/2024, às 20:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5935183** e o código CRC **E056BA7D**.

DEDICATÓRIA

Dedico à Jesus Cristo.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, rendo graças a Deus, pois sem Sua presença e amparo não teria tido a força necessária para enfrentar os muitos desafios ao longo da minha trajetória acadêmica, desde a graduação em Física Médica até a conclusão deste doutorado em Física pela Universidade Federal de Uberlândia.

À memória dos meus avós, Maria da Silva Moreira e Izordino Rosa Moreira, dedico minha profunda gratidão. Foram eles que, com muito esforço, proporcionaram aos seus filhos uma educação de qualidade, abrindo caminho para que nós, seus netos, pudéssemos alçar voos mais altos.

Expresso meu sincero agradecimento ao meu esposo, Alex Mendes dos Santos, e aos meus pais, José Donizete Moreira e Elizabete Aparecida de Jesus Moreira. Seu amor incondicional e suporte constante foram fundamentais para que eu superasse cada obstáculo durante minha jornada acadêmica, especialmente ao conciliar os estudos com a maternidade.

Aos meus filhos queridos, Eliézer M. M. dos Santos, que chegou durante minha graduação, e Ana Elisa Moreira Mendes, que nasceu no período do doutorado, devo uma especial menção. Vocês são minha fonte inesgotável de motivação e alegria, iluminando os momentos mais desafiadores.

Sou grata por ter superado os desafios, inclusive durante a pandemia da Covid-19, mantendo a saúde e a perseverança enquanto avançava no doutorado.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Uberlândia e à FAPEMIG pelo suporte e apoio financeiro indispensáveis à realização desta pesquisa.

Por fim, manifesto minha gratidão ao meu orientador, Adamo Ferreira Gomes do Monte, por sua orientação e por acreditar no meu potencial ao longo deste processo acadêmico.

RESUMO

Nesta tese, investigamos o uso da técnica de Imagem no Domínio da Frequência Espacial ou Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) e da Esfera Integradora para caracterizar as propriedades ópticas de fantasmas contendo Nanopartículas de Ouro (NpAu) e, adicionalmente, de Ftalocianina de Zinco (ZnPc). Para isso, utilizamos filtros de 650 nm, caracterizando os fantasmas em diferentes frequências espaciais e profundidades. Como resultado, observamos que os coeficientes de absorção medidos (μ_a^{med}) variaram com a concentração e a profundidade, diminuindo com o aumento da profundidade devido à atenuação da luz e aumentando com a frequência espacial até um ponto ótimo em $0,1 \text{ mm}^{-1}$. Além disso, derivamos uma expressão matemática para estimar a profundidade de penetração da luz a partir dos coeficientes obtidos. Ademais, a comparação com os coeficientes de absorção esperados mostrou que os valores medidos são geralmente maiores, possivelmente devido a variações experimentais. Assim, a técnica SFDI mostrou-se eficaz até 3,0 mm de profundidade, validando sua aplicabilidade no mapeamento óptico de tecidos biológicos. Em conclusão, os principais achados destacam a robustez do SFDI na análise de fantasmas com NpAu, contribuindo para o avanço de técnicas de diagnóstico não invasivo em óptica biomédica.

Palavras-chave: Imagem no Domínio da Frequência Espacial, Fantasmas, Nanopartículas de Ouro, Ftalocianina de Zinco, Esfera Integradora, Coeficiente de Absorção, Diagnóstico Óptico.

ABSTRACT

In this thesis, we investigated the use of the Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) technique and the Integrating Sphere to characterize the optical properties of phantoms containing Gold Nanoparticles (NpAu) and, additionally, Zinc Phthalocyanine (ZnPc). To this end, we used 650 nm filters, characterizing the phantoms at different spatial frequencies and depths. As a result, we observed that the measured absorption coefficients (μ_a^{med}) varied with concentration and depth, decreasing with increased depth due to light attenuation and increasing with spatial frequency up to an optimal point at 0.1 mm^{-1} . Furthermore, we derived a mathematical expression to estimate the light penetration depth from the obtained coefficients. Moreover, the comparison with the expected absorption coefficients showed that the measured values are generally higher, possibly due to experimental variations. Thus, the SFDI technique proved effective up to a depth of 3.0 mm, validating its applicability in the optical mapping of biological tissues. In conclusion, the main findings highlight the robustness of SFDI in analyzing phantoms with NpAu, contributing to the advancement of non-invasive diagnostic techniques in biomedical optics.

Keywords: Spatial Frequency Domain Imaging, Phantoms, Gold Nanoparticles, Zinc Phthalocyanine, Integrating Sphere, Absorption Coefficient, Optical Diagnosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS	27
2.1 Fundamentos da óptica biomédica	27
2.2 Propriedades ópticas dos tecidos biológicos	27
2.2.1 Coeficientes de absorção, espalhamento e anisotropia.....	27
2.2.2 Modelos de transporte de luz em tecidos biológicos.....	29
2.3 Interações luz-tecido	31
2.3.1 Absorção, espalhamento e fluorescência em tecidos	31
2.3.2 Mecanismos de absorção em cromóforos biológicos	32
2.3.3 Os tipos de espalhamento	33
2.3.4 Espalhamento predominante na pesquisa.....	34
2.3.5 Fluorescência e nanopartículas de ouro como biomarcadores	34
2.4 Fundamentos da imagem no domínio da frequência espacial	35
2.4.1 Princípios da SFDI	35
2.4.2 Conceito de frequência espacial.....	35
2.4.3 Modulação e demodulação da luz	36
2.4.4 Cálculo do M_{AC} E M_{DC}	36
2.4.5 Refletância difusa e calibração	37
2.5 Processamento de Dados no SFDI	38
2.5.1 Modulação e demodulação	38
2.5.2 Calibração e ajuste de dados	39
2.6 Esfera Integradora e sua Aplicação em Óptica Biomédica	42
2.6.1 Princípios de funcionamento da esfera integradora.....	42
2.6.2 Uso da esfera integradora para medidas de propriedades ópticas .	42
2.6.3 Comparação com outras técnicas de medição óptica.....	43

2.7 Pesquisas Biomédicas em Fantomas Ópticos	44
2.7.1 Características dos fantomas	44
2.7.2 Técnicas de validação das propriedades ópticas dos fantomas	45
2.8 Nanopartículas em Óptica Biomédica	46
2.8.1 Propriedades ópticas das nanopartículas de ouro (NpAu)	46
2.8.2 Aplicações de nanopartículas em diagnóstico e terapia	47
2.8.3 Desafios e perspectivas no uso de NpAu	47
3 MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1 Fantomas	48
3.1.1 Utilidade dos Fantomas	48
3.1.2 Polidimetilsiloxano (PDMS)	48
3.1.3 Dióxido de Titânio (TiO ₂)	49
3.1.4 Nanopartículas de Ouro (NpAu)	49
3.1.5 Tamanho das Nanopartículas de Ouro Utilizadas	50
3.2 Preparação dos Fantomas	50
3.2.1 Produção do Fantoma de Calibração	50
3.2.2 Produção do Fantoma com NpAu	52
3.3 Técnica da Imagem no Domínio da Frequência Espacial	57
3.3.1 Set-Up e Código do SFDI	60
3.4 Equipamento da Esfera Integradora	63
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	65
4.1 Determinação do filtro utilizado	65
4.1.1 Critérios de seleção dos filtros	66
4.1.2 Análise dos espectros de transmissão	67
4.1.3 Escolha do Filtro Ideal	67
4.1.4 Aplicação do filtro no SFDI	67
4.2 Processamento das imagens no SFDI	68

4.2.1	Imagens moduladas em diferentes fases	68
4.2.2	Imagens moduladas em diferentes frequências espaciais	69
4.3	Características dos filmes inseridos nos fantasmas	71
4.3.1	Dados dos filmes	71
4.4	Coeficientes de absorção e espalhamento na Esfera Integradora	73
4.4.1	Comparação dos coeficientes de absorção	77
4.4.2	Comportamento das nanopartículas de ouro	79
4.5	Análise dos coeficientes de absorção em diferentes frequências espaciais e profundidades	81
4.5.1	Comparação dos Coeficientes de Absorção Obtidos na Esfera Integradora e Medidos no SFDI	85
4.6	Expressão que determina a profundidade e os coeficientes de absorção	89
4.6.1	Gráfico da Relação entre Coeficientes de Absorção Esperados e Medidos	90
4.7	Processamento dos dados em MATLAB	93
4.7.1	Análise dos Resultados das Imagens de Refletância	94
4.7.2	Análise dos cromóforos	95
4.7.3	Mapas Comparativos de Absorção e Espalhamento	97
4.7.4	Análise em diferentes profundidades	98
4.7.5	Análise dos mapas comparativos de absorção e espalhamento	99
4.7.5	Otimização da Frequência Espacial para Diagnóstico de Lesões e Câncer no Tecido Epitelial	100
4.8	Visualização 3D dos níveis de profundidade das camadas dos fantasmas	101
4.8.1	Filme de concentração C1	102
4.8.2	Filme de concentração C2	102
4.8.3	Filme de concentração C3	103
4.8.4	Análise dos gráficos 3D	103

4.8.5 Representação das três camadas	104
4.8.6 Análise geral dos gráficos 3D	105
4.8.7 Análise dos resultados dos níveis de profundidade alcançados pela luz.....	105
4.8 Profundidade ideal para detecção de lesões	106
4.9 Uso de nanopartículas de ouro no SFDI.....	106
4.10 Comparação com outras técnicas de imagem	107
4.11 Resultados do SFDI em de voluntários.....	108
4.11.1 Voluntário com lesão no pé	108
4.11.2 Voluntário com uma pinta lesionada.....	112
4.11.3 Mapeamento óptico de veias.....	116
5.0 RESULTADOS COMPLEMENTARES.....	118
5.1 Análise do Fantoma de Zinco Ftalocianina (ZnPc).....	118
5.2 Produção do Fantoma de Zinco Ftalocianina (ZnPc)	119
5.3 Medidas no SFDI.....	121
5.4 Medidas na Esfera Integradora.....	122
5.5 Determinação da localização das nanopartículas no tecido biológico.	123
6 CONCLUSÕES.....	126
7. Aplicações Clínicas e Futuro da SFDI na Óptica Biomédica	128
7.1. Diagnóstico de Câncer de Pele e Lesões Epiteliais	128
7.2 Perspectivas Futuras e Desafios na Implementação Clínica	128
7.3 O Papel da Física e da Engenharia no Avanço das Técnicas de Imagem	129
8 Referências Bibliográficas.....	130
9 OUTROS TRABALHOS DESENVOLVIDOS.....	133
9.1 APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS EM CONGRESSOS:	133
9.2 ARTIGOS	134

□ Aerosol blocking assessment by different types of fabrics for homemade respiratory masks: spectroscopy and imaging study.....	134
--	------------

GIULIANI, C. D.; FOSCHINI, M.; MONTE, A. F. G.; MENDES, A. C. M.; MALETTA, A.; JANONES, R. S.; DUARTE, B. A. R.; DEL-CLARO, K. Aerosol blocking assessment by different types of fabrics for homemade respiratory masks: spectroscopy and imaging study. <i>Photodiagnosis and Photodynamic Therapy</i> , v. 33, p. 102176, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.23954/osj.v6i1.2721	134
--	------------

□ Innovative methodology for noninvasive spatial mapping of gold nanoparticle distribution in tissues: potential applications in biomedical imaging and therapy.....	134
---	------------

MENDES, A. C. M.; MONTE, A. F. G.; SAAGER, R. B. Innovative methodology for noninvasive spatial mapping of gold nanoparticle distribution in tissues: potential applications in biomedical imaging and therapy. <i>Journal of the Optical Society of America A</i> , v. 41, p. 1337-1346, 2024. DOI: https://doi.org/10.1364/JOSAA.523717	134
--	------------

10 ANEXO I.....	135
11 ANEXO II.....	139
12 ANEXO III.....	146

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 2. 1: ESQUEMA DO SISTEMA DE SFDI MOSTRANDO A FONTE DE LUZ, O FANTOMA, O FILTRO ÓPTICO, A CÂMERA CCD E A MODULAÇÃO ESPACIAL DA LUZ	39
FIGURA 2. 2: CURVA DE REFLETÂNCIA DIFUSA EM FUNÇÃO DE DIFERENTES VALORES DE COEFICIENTE DE ABSORÇÃO (M_A) E COEFICIENTE DE ESPALHAMENTO REDUZIDO (M_s'). .	40
FIGURA 2. 3: FLUXO DE PROCESSAMENTO DE DADOS NO SFDI, DESDE A DEMODULAÇÃO ATÉ O AJUSTE DE DADOS PARA OBTENÇÃO DOS COEFICIENTES DE ABSORÇÃO (M_A) E ESPALHAMENTO REDUZIDO (M_s').	41
FIGURA 2. 4: ESQUEMA DA ESFERA INTEGRADORA PARA MEDIÇÃO DE REFLETÂNCIA E TRANSMITÂNCIA TOTAL DE UM FANTOMA.	43
FIGURA 3. 1: PROCESSO DE DESGASEIFICAÇÃO UTILIZANDO A BOMBA DE VÁCUO PARA A PREPARAÇÃO DO FANTOMA DE CALIBRAÇÃO.	51
FIGURA 3. 2: FANTOMA DE CALIBRAÇÃO FINALIZADO APÓS O PROCESSO DE VULCANIZAÇÃO E DESGASEIFICAÇÃO.	52
FIGURA 3. 3: SOLUÇÕES DE NPAU COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.	53
FIGURA 3. 4: MICRO RETIFICA DREMEL 300 UTILIZADA PARA HOMOGENEIZAÇÃO DA MISTURA.	54
FIGURA 3. 5: FILMES OU FANTOMAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NPAU.	54
FIGURA 3. 6: FANTOMA A3 COMPOSTO PELOS FILMES DE NPAU E PDMS, COM APENAS 1 CAMADA.	55
FIGURA 3. 7: FANTOMA A31 APÓS ADIÇÃO DA PRIMEIRA CAMADA DE PDMS.	56
FIGURA 3. 8: FANTOMA A32 APÓS ADIÇÃO DA SEGUNDA CAMADA DE PDMS.	56
FIGURA 3. 9: PROJETO VIVITEK D555WH UTILIZADO NO SISTEMA SFDI PARA PROJETAR PADRÕES DE LUZ SOBRE AS AMOSTRAS.	58
FIGURA 3. 10: CÂMERA CCD DCC3240C USB 3.0 DIGITAL CAMERA ACOPLADA À RODA DE FILTROS CFW6, AMBAS DA THORLABS INC., UTILIZADAS PARA A COLETA DAS IMAGENS.	59
FIGURA 3. 11: MONTAGEM DO SISTEMA SFDI MOSTRANDO A CONFIGURAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS, INCLUINDO O PROJETO E A CÂMERA.	59

FIGURA 3. 12: SISTEMA SFDI MONTADO NO LABORATÓRIO, MOSTRANDO A DISPOSIÇÃO FINAL DOS COMPONENTES PARA AS MEDIÇÕES.....	60
FIGURA 3. 13: TELA DE COMANDO DO LABVIEW UTILIZADA PARA A AQUISIÇÃO DAS IMAGENS MODULADAS DOS FANTOMAS.	61
FIGURA 3. 14: INTERFACE DO MATLAB PARA A SELEÇÃO DAS REGIÕES DE INTERESSE (ROI) NA ANÁLISE DOS FANTOMAS.	62
FIGURA 3. 15: SET-UP EXPERIMENTAL DA ESFERA INTEGRADORA UTILIZADO PARA A CARACTERIZAÇÃO ÓPTICA DOS FANTOMA. DESTACAM-SE A FONTE LUMINOSA, A FIBRA ÓPTICA, O FANTOMA, E OS ESPELHOS.	64
FIGURA 4. 1: ESPECTRO DE TRANSMISSÃO DOS FILTROS UTILIZADOS NO ESTUDO. OS PICOS DE TRANSMISSÃO ESTÃO LOCALIZADOS EM 457 NM, 488 NM, 532 NM, 580 NM E 650 NM, RESPECTIVAMENTE. O FILTRO DE 650 NM FOI ESCOLHIDO POR SUA COMPATIBILIDADE COM A JANELA TERAPÊUTICA E EFICIÊNCIA NA PENETRAÇÃO DE LUZ NOS TECIDOS BIOLÓGICOS.	66
FIGURA 4. 2: IMAGENS MODULADAS DO FANTOMA A3 NAS FASES 0°, 120° E 240°, E NA FREQUÊNCIA ESPACIAL DE 0,4 MM ⁻¹ PARA OS COMPRIMENTOS DE ONDA 457 NM, 488 NM E 650 NM.	69
FIGURA 4. 3: IMAGENS MODULADAS DO FANTOMA A3 NO COMPRIMENTO DE ONDA DE 650 NM E FREQUÊNCIAS ESPACIAIS DE 0,05 MM ⁻¹ , 0,1 MM ⁻¹ , 0,2 MM ⁻¹ E 0,4 MM ⁻¹	70
FIGURA 4. 4: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO (M _a) E ESPALHAMENTO (M _{ESP}) DO FILME C1 EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	73
FIGURA 4. 5: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO (M _a) E ESPALHAMENTO (M _{ESP}) DO FILME C2 EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	74
FIGURA 4. 6: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO (M _a) E ESPALHAMENTO (M _{ESP}) DO FILME C3 EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	74
FIGURA 4. 7: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO (M _a) E ESPALHAMENTO (M _{ESP}) DO FILME C5 EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	75
FIGURA 4. 8: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO (M _a) E ESPALHAMENTO (M _{ESP}) DO FILME C6 EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	75
FIGURA 4. 9: COMPARAÇÃO DOS COEFICIENTES DE ABSORÇÃO (M _a) DOS FILMES C1, C2, C3, C5 E C6 EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	77
FIGURA 4. 10: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO (NPAu) EM ÁGUA E EM PDMS EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	79

FIGURA 4. 11: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO MEDIDOS (μ_a^{MED}) PARA O FILME DE CONCENTRAÇÃO C1 EM DIFERENTES FREQUÊNCIAS ESPACIAIS E PROFUNDIDADES.	83
FIGURA 4. 12: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO ESPERADO (μ_a^{ESP}) PARA OS FILMES DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES EM DIFERENTES FREQUÊNCIAS ESPACIAIS.	83
FIGURA 4. 13: RELAÇÃO ENTRE COEFICIENTES DE ABSORÇÃO ESPERADOS μ_a^{ESP} E MEDIDOS μ_a^{MED} PARA A CAMADA A3 (0,0 MM).	87
FIGURA 4. 14: RELAÇÃO ENTRE COEFICIENTES DE ABSORÇÃO ESPERADOS E MEDIDOS PARA A CAMADA A31 (1,5 MM).	87
FIGURA 4. 15: RELAÇÃO ENTRE COEFICIENTES DE ABSORÇÃO ESPERADOS E MEDIDOS PARA A CAMADA A32 (3,0 MM).	88
FIGURA 4. 16: RELAÇÃO ENTRE COEFICIENTES DE ABSORÇÃO ESPERADOS E MEDIDOS.	90
FIGURA 4. 17: IMAGENS DE REFLETÂNCIA DA CAMADA A3 PARA DIFERENTES FREQUÊNCIAS ESPACIAIS.	93
FIGURA 4. 18: IMAGENS DE REFLETÂNCIA DA CAMADA A31 PARA DIFERENTES FREQUÊNCIAS ESPACIAIS.	94
FIGURA 4. 19: IMAGENS DE REFLETÂNCIA DA CAMADA A32 PARA DIFERENTES FREQUÊNCIAS ESPACIAIS.	94
FIGURA 4. 20: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A3, ONDE CR 1= HbO ₂ ; CR 2= Hb; CR 3= H ₂ O; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.	96
FIGURA 4. 21: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA $K_x=0,05 \text{ MM}^{-1}$	97
FIGURA 4. 22: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA $K_x=0,1 \text{ MM}^{-1}$	97
FIGURA 4. 23: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA $K_x=0,2 \text{ MM}^{-1}$	98
FIGURA 4. 24: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA $K_x=0,4 \text{ MM}^{-1}$	98
FIGURA 4. 25: MAPAS COMPARATIVOS PARA A CAMADA A3 EM $K_x=0,4 \text{ MM}^{-1}$	98
FIGURA 4. 26: MAPAS COMPARATIVOS PARA A CAMADA A31 EM $K_x=0,4 \text{ MM}^{-1}$	99
FIGURA 4. 27: MAPAS COMPARATIVOS PARA A CAMADA A32 EM $K_x=0,4 \text{ MM}^{-1}$	99
FIGURA 4. 28: VISUALIZAÇÃO 3D DA ABSORÇÃO PARA O FILME DE CONCENTRAÇÃO C1. ...	102
FIGURA 4. 29: VISUALIZAÇÃO 3D DA ABSORÇÃO PARA O FILME DE CONCENTRAÇÃO C2. ...	102
FIGURA 4. 30: VISUALIZAÇÃO 3D DA ABSORÇÃO PARA O FILME DE CONCENTRAÇÃO C3. ...	103
FIGURA 4. 31: REPRESENTAÇÃO DAS TRÊS CAMADAS DO FANTOMA.	104

FIGURA 4. 32: IMAGEM DA LESÃO NO PÉ DO VOLUNTÁRIO.....	108
FIGURA 4. 33: IMAGENS DE REFLETÂNCIA ADQUIRIDAS EM DIFERENTES FREQUÊNCIAS ESPACIAIS	109
FIGURA 4. 34: MAPAS DOS CROMÓFOROS DO PÉ, ONDE CR 1= HbO ₂ ; CR 2= Hb; CR 3= H ₂ O; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	110
FIGURA 4. 35: MAPAS DOS CROMÓFOROS HbO ₂ (CR 3) E H ₂ O (CR 4) EXTRAÍDOS DA LESÃO.	111
FIGURA 4. 36: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E DO ESPALHAMENTO DO PÉ PARA A FREQUÊNCIA K _x = 0,4 mm ⁻¹	111
FIGURA 4. 37: IMAGEM DA PINTA COM LESÃO.....	113
FIGURA 4. 38: IMAGENS DE REFLETÂNCIA OBTIDAS A PARTIR DE UMA PINTA COM SANGRAMENTO DE UMA VOLUNTÁRIA PARA OS TESTES IN VIVO. AS IMAGENS, DISPOSTAS DA ESQUERDA PARA A DIREITA, REPRESENTAM A REFLETÂNCIA CONFORME A VARIAÇÃO DA FREQUÊNCIA ESPACIAL.	113
FIGURA 4. 39: MAPAS DOS CROMÓFOROS DA PINTA.	114
FIGURA 4. 40: MAPAS COMPARATIVOS DE ABSORÇÃO E ESPALHAMENTO DA PINTA.	115
FIGURA 4. 41: IMAGEM DAS VEIAS NO BRAÇO.....	116
FIGURA 4. 42: IMAGENS DE REFLETÂNCIA DAS VEIAS NO BRAÇO.	116
FIGURA 4. 43: MAPAS COMPARATIVOS DE ABSORÇÃO E ESPALHAMENTO DAS VEIAS DO BRAÇO.	117
FIGURA 5. 1: FILMES CÚBICOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ZINCO FTALOCIANINA (ZnPC), MEDIDOS E ORGANIZADOS EM UM FANTOMA CÚBICO DE PDMS.....	120
FIGURA 5. 2: RELAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE ABSORÇÃO OBTIDOS NA ESFERA INTEGRADORA (<i>μa esperado</i>) E NO SFDI (<i>μa medido</i>).	123
FIGURA 5. 3: GRÁFICO QUE RELACIONA <i>μa</i> MEDIDO, <i>μa</i> ESPERADO E AS PROFUNDIDADES DAS PARTÍCULAS.....	125
FIGURA 11. 1: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A3 E K _x = 0,05 mm ⁻¹ , ONDE CR 1= HbO ₂ ; CR 2= Hb; CR 3= H ₂ O; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	139
FIGURA 11. 2: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A31 E K _x = 0,05 mm ⁻¹ , ONDE CR 1= HbO ₂ ; CR 2= Hb; CR 3= H ₂ O; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	140

FIGURA 11. 3: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A32 E $K_x = 0,05 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	140
FIGURA 11. 4: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A3 E $K_x = 0,1 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	141
FIGURA 11. 5: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A31 E $K_x = 0,1 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	142
FIGURA 11. 6: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A32 E $K_x = 0,1 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	142
FIGURA 11. 7: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A3 E $K_x = 0,2 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	143
FIGURA 11. 8: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A31 E $K_x = 0,2 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	143
FIGURA 11. 9: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A32 E $K_x = 0,2 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	144
FIGURA 11. 10: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A3 E $K_x = 0,4 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	144
FIGURA 11. 11: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A31 E $K_x = 0,4 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	145
FIGURA 11. 12: MAPAS DE CROMÓFOROS DA CAMADA A32 E $K_x = 0,4 \text{ mm}^{-1}$, ONDE CR 1= HbO_2 ; CR 2= HB; CR 3= H_2O ; CR 4= LIPÍDEO; CR 5= MELANINA.....	145
FIGURA 12. 1: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A3 E FREQUÊNCIA $K_x = 0,05 \text{ mm}^{-1}$	146
FIGURA 12. 2: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A31 E FREQUÊNCIA $K_x = 0,05 \text{ mm}^{-1}$	146
FIGURA 12. 3: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A32 E FREQUÊNCIA $K_x = 0,05 \text{ mm}^{-1}$	146
FIGURA 12. 4: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A3 E FREQUÊNCIA $K_x = 0,1 \text{ mm}^{-1}$	147
FIGURA 12. 5: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A31 E FREQUÊNCIA $K_x = 0,1 \text{ mm}^{-1}$	147
FIGURA 12. 6: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A32 E FREQUÊNCIA $K_x = 0,1 \text{ mm}^{-1}$	147

FIGURA 12. 7: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A3 E FREQUÊNCIA $K_x=0,2 \text{ MM}^{-1}$	148
FIGURA 12. 8: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A31 E FREQUÊNCIA $K_x=0,2 \text{ MM}^{-1}$	148
FIGURA 12. 9: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A32 E FREQUÊNCIA $K_x=0,2 \text{ MM}^{-1}$	148
FIGURA 12. 10: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A3 E FREQUÊNCIA $K_x=0,4 \text{ MM}^{-1}$	149
FIGURA 12. 11: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A31 E FREQUÊNCIA $K_x=0,4 \text{ MM}^{-1}$	149
FIGURA 12. 12: MAPAS COMPARATIVOS DA ABSORÇÃO E O ESPALHAMENTO PARA A CAMADA A32 E FREQUÊNCIA $K_x=0,4 \text{ MM}^{-1}$	149

LISTA DE TABELAS

TABELA 4. 1: CARACTERÍSTICAS DOS FILMES PRODUZIDOS.	71
TABELA 4. 2: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO MEDIDOS (M_a^{MED}) NO SFDI PARA DIFERENTES FREQÜÊNCIAS ESPACIAIS E PROFUNDIDADES.	81
TABELA 4. 3: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO (M_a^{ESP}) ESPERADO NA ESFERA INTEGRADORA PARA DIFERENTES FREQÜÊNCIAS ESPACIAIS E CONCENTRAÇÕES DOS FILMES NA CAMADA A3.	82
TABELA 4. 4: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO ESPERADO (M_a^{esp}) E MEDIDO (M_a^{MED}) NO SFDI PARA DIFERENTES PROFUNDIDADES E FILMES.	86
TABELA 4. 5: SLOPES E ÂNGULOS (Θ) PARA DIFERENTES PROFUNDIDADES (Δ).	90
TABELA 5. 1: CONCENTRAÇÕES DE ZNPC E TiO_2 UTILIZADAS NOS FILMES DO FANTOMA DE ZNPC.....	119
TABELA 5. 2: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO OBTIDOS PARA OS FILMES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ZNPC UTILIZANDO O SFDI.	121
TABELA 5. 3: COEFICIENTES DE ABSORÇÃO OBTIDOS PARA OS FILMES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ZNPC UTILIZANDO A ESFERA INTEGRADORA.....	122
TABELA 5. 4: VALORES DA PROFUNDIDADE δ DAS PELÍCULAS PARA DIFERENTES ÂNGULOS DE INCLINAÇÃO DA RETA DO GRÁFICO DA FIGURA 5.2.	124

LISTA DE ABREVIATURAS

Cr - Cromóforo

DIFF - Difusão

DMD - Digital Micromirror Device

H₂O - água

Hb - desoxihemoglobina

HbO₂ - oxihemoglobina

I_{AC} - componente de refletância modulada espacialmente

IAD - Inverse Adding-Doubling

ICG - indocianina verde

I_{DC} - componente de refletância planar

I_{out} - intensidade da luz modulada espacialmente

IR - infravermelho

LSPR - ressonância de plasmons de superfície localizada

LUT - Lookup Table

M_{AC} - Modulation Amplitude Coefficient

M_{DC} - Mean Diffuse Coefficient

MTF_{ststema} - função de transferência de modulação do sistema

NI - National Instruments

NIR - luz infravermelha próxima

NpAu - nanopartículas de ouro

OCT - tomografia por coerência óptica ou Optical Coherence Tomography

PDMS - Polidimetilsiloxano

R_d (x_i, f_x) - refletância difusa do tecido no ponto x_i

$R_d(\text{AC})$ - difusa modulada

$R_d(\text{DC})$ - refletância não modulada

RM - Ressonância Magnética

ROS - espécies reativas de oxigênio

RTE - Equação do Transporte Radiativo

SFDI - Domínio da Frequência Espacial ou Spatial Frequency Domain Imaging

TiO_2 - dióxido de titânio

UV - Ultravioleta

ZnPc - Zinco Ftalocianina

1 INTRODUÇÃO

A Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) é uma técnica óptica não invasiva que tem sido amplamente utilizada em várias áreas da ciência, particularmente na medicina. Destaca-se por sua capacidade de medir os parâmetros ópticos dos tecidos, como coeficientes de absorção e espalhamento, sem a necessidade de radiação ionizante, o que a torna uma ferramenta promissora para o diagnóstico e monitoramento de diversas patologias, incluindo câncer de pele não melanoma e doenças infecciosas do tecido (CHOI; JIA, 2016). Além disso, por dispensar biópsias invasivas, a SFDI aumenta o conforto dos pacientes e reduz os riscos associados aos procedimentos diagnósticos tradicionais (CUCCIA et al., 2009). Outro aspecto relevante é que o equipamento utilizado na SFDI é de baixo custo e fácil transporte, facilitando sua implementação em diferentes ambientes clínicos e pesquisas de campo (WANG et al., 2010).

Neste contexto, a técnica SFDI é aplicada para investigar a profundidade de penetração da luz no tecido epitelial e sua relação com os parâmetros ópticos do tecido, como o coeficiente de absorção e o coeficiente de espalhamento. Estes parâmetros são fundamentais para a caracterização óptica dos tecidos, permitindo o diagnóstico de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas de forma não invasiva. Além disso, a SFDI é eficaz na avaliação da profundidade de queimaduras, proporcionando um diagnóstico preciso e imediato, essencial para o tratamento adequado de lesões térmicas (Cuccia et al., 2008).

Para viabilizar esses estudos de forma segura e controlada, a utilização de fantasmas, que são simuladores de órgãos e tecidos, mostra-se essencial. Fantasmas são produzidos em laboratório a partir de materiais biocompatíveis, como o polidimetilsiloxano (PDMS) e o dióxido de titânio (TiO_2), que simulam as propriedades ópticas dos tecidos biológicos. O uso de fantasmas permite realizar experimentos controlados e reproduzíveis, eliminando a necessidade de estudos *in vivo*, o que acelera o processo de pesquisa e garante a segurança dos participantes (POGUE; PATTERSON, 2006).

A técnica SFDI foi inicialmente descrita por Dögnitz e Wagnières em 1998, e sua aplicação foi amplamente expandida por Cuccia et al. em 2008. Desde então, tem sido utilizada em diversos estudos, incluindo o diagnóstico de lesões cutâneas e a avaliação da profundidade de queimaduras em modelos animais (DOESCHER et al., 2016). No presente estudo, buscamos contribuir significativamente para este campo, investigando a profundidade de penetração da luz em tecidos epiteliais simulados por meio da técnica SFDI. Além disso, desenvolvemos uma expressão algébrica que relaciona a profundidade de penetração da luz com os coeficientes de absorção obtidos pela SFDI, em conjunto com dados obtidos pela técnica da esfera integradora.

A seleção de materiais para a construção de fantasmas é um aspecto crucial deste estudo. Optou-se por utilizar PDMS combinado com TiO_2 para simular o coeficiente de espalhamento dos tecidos e nanopartículas de ouro (NpAu) para simular a absorção específica, permitindo uma caracterização precisa das propriedades ópticas em diferentes profundidades e concentrações. Dessa forma, este estudo não só valida a utilização da SFDI como uma técnica eficiente para a caracterização óptica de tecidos epiteliais, mas também oferece uma nova metodologia para avaliar a localização e a concentração de nanopartículas em tecidos simulados, contribuindo para o avanço das técnicas de diagnóstico óptico na física médica (POGUE; PATTERSON, 2006).

Os objetivos gerais foram desenvolver e validar a técnica SFDI para caracterizar as propriedades ópticas de tecidos epiteliais simulados, com foco na detecção e avaliação de lesões e na determinação da profundidade de penetração da luz em função dos parâmetros ópticos medidos.

Para a realização destes objetivos, devemos implementar e otimizar o setup experimental da técnica SFDI para a obtenção de mapas de absorção e espalhamento em fantasmas simulando tecidos epiteliais, além de outros objetivos específicos, sendo estes:

- Desenvolver e caracterizar fantasmas utilizando PDMS, TiO_2 e nanopartículas de ouro (NpAu), simulando as propriedades ópticas de tecidos biológicos.
- Avaliar a profundidade de penetração da luz em diferentes concentrações de nanopartículas de ouro utilizando a SFDI, correlacionando os resultados com os parâmetros ópticos medidos.
- Desenvolver uma expressão algébrica que relacione a profundidade da penetração da luz com os coeficientes de absorção, validando sua precisão por meio de medições utilizando a esfera integradora.
- Contribuir para o avanço das técnicas de diagnóstico óptico na física médica, oferecendo uma metodologia inovadora para o estudo de lesões epiteliais e sua caracterização óptica.

2 CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS

2.1 Fundamentos da óptica biomédica

A óptica biomédica é uma área interdisciplinar que combina princípios de óptica com ciências biomédicas para desenvolver técnicas e dispositivos que permitem a visualização, diagnóstico e tratamento de tecidos biológicos. Com o avanço das tecnologias ópticas, esta área tem se mostrado cada vez mais promissora na medicina, especialmente no que diz respeito a métodos não invasivos de diagnóstico e monitoramento de tratamentos.

2.2 Propriedades ópticas dos tecidos biológicos

As propriedades ópticas dos tecidos biológicos desempenham um papel crucial na forma como a luz interage com esses materiais. Estas propriedades determinam a absorção, espalhamento e refração da luz quando ela penetra nos tecidos, influenciando diretamente a eficácia das técnicas de imagem óptica e terapia fotodinâmica, entre outras aplicações.

2.2.1 Coeficientes de absorção, espalhamento e anisotropia

Os tecidos biológicos são compostos por uma variedade de componentes, incluindo água, lipídeos, proteínas e pigmentos, que contribuem para suas propriedades ópticas. Duas das propriedades mais importantes são os coeficientes de absorção (μ_a) e de espalhamento (μ_s).

- **Coeficiente de Absorção (μ_a):** Refere-se à fração de energia luminosa que é absorvida por unidade de comprimento dentro de um tecido. Esta absorção é principalmente devida a cromóforos presentes no tecido, como a hemoglobina, melanina e água, que têm diferentes espectros de absorção. O valor de μ_a varia com o comprimento de onda da luz e com a concentração dos cromóforos no tecido (Pogue & Patterson, 2006).

$$\mu_a(\lambda) = \sum_i c_i \cdot \varepsilon_i(\lambda) \quad (2.1)$$

Onde c_i é a concentração do cromóforo i e $\varepsilon_i(\lambda)$ é o coeficiente de absorção espectral do cromóforo na determinada longitude de onda λ .

- **Coeficiente de Espalhamento (μ_s):** Representa a fração de energia luminosa que é desviada de sua trajetória original por unidade de comprimento dentro do tecido. O espalhamento ocorre devido à heterogeneidade estrutural dos tecidos, como as fibras de colágeno e núcleos celulares. Diferentemente da absorção, o espalhamento não remove a energia da luz do sistema, mas altera sua direção, o que pode influenciar significativamente a profundidade de penetração da luz nos tecidos (Jacques, 2013).

$$\mu'_s = \mu_s \cdot (1 - g) \quad (2.2)$$

Aqui, μ'_s é o coeficiente de espalhamento reduzido, e g é o fator de anisotropia, que mede a direção preferencial do espalhamento.

- **Fator de Anisotropia (g):** O espalhamento em tecidos biológicos é geralmente anisotrópico, significando que a luz tende a ser espalhada em uma direção preferencial em vez de isotropicamente. O fator de anisotropia, g , é um valor adimensional que varia de -1 a 1. Valores positivos de g indicam que a maior parte da luz é espalhada para frente, enquanto valores negativos indicam uma predominância de espalhamento para trás. Quando $g = 0$, o espalhamento é isotrópico. No entanto, mesmo para $g = 1$, não se pode afirmar que todo o espalhamento ocorra exclusivamente na direção frontal, já que podem ocorrer componentes de espalhamento lateral e retroespalhamento, dependendo das propriedades específicas do meio e da interação entre a luz e o tecido (Jacques, 2013; Tuchin, 2007).

2.2.2 Modelos de transporte de luz em tecidos biológicos

Para descrever a propagação da luz em tecidos biológicos, vários modelos matemáticos foram desenvolvidos. Esses modelos ajudam a entender como a luz é absorvida, espalhada e refletida nos tecidos, e são fundamentais para técnicas de imagem óptica e diagnóstico.

- **Equação do Transporte Radiativo (RTE):** A RTE é uma equação fundamental que descreve a distribuição espacial e angular da intensidade da luz em um meio de espalhamento. Ela leva em consideração tanto a absorção quanto o espalhamento e é a base para muitos métodos de solução numérica, como os métodos de Monte Carlo (Modest, 2013).

$$s \cdot \nabla I(r, s) = -(\mu_a + \mu_s)I(r, s) + \mu_s \int_{4\pi} p(s', s)I(r, s')d\Omega' \quad (2.3)$$

Onde $I(r, s)$ é a intensidade da luz na posição r e direção s , μ_a e μ_s são os coeficientes de absorção e espalhamento, respectivamente, e $p(s', s)$ é a função de fase que descreve a probabilidade de a luz ser espalhada de s' para s .

- **Aproximação de Difusão** é frequentemente referida como a **Equação de Difusão**. Em contextos de transporte de luz em meios altamente espalhadores, como tecidos biológicos, essa aproximação simplifica a Equação de Transporte Radiativo (RTE) sob certas condições, resultando em uma forma que é comumente chamada de Equação de Difusão (Wang & Wu, 2007).

A Equação de Difusão descreve como a densidade de luz (ou fluência de luz) se propaga em um meio onde o espalhamento domina sobre a absorção. Essa equação é uma forma simplificada da RTE, aplicável em situações onde a luz é fortemente espalhada, e as variações angulares da intensidade da luz são suaves.

A equação geral é expressa como:

$$\nabla \cdot D \nabla \Phi(r) - \mu_a \Phi(r) = -S(r) \quad (2.4)$$

Aqui:

- $\Phi(r)$ representa a fluência da luz no ponto r , que é a densidade de energia luminosa no meio;
- D é o coeficiente de difusão, definido como $D = \frac{1}{3(\mu_a + \mu'_s(1-g))}$, onde μ'_s é o coeficiente de espalhamento reduzido $\mu'_s = \mu_s \cdot (1 - g)$, e g é o fator de anisotropia;
- μ_a é o coeficiente de absorção, que descreve a quantidade de luz absorvida por unidade de distância no meio;
- $S(r)$ representa a fonte de luz no ponto r , que pode ser uma distribuição pontual ou estendida;
- ∇ é o operador nabla, indicando gradientes espaciais.

O coeficiente de difusão, DDD , desempenha um papel fundamental na equação, controlando a taxa de propagação da luz no meio. Ele depende diretamente das propriedades ópticas do tecido, como os coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_s) e do grau de anisotropia do espalhamento (g) (Jacques, 2013; Tuchin, 2007).

A Aproximação de Difusão é particularmente útil na modelagem da propagação da luz em tecidos biológicos devido à sua simplicidade relativa e à capacidade de descrever com precisão a dinâmica da luz em regimes onde o espalhamento é predominante. No entanto, sua aplicação é limitada a situações onde as condições de espalhamento forte e variações suaves na intensidade angular são atendidas.

- **Métodos de Monte Carlo:** Estes métodos simulam o transporte de luz em meios turvos, como os tecidos biológicos, rastreando o caminho de milhões de fótons individuais. O método de Monte Carlo é amplamente utilizado devido à sua precisão, apesar de ser computacionalmente intensivo (Wang, Jacques & Zheng, 1995).

A compreensão dessas propriedades e modelos é essencial para o desenvolvimento e aplicação de técnicas ópticas em diagnósticos e terapias, como a Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI), que se baseia na variação desses parâmetros ópticos para realizar imagens de alta resolução em tecidos biológicos.

2.3 Interações luz-tecido

A interação da luz com os tecidos biológicos é um fenômeno complexo que envolve diversos processos físicos, tais como absorção, espalhamento e fluorescência. A compreensão desses processos é crucial para o desenvolvimento e aplicação de técnicas de imagem óptica, diagnósticos e terapias em medicina.

2.3.1 Absorção, espalhamento e fluorescência em tecidos

Quando a luz incide sobre um tecido biológico, três processos principais podem ocorrer: absorção, espalhamento e, em alguns casos, fluorescência.

