UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

**“Determinação das propriedades ópticas de materiais
altamente espalhadores”**

Jaqueline Ramos Sousa Fernandes

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte
das exigências para a obtenção do título de Mestre em
Ciências. Área: Física Aplicada à Medicina e Biologia

RIBEIRÃO PRETO -SP

2019

JACQUELINE RAMOS SOUSA FERNANDES

**Determinação das propriedades ópticas de materiais
altamente espalhadores**

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração:

Física aplicada à Medicina e Biologia.

Orientador:

Luciano Bachmann.

Versão corrigida

Versão original disponível na FFCLRP-

Ribeirão Preto - SP

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Fernandes, Jaqueline Ramos Sousa

Determinação das propriedades ópticas de materiais altamente espalhadores / Jaqueline Ramos Sousa Fernandes; orientador Luciano Bachmann. Ribeirão Preto - SP, 2019.

76 f.:il.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-graduação em Física aplicada à Medicina e Biologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2019.

1. Propriedades ópticas. 2. Esfera integradora. 3. Materiais espalhadores. 4. *Inverse Adding-Doubling*.

Nome: FERNANDES, Jaqueline Ramos Sousa

Título: Determinação das propriedades ópticas de materiais altamente espalhadores

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Aprovado em: ____/____/____.

Banca Examinadora

Prof. Dr. : _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. : _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. : _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me capacitar a cada dia e me fazer superar medos e limitações. Por me conduzir com amor e realizar em minha vida mais do que sonhei. Eu te amarei, **Senhor**, fortaleza minha!

Aos meus pais, **Francisco e Maria das Graças**, por todo amor, incentivo e inúmeras orações. Sem dúvidas, vocês foram minha motivação e força em todos os momentos. Cada cuidado de vocês me trouxeram até aqui! Vocês me mostraram o meu caminho. Obrigada por tudo!

Ao meu amor, **Guilherme**, que com toda paciência e amor desde a graduação tem me ajudado de muitas formas. Obrigada pela cumplicidade e por acreditar em mim. Sem você seria muito mais difícil chegar até aqui. Amo você!

À minha irmã, **Jesuany**, pelo apoio, incentivo e amizade. Nossa parceria é para toda a vida! Aos meus pais-de-lei, **Marcelo e Elisangela**, muito obrigada por sempre ter palavras de encorajamento e cuidar de mim. À toda minha querida e amada **família** pelas orações e apoio, saibam que levo cada um de vocês no meu coração.

Ao **Prof. Dr. Luciano Bachmann**, pela oportunidade de desenvolver trabalhos científicos desde o primeiro ano da graduação e me aceitar como aluna de mestrado. Agradeço pela paciência em me ensinar e sempre ter ótimos conselhos práticos. Os conhecimentos transmitidos por você não ficaram limitados à ciência!

Aos amigos da FAMB **Miriã, Raquel, Bassam** e todos meus **amigos** que perto ou longe estavam na torcida e me ajudaram nessa caminhada. Vocês fazem a minha vida mais feliz!

Aos amigos do laboratório e grupo de **fotobiofísica**, aos amigos e veteranos **Euclides e Fabrício**, muito obrigada por todo conhecimento compartilhado e pela amizade.

Aos **funcionários** e **técnicos** do Departamento de Física, pela disposição em me auxiliar sempre que solicitado e pela qualidade do serviço prestado.

À **Capes**, pela bolsa concedida.

RESUMO

FERNANDES, J. R. **Determinação das propriedades ópticas de materiais altamente espalhadores.** 2019. 76 f. Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-graduação em Física aplicada à Medicina e Biologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 2019.

A radiação óptica é amplamente utilizada na medicina para fins terapêuticos, cirúrgicos e diagnósticos. Tais aplicações têm incentivado a pesquisa de propriedades ópticas de tecidos biológicos com o intuito de descrever a propagação da luz. O tecido biológico, em termos de propriedades ópticas, é um meio turbido, onde a propagação da luz é comprometida por processos de espalhamentos e absorção, que causam a perda da intensidade do feixe incidente, reduzindo a penetração da luz no tecido. As propriedades ópticas são obtidas principalmente por meio da conversão de fenômenos macroscópicos que podem ser medidos, tais como reflexão e transmissão, em propriedades microscópicas (coeficientes de absorção μ_a , espalhamento μ'_s e anisotropia g) que caracterizam o meio no qual a luz se propaga. Esse processo de conversão é baseado na solução da teoria de propagação da luz no tecido. Neste trabalho, empregamos um sistema com esferas integradoras duplas em associação com o método numérico *Inverse Adding-Doubling* (IAD) para determinar μ_a , μ'_s e g de amostras altamente espalhadoras em diferentes comprimentos de onda. A partir das medidas experimentais de reflexão e transmissão das amostras, obteve-se os coeficientes pelo método IAD. As amostras avaliadas neste trabalho são *phantoms* de poliuretano, SEBS (do inglês *styrene-ethylene-butylene-styrene*) e de gelatina bovina. Os coeficientes obtidos para as amostras concordaram com os valores de referência

e com a literatura, mostrando que o sistema implementado é capaz de determinar μ_a e μ'_s de amostras altamente espalhadoras, assim como g para amostras delgadas. Como trabalho futuro é necessário empregar *phantoms* calibrados para verificar a exatidão do sistema desenvolvido.

Palavras-chave: 1. Propriedades ópticas. 2. Esfera integradora. 3. Materiais espalhadores. 4. *Inverse Adding-Doubling*.

ABSTRACT

FERNANDES, J. R. Optical properties of turbid media. 2019. 76 f. Dissertation (M.Sc. - Postgraduate program in Physics applied to Medicine and Biology) - Faculty of Philosophy, Sciences and Literature, University of São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 2019.

Optical techniques are widely used in medicine, especially in surgery, diagnosis and therapeutic applications. Therefore, it is important to well understand the optical properties and the light propagation in biological tissues. The biological tissues are called turbid medium, which means it has a high optical scattering coefficient, causing a rapid decay on the incident light intensity, resulting in low light penetration. The optical properties usually are estimated by relating the macroscopic quantities one can measure, such as transmission and reflection of light to the microscopic quantities (absorption μ_a , scattering μ_s and anisotropy g coefficients). This relationship is based on the light propagation theory. In this work, a double-integrating sphere system associated with the inverse adding-doubling (IAD) algorithm were employed to quantify the optical properties (μ_a , μ'_s and g) from highly scattering samples by measuring the reflection and transmission of the incident light at different wavelengths. The evaluated samples were phantoms made by three different materials: polyurethane, SEBS (styrene-ethylene-butylene-styrene) and bovine gelatin. The values of μ_a , μ'_s and g from the samples obtained by this system agree with reference and literature values, showing the viability for employing the implemented system to quantify μ_a , μ'_s from highly scattering samples, as well as g from thin samples. As future work, it is necessary to study the accuracy of this system by using calibrated phantoms.

Key-words: 1. Optical properties. 2. Double integrating sphere. 3. Turbid medium.
4. Inverse Adding-Doubling.

LISTA DE FIGURAS

1.1	Áreas de aplicação da radiação óptica em medicina. Figura adaptada de Yun, S. H., & Kwok, S. J. (2017).	1
1.2	Diagrama do processo de atenuação de um feixe de fótons devido à processos de absorção e espalhamento em um meio turbido com espessura d . A intensidade inicial do feixe é I_0 e final $I(d)$. Figura adaptada de Tuchin, V (2016).	5
1.3	Diferença entre os métodos Adding-Doubling e Inverse Adding-Doubling.	8
1.4	Fluxograma do IAD. M_R e M_T corresponde a refletância e transmitância medidas empregando as esferas integradoras. Adaptado de Mofitt, T. P. (2007).	9
1.5	Diagrama experimental que emprega duas esferas integradoras.	11
2.1	Diagrama experimental.	13
2.2	Configuração experimental em que se empregou fontes lasers contínuos e fotodiodos.	14
2.3	Sistema de amplificadores e placas Arduino e ADS 1115.	15
2.4	Configuração experimental em que se empregou a fonte laser pulsado e os transdutores piezoelétricos.	16
2.5	Diagrama experimental empregado para acessar as diferentes variáveis necessárias para o algoritmo.	17
2.6	Padrão de reflexão Labsphere®.	18
2.7	Diagrama experimental empregado para o cálculo de M_R	19
2.8	Diagrama experimental empregado para o cálculo de M_T	20
2.9	Diagrama experimental empregado para o cálculo de M_U	21
2.10	<i>Phantoms</i>	23

2.11	Sistema com arduino sem caixa para acondicionar o circuito e sem ADS 1115.	24
2.12	Performance dos diversos sistemas e metodologias de aquisição na determinação de M_R e M_T . Todas as medidas foram feitas com o <i>phantom</i> transparente e fonte laser de 633 nm.	26
2.13	Diagrama da configuração experimental usada para medida do índice de refração. D_1 e D_2 são detectores fotodiodo para medida da fração do feixe de incidência e do feixe refletido, respectivamente.	29
2.14	μ_a, μ'_s e g obtidos para o <i>phantom</i> transparente fixando-se o índice de refração em 1,5 e variando o diâmetro do feixe laser de 0,8 mm a 2,0 mm.	31
2.15	μ_a, μ'_s e g obtidos para o <i>phantom</i> transparente fixando-se o diâmetro do feixe laser em 1,2 mm e variando o índice de refração de 1,45 a 1,51.	32
2.16	μ_a e μ'_s obtidos para o <i>phantom</i> transparente variando M_R e M_T	35
3.1	Valores de μ_a obtidos para o <i>phantom</i> transparente de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	37
3.2	Valores de μ'_s obtidos para o <i>phantom</i> transparente de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	38
3.3	Valores de g obtidos para o <i>phantom</i> transparente de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	39
3.4	Valores de μ_a obtidos para o <i>phantom</i> branco de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	40

3.5	Valores de μ'_s obtidos para o <i>phantom</i> branco de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	41
3.6	Valores de μ_a obtidos para o <i>phantom</i> de SEBS quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	42
3.7	Valores de μ'_s obtidos para o <i>phantom</i> de SEBS quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	43
3.8	Valores de μ_a obtidos para o <i>phantom</i> branco de poliuretano quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	44
3.9	Valores de μ'_s obtidos para o <i>phantom</i> branco de poliuretano quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	44
3.10	Valores de μ_a obtidos para o <i>phantom</i> de SEBS quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	46
3.11	Valores de μ'_s obtidos para o <i>phantom</i> de SEBS quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.	46
3.12	Média dos valores de μ_a (acima) e μ'_s (abaixo) para o <i>phantom</i> branco de poliuretano para as duas configurações experimentais (fotodiodo e transdutor piezoelétrico).	47

- 3.13 Média dos valores de μ_a (acima) e μ'_s (abaixo) para o *phantom* de SEBS para as duas configurações experimentais (fotodiodo e transdutor piezoelétrico). 48
- 3.14 Valores de μ_a obtidos para o *phantom* de gelatina com $CuSO_4$ e TiO_2 , empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média. 49
- 3.15 Valores de μ'_s obtidos para o *phantom* de gelatina com $CuSO_4$ e TiO_2 , quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média. 49

LISTA DE TABELAS

2.1	Parâmetros de entrada e saída do IAD.	28
2.2	Índices de refração obtidos para os <i>phantoms</i> transparente e de SEBS.	30

LISTA DE ABREVIATURAS

AD	Adding-doubling.
IAD	Inverse adding-doubling.
MC	Simulação Monte Carlo.
PEBD	Poliétileno de baixa densidade.
PU	Poliuretano.
SEBS	Styrene-ethylene-butylene-styrene.

