

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE FÍSICA

MARIA EDUARDA SALES MORAIS DA SILVA

**A INFLUÊNCIA DO CORANTE NANQUIM NAS
PROPRIEDADES ÓTICAS ANALISADAS EM FANTOMAS DE
TECIDO HUMANO**

UBERLÂNDIA

2022

MARIA EDUARDA SALES MORAIS DA SILVA

**A INFLUÊNCIA DO CORANTE NANQUIM NAS
PROPRIEDADES ÓTICAS ANALISADAS EM FANTOMAS DE
TECIDO HUMANO**

Trabalho de Conclusão de Curso do
Instituto de Física da Universidade
Federal de Uberlândia

Orientador: Prof. Dr. Adamo Ferreira
Gomes do Monte.

UBERLÂNDIA

2022

MARIA EDUARDA SALES MORAIS DA SILVA

**A INFLUÊNCIA DO CORANTE NANQUIM NAS PROPRIEDADES ÓTICAS
ANALISADAS EM FANTOMA DE TECIDO HUMANO**

Trabalho de Conclusão de Curso para
obtenção do título de bacharel do
curso de Física Médica pela
Universidade Federal de Uberlândia

Aprovado em 19 de agosto de 2022.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte

Prof. Dra. Viviane Pilla

Ma. Ana Caroline Moreira Mendes

RESUMO

Espectroscopia ótica de imagem em fantasmas deve ter as propriedades de espalhamento e absorção, que são características dos tecidos humanos e, nas últimas décadas, muitos modelos úteis foram criados em laboratório. Neste trabalho, uma visão geral de sua composição e propriedades óticas é delineada, separando materiais de matriz, espalhamento e absorção, e discutindo os comportamentos do espectro de cada uma delas. Os possíveis materiais da matriz podem ser água, gelatina, ágar, poliéster ou resina epóxi e poliuretano, ou géis de álcool polivinílico. Neste trabalho foi utilizado como matriz o silicone e a ele foram adicionados dois corantes, para imitar as propriedades óticas da pele humana, sendo eles: o Nanquim e o Dióxido de Titânio. A quantidade de silicone foi a mesma para todos os fantasmas apenas as quantidades dos corantes foram variadas e para a produção se fez necessário, principalmente, de balança de precisão, para que tudo fosse devidamente pesado; mixer, para misturar os corantes com o silicone e câmara a vácuo para tirar todas as bolhas do fantoma. Apesar desses corantes já serem estabelecidos como agentes que imitam as propriedades do coeficiente de absorção e espalhamento da pele humana; o objetivo é observar a influência do Naquim no espalhamento. A análise é feita a partir da caracterização de dados feita pela Esfera Integradora e dados obtidos pelo SFDI (Imagem no Domínio de Frequência Espacial). A partir disso foi observado que o Naquim utilizado pode comprometer os resultados por também espalhar a luz, isso pode ser justificado por ele ser um corante molecular e por não formar uma solução com o silicone e o Dióxido de Titânio por terem propriedades químicas diferentes.

Palavras-chave: espectroscopia, fantasmas, absorção, espalhamento, luz.

ABSTRACT

Optical imaging spectroscopy in phantoms must have the scattering and absorption properties that are characteristic of human tissues, and in recent decades many useful models have been created in the laboratory. In this work, an overview of their composition and optical properties is outlined, separating matrix, scattering and absorption materials, and discussing the spectral behavior of each of them. Possible matrix materials may be water, gelatin, agar, polyester or epoxy resin and polyurethane, or polyvinyl alcohol gels. In this work, silicone was used as a matrix and two dyes were added to it, to imitate the optical properties of human skin, namely: Nakin and Titanium Dioxide. The amount of silicone was the same for all the phantoms, only the amounts of dyes were varied and for the production it was necessary, mainly, a precision scale, so that everything was properly weighed; mixer, to mix the dyes with the silicone and a vacuum chamber to remove all bubbles from the phantom. Although these dyes are already established as agents that mimic the absorption and scattering coefficient properties of human skin; the objective is to observe the influence of Nankin in the scattering. The analysis is carried out from the data characterization made by the Integrating Sphere and data obtained by the SFDI (Spatial Frequency Domain Image). From this it was observed that the Nankin used can compromise the results by also scattering the light, this can be justified because it is a molecular dye and because it does not form a solution with silicone and Titanium Dioxide because they have different chemical properties.

Keywords: spectroscopy, phantoms, absorption, scattering, light.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	6
1.1	Justificativa.....	6
1.2	Objetivos	8
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
2.1	Índice De Refração.....	9
2.2	Absorção da Luz	10
2.3	Espalhamento Da Luz	12
2.4	Propriedades Óticas Em Tecidos Biológicos.....	13
3	MÉTODOS.....	15
3.1	Fantomas	15
3.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	18
3.3	Esfera Integradora.....	19
3.4	Imagens No Domínio Da Frequência Espacial (SFDI)	21
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	24
4.1	Fantomas	24
4.2	MEV	25
4.3	ESFERA INTEGRADORA.....	26
4.5	SFDI	29
5	CONCLUSão	32
6	REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

1.1 Justificativa

Tecnologias óticas são usadas em toda a extensão do diagnóstico médico, desde testes em laboratórios, diagnóstico e monitoramento por imagem até imagens de procedimentos intraoperatórios. A imagem ótica permite visualização em tempo real do tecido e células em altas resoluções espaciais com equipamentos relativamente baratos e portáteis, especialmente quando comparados a tecnologias como as utilizadas na ressonância magnética e na tomografia computadorizada. Diversas tecnologias de imagem, tanto micro quanto macroscopicamente, quando não já adotadas em práticas clínicas como padrão de cuidados estão ou em fase de adaptação das clínicas ou em fase de aprimoramento. Em salas de operações, por exemplo, técnicas cirúrgicas que dependem de um guia óptico, como a laparoscopia, têm diminuído o risco de hemorragia e reduzido o tempo de recuperação do paciente. Imagens óticas intra-operatórias nos dão contrastes do tecido que vão além do campo de visão humano, ocasionando resultados cirúrgicos bem sucedidos. Devido à sua alta resolução, mecanismos ricos em contraste e, principalmente, por ser não-invasiva, a imagem ótica tem sido uma modalidade cada vez mais usada para diagnósticos clínicos, como a endoscopia e a tomografia de coerência ótica (YUN; KWOK, 2017).

Muitos outros métodos de diagnóstico por luz, entretanto, estão ainda em fase de teste, sendo estudados e desenvolvidos por grupos científicos ligados às universidades, mostrando ser esta uma área promissora para os próximos anos, tanto em caráter científico quanto clínico. Neste caso, foi feito o uso da técnica de Imagem no Domínio de Frequência Espacial (SFDI), que se baseia na refletância difusa da luz, no qual é possível obter os parâmetros de absorção e de espalhamento em tecidos biológicos ou em meios turvos e da Esfera Integradora. No primeiro caso frequências de luz são emitidas no tecido por uma lâmpada acoplada a um projetor, e posteriormente uma câmera CCD captura as imagens de reflexão, as quais são processadas por métodos como Equação de Difusão, Monte Carlo ou

Look-upTable, através de códigos escritos em Matlab (ROHRBACH et al., 2014; ROHRBACH et al., 2015).

O MATLAB é uma linguagem computacional de alta performance que integra computação, visualização e programação em um ambiente de fácil uso, onde problemas e soluções são expressos em notação matemática familiar. Tipicamente, o MATLAB é utilizado para matemática computacional, desenvolvimento de algoritmos, modelação e simulação de protótipos, análise, exploração e visualização de documentos, gráficos científicos, além de interagir com programas que utilizam outras linguagens, incluindo C, C++, Java, Fortran e Python.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivos Gerais

A partir do SFDI, e da caracterização de dados a partir da Esfera Integradora, é possível realizar o processamento de imagens médicas para fins diagnósticos e também para acompanhar tratamentos, porém, antes, faz-se necessário a análise e caracterização das matrizes e corantes utilizados para a produção de fantasmas e é isso que este trabalho busca apresentar, a fim de aprimorar o estudo das imagens para que se torne possível diagnósticos ainda mais rápidos e não invasivos, para futuramente auxiliar profissionais da área clínica quanto a tratamentos e prevenções.