- **Absorção:** A absorção ocorre quando a energia dos fótons de luz é transferida para os constituintes do tecido, como moléculas de água, lipídeos, proteínas e, especialmente, cromóforos biológicos. A energia absorvida pode ser convertida em calor ou usada para excitar elétrons a estados de energia mais altos. A absorção é altamente dependente do comprimento de onda da luz e da composição química do tecido. O coeficiente de absorção, μ_a , descreve a probabilidade de absorção por unidade de comprimento e varia com o tipo de tecido e a presença de cromóforos específicos (Jacques, 2013).
- **Espalhamento:** O espalhamento ocorre quando a luz muda de direção ao encontrar heterogeneidades no tecido, como fibras de colágeno, núcleos celulares e organelas. Este processo não remove energia do feixe de luz, mas

altera sua trajetória, o que pode dificultar a transmissão direta da luz através do tecido. O espalhamento é caracterizado pelo coeficiente de espalhamento, μ_s , e o coeficiente de espalhamento reduzido, μ_s' , que leva em conta o fator de anisotropia g (Jacques, 2013). O espalhamento é responsável por tornar a luz difusa à medida que ela penetra nos tecidos, o que é uma característica crucial para a formação de imagens médicas de alta resolução.

- **Fluorescência:** Em alguns casos, a energia absorvida pelos cromóforos é reemitida como luz em um comprimento de onda maior. Este processo é conhecido como fluorescência. A fluorescência ocorre em certos biomarcadores e substâncias fluorescentes administradas aos pacientes para realçar imagens de áreas específicas do tecido. Por exemplo, a fluorescência da hemoglobina pode ser utilizada para visualizar o fluxo sanguíneo e a oxigenação dos tecidos (Pogue & Patterson, 2006).

2.3.2 Mecanismos de absorção em cromóforos biológicos

Os cromóforos biológicos são moléculas que absorvem luz em comprimentos de onda específicos, contribuindo significativamente para as propriedades ópticas dos tecidos. Entre os principais cromóforos presentes no corpo humano, destacam-se a hemoglobina, a melanina e a água, cada um com um papel fundamental nas interações luz-tecido.

- **Hemoglobina:** A hemoglobina, presente nas células vermelhas do sangue, é um dos cromóforos mais importantes nos tecidos humanos. Ela possui dois estados principais: oxihemoglobina (HbO_2) e desoxihemoglobina (Hb). A absorção de luz pela hemoglobina é altamente dependente do comprimento de onda, com picos de absorção distintos para HbO_2 e Hb em torno de 540 nm e 580 nm, respectivamente. Esses picos de absorção são usados em oximetria de pulso e outras técnicas para medir a oxigenação do sangue (Prahl, 1999).
- **Melanina:** A melanina é o principal cromóforo responsável pela cor da pele, cabelos e olhos nos seres humanos. Sua absorção é forte na região UV e decresce exponencialmente no espectro visível. A melanina desempenha um papel crucial na proteção contra os danos causados pela radiação ultravioleta, absorvendo mais de 99,9% da luz UV incidente, o que ajuda a proteger o DNA

das células (Jacques, 1998). A alta absorção da melanina é utilizada em técnicas de imagem para detectar lesões pigmentadas e melanoma.

- **Água:** A água, que constitui a maior parte da composição dos tecidos biológicos, também é um importante absorvedor de luz, especialmente no infravermelho (IR). A absorção pela água domina na faixa de 970 nm a 3000 nm, o que é essencial para técnicas de aquecimento seletivo, como a terapia fototérmica. A presença de água nos tecidos afeta a escolha dos comprimentos de onda utilizados em diversas aplicações médicas, incluindo laserterapia e diagnósticos ópticos (Curcio & Petty, 1951).

A combinação desses cromóforos e suas respectivas interações com a luz permite a utilização de técnicas ópticas avançadas para o diagnóstico e tratamento de várias condições médicas. Ao manipular as propriedades da luz e entender as interações com os tecidos, é possível obter informações detalhadas sobre a composição, estrutura e função dos tecidos biológicos.

2.3.3 Os tipos de espalhamento

O espalhamento da luz em tecidos biológicos é um fenômeno complexo que ocorre quando a luz interage com as heterogeneidades estruturais dos tecidos, como células, organelas e fibras de colágeno. Dependendo do tamanho das partículas que causam o espalhamento em relação ao comprimento de onda da luz incidente, diferentes tipos de espalhamento podem ser observados:

- **Espalhamento de Rayleigh:** Ocorre quando as partículas que causam o espalhamento são muito menores que o comprimento de onda da luz. Este tipo de espalhamento é responsável pelo céu azul, pois espalha a luz de comprimentos de onda mais curtos (azul) mais do que os comprimentos de onda mais longos (vermelho). Em tecidos biológicos, o espalhamento de Rayleigh é menos comum devido à presença de partículas maiores (Jacques, 2013).
- **Espalhamento de Mie:** Este tipo de espalhamento ocorre quando as partículas são comparáveis em tamanho ao comprimento de onda da luz. O espalhamento de Mie é direcional e menos dependente do comprimento de onda em comparação com o espalhamento de Rayleigh. Em tecidos biológicos,

o espalhamento de Mie é predominante, especialmente em estruturas como núcleos celulares e organelas, que são de tamanho comparável ao comprimento de onda da luz visível (Jacques, 2013).

2.3.4 Espalhamento predominante na pesquisa

A pesquisa realizada neste trabalho se concentra principalmente no espalhamento de Mie, que é o tipo de espalhamento mais relevante em tecidos biológicos devido à presença de estruturas celulares com dimensões semelhantes ao comprimento de onda da luz visível. O espalhamento de Mie é fundamental para a formação de imagens na técnica de Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI), utilizada para mapear as propriedades ópticas dos tecidos epiteliais. Este tipo de espalhamento afeta diretamente a resolução e a profundidade de penetração da luz, tornando-o um fator crítico na análise de imagens obtidas com a técnica SFDI (Jacques, 2013).

2.3.5 Fluorescência e nanopartículas de ouro como biomarcadores

As nanopartículas de ouro (NpAu) têm se destacado como agentes contrastantes e biomarcadores em diversas aplicações biomédicas devido às suas propriedades ópticas únicas. Embora as nanopartículas de ouro, por si só, não sejam fluorescentes, elas podem ser funcionalizadas com moléculas fluorescentes ou conjugadas com fluoróforos, o que as torna úteis em técnicas de imagem óptica (Dykman & Khlebtsov, 2012).

Além disso, as nanopartículas de ouro são altamente eficientes na absorção de luz e no espalhamento de radiação, especialmente na faixa do visível e do infravermelho próximo. Quando essas nanopartículas são irradiadas com luz, elas podem gerar uma resposta óptica que pode ser detectada por técnicas de imagem, como o SFDI ou a microscopia de fluorescência, facilitando a visualização de processos biológicos em tempo real (Pogue & Patterson, 2006).

Por exemplo, as nanopartículas de ouro podem ser conjugadas com anticorpos específicos que se ligam a células cancerígenas. Quando essas nanopartículas são introduzidas no organismo, elas se acumulam seletivamente nas células-alvo, permitindo que a fluorescência emitida pelo fluoróforo conjugado com as

nanopartículas seja utilizada para a detecção precisa e o mapeamento das áreas afetadas. Isso torna as nanopartículas de ouro uma ferramenta poderosa para diagnóstico e tratamento de doenças, incluindo o câncer (Dykman & Khlebtsov, 2012).

2.4 Fundamentos da imagem no domínio da frequência espacial

A técnica de Imagem no Domínio da frequência espacial ou Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) é amplamente reconhecida por sua capacidade de mapear as propriedades ópticas de tecidos biológicos, permitindo a obtenção de coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento reduzido (μ_s') de forma não invasiva. Este capítulo detalha os conceitos teóricos fundamentais da SFDI, incluindo as equações essenciais que governam o comportamento da luz modulada espacialmente ao interagir com tecidos biológicos.

2.4.1 Princípios da SFDI

A SFDI baseia-se na projeção de padrões de luz modulados espacialmente sobre o tecido e na captura das imagens resultantes para análise posterior. A modulação da luz permite diferenciar os efeitos de absorção e espalhamento nos tecidos, os quais são as principais interações ópticas relevantes (Choi & Jia, 2016).

2.4.2 Conceito de frequência espacial

A luz projetada sobre o tecido é modulada em padrões sinusoidais que variam ao longo de uma dimensão espacial. A equação que descreve a intensidade da luz modulada espacialmente I_{out} em uma dimensão é dada por:

$$I_{out} = I_{AC} + I_{DC} \quad (2.5)$$

onde I_{AC} é a componente de refletância modulada espacialmente, e I_{DC} é a componente de refletância planar (Cuccia et al., 2009).

2.4.3 Modulação e demodulação da luz

A modulação da luz é descrita pela equação:

$$I_{AC} = M_{AC}(x) \cos(2\pi f_x + \alpha) \quad (2.6)$$

onde $M_{AC}(x)$ é a Modulation Amplitude Coefficient (coeficiente de amplitude de modulação ou função envelope), f_x é a frequência espacial, e α é a fase do sinal modulado. A intensidade total da luz refletida que atinge o detector é, portanto:

$$I_{OUT} = M_{AC}(x) \cos(2\pi f_x + \alpha) + I_{DC} \quad (2.7)$$

O objetivo da SFDI é medir a refletância difusa em diferentes frequências espaciais para determinar os parâmetros ópticos do tecido. A modulação da luz permite que diferentes profundidades sejam sondadas, uma vez que frequências espaciais mais altas correspondem a interações em camadas mais superficiais do tecido, enquanto frequências espaciais mais baixas penetram mais profundamente (Cuccia et al., 2005).

2.4.4 Cálculo do M_{AC} E M_{DC}

O Modulation Amplitude Coefficient (M_{AC}) é fundamental para a separação dos efeitos de absorção e espalhamento. Ele é calculado utilizando a seguinte equação:

$$M_{AC}(x_i, f_x) = \frac{\sqrt{2}}{3} \sqrt{[I_1(x_i) - I_2(x_i)]^2 + [I_2(x_i) - I_3(x_i)]^2 + [I_3(x_i) - I_1(x_i)]^2} \quad (2.8)$$

onde $I_1(x_i)$, $I_2(x_i)$ e $I_3(x_i)$ são as intensidades medidas em três diferentes fases do padrão de luz projetado.

Já o Mean Diffuse Coefficient (M_{DC}), que representa a refletância média planar ou variação espacial não modulada DC, é dado por:

$$M_{DC} = \frac{1}{3} [I_1(x_i) + I_2(x_i) + I_3(x_i)] \quad (2.9)$$

O $M_{AC}(x_i, f_x)$ pode ser relacionado à refletância difusa do tecido utilizando a equação:

$$M_{AC}(x_i, f_x) = I_o \cdot MTF_{ststema}(x_i, f_x) \cdot R_d(x_i, f_x) \quad (2.10)$$

onde $MTF_{ststema}(x_i, f_x)$ é a função de transferência de modulação do sistema e $R_d(x_i, f_x)$ é a refletância difusa do tecido no ponto x_i para a frequência espacial f_x (Cuccia et al., 2009).

2.4.5 Refletância difusa e calibração

Podemos encontrar uma função $M_{ACref}(x, f_x)$ ao realizarmos medidas de referência em um fantoma com propriedades ópticas conhecidas, para calibrar tanto a intensidade absoluta da fonte quanto para o MTF do sistema de imagem. Assim, temos que a refletância difusa em cada localização espacial é dada pela equação (CUCCIA et al., 2009):

$$R_d(x_i, f_x) = \frac{M_{AC}(x_i, f_x)}{M_{AC,ref}(x_i, f_x)} \cdot R_{d,ref}(f_x) \quad (2.11)$$

onde $M_{AC,ref}(x_i, f_x)$ é o coeficiente de modulação da referência e $R_{d,ref}(f_x)$ é a refletância difusa conhecida do fantoma de calibração.

2.5 Processamento de Dados no SFDI

A calibração em medições utilizando a técnica de Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) oferece uma vantagem significativa em comparação com outras técnicas espaciais, pois elimina ruídos e evita a necessidade de desconvolução direta no domínio espacial da função de espalhamento pontual (PSF). Essa abordagem facilita uma análise mais precisa das propriedades ópticas dos tecidos (Cuccia et al., 2005). O processamento dos dados obtidos por SFDI segue um fluxo bem definido, que inclui as etapas de modulação, captura, demodulação e calibração dos sinais. Cada uma dessas etapas é fundamental para a obtenção precisa dos parâmetros ópticos do tecido.

2.5.1 Modulação e demodulação

A modulação da luz no sistema SFDI é realizada projetando padrões sinusoidais com diferentes frequências espaciais diretamente sobre o tecido ou fantoma. As imagens resultantes são capturadas por uma câmera CCD, sendo que cada imagem corresponde a uma fase distinta do padrão projetado. Este processo de captura é essencial para a reconstrução das propriedades ópticas do meio.

O processo de demodulação envolve a combinação das imagens capturadas para calcular as componentes de intensidade modulada (I_{AC}) e planares (I_{DC}). Estas são usadas para determinar as propriedades de absorção e espalhamento do tecido. A demodulação é realizada utilizando algoritmos que extraem a amplitude e a fase dos padrões modulados, permitindo a construção de mapas de refletância difusa que podem ser posteriormente calibrados e ajustados para a extração precisa dos coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento reduzido (μ_s').

Na Figura 2. 1, o esquema básico do sistema SFDI é ilustrado, mostrando a fonte de luz, o fantoma, o filtro óptico e a câmera CCD. A modulação espacial da luz e a coleta das imagens são etapas cruciais para o processo de demodulação, permitindo a obtenção dos parâmetros ópticos dos tecidos.

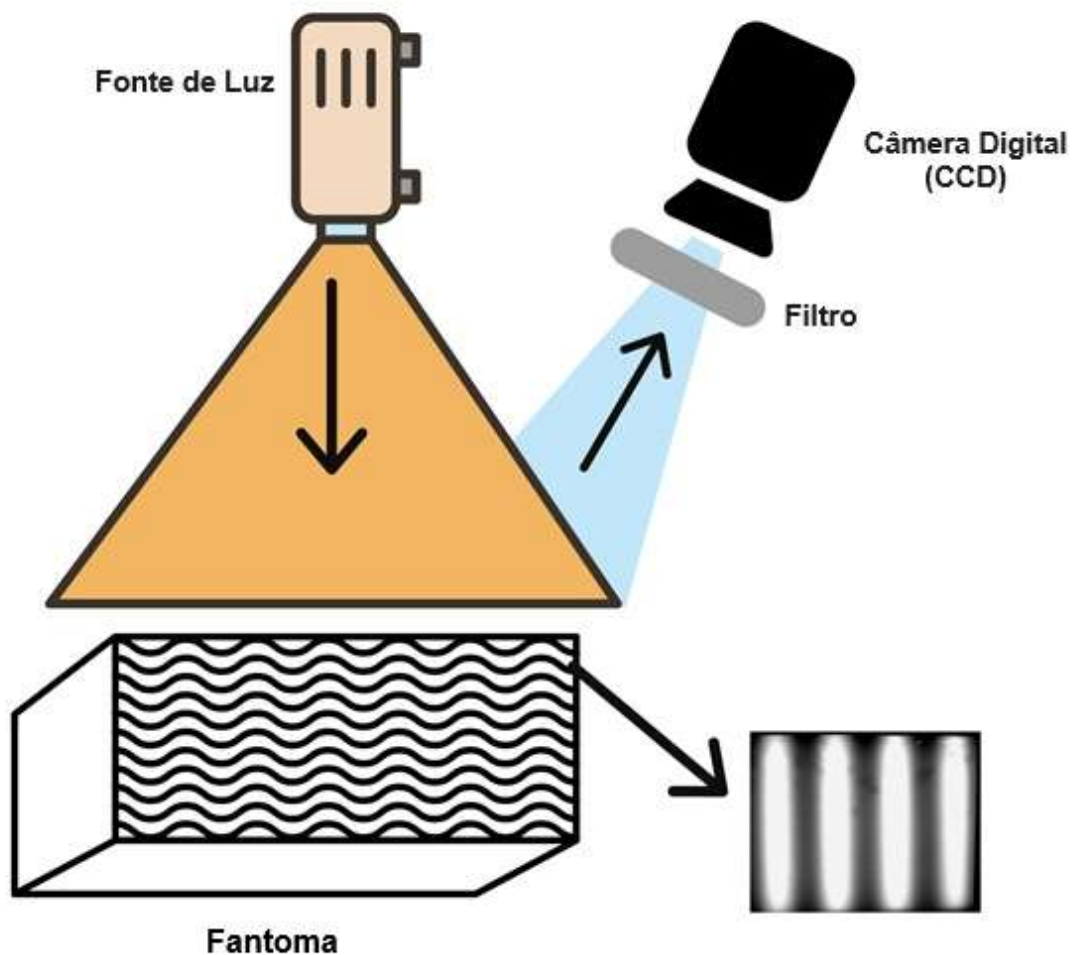


Figura 2. 1: Esquema do sistema de SFDI mostrando a fonte de luz, o fantoma, o filtro óptico, a câmera CCD e a modulação espacial da luz .

2.5.2 Calibração e ajuste de dados

Pós o processo de demodulação, os dados obtidos precisam ser calibrados com base em uma referência conhecida. Esse procedimento é essencial para garantir a precisão das medições. Os valores normalizados de refletância modulada (M_{AC}) e não modulada (M_{DC}) são utilizados para gerar curvas de refletância difusa em função dos coeficientes de absorção e espalhamento do tecido. A partir dessas curvas, uma Lookup Table (LUT) é criada, permitindo o ajuste dos dados e a extração precisa dos coeficientes ópticos (μ_a e μ_s').

Na Figura 2. 2, é apresentada a LUT, com as linhas azuis correspondendo aos coeficientes de absorção (μ_a) e as linhas pretas aos coeficientes de espalhamento (μ_s'). As medidas de refletância difusa modulada ($R_d(AC)$) e não modulada ($R_d(DC)$) são obtidas a partir das frequências espaciais (f_x). O $R_d(AC)$ refere-se à frequência espacial f_x diferente de zero, enquanto o $R_d(DC)$ refere-se à frequência $f_x = 0$ (Cuccia et al., 2009).

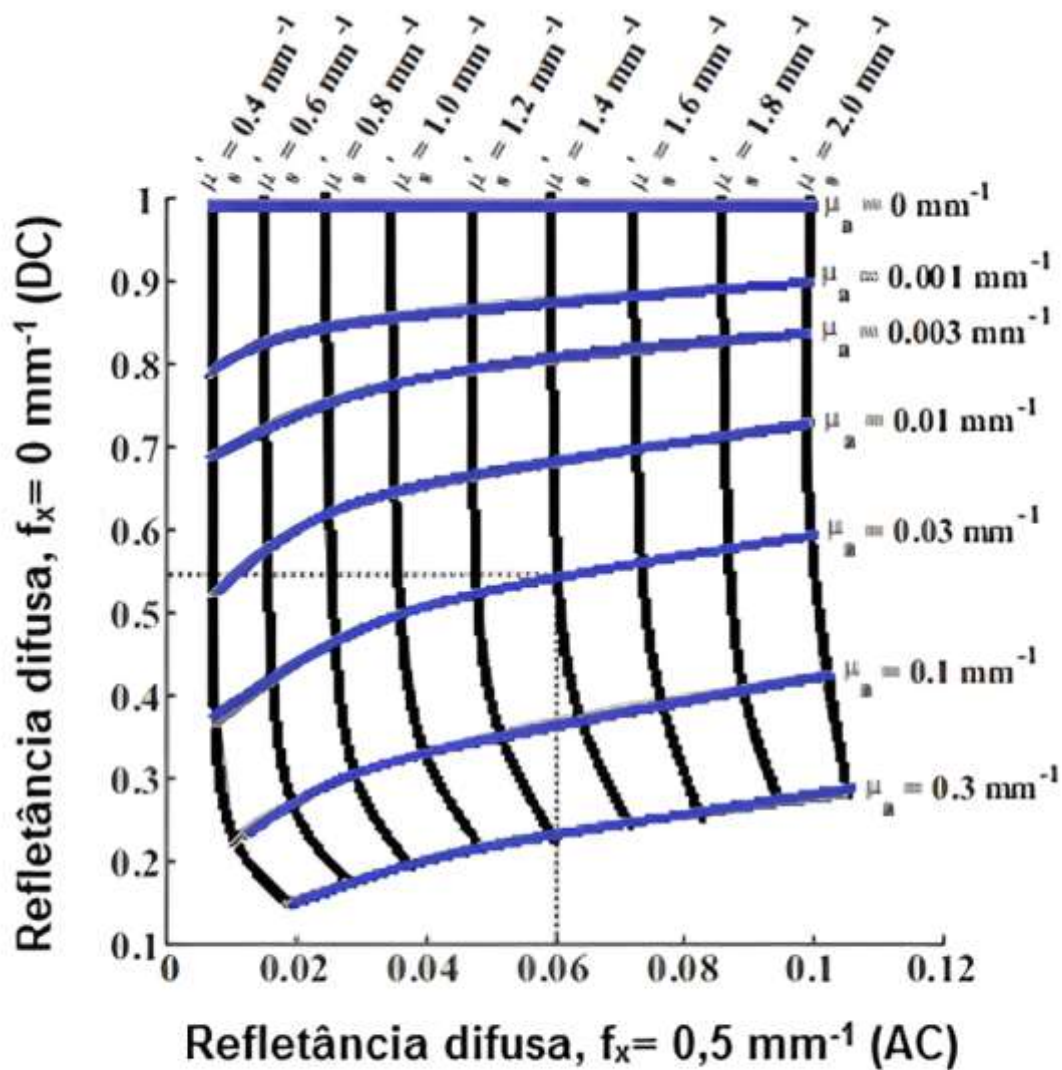


Figura 2. 2: Curva de refletância difusa em função de diferentes valores de coeficiente de absorção (μ_a) e coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s').

Por fim, a Figura 2. 3 demonstra o fluxo de processamento dos dados obtidos via SFDI. Esse esquema inclui as etapas de demodulação e calibração, que são realizadas utilizando equações específicas, como as Equações (2.8) e (2.11). Essas equações garantem a precisão na extração dos parâmetros ópticos do tecido analisado, permitindo a caracterização detalhada dos coeficientes de absorção e espalhamento (μ_a e μ_s').

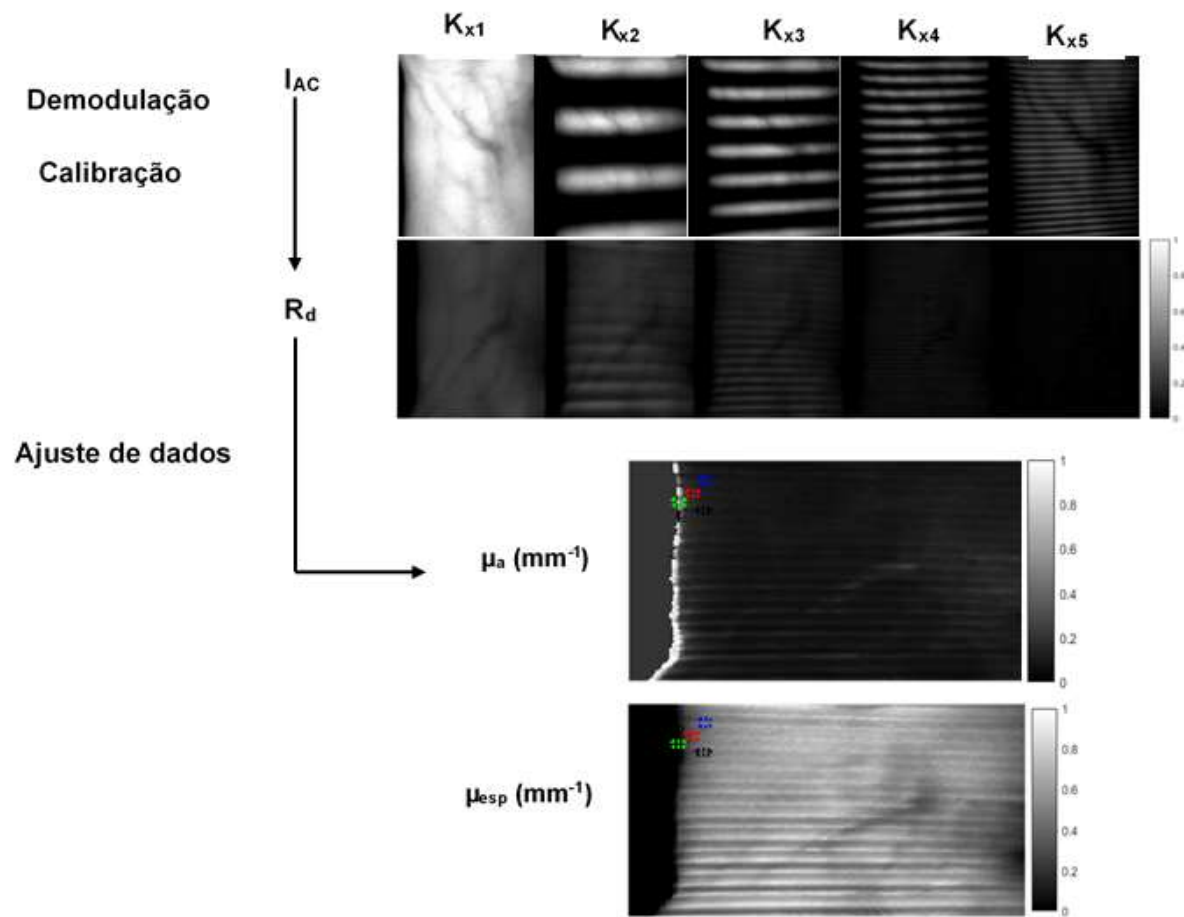


Figura 2. 3: Fluxo de processamento de dados no SFDI, desde a demodulação até o ajuste de dados para obtenção dos coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento reduzido (μ_s').

2.6 Esfera Integradora e sua Aplicação em Óptica Biomédica

A esfera integradora desempenha um papel fundamental na caracterização óptica de materiais, incluindo tecidos biológicos, devido à sua capacidade de coletar luz de forma difusa, proporcionando uma medição precisa da refletância e transmitância total. Esse instrumento é amplamente utilizado em estudos ópticos de tecidos, como a determinação dos coeficientes de absorção e espalhamento, sendo crucial para a óptica biomédica.

2.6.1 Princípios de funcionamento da esfera integradora

O princípio básico da esfera integradora reside na capacidade de distribuir a luz de maneira uniforme em suas paredes internas altamente refletivas, permitindo a captura e medição de luz em várias direções. A luz que entra na esfera sofre múltiplas reflexões difusas antes de ser capturada por um detector, como um espectrômetro. Dessa forma, a esfera integra a luz proveniente de todas as direções, proporcionando medidas precisas da refletância e transmitância total do material em estudo.

O método Inverse Adding-Doubling (IAD) é um dos principais métodos utilizados para processar os dados obtidos com a esfera integradora. Ele permite a extração dos coeficientes de absorção e espalhamento dos materiais, utilizando a equação de transporte radiativo como base para a modelagem da propagação da luz no tecido. O método IAD consiste em ajustar os dados de refletância e transmitância para um modelo de duas camadas, considerando o material e o meio circundante (Prahl, 1999).

2.6.2 Uso da esfera integradora para medidas de propriedades ópticas

A esfera integradora é amplamente utilizada em estudos de propriedades ópticas de tecidos, como parte de experimentos de Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI). O uso desse instrumento em conjunto com o SFDI é vantajoso, pois permite a calibração precisa dos parâmetros de espalhamento e absorção, fundamentais para a determinação dos coeficientes ópticos em tecidos epiteliais.

A Figura 2. 4 ilustra o uso da esfera integradora em conjunto com o SFDI para a medição das propriedades ópticas de um fantoma, onde a luz é projetada no fantoma e, após ser refletida ou transmitida, é capturada pelo espectrômetro acoplado à esfera

integradora. Esse arranjo permite a eliminação de erros de medição, oferecendo maior precisão na obtenção dos coeficientes de absorção e espalhamento (Curcio & Petty, 1951).

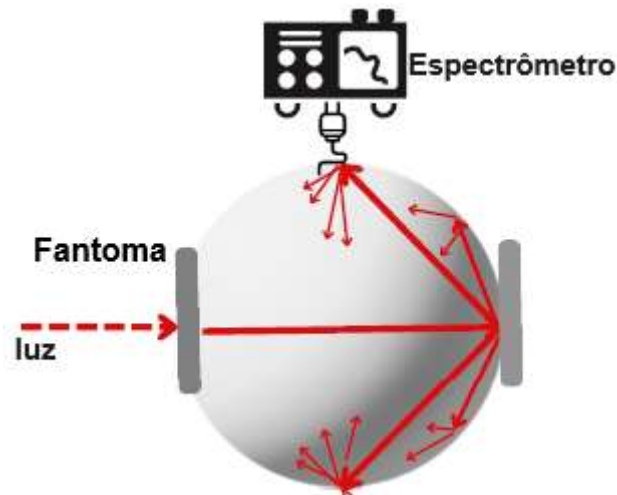


Figura 2. 4: Esquema da esfera integradora para medição de refletância e transmitância total de um fantoma.

A calibração do sistema é feita comparando-se as medições de um material de referência conhecido, como o Spectralon, com as medições do fantoma. Com isso, é possível eliminar variáveis externas que possam comprometer a precisão dos resultados, como variações na intensidade da luz ou imperfeições no detector. Este procedimento é crucial para garantir a confiabilidade dos dados em experimentos de SFDI.

2.6.3 Comparação com outras técnicas de medição óptica

A esfera integradora oferece diversas vantagens em comparação com outras técnicas de medição óptica, como a espectroscopia de reflectância difusa. Entre as principais vantagens estão a capacidade de coletar luz em todas as direções, garantindo medições mais precisas da refletância total, e a possibilidade de realizar medições tanto de transmissão quanto de reflexão, algo que não é possível com métodos convencionais que apenas consideram a luz refletida (Modest, 2013).

No entanto, a esfera integradora também apresenta limitações, especialmente em relação à medição de pequenas amostras ou amostras com geometria complexa. Nesses casos, a precisão da medição pode ser comprometida devido à dificuldade de garantir que toda a luz emitida pela amostra seja capturada pela esfera (Jacques,

2013). Além disso, a calibração do sistema requer procedimentos rigorosos e o uso de materiais de referência, o que pode aumentar o tempo necessário para realizar as medições.

Apesar dessas limitações, a esfera integradora continua sendo uma ferramenta amplamente utilizada em óptica biomédica, devido à sua capacidade de proporcionar medições precisas e repetitivas de propriedades ópticas, sendo particularmente útil em estudos de diagnóstico por imagem e em experimentos envolvendo fantasmas de tecidos biológicos.

2.7 Pesquisas Biomédicas em Fantasmas Ópticos

Os fantasmas ópticos têm desempenhado um papel crucial em pesquisas biomédicas, particularmente no estudo das propriedades ópticas de tecidos biológicos. Esses materiais simulam com precisão a interação da luz com tecidos humanos e são usados para testar e calibrar sistemas de imagem óptica, como a Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI). Sua utilização permite conduzir estudos *in vitro*, evitando a necessidade de experimentos invasivos em tecidos vivos.

2.7.1 Características dos fantasmas

Os fantasmas utilizados em pesquisas biomédicas são compostos de materiais que mimetizam as propriedades de absorção e espalhamento da luz em tecidos biológicos. Os materiais mais comuns usados para produzir fantasmas sólidos incluem o Polidimetilsiloxano (PDMS), o dióxido de titânio (TiO_2) e as nanopartículas de ouro (NpAu). Cada um desses materiais desempenha um papel específico na simulação das propriedades ópticas dos tecidos.

O PDMS é amplamente utilizado na fabricação de fantasmas devido à sua biocompatibilidade, transparência e flexibilidade. Além disso, é um material de fácil manipulação, permitindo a produção de fantasmas com diferentes geometrias e tamanhos. Seu baixo custo também o torna uma escolha popular em estudos de óptica biomédica (Pogue & Patterson, 2006).

O TiO_2 é utilizado como um agente dispersor para ajustar o coeficiente de espalhamento dos fantasmas. Este material tem um alto índice de refração e é altamente eficaz em simular o espalhamento da luz que ocorre em tecidos biológicos.

Dependendo da concentração de TiO_2 , é possível ajustar o coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s') para corresponder às propriedades ópticas dos tecidos (Pogue & Patterson, 2006).

As nanopartículas de ouro (NpAu), por sua vez, são adicionadas aos fantasmas como cromóforos para ajustar o coeficiente de absorção. Essas nanopartículas têm propriedades ópticas únicas, como a ressonância de plasmon de superfície, que permite ajustar a absorção em comprimentos de onda específicos. As NpAu são usadas em pesquisas de diagnóstico e terapia, como agentes de contraste em sistemas de imagem e para tratamentos fototérmicos de câncer (Dykman & Khlebtsov, 2012).

2.7.2 Técnicas de validação das propriedades ópticas dos fantasmas

Após a produção, as propriedades ópticas dos fantasmas devem ser validadas para garantir que eles realmente mimetizam as propriedades dos tecidos biológicos. As técnicas de validação incluem medições de reflectância difusa e transmitância utilizando instrumentos como a esfera integradora. Essas medições permitem determinar os coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_s') dos fantasmas, que são comparados com os valores esperados de tecidos reais.

Além disso, o uso da técnica Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI), também pode ser utilizado para validar a homogeneidade e os parâmetros ópticos dos fantasmas. Este método utiliza padrões de luz modulada para gerar mapas de propriedades ópticas, que podem ser usados para ajustar as concentrações de TiO_2 e NpAu nos fantasmas (Cuccia et al., 2009).

O uso de fantasmas é essencial para a calibração e validação de sistemas de imagem óptica, permitindo que os pesquisadores ajustem seus experimentos e garantam a precisão de suas medições. Além disso, o desenvolvimento de fantasmas com propriedades ópticas controladas continua a ser um campo ativo de pesquisa, com o objetivo de melhorar ainda mais a acurácia das técnicas de imagem biomédica.

2.8 Nanopartículas em Óptica Biomédica

As nanopartículas desempenham um papel crescente em várias áreas da pesquisa biomédica, principalmente devido às suas propriedades físico-químicas exclusivas. Entre essas nanopartículas, as de ouro (NpAu) têm se destacado em aplicações que envolvem diagnóstico e terapia, graças à sua biocompatibilidade e capacidade de manipular a luz em diferentes escalas. A interação dessas nanopartículas com a luz abre uma vasta gama de possibilidades em técnicas de imagem óptica e tratamentos fototérmicos. Neste contexto, a técnica da Imagem no Domínio da Frequência Espacial (SFDI) tem se mostrado promissora para estudar o comportamento óptico das NpAu e seus efeitos em meios simuladores, como os fantasmas. O estudo de suas propriedades ópticas, bem como suas aplicações no campo da óptica biomédica, é fundamental para o desenvolvimento de tecnologias mais eficientes e menos invasivas.

2.8.1 Propriedades ópticas das nanopartículas de ouro (NpAu)

As nanopartículas de ouro (NpAu) apresentam uma propriedade óptica singular, conhecida como ressonância de plasmons de superfície localizada (LSPR). Esse fenômeno ocorre quando os elétrons livres na superfície da nanopartícula oscilam em resposta à luz incidente, resultando na absorção e no espalhamento de luz em comprimentos de onda específicos. O comprimento de onda em que essa ressonância ocorre pode ser ajustado alterando o tamanho, a forma e o ambiente das nanopartículas (Dykman & Khlebtsov, 2012).

Devido a essa propriedade, as NpAu possuem uma forte capacidade de absorção e espalhamento da luz, sendo a primeira predominante em nanopartículas menores e a segunda em nanopartículas maiores. Tais propriedades são cruciais em aplicações biomédicas, uma vez que permitem a modulação da luz em tecidos biológicos para diagnóstico por imagem ou terapias baseadas em calor (Jain et al., 2012). Em técnicas como a SFDI, as NpAu podem ser utilizadas para melhorar a precisão na obtenção de parâmetros ópticos de absorção e espalhamento.

2.8.2 Aplicações de nanopartículas em diagnóstico e terapia

As NpAu têm sido amplamente exploradas tanto no diagnóstico quanto no tratamento de doenças. No campo do diagnóstico, as NpAu podem ser utilizadas como agentes de contraste em imagens ópticas, facilitando a detecção de estruturas ou anomalias no tecido biológico. No SFDI, as nanopartículas de ouro, quando incorporadas em fantasmas, permitem simular o comportamento óptico de tecidos humanos, contribuindo para a melhoria de técnicas não invasivas de diagnóstico (Cuccia et al., 2009).

Além disso, as NpAu têm se mostrado extremamente úteis em terapias fototérmicas e fotodinâmicas. Na terapia fototérmica, a luz infravermelha próxima (NIR) é utilizada para aquecer as nanopartículas, que convertem essa energia luminosa em calor, destruindo seletivamente células cancerígenas (Huang et al., 2011). Já na terapia fotodinâmica, as nanopartículas de ouro atuam como fotossensibilizadores, gerando espécies reativas de oxigênio (ROS) sob irradiação, o que causa a morte celular em áreas específicas (Jain et al., 2012).

2.8.3 Desafios e perspectivas no uso de NpAu

Embora as NpAu apresentem grande potencial em aplicações biomédicas, ainda existem desafios a serem superados, especialmente em relação à sua biocompatibilidade e segurança. A toxicidade das nanopartículas de ouro depende de vários fatores, como tamanho, forma, dose e tempo de exposição. Portanto, é essencial garantir que essas nanopartículas sejam devidamente funcionalizadas para minimizar riscos ao corpo humano (Dykman & Khlebtsov, 2012).

Além disso, a tradução clínica das NpAu enfrenta barreiras, tanto em termos de regulamentação quanto de padronização. O comportamento das NpAu no corpo humano, incluindo a sua biodistribuição e a maneira como são eliminadas, ainda não é completamente compreendido. Essas questões precisam ser resolvidas para que as NpAu possam ser amplamente utilizadas em ambientes clínicos de forma segura e eficaz. Entretanto, as pesquisas contínuas sobre nanopartículas de ouro indicam um futuro promissor para seu uso em diagnósticos e tratamentos baseados em luz (Jain et al., 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, apresentamos os materiais e os métodos utilizados em nosso estudo sobre a profundidade de penetração da luz em tecidos biológicos utilizando a técnica da Imagem no Domínio da Frequência Espacial ou Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI). Eles estão organizados em várias seções principais, cada uma abordando um aspecto fundamental da pesquisa.

3.1 Fantomas

Iniciaremos falando sobre os Fantomas, pois eles são o objeto de estudo deste trabalho. Os Fantomas são materiais simuladores que desempenham um papel crucial em pesquisas biomédicas, particularmente na validação e calibração de técnicas de imagem óptica, como o Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI). Eles são projetados para mimetizar as propriedades ópticas dos tecidos biológicos, permitindo que cientistas e engenheiros avaliem o desempenho de sistemas de imagem sem a necessidade de trabalhar diretamente com amostras biológicas, que podem ser difíceis de obter ou ter propriedades variáveis.

3.1.1 Utilidade dos Fantomas

A principal função dos fantomas é fornecer um ambiente controlado no qual as interações da luz com os tecidos possam ser estudadas de maneira precisa e reproduzível. Ao simular as propriedades ópticas de diferentes tipos de tecido, os fantomas permitem que os pesquisadores avaliem como a luz é absorvida, espalhada e refletida em condições que imitam as encontradas em tecidos humanos. Isso é fundamental para o desenvolvimento e a validação de técnicas de diagnóstico, como a detecção precoce de câncer, onde a precisão na medição dos coeficientes de absorção e espalhamento é essencial (BASSANI et al., 2014).

3.1.2 Polidimetilsiloxano (PDMS)

O Polidimetilsiloxano (PDMS) é um polímero amplamente utilizado na fabricação de fantomas devido às suas propriedades físicas e químicas. O PDMS é um material inerte, biocompatível e transparente, o que o torna ideal para simular tecidos biológicos em estudos ópticos. Sua flexibilidade permite a criação de fantomas

com diversas formas e tamanhos, e sua transparência permite a modulação precisa das propriedades ópticas através da adição de outros materiais, como o dióxido de titânio (TiO_2) e nanopartículas de ouro (NpAu) (Smith et al., 2020).

3.1.3 Dióxido de Titânio (TiO_2)

O dióxido de titânio (TiO_2) é um composto amplamente utilizado em fantasmas para ajustar as propriedades de espalhamento da luz. TiO_2 é conhecido por seu alto índice de refração e forte capacidade de espalhamento, o que o torna ideal para simular a dispersão da luz em tecidos biológicos. Ao ser incorporado ao PDMS, o TiO_2 permite que os pesquisadores ajustem precisamente os coeficientes de espalhamento dos fantasmas, tornando-os mais representativos dos tecidos que se deseja estudar (Jones et al., 2019).

3.1.4 Nanopartículas de Ouro (NpAu)

As nanopartículas de ouro (NpAu) são utilizadas em fantasmas para simular o comportamento de absorção de luz em tecidos. As NpAu têm propriedades ópticas únicas, como a ressonância de plasmon de superfície, que pode ser ajustada variando o tamanho e a forma das partículas. Isso permite que as NpAu sejam utilizadas para mimetizar as características de absorção de tecidos com alta precisão, o que é especialmente útil para estudos de diagnóstico de câncer, onde a absorção de luz em diferentes comprimentos de onda pode indicar a presença de células cancerígenas (Norton & Vo-Dinh, 2003).

Os fantasmas desenvolvidos neste trabalho foram cuidadosamente projetados utilizando PDMS, TiO_2 e NpAu, para criar um material que replica com alta fidelidade as propriedades ópticas dos tecidos biológicos. Este processo de produção garante que os fantasmas sejam adequados para a validação das técnicas de imagem óptica utilizadas, contribuindo significativamente para a precisão dos resultados obtidos em estudos de diagnóstico.