LISTA DE SÍMBOLOS

μ_a	Coeficiente de absorção.
μ_s	Coeficiente de espalhamento.
g	Fator de anisotropia.
J	Radiância.
r	Posição.
s	Direção de propagação.
s'	Direção de espalhamento.
ω	Ângulo sólido.
μ_t	Coeficiente de atenuação total.
p	Função de fase de espalhamento.
θ	Ângulo de espalhamento.
J_c	Radiância coerente.
J_d	Radiância difusa.
I_0	Intensidade inicial.
τ	Espessura óptica.
I_d	Intensidade transmitida.
ρ	Densidade de partículas.

σ	Seção de choque.
α	Albedo.
μ'_s	Coefficiente de espalhamento reduzido.
R	Reflexão
T	Transmissão
M_R	Refletância.
M_T	Transmitância.
T_c	Transmissão colimada.
U_a	Transmissão colimada da amostra.
U_0	Ruído (transmissão colimada).
U_s	Transmissão colimada sem amostra.
M_U	Transmitância colimada.
r_{std}	Valor da refletância padrão.
R_a	Reflexão da amostra.
R_0	Ruído (reflexão).
R_{std}	Reflexão do padrão.
Ref_i	Medida de referência.
T_a	Transmissão da amostra.
T_0	Ruído (transmissão).
T_s	Transmissão sem amostra.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas	xiv
Lista de Abreviaturas	xv
Lista de Símbolos	xvi
1 Introdução	1
1.1 Propriedades ópticas de meios túrbidos	4
1.2 <i>Inverse Adding-Doubling</i>	6
1.3 Esferas Integradoras	10
1.4 Justificativa	11
1.5 Objetivo	12
2 Metodologia	13
2.1 Procedimento experimental	16
2.2 Amostras	22
2.3 Otimização	24
2.4 Parâmetros do IAD	27
3 Resultados	36
3.1 Laser contínuo	36
3.1.1 <i>Phantoms</i> de poliuretano	36
3.1.2 <i>Phantom</i> de SEBS	42
3.2 Laser pulsado	43
3.2.1 <i>Phantoms</i> de poliuretano	43

3.2.2	<i>Phantom</i> de SEBS	45
3.2.3	<i>Phantom</i> de Gelatina	48
4	Discussão	50
5	Conclusão	53
	Referências	54

INTRODUÇÃO

As diversas aplicações da radiação óptica na medicina para fins de diagnóstico, terapia e cirurgia têm incentivado a pesquisa de propriedades ópticas de tecidos biológicos com o intuito de descrever a propagação da luz [1, 2, 3, 4]. A figura 1.1 apresenta algumas das principais aplicações clínicas que fazem uso de técnicas e dispositivos ópticos.

Figura 1.1: Áreas de aplicação da radiação óptica em medicina. *Figura adaptada de Yun, S. H., & Kwok, S. J. (2017).*

O tecido biológico, em termos de propriedades ópticas, é um meio turbido, onde a propagação da luz no meio depende da interação desta com os componentes que o compõe (células, organelas celulares e uma variedade de estruturas fibrosas). As interações ocorrem por meio de múltiplos processos de espalhamentos e absorção, que causam a perda da intensidade do feixe incidente, reduzindo a penetração da luz no tecido. Caracterizar as propriedades ópticas significa basicamente determinar o coeficiente de absorção (μ_a), o coeficiente de espalhamento (μ_s) e o coeficiente de anisotropia ou fator de anisotropia (g).

As propriedades ópticas são obtidas principalmente por meio da conversão de fenômenos macroscópicos que podem ser medidos, tais como reflexão e transmissão, em propriedades microscópicas (μ_a , μ_s e g) que caracterizam o meio no qual a luz se propaga. Esse processo de conversão é baseado na solução da teoria de propagação da luz no tecido [5, 6, 7]. A luz pode ser descrita matematicamente em termos da absorção e espalhamento em um meio de duas maneiras: analiticamente através das equações de Maxwell ou pela teoria de transporte. As equações de Maxwell é a abordagem mais fundamental em que se considera a natureza estatística do meio e inclui todos os efeitos de difração, porém, sua complexidade matemática e utilidade limitada tornam esse tratamento desvantajoso [7]. A teoria de transporte por outro lado, aborda o transporte de fótons através da absorção e espalhamento do meio sem levar em conta as equações de Maxwell. Esse tipo de abordagem é dito como heurístico, e não possui o rigor matemático presente nas teorias analíticas, porém tem sido amplamente utilizado para o delineamento das interações laser-tecido e as evidências experimentais em muitos casos são satisfatórias [7, 8].

A grandeza fundamental da teoria de transporte é a radiância $J(\mathbf{r}, \mathbf{s})$ que é expressa em unidades de $\text{W.cm}^{-2}.\text{sr}^{-1}$. O sentido físico da radiância é a densidade do fluxo de energia na direção $\mathbf{s}$ dentro de uma unidade do ângulo sólido $d\omega$. A equação diferencial da radiância é chamada de equação de transporte radiativo [8, 9] e é dada por:

$$\frac{dJ(\mathbf{r}, \mathbf{s})}{ds} = -\mu_t J(\mathbf{r}, \mathbf{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p(\mathbf{s}, \mathbf{s}') J(\mathbf{r}, \mathbf{s}') d\omega', \quad (1.1)$$

onde μ_t é o coeficiente de atenuação total que é expresso pela soma de μ_a e μ_s , $p(\mathbf{s}, \mathbf{s}')$ é a função de fase de um fóton a ser espalhado da direção $\mathbf{s}'$ para $\mathbf{s}$, ds é um

comprimento de caminho infinitesimal, e $d\omega'$ é o ângulo sólido elementar em torno da direção s . Se o espalhamento é simétrico em relação ao eixo óptico, podemos definir $p(\mathbf{s}, \mathbf{s}') = p(\theta)$, com θ sendo o ângulo de espalhamento.

Para uma fonte laser, a radiância em um meio túrbido pode ser dividida em dois termos, sendo um coerente e outro difuso, como segue:

$$J = J_c + J_d \quad (1.2)$$

A radiância coerente é reduzida pela atenuação devido à absorção e espalhamento do feixe direto. Assim, pode ser calculada a partir de:

$$\frac{dJ_c}{ds} = -\mu_t J_c, \quad (1.3)$$

com solução:

$$J_c = I_0 e^{-\mu_t \tau}, \quad (1.4)$$

onde I_0 é a intensidade inicial do feixe e τ é a espessura óptica (1.10).

O cálculo da radiância difusa é o principal problema que a teoria de transporte tem que resolver, pois os fótons espalhados não seguem um caminho determinado. Assim, a solução é fazer uso de aproximações e abordagens estatísticas, dependendo principalmente se no processo em questão predomina a absorção ou o espalhamento. Dentre os métodos existentes estão o espalhamento de primeira ordem, teoria de Kubelka-Munk, aproximação de difusão, simulações de Monte Carlo e *Inverse Adding-Doubling*.

Cada método faz uso de determinadas aproximações, bem como condições iniciais e de contorno. Em geral, o tempo de cálculo é maior quanto mais complexo matematicamente e mais preciso o método [8, 9, 6]. O método escolhido para determinação das propriedades ópticas para esse trabalho é o *Inverse Adding-Doubling* e mais adiante será apresentado com detalhes. Para todos esses métodos citados aqui o procedimento experimental para se obter μ_a , μ_s e g empregam fontes de luz contínuas, ou seja, que não variam temporalmente e portanto a equação 1.1 é válida para cálculo dos coeficientes. Existem porém metodologias que fazem uso de luz pulsada e que resolvem a equação de transporte radiativo com dependência temporal para obter μ_a , μ_s e g [10, 11, 9, 12]. Há também metodologias que empregam fontes com intensidade modulada, tanto em frequência temporal quanto

em frequência espacial, e que para cálculo dos coeficientes é necessária a solução da equação de difusão dependente do tempo para densidade de fótons [9, 12].

A metodologia empregada para cálculo de μ_a , μ_s e g neste trabalho foi um sistema com duas esferas integradoras associado ao algoritmo *Inverse Adding-Doubling* (IAD). Essa metodologia foi escolhida pois é mais barata e estável quando comparada à metodologia com dependência temporal e o custo computacional é menor quando comparada à metodologias com intensidade modulada.