1.2.2 Objetivos Específicos

- i) Fabricação de fantasmas de pele.
- ii) Processamento de imagens usando a Esfera Integradora para caracterização.
- iii) Processamento de imagens usando o Domínio Da Frequência Espacial.
- iv) Observação dos corantes pela Microscopia Eletrônica de Varredura.
- v) Estudar e analisar a técnica SFDI, juntamente com um modelo de propagação de luz baseado em teorias de difusão da luz.
- vi) Validação do SFDI para realizar diagnóstico óptico.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Índice De Refração

O índice de refração de um meio material é um importante parâmetro óptico por exibir as propriedades óticas do material e por interpretar os dados de diferentes tipos de espectroscopia (SINGH, S; 2002).

De acordo com A. V. Andrade-Neto e Davy Dias Andrade, quando um feixe de luz incide sobre uma interface que separa dois meios homogêneos e transparentes, parte da luz incidente é refletida e parte é refratada (ou transmitida) para o segundo meio, originando o feixe refratado, conforme esquematizado na Figura 1. Do ponto de vista da ótica geométrica, esse fenômeno é descrito pelas leis da reflexão e refração. A lei da reflexão afirma que o raio incidente, o raio refletido e a normal à superfície pertencem a um mesmo plano e que o ângulo de incidência, θ_i , é igual ao ângulo de reflexão, θ_r , medidos em relação à perpendicular ao plano de separação entre os dois meios.

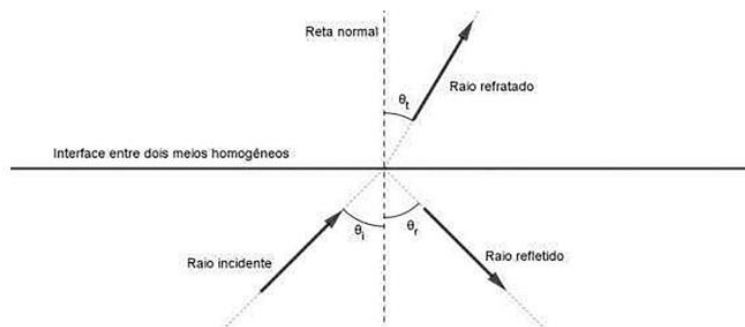


Figura 1: Interface plana entre dois meios óticamente distintos. O raio incidente da origem a um raio refletido e a um raio transmitido (ANDRADE-NETO e ANDRADE, 2021)

$$\theta_i = \theta_t \quad (1)$$

A lei da reflexão diz que, pertencem a um mesmo plano o raio refratado, o raio incidente, a normal à superfície, o ângulo de incidência e o ângulo de refração θ_t . Isso tudo foi relacionado e proposto em 1621 pelo holandês Villebrord Snell:

$$n_i \sin \theta_i = n_t \sin \theta_t \quad (2)$$

Sendo n_i e n_t os índices de refração dos meios incidentes e transmitidos.

2.2 Absorção da Luz

O processo de absorção (luminosa) ocorre quando a luz encontra uma partícula ou interface com um índice de refração diferente do ambiente em que ela se propagava, é absorvida e subsequentemente convertida em outra forma de energia como, por exemplo, calor. Neste processo, uma parte da energia da luz incidente é extraída por uma espécie atômica ou molecular. Este processo depende muito da composição química do meio, pois diferentes átomos e moléculas absorvem a luz em comprimentos de onda específicos (LU, 2016).

Einstein fez um postulado radical de que um feixe de luz era constituído por pequenos pacotes de energia, chamados fótons ou quanta. Esse postulado foi uma extensão de uma ideia desenvolvida cinco anos antes por Max Planck para explicar as propriedades da radiação de corpo negro. Na teoria de Einstein, a energia E de um fóton é igual a uma constante h vezes a frequência f . De acordo com a relação $f = \frac{c}{\lambda}$ para ondas eletromagnéticas no vácuo (YOUNG e FREEDMAN, vol 4, Ed 14) :

$$E = h \cdot f \quad (3)$$

Assim,

$$\Delta E_{\text{fóton}} = \frac{h \cdot c}{\lambda} \quad (4)$$

Sendo $h = 6,626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$.

Para caracterizar as propriedades de absorção de um material biológico, se faz necessário a introdução do coeficiente de absorção (μ_a). Considerando um feixe de luz plano-ondulatório que incidente normalmente em um meio absorvedor como mostrado na figura a seguir:

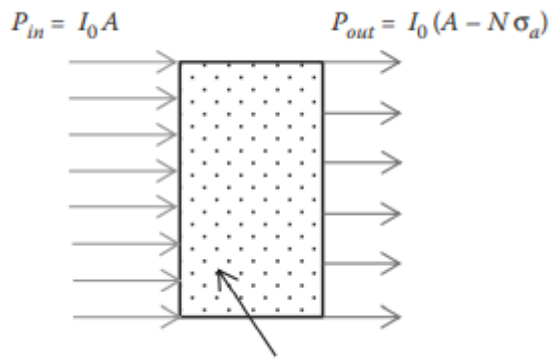


Figura 2: Mostra o conceito de absorção expresso em termos de área seccional efetiva (σ_a) de absorção de partículas em um meio homogêneo, sendo P a energia total, I_0 energia incidente e A é a área (LU, 2016).

Assumindo que o meio é uniformemente distribuído com N partículas idênticas de luz-absorvedora, o total de energia entrando no meio é dado por:

$$P_{dentro} = I_0 A \quad (5)$$

Em que A é a área incidente e I_0 é a energia incidente em força por área.

A partir de (5) e utilizando:

$$P_{fora} = I_0 (A - N \sigma_a) \quad (6)$$

É possível definir o coeficiente de absorção como:

$$\mu_a = N \sigma_a = \frac{P_{abs}}{I_0} \quad (7)$$

Sendo ele medido em m^{-1} ou cm^{-1} (LU, 2016).

2.3 Espalhamento Da Luz

O espalhamento dos fótons pelas partículas do meio é um processo físico que depende muito das características ondulatórias dos fótons e das propriedades de sua estrutura do meio em que eles atravessam, sendo elas: densidade, tamanho da partícula ou tamanho, composição, entre outros. Há dois tipos de espalhamento da luz: o elástico e o inelástico. O primeiro se refere aos eventos do espalhamento como cada frequência dos fótons não mudam ou não interferem na troca energética que ocorre com os fótons após a interação de partículas. Já o segundo os fótons podem tanto ganhar quanto perder energia e consequentemente afetar a frequência após a interação das moléculas ou dos átomos presentes no meio (LU, 2016).

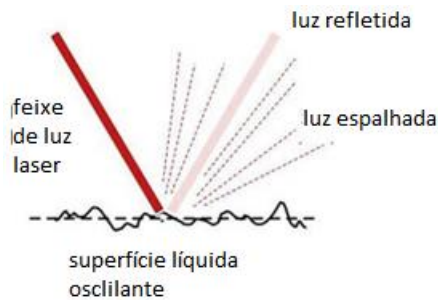


Figura 3: O espalhamento da luz em meios túrbidos (D. LANGEVIN, 2021).

Para descrever o espalhamento da luz por partículas ou por um meio turbido com variado índice de refração é necessário introduzir o coeficiente de espalhamento, μ_s :

$$\mu_s = N \sigma_s = \frac{P_{esp}}{I_0} \quad (8)$$

Em que N é o número total de partículas idênticas espalhadas por unidade de volume, σ_s é a área de seção transversal de espalhamento efetivo e P_{esp} é a energia da luz espalhada pelo agregado de partículas do meio. Sendo μ_s medido em m^{-1} ou cm^{-1} (LU, 2016).

Há casos em que a absorção é muito baixa e o espalhamento é o processo dominante dentro do tecido. O Limite de difusão, como é chamado, é caracterizado

pelo comportamento randômico dos fótons dentro do meio, podendo apresentar diferentes comprimento de onda e direções. A partir disso é introduzido o coeficiente de espalhamento reduzido (μ'_s), o qual descreve o espalhamento isotrópico; a relação dele com os parâmetros de espalhamento anisotrópico, é dada por (VO-DINH,2003):

$$\mu'_s = (1 - g) \mu_s \quad (9)$$

Em que g é o cosseno médio do ângulo de espalhamento, e por ser uma função cosseno sua variação está entre +1 e -1. Essa constante é chamada de fator anisotrópico (VO-DINH,2003) e é o que diferencia o espalhamento comum do espalhamento reduzido.