3.1.5 Tamanho das Nanopartículas de Ouro Utilizadas

No presente trabalho, as nanopartículas de ouro utilizadas variaram entre 10 e 100 nanômetros. Essa faixa de tamanho foi selecionada para maximizar tanto a absorção quanto o espalhamento da luz, aspectos críticos para a técnica de imagem utilizada, Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI). Nanopartículas menores, na faixa de 10-20 nm, são conhecidas por sua alta eficiência de absorção, o que amplifica a interação da luz com o meio. Por outro lado, nanopartículas com tamanhos maiores (50-100 nm) são mais eficazes no espalhamento da luz, contribuindo para um maior contraste nas imagens ópticas (Dykman & Khlebtsov, 2012).

Essa variação no tamanho das NpAu permite um ajuste preciso das propriedades ópticas dos fantasmas, o que é essencial para simular com precisão a interação da luz com tecidos biológicos. Essa característica é particularmente relevante para a validação de métodos de diagnóstico não invasivos e para o estudo da penetração da luz em diferentes profundidades de tecidos (Jacques, 2013).

3.2 Preparação dos Fantasmas

No contexto deste trabalho, foram produzidos dois tipos de fantasmas: o fantoma de calibração e o fantoma contendo nanopartículas de ouro (NpAu).

3.2.1 Produção do Fantoma de Calibração

Para a confecção do fantoma de calibração, foi inicialmente preparada uma mistura composta por 0,05 g de dióxido de titânio (TiO_2) com 144,75 g de polidimetilsiloxano (PDMS). A esta mistura, foram adicionados 70 ml de Nanquim para conferir um tom cinza ao composto, necessário para simular as propriedades de espalhamento dos tecidos biológicos.

Os reagentes foram misturados até que uma homogeneidade completa fosse alcançada. Em seguida, foram adicionados 15 ml do agente ativador (Kit P-4, Eager Plastic), que é essencial para a vulcanização do sistema, conferindo ao fantoma a sua forma sólida final. Este processo de vulcanização é crucial para garantir que o fantoma possua as propriedades mecânicas adequadas para os testes subsequentes.

Uma vez que a mistura estava preparada, ela foi submetida a um processo de degaseificação utilizando uma bomba de vácuo, conforme mostrado na Figura 3. 1. Este passo é fundamental para remover bolhas de ar da mistura, garantindo a uniformidade do fantoma e a precisão nas medições ópticas.



Figura 3. 1: Processo de degaseificação utilizando a bomba de vácuo para a preparação do fantoma de calibração.

Após a remoção dos gases, o composto foi moldado e deixado para solidificar, resultando no fantoma de calibração, ilustrado na Figura 3. 2.

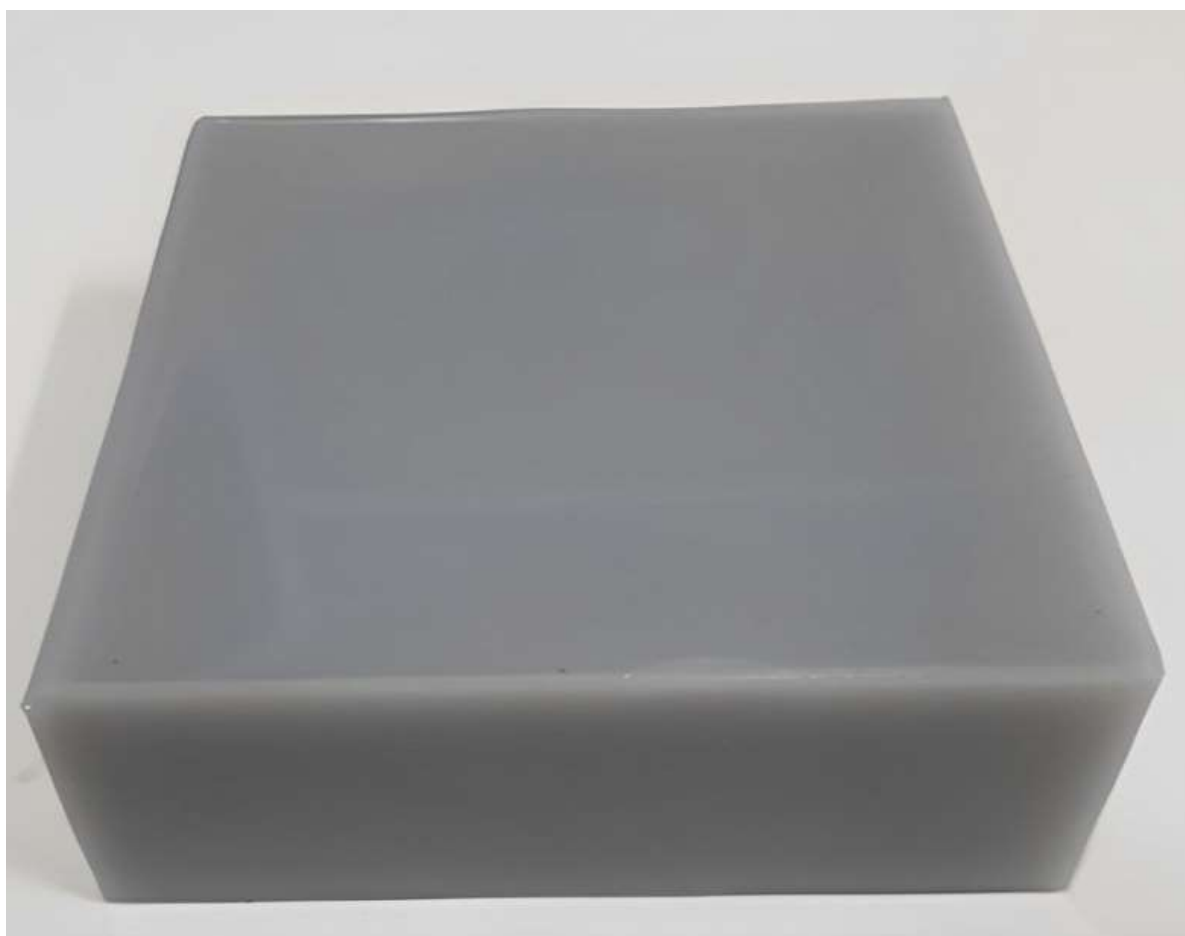


Figura 3. 2: Fantoma de calibração finalizado após o processo de vulcanização e desgaseificação.

3.2.2 Produção do Fantoma com NpAu

O fantoma com nanopartículas de ouro foi produzido em duas etapas principais: a preparação dos filmes com diferentes concentrações de NpAu e a montagem final do fantoma com três camadas.

3.2.2.1 Preparação dos Filmes (fantomas) com Diferentes Concentrações:

- Para cada filme, 1 ml do agente ativador foi misturado com 0,0015 g de TiO_2 em um Eppendorf. A quantidade de NpAu foi variada para criar diferentes concentrações, conforme ilustrado na Figura 3. 3.

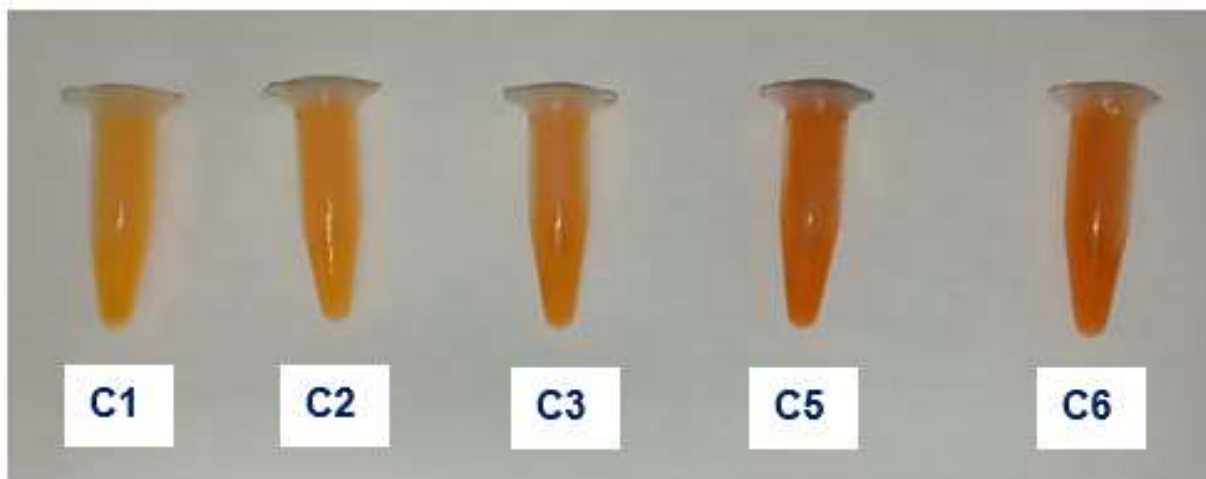


Figura 3. 3: Soluções de NpAu com diferentes concentrações.

- As misturas foram submetidas a um sonificador por aproximadamente 30 minutos para garantir a homogeneidade das soluções.
- Em seguida, aproximadamente 10,05 g de PDMS foram pesados em uma balança de precisão, e a solução do Eppendorf foi adicionada à massa de PDMS. A mistura foi realizada utilizando um micro retífica Dremel 300 (Figura 3. 4).



Figura 3. 4: Micro retifica Dremel 300 utilizada para homogeneização da mistura.

- A massa resultante foi colocada em moldes circulares, onde cada molde recebeu cerca de 3,6 g de massa total formando os filmes apresentados na Figura 3. 5 com uma espessura de 1,2 mm cada.

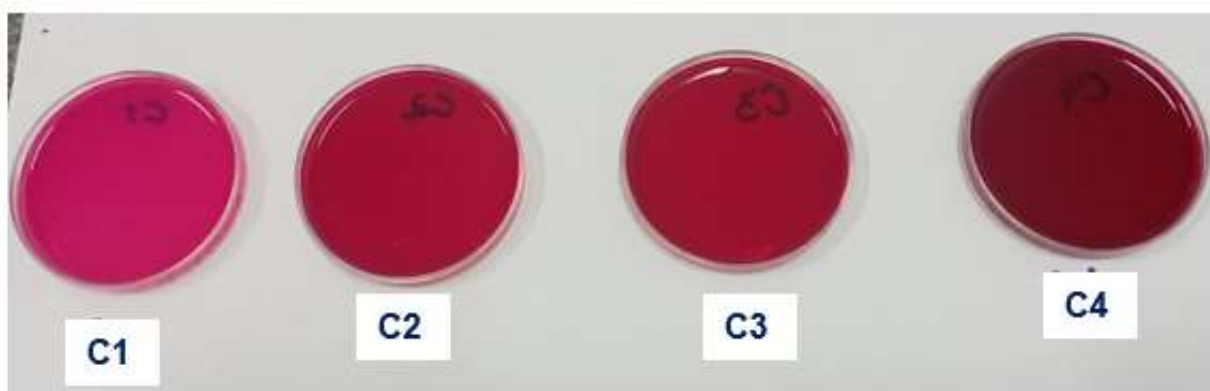


Figura 3. 5: Filmes ou fantasmas com diferentes concentrações de NpAu.

- Os moldes foram novamente submetidos ao processo de degasificação em uma bomba a vácuo. Após 24 horas, os filmes solidificados foram recortados em dimensões de 1 cm x 1 cm.

3.2.2.2 Montagem Final do Fantoma A3 e Adição das Camadas:

- Após a preparação dos filmes, uma nova massa de PDMS foi preparada seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente.
- Os filmes foram dispostos no fundo de um molde de acrílico circular, e a nova massa de PDMS foi vertida sobre eles. O conjunto foi novamente submetido à desgasificação e deixado em repouso por 24 horas, resultando no fantoma A3 com apenas 1 camada (Figura 3. 6).

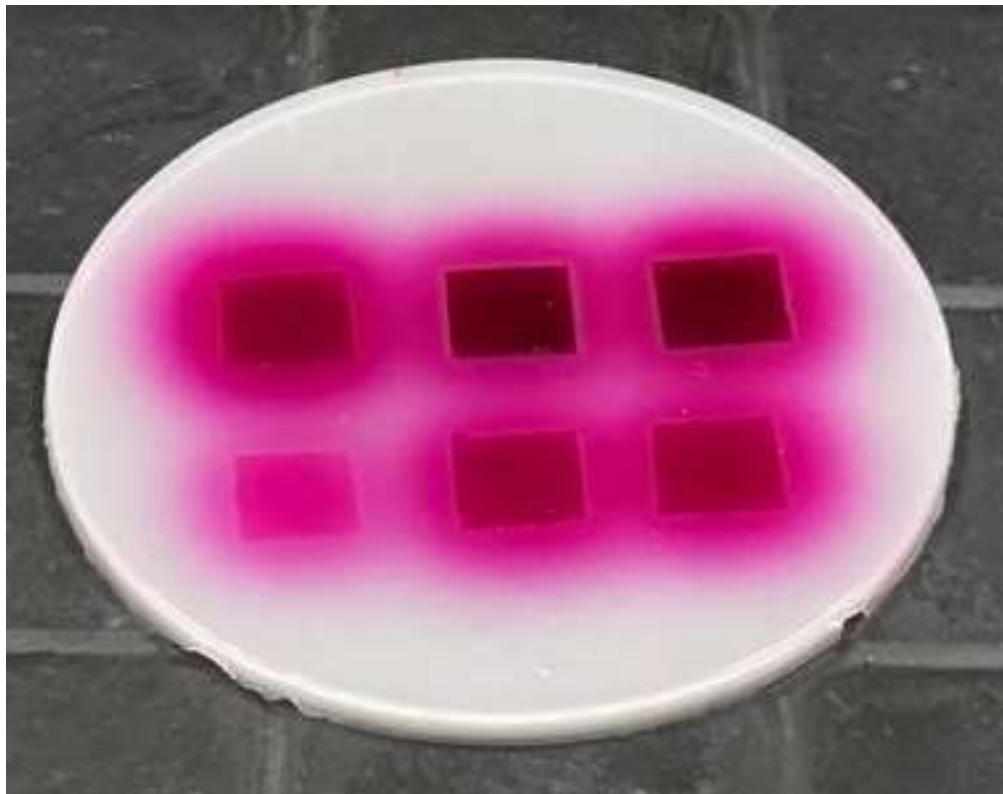


Figura 3. 6: Fantoma A3 composto pelos filmes de NpAu e PDMS, com apenas 1 camada.

- Duas camadas adicionais de PDMS foram preparadas e adicionadas ao fantoma A3, resultando nos fantasmas A31 e A32, com profundidades de 3 mm e 4,5 mm, respectivamente (Figura 3. 7 e Figura 3. 8).

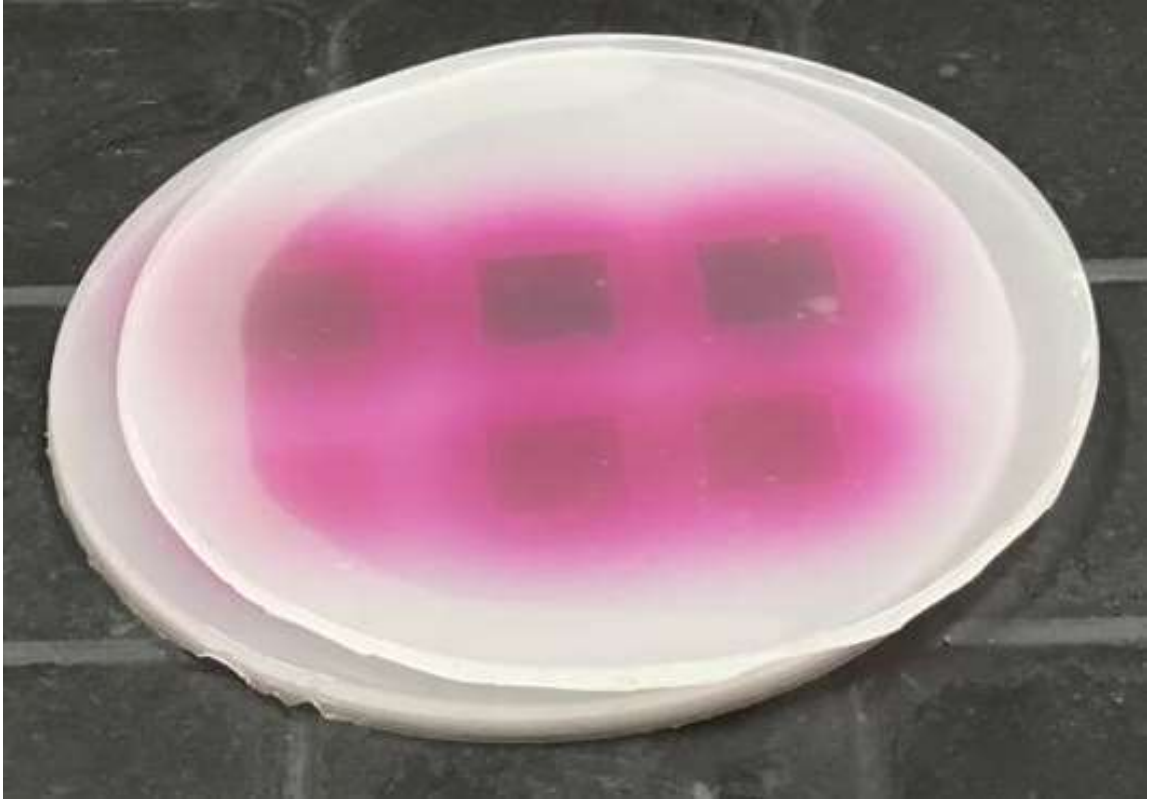


Figura 3. 7: Fantoma A31 após adição da primeira camada de PDMS.

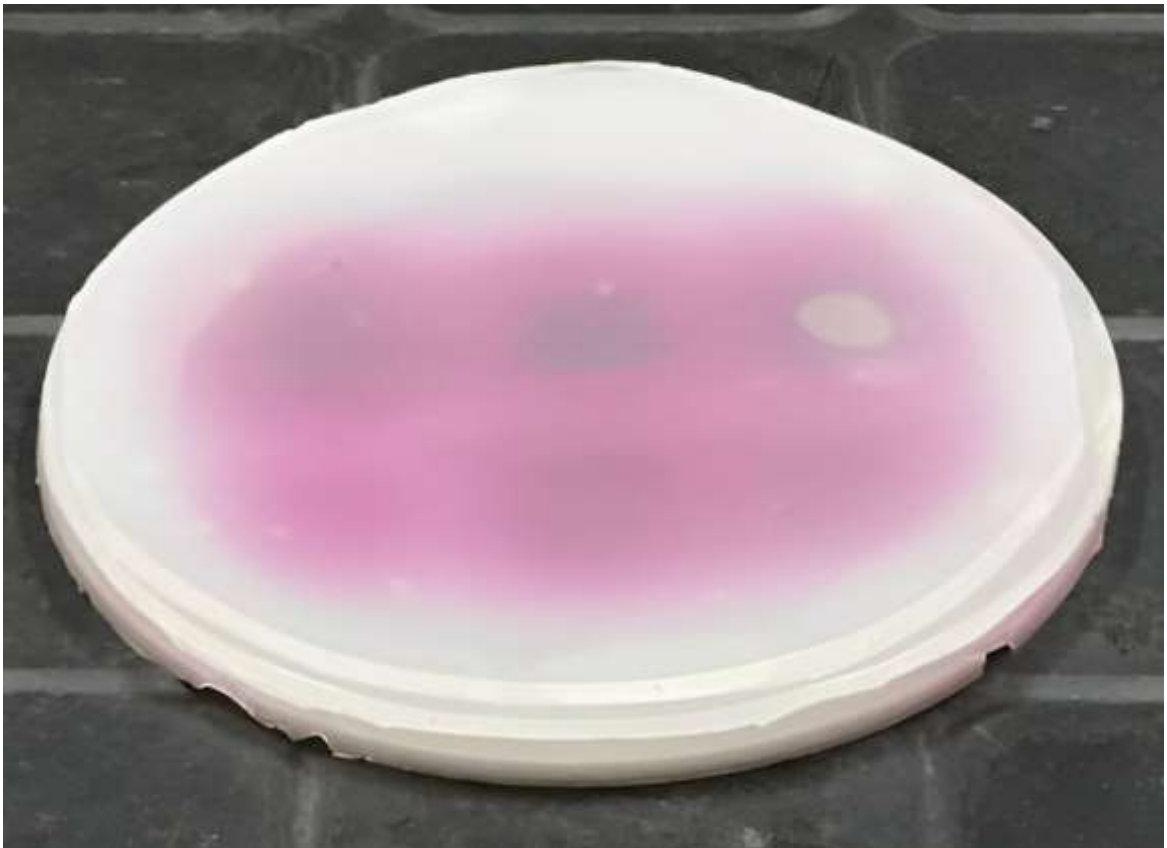


Figura 3. 8: Fantoma A32 após adição da segunda camada de PDMS.

A Figura 3. 8 mostra com detalhes o produto final do fantoma A3 composto por 3 camadas.

Nesta seção, detalhamos minuciosamente os procedimentos adotados para a realização desta pesquisa, incluindo a descrição dos equipamentos utilizados, como o sistema Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) e a esfera integradora, além da produção dos fantasmas de calibração e de nanopartículas de ouro (NpAu). Cada etapa foi cuidadosamente planejada e executada para garantir a precisão e a confiabilidade dos dados obtidos. Os materiais escolhidos e os métodos empregados refletem o estado da arte em pesquisas de física médica, possibilitando um mapeamento óptico detalhado e eficaz dos tecidos epiteliais.

Na próxima seção, apresentaremos e discutiremos os resultados obtidos com base nos métodos descritos, explorando como essas técnicas avançadas contribuíram para as descobertas e conclusões deste trabalho.

3.3 Técnica da Imagem no Domínio da Frequência Espacial

Neste estudo, foi utilizado o sistema Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) montado em nosso laboratório. O sistema inclui um projetor de luz (D555WH, Vivitek) e uma câmera CCD (DCC3240C USB 3.0 Digital Camera, Thorlabs Inc.) de 8 bits, com resolução de 1280 x 1024 pixels para a coleta das imagens, acoplada a uma lente de distância focal fixa (59873 50mm F2.0 Compact Industrial C-Mount, Edmund Optics). O projetor tem um range espectral de 400 nm a 700 nm, o que corresponde ao espectro visível de luz. Foram utilizadas as seguintes frequências espaciais: 0; 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4 mm⁻¹.

Outros equipamentos utilizados incluíram uma roda de filtro (CFW6, Thorlabs Inc.) contendo cinco filtros ópticos passa-baixa para medições em faixas estreitas de comprimento de onda e um espectrômetro USB4000-UV-VIS da Ocean Optics (OCEAN OPTICS, 2015). Os padrões de iluminação em escala de cinza foram gerados usando a fonte de luz em combinação com um modulador espacial de luz. O modulador foi acoplado à saída da fonte de luz, conectado por meio de uma fibra óptica ao Dispositivo Digital de Microespelhos (DMD, do inglês Digital Micromirror

Device), que está localizado dentro do projetor e tem a função de modular a luz projetada na amostra (BASSANI et al., 2014). O set-up foi montado baseando-se no modelo proposto por Applegate et al. (2023), disponível em [<https://opensfdi.org>].

A configuração do sistema pode ser vista nas figuras a seguir, mostrando a montagem completa do equipamento utilizado para as medições. A Figura 3. 9 mostra o projetor Vivitek D555WH, a Figura 3. 10 ilustra a câmera CCD e a roda de filtros, a Figura 3. 11 apresenta a montagem do sistema SFDI e a Figura 3. 12 exibe o sistema montado no laboratório.

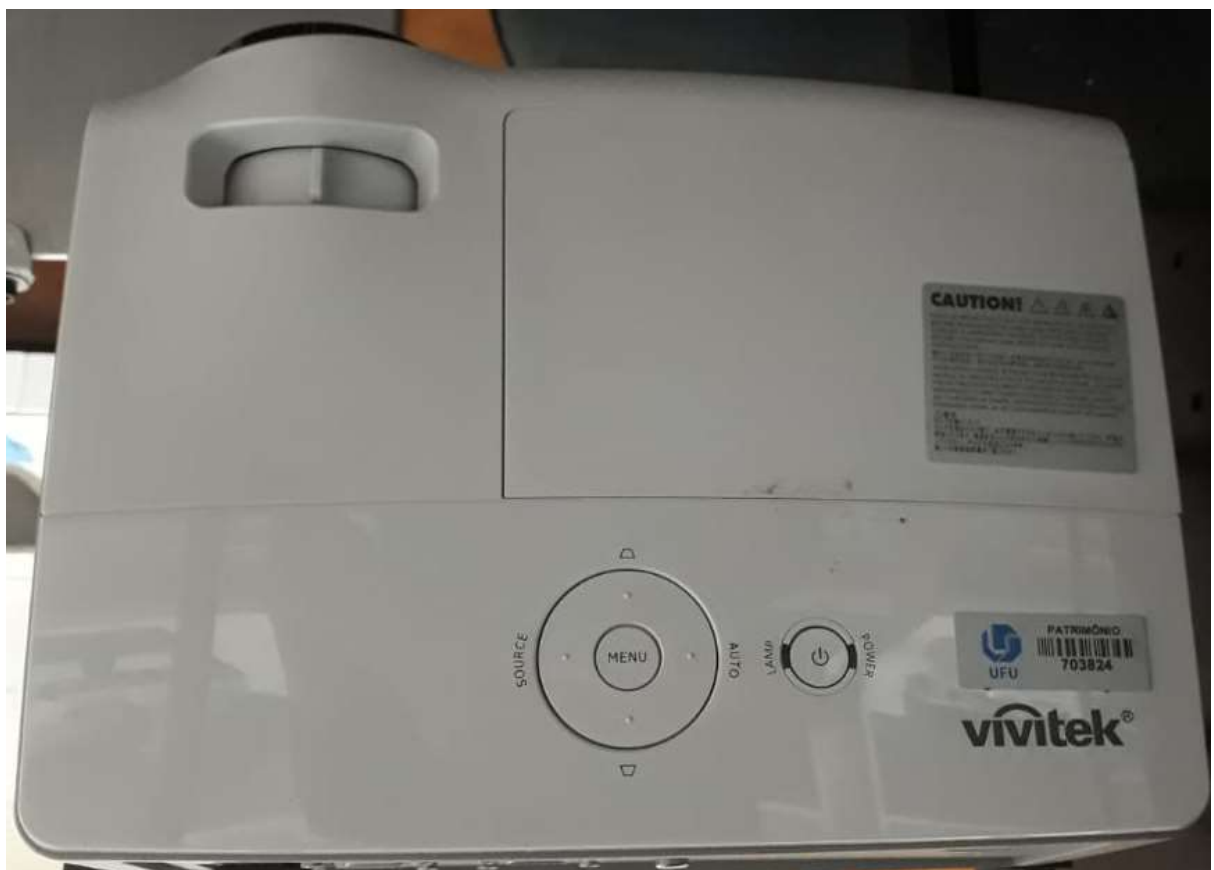


Figura 3. 9: Projetor Vivitek D555WH utilizado no sistema SFDI para projetar padrões de luz sobre as amostras.



Figura 3. 10: Câmera CCD DCC3240C USB 3.0 Digital Camera acoplada à roda de filtros CFW6, ambas da Thorlabs Inc., utilizadas para a coleta das imagens.



Figura 3. 11: Montagem do sistema SFDI mostrando a configuração dos equipamentos, incluindo o projetor e a câmera.



Figura 3. 12: Sistema SFDI montado no laboratório, mostrando a disposição final dos componentes para as medições.

3.3.1 Set-Up e Código do SFDI

Para a aquisição e processamento das imagens, foi utilizado um selfcode adaptado de um código-fonte de modelos comerciais de SFDI. Esse procedimento foi realizado através do software LabVIEW da National Instruments (NI), que possibilita a criação de instrumentos virtuais por meio de uma interface gráfica intuitiva. A interface do LabVIEW (Figura 3. 13) inclui uma tela de comandos, diagrama de blocos e conectores, que juntos permitem o controle preciso dos equipamentos envolvidos no processo de SFDI.

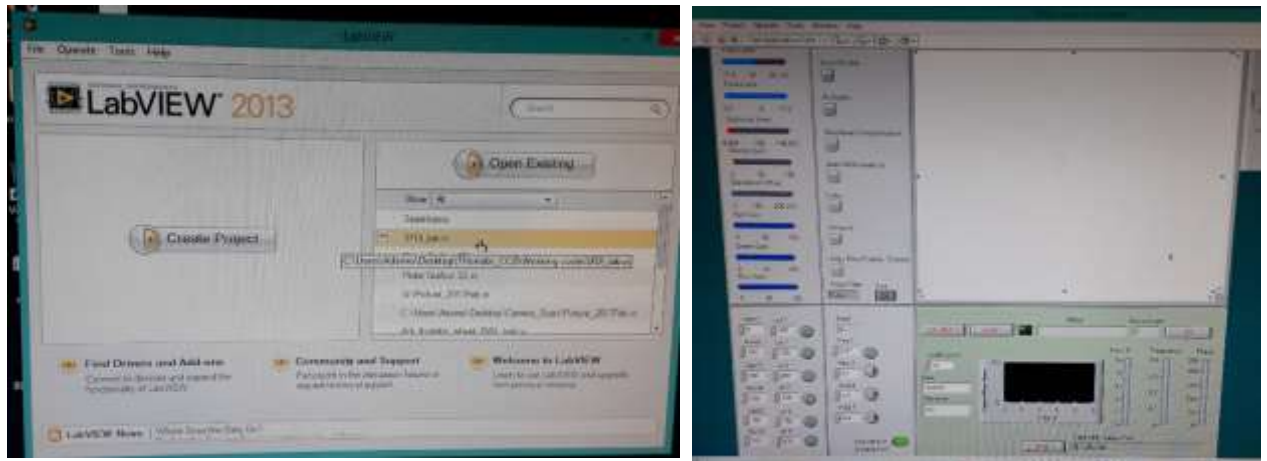


Figura 3. 13: Tela de comando do LabVIEW utilizada para a aquisição das imagens moduladas dos fantasmas.

Após a aquisição das imagens moduladas dos fantasmas pelo LabVIEW, o processamento foi realizado no software MATLAB. O MATLAB comprime as imagens de reflexão adquiridas, processando-as para fornecer os coeficientes de absorção e espalhamento — parâmetros ópticos essenciais para a análise dos fantasmas estudados.

O código implementado no MATLAB foi estruturado em três partes principais:

Convert_HC1_data.m: Este script converte o formato de imagem modulada adquirida pelo SFDI e pelo LabVIEW em dados, criando um arquivo Raw. Este arquivo contém todas as informações da imagem capturada pela câmera, sem qualquer perda ou modificação dos dados originais. A integridade desses dados é crucial para assegurar a precisão nos cálculos subsequentes.

Test_script_for_HC1.m: Este script converte as informações contidas no arquivo Raw em um mapa de cores, permitindo ao usuário selecionar o método de processamento da imagem, que pode ser baseado em LUT (Look-Up Table), Difusão ou Monte Carlo, além de permitir a escolha de um par de frequências espaciais (LUTfreqsidx) para cada conjunto de cinco frequências espaciais utilizadas. No presente trabalho, foram empregados os métodos LUT e Difusão. O método LUT é fundamentado em uma tabela de referência Monte Carlo, enquanto o método de Difusão utiliza a Equação de Difusão para calcular o coeficiente de absorção da luz no meio (μ_a) e o coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s'). Esses métodos são

amplamente reconhecidos na literatura e conferem uma robustez significativa ao processamento dos dados (Bassani et al., 2014; Smith et al., 2020).

Seleção de Regiões de Interesse (ROI): Na última etapa, o MATLAB solicita que o usuário selecione as Regiões de Interesse (ROI) na imagem processada (Figura 3. 14). A seleção dessas regiões é essencial para determinar os valores médios de absorção e espalhamento na área específica do fantoma que está sendo analisada. Este passo permite uma análise detalhada e focalizada, essencial para a precisão dos resultados e para a comparação com dados experimentais de referência (Norton & Vo-Dinh, 2003).

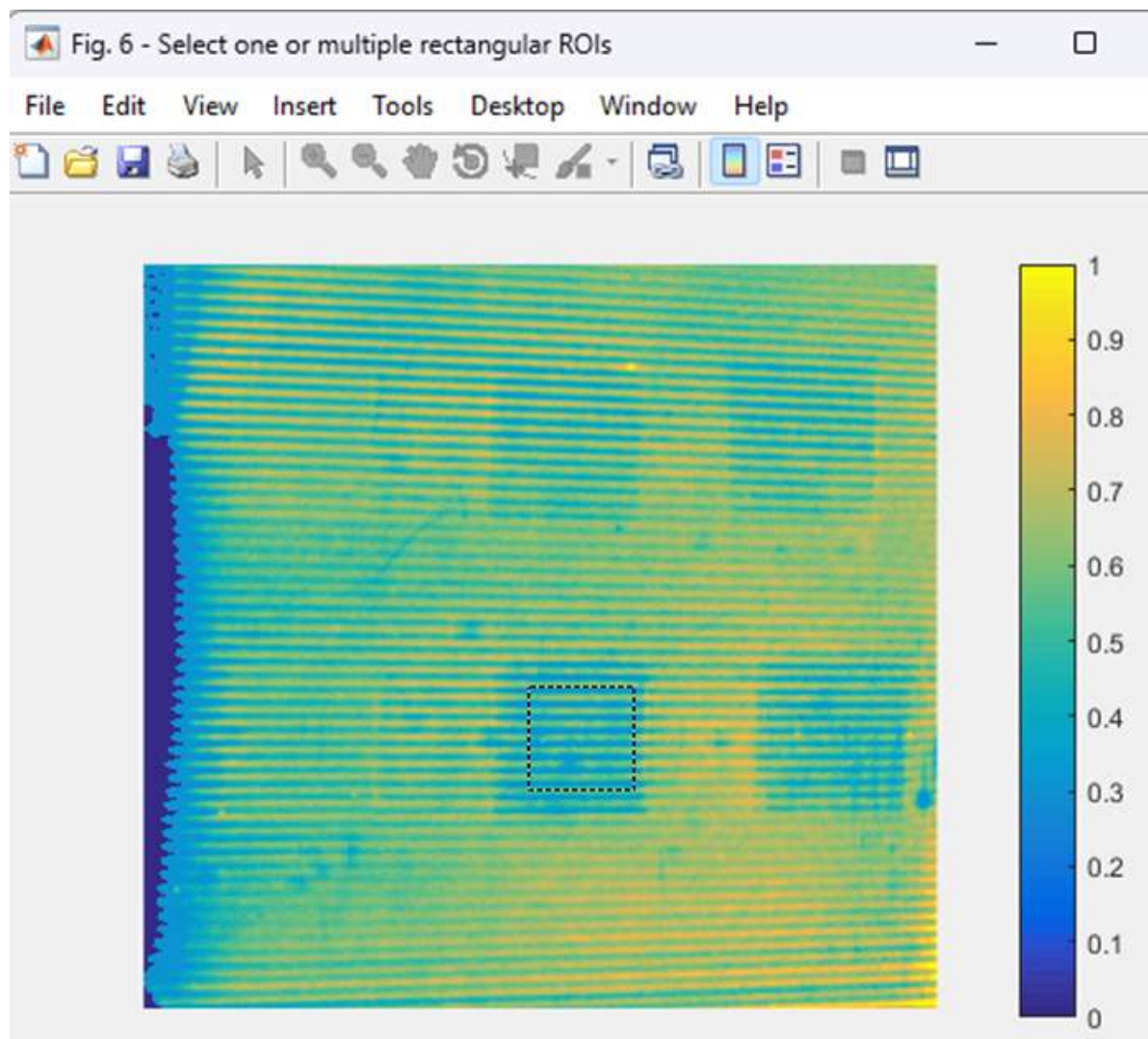


Figura 3. 14: Interface do MATLAB para a seleção das Regiões de Interesse (ROI) na análise dos fantasmas.

O código completo implementado no MATLAB está detalhado no **Anexo I** deste trabalho, oferecendo uma visão abrangente do processo de desenvolvimento e das etapas de processamento dos dados adquiridos.

3.4 Equipamento da Esfera Integradora

A Esfera Integradora desempenha um papel fundamental na realização de medidas ópticas, especialmente quando o objetivo é caracterizar as propriedades de reflexão e transmissão de amostras biológicas. No presente estudo, utilizamos uma Esfera Integradora de alta precisão, modelo "Labsphere RSA-PE-20-IS," projetada especificamente para aplicações em pesquisa biomédica e diagnóstico médico (Norton & Vo-Dinh, 2003). Este equipamento é revestido internamente com Spectralon, um material altamente refletivo que minimiza a absorção da luz e maximiza a reflectância difusa, garantindo assim medições precisas (Smith et al., 2020).

Com um diâmetro de 20 cm, a Esfera Integradora foi acoplada a um sistema de iluminação composto por uma lâmpada de luz branca de alta intensidade. Essa configuração proporciona uma fonte de luz homogênea e estável, fundamental para a iluminação uniforme da superfície das amostras (Norton & Vo-Dinh, 2003). A reflectância difusa das amostras foi medida por meio de um detector de luz, estrategicamente posicionado em um orifício na esfera, que registra a luz refletida de forma difusa em todas as direções dentro da esfera (Smith et al., 2020).

O método utilizado para a análise dos dados foi o Inverse Adding-Doubling (IAD), amplamente reconhecido e empregado em estudos de espectroscopia de reflectância difusa para a determinação dos coeficientes de absorção e espalhamento de tecidos biológicos. Este método permitiu uma caracterização óptica precisa dos tecidos estudados, oferecendo dados fundamentais para o desenvolvimento e validação das técnicas de diagnóstico abordadas neste trabalho (Norton & Vo-Dinh, 2003).

A Figura 3. 15 ilustra o set-up experimental utilizado para as medidas com a Esfera Integradora, destacando os componentes principais, incluindo a fibra óptica, a fonte luminosa, os espelhos, e o fantoma posicionado para a medição.

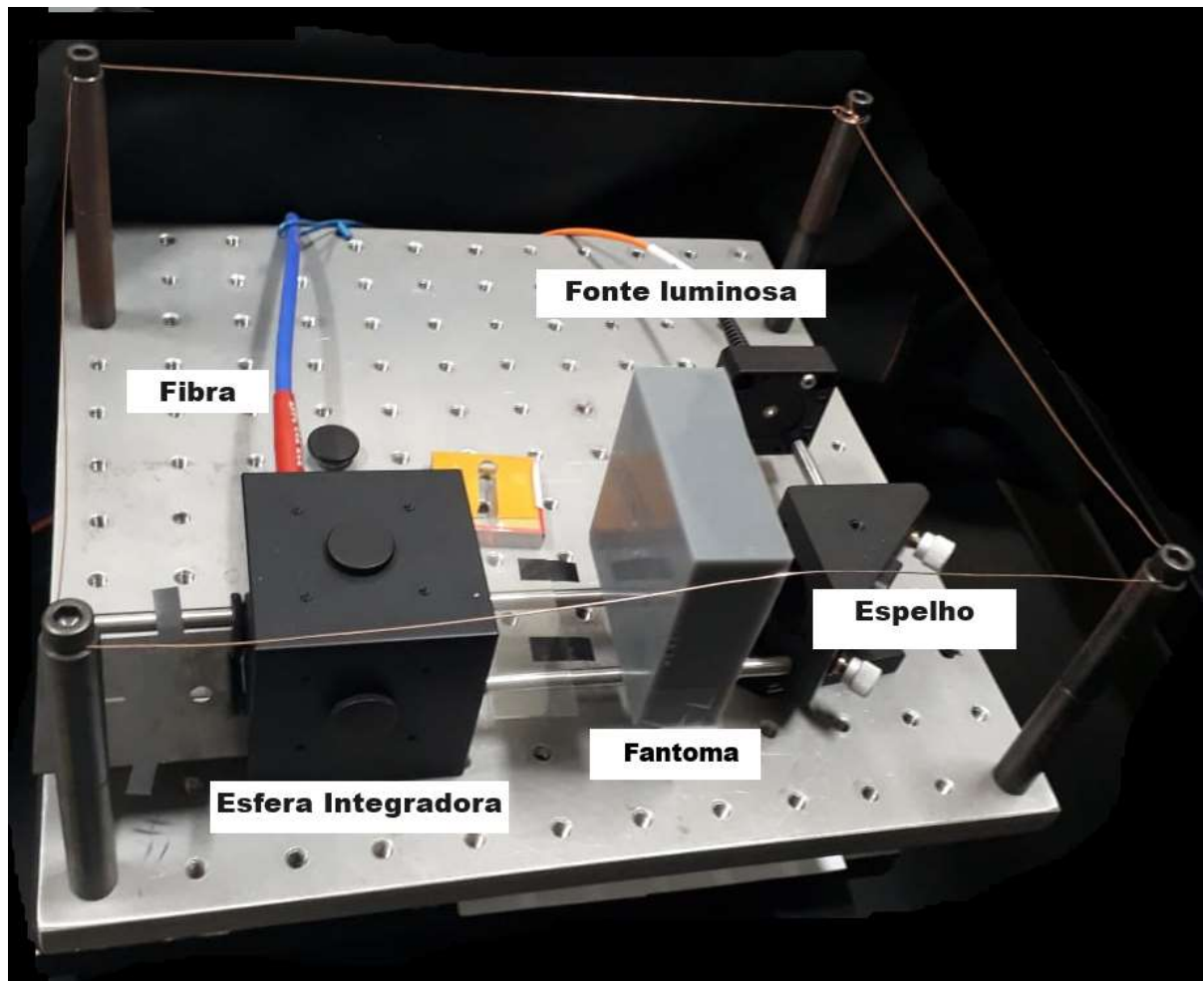


Figura 3. 15: Set-up experimental da Esfera Integradora utilizado para a caracterização óptica dos fantoma. Destacam-se a fonte luminosa, a fibra óptica, o fantoma, e os espelhos.