1.1 Propriedades ópticas de meios túrbidos

A figura 1.2 exemplifica o comportamento de um feixe de fótons ao atravessar um meio túrbido. Ao penetrar o meio os fótons sofrem processos de atenuação devido absorção e /ou espalhamento. Ao absorver o fóton, um centro de absorção (formado por partículas ou moléculas absorvedoras) pode transformar a energia absorvida em calor, som, espalhamento Raman, fluorescência e fosforescência. Já as partículas espalhadoras são as responsáveis por mudar a trajetória do fóton contribuindo para a atenuação. Podemos descrever a atenuação de forma geral, considerando apenas a predominância de um processo (absorção ou espalhamento), onde para caracterizar tal processo introduz-se o coeficiente μ_i (com $i = a, s$) como o recíproco da distância que um fóton viaja antes de ser absorvido ou espalhado e ter a intensidade inicial I_0 atenuada para $I(d) = \frac{I_0}{e} \approx 0,37I_0$, que obedece a lei de decaimento exponencial para a propagação de luz um meio de espessura d (figura 1.2) [13].

$$I(d) = I_0 e^{-\mu_i d}, \quad (1.5)$$

onde $I(d)$ é a intensidade da luz transmitida em unidades de W.cm^{-2} e μ_i é expresso em cm^{-1} . O coeficiente de absorção μ_a e coeficiente de espalhamento μ_s , podem ainda ser expressos em termos da seção de choque que descreve a probabilidade de determinada molécula ou partícula absorver ou espalhar um fóton em uma área [13].

Da figura 1.2

$$\frac{dN}{dx} = -\rho\sigma_i N, \quad (1.6)$$

com

$$\mu_i = \rho\sigma_i, \quad (1.7)$$

onde dN é o número de fótons que interagem entre x e $x + dx$, N é o número total de fótons que penetraram o meio, $\sigma_i (i = a, s)$ é a seção de choque em cm^2 e ρ é o número de moléculas ou partículas por unidade de volume (cm^{-3}).

Figura 1.2: Diagrama do processo de atenuação de um feixe de fótons devido à processos de absorção e espalhamento em um meio túrbido com espessura d . A intensidade inicial do feixe é I_0 e final $I(d)$. Figura adaptada de Tuchin, V (2016).

Uma consideração deve ser feita com relação à predominância de absorção ou espalhamento, pois nos meios túrbidos não é possível considerar as ocorrências de apenas absorção ou espalhamento, sendo que ambos ocorrem simultaneamente. Dessa forma, a caracterização adequada se faz através do coeficiente de atenuação total que é expresso por:

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s, \quad (1.8)$$

Outras grandezas frequentemente usadas para caracterizar a propagação da luz em um meio túrbido são o albedo α e a espessura óptica τ que são grandezas adimensionais. A primeira quantifica o quão espalhador é o meio, e a última quantifica as interações sofridas pelo feixe de luz ao longo da espessura percorrida. Estas grandezas são definidas como segue:

$$\alpha = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s}, \quad (1.9)$$

$$\tau = \int_0^d \mu_t dx, \quad (1.10)$$

onde d é a espessura física da fatia. Se a atenuação é constante ao longo da espessura, então:

$$\tau = \mu_t d \quad (1.11)$$

A função de fase para o espalhamento $p(\theta)$ descreve por sua vez, a quantidade de luz espalhada em um ângulo θ , que é o ângulo formado entre a direção de incidência e a direção de espalhamento do fóton. Não se sabe ainda a forma da função de fase para o tecido, mas na prática, esta função é aproximada pela função Henyey-Greenstein [8, 9, 6, 13]:

$$p(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g\cos(\theta))^{3/2}}, \quad (1.12)$$

onde g é o fator de anisotropia do tecido, sendo que $g = 0$ corresponde a um espalhamento isotrópico, $g = 1$ a um espalhamento na direção de incidência do fóton e $g = -1$ a um retroespalhamento. A combinação do fator de anisotropia com o coeficiente de espalhamento nos dá o coeficiente de espalhamento reduzido:

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad (1.13)$$

A proposta de μ'_s é computar somente os fótons que de fato tiveram sua trajetória modificada ao longo do caminho ($g \neq 1$) [13, 14].

1.2 *Inverse Adding-Doubling*

Métodos para medida das propriedades ópticas do tecido são divididos em diretos e indiretos. Nos métodos diretos as propriedades ópticas são obtidas a partir da aplicação da Lei de Beer-Lambert e da função de fase para o espalhamento em amostras finas, sendo os parâmetros medidos a transmissão colimada, e usando um goniômetro, o espalhamento. Já nos métodos indiretos utiliza-se um modelo teórico de propagação da luz e são divididos em iterativos e não-iterativos. No primeiro, as propriedades ópticas são determinadas implicitamente a partir de medidas da amostra, enquanto que no último são baseadas no modelo de Kubelka-Munk e modelos de multifluxo e as propriedades são obtidas diretamente das medidas de reflexão e transmissão da amostra [5, 8, 9, 6].

O *Inverse Adding-Doubling* (IAD) é um método numérico que resolve a equação de transporte de fótons. Este método foi desenvolvido por Prahl e elaborado intensivamente para meios altamente espalhadores, em especial para tecidos biológicos [15, 16]. Para entendermos como o método IAD funciona, devemos primeiro compreender o método *Adding-doubling* (AD), desenvolvido por Van de Hust para resolver a equação de transporte radiativo em uma geometria de placas [17, 18].

Nos cálculos do AD as seguintes suposições são feitas: a distribuição de luz é independente do tempo, as amostras têm propriedades ópticas homogêneas, a geometria da amostra é uma placa plana infinita de espessura finita, possui índice de refração uniforme, a reflexão interna nos limites é governada pela lei de Fresnel, e a luz é despolarizada. É assumido que a reflexão (R) e transmissão (T) da luz incidente são conhecidas para uma fatia plana com espessura d . Para determinar a refletância e transmitância para uma fatia com espessura $2d$, basta dividi-la em duas fatias iguais e se adiciona à primeira fatia a contribuição da reflexão e transmissão devido à presença da segunda. Esse método é estendido para o cálculo de refletância e transmitância de fatias com espessuras arbitrárias, bastando iniciar o cálculo com uma fina camada com propriedades conhecidas e seguindo com a adição das contribuições de camadas adicionais adjacentes até atingir a espessura desejada.

A figura 1.3 sintetiza a principal diferença entre os dois métodos. Enquanto no AD, os valores de μ_a , μ'_s e g são conhecidos para determinada amostra, sendo a partir destes calculados os valores de reflexão e transmissão, no IAD, são conhecidos os valores de refletância (M_R) e transmitância (M_T) experimentais que são utilizados para cálculo dos coeficientes.

Figura 1.3: Diferença entre os métodos Adding-Doubling e Inverse Adding-Doubling.

No IAD, ocorre o processo inverso, onde μ_a , μ'_s e g são calculados a partir de valores de refletância (M_R) e transmitância (M_T) experimentais; estes são empregados pelo algoritmo inicialmente para ajustar valores de α (1.9) e τ (1.10), e assim, usando o método AD gera-se valores de refletância e transmitância correspondentes que são comparados com os experimentais [15]. O processo continua até que os valores medidos e calculados sejam equivalentes (levando em consideração as perdas de luz envolvidas no procedimento experimental). O processo de cálculo do IAD está ilustrado na figura 1.4. As perdas de luz são calculadas por simulação de Monte Carlo (MC) inclusa no algoritmo [16, 19]. Essas perdas estão relacionadas a luz que sai pela lateral da amostra que fica entre as esferas e também pela porta de entrada da esfera de reflexão.

Figura 1.4: Fluxograma do IAD. M_R e M_T corresponde a refletância e transmitância medidas empregando as esferas integradoras. Adaptado de Mofitt, T. P. (2007).

1.3 Esferas Integradoras

Diversos trabalhos que fizeram uso de esferas integradoras para determinar as propriedades ópticas de *phantoms* que simulam tecidos biológicos e amostras biológicas foram publicados nos últimos anos [4, 20, 21, 22, 23, 24]. Os valores de refletância e transmitância são obtidos a partir de medidas empregando uma ou duas esferas integradoras e os coeficientes são calculados por um algoritmo.

Uma esfera integradora é uma esfera oca com um revestimento altamente reflexivo em sua superfície interna (geralmente utiliza-se politetrafluoretileno ou Sulfato de bário ($BaSO_4$)) para distribuir homogeneousmente a luz que se propaga em seu interior. Nela existem três portas, sendo uma para entrada da luz, outra para acoplar a amostra e outra para o detector. Entre a porta da amostra e a porta do detector existe uma barreira física que impede que o feixe de luz diretamente refletido pela amostra chegue ao detector, garantindo a homogeneidade da luz que é lida pelo detector. A teoria e aplicabilidade das esferas integradoras para medidas de refletância e transmitância de amostras já foi amplamente estudada, e portanto, se trata de uma técnica bem consolidada [25, 26, 27].

O uso de duas esferas integradoras permite que as medidas de reflexão e transmissão da amostra sejam feitas simultaneamente em procedimentos experimentais cuja as amostras são submetidas a um aquecimento contínuo, reações químicas ou aplicações de campos eletromagnéticos. Além disso, a medida simultânea de reflexão e transmissão da amostra reduz erros experimentais quando comparado com o procedimento que faz uso de apenas uma esfera integradora, já que a amostra permanece na mesma posição e ambas medidas são obtidas para o mesmo feixe de iluminação. A figura 1.5 ilustra uma configuração típica de um procedimento experimental que utiliza duas esferas integradoras e foi a configuração utilizada neste trabalho. Na figura, R e T correspondem às esferas que medem a refletância e a transmitância da amostra (A), respectivamente. T_c corresponde à transmitância colimada, componente que é usada no cálculo dos coeficientes. D_1, D_2, D_3 e D_4 são detectores de referência, reflexão, transmissão e transmissão colimada, respectivamente.

Figura 1.5: Diagrama experimental que emprega duas esferas integradoras.

1.4 Justificativa

Diversas metodologias utilizadas para determinação das propriedades ópticas de tecidos biológicos e *phantoms* para aplicações biomédicas são discutidas na literatura [28]. A metodologia com duas esferas integradoras e o método IAD foi implementado no Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) [28] pois cobre um significativo conjunto de propriedades ópticas (μ_a , μ'_s e g), oferece um algoritmo rápido e permite a medição de amostras sólidas e líquidas em ampla região espectral e permite ser empregado para radiação óptica com emissão contínua e pulsada.