2.4 Propriedades Óticas Em Tecidos Biológicos

O tecido epitelial, como a pele, é um meio oticamente inhomogêneo e absorvedor com uma média de índice de refração maior que o do ar, por isso a fronteira entre o objeto biológico e o ar faz com que parte da radiação seja refletida e a outra parte seja absorvida pelo tecido. A pele é caracterizada por ser um significativo espalhador da luz por ser um meio turbido. O grau de espalhamento depende do comprimento de onda da radiação incidente e das propriedades do tecido biológico (KULIKOV, K.; KOSHLAN, T; 2018).

Para entender melhor o comportamento ótico de um feixe de luz na pele é necessário, também, entender sua composição biológica:

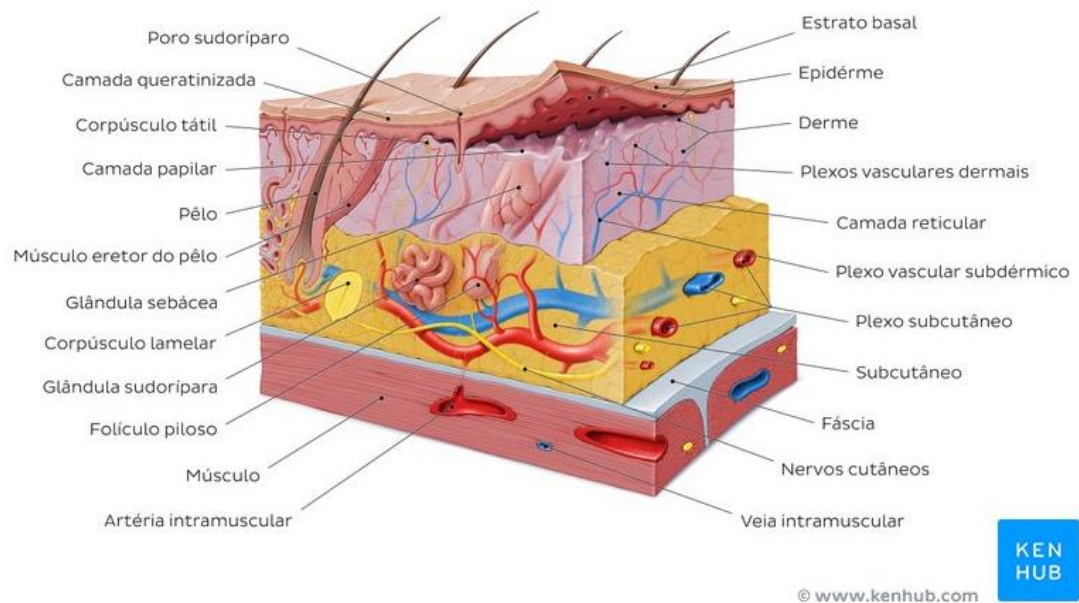


Figura 4: estrutura biológica da pele humana (KENHUB)

A energia da luz absorvida é transferida como calor a partir de reações fotoquímicas ou podem ser lançadas na forma de luminescência de radiação. O espectro de absorção de qualquer tecido, incluindo a pele, é determinado pela presença de todas as moléculas biológicas em ligação duplas e, também, pela presença da água no tecido biológico. Na epiderme os cromóforos possuem diversos fragmentos compreendendo os aminoácidos e ácidos nucleicos, absorvendo luz na faixa de comprimento de onda ultravioleta; no espectro visível um dos cromóforos mais privilegiados da pele é o pigmento da melanina. O espectro de absorção da melanina não possui bandas de absorção pronunciadas; no entanto, absorve efetivamente em todas as regiões espectrais de 300 a 1200 nm (KULIKOV, K.; KOSHLAN, T; 2018).

3 MÉTODOS

3.1 Fantomas

O desenvolvimento de todos os sistemas de diagnóstico por imagem e a maioria das intervenções fisioterapêuticas tem exigido uso de objetos que simulam tecidos para imitar as propriedades de seres humanos ou tecidos animais. Eles são chamados de “fantomas” e podem ser usados para: testar projetos de sistema, otimização de sinal para ruído em sistemas existentes, realizar controle de qualidade de rotina, comparar o desempenho entre sistemas. Quando esses sistemas são estabelecidos em uma rotina clínica se faz necessário ter um regulamento aprovado, esses são geralmente requisitados ou recomendados a fins de controle de qualidade de fantomas (POGUE, B; 2006).

De acordo com Luismar Barbosa esses fantomas geralmente são compostos por água, gelatina, ágar, poliéster ou epóxi com resina de poliuretano, álcool em gel de polivinil, hidrogel ou silicone. A escolha de sua composição varia de acordo com a função ou necessidade, pois suas matrizes podem: ser de uso permanente, possuir mais biocompatibilidade ou conseguir imitar mais fielmente propriedades de órgãos ou tecido do interesse. Além da sua matriz de composição, também se faz necessário o uso de corantes que imitam as propriedades óticas do tecido a ser estudado.

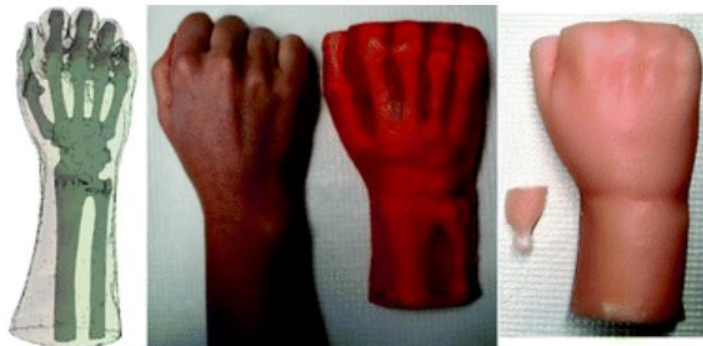


Figura 5: a partir da tomográfica computadorizada do punho de um homem foi criado um fantoma de gelatina (Esmonde-Withe, 2011).

Para a produção de fantasmas a matriz selecionada foi o polidimetilsiloxano (PMDS) que é um silicone (Borracha de Silicone, Markertech Labs), por não ser caro e ter índice de refração próximo ao da pele (1,44). No intuito de imitar os agentes espalhadores e absorvedores da pele humana, os corantes selecionados, respectivamente, foram: o Dióxido de Titânio (TiO_2) e o Nanquim na cor preta (Super Nankin Profissional, Trident), também conhecido como India Ink.

O TiO_2 foi pesado em uma balança de alta precisão (Shimadzu-ATY224) e adicionado à aproximadamente 6g de PDMS e para misturá-los foi utilizado um agitador mecânico (Micro Retifica 300 F013030050, Dremel) até ambos adquirissem uma aparência homogênea. Em seguida, o Nanquim foi adicionado utilizando uma micropipeta (Labmate Soft LM1000 Blue, HTL Lab Solutions), pesado e acrescentado a mistura com o agitador mecânico até chegar à uniformidade. Por último, foi acrescentado e misturado a 1% de massa de PMDS de agente endurecedor (Catalisador PS-1 para Borracha de Silicone, Redelease).

Tabela 1: concentração dos corantes utilizados para a produção dos fantasmas, a quantidade de corante se encontra em gramas.

		Dióxido de titânio (gramas)					
		0,00	0,015	0,030	0,045	0,060	0,75
Nanquim (micro litros)	40	F56	F55	F54	F53	F52	F51
	80	F46	F45	F44	F43	F42	F41
	120	F36	F35	F34	F33	F32	F31
	160	F26	F25	F24	F23	F22	F21
	200	F16	F15	F14	F13	F12	F11

Como foram utilizados dois métodos de análise de imagem, se fez necessário a utilização de duas formas diferentes para a modelagem dos fantasmas, a primeira de forma retangular e dimensões de aproximadamente (2,765 x 3,520 x 0,310) cm (para que a análise fosse feita na esfera integradora) como mostrado pela figura 6; e

a segunda de forma cilíndrica (COPOBRAS 250 ml) de dimensões aproximadas de (5,9 x 10,5) (para que a análise fosse feita pelo SFDI) cm como mostrada pela figura 7.