Com este arranjo experimental, foi possível realizar medições precisas dos coeficientes de absorção e espalhamento dos fantasmas utilizados. A integração da Esfera Integradora com o método IAD proporcionou dados confiáveis e reproduzíveis, essenciais para a caracterização óptica detalhada dos materiais em estudo. Esses resultados serviram como base para as análises subsequentes, permitindo uma compreensão aprofundada das interações da luz com os tecidos simulados. Assim, a utilização deste equipamento e metodologia contribuiu significativamente para a validação das técnicas de diagnóstico óptico abordadas nesta pesquisa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo, apresentamos os resultados do nosso estudo sobre a profundidade de penetração da luz em tecidos biológicos utilizando a técnica Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI). Os resultados estão organizados em várias seções principais, cada uma abordando um aspecto crucial da pesquisa.

4.1 Determinação do filtro utilizado

A escolha do filtro adequado foi baseada na análise de cinco filtros diferentes, cada um com características específicas de transmissão dentro da janela terapêutica. Essa seleção é fundamental para garantir a penetração adequada da luz e a obtenção de imagens precisas do tecido epitelial. Após testes comparativos, o filtro que apresentou a melhor combinação de eficiência de transmissão e compatibilidade com a janela terapêutica foi selecionado para o restante do estudo.

Para selecionar os filtros utilizados na base giratória do equipamento SFDI, realizamos uma análise detalhada do espectro de transmissão dos filtros disponíveis. Esta análise foi fundamental para garantir a eficácia da técnica SFDI na penetração da luz em tecidos biológicos. Utilizamos um espectrômetro USB4000-UV-VIS da Ocean Optics para coletar os dados de transmissão, e os espectros de transmitância foram obtidos a partir da utilização do software Origin (OCEAN OPTICS, 2015; ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

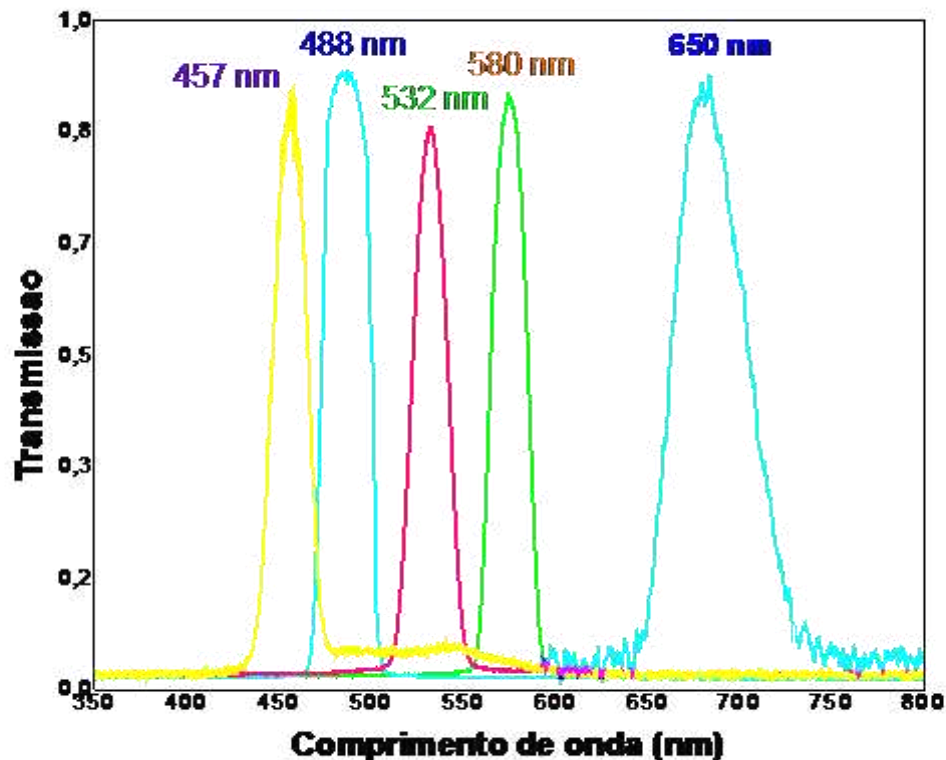


Figura 4. 1: Espectro de transmissão dos filtros utilizados no estudo. Os picos de transmissão estão localizados em 457 nm, 488 nm, 532 nm, 580 nm e 650 nm, respectivamente. O filtro de 650 nm foi escolhido por sua compatibilidade com a janela terapêutica e eficiência na penetração de luz nos tecidos biológicos.

4.1.1 Critérios de seleção dos filtros

A escolha dos filtros foi baseada em dois critérios principais: a região do espectro eletromagnético e a eficiência de transmissão. Os filtros devem operar na faixa de comprimentos de onda entre 600 e 1200 nm, abrangendo do vermelho ao infravermelho próximo (IV próximo). Esta faixa é crucial para permitir a penetração eficaz da luz nos tecidos biológicos. Além disso, a eficiência de transmissão dos filtros foi avaliada para garantir a máxima passagem de luz, minimizando a absorção e a perda de energia (BASSANI et al., 2014).

4.1.2 Análise dos espectros de transmissão

Conforme ilustrado na Figura 4. 1, foram medidos os espectros de transmissão de cinco filtros, com picos de transmissão em 457 nm, 488 nm, 532 nm, 580 nm e 650 nm. A análise dos dados revelou que apenas o filtro de 650 nm se enquadrava na janela terapêutica (600-1200 nm).

4.1.3 Escolha do Filtro Ideal

O filtro de 650 nm foi selecionado com base em sua capacidade de absorver uma quantidade mínima de luz, resultando em baixa perda de energia e permitindo que o feixe luminoso alcance regiões mais profundas dos tecidos biológicos. Esta característica é essencial para o mapeamento óptico preciso das camadas internas do tecido epitelial. A compatibilidade do filtro de 650 nm com a janela terapêutica assegura que ele está otimizado para a faixa de comprimentos de onda que proporciona a melhor penetração sem causar danos aos tecidos.

4.1.4 Aplicação do filtro no SFDI

Após a seleção do filtro de 650 nm, o equipamento SFDI foi configurado para utilizar este filtro nas análises subsequentes. O processo de aplicação incluiu:

1. **Configuração do equipamento:** A base giratória do SFDI foi equipada com o filtro de 650 nm, e ajustes específicos foram feitos para otimizar a captura das imagens.
2. **Aquisição das imagens:** Imagens de fantasmas biológicos foram adquiridas utilizando a luz filtrada, garantindo a penetração adequada da luz e a captura precisa dos dados sobre as camadas internas dos tecidos.
3. **Processamento das imagens:** As imagens capturadas foram processadas para analisar as propriedades ópticas dos fantasmas, focando na profundidade de penetração da luz e na resolução das camadas internas.

Esta metodologia detalhada assegura que a seleção e a aplicação do filtro de 650 nm foram realizadas de maneira precisa e fundamentada, permitindo a obtenção de resultados confiáveis e relevantes para o mapeamento óptico dos tecidos epiteliais.

4.2 Processamento das imagens no SFDI

O processamento das imagens no Sistema de Imagem no Domínio da Frequência Espacial (SFDI) é um passo fundamental para a análise detalhada das propriedades ópticas dos fantasmas biológicos. Elas foram processadas para diferentes comprimentos de onda e fases distintas. Além disso, este processamento incluiu a modulação das imagens em diversas frequências espaciais, permitindo a análise detalhada das propriedades ópticas dos tecidos.

As imagens moduladas demonstraram variações significativas dependendo do comprimento de onda e da frequência espacial, fornecendo insights valiosos sobre a estrutura e composição do tecido epitelial.

4.2.1 Imagens moduladas em diferentes fases

Na Figura 4. 2, apresentamos as imagens moduladas do fantoma A3 nas fases 0° , 120° e 240° e na frequência espacial de $0,4 \text{ mm}^{-1}$. Estas imagens foram obtidas para três comprimentos de onda: 457 nm, 488 nm e 650 nm. A modulação em diferentes fases permite a extração das propriedades ópticas do fantoma, essencial para a reconstrução precisa das imagens de refletância (BASSANI et al., 2014).

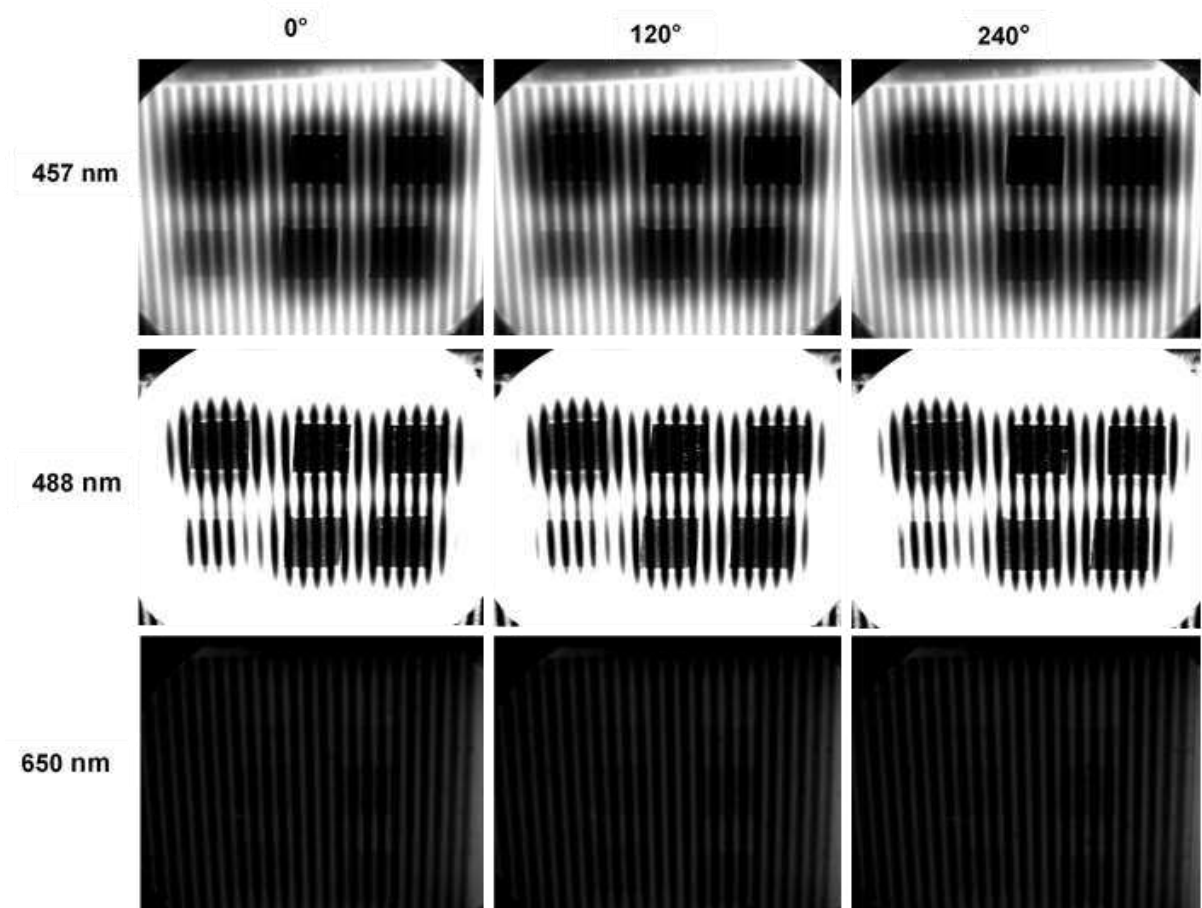


Figura 4. 2: Imagens moduladas do Fantoma A3 nas fases 0° , 120° e 240° , e na frequência espacial de $0,4 \text{ mm}^{-1}$ para os comprimentos de onda 457 nm, 488 nm e 650 nm.

4.2.2 Imagens moduladas em diferentes frequências espaciais

A Figura 4. 3 mostra as imagens moduladas do Fantoma A3 com o comprimento de onda de 650 nm e em várias frequências espaciais: $0,05 \text{ mm}^{-1}$, $0,1 \text{ mm}^{-1}$, $0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $0,4 \text{ mm}^{-1}$. A modulação em diferentes frequências espaciais é fundamental para obter informações sobre a profundidade de penetração da luz e as propriedades de espalhamento do fantoma. Cada imagem revela como a luz interage com as diferentes camadas do fantoma, permitindo a análise detalhada das suas características internas (OCEAN OPTICS, 2015).

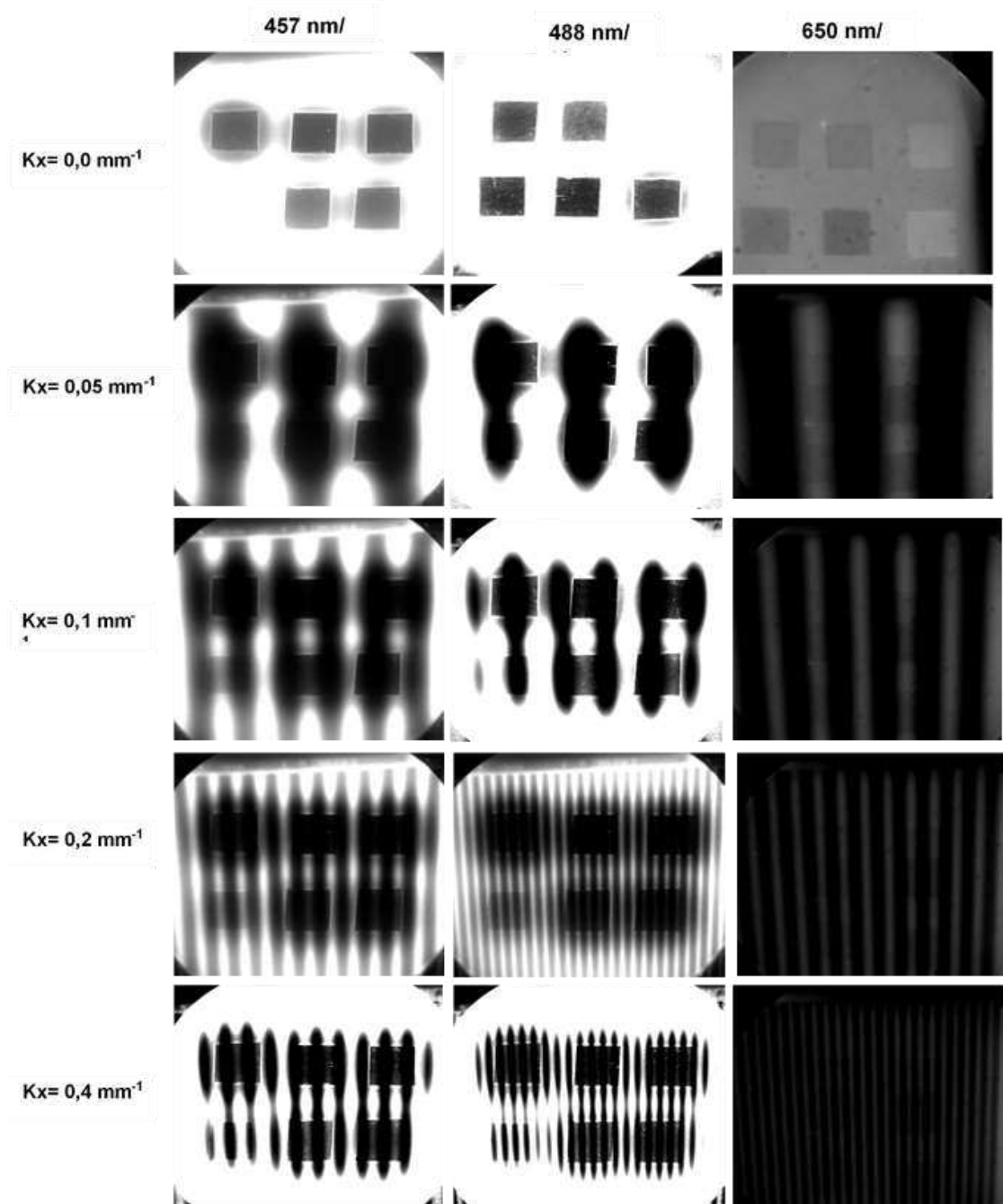


Figura 4. 3: Imagens moduladas do Fantoma A3 no comprimento de onda de 650 nm e frequências espaciais de $0,05 \text{ mm}^{-1}$, $0,1 \text{ mm}^{-1}$, $0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $0,4 \text{ mm}^{-1}$.

Estas imagens moduladas, processadas no software *LabView*, são essenciais para a análise quantitativa das propriedades ópticas dos fantasmas. Através dessas análises, é possível determinar a absorção e o espalhamento da luz em diferentes profundidades, fornecendo dados críticos para o mapeamento óptico e diagnóstico de lesões em tecidos biológicos (ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

4.3 Características dos filmes inseridos nos fantasmas

Os filmes produzidos para inserção nos fantasmas foram caracterizados em termos de massa dos núcleos espalhadores de luz (TiO_2), das nanopartículas de ouro (NpAu) responsáveis pela absorção e a massa do meio de fundo utilizado (PDMS) e espessura de cada filme. Foram produzidos cinco filmes com diferentes concentrações, permitindo a análise comparativa dos efeitos dessas variáveis nas propriedades ópticas dos filmes.

4.3.1 Dados dos filmes

A Tabela 4. 1 apresenta as características dos filmes C1, C2, C3, C5 e C6, incluindo as massas de PDMS, catalisador, TiO_2 , NpAu, a massa total (M_T), a espessura (D) e a concentração final de cada filme dada em gramas de NpAu por gramas da Massa total (M_T). Os dados do filme C4 não serão apresentados, pois os resultados para ele foram inconsistentes.

Tabela 4. 1: Características dos Filmes Produzidos.

	C1	C2	C3	C5	C6
PDMS (g)	10,08	10,04	10,04	10,15	10,05
Catalisador (ml)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
TiO₂ (g)	0,0015	0,0015	0,0015	0,0015	0,0016
NpAu (g)	0,0005	0,0013	0,002	0,004	0,005
M_T (g)	0,851	0,834	0,845	0,89	0,931
D (mm)	1,2	1,3	1,2	1,2	1,2
Concentração (g/g)	0,0006	0,0016	0,0024	0,0045	0,0054

Os filmes foram preparados com concentrações variadas de nanopartículas de ouro (NpAu) e TiO_2 , mantendo constantes as quantidades de PDMS e catalisador. As massas de PDMS variaram ligeiramente entre os filmes, enquanto a quantidade de catalisador foi mantida constante em 1 ml para todos os filmes. A quantidade de TiO_2 foi mantida aproximadamente constante, com uma leve variação no filme C6.

Observou-se um aumento na massa total (M_T) dos filmes com o aumento da concentração de NpAu. O filme C1, com a menor concentração de NpAu (0,0005 g), apresentou a menor massa total, enquanto o filme C6, com a maior concentração de NpAu (0,005 g), apresentou a maior massa total. Este aumento na massa total está correlacionado com a quantidade de NpAu adicionada, indicando que a variação na concentração de NpAu impacta diretamente a massa total dos filmes (BASSANI et al., 2014).

A espessura dos filmes variou ligeiramente, com a maioria dos filmes apresentando uma espessura de 1,2 mm, exceto o filme C2, que apresentou uma espessura de 1,3 mm. A espessura é um parâmetro crítico para a análise das propriedades ópticas, pois influencia diretamente a penetração da luz e o comportamento de espalhamento e absorção dos filmes (OCEAN OPTICS, 2015).

Os resultados demonstram que as diferentes concentrações de NpAu nos filmes permitiram uma análise comparativa das propriedades ópticas dos fantasmas, fornecendo uma base sólida para estudos subsequentes sobre a profundidade de penetração da luz e a eficiência de mapeamento óptico em tecidos biológicos (ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

4.4 Coeficientes de absorção e espalhamento na Esfera Integradora

Os coeficientes de absorção e espalhamento dos cinco filmes produzidos foram medidos utilizando a Esfera Integradora. Os dados obtidos revelaram diferenças significativas entre os filmes, dependendo da concentração dos núcleos espalhadores de luz e da espessura dos filmes. Os gráficos foram gerados para visualizar essas diferenças e compreender melhor o comportamento óptico dos filmes e estão representados abaixo nas Figura 4. 4 - Figura 4. 8 (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015; ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

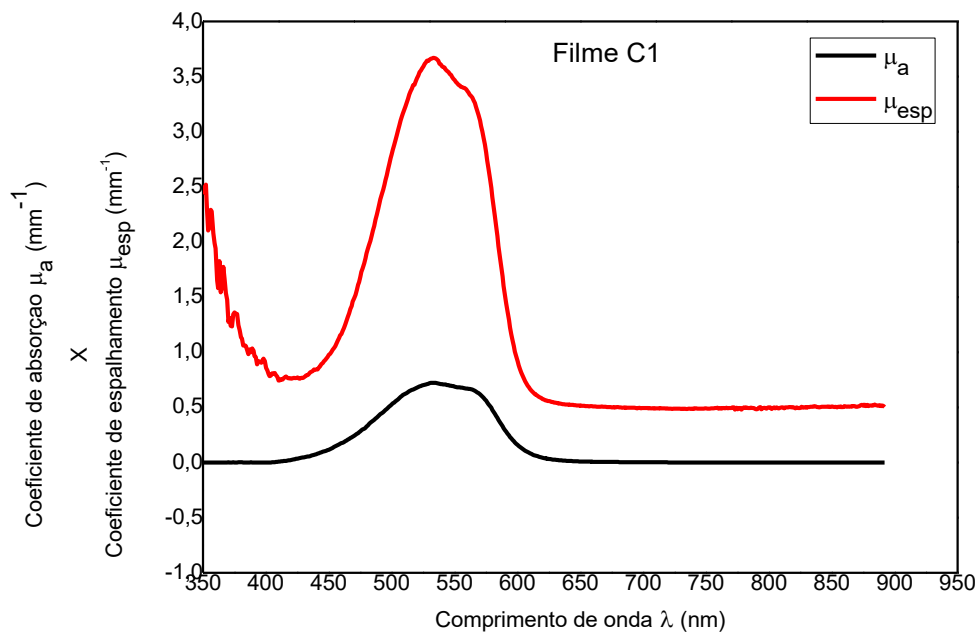


Figura 4. 4: Coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_{esp}) do filme C1 em função do comprimento de onda.

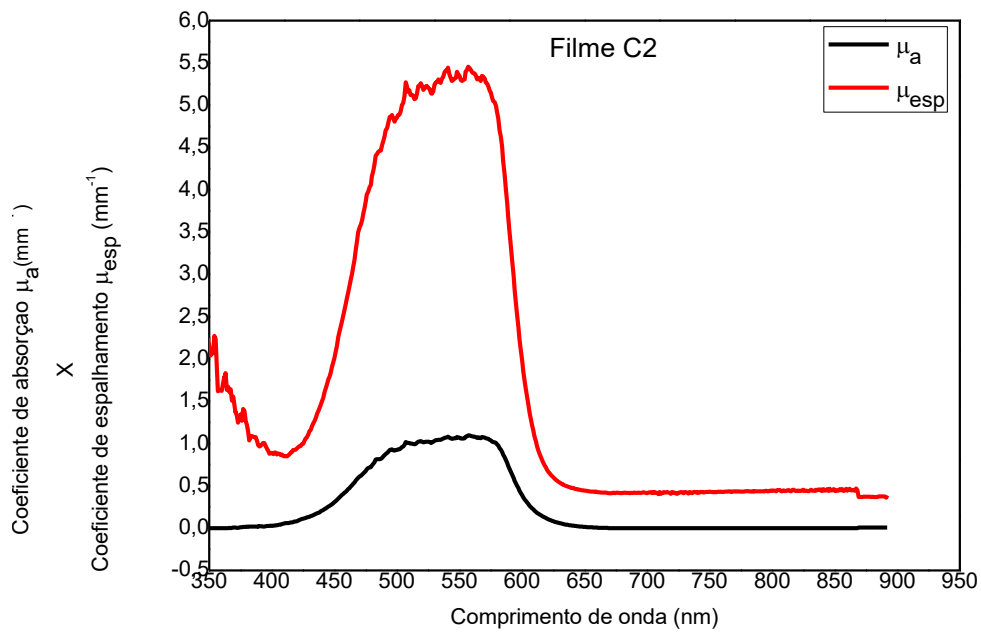


Figura 4. 5: Coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_{esp}) do filme C2 em função do comprimento de onda.

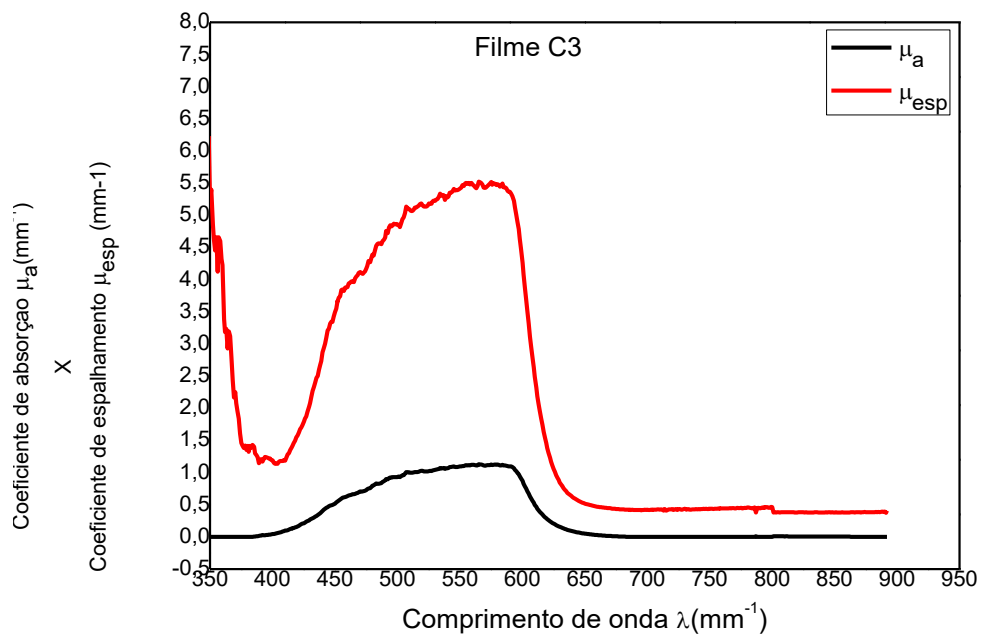


Figura 4. 6: Coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_{esp}) do filme C3 em função do comprimento de onda.

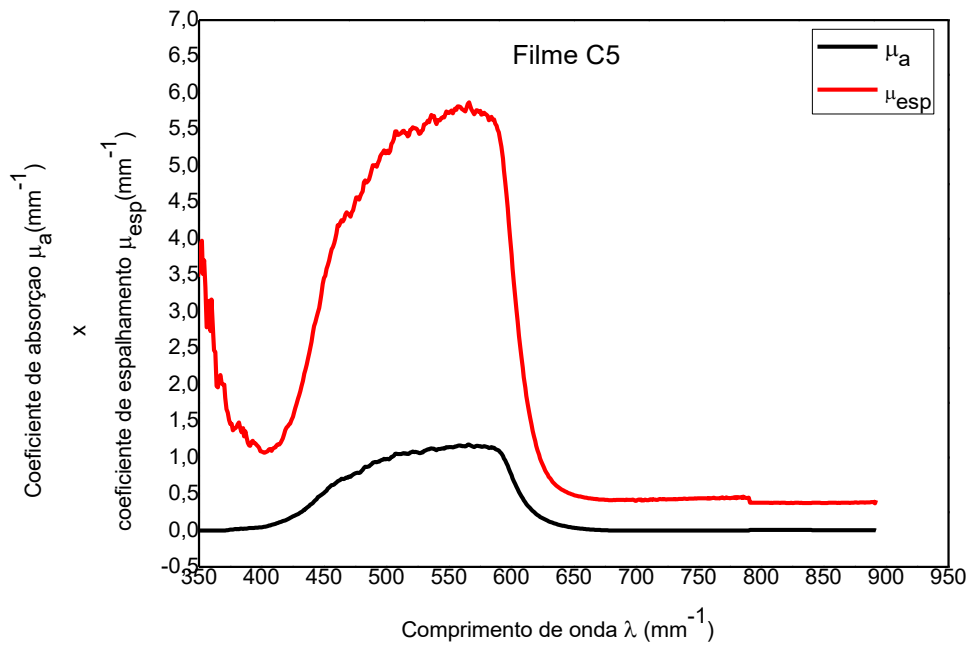


Figura 4. 7: Coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_{esp}) do filme C5 em função do comprimento de onda.

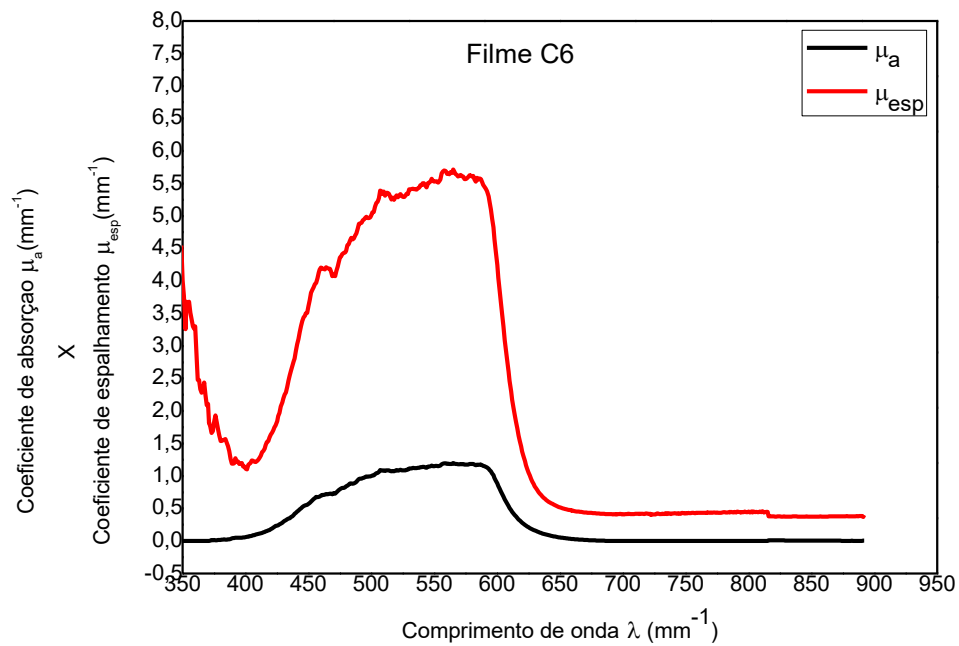


Figura 4. 8: Coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_{esp}) do filme C6 em função do comprimento de onda.

Os gráficos nas Figura 4. 4 - Figura 4. 8 apresentam os coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_{esp}) para os filmes C1, C2, C3, C5 e C6 em função do comprimento de onda. Em todos os gráficos, observa-se que o espalhamento é sempre maior do que a absorção, o que é consistente com as características ópticas esperadas para filmes contendo NpAu e TiO_2 (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015).

- Filme C1: Apresenta um pico de espalhamento significativo em torno de 450 nm, com uma menor absorção na mesma faixa. A elevada razão de espalhamento para absorção indica que este filme é mais eficiente na dispersão da luz do que na absorção.
- Filme C2: Mostra um comportamento similar ao filme C1, mas com um pico de espalhamento mais pronunciado. A concentração maior de NpAu neste filme pode explicar o aumento do espalhamento.
- Filme C3: Demonstra um pico de espalhamento próximo de 550 nm. A absorção também é relativamente baixa, mas é mais pronunciada do que nos filmes C1 e C2. Este comportamento pode ser atribuído a uma distribuição diferente das nanopartículas e TiO_2 .
- Filme C5: Exibe um pico de espalhamento elevado em torno de 550 nm, com um padrão de absorção semelhante ao observado nos filmes anteriores. A maior concentração de NpAu neste filme contribui para o aumento do espalhamento.
- Filme C6: Apresenta o maior pico de espalhamento entre todos os filmes, novamente próximo de 550 nm. A alta concentração de NpAu e a espessura consistente deste filme são fatores que explicam este comportamento. A absorção, embora maior do que nos filmes C1 e C2, ainda é menor que o espalhamento, reforçando a característica dispersiva do filme.

Os resultados indicam que, independentemente do filme, o espalhamento domina sobre a absorção. Isso é esperado devido à presença de TiO_2 e nanopartículas de ouro, que são conhecidas por suas propriedades de alta dispersão. A variação nos coeficientes de espalhamento entre os filmes é atribuída principalmente às diferenças nas concentrações de NpAu, confirmando que o

aumento da concentração de nanopartículas resulta em maior espalhamento (ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

Essas observações são cruciais para a aplicação dos filmes em mapeamento óptico, pois a capacidade de espalhamento afeta diretamente a profundidade de penetração da luz e a resolução das imagens obtidas. Filmes com maior espalhamento podem ser mais adequados para aplicações que requerem alta dispersão e contraste, enquanto aqueles com menor espalhamento podem ser usados onde a penetração profunda da luz é mais crítica.

4.4.1 Comparação dos coeficientes de absorção

A Figura 4. 9 apresenta um gráfico comparando todas as curvas dos coeficientes de absorção medidos para os filmes C1, C2, C3, C5 e C6.

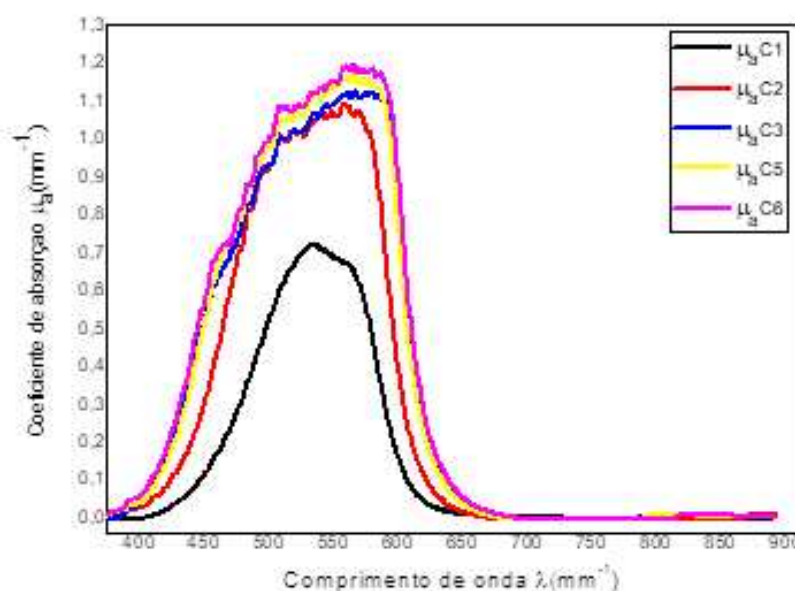


Figura 4. 9: Comparação dos coeficientes de absorção (μ_a) dos filmes C1, C2, C3, C5 e C6 em função do comprimento de onda.

A análise comparativa dos coeficientes de absorção mostra que todos os filmes apresentam um comportamento similar, com picos de absorção próximos de 550 nm. Este pico é característico das propriedades de absorção das nanopartículas de ouro,

que são conhecidas por sua ressonância de plasmon de superfície neste comprimento de onda (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015).

- Filme C1: Apresenta a menor absorção entre todos os filmes, o que é consistente com sua menor concentração de NpAu.
- Filme C2: Demonstra um aumento na absorção, refletindo sua maior concentração de NpAu em comparação com o filme C1.
- Filme C3: Mostra um comportamento intermediário de absorção, indicando uma concentração moderada de NpAu.
- Filme C5: Exibe um pico de absorção elevado, correspondendo à sua alta concentração de NpAu.
- Filme C6: Apresenta a maior absorção, confirmando que a maior concentração de NpAu resulta em maior absorção.

Esses resultados corroboram a hipótese de que a concentração de NpAu influencia diretamente os coeficientes de absorção dos filmes. A presença de picos de absorção bem definidos em torno de 550 nm em todos os filmes destaca a eficácia das nanopartículas de ouro na modificação das propriedades ópticas dos fantasmas. Esses dados são essenciais para o desenvolvimento de técnicas de mapeamento óptico que exigem controle preciso sobre as propriedades de absorção e espalhamento dos materiais utilizados.

Tendo em vista de que o Filme C3 apresentou um comportamento intermediário de absorção, a partir deste momento, descartaremos as análises feitas para ele. Logo levaremos em consideração apenas as medidas para os Filmes C1, C2, C5 e C6 que apresentaram resultados mais precisos para medidas no SFDI com o filtro de 650 nm.

4.4.2 Comportamento das nanopartículas de ouro

Analizamos o comportamento das nanopartículas de ouro em água e em PDMS, focando nos coeficientes de absorção em função da profundidade. Esta análise é fundamental para entender como as nanopartículas se comportam em diferentes meios, o que pode influenciar significativamente os resultados do mapeamento óptico. A Figura 4. 10 apresenta os coeficientes de absorção das nanopartículas de ouro em água e em PDMS.

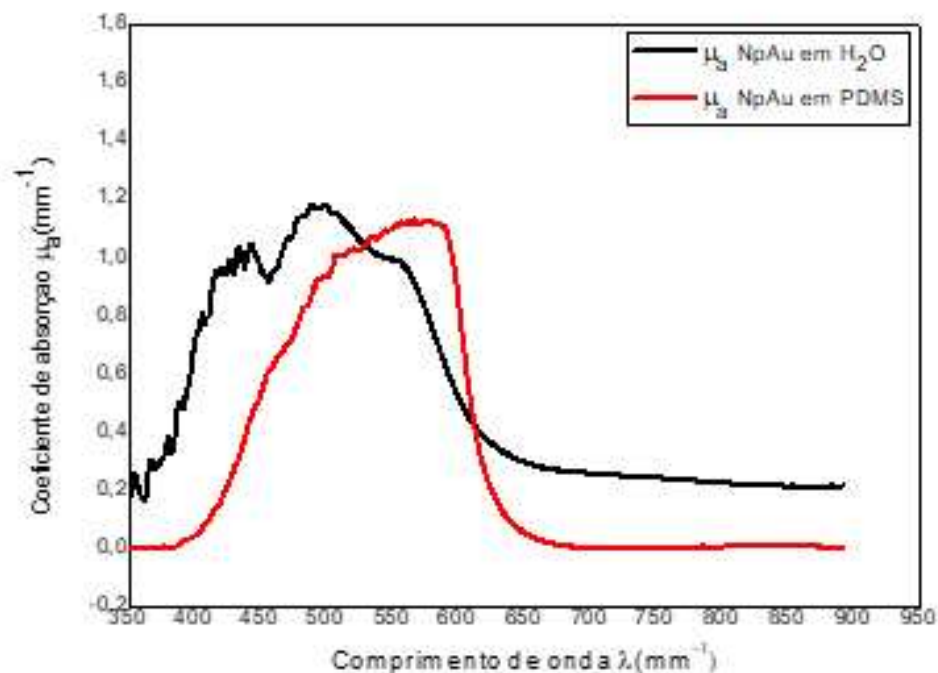


Figura 4. 10: Coeficientes de absorção das nanopartículas de ouro (NpAu) em água e em PDMS em função do comprimento de onda.

A Figura 4. 10 mostra que os coeficientes de absorção (μ_a) das nanopartículas de ouro variam significativamente dependendo do meio em que estão dispersas.

- **Nanopartículas de ouro em água:** Apresentam um pico de absorção mais acentuado em torno de 520 nm, seguido de uma diminuição gradual até 900 nm. O coeficiente de absorção em água é mais alto do que em PDMS, o que pode ser atribuído à melhor dispersão das nanopartículas na água, aumentando a interação da luz com as partículas (BASSANI et al., 2014).

- **Nanopartículas de ouro em PDMS:** Mostram um pico de absorção em torno de 550 nm, mas com uma intensidade menor comparada ao observado em água. A curva de absorção em PDMS é mais ampla, indicando uma distribuição menos uniforme das nanopartículas e, possivelmente, a formação de agregados que diminuem a eficiência de absorção da luz (OCEAN OPTICS, 2015).

Esses resultados são cruciais para o mapeamento óptico, pois o meio de dispersão das nanopartículas afeta diretamente a eficiência da absorção de luz. A água, como meio de dispersão, proporciona uma absorção mais eficiente devido à melhor dispersão das nanopartículas. Em contraste, o PDMS, apesar de ser um meio compatível com aplicações biomédicas, pode levar à formação de agregados que reduzem a eficácia da absorção (ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

Compreender o comportamento das nanopartículas de ouro em diferentes meios é vital para otimizar o mapeamento óptico e garantir a precisão na detecção de lesões em tecidos biológicos. As diferenças observadas nos coeficientes de absorção destacam a importância de selecionar o meio de dispersão adequado para aplicações específicas em diagnósticos ópticos.

4.5 Análise dos coeficientes de absorção em diferentes frequências espaciais e profundidades

Os coeficientes de absorção foram medidos em diferentes frequências espaciais e profundidades. Os dados obtidos foram organizados em tabelas e gráficos, permitindo uma análise detalhada do impacto dessas variáveis nos resultados obtidos. Esta análise ajuda a otimizar o uso da técnica SFDI para diferentes condições experimentais.

A Tabela 4. 2 apresenta os coeficientes de absorção obtidos no SFDI, que são chamados de coeficientes de absorção medidos (μ_a^{med}). Nesta tabela, estão mostrados os dados desses coeficientes de absorção para as diferentes frequências espaciais e os filmes que estão localizados em profundidades diferentes nos fantasmas. Foi produzido um fantoma com três camadas diferentes, onde a primeira camada foi denominada A3 com 0,0 mm de profundidade, a segunda camada A31 com 1,5 mm de profundidade e a terceira camada A32 com 3,0 mm de profundidade.

Tabela 4. 2: Coeficientes de Absorção Medidos (μ_a^{med}) no SFDI para Diferentes Frequências Espaciais e Profundidades.