No presente trabalho, destaca-se a importância desta metodologia para a área de óptica aplicada a tecidos biológicos, pois é possível empregá-la numa ampla região espectral, com destaque para a região do visível (vermelho) e infravermelho próximo, onde ocorrem as principais aplicações em tecidos biológicos [28, 29, 30, 31]. É importante ressaltar que apesar de diversos grupos de pesquisa já fazerem uso de tal metodologia para obtenção das propriedades ópticas de diversas amostras, não é conhecido nenhum grupo no Brasil que já tenha implementado este sistema. Assim, implementando esse sistema em nosso laboratório, esperamos contribuir para a pesquisa na área de caracterização e dosimetria óptica no Brasil.

1.5 Objetivo

Implementação de um sistema de duas esferas integradoras associado ao algoritmo IAD para determinação dos coeficientes de absorção, espalhamento reduzido de amostras altamente espalhadoras e o fator de anisotropia.

METODOLOGIA

EMPREGOU-SE duas esferas integradoras (UMBB-150, Gigahertz Optik, Türkenfeld, Alemanha) cada uma com diâmetro interno de 150 mm, abertura de entrada de 25,4 mm e abertura de acoplamento de 37,7 mm, com revestimento interno de sulfato de bário ($\approx 97\%$ de refletância). Na figura 2.1 é apresentado novamente o diagrama experimental em que se mostra a posição das esferas quando acopladas, sendo que R e T correspondem às esferas que medem a reflexão e a transmissão da amostra (A), respectivamente. T_c corresponde à transmitância colimada, componente que é usada no cálculo dos coeficientes. D_1, D_2, D_3 e D_4 são detectores de referência, reflexão, transmissão e transmissão colimada, respectivamente.

Figura 2.1: Diagrama experimental.

A figura 2.2 apresenta a configuração experimental montada para realizar os experimentos com laser contínuo empregando fotodiodos.

Figura 2.2: *Configuração experimental em que se empregou fontes lasers contínuos e fotodiodos.*

As fontes de laser contínuo utilizadas foram lasers de diodo com emissão em 403 nm (5,365 mW, sem especificação técnica), com emissão em 473 nm (Lasiris SNF, StockerYale, Canadá), com emissão em 533 nm (11,93 mW, sem especificação técnica), laser de He-Ne com emissão em 633 nm (U21840, 3B Scientific, Alemanha), laser de diodo com emissão em 681 nm (Lasiris SNF, StockerYale, Canadá) e com emissão em 805 nm (DL808-120-O, CrystaLaser, USA).

Para lasers contínuos foram empregados 4 fotodiodos de silício (SFH 206K, Farnell, USA) conectados a amplificadores e estes a uma placa de prototipagem eletrônica (UNO R3, Arduino, Itália) juntamente com um conversor analógico-digital (ADS 1115, Texas Instruments, USA). Este sistema permitiu aquisição dos dados no computador empregando a plataforma PLX-DAQ versão 2, que é um *software* gratuito [32]. Nele os dados são adquiridos por microcontroladores e ficam dispostos em colunas dentro de uma planilha no Excel em tempo real. Neste trabalho, o arduino foi programado para fornecer simultaneamente a leitura de tensão dos 4 fotodiodos a cada 2 segundos. O sistema de amplificadores foi confeccionado pela oficina de eletrônica do Departamento de Física da FFCLRP (figura 2.3).

(a) Vista de cima do sistema aberto

(b) Vista frontal do sistema isolado

Figura 2.3: Sistema de amplificadores e placas Arduino e ADS 1115.

Para os experimentos com laser pulsado, empregou-se o sistema laser sintonizável ($\approx 400 \mu\text{J}$, Rainbow OPO, Quantel, USA); o mesmo está conectado ao laser com emissão em 532 nm (Brilliant B, Quantel, USA), com taxa de repetição de 10 Hz, duração do pulso de 5 ns. Neste sistema é possível sintonizar comprimentos de onda entre 680 a 950 nm. Essa configuração experimental é vista na figura 2.4.

A detecção do sinal para esta configuração ocorreu por transdutores piezoelétricos (1 a 25 MHz, V-324-SU, Olympus, USA) sendo um conectado ao amplificador (Panametrics-NDT 5678, Olympus, USA) e outro ao amplificador (Panametrics-NDT 5800PR, Olympus, USA), ambos acoplados a um osciloscópio (DSOX2024A, Keysight USA) para leitura do sinal. Para medida de referência, empregou-se um detector piroelétrico (J-25MB-HE, Coherent, USA) acoplado ao leitor (FieldMaxII-TOP, Coherent, USA).

Figura 2.4: *Configuração experimental em que se empregou a fonte laser pulsado e os transdutores piezoelétricos.*

2.1 Procedimento experimental

A figura 2.5 exemplifica os procedimentos experimentais adotados para acessar as diferentes variáveis necessárias para o algoritmo. Note que os detectores correspondentes às medidas em questão são mostrados, enquanto os que não fazem parte da medida são omitidos. Para as medidas de transmissão colimada da amostra (U_a), transmissão colimada sem amostra (U_s) e transmissão colimada sem amostra e com feixe laser bloqueado (U_0) o detector D_4 estava fixo a distância de 70 cm da amostra, pois garante-se que a partir de 60 cm a transmissão difusa não é coletada [27].

(a) Transmissão colimada da amostra

(b) Reflexão e transmissão da amostra

(c) Transmissão colimada sem amostra

(d) Transmissão sem amostra

(e) Transmissão (ruído)

(f) Reflexão padrão

(g) Reflexão (ruído)

Figura 2.5: Diagrama experimental empregado para acessar as diferentes variáveis necessárias para o algoritmo.

Com essas medidas, calculou-se a refletância (M_R), transmitância (M_T) e transmitância colimada (M_U), respectivamente; sendo que para M_R temos:

$$M_R = r_{std} \cdot \frac{\frac{R_a}{Ref_{R_a}} - \frac{R_0}{Ref_{R_0}}}{\frac{R_{std}}{Ref_{R_{std}}} - \frac{R_0}{Ref_{R_0}}}, \quad (2.1)$$

onde r_{std} é o valor da refletância do padrão, R_a é a medida de reflexão da amostra, R_0 é a medida de ruído para a esfera de reflexão, R_{std} é a medida de reflexão do padrão e Ref_i corresponde à leitura do detector de referência (D_1 na figura 2.5), com $i = R_a, R_0$ e R_{std} . O padrão da *Labphere*[®] foi usado aqui neste trabalho (figura 2.6), com valor nominal de $r_{std} = 0,97$. Esse padrão é a tampa da porta de entrada de uma esfera integradora de 10" de diâmetro (Illumina, Labsphere, USA) que temos no laboratório.

Figura 2.6: Padrão de reflexão *Labsphere*[®].

Cada termo da expressão que calcula M_R (2.1) é obtido a partir das medidas exemplificadas na figura 2.7.

(a) A leitura em D_2 corresponde a R_a e a leitura em D_1 corresponde a Ref_{R_a}

(b) A leitura em D_2 corresponde a R_{std} e a leitura em D_1 corresponde a $Ref_{R_{std}}$

(c) A leitura em D_2 corresponde a R_0 e a leitura em D_1 corresponde a Ref_{R_0}

Figura 2.7: Diagrama experimental empregado para o cálculo de M_R .

Para o cálculo do M_T temos:

$$M_T = \frac{\frac{T_a}{Ref_{T_a}} - \frac{T_0}{Ref_{T_0}}}{\frac{T_s}{Ref_{T_s}} - \frac{T_0}{Ref_{T_0}}}, \quad (2.2)$$

onde T_a é a medida de transmissão da amostra, T_0 é a medida de ruído para a esfera de transmissão, T_s é a medida de transmissão sem a amostra e Ref_i corresponde à leitura do detector de referência (D_1 na figura 2.5), com $i = T_a, T_0$ e T_s .

Cada termo da expressão que calcula M_T (2.2) é obtido a partir das medidas exemplificadas na figura 2.8.

(a) A leitura em D_3 corresponde a T_a e a leitura em D_1 corresponde a Ref_{T_a}

(b) A leitura em D_3 corresponde a T_S e a leitura em D_1 corresponde a Ref_{T_s}

(c) A leitura em D_3 corresponde a T_0 e a leitura em D_1 corresponde a Ref_{T_0}

Figura 2.8: Diagrama experimental empregado para o cálculo de M_T .

Para cálculo da transmitância colimada (M_U) temos:

$$M_U = \frac{\frac{U_a}{Ref_{U_a}} - \frac{U_0}{Ref_{U_0}}}{\frac{U_s}{Ref_{U_s}} - \frac{U_0}{Ref_{U_0}}}, \quad (2.3)$$

onde U_a é a medida de transmissão colimada da amostra, U_0 é a medida de ruído para a esfera de transmissão (lida pelo detector D_4 na figura 2.5), U_s é a medida

de transmissão sem a amostra (também lida pelo detector D_4 na figura 2.5) e Ref_i corresponde à leitura do detector de referência (D_1 na figura 2.5), com $i = U_a, U_0$ e U_s .

Cada termo da expressão que calcula M_U (2.3) é obtido a partir das medidas exemplificadas na figura 2.9.

(a) A leitura em D_4 corresponde a U_a e a leitura em D_1 corresponde a Ref_{U_a}

(b) A leitura em D_4 corresponde a U_s e a leitura em D_1 corresponde a Ref_{U_s}

(c) A leitura em D_4 corresponde a U_0 e a leitura em D_1 corresponde a Ref_{U_0}

Figura 2.9: Diagrama experimental empregado para o cálculo de M_U .

Note que para cada razão (M_R , M_T e M_U) o numerador corresponde às medidas da amostra subtraindo-se o ruído (sinal de fundo) e o denominador corresponde à medida de referência que também é subtraída do ruído. O significado dessa razão é basicamente comparar o quanto a amostra reflete ou transmite em relação à medida máxima de reflexão e transmissão que o sistema permite,

subtraindo-se as contribuições provenientes do ruído. Outro aspecto importante a ser notado é que todas as medidas são normalizadas pela correspondente leitura de referência (Ref_i). O objetivo da normalização é remover a influência de possíveis flutuações da fonte, visto que o experimento é composto por várias etapas (figura 2.5).