Figura 6: forma pequena utilizada para produção de fantasmas.



Figura 7: forma grande utilizada para produção de fantasmas.

Primeiramente, a mistura foi colocada na forma menor e posteriormente na forma maior e ambas foram colocadas em uma cabine de vácuo para que as bolhas presentes fossem retiradas e lá ficaram cerca de 20 minutos.

Para que o agente endurecedor pudesse agir, as misturas de fantasmas ficaram em descanso por cerca de 24 horas. Tal processo foi realizado para a produção de um total de 30 fantasmas para cada forma.

Além disso, os corantes utilizados foram separados e levados para o laboratório de química para que a análise deles fossem realizadas com um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), este foi disponibilizado pelo Instituto de Química da universidade Federal de Uberlândia.

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Esta técnica permite identificar a morfologia dos mais diferentes tipos de materiais através de imagens com aparência tridimensional. Tem acoplado o detector por microanálise que permite a identificação dos elementos químicos, que possibilita a geração de mapas elementares (IQ-UFU).



Figura 8: Microscópio Eletrônico de Varredura utilizado para a captura das fotos (IQ-UFU).

Com o Mev foi possível obter imagens com ampliação em: 100, 1000, 5000, 10000 e 20000 vezes nas amostras de corantes; e com isso, as imagens tiveram resolução de, respectivamente, 500 μm , 50 μm , 10 μm e 5 μm .

3.3 Esfera Integradora

O uso de esferas integradoras para caracterização de propriedades óticas de materiais tem uma longa história que se iniciou no século 19. Apesar do desenvolvimento de outros métodos para avaliar materiais de dispersão difusa, para a maioria dos usuários, os dispositivos esféricos integradores permanecem preferíveis por obterem resultados mais precisos. Os acessórios usados na esfera integradora são escolhidos de acordo com a espectroscopia quantitativa precisa de materiais de dispersão. Seu design permite a medição da refletância em diferentes direções hemisféricas, fator refletância direcional hemisférica e/ou refletância hemisférica-hemisférica (HANSSEN, L; SNAIL, K.; 2002).

Duas características das esferas integradoras são essenciais para medir com precisão os fluxos refletidos: a primeira é que a superfície interior tem (idealmente) um revestimento lambertiano de alta refletância, isso significa que o brilho do revestimento é constante em todas as direções; a segunda característica importante é a forma esférica do interior, para uma superfície de dispersão lambertiano, a luz incidente sobre ela resulta em uma constante irradiância sobre qualquer casca esférica que contém a superfície. Portanto, a luz incidente em qualquer lugar em uma esfera de integração é imediatamente uniformemente distribuída por toda a sua superfície. Um detector localizado na superfície esférica sempre receberá fluxo diretamente proporcional à luz incidente na esfera, independente de localização. Mesmo que a superfície da esfera não seja perfeitamente lambertiana, a alta refletância da superfície leva a um grande número de reflexões ao redor da esfera antes da absorção da luz incidente. Este efeito de cavidade contribui ainda mais à distribuição uniforme de fluxo sobre o interior da esfera. Assim, quando a luz incide sobre uma amostra com BRDF (Função de Distribuição de Refletância Bidirecional), a esfera pode ser usada para coletar com precisão todos o fluxo refletido (HANSSEN, L; SNAIL, K.; 2002).

Assim, as informações mais completas sobre as propriedades óticas de tecidos podem ser obtidas quando o espectro da luz espalhada é medido na faixa de comprimento de onda de interesse. Este espectro pode ser diferencial, medido ou calculado para um certo ângulo de dispersão, ou integrado dentro de um ângulo

(campo de visão) da medição do espectrômetro. Em geral, inclui transmissão e luz retroespalhada (refletida) dentro de um campo de visão estreito, como medido na geometria de transmitância colimada ou refletância especular, ou luz espalhada totalmente para frente ou para trás medida usando a técnica da esfera integradora (TUCHIN, 2015a).

Quando este instrumento é utilizado para medir estes espectros, o principal objetivo é medir a intensidade da luz que é totalmente espalhada para frente $I_f(\theta, \lambda)$, ou para trás (retroespalhamento) $I_b(\theta, \lambda)$. Às vezes, para caracterizar as propriedades óticas das amostras, também é necessário calcular a intensidade da luz que é transmitida de forma colimada $I_c(\lambda)$ (TUCHIN, 2015a).

Para calcular a Transmitância Total $T_t(\lambda)$ pode ser utilizada a equação 10:

$$T_t(\lambda) = \frac{I_t(\lambda)}{I_0(\lambda)} = T_c(\lambda) + T_d(\lambda) \quad (10)$$

Em que $T_c(\lambda)$ é a transmitância colimada, $T_d(\lambda)$ a transmitância difusa e $I_0(\lambda)$ a intensidade da luz incidida. A intensidade da luz que entra na esfera é medida por meio do sinal obtido no detector e esta é multiplicada pela razão entre a área da superfície da esfera e a do detector. Assim, a intensidade total da luz transmitida $I_t(\lambda)$ é representada pela equação 11:

$$I_t(\lambda) = I_c(\lambda) + \int_{-\frac{\pi}{2}}^{\frac{\pi}{2}} I_f(\theta, \lambda) d\theta \quad (11)$$

A refletância difusa pode ser calculada por meio de:

$$R_d(\lambda) = \frac{I_b(\lambda)}{I_0(\lambda)} \quad (12)$$

Em que, $I_b(\lambda)$ é representada por meio de (TUCHIN, 2015a):

$$I_b(\lambda) = \int_{-\frac{\pi}{2}}^{\frac{\pi}{2}} I_b(\theta, \lambda) d\theta \quad (13)$$

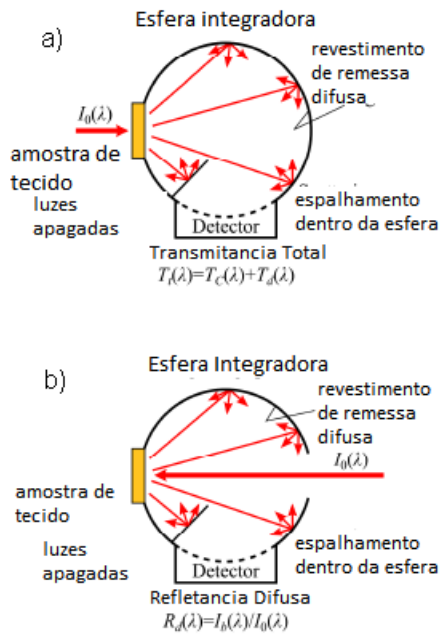


Figura 9: Representações esquemáticas das principais geometrias de posicionamento de amostras para medição espectral de uma esfera integradora. Em que é representado, respectivamente, em: a) uma medida de transmitância total em uma amostra *in vitro*; b) uma medida de refletância difusa em uma amostra *in vitro* (TUCHIN, 2015a).

A esfera utilizada apresenta uma fonte de luz de tungstênio-halogênio (HL-2000, Ocean Optics), operada na tensão de 12 volts, a qual é responsável por irradiar as amostras. O espectro da lâmpada varia entre 360 e 2400 nm. Para conduzir a luz na fonte, um cabo de fibra ótica de 400 μm de diâmetro foi utilizado, este foi direcionado para um espelho ajustável fixado à mesa ótica e, posteriormente, direcionado para a superfície da amostra. O sinal de saída, obtido no detector da esfera, foi capturado por meio de uma fibra ótica de 600 μm de diâmetro e conduzido ao espectrômetro de alta resolução. Os dados obtidos a partir das medições foram processados pelo software MATLAB e os dados foram mais bem analisados após plotados utilizando o software *Origin*.