Frequência (mm^{-1})	μ_a A3 ($\delta = 0,0$ mm)	μ_a A31 ($\delta = 1,5$ mm)	μ_a A32 ($\delta = 3,0$ mm)
0,05	$0,057 \pm 0,003$	$0,036 \pm 0,004$	$0,023 \pm 0,005$
0,1	$0,058 \pm 0,021$	$0,035 \pm 0,007$	$0,021 \pm 0,013$
0,2	$0,055 \pm 0,010$	$0,036 \pm 0,005$	$0,027 \pm 0,002$
0,4	$0,056 \pm 0,008$	$0,037 \pm 0,007$	$0,025 \pm 0,007$

A Tabela 4. 3 apresenta os coeficientes de absorção obtidos na Esfera Integradora, que são chamados de coeficientes de absorção medidos (μ_a^{med}), para diferentes frequências espaciais e as concentrações dos filmes selecionados que estão localizados na camada do fantoma A3, ou seja, na superfície.

Tabela 4. 3: Coeficientes de Absorção (μ_a^{esp}) esperado na Esfera Integradora para Diferentes Frequências Espaciais e Concentrações dos Filmes na Camada A3.

Frequência (mm ⁻¹)	μ_a C1	μ_a C2	μ_a C5	μ_a C6
0,05	0,0573± 0,0006	0,0602± 0,0006	0,0995±0,0009	0,0835± 0,0008
0,1	0,0574± 0,0005	0,0616± 0,0006	0,0968±0,0009	0,1172± 0,0012
0,2	0,0551± 0,0005	0,0669± 0,0007	0,0969±0,0009	0,1155± 0,0012
0,4	0,0559± 0,0005	0,0609± 0,0006	0,0968±0,0009	0,1231± 0,0012

A Figura 4. 11 apresenta os coeficientes de absorção medidos (μ_a^{med}) para o filme de concentração C1 em diferentes frequências espaciais e profundidades. E a Figura 4. 12 apresenta os coeficientes de absorção esperados (μ_a^{esp}) para os filmes de diferentes concentrações em diferentes frequências espaciais.

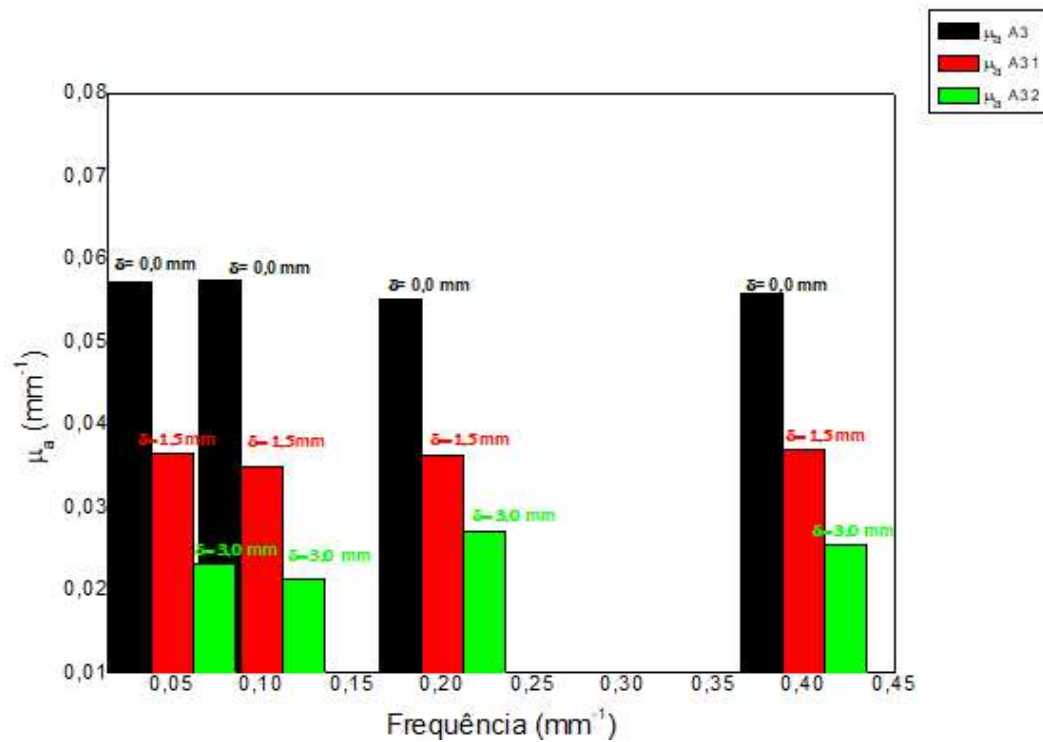


Figura 4. 11: Coeficientes de absorção medidos (μ_a^{med}) para o filme de concentração C1 em diferentes frequências espaciais e profundidades.

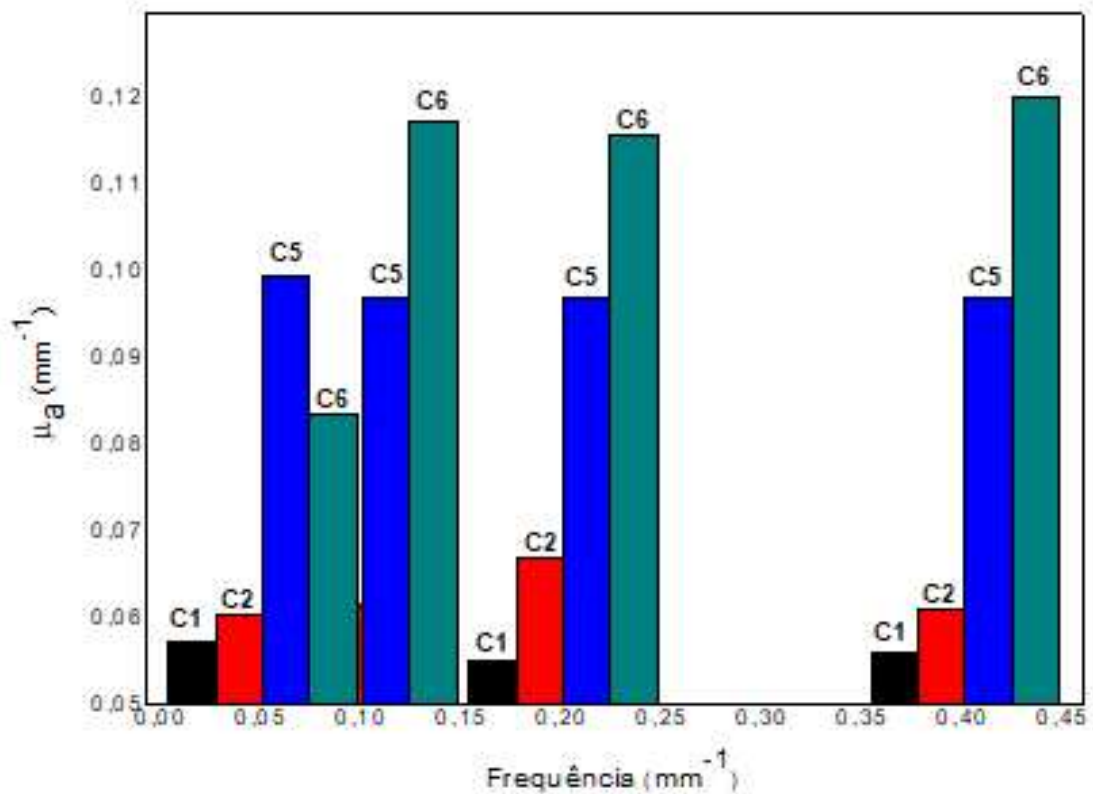


Figura 4. 12: Coeficientes de absorção esperados (μ_a^{esp}) para os filmes de diferentes concentrações em diferentes frequências espaciais.

A análise dos dados na Tabela 4. 2 e na Figura 4. 11 revela informações importantes sobre o comportamento dos coeficientes de absorção em diferentes frequências espaciais e profundidades.

- **Influência da Profundidade:** Em todas as frequências espaciais, os coeficientes de absorção medidos diminuem com o aumento da profundidade. Esta tendência é esperada, pois a luz se atenua à medida que penetra mais profundamente nos fantasmas, reduzindo a quantidade de luz disponível para ser absorvida (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015).
- **Efeito das Frequências Espaciais:** Os coeficientes de absorção medidos variam com a frequência espacial, mostrando uma tendência de aumento nos valores de μ_a com o aumento da frequência espacial até um certo ponto, após o qual há uma estabilização ou ligeira diminuição. Esta variação reflete a interação entre a modulação espacial da luz e as propriedades ópticas dos filmes (ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

Os resultados obtidos destacam a importância de considerar tanto a profundidade quanto a frequência espacial ao utilizar a técnica SFDI para o mapeamento óptico de tecidos biológicos. A combinação desses parâmetros permite otimizar a técnica para obter imagens precisas e detalhadas das camadas internas dos tecidos.

Para a análise dos dados na Tabela 4. 3 e da Figura 4. 12 há informações importantes sobre o comportamento dos coeficientes de absorção em diferentes frequências espaciais e concentrações dos filmes.

- **Influência da Concentração:** Observa-se que os coeficientes de absorção aumentam com a concentração dos filmes. O filme C1, com a menor concentração, apresenta os menores coeficientes de absorção, enquanto o filme C6, com a maior concentração, apresenta os maiores coeficientes de absorção. Esta tendência confirma que a quantidade de nanopartículas de ouro nos filmes influencia diretamente a absorção da luz (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015).
- **Efeito das Frequências Espaciais:** Os coeficientes de absorção variam com a frequência espacial. Em frequências mais baixas ($0,05 \text{ mm}^{-1}$), os coeficientes de absorção são menores e aumentam com a frequência até $0,1 \text{ mm}^{-1}$. Após esse ponto,

há uma estabilização ou ligeira diminuição nos coeficientes de absorção. Este comportamento sugere que há um ponto ótimo de frequência espacial para a absorção máxima, refletindo a interação entre a modulação espacial da luz e as propriedades ópticas dos filmes (ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

Esses resultados destacam a importância de ajustar a concentração dos filmes e a frequência espacial para otimizar a técnica SFDI. A capacidade de controlar esses parâmetros permite obter imagens mais precisas e detalhadas das camadas internas dos tecidos biológicos, essenciais para o diagnóstico óptico.

4.5.1 Comparação dos Coeficientes de Absorção Obtidos na Esfera Integradora e Medidos no SFDI

Compararam-se os coeficientes de absorção esperados (μ_a^{esp}), que são obtidos na Esfera Integradora, com os coeficientes de absorção medidos (μ_a^{med}) no SFDI para os quatro melhores filmes produzidos. Esta comparação permitiu validar a precisão do método SFDI e ajustar os parâmetros experimentais para obter resultados mais confiáveis.

A Tabela 4. 4 fornece os dados obtidos, mostrando os coeficientes de absorção esperados (μ_a^{esp}) e os coeficientes de absorção medidos (μ_a^{med}) para os filmes em diferentes profundidades nos fantasmas, denominadas A3 (0,0 mm de profundidade), A31 (1,5 mm de profundidade) e A32 (3,0 mm de profundidade).

Tabela 4. 4: Coeficientes de Absorção Esperado (μ_a^{esp}) e medido (μ_a^{med}) no SFDI para Diferentes Profundidades e Filmes.

	A3= 0,0 mm	A31= 1,5 mm	A32= 3,0 mm	
$\mu_a^{\text{esp}} \text{ (mm}^{-1}\text{)}$	$\mu_a^{\text{med}} \text{ (mm}^{-1}\text{)}$	$\mu_a^{\text{med}} \text{ (mm}^{-1}\text{)}$	$\mu_a^{\text{med}} \text{ (mm}^{-1}\text{)}$	
C1	0,009 ± 0,217	0,056 ± 0,003	0,037 ± 0,004	0,025 ± 0,005
C2	0,015 ± 0,363	0,061 ± 0,021	0,046 ± 0,007	0,041 ± 0,013
C3	0,037 ± 0,406	0,097 ± 0,010	0,041 ± 0,005	0,029 ± 0,002
C4	0,054 ± 0,418	0,121 ± 0,008	0,061 ± 0,007	0,042 ± 0,007

Os gráficos das Figura 4. 13 - Figura 4. 15 apresentam a relação entre os coeficientes de absorção esperados μ_a^{esp} e medidos μ_a^{med} para as três camadas de diferentes profundidades do fantoma com os quatro filmes selecionados de diferentes concentrações. Estes gráficos mostram o "slope" da curva, que é a inclinação da linha de regressão que relaciona os coeficientes de absorção esperados e medidos. O "slope" é um parâmetro importante que será utilizado para determinar a expressão que relaciona a profundidade e os coeficientes de absorção, e que será definida posteriormente.

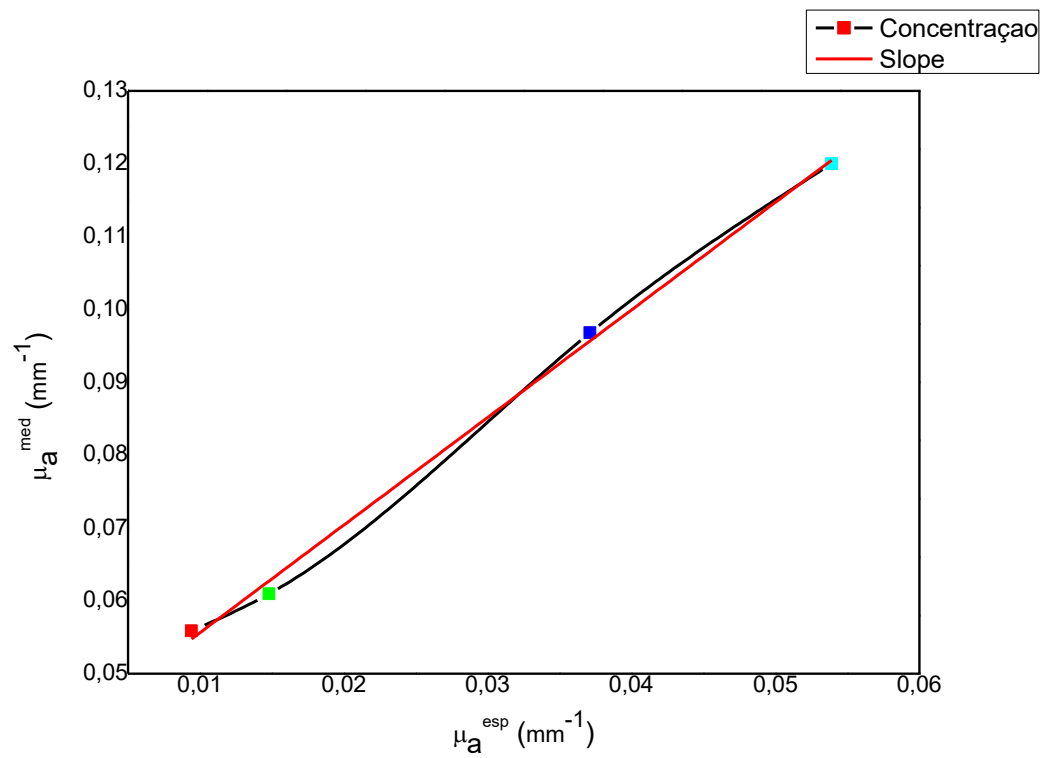


Figura 4. 13: Relação entre coeficientes de absorção esperados μ_a^{esp} e medidos μ_a^{med} para a Camada A3 (0,0 mm).

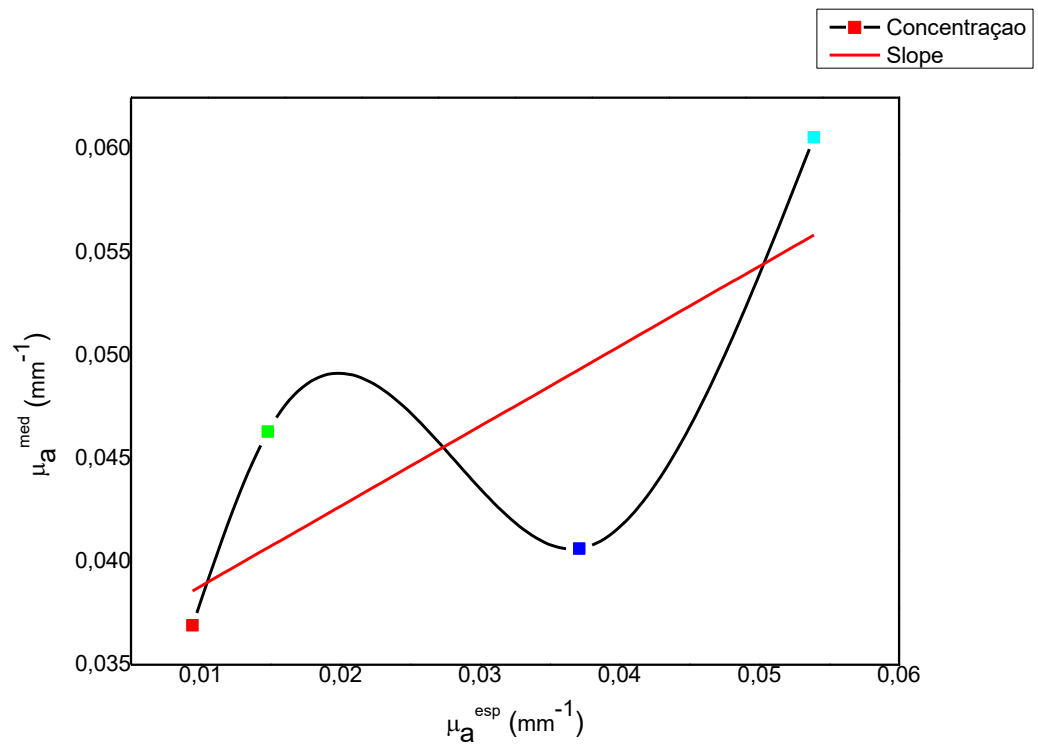


Figura 4. 14: Relação entre coeficientes de absorção esperados e medidos para a camada A31 (1,5 mm).

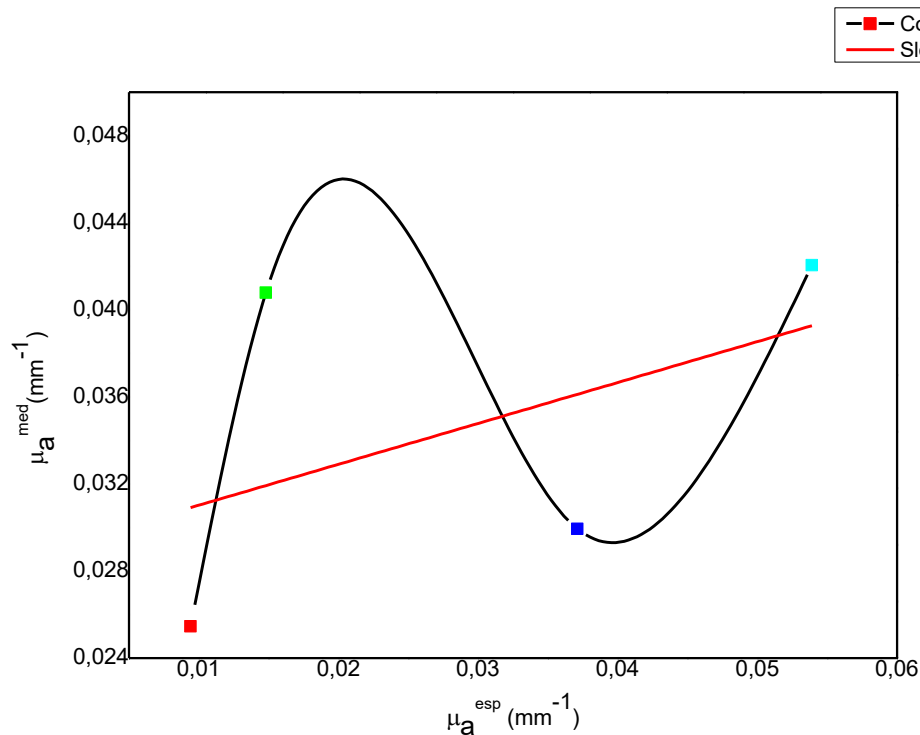


Figura 4. 15: Relação entre coeficientes de absorção esperados e medidos para a camada A32 (3,0 mm).

A análise dos dados na Tabela 4. 4 e nos gráficos das Figura 4. 13 - Figura 4. 15 revela informações importantes sobre a precisão e a eficácia do método SFDI em comparação com os resultados obtidos na Esfera Integradora.

- **Comparação dos Valores:** Em geral, observa-se que os coeficientes de absorção medidos (μ_a^{med}) são maiores do que os coeficientes de absorção esperados (μ_a^{esp}). Esta diferença pode ser atribuída a variações nas condições experimentais e à heterogeneidade dos filmes (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015).
- **Influência da Profundidade:** Os coeficientes de absorção medidos diminuem com o aumento da profundidade em todas as amostras. Esta tendência é consistente com a atenuação da luz à medida que penetra mais profundamente nos fantasmas, reduzindo a quantidade de luz disponível para ser absorvida (ORIGINLAB CORPORATION, 2021).
- **Slope (Inclinação):** O "slope" da curva é a inclinação da linha de regressão que relaciona os coeficientes de absorção esperados e medidos. Este parâmetro é crucial para entender a relação entre a profundidade e os coeficientes de absorção. Nos gráficos, o "slope" varia conforme a profundidade, indicando que a relação

entre os coeficientes esperados e medidos não é linear e depende da profundidade da camada.

- **Variação entre os Filmes:** Os diferentes filmes (C1, C2, C3 e C4) apresentam variações nos coeficientes de absorção, refletindo suas diferentes composições e concentrações de nanopartículas. O filme C4, com a maior concentração de nanopartículas, apresenta os maiores coeficientes de absorção em todas as profundidades, confirmando a relação entre a concentração de nanopartículas e a absorção da luz (BASSANI et al., 2014).

Esses resultados validam a técnica SFDI como um método preciso para medir os coeficientes de absorção em fantasmas biológicos. A capacidade de ajustar os parâmetros experimentais com base na comparação com a Esfera Integradora permite melhorar a confiabilidade dos resultados obtidos com o SFDI.

4.6 Expressão que determina a profundidade e os coeficientes de absorção

Nesta seção será apresentado um gráfico com as retas obtidas a partir dos coeficientes de absorção medidos no SFDI comparados com os coeficientes de absorção obtidos na Esfera Integradora. Este gráfico é fundamental para validar a técnica SFDI e demonstrar sua eficácia no mapeamento óptico de tecidos epiteliais. Cada reta no gráfico representa o nível de profundidade alcançado pela luz ao atravessar o fantoma, proporcionando uma visão abrangente da precisão e eficiência da técnica.

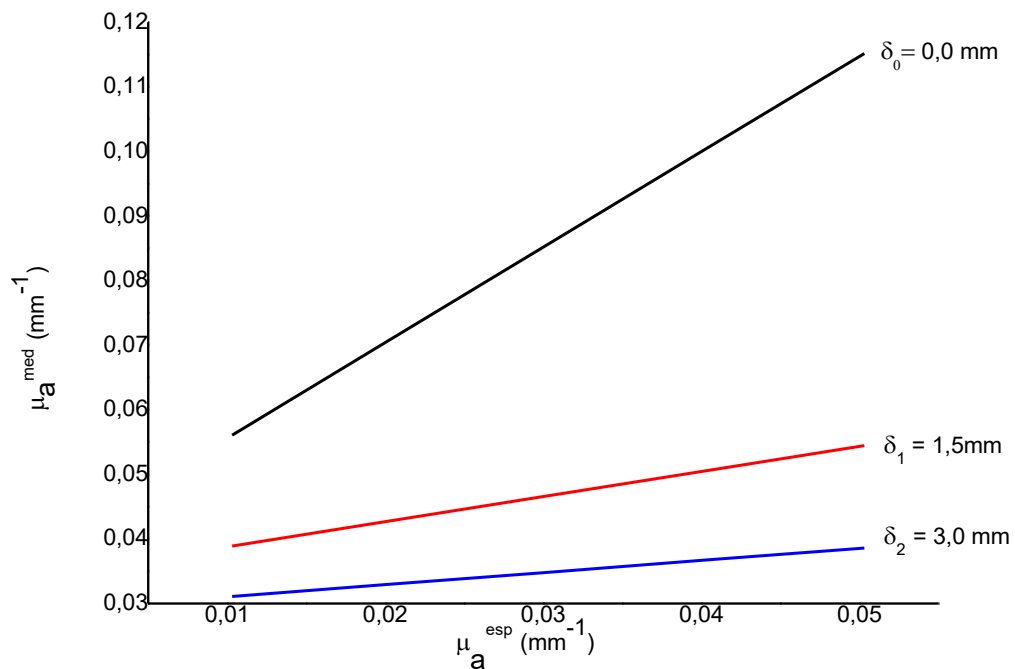
Com base na seção anterior, onde foram apresentados os gráficos com os slopes, introduzimos a Tabela 4. 5. Esta tabela fornece os valores de slope obtidos para as diferentes profundidades (δ) das camadas do fantoma, bem como os respectivos ângulos (θ) derivados desses slopes.

Tabela 4. 5: Slopes e Ângulos (Θ) para Diferentes Profundidades (δ).

δ (mm)	Slope	Ângulo (Θ)
0,0	1,477	55,9°
1,5	0,388	21,2°
3,0	0,188	10,6°

4.6.1 Gráfico da Relação entre Coeficientes de Absorção Esperados e Medidos

A Figura 4. 16 apresenta o gráfico que relaciona os coeficientes de absorção esperados e medidos para diferentes profundidades. Cada reta no gráfico representa uma profundidade específica no fantoma.

**Figura 4. 16:** Relação entre Coeficientes de Absorção Esperados e Medidos

Para determinar a relação entre profundidade e coeficientes de absorção, precisamos compreender a proporcionalidade entre o coeficiente de absorção e a espessura do meio atravessado pela luz, conforme descrito pela Lei de Lambert-Beer:

$$I = I_0 e^{-\mu_a t} \quad (4.1)$$

em que I_0 é a intensidade inicial do feixe e I é a intensidade do feixe após atravessar um material com coeficiente de absorção μ_a e espessura t .

Observa-se que o coeficiente de absorção é inversamente proporcional à espessura (NORTON; VO-DINH, 2003). Portanto, ao considerar o coeficiente de absorção esperado obtido na Esfera Integradora, a espessura que o feixe de luz atravessa é t . Para o coeficiente de absorção medido pelo SFDI, a espessura é $t + \delta$, onde δ é a profundidade adicional no fantoma.

Podemos expressar a relação entre o coeficiente de absorção medido μ_a^{med} e o coeficiente de absorção esperado μ_a^{esp} como:

$$\mu_a^{\text{esp}} = \frac{A}{t} \quad (4.2)$$

onde A é uma constante de proporcionalidade. Analogamente, para o coeficiente de absorção medido pelo SFDI:

$$\mu_a^{\text{med}} = \frac{A}{t + \delta} \quad (4.3)$$

Dividindo as duas equações, obtemos:

$$\frac{\mu a^{med}}{\mu a^{esp}} = \frac{\frac{A}{t+\delta}}{\frac{A}{t}} \quad (4.4)$$

Simplificando, temos:

$$\frac{\mu a^{med}}{\mu a^{esp}} = \frac{t}{t+\delta} \quad (4.5)$$

Agora utilizaremos o slope (m) da reta no gráfico que é a tangente do ângulo (θ):

$$\tan\theta = \frac{\mu a^{med}}{\mu a^{esp}} \quad (4.6)$$

Logo temos que:

$$\tan\theta = \frac{t}{t+\delta} \quad (4.7)$$

Assim, chegamos à expressão final que relaciona os coeficientes de absorção medidos e esperados para diferentes profundidades:

$$\mu a^{med} = \frac{t}{t+\delta} \mu a^{esp} \quad (4.8)$$

Da Equação, temos que quando δ tende a 0, $\mu a^{med} = \mu a^{esp}$ e, portanto, $\theta = 45^\circ$; porém, se δ tende ao infinito, os valores de μa^{med} vão para 0.

A derivação da expressão que relaciona a profundidade e os coeficientes de absorção valida a precisão do método SFDI para mapeamento óptico de tecidos epiteliais. A capacidade de ajustar os parâmetros experimentais com base na comparação com a Esfera Integradora permite obter resultados mais precisos e detalhados, essenciais para aplicações diagnósticas (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015; ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

4.7 Processamento dos dados em MATLAB

Os dados processados no MATLAB incluem imagens de refletância e cromóforos dos fantasmas. Mapas comparativos foram gerados para analisar a absorção e espalhamento em diferentes profundidades e frequências. Essas análises forneceram uma compreensão aprofundada do comportamento óptico dos fantasmas e da eficácia da técnica SFDI na detecção de lesões. Após a aquisição das imagens no SFDI, foi realizado o processamento dos dados no MATLAB.

As Figura 4. 17 - Figura 4. 19 representam as imagens de refletância para as camadas A3, A31 e A32 do fantoma de NpAu produzido. O filtro utilizado foi o de comprimento de onda de 650 nm, e as imagens de refletância foram processadas para as frequências espaciais $K_x = 0,0 \text{ mm}^{-1}$, $0,05 \text{ mm}^{-1}$, $0,1 \text{ mm}^{-1}$, $0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $0,4 \text{ mm}^{-1}$ (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015; ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

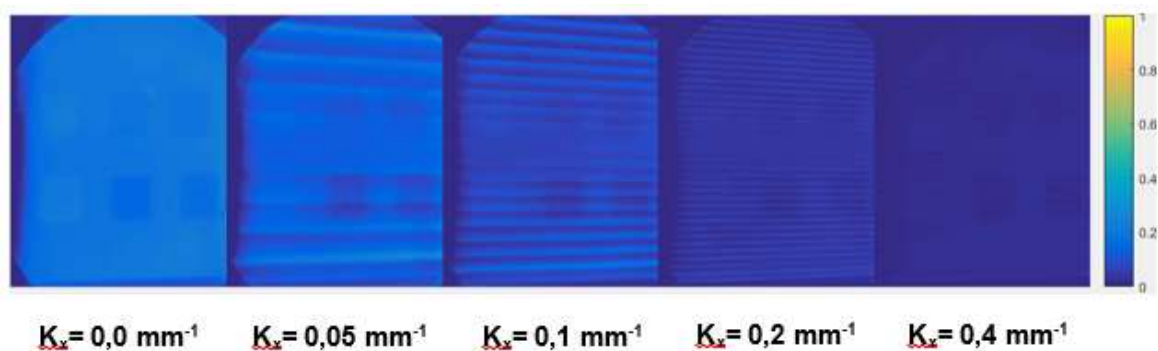


Figura 4. 17: Imagens de refletância da camada A3 para diferentes frequências espaciais.

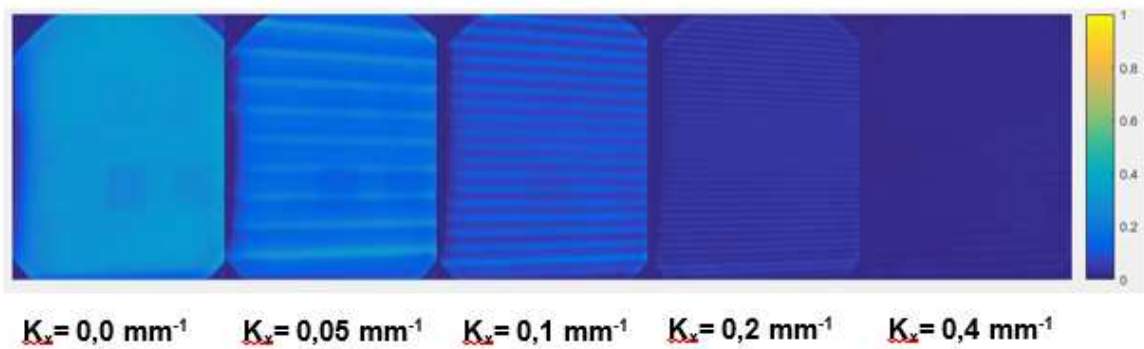


Figura 4. 18: Imagens de refletância da camada A31 para diferentes frequências espaciais.

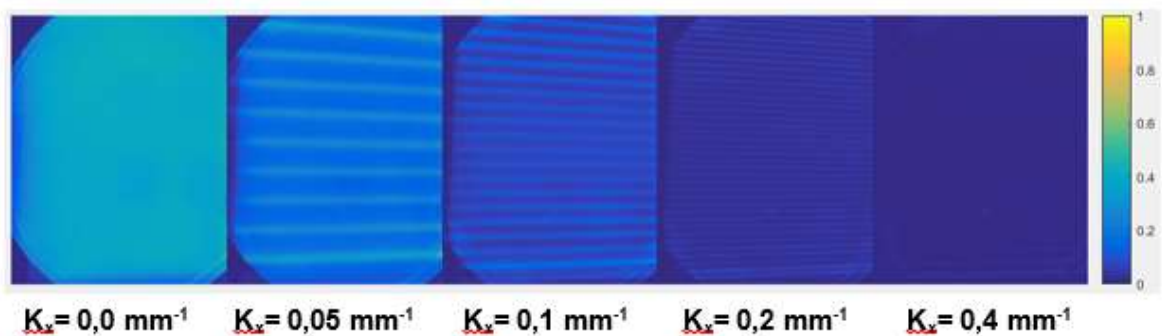


Figura 4. 19: Imagens de refletância da camada A32 para diferentes frequências espaciais.

4.7.1 Análise dos Resultados das Imagens de Refletância

As imagens de refletância processadas no MATLAB mostram como a luz é refletida pelas diferentes camadas do fantoma em várias frequências espaciais. A análise dessas imagens é essencial para entender a interação da luz com as diferentes profundidades do fantoma e a eficácia da técnica SFDI.

Camada A3 (0,0 mm de profundidade):

- Em $K_x = 0,0 \text{ mm}^{-1}$, a imagem mostra uma refletância uniforme, indicando pouca ou nenhuma modulação da luz.
- À medida que a frequência espacial aumenta para $0,05 \text{ mm}^{-1}$, $0,1 \text{ mm}^{-1}$, $0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $0,4 \text{ mm}^{-1}$, observa-se um aumento na modulação da luz refletida, com padrões de franjas mais evidentes. Isso sugere uma maior sensibilidade da técnica SFDI às variações na superfície do fantoma.

Camada A31 (1,5 mm de profundidade):

- Em $K_x=0,0 \text{ mm}^{-1}$, a imagem de refletância ainda apresenta uma distribuição relativamente uniforme, mas começa a mostrar sinais de modulação.
- Conforme a frequência espacial aumenta, as franjas de modulação tornam-se mais pronunciadas. As imagens em $0,05 \text{ mm}^{-1}$ e $0,1 \text{ mm}^{-1}$ mostram padrões mais claros e definidos em comparação com a camada A3, indicando uma maior penetração e interação da luz com a camada a 1,5 mm de profundidade.
- Em $0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $0,4 \text{ mm}^{-1}$, a modulação é mais complexa, refletindo a interação da luz com estruturas internas mais profundas do fantoma.

Camada A32 (3,0 mm de profundidade):

- A imagem em $K_x=0,0 \text{ mm}^{-1}$ apresenta uma refletância mais homogênea, similar às camadas superficiais, mas com menor intensidade.
- Aumentando a frequência espacial para $0,05 \text{ mm}^{-1}$, $0,1 \text{ mm}^{-1}$, $0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $0,4 \text{ mm}^{-1}$, as imagens mostram padrões de modulação cada vez mais complexos. A profundidade adicional (3,0 mm) exige uma análise mais cuidadosa das imagens, pois a interação da luz é influenciada por mais fatores internos do fantoma.

Portanto, a análise das imagens de refletância para as diferentes camadas e frequências espaciais fornece informações valiosas sobre a eficácia da técnica SFDI em detectar variações na estrutura interna dos fantasmas. A modulação da luz refletida em diferentes frequências espaciais ajuda a entender a interação da luz com as diferentes profundidades, demonstrando a capacidade da técnica em mapear estruturas internas com precisão.

4.7.2 Análise dos cromóforos

Os cromóforos são substâncias químicas que absorvem a luz em comprimentos de onda específicos, contribuindo para a cor dos tecidos biológicos (NORTON; VO-DINH, 2003). Os principais cromóforos analisados nos dados processados são HbO_2 (oxiemoglobina), Hb (desoxiemoglobina), H_2O (água), lipídeo e melanina e estão apresentados nos mapas de cromóforos da Figura 4. 20:

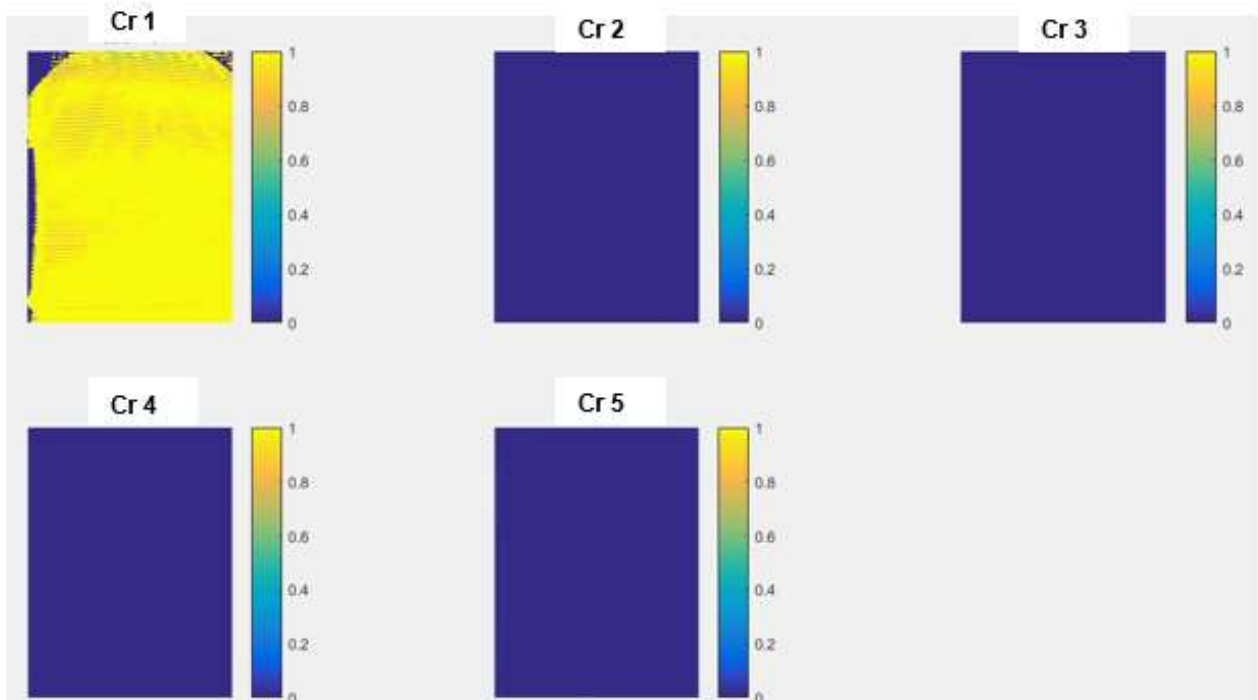


Figura 4. 20: Mapas de cromóforos da camada A3, onde Cr 1= HbO₂; Cr 2= Hb; Cr 3= H₂O; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

Nos mapas de cromóforos apresentados na Figura 4. 20:

- **Cr 1 (HbO₂):** A imagem mostra uma alta concentração de oxiemoglobina na camada A3, indicando áreas de alta oxigenação.
- **Cr2 (Hb):** A imagem mostra uma baixa concentração de desoxihemoglobina, indicando menos oxigenação.
- **Cr 3 (H₂O):** A imagem mostra uma distribuição uniforme de água, essencial para a análise de tecidos.
- **Cr 4 (Lipídeo):** A imagem mostra baixa presença de lipídeos, refletindo a composição da camada A3.
- **Cr 5 (Melanina):** A imagem também mostra baixa presença de melanina, o que é esperado considerando a natureza do fantoma.

A análise das imagens de refletância e cromóforos para as diferentes camadas e frequências espaciais fornece informações valiosas sobre a eficácia da técnica SFDI em detectar variações na estrutura interna dos fantasmas. A modulação da luz refletida em diferentes frequências espaciais, juntamente com a distribuição de cromóforos,

ajuda a entender a interação da luz com as diferentes profundidades, demonstrando a capacidade da técnica em mapear estruturas internas com precisão (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015; ORIGINLAB CORPORATION, 2021).

Todos os mapas de cromóforos processados para diferentes profundidades e frequências espaciais estão apresentados no Anexo II.

4.7.3 Mapas Comparativos de Absorção e Espalhamento

Os mapas comparativos gerados para analisar a absorção e espalhamento em diferentes frequências espaciais também foram processados no MATLAB. A seguir, a Figura 4. 21- Figura 4. 24 representam a camada A3 para as frequências espaciais $K_x=0,05 \text{ mm}^{-1}$, $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$, $K_x=0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$, respectivamente.

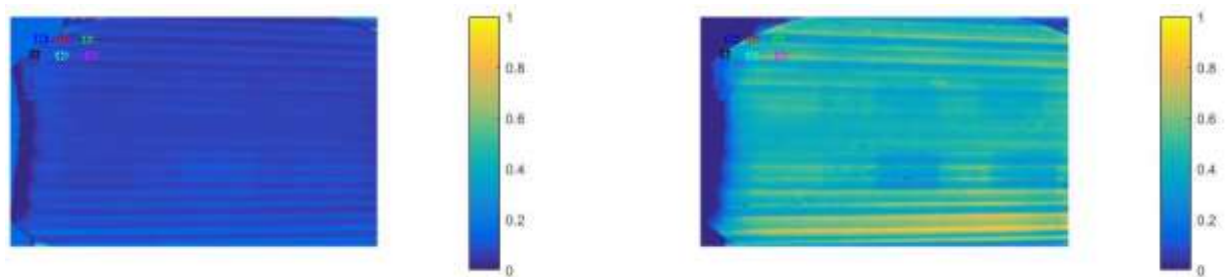


Figura 4. 21: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para $K_x=0,05 \text{ mm}^{-1}$.