No procedimento experimental com as fontes lasers contínuas e os fotodiodos, obtiveram-se 35 leituras dos fotodiodos e o experimento foi repetido 5 vezes. As medidas eram iniciadas após um período de termalização que variou para cada fonte, em média esse período era de uma hora a uma hora e meia.

Já para o procedimento com a fonte laser pulsada e os transdutores piezoelétricos, seguiu-se o mesmo procedimento experimental exemplificado na figura 2.5 com exceção às medidas de U_a , U_s e U_0 . Aqui, as medidas de U_a , U_s e U_0 foram executadas com as esferas desacopladas, sendo que a esfera T juntamente com seu respectivo transdutor piezoelétrico ficou deslocada a 70 cm da amostra, para detectar a transmissão colimada (um procedimento análogo ao executado com o fotodiodo D_4 na figura 2.5). O pulso laser foi controlado manualmente, dessa forma, para as amostras de poliuretano e SEBS (figura 2.10), obtiveram-se 5 leituras de cada medida e o experimento foi repetido 3 vezes. A leitura no osciloscópio foi realizada mensurando a tensão de pico a pico do sinal. Como o *phantom* de gelatina (figura 2.10(b)) é mais frágil, para evitar o manuseio, o experimento foi repetido duas vezes com 10 leituras de cada medida. As medidas de referência foram adquiridas empregando o sensor piroelétrico.

2.2 Amostras

As amostras que foram utilizadas nesse trabalho são *phantoms* de poliuretano (PU), de SEBS (do inglês styrene-ethylene-butylene-styrene) que é um copolímero tribloco do tipo estireno-etileno-butileno-estireno e de gelatina bovina com formaldeído. Essas amostras são mostradas na figura 2.10.

Figura 2.10: *Phantoms*

O componente responsável pelo espalhamento óptico na amostra de poliuretano é o dióxido de titânio (TiO_2). Duas amostras com 6 cm de diâmetro e 4,5 mm de espessura com diferentes concentrações deste espalhador foram fornecidas pelo Prof. Scott Prahl do Oregon Institute of Technology que empregando a mesma metodologia deste trabalho caracterizou estas amostras. Para facilidade de identificação, a amostra com menor concentração de TiO_2 , foi denominada de *phantom* transparente e a outra com maior concentração como *phantom* branco (figura 2.10(a)). O *phantom* transparente possui $3,77 \mu\text{l}$ de TiO_2 por grama de poliuretano e o *phantom* branco possui $18,87 \mu\text{l}$ de TiO_2 por grama de poliuretano. Os respectivos valores dos coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento reduzido (μ'_s) para essas amostras foram informados como $\mu_a = 0,0095 \text{ mm}^{-1}$ e $0,0019 \text{ mm}^{-1}$, $\mu'_s = 0,048 \text{ mm}^{-1}$ e $0,477 \text{ mm}^{-1}$.

O *phantom* de SEBS é um material gel de copolímero tendo óleo mineral como solvente, contém 9% de SEBS e 3% PEBD (polietileno de baixa densidade) que é o responsável pelo espalhamento óptico. Essa amostra e a de gelatina bovina com formaldeído possuem 4,4 cm de diâmetro e 1 cm de espessura, ambas foram fabricadas e fornecidas pelo Grupo de Inovação e Instrumentação Médica em Ultrassom do Departamento de Física desta Faculdade. Para o *phantom* de gelatina bovina com formaldeído foi utilizado 0,5% de TiO_2 como espalhador óptico e 0,5% de CuSO_4 como absorvedor (essa porcentagem é referente à massa de água Mili-Q

utilizada para diluir a gelatina). As amostras de SEBS e de gelatina são apresentadas na figura 2.10(b).

2.3 Otimização

Inicialmente, nosso sistema contava com dois fotodiodos de silício e germânio da Coherent, modelos LM-2 VIS e LM-2 IR que detectam nas seguintes faixas: entre 400 e 1060 nm e entre 800 e 1550 nm respectivamente, que eram conectados aos medidores de potência FieldMaxII-TOP, também da Coherent. Com esses detectores não era possível medir simultaneamente a reflexão e transmissão difusa da amostra, além disso, não era possível monitorar flutuações da fonte. Obtinha-se somente uma leitura para cada medida e o experimento era repetido 5 vezes para cada amostra.

Buscando obter melhores resultados, o sistema apresentado na figura 2.2 foi implementado, onde se pode monitorar possíveis flutuações da fonte e medir simultaneamente a reflexão e transmissão difusa da amostra, porém, ainda sem o ADS 1115; e os amplificadores e arduino ficavam expostos (sem a caixa metálica como mostra a figura 2.11).

Figura 2.11: Sistema com arduino sem caixa para acondicionar o circuito e sem ADS 1115.

Com esse sistema, o procedimento experimental adotado foi de 100 leituras para cada medida, sendo repetido 3 vezes para cada amostra. Foi observado, porém, que esta metodologia não estava adequada, pois aguardava-se cerca de 4 minutos para adquirir 100 leituras fazendo com que um experimento durasse mais que 30 minutos, e portanto, no momento de calcular as razões de reflexão e transmissão (2.1, 2.2 e 2.3) eram comparadas medidas adquiridas distantes temporalmente e sujeitas flutuações elétricas e eletrônicas ou até mesmo do aquecimento dos componentes.

Por fim, adotou-se o sistema com ADS 1115 para aumentar a resolução do sinal e os amplificadores foram acondicionados na caixa juntamente com o arduino para reduzir o ruído eletrônico. A fim de evitar que flutuações eletrônicas comprometessem as medidas como foi observado na metodologia anterior, o número de leituras foi reduzido para 35 por medida e o experimento repetido 5 vezes por amostra. A figura 2.12 mostra a mudança de M_R e M_T com a alteração do sistema e procedimento experimental.

(a) Sistema com fotodiodo e medidor de potência da Coherent.

(b) Sistema com fotodiodos da Farnel e arduino

(c) Sistema com fotodiodos da Farnel, arduino e ADS 1115

Figura 2.12: Performance dos diversos sistemas e metodologias de aquisição na determinação de M_R e M_T . Todas as medidas foram feitas com o phantom transparente e fonte laser de 633 nm.

Dos poucos pontos experimentais obtidos pelo sistema que contava com apenas um fotodiodo (figura 2.12(a)), somente os pontos experimentais 4 e 5 convergiram, ou seja, apenas para estes pontos o algoritmo IAD foi capaz de estimar os coeficientes desejados. Se os valores não convergem isso significa que existe um erro na medida, e isso é informado como mensagem de erro pelo programa indicando em qual das razões (M_R , M_T ou M_U) está a inconsistência. Para os dados apresentados na figura 2.12, a maioria dos erros estão relacionados a baixa reflectância do *phantom* transparente.

Para o sistema com o arduino (figura 2.12(b)) melhorou-se a aquisição de forma que 300 pontos experimentais foram coletados pelo sistema, porém, acredita-se que por se tratar de um sistema que não estava blindado eletronicamente cerca de 175 pontos experimentais não convergiram (note que os valores de M_R e M_T apresentam uma grande amplitude de oscilação).

O sistema final (figura 2.12 (c)), corrigiu problemas com a blindagem e com a resolução do sistema. Dos 175 pontos experimentais coletados, os 35 primeiros não convergiram e embora o restante dos dados tenham convergido, há dois regimes com uma diferença de amplitude de 0,015 para M_R e 0,040 para M_T . Note que os dados coletados apresentam maior estabilidade, contudo o sistema não ficou livre de inconstâncias, uma vez que o ruído eletrônico não pode ser totalmente eliminado, apenas reduzido.

2.4 Parâmetros do IAD

Na tabela 2.1 estão apresentados os parâmetros de entrada do IAD e os resultados de saída. Esta tabela permite visualizar a influência de determinados parâmetros de entrada, os quais serão discutidos na sequência.

Tabela 2.1: *Parâmetros de entrada e saída do IAD.*

	Entrada	Saída
Amostra	M_R , M_T , M_U , Índice de Refração, Espessura (mm)	
Suporte da amostra	Índice de Refração, Espessura (mm)	
Esferas R e T	Diâmetro da esfera (mm), Diâmetro da porta (mm): ✓ Entrada, ✓ Detector, ✓ Amostra, Reflectividade da parede	μ_a, μ'_s e g^*
Outros	Número de esferas, Número de medidas, Refletância do padrão, Diâmetro do feixe de iluminação (mm)	

* O valor de g fica condicionado a existência de M_U .

As amostras de poliuretano tiveram suas espessuras determinadas por um micrômetro, sendo encontrado $4,581 \pm 0,005$ mm para o *phantom* transparente e $4,519 \pm 0,005$ mm para o *phantom* branco. Já os *phantoms* de SEBS e o de gelatina foram fabricados em um suporte rígido de 1 cm de espessura e portanto sua espessura foi tomada como 10 mm. Os diâmetros das portas das esferas foram medidos com paquímetro, tendo a porta de entrada $25,10 \pm 0,05$ mm, a porta do detector $12,40 \pm 0,05$ mm e a porta da amostra $38,40 \pm 0,05$ mm. O diâmetro da esfera foi mantido o fornecido pelo fabricante (150 mm).

Um sistema de medida do índice de refração para amostras sólidas foi implementado de acordo com o trabalho de Tikhonov *et al* [33]. O diagrama experimental é apresentado na figura 2.13 e a principal característica desta metodologia é a consideração de ângulo de incidência mínimo (até 3°).

Figura 2.13: Diagrama da configuração experimental usada para medição do índice de refração. D_1 e D_2 são detectores fotodiodo para medição da fração do feixe de incidência e do feixe refletido, respectivamente.

Como o feixe refletido deve ser completamente captado pelo detector, as amostras não podem ser altamente espalhadoras e portanto somente os *phantoms* transparente e de SEBS foram medidos. Três fontes foram empregadas nesse procedimento: 403 nm, 533 nm e 633 nm. Para o *phantom* de SEBS apenas o procedimento experimental com a fonte de 533 nm teve sucesso.