3.4 Imagens No Domínio Da Frequência Espacial (SFDI)

As medições em qualquer domínio têm suas respectivas vantagens e desvantagens, por isso deve ser considerado o contexto dos requisitos da aplicação

específica (por exemplo, sinalização para relação de ruído, condições de luz ambiente, velocidade de imagem, computação tempo/precisão, resolução espacial/temporal, compatibilidade/ tamanho/custo da instrumentação e requisitos de calibração). A propagação de luz temporal é a mais rica em informações que pode desacoplar melhor as propriedades óticas, especialmente em sistemas heterogêneos. Em comparação com outros métodos, no entanto, a extração dessas informações via medições temporais depende de modelos computacionais mais complexos e está frequentemente associado a taxas de aquisição mais lentas e/ou instrumentação cara, que não é facilmente duplicada. Essencialmente, a imagem no domínio da frequência espacial consiste em projetar um padrão de luz bidimensional e analisar o efeito de espalhamento e absorção múltiplos sobre a amplitude do padrão refletido ou transmitido em função do padrão de frequência. As múltiplas dispersões e absorções no meio causará uma diminuição na amplitude da projeção onda senoidal. A imagem de refletância desta imagem difusa e padrão senoidal absorvido é então capturado por uma camera digital e posteriormente processado. A modulação de amplitude para cada pixel da imagem é calculada por um processo chamado demodulação. Várias abordagens de calibração podem subsequentemente medir a resposta de frequência do sistema ótico ou modulação do sistema função de transferência (MTFSYS) para chegar à modulação espacial do tecido função de transferência (MTFSample), também conhecida como função de refletância difusa. Todo o processo é repetido em vários espaços frequências. E ao usar um modelo de propagação de luz, as propriedades óticas são extraídas para todos os pixels na imagem. Ao aplicar a instrumentação espectral, esse processo pode se estender para vários comprimentos de onda, seja via serial ou paralela (multiplexada) esquemas de aquisição de múltiplos comprimentos de onda (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

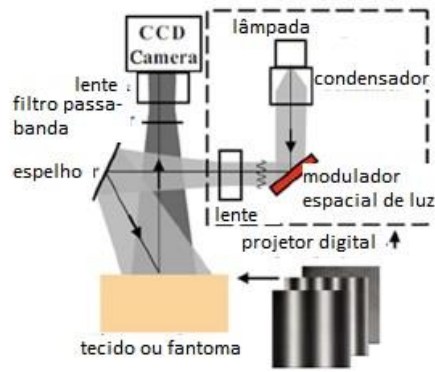


Figura 10: representação esquemática do aparato instrumental de um SFDI (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019).

Depois que a imagem da refletância do padrão senoidal difuso e absorvido é capturada pela câmera digital, ela é processada. A variação da amplitude da luz incidida para cada pixel da imagem é calculada por meio do processo de modulação. A função de transferência de modulação (MTF) do sistema óptico é representado por MTF_{SIS} . A MTF_{SIS} e a refletância difusa (R_d) estão relacionadas por meio de (CUCCIA et al., 2009; GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019):

$$M_{AC}(x, f_x) = I_0(x) \cdot MTF_{SIS}(x, f_x) \cdot R_d(x, f_x). \quad (14)$$

No qual, I_0 é a intensidade inicial da fonte de iluminação.

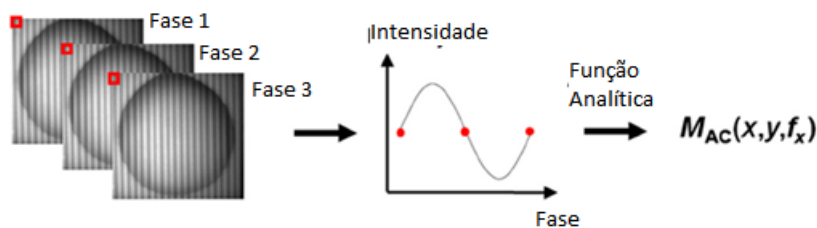


Figura 11: Representação esquemática do método de modulação de pixel individual. Este método utiliza vários quadros de dados adquiridos sequencialmente para extrair a M_A , mas a diferença da modulação de cada pixel em diferentes projeções de frequência fica melhor observada na figura 10.

A intensidade da luz difusa refletida, I , é uma soma dos componentes AC (componente espacialmente modulado) e DC (componente espacialmente planar), conforme representado pela equação 15:

$$I(x, f_x) = I_{DC}(x) + I_{AC}(x, f_x) = I_{DC}(x) + M_{AC}(x, f_x) \cos(2\pi f_x x + \alpha) \quad (15)$$

No caso especial em que é desejado obter a M_{AC} para baixas frequências ($f_x = 0 \text{ mm}^{-1}$ -chamado de M_{DC}), é feita uma aproximação na qual é considerado uma iluminação planar. Isto, no entanto, não remove automaticamente nenhum ruído, por isso, se faz necessário levar em conta os ruídos obtidos no sistema de detecção. Assim, para $f_x = 0 \text{ mm}^{-1}$, a amplitude de modulação planar (M_{DC}) pode ser calculada por meio de (GIOUX; MAZHAR; CUCCIA, 2019):

$$M_{DC}(x, f_x) = M_{AC}(x, f_x = 0) = \frac{1}{3}\{I(x, f_x, a_1) + I(x, f_x, a_2) + I(x, f_x, a_3)\} - I_{DC, \text{ruído}} \quad (16)$$

Neste trabalho, a aquisição de dados foi feita em cinco frequências espaciais $f(x)$: 0; 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4 mm^{-1} a partir do software LabView e processadas no MATLAB.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Fantomas

Apesar de serem preparados 30 fantomas para análise na esfera e no SFDI, apenas quatro foram selecionados. Sendo eles: F12, F22, F32 e F42, de modo que a quantidade de Dióxido de Titânio fosse mantida e a de Nanquim fosse alterada para que este seja mais bem caracterizado.

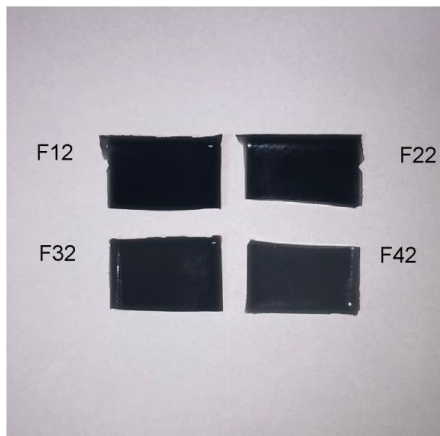


Figura 12: Fantomas de forma pequena de dimensões de aproximadamente (2,765 x 3,520 x 0,310) cm.



Figura 13: Fantomas de forma grande de dimensões aproximadas de (5,9 x 10,5) cm para serem analisados no SFDI.

4.2 MEV

A microcopia eletrônica de varredura foi realizada tanto para o Nanquim (figura 14) e para o dióxido de titânio (figura 15). A ampliação foi realizada em: 100, 1000, 5000, 10000 e 20000 vezes em ambas as amostras.

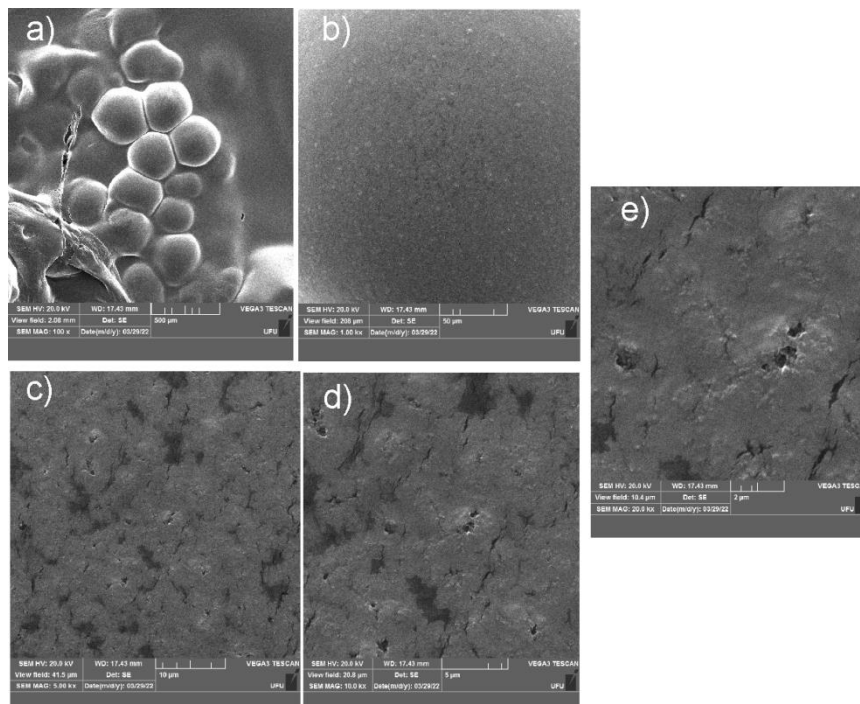


Figura 14: MEV de nanquim, em que a ampliação foi feita em a)100, b)1000, c)5000, d)10000 e e)20000 vezes.