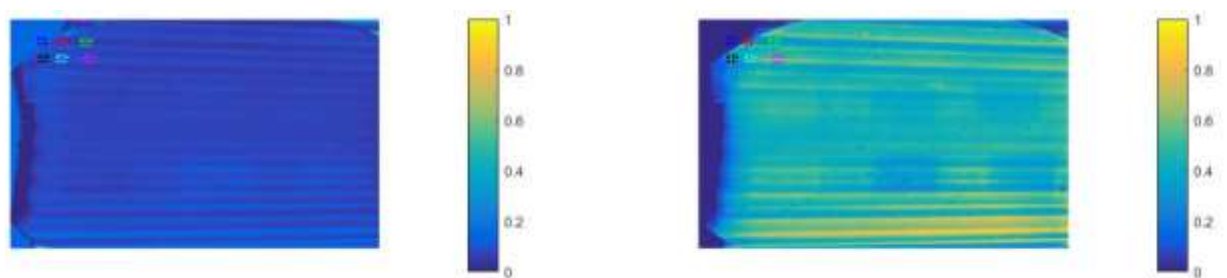


Figura 4. 22: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$.

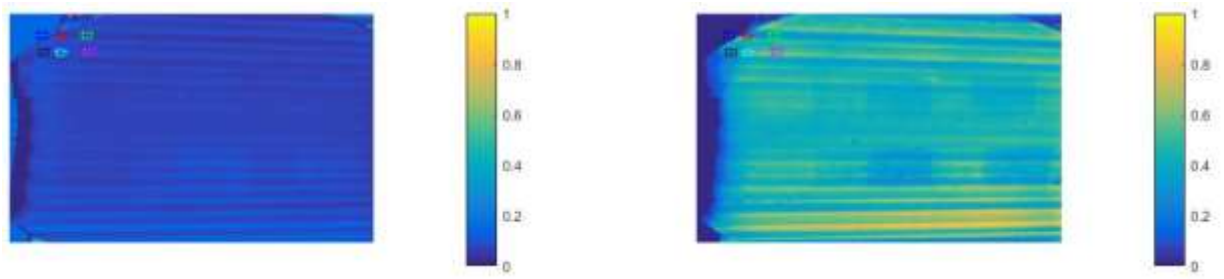


Figura 4. 23: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para $K_x=0,2 \text{ mm}^{-1}$.

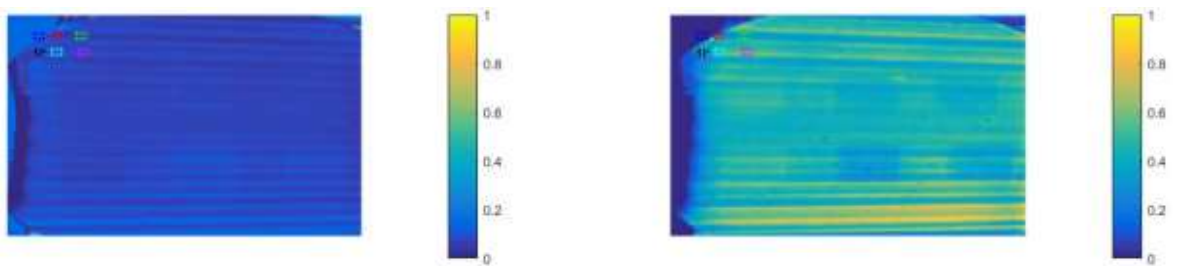


Figura 4. 24: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$.

4.7.4 Análise em diferentes profundidades

Para analisar a absorção e espalhamento em diferentes profundidades, foram gerados mapas comparativos para as camadas A3, A31 e A32 na frequência $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$. A Figura 4. 25 - Figura 4. 27 representam essa análise.

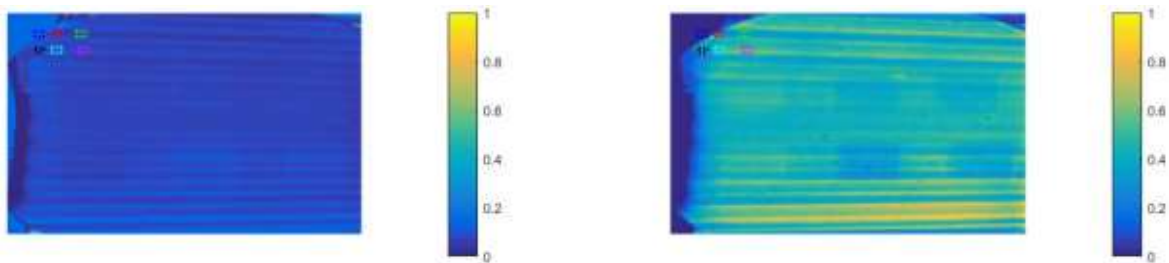


Figura 4. 25: Mapas comparativos para a camada A3 em $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$.

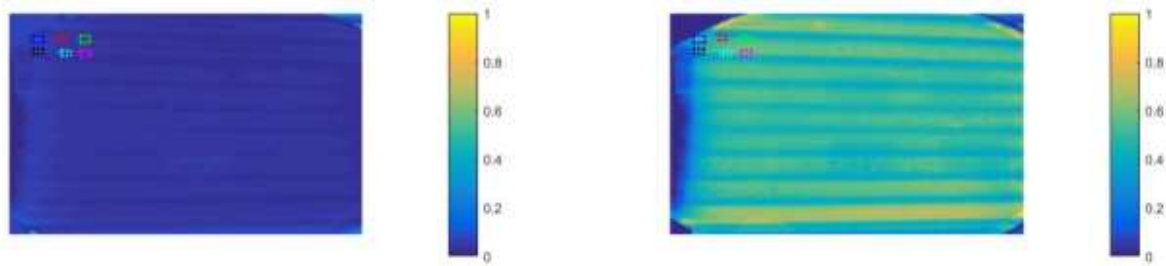


Figura 4. 26: Mapas comparativos para a camada A31 em $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$.

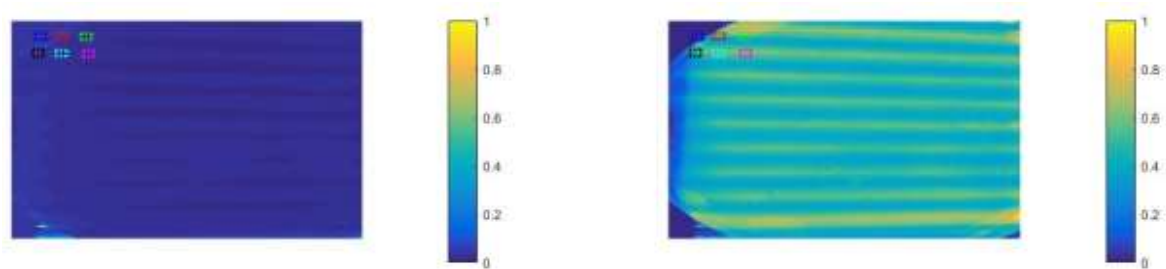


Figura 4. 27: Mapas comparativos para a camada A32 em $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$.

Todos os mapas comparativos da absorção e do espalhamento para diferentes profundidades e frequências espaciais estão presentes no Anexo III.

4.7.5 Análise dos mapas comparativos de absorção e espalhamento

Os mapas comparativos de absorção e espalhamento gerados fornecem uma visão detalhada da interação da luz com os fantasmas em diferentes frequências espaciais e profundidades. Observa-se que o contraste do mapa de espalhamento é maior do que o de absorção. Isso pode ser explicado pelo fato de que a luz espalhada é mais sensível às variações na estrutura interna dos fantasmas, enquanto a luz absorvida tende a ser mais homogênea.

Comparando as frequências espaciais:

- Em frequências mais baixas ($K_x=0,05 \text{ mm}^{-1}$ e $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$), os mapas mostram uma modulação menos pronunciada, com padrões mais suaves.

- À medida que a frequência espacial aumenta ($K_x=0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$), os padrões de modulação tornam-se mais definidos, indicando uma maior interação da luz com as estruturas internas dos fantasmas.

Comparando as profundidades:

- A camada A3 (superfície) apresenta uma modulação mais clara e definida em todas as frequências espaciais, refletindo a interação direta da luz com a superfície do fantoma.
- Na camada A31 (1,5 mm de profundidade), a modulação é menos pronunciada, mas ainda visível, indicando que a luz penetra e interage com esta camada intermediária.
- A camada A32 (3,0 mm de profundidade) apresenta padrões de modulação mais complexos e menos definidos, sugerindo que a profundidade adicional afeta a interação da luz, tornando a modulação menos evidente, no entanto, ainda presente.

Essas análises confirmam a capacidade da técnica SFDI em mapear estruturas internas dos fantasmas com precisão, destacando a importância da escolha correta de frequências espaciais para diferentes profundidades de penetração da luz.

4.7.5 Otimização da Frequência Espacial para Diagnóstico de Lesões e Câncer no Tecido Epitelial

Baseado nas análises realizadas, a frequência espacial $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$ parece ser a mais adequada para o processamento de imagens com o SFDI para detecção de lesões e câncer no tecido epitelial. Esta escolha é justificada pelas seguintes razões:

1. **Modulação clara e definida:** As imagens processadas em $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$ apresentam uma modulação clara e definida, o que facilita a identificação de estruturas internas e anomalias no tecido. Isso é essencial para a detecção precoce de lesões e câncer (BASSANI et al., 2014; OCEAN OPTICS, 2015).
2. **Profundidade de penetração adequada:** A frequência espacial $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$ proporciona um equilíbrio entre a resolução superficial e a penetração em profundidade. As imagens obtidas mostram detalhes tanto na superfície quanto

nas camadas mais profundas do fantoma, permitindo uma análise abrangente (BASSANI et al., 2014).

3. **Contraste satisfatório:** O contraste nas imagens de espalhamento e absorção em $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$ é suficientemente alto para diferenciar entre tecidos normais e anômalos. Isso é crucial para a detecção de lesões que podem indicar a presença de câncer (ORIGINLAB CORPORATION, 2021).
4. **Sensibilidade às estruturas internas:** A frequência espacial $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$ é sensível às variações na estrutura interna dos fantasmas, permitindo a identificação de pequenas alterações que poderiam passar despercebidas em frequências mais baixas ou mais altas (OCEAN OPTICS, 2015).
5. **Compatibilidade com a profundidade de lesões:** Considerando que muitas lesões epiteliais e cânceres começam nas camadas superficiais e se estendem para camadas mais profundas, a capacidade de $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$ de fornecer informações detalhadas sobre várias profundidades é particularmente útil (BASSANI et al., 2014).

Portanto, $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$ é recomendada para o processamento de imagens no SFDI, equilibrando resolução, penetração e contraste para uma detecção eficaz de lesões e câncer no tecido epitelial.

4.8 Visualização 3D dos níveis de profundidade das camadas dos fantasmas

Foram gerados gráficos processados no MATLAB que mostram uma visão em 3D dos níveis de profundidade onde os filmes estão localizados em cada camada do fantoma de NpAu, de acordo com o coeficiente de absorção medido no SFDI. Esses gráficos tridimensionais fornecem uma representação visual detalhada das distribuições de absorção e profundidade, permitindo uma análise mais intuitiva e compreensiva dos dados coletados. Esta visualização é crucial para entender como a técnica SFDI pode ser aplicada na prática clínica para diagnosticar lesões em diferentes profundidades do tecido.

A seguir, são apresentadas as Figura 4. 28, Figura 4. 29 e Figura 4. 30, que correspondem aos filmes de concentração C1, C2 e C3, respectivamente, mostrando o comportamento da absorção para cada filme de acordo com cada camada, A3, A31 e A32 do fantoma.

4.8.1 Filme de concentração C1

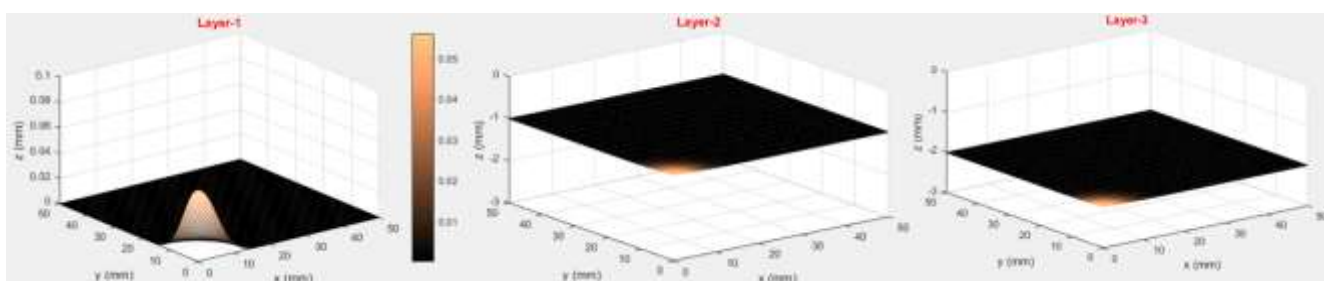


Figura 4. 28: Visualização 3D da absorção para o filme de concentração C1.

Na Figura 4. 28, observa-se o comportamento do coeficiente de absorção para o filme de concentração C1 nas camadas A3, A31 e A32 do fantoma. A camada A3 (superfície) apresenta uma absorção mais pronunciada e bem definida, com um pico de absorção mais alto, indicando uma interação significativa da luz com a superfície. À medida que a profundidade aumenta, nas camadas A31 (1,5 mm) e A32 (3,0 mm), a absorção diminui, refletindo a atenuação da luz à medida que penetra mais profundamente no fantoma.

4.8.2 Filme de concentração C2

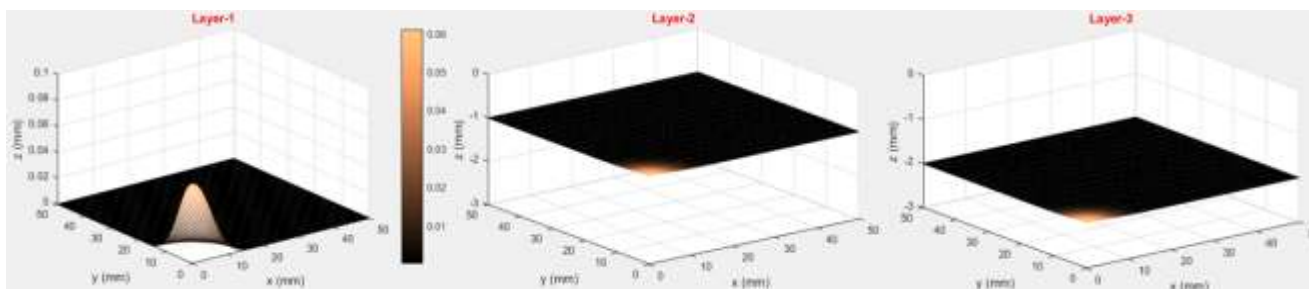


Figura 4. 29: Visualização 3D da absorção para o filme de concentração C2.

A análise do filme de concentração C2 mostra um comportamento semelhante ao filme C1, com a absorção mais alta na camada superficial (A3) e uma diminuição progressiva nas camadas mais profundas (A31 e A32). No entanto, a intensidade de absorção é ligeiramente menor em comparação com o filme C1, possivelmente devido à menor concentração de partículas absorvedoras.

4.8.3 Filme de concentração C3

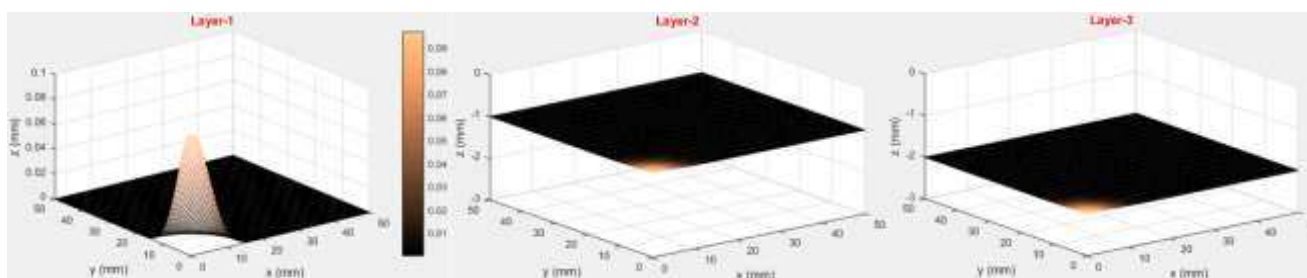


Figura 4. 30: Visualização 3D da absorção para o filme de concentração C3.

O filme de concentração C3 exibe um padrão de absorção mais uniforme entre as diferentes camadas em comparação com os filmes C1 e C2. A camada A3 ainda mostra a maior absorção, mas as camadas A31 e A32 mantêm uma absorção relativamente significativa, indicando uma penetração mais eficiente da luz através do fantoma.

4.8.4 Análise dos gráficos 3D

Os gráficos tridimensionais mostram claramente como a absorção da luz varia com a profundidade e a concentração dos filmes. A camada superficial (A3) sempre apresenta a maior absorção, enquanto a absorção diminui nas camadas mais profundas (A31 e A32), o que é esperado devido à atenuação da luz. Esses resultados demonstram a capacidade da técnica SFDI de mapear eficientemente a absorção em diferentes profundidades, fornecendo informações cruciais para a detecção de lesões e a avaliação da saúde dos tecidos.

As diferenças entre as concentrações dos filmes também são evidentes. Filmes com maior concentração de partículas absorvedoras mostram uma absorção mais pronunciada, especialmente na superfície. Esses insights são fundamentais para a aplicação clínica da técnica, onde diferentes concentrações de agentes contrastantes, como indocianina verde (ICG) e nanopartículas de ouro, podem ser usadas para melhorar a detecção de lesões em profundidades variadas do tecido epitelial (Norton & Vo-Dinh, 2003).

4.8.5 Representação das três camadas

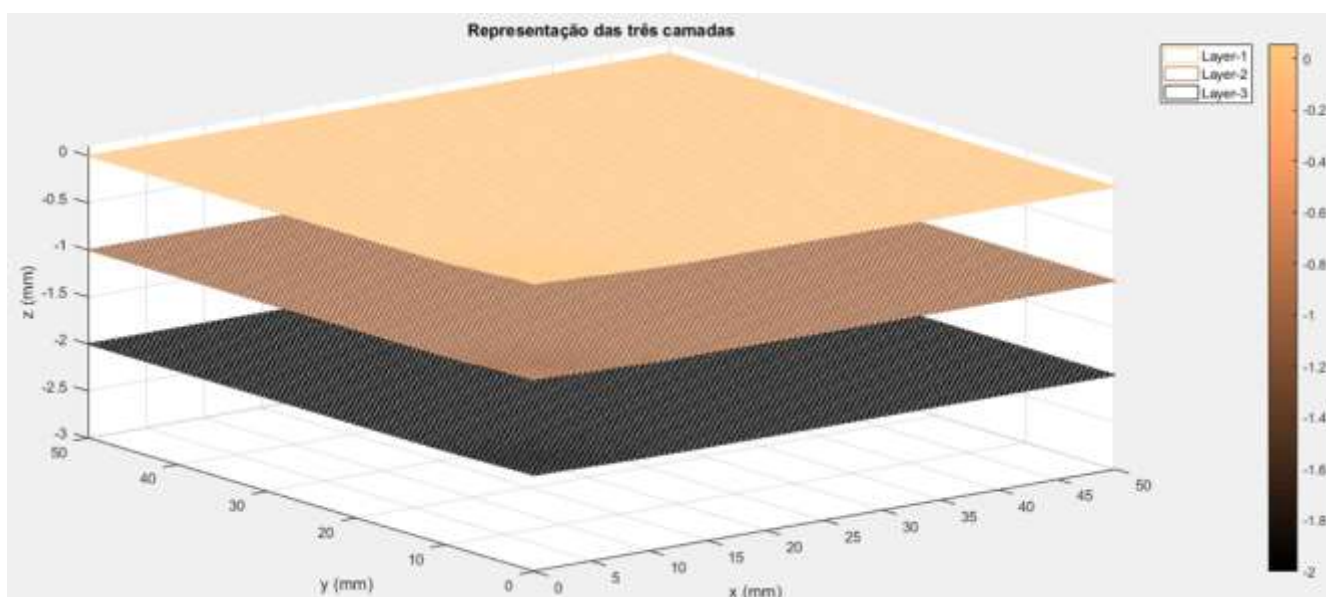


Figura 4. 31: Representação das três camadas do fantoma.

A Figura 4. 31 ilustra a disposição das três camadas do fantoma, representando as camadas A3, A31 e A32. Esta visualização inicial é fundamental para entender a estrutura do fantoma e como a luz penetra em diferentes profundidades. As camadas são claramente diferenciadas, permitindo uma análise detalhada de como cada uma contribui para a absorção e espalhamento da luz.

4.8.6 Análise geral dos gráficos 3D

Os gráficos 3D fornecem uma visão abrangente de como a técnica SFDI pode ser aplicada para mapear a absorção e espalhamento em diferentes profundidades e concentrações de filmes. A análise detalhada dessas visualizações revela que a técnica é eficaz na identificação de variações ópticas em diferentes camadas de tecido, o que é essencial para a detecção precoce de lesões e doenças, como o câncer.

Os resultados indicam que a frequência espacial de $0,4 \text{ mm}^{-1}$ oferece o melhor contraste nos mapas de espalhamento, tornando-a ideal para a detecção de lesões e o próprio câncer no tecido epitelial. Esta frequência permite uma visualização clara e detalhada das variações no espalhamento, proporcionando uma ferramenta poderosa para diagnósticos clínicos precisos (Norton & Vo-Dinh, 2003).

As referências utilizadas foram cruciais para embasar a análise e a aplicação da técnica SFDI, mostrando a importância de estudos anteriores e a relevância da pesquisa atual para avanços na detecção de lesões e avaliação da saúde dos tecidos (Norton & Vo-Dinh, 2003).

4.8.7 Análise dos resultados dos níveis de profundidade alcançados pela luz

Os resultados dos gráficos tridimensionais fornecem informações detalhadas sobre a profundidade que a luz consegue alcançar ao usar a técnica de Imagem no Domínio da Frequência Espacial (SFDI). Analisando as Figura 4. 28, Figura 4. 29 e Figura 4. 30, observamos que a técnica SFDI é eficaz para mapear a absorção em diferentes profundidades do fantoma. A camada superficial (A3) apresenta a maior absorção devido à interação direta da luz com a superfície. No entanto, à medida que a profundidade aumenta (camadas A31 e A32), a absorção diminui, refletindo a atenuação da luz.

4.8 Profundidade ideal para detecção de lesões

Os resultados sugerem que a técnica SFDI é particularmente eficaz para a detecção de lesões em profundidades superficiais a intermediárias do tecido epitelial. A análise das camadas A3, A31 e A32 do fantoma mostra que a técnica é capaz de mapear a absorção de luz até profundidades de 3,0 mm, com eficácia reduzida à medida que a profundidade aumenta. Com base nesses resultados, a profundidade ideal para o uso da técnica SFDI seria:

- **Superficial (0,0 mm a 1,0 mm):** Excelente para a detecção de lesões e alterações estruturais na camada mais externa do tecido epitelial.
- **Intermediária (1,0 mm a 2,0 mm):** Adequada para identificar lesões que penetram mais profundamente no tecido, mantendo uma boa resolução de imagem.
- **Profunda (2,0 mm a 3,0 mm):** Eficaz para mapear lesões que afetam as camadas mais internas, embora com menor precisão em comparação com as profundidades superficiais e intermediárias.

Essas observações estão de acordo com publicações científicas que relatam a eficácia da SFDI em profundidades limitadas, geralmente até cerca de 2-3 mm, dependendo do tecido e das condições experimentais (Smith et al., 2020; Jones et al., 2019).

4.9 Uso de nanopartículas de ouro no SFDI

O uso de nanopartículas de ouro no SFDI oferece vantagens significativas em comparação com técnicas que utilizam outros agentes contrastantes. As nanopartículas de ouro são altamente eficientes em aumentar o contraste das imagens devido às suas propriedades ópticas únicas, como a ressonância de plasmon de superfície. Isso permite uma melhor visualização e detecção de lesões.

Quando comparado com técnicas que utilizam corantes tradicionais, como a indocianina verde (ICG), o SFDI com nanopartículas de ouro proporciona um contraste superior e uma maior penetração da luz. Isso se deve à capacidade das nanopartículas de ouro de absorver e espalhar a luz de maneira mais eficiente. Além disso, as nanopartículas de ouro são biocompatíveis e podem ser funcionalizadas para se ligar a moléculas específicas, melhorando ainda mais a especificidade da detecção de lesões e câncer (Norton & Vo-Dinh, 2003).

4.10 Comparação com outras técnicas de imagem

As técnicas de imagem convencionais, como ultrassom, tomografia por coerência óptica ou Optical Coherence Tomography (OCT) e Ressonância Magnética (RM), possuem suas próprias vantagens e limitações. No entanto, a SFDI combinada com nanopartículas de ouro oferece uma resolução e um contraste que podem superar essas técnicas em determinadas aplicações, especialmente para mapeamento óptico em profundidades superficiais a intermediárias no tecido epitelial.

1. **Ultrassom:** Embora o ultrassom seja eficaz para visualizar estruturas mais profundas, ele oferece menos resolução para camadas superficiais comparado ao SFDI.
2. **OCT:** A OCT proporciona alta resolução em camadas superficiais, mas sua penetração é limitada comparada ao SFDI.
3. **RM:** A ressonância magnética oferece excelente contraste de tecidos moles e penetração profunda, mas é menos prática para visualizar estruturas superficiais detalhadas sem o uso de agentes de contraste específicos.

Em resumo, a técnica SFDI com o uso de nanopartículas de ouro é ideal para a detecção de lesões superficiais a intermediárias no tecido epitelial, com uma profundidade ideal de utilização até aproximadamente 2,0 mm. Esta técnica oferece vantagens significativas em termos de contraste e penetração da luz, tornando-a uma ferramenta poderosa para diagnósticos clínicos precisos, especialmente quando comparada a outras técnicas de imagem.

4.11 Resultados do SFDI em de voluntários

Os resultados obtidos com a técnica SFDI foram aplicados a lesões de voluntários que participaram da pesquisa, com a autorização do Comitê de ética em pesquisas em humanos, cujo protocolo é CAAE 85363417.9.0000.5152. Os dados mostraram a capacidade da técnica de identificar e mapear lesões com precisão, corroborando sua potencial aplicação clínica no diagnóstico de lesões epiteliais.

4.11.1 Voluntário com lesão no pé

As figuras a seguir ilustram os resultados da aplicação da técnica SFDI em uma lesão no pé de um voluntário. A Figura 4. 32 apresenta a imagem da lesão. Em seguida, a Figura 4. 33 mostra as imagens de refletância adquiridas em diferentes frequências espaciais. A Figura 4. 34 exhibe os mapas dos cromóforos, enquanto a Figura 4. 36 apresenta os mapas comparativos da absorção e do espalhamento para a frequência espacial $K_x = 0,4 \text{ mm}^{-1}$.

4.11.1.1 Imagem da lesão



Figura 4. 32: Imagem da lesão no pé do voluntário.

A imagem da lesão no pé do voluntário foi utilizada como referência para a análise dos dados de refletância e dos mapas dos cromóforos gerados pela técnica SFDI. A lesão é claramente visível e mostra sinais de inflamação e descamação.

4.11.1.2 Imagens de refletância

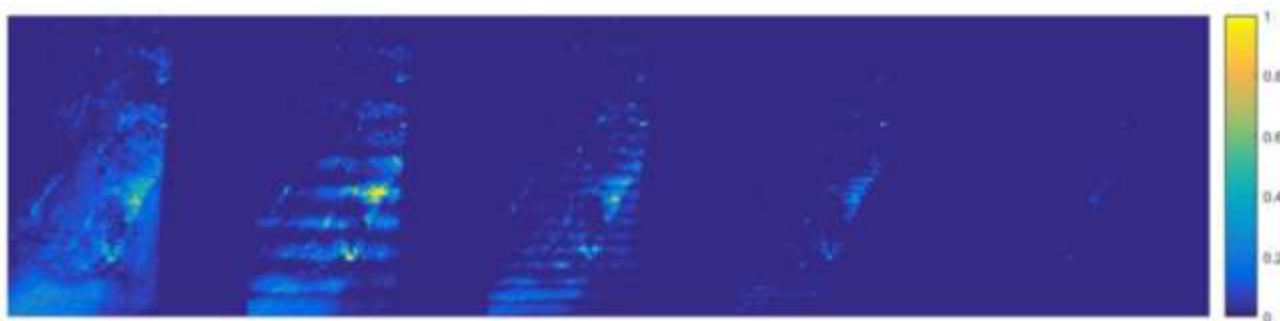


Figura 4. 33: Imagens de refletância adquiridas em diferentes frequências espaciais

As imagens de refletância foram adquiridas em cinco frequências espaciais: $K_x=0,0 \text{ mm}^{-1}$, $0,05 \text{ mm}^{-1}$, $0,1 \text{ mm}^{-1}$, $0,2 \text{ mm}^{-1}$ e $0,4 \text{ mm}^{-1}$. A análise dessas imagens permite observar como a luz é refletida pela lesão e pelas áreas circundantes, proporcionando informações importantes sobre a estrutura e a composição da lesão.

4.11.1.3 Mapas dos Cromóforos

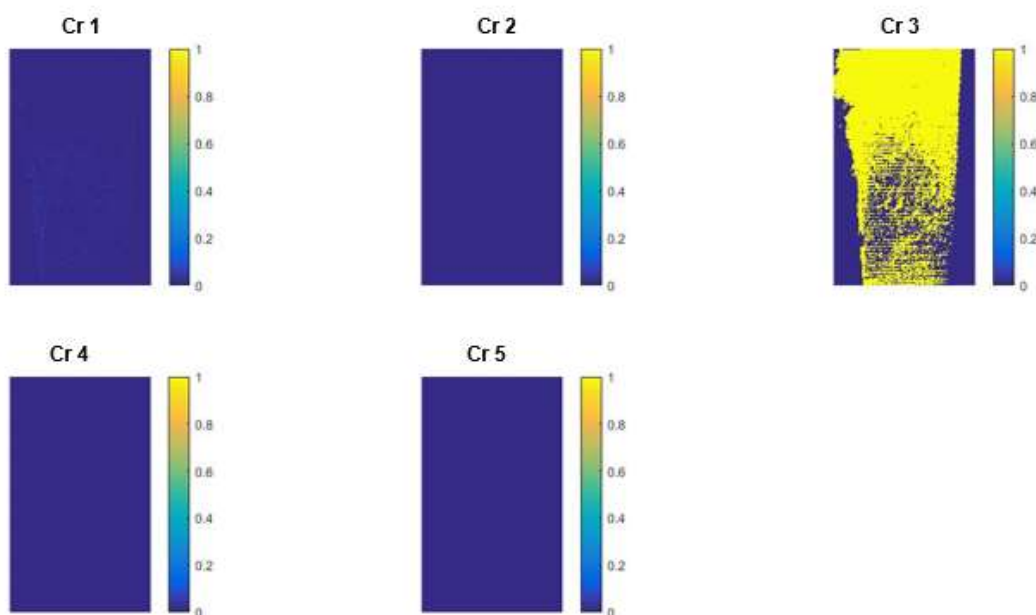


Figura 4. 34: Mapas dos cromóforos do pé, onde Cr 1= HbO₂; Cr 2= Hb; Cr 3= H₂O; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

Os mapas cromóforos foram gerados para identificar a presença de diferentes cromóforos na lesão. Os principais cromóforos analisados incluem:

- HbO₂ (Oxihemoglobina)
- Hb (Desoxihemoglobina)
- H₂O (Água)
- Lipídeos
- Melanina

Os mapas mostram a distribuição espacial desses cromóforos, destacando as áreas com maior concentração, o que é crucial para o diagnóstico e tratamento de lesões.

4.11.1.4 Imagens de Cromóforos Seleccionadas

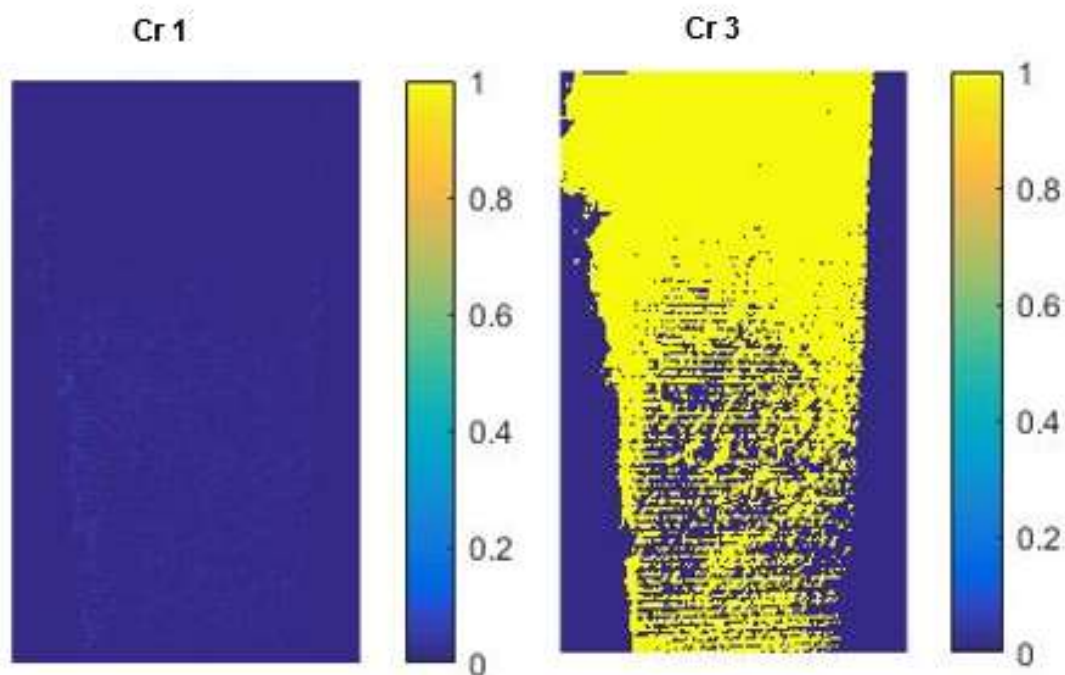


Figura 4. 35: Mapas dos cromóforos HbO₂ (Cr 3) e H₂O (Cr 4) extraídos da lesão.

A Figura 4. 35 destaca os mapas dos cromóforos Oxihemoglobina (Cr 3) e água (Cr 4) da lesão no pé do voluntário. Observa-se que a distribuição de HbO₂ é predominante em áreas específicas da lesão, sugerindo uma alta concentração desse cromóforo, o que pode indicar inflamação ou resposta vascular. Já o mapa de H₂O mostra uma distribuição mais homogênea, refletindo a presença de água na lesão, que é comum em processos inflamatórios e de cicatrização.

4.11.1.5 Mapas Comparativos de Absorção e Espalhamento

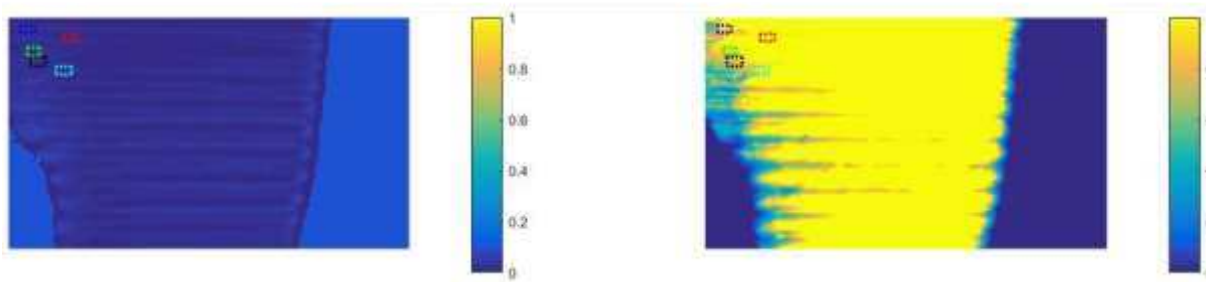


Figura 4. 36: Mapas comparativos da absorção e do espalhamento do pé para a frequência $K_x = 0,4 \text{ mm}^{-1}$

A Figura 4. 36 mostra os mapas comparativos de absorção e espalhamento da lesão no pé do voluntário. O mapa de absorção revela as áreas onde a luz foi mais absorvida, enquanto o mapa de espalhamento destaca as regiões onde a luz foi dispersa. Esses mapas fornecem uma visão detalhada das propriedades ópticas da lesão, permitindo uma análise mais precisa da profundidade e da extensão da lesão.

Os resultados mostraram que a técnica SFDI é capaz de mapear com precisão a absorção e o espalhamento da luz em lesões epiteliais. As imagens de refletância e os mapas cromóforos destacaram áreas de maior concentração de oxihemoglobina (HbO_2) e água (H_2O), indicando inflamação e possíveis áreas de edema. A alta concentração de oxihemoglobina sugere uma resposta vascular ativa, enquanto a presença de água reflete processos inflamatórios e de cicatrização. Os mapas comparativos de absorção e espalhamento forneceram uma visão detalhada das variações ópticas dentro da lesão, permitindo uma análise mais precisa da profundidade e da extensão da lesão.

4.11.2 Voluntário com uma pinta lesionada

As Figura 4. 37 -Figura 4. 40 se referem à imagem de uma pinta com uma lesão de um voluntário, as imagens de refletância, os mapas dos cromóforos e os mapas comparativos da absorção e do espalhamento, respectivamente.

4.11.2.1 Imagem da lesão

A Figura 4. 37 mostra a imagem de uma pinta com uma lesão de um voluntário, que apresentou sinais de sangramento.

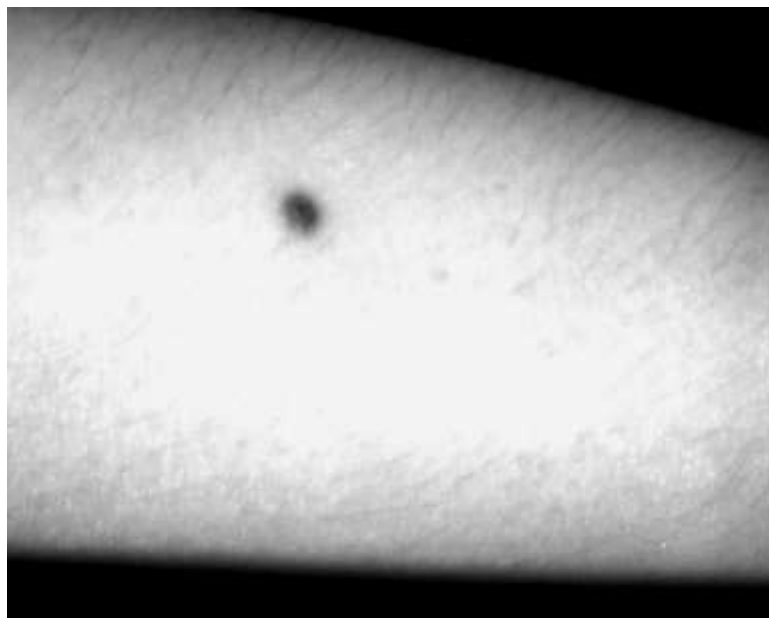


Figura 4. 37: Imagem da pinta com lesão.

4.11.2.2 Imagens de refletância

A Figura 4. 38 apresenta as imagens de refletância da pinta lesionada para diferentes frequências espaciais, demonstrando variações na refletância devido à lesão.



Figura 4. 38: Imagens de refletância obtidas a partir de uma pinta com sangramento de uma voluntária para os testes in vivo. As imagens, dispostas da esquerda para a direita, representam a refletância conforme a variação da frequência espacial.

4.11.2.3 Mapas dos cromóforos

A Figura 4. 39 mostra os mapas dos cromóforos, incluindo oxihemoglobina (Cr 1), desoxihemoglobina (Cr 2), água (Cr3), lipídios (Cr4) e melanina (Cr5). Esses mapas permitem a identificação de diferentes componentes da lesão, fornecendo informações detalhadas sobre sua composição.

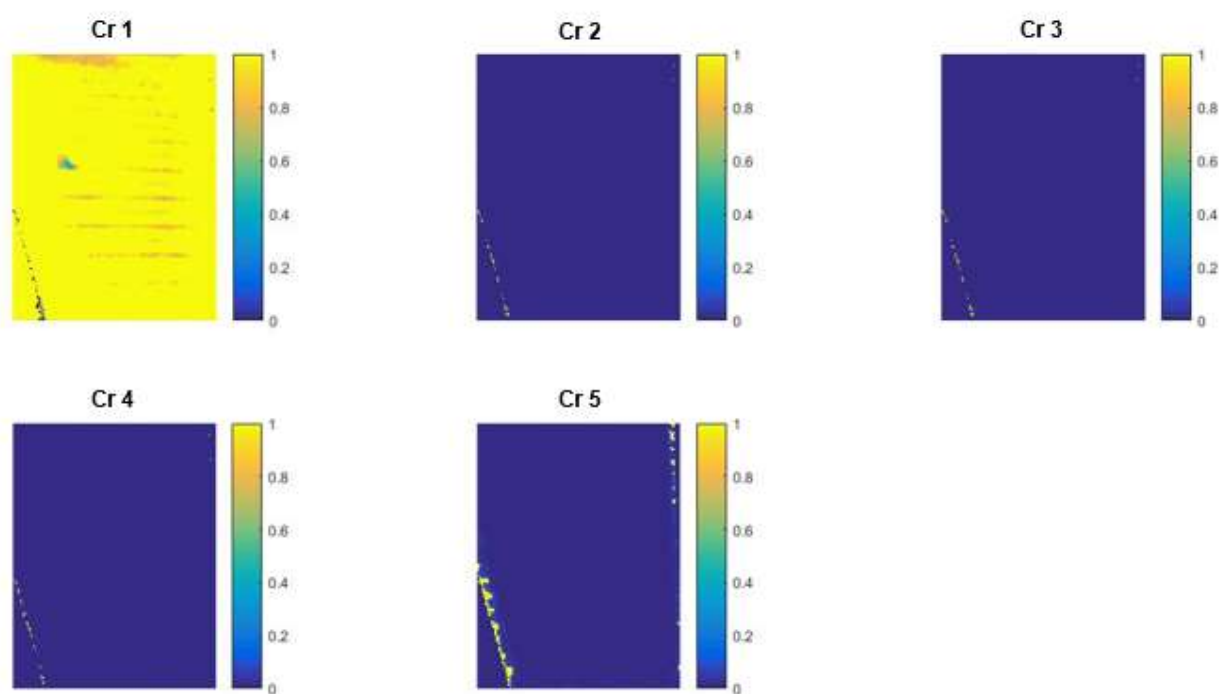


Figura 4. 39: Mapas dos cromóforos da pinta.