O sistema comercial *Meticon Model 2010/M Prism Coupler* também foi utilizado para medição do índice de refração nos seguintes comprimentos de onda: 532 nm, 632 nm e 1538 nm. Com essa medição busca-se validar o sistema implementado. Os valores obtidos são apresentados na tabela 2.2. O índice de refração adotado para o *phantom* de gelatina foi o valor de 1,5 encontrado na literatura [34, 35].

Diante dos resultados obtidos, optou-se por utilizar os valores de índice de refração obtido pelo sistema comercial, uma vez que observados os valores obtidos para cada comprimento de onda, em 533 nm o sistema implementado não obteve um valor que segue a tendência de redução do índice de refração com o aumento do comprimento de onda para o *phantom* transparente.

Tabela 2.2: Índices de refração obtidos para os phantoms transparente e de SEBS.

$\lambda[\text{nm}]$	Sistema implementado		Sistema comercial	
	<i>Phantom</i> transparente	<i>Phantom</i> SEBS	<i>Phantom</i> transparente	<i>Phantom</i> SEBS
403	$1,493 \pm 0,019$	-	-	-
533	$1,636 \pm 0,093$	$1,521 \pm 0,020$	$1,5055 \pm 0,0009$	$1,4693 \pm 0,0021$
633	$1,458 \pm 0,020$	-	$1,4999 \pm 0,0007$	$1,4652 \pm 0,0025$
1538	-	-	$1,4889 \pm 0,0010$	$1,4544 \pm 0,0015$

Obtidos os valores de μ_a, μ'_s e g para as amostras, calculou-se o valor médio para cada comprimento de onda. Todo tratamento dos dados deste trabalho foi realizado utilizando o programa *Origin*®.

Para avaliar a sensibilidade do algoritmo IAD quanto aos valores de entrada, como por exemplo o diâmetro do laser incidente ou o índice de refração, investigou-se a influência destes últimos dois parâmetros no valor final de μ_a, μ'_s e g . Para esta análise, empregou-se apenas uma amostra, o *phantom* transparente e uma fonte laser azul 403 nm, e dois parâmetros de entrada, diâmetro do laser e índice de refração. A variação do diâmetro do laser e índice de refração apresentada aqui se trata de uma simulação e não uma variação real.

Na figura 2.14, observa-se a influência do diâmetro do laser sobre os valores dos coeficientes calculados pelo IAD. Nesta análise considerou-se o diâmetro do feixe laser dentro da faixa proposta (de 0,8 mm a 1,5 mm). Note que a variação do diâmetro do laser não produziu mudanças significativas em μ_a, μ'_s e g .

Na figura 2.15 observa-se a influência do índice de refração considerando os valores de 1,45 a 1,51. Observa-se que as variações de índice de refração geraram alterações muito representativas nos valores de μ_a, μ'_s e g , destacando aqui a importância de determinar o índice de refração corretamente mesmo na condição de amostra altamente espalhadora.

(a) μ_a (b) μ'_s (c) g

Figura 2.14: μ_a , μ'_s e g obtidos para o phantom transparente fixando-se o índice de refração em 1,5 e variando o diâmetro do feixe laser de 0,8 mm a 2,0 mm.

(a) μ_a (b) μ'_s (c) g

Figura 2.15: μ_a , μ'_s e g obtidos para o phantom transparente fixando-se o diâmetro do feixe laser em 1,2 mm e variando o índice de refração de 1,45 a 1,51.

Os parâmetros de entrada M_R e M_T também foram avaliados quanto à influência de pequenas variações destes sobre os valores dos coeficientes calculados pelo IAD. Para esta análise, simulou-se variações nos valores de M_R e M_T em torno de pontos experimentais obtidos para o *phantom* transparente e fonte laser contínua de 633 nm a fim de se verificar o efeito sobre os valores de μ_a e μ'_s retornados pelo algoritmo IAD (figura 2.16). Essas variações foram feitas manualmente, somando ou subtraindo 10^{-3} nos valores de M_R e M_T experimentais. Os valores simulados e experimentais são mostrados na figura 2.16.

O resultado dessa avaliação nos mostrou que é importante ter um sistema estável, pois pequenas variações em M_R e M_T devido a ruídos ou até mesmo procedimento experimental podem produzir diferentes valores de coeficientes, o que compromete a acurácia do método.

(a) μ_a obtido para o *phantom* transparente variando M_R .

(b) μ'_s obtido para o *phantom* transparente variando M_R . (c) μ_a e μ'_s obtidos para o *phantom* transparente variando M_R .

(d) Valores de μ_a e μ'_s obtidos para o *phantom* transparente variando M_T .

Figura 2.16: μ_a e μ'_s obtidos para o *phantom* transparente variando M_R e M_T .

RESULTADOS

3.1 Laser contínuo

3.1.1 *Phantoms* de poliuretano

As figuras apresentadas nesta seção mostram a média do conjunto de valores de coeficientes calculados pelo IAD para cada comprimento de onda. Cada conjunto também está representado por um diagrama de caixa, onde os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média (linha preta dentro da caixa). Os limites inferior e superior foram escolhidos como limite para dados discrepantes (*outliers*), ou seja, apesar de corretamente calculados pelo IAD, estatisticamente os dados que ultrapassam esse limite são inconsistentes com o restante do conjunto. Note que nas figuras, as informações são redundantes, mas procuramos apresentar tanto o perfil espectral quanto a distribuição dos valores obtidos.

Na figura 3.1 são apresentados os resultados obtidos para o *phantom* transparente. Observa-se que para os comprimentos de onda de 403 nm, 473nm, 633 nm e 681 nm os valores médios de μ_a se encontram abaixo de $0,006 \text{ mm}^{-1}$ enquanto que para os comprimentos de onda de 533 nm e 805 nm, os valores médios são de $0,0153 \text{ mm}^{-1}$ e $0,0113 \text{ mm}^{-1}$ respectivamente. Quanto à distribuição do conjunto de valores de μ_a , quanto menor é a altura da caixa menor é a variabilidade dos dados. A variabilidade observada para o comprimento de onda de 633 nm é possivelmente resultado de flutuações eletrônicas ou da fonte laser, assim como os valores obtidos para o comprimento de onda de 533 nm sugerem um erro na leitura dos fotodiodos devido à intensidade da fonte.

Figura 3.1: Valores de μ_a obtidos para o phantom transparente de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

A figura 3.2 apresenta os valores de μ'_s obtidos para o phantom transparente. A literatura mostra que, ao passo que o comprimento de onda aumenta, μ'_s diminui, isso para *phantoms* de poliuretano medidos com a mesma metodologia que também tinham por componente espalhador o TiO_2 [36, 12, 28]. Essa redução do μ'_s é observada em nosso resultado.

O valor fornecido pelo Prof. Prahl, medido para fonte laser de 633 nm é $\mu'_s = 0,048 \text{ mm}^{-1}$. Para o mesmo comprimento de onda, o valor obtido neste trabalho foi $\mu'_s = 0,0580 \pm 0,0014 \text{ mm}^{-1}$. Apesar de um erro relativo de aproximadamente 21%, comparado ao valor de μ'_s de referência, vemos que nossas medidas são reprodutíveis, produzindo um desvio padrão menor que 3%. Este resultado traz uma confiabilidade para futuras aplicações desta metodologia, e sugere a necessidade de comparações com outros *phantoms* calibrados para testar a exatidão do sistema.

Figura 3.2: Valores de μ'_s obtidos para o phantom transparente de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

Na figura 3.3 estão apresentados os valores de g obtidos para o phantom transparente. Como no valor de μ'_s só são consideradas as contribuições dos fótons espalhados, no valor de g , por sua vez, são considerados os fótons que não sofrem desvios na trajetória. Observa-se que os valores de g aumentam com o comprimento de onda.

Figura 3.3: Valores de g obtidos para o phantom transparente de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

O fator de anisotropia foi obtido para uma única amostra (*phantom* de poliuretano transparente), isso porque essa propriedade fica limitada à possibilidade de medir a transmissão colimada da amostra, logo, amostras altamente espalhadoras tornam a realização dessa medida um desafio. Na ausência desta medida não é possível obter g e o algoritmo retorna este como sendo nulo. Se porém, o valor de g é conhecido, é possível informá-lo e obter os coeficientes corretamente calculados pelo IAD.

Os valores de μ_a e μ'_s obtidos para o *phantom* branco de poliuretano são apresentados nas figuras 3.4 e 3.5 respectivamente. Também não houve adição de componente absorvedor para este *phantom*, porém, a concentração de TiO_2 é maior de forma que obteve-se valores médios de μ'_s com uma ordem de grandeza maior que para o *phantom* transparente.

Figura 3.4: Valores de μ_a obtidos para o *phantom* branco de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

O valor de μ_a referência para este *phantom* em 633 nm é de $0,0019 \text{ mm}^{-1}$, enquanto que o valor médio obtido para o mesmo comprimento de onda foi de $0,0012 \pm 0,0004 \text{ mm}^{-1}$. Novamente vemos na figura 3.4 que não existe uma regularidade nos valores médios de cada conjunto de dados.

Na figura 3.5 observa-se que os valores de μ'_s diminuem conforme o comprimento de onda aumenta, comportamento similar ao observado para o *phantom* transparente e também previsto na literatura. Note que no comprimento de onda de 633 nm, os valores de *outliers* em torno de 1,7 e 1,9 mm^{-1} , elevaram o valor médio de μ'_s de $0,642 \pm 0,016 mm^{-1}$ para $0,737 \pm 0,326 mm^{-1}$ ao considerá-los. Esses *outliers*, apesar de adequadamente calculados pelo IAD, são claramente produtos de erro experimental. Apesar disso, o valor médio encontrado, é da mesma ordem de grandeza que do valor de referência ($0,477 mm^{-1}$).

Figura 3.5: Valores de μ'_s obtidos para o *phantom* branco de poliuretano quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

3.1.2 Phantom de SEBS

As figuras 3.6 e 3.7 apresentam os valores obtidos de μ_a e μ'_s , respectivamente, para o *phantom* de SEBS. Os espectros dos coeficientes de absorção e espalhamento para phantoms a base de SEBS e PEBD como espalhador óptico em diferentes concentrações é reportado por CABRELLI, Luciana C. *et al*, onde os coeficientes foram calculados a partir da teoria de Kubelka-Munk [37]. Os espectros apresentados no trabalho de CABRELLI, Luciana C. *et al* mostram que tanto μ_a quanto μ'_s diminuem com o comprimento de onda dentro da faixa de 400 a 800 nm. Nota-se que o mesmo comportamento foi obtido com nossa metodologia.