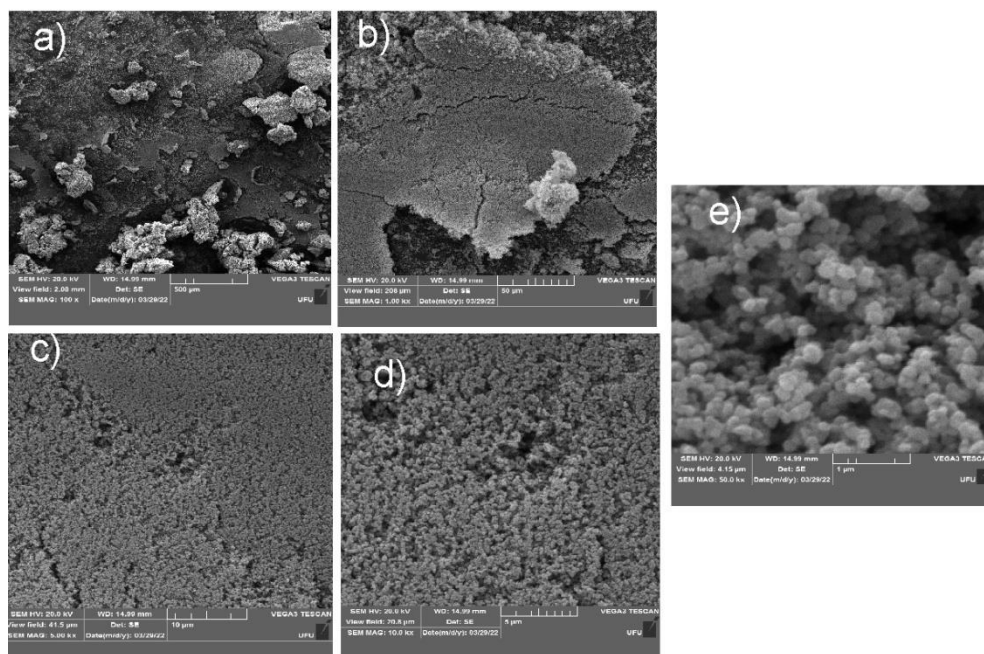


Figura 15: MEV do dióxido de titânio, em que a ampliação foi feita em a)100, b)1000, c)5000, d)10000 e e)20000 vezes.

Com isso podemos observar que as partículas de nanquim são bem maiores que as de dióxido de titânio, sendo que esta primeira pôde ser observada na Figura 14a e a segunda na Figura 15e.

Pode-se atribuir isso ao fato de que o Nanquim não é um corante propriamente dito, mas sim uma suspensão de carvão em um meio (água ou etileno glicol) usado como tinta (KHAN, 2015), fazendo com que ela tenha esse formato irregular e não de esfera, como o formato do dióxido de titânio.

4.3 ESFERA INTEGRADORA

As medidas obtidas por este meio foram utilizadas para caracterização ótica dos fantasmas e, também, para que fosse possível comparar com as medidas obtidas pelo SFDI.

Foram tomadas as medidas dos fantasmas e construídos dois espectros: o de coeficiente de absorção (μ_a) e o de coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s'), ambos em função do comprimento de onda na faixa da luz visível (de 400 nm até 800 nm).

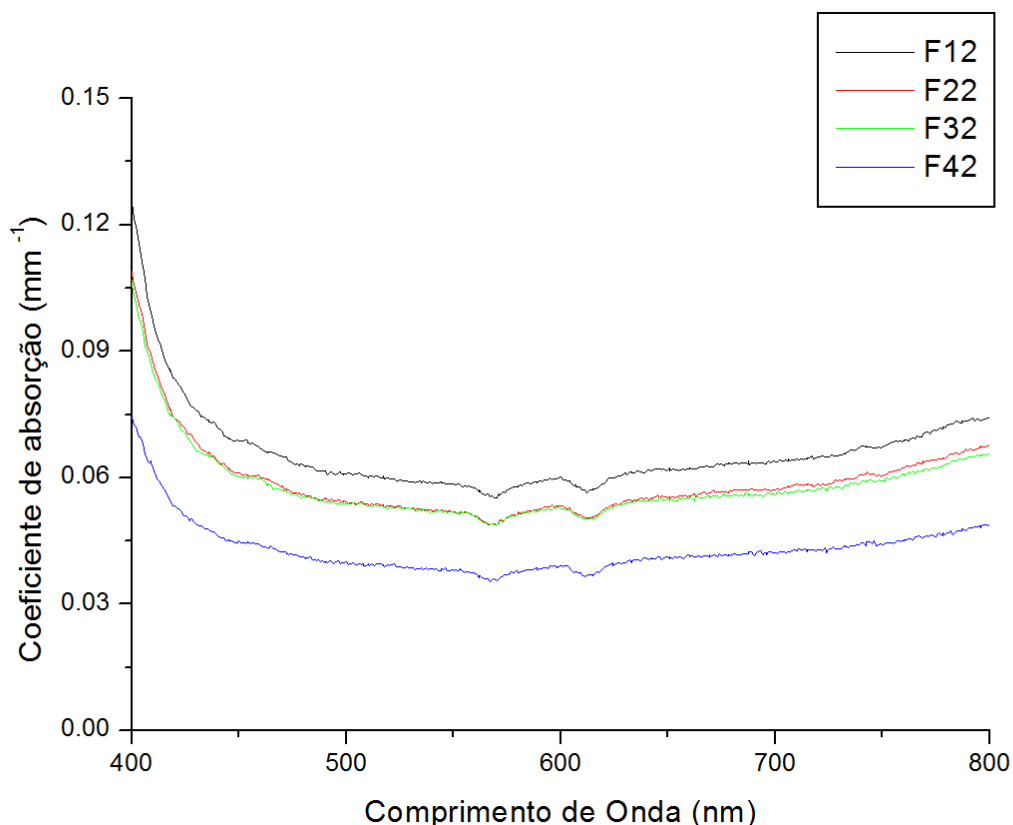


Figura 16: Espectro do coeficiente de absorção dos fantasmas com variações de nanquim.

Percebe-se que o coeficiente de absorção apresenta uma variação inicial em cerca de $0,04 \text{ mm}^{-1}$, mas após se aproximar do 500nm, a variação chega a ser de aproximadamente $0,03 \text{ mm}^{-1}$. Nota-se a partir da figura 16, o aumento da concentração de nanquim nos fantasmas, sendo F12 o fantoma que apresenta mais corante e, conseqüentemente, um maior coeficiente de absorção e o F42 o que apresenta menos corante e um menor coeficiente de absorção.