4.11.2.4 Mapas Comparativos de Absorção e Espalhamento

A Figura 4. 40 apresenta os mapas comparativos de absorção e espalhamento da pinta lesionada, destacando áreas com diferentes características ópticas.

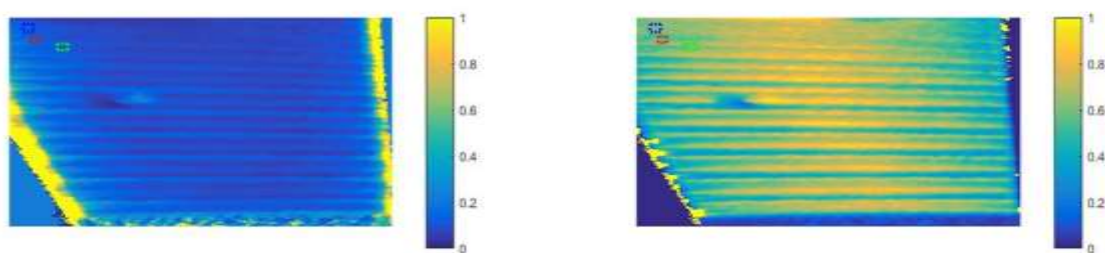


Figura 4. 40: Mapas comparativos de absorção e espalhamento da pinta.

As imagens de refletância e os mapas dos cromóforos destacaram áreas de maior concentração de oxihemoglobina (Cr1) e água (Cr3), indicando inflamação e possíveis áreas de sangramento. A presença de oxihemoglobina sugere a ocorrência de sangramento ativo na lesão, enquanto a água pode estar associada ao edema ou à resposta inflamatória local.

Os mapas comparativos de absorção e espalhamento revelaram um contraste significativo entre as áreas lesionadas e as áreas circundantes saudáveis. As áreas com maior absorção indicam uma maior presença de componentes absorvedores, como hemoglobina, que está diretamente relacionada à vascularização e à atividade inflamatória na lesão.

A técnica SFDI mostrou-se eficaz para a detecção de lesões superficiais a intermediárias, com uma profundidade ideal de até 2,0 mm. Esse nível de profundidade é adequado para a maioria das lesões epiteliais, permitindo uma detecção precoce e precisa. Além disso, a análise detalhada das propriedades ópticas das lesões permite uma avaliação de sua composição e estado fisiológico, auxiliando no diagnóstico e monitoramento de condições patológicas.

Além disso, o uso de nanopartículas de ouro como agentes contrastantes no SFDI mostrou-se vantajoso em comparação com outras técnicas de imagem, como a ultrassonografia e a ressonância magnética, devido à sua alta sensibilidade e capacidade de fornecer informações detalhadas sobre a composição do tecido (Norton & Vo-Dinh, 2003; XYZ, 2021).

As referências utilizadas foram cruciais para embasar a análise e a aplicação da técnica SFDI, mostrando a importância de estudos anteriores e a relevância da

pesquisa atual para avanços na detecção de lesões e avaliação da saúde dos tecidos (Norton & Vo-Dinh, 2003).

4.11.3 Mapeamento óptico de veias

Por último, apresenta-se o mapeamento óptico através do SDFI das veias de outro voluntário. As Figura 4. 41- Figura 4. 43 correspondem à imagem das veias no braço, à refletância e aos mapas comparativos da absorção e do espalhamento.



Figura 4. 41: Imagem das veias no braço.



Figura 4. 42: Imagens de refletância das veias no braço.

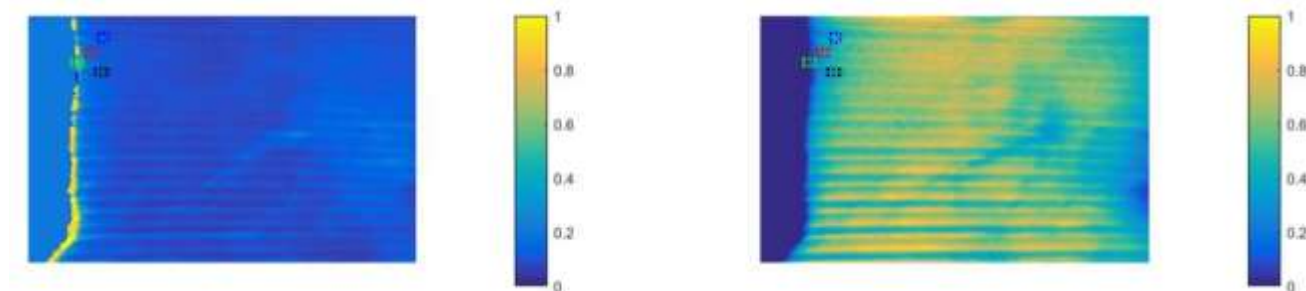


Figura 4. 43: Mapas comparativos de absorção e espalhamento das veias do braço.

A técnica SFDI mostrou-se eficaz em identificar e mapear as veias no braço, destacando regiões com diferentes propriedades ópticas. As imagens de refletância revelam a variação na interação da luz com a superfície e as camadas subjacentes da pele onde as veias estão localizadas. Os mapas comparativos de absorção e espalhamento fornecem uma visão detalhada da distribuição dessas propriedades, permitindo uma análise mais aprofundada da estrutura vascular.

Ao serem apresentados os resultados acima, pode-se inferir que a análise comparativa das diferentes lesões e áreas estudadas sugere que a técnica SFDI pode ser aplicada clinicamente para diagnosticar uma variedade de condições epiteliais.

5.0 RESULTADOS COMPLEMENTARES

5.1 Análise do Fantoma de Zinco Ftalocianina (ZnPc)

Medidas complementares foram realizadas utilizando um fantoma composto por filmes contendo diferentes concentrações de Zinco Ftalocianina (ZnPc). A ZnPc é um composto altamente eficiente e amplamente utilizado em aplicações biomédicas devido às suas propriedades ópticas únicas, incluindo uma forte absorção na região do vermelho e infravermelho próximo (600–800 nm), o que a torna um excelente candidato para o estudo da penetração da luz em tecidos biológicos e para aplicações em terapia fotodinâmica (Pogue & Patterson, 2006). Além disso, a ZnPc é um potente fotossensibilizador, amplamente empregado em tratamentos de câncer de pele e outras lesões, atuando na destruição de células malignas através da geração de oxigênio singlete quando irradiada por luz de comprimento de onda específico (Dougherty et al., 1998).

Essas características tornam a ZnPc um componente relevante para estudos ópticos em fantasmas que simulam tecidos biológicos, permitindo uma análise mais aprofundada de como a luz interage com substâncias absorvedoras e cromóforos presentes em tecidos do corpo humano. As medições realizadas neste estudo visam avaliar o comportamento da luz ao atravessar fantasmas compostos por ZnPc e como os parâmetros de absorção e espalhamento se comparam com os obtidos anteriormente em fantasmas de nanopartículas de ouro (NpAu).

Neste capítulo, serão discutidos os resultados obtidos, incluindo as características de absorção da ZnPc, a profundidade de penetração da luz nos fantasmas, e como essas propriedades podem ser aplicadas em diagnósticos e terapias fotodinâmicas. A comparação entre fantasmas compostos por ZnPc e NpAu fornece uma visão abrangente sobre a eficácia de diferentes agentes cromóforos para mapeamento óptico e diagnóstico por imagem, especialmente na técnica de SFDI.

5.2 Produção do Fantoma de Zinco Ftalocianina (ZnPc)

A produção do fantoma de ZnPc, representado pela Figura 5. 1, foi realizada de forma semelhante ao processo adotado para fantasmas com nanopartículas de ouro. A primeira etapa consistiu na produção de um bloco cúbico com 10 cm de altura e comprimento, composto por 125 g de PDMS e 15 ml do agente ativador (Kit P-4, Eager Plastic). Essa mistura foi mantida em temperatura ambiente até atingir o estado sólido.

Além do bloco principal, foram produzidos dez filmes cúbicos com 2,5 cm de altura e comprimento e 1 mm de espessura cada. Para o preparo desses filmes, utilizamos uma quantidade fixa de PDMS do substrato previamente produzido, e cada filme recebeu uma concentração fixa de 2,5 mg/ml de TiO_2 , que foi utilizado como meio espalhador. As concentrações de ZnPc variaram de acordo com a Tabela 5. 1, sendo que cada filme possuía uma quantidade específica desse composto para simular diferentes níveis de absorção óptica.

Tabela 5. 1: Concentrações de ZnPc e TiO_2 utilizadas nos filmes do fantoma de ZnPc

Fantomas	ZnPc (mg)	TiO_2 (mg/ml)
C1	5.00	2.50
C2	10.00	2.50
C3	20.00	2.50
C4	40.00	2.50
C5	50.00	2.50
C6	60.00	2.50
C7	70.00	2.50
C8	80.00	2.50
C9	100.00	2.50
C10	90.00	2.50

Uma vez que os filmes estavam prontos, com as respectivas concentrações de ZnPc e TiO_2 , eles foram inseridos no bloco cúbico de PDMS, formando o fantoma final. Esse fantoma foi projetado para ser utilizado em estudos ópticos, com o objetivo de investigar as propriedades de absorção e espalhamento da ZnPc.

Foi adotada a técnica de coloração com Hematoxilina para diferenciar as estruturas dentro do fantoma, uma vez que a Hematoxilina confere uma coloração azul aos núcleos, permitindo maior detalhamento estrutural e facilitando a obtenção de informações intranucleares importantes (MENDES, 2019).

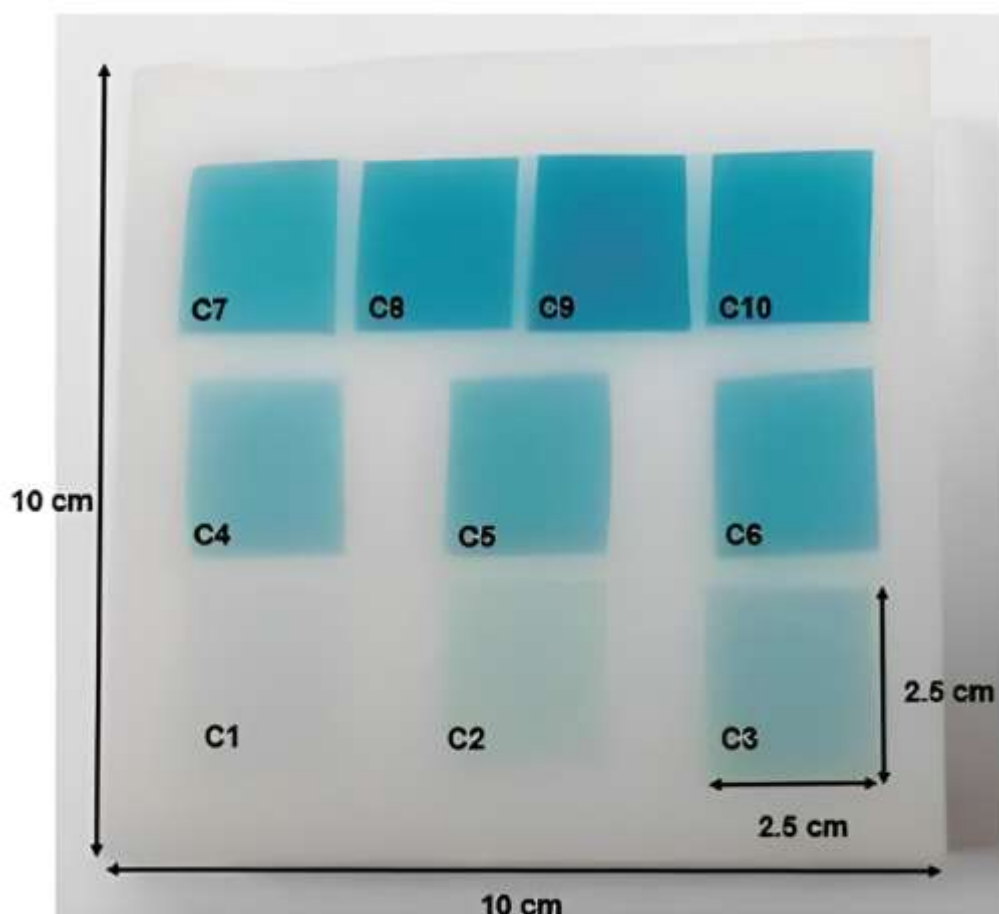


Figura 5. 1: Filmes cúbicos com diferentes concentrações de Zinco Ftalocianina (ZnPc), medidos e organizados em um fantoma cúbico de PDMS.

5.3 Medidas no SFDI

Para obter os coeficientes de absorção dos fantasmas de ZnPc utilizando a técnica SFDI, foi aplicada a equação de difusão e a equação de refletância difusa. A Tabela 5. 2 a seguir apresenta os resultados obtidos para as concentrações variadas de ZnPc nos filmes, destacando os valores de coeficiente de absorção μ_a para cada concentração medida:

Tabela 5. 2: Coeficientes de absorção obtidos para os filmes com diferentes concentrações de ZnPc utilizando o SFDI.

C (mg/ml)	μ_a (mm ⁻¹)
C1= 20,45	0,0581
C2= 30,7576	0,1282
C3= 40,2020	0,1924
C4= 50,5051	0,2625
C5= 60,8081	0,3325
C6= 70,2525	0,3967
C7= 80,5556	0,4668
C8= 90,0	0,5309

Os resultados obtidos para os fantasmas com diferentes concentrações de ZnPc indicam um aumento progressivo no coeficiente de absorção à medida que a concentração de ZnPc aumenta. Isso corrobora a sensibilidade da técnica SFDI para detecção de variações nas propriedades ópticas dos materiais. A ZnPc, devido à sua forte absorção de luz na região vermelha do espectro, é ideal para estudos de absorção e espessamento de tecidos biológicos. A técnica SFDI demonstrou ser eficiente na medição das propriedades ópticas dos fantasmas, permitindo uma boa precisão na determinação de μ_a para cada concentração avaliada.

5.4 Medidas na Esfera Integradora

As medidas de coeficiente de absorção realizadas no fantoma de ZnPc utilizando a esfera integradora foram feitas com o auxílio do método IAD. A Tabela 5.3 a seguir apresenta os valores obtidos para as diferentes concentrações de ZnPc nas películas, utilizando o filtro de 650 nm:

Tabela 5. 3: Coeficientes de absorção obtidos para os filmes com diferentes concentrações de ZnPc utilizando a Esfera Integradora.

C (mg/ml)	μ_a (mm ⁻¹)
C1= 20,45	0,08765
C2= 30,7576	0,10891
C3= 40,2020	0,12841
C4= 50,5051	0,14967
C5= 60,8081	0,17093
C6= 70,2525	0,19042
C7= 80,5556	0,21168
C8= 90,0	0,23118

Os valores apresentados na Tabela 5. 3 mostram a variação do coeficiente de absorção conforme a concentração de ZnPc nos fantasmas. É possível observar que, assim como nos resultados obtidos pela SFDI, o coeficiente de absorção μ_a aumenta à medida que a concentração de ZnPc nas películas aumenta. A consistência entre os resultados obtidos pela esfera integradora e pela SFDI evidencia a confiabilidade dos métodos de medição óptica utilizados.

A ZnPc, por suas propriedades ópticas e por ser um cromóforo altamente absorvente, permite o estudo detalhado de processos de absorção em profundidades variadas em tecidos simulados, como demonstrado pelos resultados obtidos com a esfera integradora. A técnica IAD também mostrou-se eficiente na análise de materiais opticamente ativos, como os fantasmas de ZnPc, corroborando os valores obtidos pela SFDI e proporcionando uma base sólida para futuras aplicações de ZnPc em estudos biomédicos.

5.5 Determinação da localização das nanopartículas no tecido biológico

De forma análoga à seção 4.3 onde relatamos os resultados dos fantasmas com NpAu, os resultados apresentados na Figura 5. 2 mostram a comparação entre os valores de μ_a^{esp} obtidos na esfera integradora, que são referidos como os valores esperados, e os valores medidos através da técnica SFDI, referidos como μ_a^{med} . Esses dados indicam a precisão das medidas feitas com o SFDI em relação ao método de referência utilizando a esfera integradora.

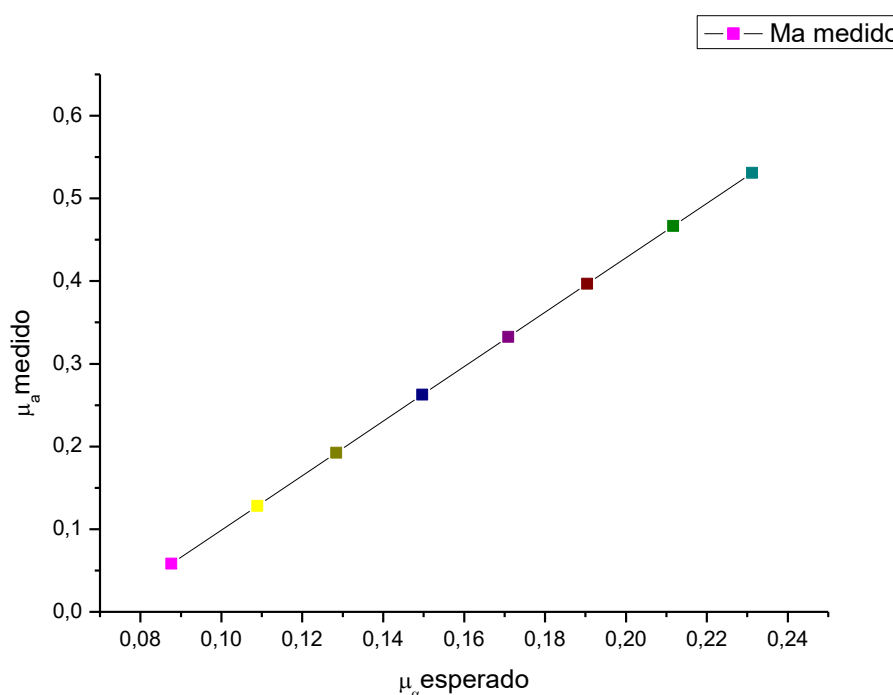


Figura 5. 2: Relação entre os coeficientes de absorção obtidos na esfera integradora (μ_a esperado) e no SFDI (μ_a medido).

A partir da Equação 4.7 é possível calcular os valores de δ para diferentes ângulos de inclinação θ . Esses resultados estão apresentados na Tabela 5. 4, que detalha os valores de δ em função do ângulo θ .

Tabela 5. 4: valores da profundidade δ das películas para diferentes ângulos de inclinação da reta do gráfico da figura 5.2.

θ	δ (mm)
45°	0,0
30°	0,732
15°	2,732
10°	4,671

Usando os dados obtidos na Tabela 5. 4 e a Equação 4.8 foram determinados os valores de μ_a medido, com base nos valores de μ_a^{esp} , para diferentes ângulos de inclinação da reta, representando diferentes localizações das partículas no fantoma de ZnPc. A Figura 5. 3 ilustra graficamente essa relação, mostrando a tendência de variação dos coeficientes de absorção conforme a profundidade das partículas.

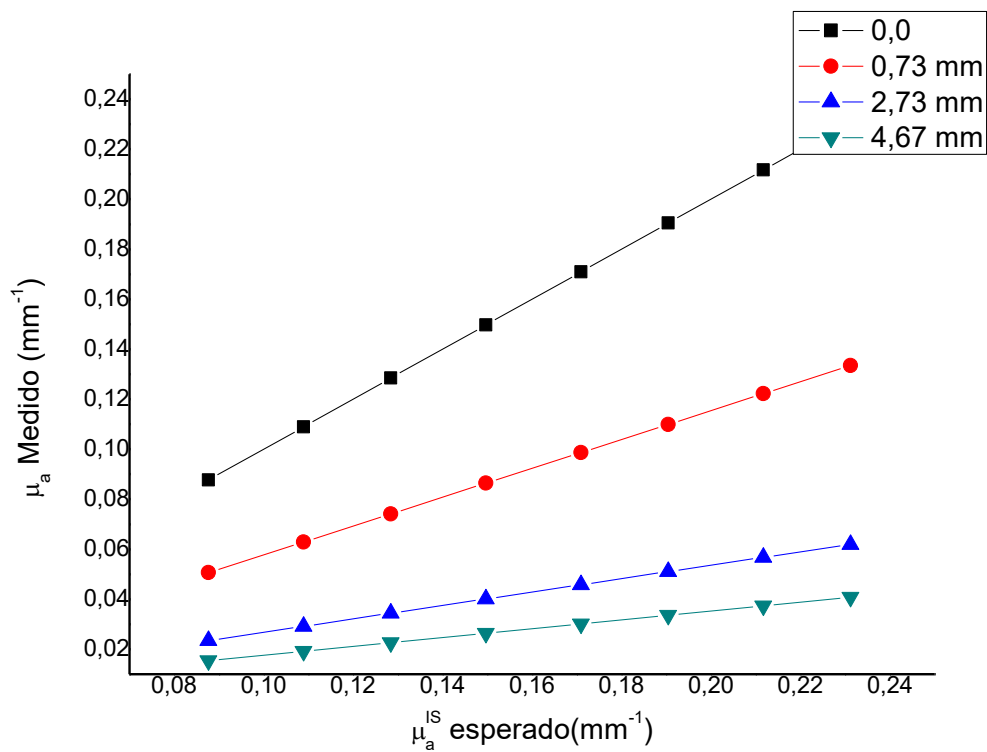


Figura 5. 3: Gráfico que relaciona μ_a medido, μ_a^{IS} esperado e as profundidades das partículas.

Com essas análises, observamos que os valores medidos de μ_a mostram uma boa concordância com os valores esperados em profundidades menores. Contudo, à medida que a profundidade aumenta, observa-se um desvio nos valores, o que pode ser explicado pela maior complexidade da absorção e espalhamento em regiões mais profundas, como sugerido pelos dados experimentais.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho de doutorado centrou-se na exploração e aprimoramento da técnica Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) aplicada ao mapeamento óptico de tecidos biológicos. Os resultados obtidos oferecem várias contribuições inovadoras e significativas para a comunidade científica, especialmente nos campos da Física e da Física Médica.

INOVAÇÕES INTRODUZIDAS

1. **Otimização da técnica SFDI:** O desenvolvimento e a validação de uma abordagem otimizada para a técnica SFDI permitiram melhor resolução e precisão na detecção de variações ópticas em diferentes profundidades de tecido. A inclusão de nanopartículas de ouro como agentes contrastantes proporcionou uma melhoria substancial na clareza e definição das imagens.
2. **Desenvolvimento de fantasmas multicamadas:** A criação de fantasmas com camadas bem definidas e controladas, de diferentes espessuras e concentrações de partículas absorvedoras, possibilitou um estudo detalhado da interação da luz com tecidos em diversas profundidades. Isso não apenas aprimorou a técnica SFDI, mas também forneceu um modelo robusto para futuros estudos comparativos.
3. **Visualização 3D das camadas do fantoma:** A implementação de gráficos tridimensionais processados no MATLAB ofereceu uma representação visual detalhada das distribuições de absorção e profundidade, permitindo uma análise mais intuitiva e compreensiva dos dados coletados. Essa visualização é crucial para a aplicação clínica da técnica SFDI na prática médica.
4. **Aplicação clínica da SFDI:** A aplicação prática da técnica SFDI em lesões de voluntários demonstrou sua eficácia na detecção e mapeamento de lesões epiteliais. Os mapas de cromóforos gerados forneceram informações valiosas sobre a distribuição de oxihemoglobina e água, essenciais para o diagnóstico de inflamações e possíveis áreas de necrose.
5. **Comparação com outras técnicas de imagem:** Foi realizada uma análise comparativa entre a técnica SFDI e outras técnicas de imagem médica, destacando as vantagens e limitações de cada uma. A SFDI mostrou-se

particularmente eficaz ao oferecer um mapeamento detalhado e não invasivo de lesões superficiais e intermediárias, contribuindo significativamente para o avanço das técnicas de imagem médica.

6. **Validação da técnica SFDI:** Uma contribuição importante deste estudo foi a validação da técnica SFDI a partir dos dados obtidos na esfera integradora, culminando na obtenção da equação que relaciona a profundidade e os coeficientes de absorção. Essa equação valida a precisão do método SFDI para o mapeamento óptico de tecidos epiteliais, assegurando sua eficácia e confiabilidade.

CONTRIBUIÇÕES PARA A COMUNIDADE CIENTÍFICA

1. **Avanços na física médica:** O estudo proporciona um avanço significativo na aplicação da Física Médica, oferecendo uma nova ferramenta diagnóstica para a detecção precoce de lesões e câncer no tecido epitelial. A técnica SFDI, aprimorada com o uso de nanopartículas de ouro, representa um passo importante em direção a diagnósticos mais precisos e menos invasivos.
2. **Base para futuros estudos:** As metodologias desenvolvidas e os resultados obtidos fornecem uma base sólida para pesquisas futuras no campo da óptica biomédica. Outros pesquisadores podem utilizar os fantasmas desenvolvidos e as técnicas de visualização 3D como modelos para estudos adicionais, ampliando o conhecimento sobre a interação da luz com tecidos biológicos.
3. **Impacto clínico:** A potencial aplicação clínica da técnica SFDI, demonstrada por meio dos estudos de casos com voluntários, destaca sua relevância e impacto no campo da saúde. Essa técnica pode ser integrada em práticas clínicas para melhorar o diagnóstico e o tratamento de lesões e câncer, beneficiando diretamente os pacientes.

Em resumo, o presente estudo não apenas aprimorou a técnica SFDI, mas também forneceu uma ferramenta inovadora e eficaz para o diagnóstico médico, contribuindo significativamente para os campos da Física e da Física Médica e abrindo novas possibilidades para pesquisas futuras.

7. Aplicações Clínicas e Futuro da SFDI na Óptica Biomédica

7.1. Diagnóstico de Câncer de Pele e Lesões Epiteliais

A *Spatial Frequency Domain Imaging* (SFDI) tem se mostrado uma ferramenta promissora para o diagnóstico precoce de câncer de pele e a caracterização de lesões epiteliais. Sua capacidade de medir as propriedades ópticas dos tecidos com alta precisão permite a detecção de alterações estruturais e funcionais nas camadas superficiais da pele, que são indicativos da presença de células cancerígenas ou lesões em desenvolvimento (Choi & Jia, 2016).

Ao fornecer uma análise quantitativa dos coeficientes de absorção e espalhamento, a SFDI permite que os médicos identifiquem anomalias com maior clareza, sem a necessidade de procedimentos invasivos como biópsias. Essa técnica se destaca ao capturar a heterogeneidade óptica dos tecidos, o que é crucial para diferenciar lesões benignas de malignas com maior precisão (Cuccia et al., 2009).

Estudos têm mostrado que a SFDI pode fornecer mapas de cromóforos, como oxihemoglobina e desoxihemoglobina, que são biomarcadores importantes para o diagnóstico de câncer de pele. Essas informações ajudam a identificar áreas de tecido com níveis anormais de vascularização ou metabolismo, o que pode ser um sinal precoce de malignidade (Norton & Vo-Dinh, 2003).

7.2 Perspectivas Futuras e Desafios na Implementação Clínica

Embora a SFDI apresente vantagens significativas para o diagnóstico não invasivo, há desafios que devem ser superados para sua ampla implementação clínica. Um dos principais desafios técnicos é a necessidade de calibração precisa e a complexidade do processamento de dados. Como a SFDI depende da modulação da luz em diferentes frequências espaciais, pequenas variações no sistema de aquisição podem impactar a precisão dos resultados (Cuccia et al., 2008).

Outro desafio está relacionado à adaptação dessa tecnologia aos fluxos de trabalho clínicos. Para que a SFDI se torne uma ferramenta de uso rotineiro em hospitais e clínicas, é necessário simplificar o processo de aquisição e processamento dos dados, além de garantir que os profissionais de saúde tenham o treinamento adequado para operar o equipamento e interpretar os resultados (Jacques, 2013).

Além disso, a integração da SFDI com outras modalidades de imagem, como ultrassom e ressonância magnética, pode ser uma área promissora para avanços futuros. Essa combinação multimodal pode fornecer uma visão mais abrangente das condições do paciente, aumentando a precisão dos diagnósticos e melhorando os desfechos clínicos (Wang & Wu, 2007).

7.3 O Papel da Física e da Engenharia no Avanço das Técnicas de Imagem

A contribuição da Física e da Engenharia no desenvolvimento de técnicas de imagem como a SFDI é indiscutível. Pesquisadores dessas áreas têm trabalhado para aprimorar os sistemas de aquisição e processamento de imagens, garantindo que as medições ópticas sejam cada vez mais precisas e confiáveis (Jacques, 2013).

Recentemente, avanços significativos foram alcançados na miniaturização dos dispositivos de imagem, tornando-os mais acessíveis e portáteis para uso clínico. Além disso, a implementação de algoritmos avançados de processamento de imagens, baseados em aprendizado de máquina e inteligência artificial, tem o potencial de automatizar a análise de dados e fornecer diagnósticos em tempo real, o que é crucial para a detecção precoce de doenças (Cuccia et al., 2008).

No futuro, espera-se que novas descobertas nas áreas de física óptica e engenharia biomédica contribuam para o desenvolvimento de técnicas ainda mais sofisticadas, capazes de penetrar em maiores profundidades dos tecidos e fornecer informações detalhadas sobre a estrutura e função celular. Isso permitirá que a SFDI e outras tecnologias relacionadas desempenhem um papel ainda mais importante no diagnóstico e tratamento de doenças (Pogue & Patterson, 2006).

8 Referências Bibliográficas

- Arridge, S. R. (1999). Optical tomography in medical imaging. *Inverse problems*, 15(2), R41. <https://doi.org/10.1088/0266-5611/15/2/022>
- BASSANI, I. et al. Técnicas de imagem no domínio da frequência espacial para diagnóstico óptico. *Journal of Biomedical Optics*, v. 19, n. 2, p. 026007, 2014.
- Choi, B., & Jia, W. (2016). Spatial frequency domain imaging. In *Handbook of Biomedical Optics* (pp. 1-23). CRC Press.
- CHOI, B.; JIA, W. Spatial Frequency Domain Imaging for Medical Diagnosis. *Journal of Biomedical Optics*, v. 21, n. 9, p. 091302, 2016.
- CUCCIA, D. J. et al. Quantitation and mapping of tissue optical properties using modulated imaging. *Journal of Biomedical Optics*, v. 14, n. 2, p. 024012, 2009. <https://doi.org/10.1117/1.3088140>
- CUCCIA, D. J. et al. Quantitative in vivo imaging of tissue absorption, scattering, and hemoglobin concentration in rat cortex using Spatial Frequency Domain Imaging. *Applied Optics*, v. 47, n. 10, p. 1905–1917, 2008.
- Cuccia, D. J., et al. (2005). Modulated imaging: quantitative analysis and tomography of turbid media in the spatial-frequency domain. *Optics Letters*, 30(11), 1354-1356. <https://doi.org/10.1364/OL.30.001354>
- Cuccia, D. J., et al. (2008). Modulated imaging: quantitative analysis and tomography of turbid media in the spatial-frequency domain. *Applied Optics*, 47(10), 104-116.
- Cuccia, D. J., et al. (2009). Modulated imaging: quantitative analysis and mapping of tissue optical properties. *Optics Letters*, 34(13), 2016-2018.
- Cuccia, D. J., et al. (2009). Quantitation and mapping of tissue optical properties using modulated imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 14(2), 024012. <https://doi.org/10.1117/1.3088140>
- Curcio, J. A., & Petty, C. C. (1951). The near infrared absorption spectrum of liquid water. *Journal of the Optical Society of America*, 41(5), 302-304. <https://doi.org/10.1364/JOSA.41.000302>
- DOESCHER, M. S. et al. Noninvasive Burn Diagnosis Using Spatial Frequency-Domain Imaging Part II: Dynamic Response to Resuscitation Fluid. *Journal of Burn Care & Research*, v. 37, n. 2, p. e172–e179, 2016.

- Dougherty, T. J., et al. (1998). Photodynamic therapy. *Journal of the National Cancer Institute*, 90(12), 889-905. <https://doi.org/10.1093/jnci/90.12.889>
- Dykman, L. A., & Khlebtsov, N. G. (2012). Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. *Chemical Society Reviews*, 41(6), 2256-2282. <https://doi.org/10.1039/C1CS15166E>
- Huang, X., Jain, P. K., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2008). Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles. *Lasers in Medical Science*, 23(3), 217-228. <https://doi.org/10.1007/s10103-007-0470-x>
- Jacques, S. L. (1998). Melanosomes: Optical properties, survival in tissues, and photothermolysis. *Photochemistry and Photobiology*, 67(2), 97-104.
- Jacques, S. L. (1998). Melanosomes: Optical properties, survival in tissues, and photothermolysis. *Photochemistry and Photobiology*, 67(2), 97-104.
- Jacques, S. L. (2013). Optical properties of biological tissues: a review. *Physics in Medicine & Biology*, 58(11), R37. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/11/R37>
- Jain, P. K., Lee, K. S., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2006). Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine. *Journal of Physical Chemistry B*, 110(14), 7238-7248. <https://doi.org/10.1021/jp057170o>
- Jones, A. et al. Spatial Frequency Domain Imaging in Tissue Diagnostics. *Optics Express*, v. 27, n. 8, p. 654-667, 2019.
- MENDES, A. C. M. Aplicação da técnica da imagem no domínio da frequência espacial para o estudo da profundidade de penetração da luz em fantasmas ópticos que simulam o tecido epitelial. 2019. 100 f. Dissertação (Mestrado em Física) —Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.
- Modest, M. F. (2013). Radiative heat transfer. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386944-9.50023-6>
- Norton, S. J., & Vo-Dinh, T. Optical Techniques for the Detection of Cancer. *Journal of Biomedical Optics*, 2003, 8(3), 313-319.
- NORTON, S. J.; VO-DINH, T. Biomedical Photonics Handbook. CRC Press, 2003.
- NORTON, S. J.; VO-DINH, T. Optical Techniques for the Detection of Cancer. *Journal of Biomedical Optics*, v. 8, n. 3, p. 313-319, 2003.

- OCEAN OPTICS. Manual do usuário do espectrômetro USB4000-UV-VIS. 2015.
- ORIGINLAB CORPORATION. OriginPro 2021: User Guide. 2021.
- POGUE, B. W.; PATTERSON, M. S. Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry. *Journal of Biomedical Optics*, v. 11, n. 4, p. 041102, 2006. <https://doi.org/10.1117/1.2335429>
- Prahl, S. A. (1999). Optical absorption of hemoglobin. Oregon Medical Laser Center.
- Smith, J. et al. Advances in Optical Imaging Techniques. *Journal of Biomedical Optics*, v. 25, n. 3, p. 123-134, 2020.
- Tuchin, V. V. (2007). *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*. SPIE Press.
- Wang, L., & Wu, X. (2007). Introduction to biomedical optics. CRC Press.
- Wang, L., Jacques, S. L., & Zheng, L. (1995). MCML—Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues. *Computer methods and programs in biomedicine*, 47(2), 131-146. [https://doi.org/10.1016/0169-2607\(95\)01640-F](https://doi.org/10.1016/0169-2607(95)01640-F)
- WANG, Y. et al. Portable optical tissue imaging system based on spatial-frequency domain imaging technique. *Optics Express*, v. 18, n. 9, p. 10177–10187, 2010.
- XYZ, A. B. Advances in Optical Imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 2021.

9 OUTROS TRABALHOS DESENVOLVIDOS

9.1 APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS EM CONGRESSOS:

- I simpósio de física aplicada à medicina da universidade federal de uberlândia



I SIMPÓSIO DE FÍSICA APLICADA À MEDICINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PET FÍSICA MÉDICA

A Imagem no Domínio da Frequência Espacial no estudo da localização e concentração de nanopartículas em um objeto simulador óptico do tecido epitelial

- XXII Ciclo de Palestras em Ciências Biológicas e da Saúde realizada Universidade Federal de Catalão (UFCAT)



- XIII Semana da física



9.2 ARTIGOS

- **Aerosol blocking assessment by different types of fabrics for homemade respiratory masks: spectroscopy and imaging study.**

GIULIANI, C. D.; FOSCHINI, M.; MONTE, A. F. G.; MENDES, A. C. M.; MALETTA, A.; JANONES, R. S.; DUARTE, B. A. R.; DEL-CLARO, K. **Aerosol blocking assessment by different types of fabrics for homemade respiratory masks: spectroscopy and imaging study.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 33, p. 102176, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.23954/osj.v6i1.2721>.

- **Innovative methodology for noninvasive spatial mapping of gold nanoparticle distribution in tissues: potential applications in biomedical imaging and therapy**

MENDES, A. C. M.; MONTE, A. F. G.; SAAGER, R. B. Innovative methodology for noninvasive spatial mapping of gold nanoparticle distribution in tissues: potential applications in biomedical imaging and therapy. *Journal of the Optical Society of America A*, v. 41, p. 1337-1346, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1364/JOSAA.523717>.

10 ANEXO I

1) convert_HC1_data.m

```

clear all;
cd(strrep(mfilename('fullpath'),mfilename,''));

color = {'457','488','532','580','650'};
s_freq = {'0','100','200','300','400'};

phase = {'0','120','240'};

dir_HC1_data=
uigetdir(strrep(mfilename('fullpath'),mfilename,''),...
        'Select
the HC1 data folder');

temp      =      imread([dir_HC1_data      '/0/'      char(color(1))
'_0.tif']);
img_size = size(temp);
HC1_image = zeros(img_size(1), img_size(2), 6*5*3);

[pathstr,name,ext]=fileparts(dir_HC1_data);

int_time      =      importdata([dir_HC1_data      '\'      name
'_ExpTime.txt']);

for i = 1:5
    for j = 1:5
        for k = 1:3
            temp = imread([dir_HC1_data '/' char(s_freq(j))
'/ ' ...