Figura 3.6: Valores de μ_a obtidos para o *phantom* de SEBS quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

Figura 3.7: Valores de μ'_s obtidos para o phantom de SEBS quando empregado o sistema com fontes laser contínua e fotodiodos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

3.2 Laser pulsado

3.2.1 *Phantoms* de poliuretano

A metodologia descrita e a configuração apresentada na figura 2.4 foi aplicada para determinação dos coeficientes para os *phantoms* de poliuretano. Os valores de μ_a e μ'_s foram obtidos para os comprimentos de onda de 680, 700, 750, 830, 800, 850, 900 e 950 nm. Para o *phantom* transparente todas as medidas realizadas resultaram em coeficientes que não convergiram no IAD. O programa retornou uma mensagem de erro informando que as medidas de refletância eram muito pequenas.

Os valores de μ_a e μ'_s obtidos para o *phantom* branco de poliuretano estão apresentados nas figuras 3.8 e 3.9, respectivamente.

Figura 3.8: Valores de μ_a obtidos para o phantom branco de poliuretano quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

Figura 3.9: Valores de μ'_s obtidos para o phantom branco de poliuretano quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

Assim como observado nos resultados empregando as fontes laser contínuas (figuras 3.1 e 3.4), os valores médios de μ_a obtidos para a fonte laser pulsada oscilam e não apresentam uma tendência ao longo do espectro. Note em 900 nm o valor médio de $\mu_a = 0,00232 \pm 0,0079 \text{ mm}^{-1}$ é superior aos demais comprimentos de onda, que é um provável pico de absorção do próprio poliuretano. No trabalho de MOFFITT, Theodore *et al.* foi feita uma análise do poliuretano puro empregando um espectrômetro [36]. O espectro de absorção publicado apresenta um aumento de μ_a entre 880 nm e 900 nm.

Os valores de μ'_s obtidos empregando a fonte laser pulsada decrescem com o comprimento de onda concordando com os resultados obtidos com as fontes laser contínuas (figura 3.5).

3.2.2 *Phantom* de SEBS

Os coeficientes obtidos para o *phantom* de SEBS a partir das medidas empregando luz laser pulsada são apresentados nas figuras 3.10 e 3.11, μ_a e μ'_s , respectivamente. Os valores médios de μ_a e μ'_s , assim como para as fontes laser contínuas, tiveram seus valores diminuídos com o aumento do comprimento de onda. Observa-se o aumento de μ_a em 900 nm, sendo essa uma característica do material [37], uma vez que esse *phantom* não continha componente absorvedor, este é o único comprimento de onda onde era esperado um valor elevado de μ_a .

Figura 3.10: Valores de μ_a obtidos para o phantom de SEBS quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

Figura 3.11: Valores de μ'_s obtidos para o phantom de SEBS quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

Os resultados obtidos para o *phantom* branco de poliuretano e do SEBS empregando as duas fontes para todos os comprimentos de onda são apresentados nas figura 3.12 e 3.13, respectivamente. Observa-se que os valores médios de μ_a para os dois *phantoms* são maiores para a metodologia que empregou o laser pulsado enquanto que os valores médios de μ'_s para os mesmos foram menores. Note também que o erro associado às medidas com o laser pulsado são maiores, isso porque o número de leituras e repetição do experimento foi menor, onde cada etapa do procedimento experimental era realizado pulso a pulso.

Figura 3.12: Média dos valores de μ_a (acima) e μ'_s (abaixo) para o *phantom* branco de poliuretano para as duas configurações experimentais (fotodiodo e transdutor piezoelétrico).

Figura 3.13: Média dos valores de μ_a (acima) e μ'_s (abaixo) para o phantom de SEBS para as duas configurações experimentais (fotodiodo e transdutor piezoelétrico).

3.2.3 Phantom de Gelatina

Os valores de μ_a e μ'_s para o phantom de gelatina com CuSO_4 e TiO_2 são apresentados nas figura 3.14 e 3.15, respectivamente. Note que os valores médios de μ_a apresentam um crescimento gradual com o comprimento de onda (com exceção ao 730 nm) e variam pouco entre 800 nm e 850 nm. Esse resultado concorda com os espectros de CuSO_4 em solução aquosa com diferentes concentrações de CuSO_4 [38] e em gel aquoso [39], onde a região de pico de μ_a para CuSO_4 está em torno de 800 nm. Quanto aos valores obtidos para μ'_s , estes diminuem com o comprimento de onda e apesar de não termos uma referência na literatura para uma amostra com a mesma composição, sabe-se que tanto o CuSO_4 em solução aquosa quanto o TiO_2 em phantoms de poliuretano apresentam um comportamento similar ao apresentado na figura 3.15 [38, 36]. Por se tratar do único phantom analisado neste trabalho que possui juntamente o componente absorvedor e espalhador, este é um resultado importante, pois demonstra que a metodologia empregada é eficiente em determinar os coeficientes de amostras túrbidas, tais como tecido biológico.

Figura 3.14: Valores de μ_a obtidos para o phantom de gelatina com CuSO_4 e TiO_2 , empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

Figura 3.15: Valores de μ'_s obtidos para o phantom de gelatina com CuSO_4 e TiO_2 , quando empregado o sistema com laser pulsado e transdutores piezoelétricos. Acima é mostrado apenas os valores médios enquanto que abaixo todos os pontos experimentais são mostrados juntamente com a média.

DISCUSSÃO

Os valores de μ_a obtidos para os *phantoms* de poliuretano apresentaram flutuações entre $10^{-3}mm^{-1}$ e $10^{-2}mm^{-1}$ tanto quando a luz laser contínua foi empregada (figuras 3.1 e 3.4) quanto a pulsada (figura 3.8). A ausência de um componente absorvedor nesses *phantoms* foi possivelmente a causa dessas flutuações e indicam uma limitação no método IAD para calcular μ_a em amostras com baixa absorção. Essa limitação já havia sido reportada no trabalho de MOFFIT *et al* [40]. Apesar de pouco preciso, os valores de μ_a obtidos para o comprimento de onda de 633 nm estão na mesma ordem de grandeza do valor de referência. Destaca-se que o próprio valor de referência para as duas amostras analisadas varia de $0,0095 mm^{-1}$ para $0,0019 mm^{-1}$ de um *phantom* para outro.

Ainda com relação aos *phantoms* de poliuretano, os valores médios de μ'_s obtidos para o comprimento de onda de 633 nm apresentaram uma diferença percentual de $\approx 21\%$ para o *phantom* transparente e $\approx 35\%$ para o *phantom* branco quando comparados com o valor de referência. É importante ressaltar que as amostras fornecidas não são *phantoms* com valores padrões e que pode ocorrer variações entre a produção das amostras. Sendo assim, ela nos valeu como uma referência. Os valores encontrados pela metodologia apresentada neste trabalho se encontram na mesma ordem de grandeza do valor de referência e a variação em comprimento de onda concorda com a literatura que avalia *phantoms* de poliuretano com TiO_2 como espalhador óptico.

Observa-se que os valores de coeficientes obtidos com a nossa metodologia para o *phantom* de SEBS, ao compararmos com os valores publicados no trabalho de CABRELLI, Luciana C. *et al*, tanto de μ_a quanto de μ'_s obtidos estão

maiores em aproximadamente uma ordem de grandeza. Essa diferença pode ser justificada pela distinção entre os métodos numéricos utilizados para cálculo dos coeficientes, uma vez que para resolver a equação de transporte de fótons a teoria de Kubelka-Munk resolve somente a contribuição da radiação difusa, assumindo que a radiação colimada é nula. Apesar da diferença entre os valores dos coeficientes, o comportamento espectral dos resultados obtidos concorda com o publicado, apresentando também no comprimento de onda de 900 nm um aumento em μ_a (característico do material), confirmando assim que nossa metodologia tem sensibilidade para caracterizar *phantoms* à base de SEBS.

Com relação à obtenção dos coeficientes com fontes contínuas e com a fonte pulsada, apresentados nas figuras 3.12 e 3.13, os resultados de μ_a obtidos empregando o laser pulsado tanto para o *phantom* de poliuretano quanto para o de SEBS, se mostraram maiores em uma ordem de grandeza comparando os comprimentos de onda de 680 nm e 800 nm. Os valores médios obtidos para μ'_s empregando o laser pulsado, para o *phantom* poliuretano, foram menores em 16% para 680 nm e 21% para 800 nm com relação a luz laser contínua. Para o *phantom* de SEBS a diferença foi de 24% e 48% para 680 nm e 800 nm, respectivamente. Note que a comparação para os valores obtidos de μ_a é mais crítica, pois se trata de amostras que não possuem componente absorvedor, e estaríamos trabalhando em uma região inábil para o método IAD. A principal justificativa para a divergência entre os valores médios de μ_a e μ'_s é a diferença entre a instrumentação utilizada (conjunto fonte e detectores).

Os resultados obtidos empregando as fontes contínuas e os fotodiodos apresentaram, em geral, conjunto de valores cuja distribuição não está homogênea, sendo mais evidente para o comprimento de onda de 633 nm (figuras 3.1 - 3.7). Era esperado que, com a normalização feita pela leitura do detector de referência, as flutuações da fonte laser não afetassem as medidas, mas por se tratar de um procedimento experimental relativamente longo, durando cerca de 15 minutos divididos em etapas (figura 2.10), é possível que flutuações eletrônicas tenham contribuído para o resultado. O ruído gerado pela eletrônica empregada na amplificação do sinal dos fotodiodos não é possível de ser eliminado, apenas diminuído, visto que foi adotado como parte da metodologia aguardar cerca de

uma hora e meia a termalização do sistema para iniciar as medidas. Os resultados obtidos empregando a fonte pulsada e os transdutores piezoelétricos (figuras 3.8 - 3.15) também não apresentaram conjuntos de valores com distribuições homogêneas, embora o sistema de aquisição de dados tivesse uma eletrônica mais estável. Uma possível justificativa para este resultado é não ter normalizado as medidas pela energia do pulso de laser corretamente, uma vez que o detector de referência pode não ter diferenciado pulsos com energias próximas.