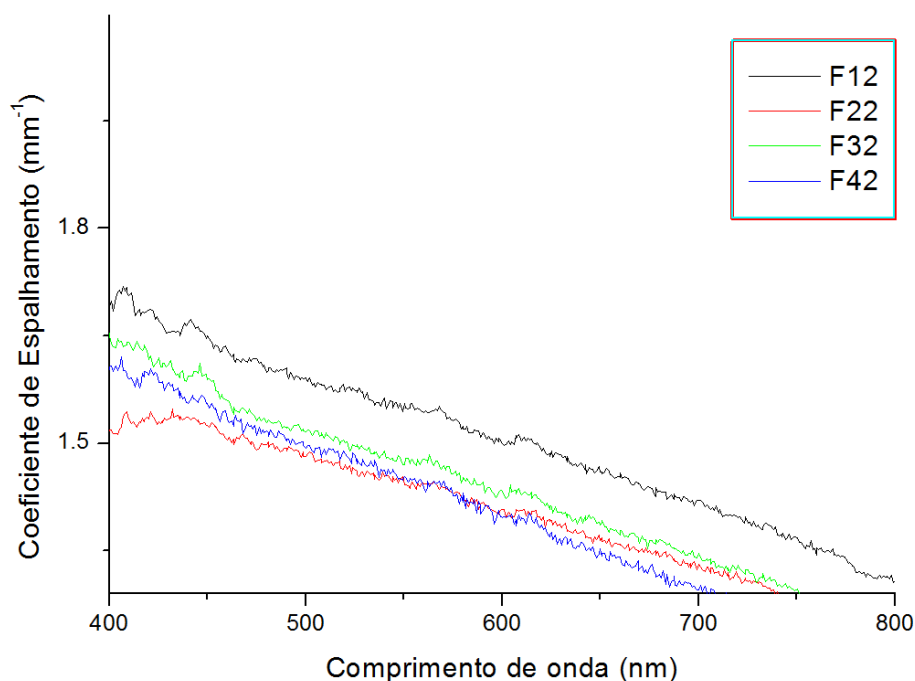


Figura 17: Espectro do coeficiente de espalhamento reduzido dos fantasmas com variações de nanquim.

De acordo com a Figura 17, nota-se uma variação de aproximadamente $0,03\text{mm}^{-1}$ do coeficiente. Apesar de que a quantidade de Dióxido de Titânio não ter sido variada, com isso, podemos atribuir o comportamento desse espectro ao corante nanquim.

Percebe-se um comportamento incomum com o F42 e isso pode ser explicado pelo fato de que os fantasmas produzidos não formam uma solução e esse fantoma em específico teve que ser refeito algumas vezes devido a acidentes em laboratório.

A principal característica das soluções é sua homogeneidade, a qual o composto é dissolvido uniformemente por toda sua extensão e isso mostra que as soluções apresentam propriedades iguais em todos os pontos.

Então, a luz ao incidir se deparou com algum aglomerado de partículas grandes e fez com que ela fosse espalhada. Isso pode ser atribuído a algum imprevisto durante a confecção deste fantoma.

4.5 SFDI

A seguir são mostrados nas figuras 18, 19, 20 e 21 os espectros de absorção e os espectros de espalhamentos reduzidos, respectivamente, analisados pelo SFDI.

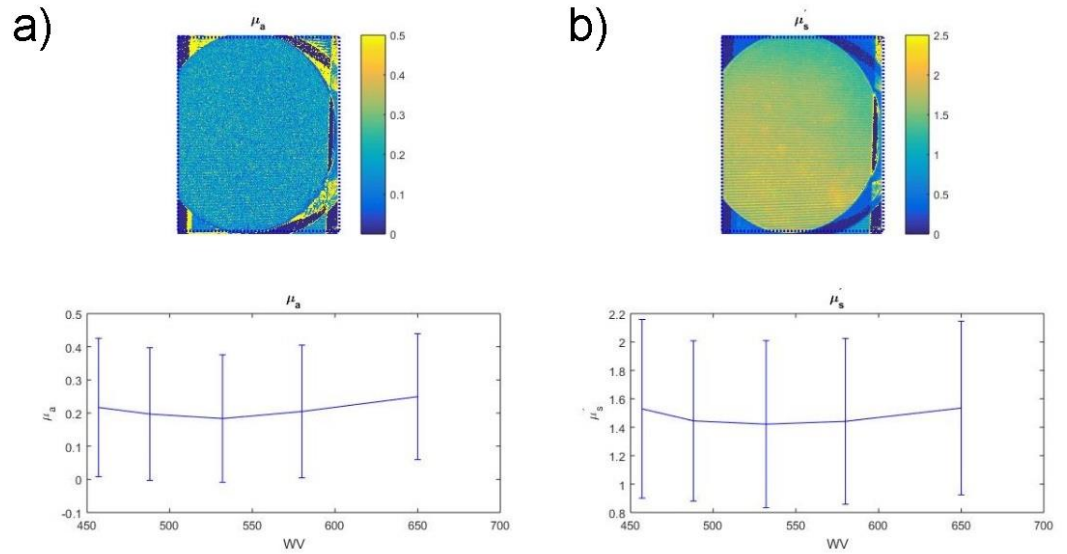


Figura 18: Imagem processada pelo SFDI do fantoma F12, em que a) mostra o coeficiente de absorção e b) o coeficiente de espalhamento difuso.

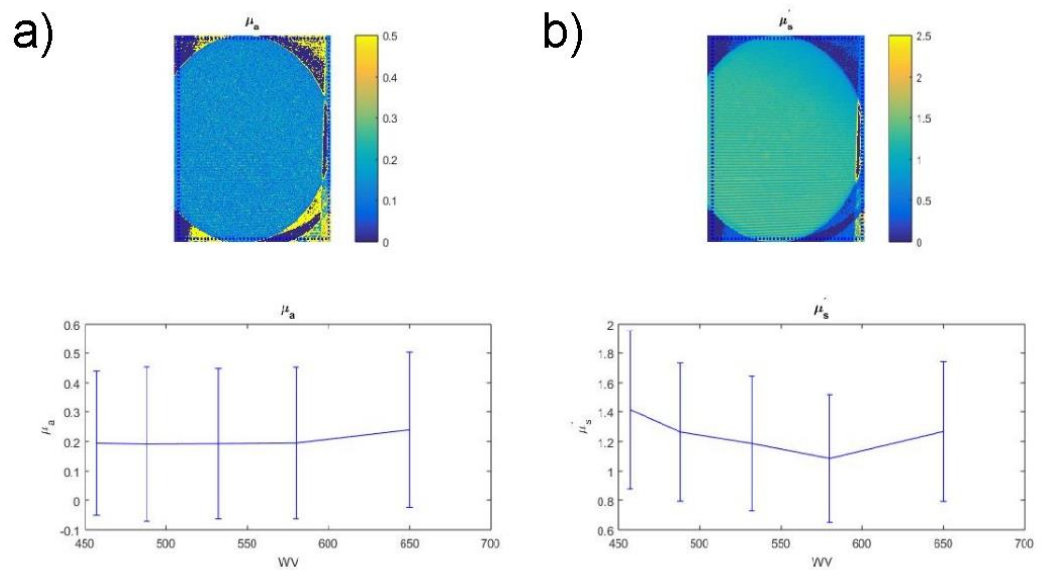


Figura 19: Imagem processada pelo SFDI do fantoma F22, em que a) mostra o coeficiente de absorção e b) o coeficiente de espalhamento difuso.

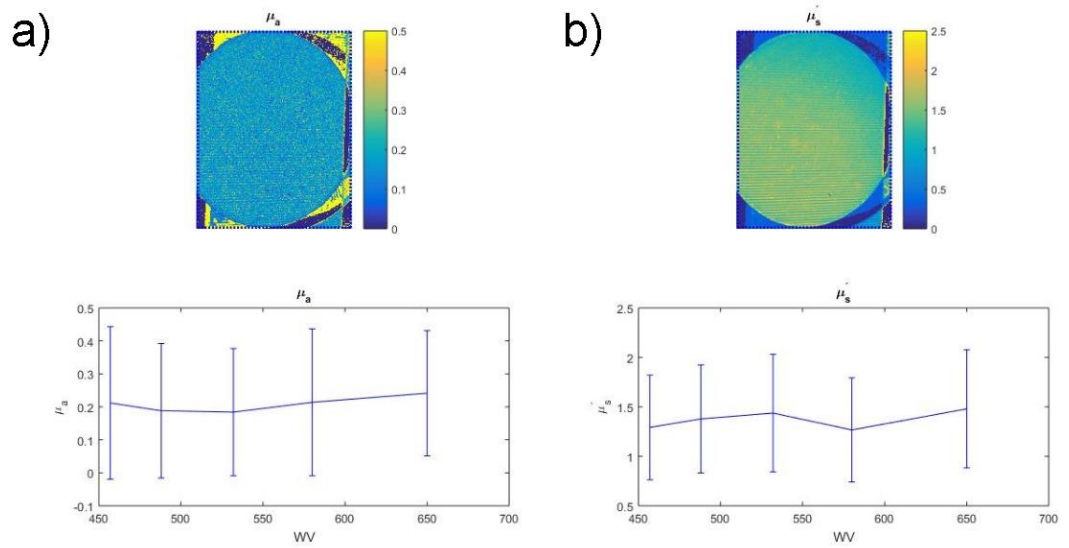


Figura 20: Imagem processada pelo SFDI do fantoma F32, em que a) mostra o coeficiente de absorção e b) o coeficiente de espalhamento difuso.