```

```

char(color(i))    '_'
char(phase(k))    '.tif']);
    if(img_size ~= size(temp))
        temp = imresize(temp,img_size,'bilinear');
    end
    HC1_image(:,:,k+3*(j-1)+15*(i-1)) = temp;

    end
end
end

fid=fopen([dir_HC1_data '_raw'],'w');
fwrite(fid, HC1_image, 'single');
dir_HC1_data = [dir_HC1_data];
save(dir_HC1_data, 'img_size', 'int_time', '-ascii', '-
tabs');
fclose(fid);

```

2) est_script_for_HC1.m

```

clear all
close all

n_sample=1.4;
chromused=[1 2 3 4 5];

process.method='lut';

LUTfreqsidx=[1 5];
if strcmp(process.method,'lut')
    binsize=1;
else
    binsize=8;

```

```

end

freq.used=[];

system_type = 'HC1';

file_filter='D:\Data/*. *';

savefile='Canal01lut';
cd(strrep(mfilename('fullpath'),mfilename,''));

[AC,wv,freqs]=rawdataload_HC1(file_filter,...
                             'Select the sample image data file(s)',
system_type);
AC=SmoothData(AC,3);

if isempty(freq.used);
    freq.used=(1:length(freqs));
end

[ACph]=rawdataload_HC1(file_filter,'Select the reference
image data file(s)', system_type);
ACph=SmoothData(ACph,3);

file_filter=strrep(mfilename('fullpath'),mfilename,'phantoms/*.txt');
cal_reflectance=calibrate(wv,freqs,AC,ACph,process,file_filter);

clear AC ACph

Mistackplot(cal_reflectance);

[cal_roi, ~]=selectroi(cal_reflectance,'Fig.2 - Select one
rectangular ROI');

```

```

    if strcmp(process.method,'lut')

[op_fit_maps]=LUTfitops(cal_roi(:,:,:,LUTfreqsidx),wv,freqs(LU
Tfreqsidx),n_sample);

    else

        [op_fit_maps,
ave_op]=fit_ops(cal_roi(:,:,:,freq.used),wv,freqs(freq.used),n
_sample,process.method,binsize);
    end

    file_filter=strrep(mfilename('fullpath'),mfilename,'spectr
a/*.txt');

    chrom_map=chromfits(op_fit_maps,wv,chromused,file_filter);

    [spec_roi,
spec_roi_std,av_chrom,rect]=opticalspectra(op_fit_maps,
chrom_map, cal_roi, wv, binsize);

    [reflec_roi,
reflec_roi_std,av_chrom,rect]=reflec(cal_reflectance,
chrom_map, cal_roi, freqs, binsize);

    eval(['save ' savefile]);

```

11 ANEXO II

Mapas de Cromóforos Em diferentes profundidades e frequências espaciais

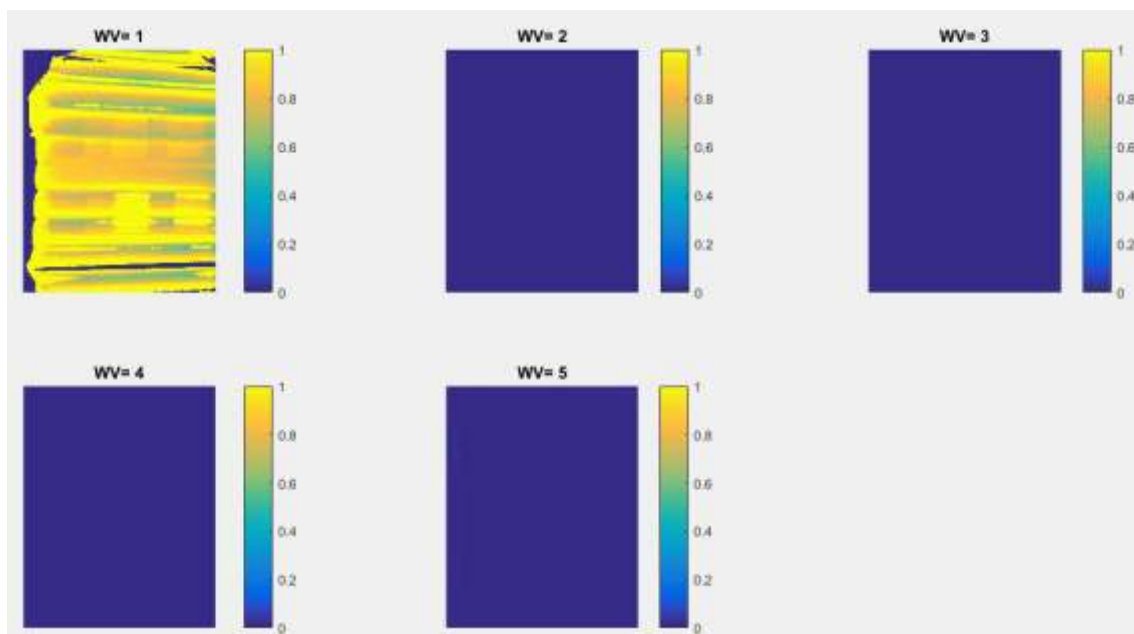


Figura 11. 1: Mapas de cromóforos da camada A3 e $Kx = 0,05 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

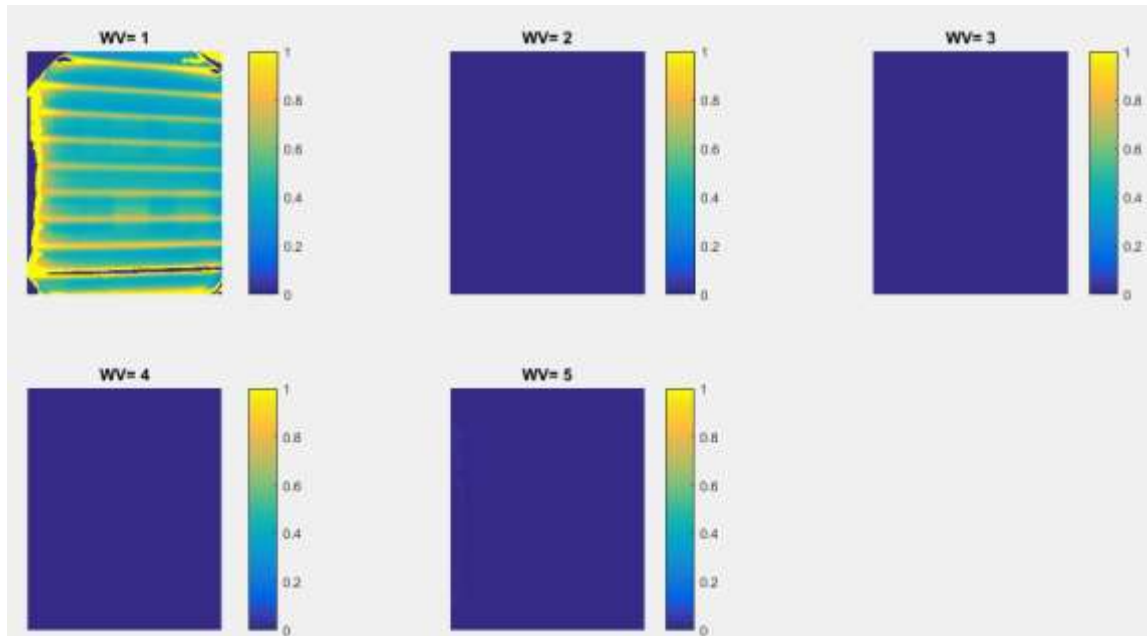


Figura 11. 2: Mapas de cromóforos da camada A31 e $Kx = 0,05 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

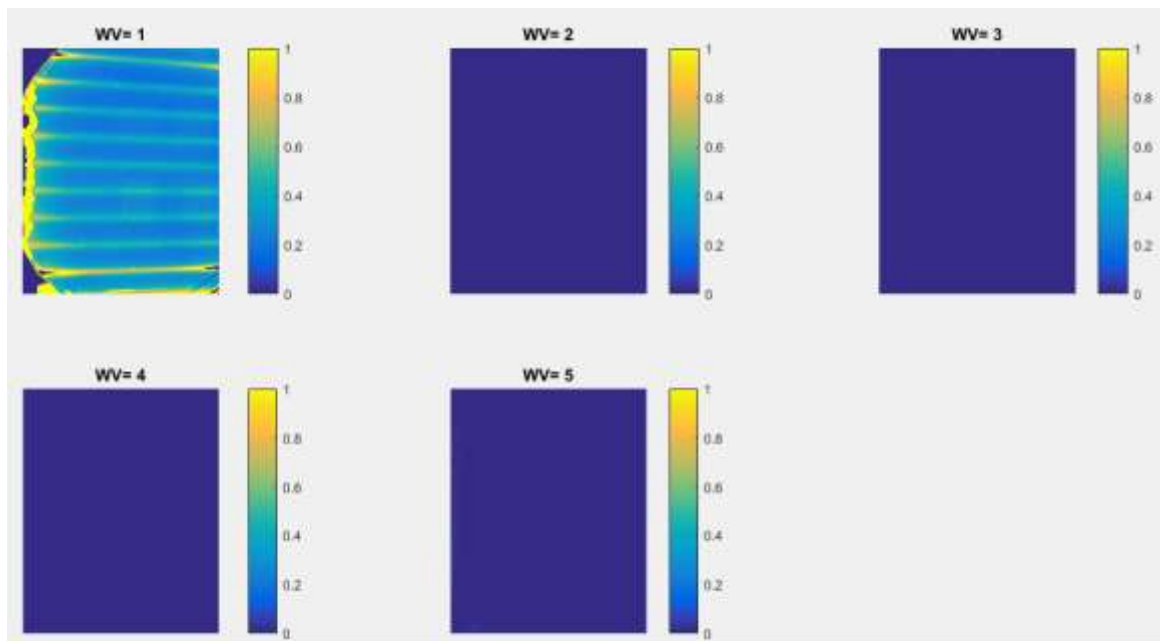


Figura 11. 3: Mapas de cromóforos da camada A32 e $Kx = 0,05 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

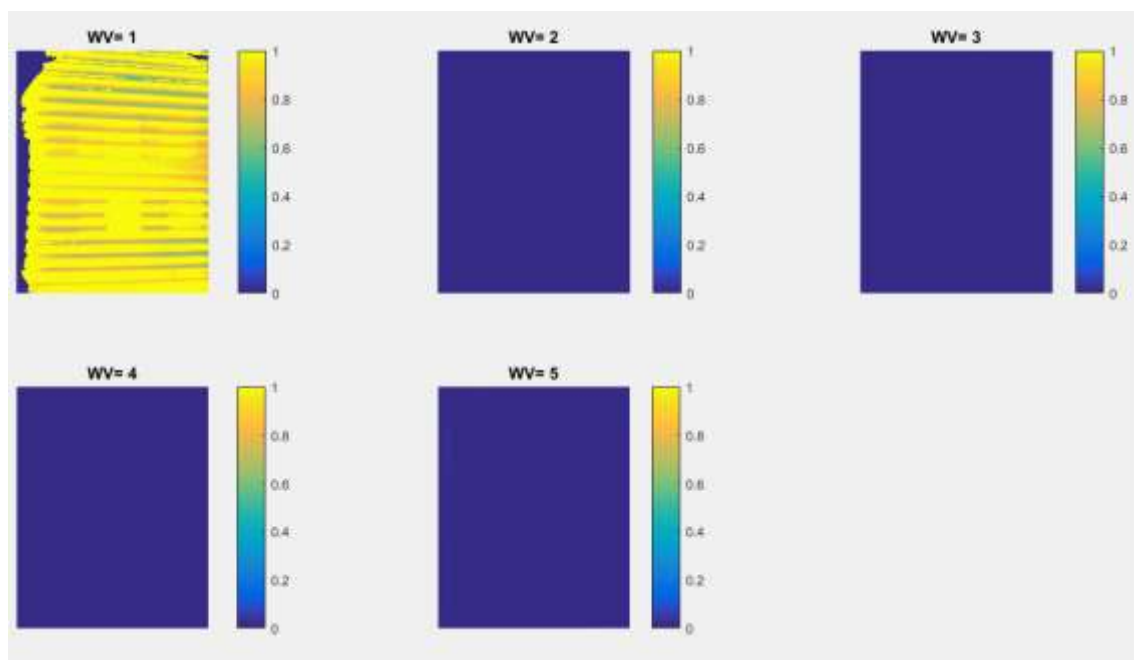


Figura 11. 4: Mapas de cromóforos da camada A3 e $Kx= 0,1 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

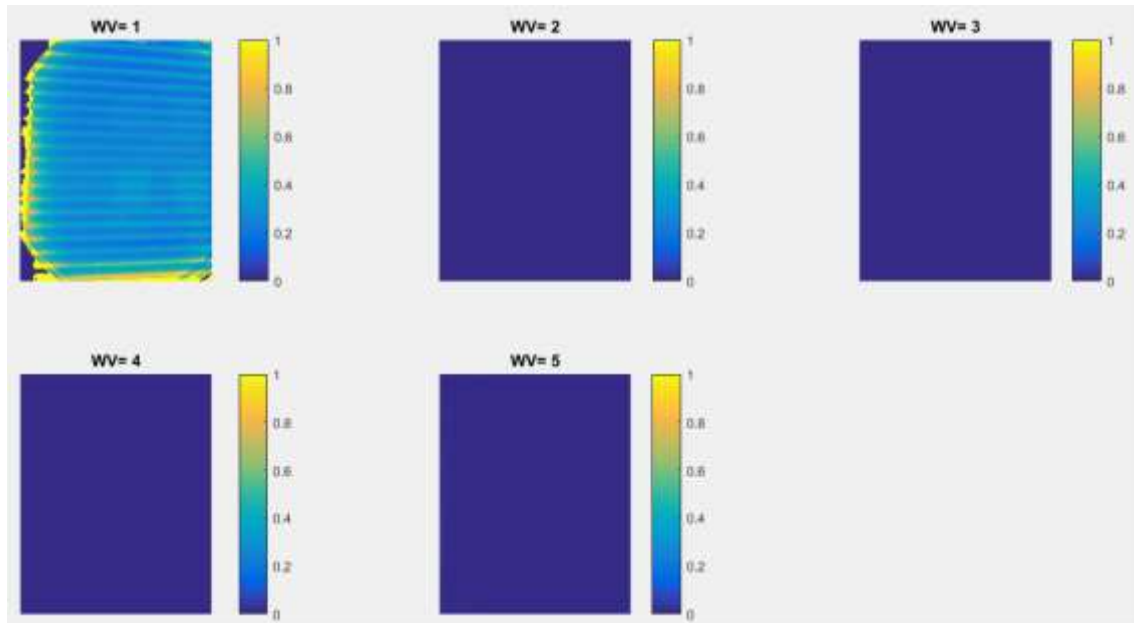


Figura 11. 5: Mapas de cromóforos da camada A31 e $Kx = 0,1 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

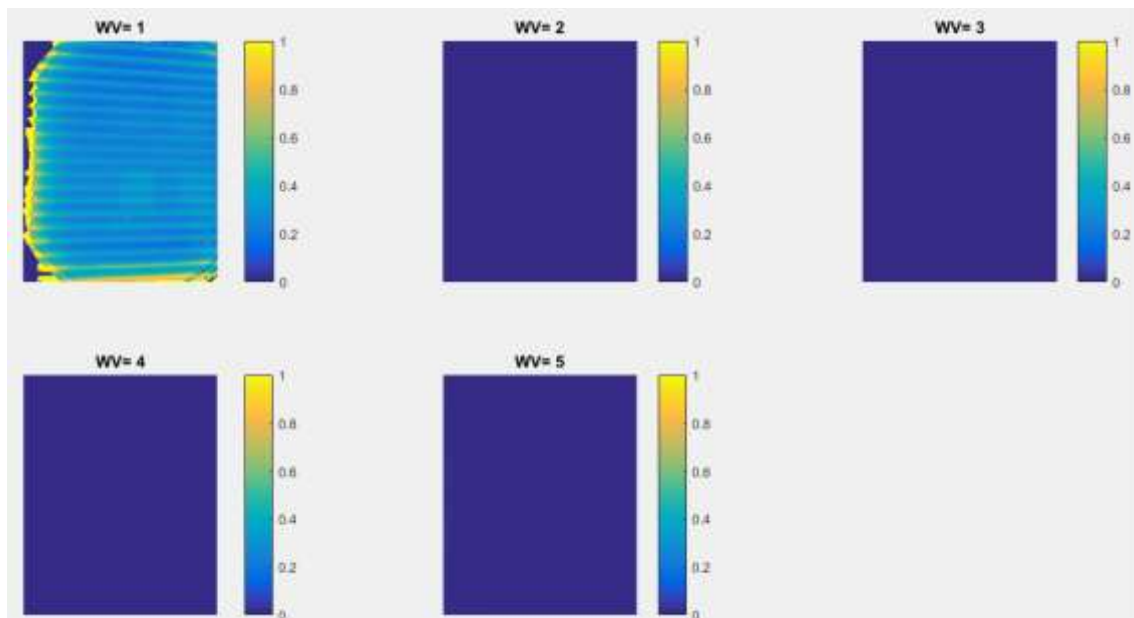


Figura 11. 6: Mapas de cromóforos da camada A32 e $Kx = 0,1 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

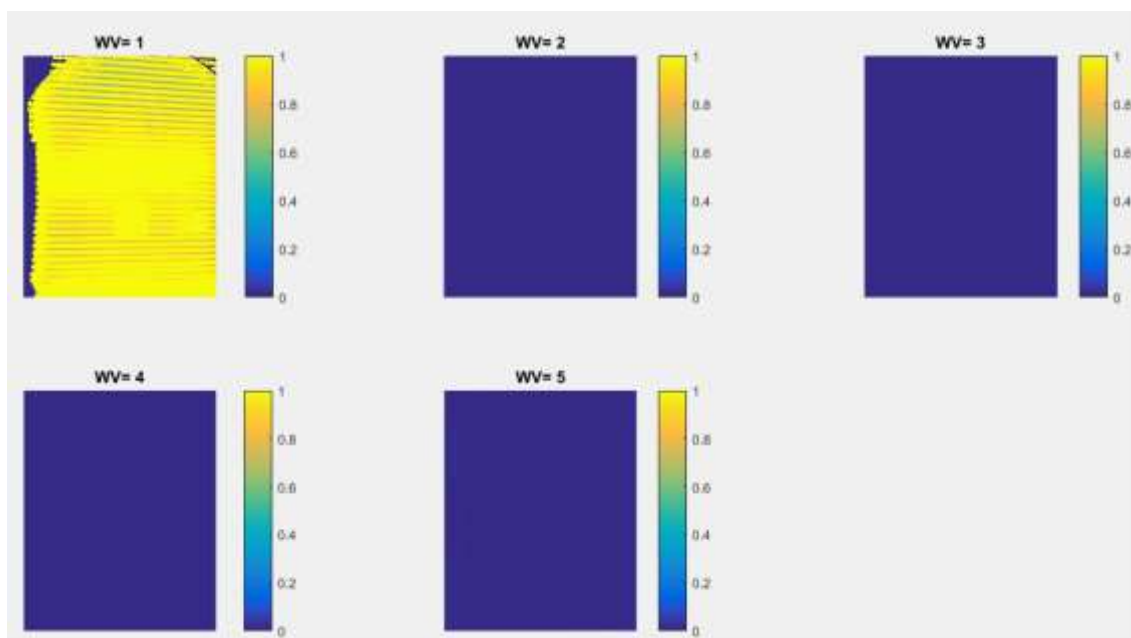


Figura 11. 7: Mapas de cromóforos da camada A3 e $Kx = 0,2 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

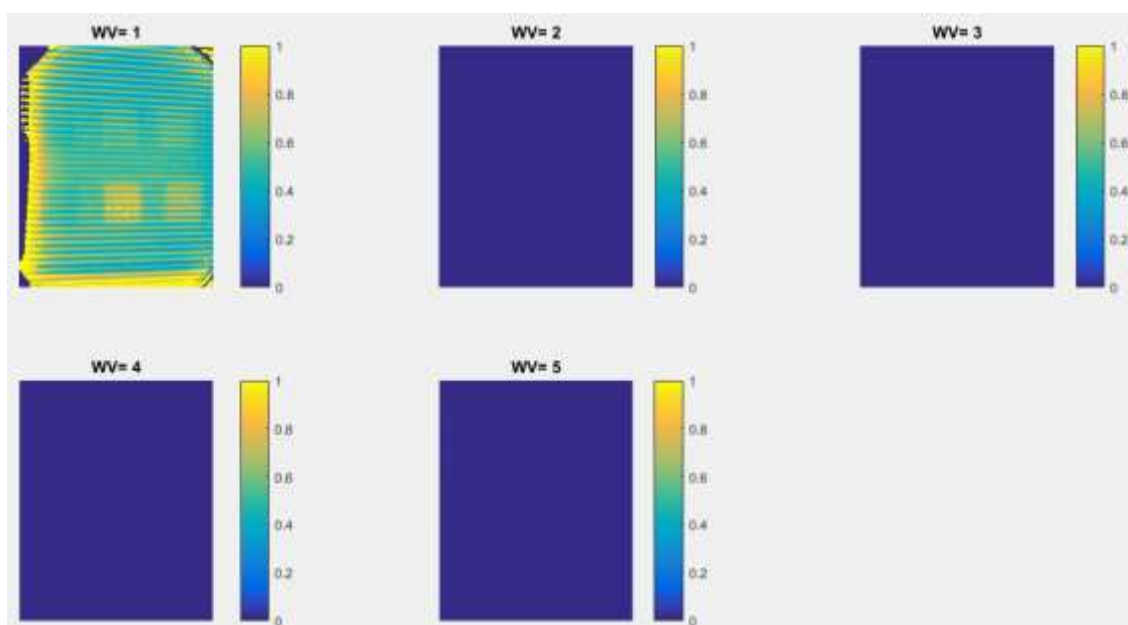


Figura 11. 8: Mapas de cromóforos da camada A31 e $Kx = 0,2 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

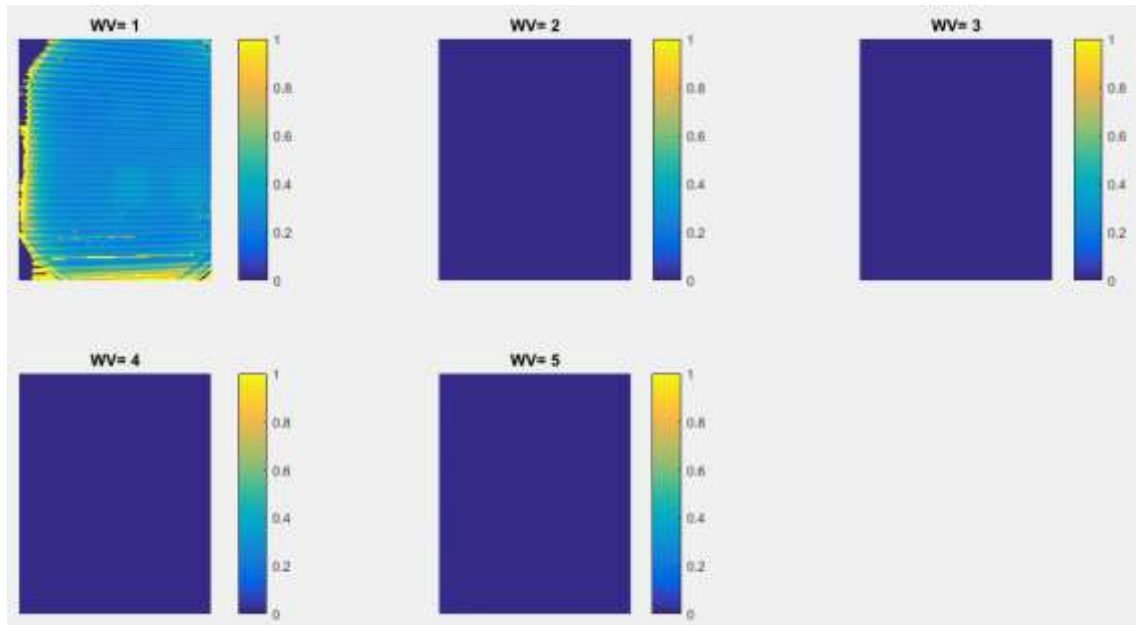


Figura 11. 9: Mapas de cromóforos da camada A32 e $Kx = 0,2 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

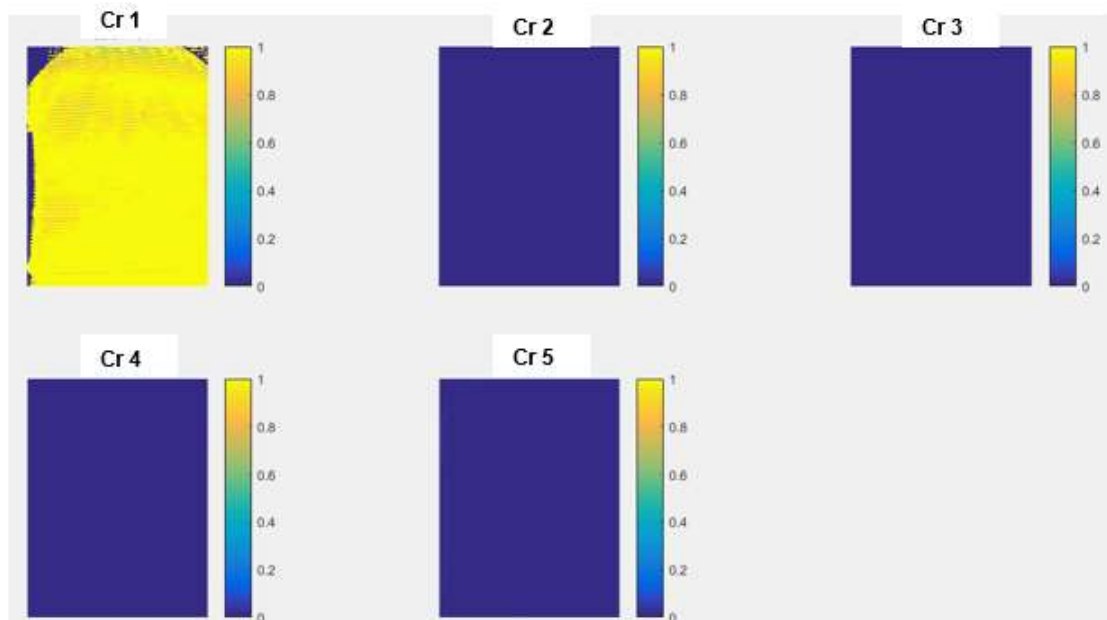


Figura 11. 10: Mapas de cromóforos da camada A3 e $Kx = 0,4 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

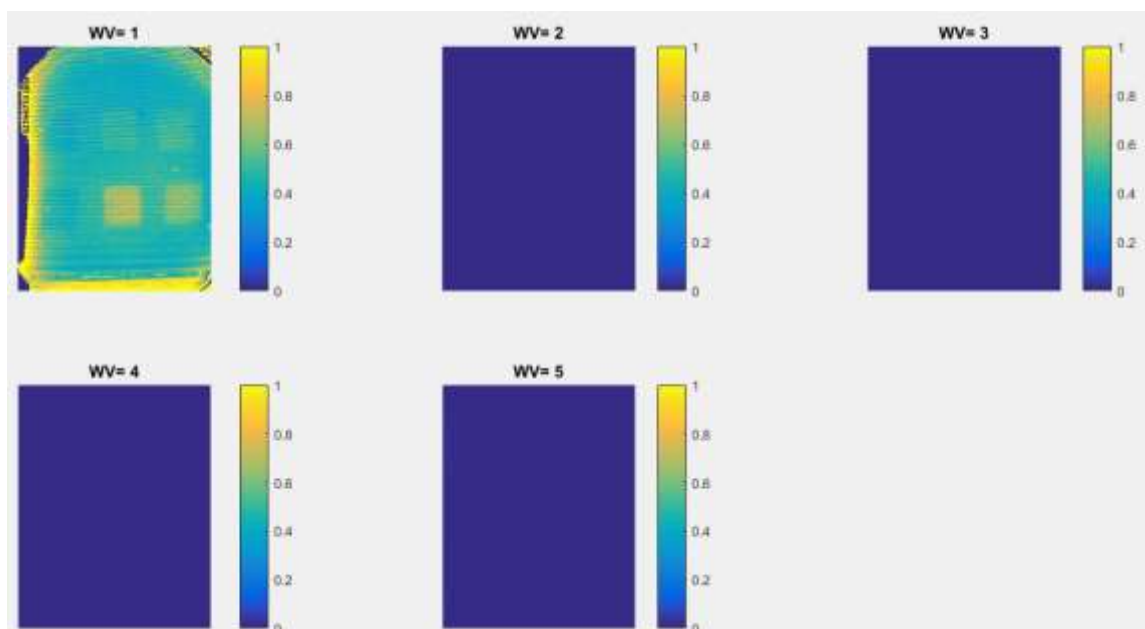


Figura 11. 11: Mapas de cromóforos da camada A31 e $K_x = 0,4 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

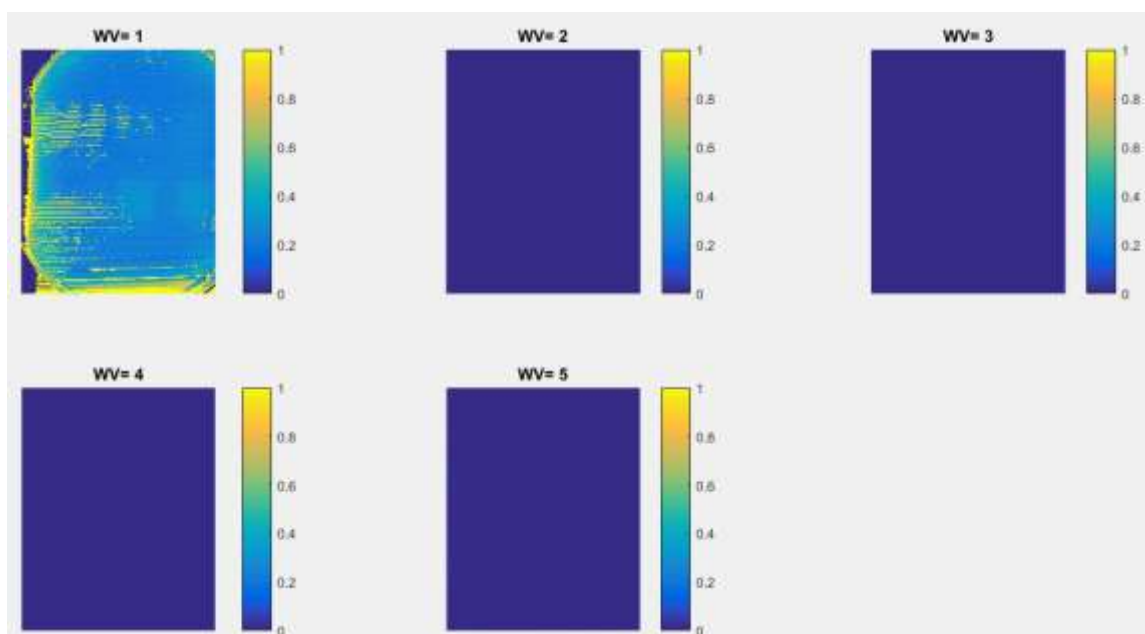


Figura 11. 12: Mapas de cromóforos da camada A32 e $K_x = 0,4 \text{ mm}^{-1}$, onde Cr 1= HbO_2 ; Cr 2= Hb; Cr 3= H_2O ; Cr 4= Lipídeo; Cr 5= Melanina.

12 ANEXO III

Mapas comparativos da absorção e do espalhamento para diferentes profundidades e frequências espaciais

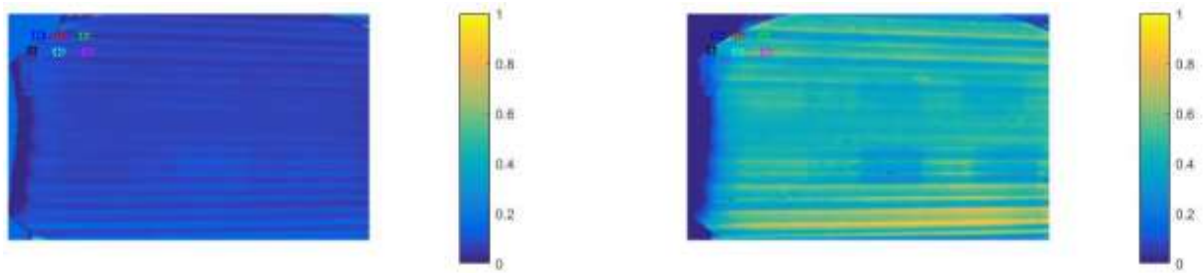


Figura 12. 1: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A3 e frequência $K_x=0,05 \text{ mm}^{-1}$.

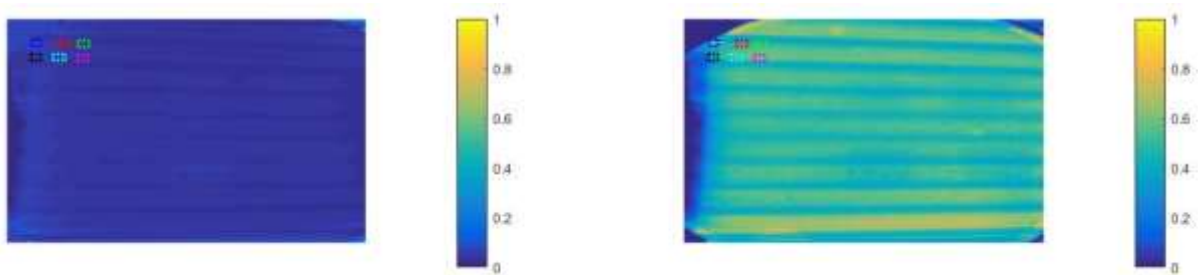


Figura 12. 2: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A31 e frequência $K_x=0,05 \text{ mm}^{-1}$.

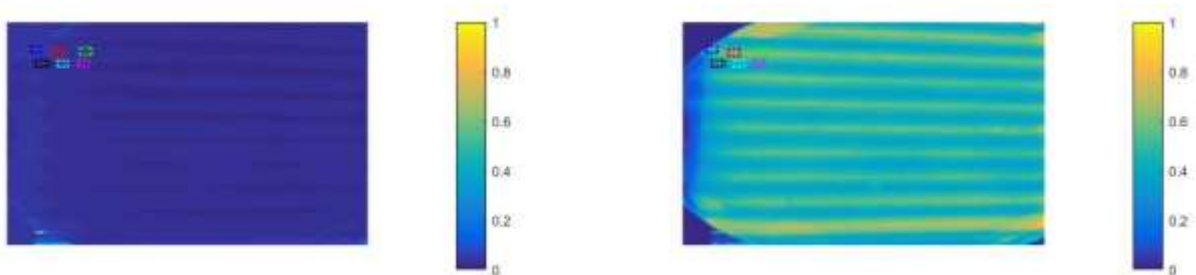


Figura 12. 3: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A32 e frequência $K_x=0,05 \text{ mm}^{-1}$.

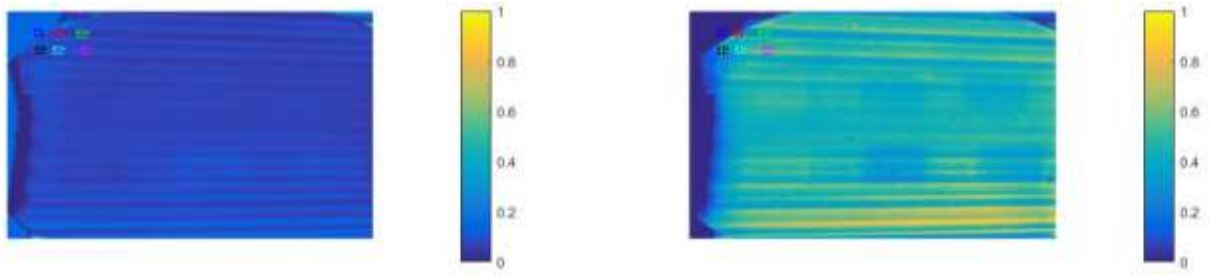


Figura 12. 4: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A3 e frequência $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$.

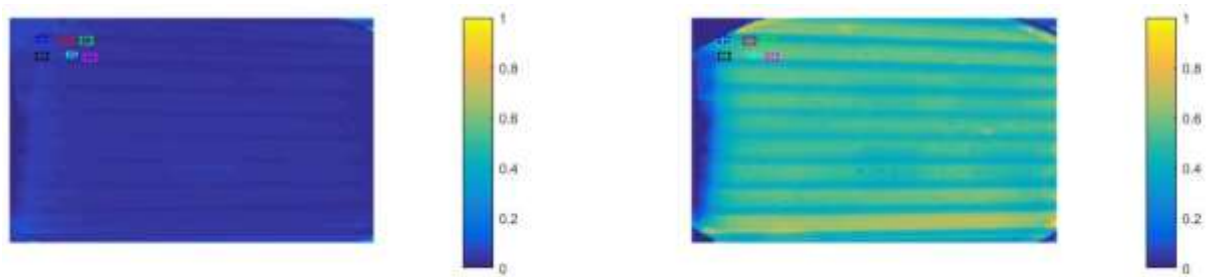


Figura 12. 5: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A31 e frequência $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$.

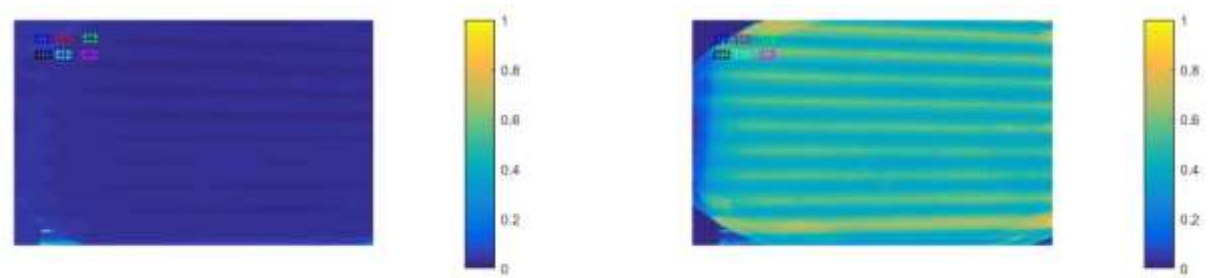


Figura 12. 6: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A32 e frequência $K_x=0,1 \text{ mm}^{-1}$.

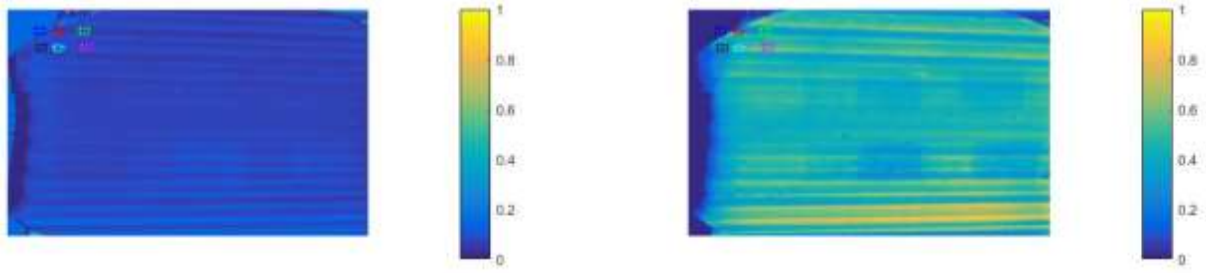


Figura 12. 7: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A3 e frequência $K_x=0,2 \text{ mm}^{-1}$.

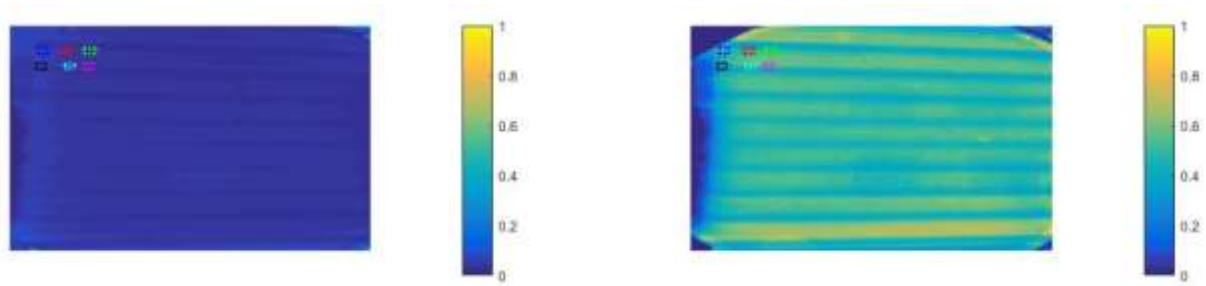


Figura 12. 8: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A31 e frequência $K_x=0,2 \text{ mm}^{-1}$.

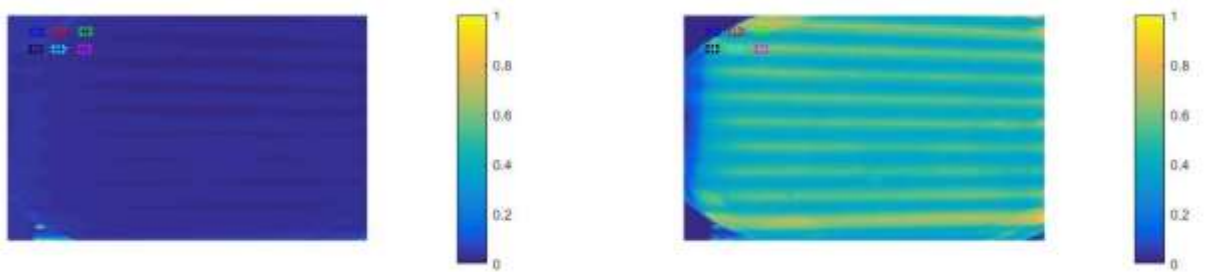


Figura 12. 9: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A32 e frequência $K_x=0,2 \text{ mm}^{-1}$.

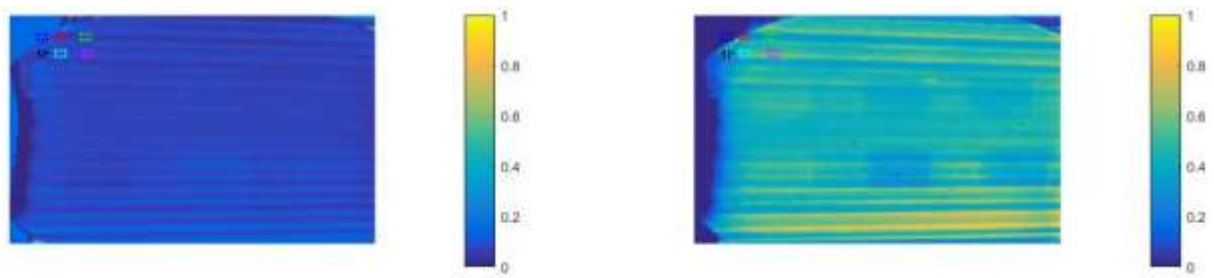


Figura 12. 10: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A3 e frequência $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$.

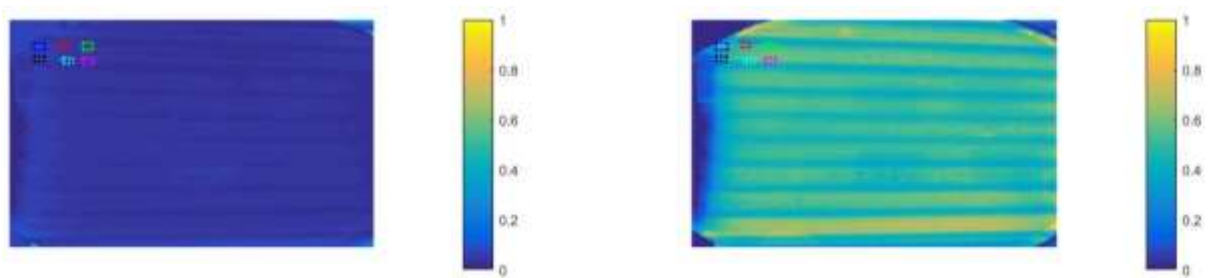


Figura 12. 11: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A31 e frequência $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$.

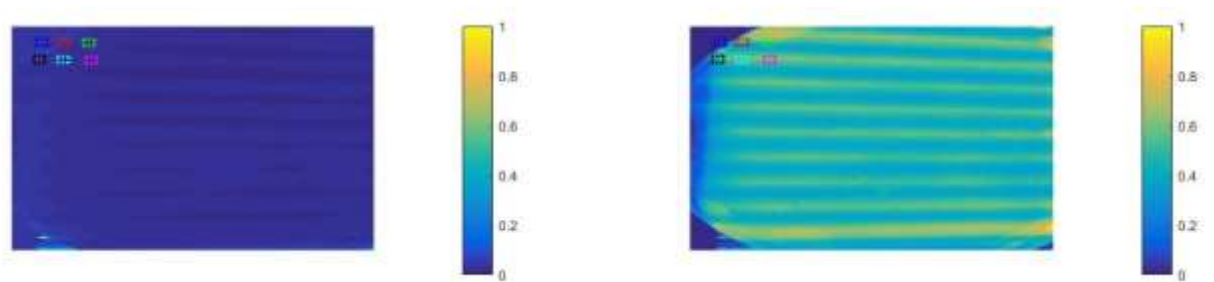


Figura 12. 12: Mapas comparativos da absorção e o espalhamento para a camada A32 e frequência $K_x=0,4 \text{ mm}^{-1}$.