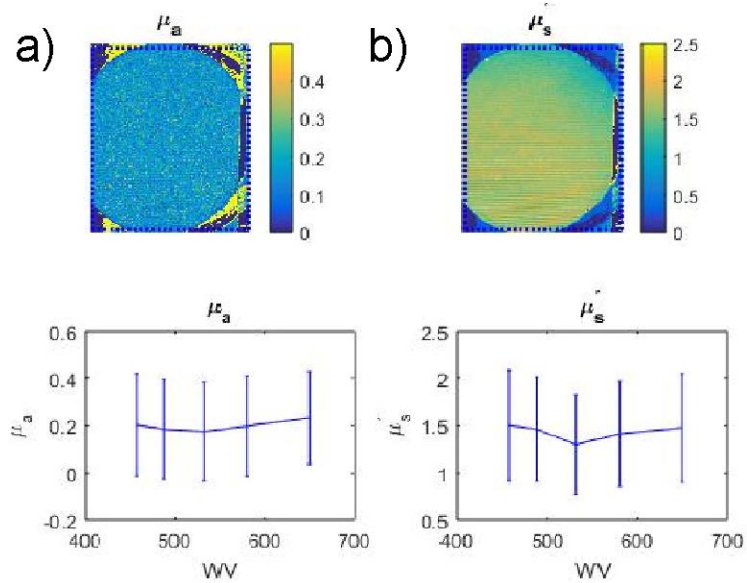


Figura 21: Imagem processada pelo SFDI do fantoma F42, em que a) mostra o coeficiente de absorção e b) o coeficiente de espalhamento difuso.

A partir das figuras 18, 19, 20 e 21, percebe-se que os quatro valores de coeficientes de absorção obtidos são similares e de valor $0,2 \text{ mm}^{-1}$, apesar de possuírem uma pequena variação de aproximadamente $0,025 \text{ mm}^{-1}$. Já o coeficiente de espalhamento dessas imagens está em ordem decrescente de F12, fantoma com

maior quantidade de nanquim, até F32, que possui menos nanquim que os anteriores. Com exceção do F42, que possui um coeficiente de espalhamento muito alto, semelhante ao do F12, podendo atribuir a algum problema durante a fabricação deste fantoma que fez com que ele não fosse muito bem misturado e por isso ele tem um maior espalhamento.

Em comparação com a esfera, os coeficientes de absorção se encontram significativamente menores do que o da esfera, diferença de aproximadamente $0,05 \text{ mm}^{-1}$, pode ser que houve algum problema de processamento ou análise. Apesar disso, os coeficientes de espalhamento estão semelhantes, com exceção do F42, fazendo-se necessário alguma calibração à configuração em algum destes equipamentos para melhor análise de dados.

5 CONCLUSÃO

Apesar do Nanquim ser uma suspensão de carvão e muitas vezes ser utilizado como pigmento de fantasmas, nota-se que, este utilizado em laboratório, pode comprometer o coeficiente de espalhamento difuso. Já que suas partículas apresentam um comportamento diferente do TiO_2 , as quais podem ser observadas após uma ampliação de 20 mil vezes e por isso ele é considerado um corante molecular. Um fator que também compromete o coeficiente de espalhamento é o fantoma produzido não ser uma solução, ou seja, não ser uma mistura homogênea e não apresentar propriedades iguais em todos os pontos e por isso formar um aglomerado de partículas e atrapalhar a obtenção de resultados. Isso também se dá pelos corantes e o PMDS têm naturezas diferentes e por isso possuem diferentes propriedades.

Observa-se que, os coeficientes de absorção e espalhamento não se comportam proporcionalmente à concentração dos corantes utilizados para a confecção do fantoma, isso pode se atribuir ao grande grau de espalhamento do Nanquim e a como isso comprometeu os resultados.

Portanto se conclui que a suspensão de Dióxido de Titânio, Nanquim e silicone utilizadas em laboratório não são as ideais para a produção de fantasmas que possuem o objetivo de estudar a trajetória da luz em tecido humano. Por isso, para contornar o problema, sugere-se: utilizar outra marca de Nanquim, submeter este Nanquim ao ultrassom ou utilizar este Nanquim como, também, agente espalhador da luz, suspendendo o uso do TiO_2 .

6 REFERÊNCIAS

- ANDRADE-NETO, A.; ANDRADE, D. **Lei da reflexão, lei de Snell e efeito Goos-Hanchen: abordagem via modelo corpuscular da luz.** Revista Brasileira de Ensino de Física, vol 43, 2021.
- CUCCIA, D. J. et al. **Quantitation and mapping of tissue ótical properties using modulated imaging.** Journal of Biomedical Optics, v. 14, n. 2, p. 024012–024025, 2009.
- ESMONDE-WHITE, F.; ESMONDE-WHITE, K.; KOLE, M.; GOLSTEIN, S.; ROESSLER, B.; MORRIS, M. **Biomedical tissue phantoms with controlled geometric and ótical properties for Raman spectroscopy and tomography.** The Roya Society of Chemistry, ed 136, 2011.
- GIOUX, S.; MAZHAR, A.; CUCCIA, D. J. **Spatial frequency domain imaging in 2019: principles, applications, and perspectives.** Journal of Biomedical Optics, v. 24, n. 7, p. 071613–071632, 2019.
- HANSEN, L.; SNAIL, K. **Integrating Spheres for Mid- and Near-infrared Reflection Spectroscopy.** Handbook of Vibrational Spectroscopy, 2002
- KHAN, N.; HOU, H.; SWARTZ, H.; KUPPUSDAMY, P. **Direct and Repeated Measurement of Heart and Brain Oxygenation Using In Vivo EPR Oximetry.** Elsevier Inc., 2015.
- KULIKOV, K.; KOSHLAN, T. **Laser Interaction with Heterogeneous Biological Tissue,** 2 ed, Editora Springer, 2018
- LANGEVIN, D. **Light scattering by liquid surfaces, new developments.** ScienceDirect, vol 289, 2021.
- LU, R. **Light Scattering Technology for Food Property, Quality and Safety Assessment.** 1. ed. Boca Raton: CRC Press - Taylor & Francis Group, 2016.
- POGUE, B.; PATTERSON, M. **Review of tissue simulating phantoms for ótical spectroscopy, imaging and dosimetry.** Journal of Biomedical Optics, 2006
- ROHRBACH, D.J.; MUFFOLETTO, D.; HUIHUI, J.; SAAGER, R.; KEYMEL, K.; PAQUETTE, A.; MORGAN, J.; ZEITOUNI, N.; SUNAR, U. **Preoperative Mapping of Nonmelanoma Skin Cancer Using Spatial Frequency Domain and Ultrasound Imaging,** v.21, 2014
- SINGH, S. **Refractive Index Measurement and its Applications.** Physica Scripta, vol 65, 2002.
- TUCHIN, V. V. **Tissue Optics and Photonics: Light-Tissue Interaction.** Journal of Biomedical Photonics & Engineering, v. 2, n. 3, p. 98–134, 2015a.

TUCHIN, V. V. **Tissue Phantoms. In: Tissue optics : light scattering methods and instruments for medical diagnosis.** 3. ed. Bellingham: Society of Photo-Ótical Instrumentation Engineers, 2015c. p. 231–242.

VO-DINH, T. **Biomedical Photonics. In: Biomedical Photonics.** Handbook. [s.l: s.n.].

YOUNG, H; FREEDMAN, R. **Física IV, Ótica e Física Moderna.** 14 ed, 2016

YUN, S. H.; KWOK, S. J. **Light in diagnosis, therapy and surgery.** Nature Biomedical Engineering, v. 1, 2017.