É importante salientar que os valores de μ_a , μ'_s e g dependem dos valores obtidos de M_R , M_T e M_U , que, por sua vez, são calculados a partir das medidas experimentais exemplificadas na figura 2.10. O ciclo completo de medidas empregando fonte contínua e fotodiodos dura cerca de 20 minutos quando a medida da transmissão colimada é executada e, quando não é possível medi-la, o ciclo dura cerca de 15 minutos. Dessa forma, é essencial que a fonte laser e a eletrônica sejam estáveis, pois flutuações interferem diretamente no valor dos coeficientes, como foi visto nos resultados obtidos para os comprimentos de onda de 533 nm e 633 nm (figuras 3.1 - 3.7) e também nas simulações onde foram variados os valores de M_R e M_T (2.16). Constatou-se também que os valores dos coeficientes variam com a mudança do índice de refração (2.15), sendo que, dentro do intervalo simulado as variações nos coeficiente foram superiores a 10%. Portanto, é de suma importância certificar-se de que o índice de refração informado ao algoritmo está correto.

Uma conduta que produziria o mínimo de interferência da eletrônica nos procedimentos experimentais é reduzir o tempo do experimento. Para isso, basta adquirir um menor número de leituras dos fotodiodos por medida. Tal procedimento não foi feito neste trabalho, pois nosso objetivo também era testar a reprodutibilidade do sistema. Com relação à exatidão, o próximo passo é adquirir e medir *phantoms* calibrados por um sistema comercial. Essa medida validará o sistema e permitirá que utilizemos tal metodologia para caracterizar diversas amostras de interesse tais como *phantoms* utilizados em aplicações biomédicas e tecidos biológicos. Com a caracterização óptica destas amostras será possível explorar e expandir a pesquisa em dosimetria óptica, a fim de validar e estabelecer protocolos clínicos que otimizem tratamentos, técnicas e dispositivos que fazem uso da radiação óptica na medicina.

CONCLUSÃO

O Sistema implementado mostrou-se capaz de determinar os coeficientes das amostras empregadas neste trabalho. Algumas limitações, porém, foram observadas com relação às amostras que possuem baixa absorção. Uma maior gama de amostras com diferentes concentrações de absorvedores deve ser analisada para definir um limite inferior em que o sistema é eficiente para determinar coeficientes de absorção. O sistema se mostrou eficiente para determinar os coeficientes de espalhamento reduzido, de forma que os espectros obtidos concordam com resultados obtidos em outros trabalhos. Para obter o fator de anisotropia das amostras é essencial a medida da transmissão colimada e este trabalho mostrou que esta medida fica limitada a amostras que espalhem pouco, ou que seja possível empregar amostras altamente espalhadoras, mas com espessuras delgadas para permitir a medida da transmissão colimada.

REFERÊNCIAS¹

- [1] YUST, B. G.; MIMUN, L. C.; SARDAR, D. K. Optical absorption and scattering of bovine cornea, lens, and retina in the near-infrared region. *Lasers in medical science*, Springer, v. 27, n. 2, p. 413–422, 2012.
- [2] BASHKATOV, A. et al. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm. *Journal of Physics D: Applied Physics*, IOP Publishing, v. 38, n. 15, p. 2543, 2005.
- [3] BASHKATOV, A. N.; GENINA, E. A.; TUCHIN, V. V. Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, World Scientific, v. 4, n. 01, p. 9–38, 2011.
- [4] POULON, F. et al. Optical properties, spectral, and lifetime measurements of central nervous system tumors in humans. *Scientific reports*, Nature Publishing Group, v. 7, n. 1, p. 13995, 2017.
- [5] WILSON, B.; PATTERSON, M.; FLOCK, S. Indirect versus direct techniques for the measurement of the optical properties of tissues. *Photochemistry and photobiology*, Wiley Online Library, v. 46, n. 5, p. 601–608, 1987.
- [6] CHEONG, W.-F.; PRAHL, S. A.; WELCH, A. J. A review of the optical properties of biological tissues. *IEEE journal of quantum electronics*, IEEE, v. 26, n. 12, p. 2166–2185, 1990.
- [7] ISHIMARU, A. Diffusion of light in turbid material. *Applied optics*, Optical Society of America, v. 28, n. 12, p. 2210–2215, 1989.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

-
- [8] NIEMZ, M. H. et al. Light and matter. In: _____. *Laser-tissue interactions*. [S.l.]: Springer, 2007. v. 3, p. 9–44.
- [9] TUCHIN, V. Optical properties of tissues with strong (multiple) scattering. In: _____. *Tissue optics: light scattering methods and instruments for medical diagnosiss*. [S.l.]: SPIE press Bellingham, 2007. v. 2, p. 3–256.
- [10] MATCHER, S.; COPE, M.; DELPY, D. In vivo measurements of the wavelength dependence of tissue-scattering coefficients between 760 and 900 nm measured with time-resolved spectroscopy. *Applied Optics*, Optical Society of America, v. 36, n. 1, p. 386–396, 1997.
- [11] WILSON, B. C.; JACQUES, S. L. Optical reflectance and transmittance of tissues: principles and applications. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, IEEE, v. 26, n. 12, p. 2186–2199, 1990.
- [12] LEMAILLET, P. et al. Double-integrating-sphere system at the national institute of standards and technology in support of measurement standards for the determination of optical properties of tissue-mimicking phantoms. *Journal of biomedical optics*, International Society for Optics and Photonics, v. 20, n. 12, p. 121310, 2015.
- [13] TUCHIN, V. Tissue optics and photonics: Light-tissue interaction ii. *Journal of Biomedical Photonics and Engineering*, v. 2, n. 3, p. 030201, 2016.
- [14] ECE532 BIOMEDICAL OPTICS. *Reduced scattering coefficient*. Disponível em: <<https://omlc.org/classroom/ece532/class3/musp.html>>. Acesso em: 20 jun. 2019.
- [15] PRAHL, S. A.; GEMERT, M. J. van; WELCH, A. J. Determining the optical properties of turbid media by using the adding–doubling method. *Applied optics*, Optical Society of America, v. 32, n. 4, p. 559–568, 1993.
- [16] OMLC. *Inverse Adding-Doubling Software*. Disponível em: <<https://omlc.org/software/iad/index.html>>. Acesso em: 20 jun. 2019.

-
- [17] HULST, H. C. *A new look at multiple scattering*. [S.l.]: NASA Institute for Space Studies, Goddard Space Flight Center, 1963.
- [18] PRAHL, S. The adding-doubling method. In: _____. *Optical-thermal response of laser-irradiated tissue*. [S.l.]: Springer, 1995. v. 1, p. 101–129.
- [19] PRAHL, S. Everything i think you should know about inverse adding-doubling. *Oregon Medical Laser Center, St. Vincent Hospital*, p. 1–74, 2011.
- [20] KARA, E.; ÇILESIZ, İ.; GuLSOY, M. Monitoring system for investigating the effect of temperature change on optical properties. *Lasers in medical science*, Springer, v. 33, n. 8, p. 1763–1768, 2018.
- [21] HOHMANN, M. et al. Measurement of optical properties of pig esophagus by using a modified spectrometer set-up. *Journal of biophotonics*, Wiley Online Library, v. 11, n. 1, p. e201600187, 2018.
- [22] MONEM, S. et al. Study of the optical properties of solid tissue phantoms using single and double integrating sphere systems. *Applied Physics B*, Springer, v. 121, n. 3, p. 265–274, 2015.
- [23] MORALES-CRUZADO, B. et al. Study of the effect introduced by an integrating sphere on the temporal profile characterization of short laser pulses propagating through a turbid medium. *Applied optics*, Optical Society of America, v. 54, n. 9, p. 2383–2390, 2015.
- [24] KIRIS, T. et al. Optical characterization of pancreatic normal and tumor tissues with double integrating sphere system. In: INTERNATIONAL SOCIETY FOR OPTICS AND PHOTONICS. *Optical Interactions with Tissue and Cells XXVI*. [S.l.], 2015. v. 9321, p. 932116.
- [25] JACQUEZ, J. A.; KUPPENHEIM, H. F. Theory of the integrating sphere. *JOSA*, Optical Society of America, v. 45, n. 6, p. 460–470, 1955.
- [26] GOEBEL, D. G. Generalized integrating-sphere theory. *Applied Optics*, Optical Society of America, v. 6, n. 1, p. 125–128, 1967.

- [27] PICKERING, J. W. et al. Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue. *Applied optics*, Optical Society of America, v. 32, n. 4, p. 399–410, 1993.
- [28] LEMAILLET, P.; BOUCHARD, J.-P.; ALLEN, D. W. Development of traceable measurement of the diffuse optical properties of solid reference standards for biomedical optics at national institute of standards and technology. *Applied optics*, Optical Society of America, v. 54, n. 19, p. 6118–6127, 2015.
- [29] HAN, Y. et al. Optical characterization of tissue mimicking phantoms by a vertical double integrating sphere system. In: INTERNATIONAL SOCIETY FOR OPTICS AND PHOTONICS. *Design and Quality for Biomedical Technologies IX*. [S.l.], 2016. v. 9700, p. 97000A.
- [30] AERNOUTS, B. et al. Supercontinuum laser based optical characterization of intralipid® phantoms in the 500-2250 nm range. *Optics express*, Optical Society of America, v. 21, n. 26, p. 32450–32467, 2013.
- [31] ZAMORA-ROJAS, E. et al. Optical properties of pig skin epidermis and dermis estimated with double integrating spheres measurements. *Innovative food science & emerging technologies*, Elsevier, v. 20, p. 343–349, 2013.
- [32] PARALLAX INC. *PLX-DAQ* / *Parallax Inc.* Disponível em: <<https://www.parallax.com/downloads/plx-daq>>. Acesso em: 08 jul. 2019.
- [33] TIKHONOV, E.; IVASHKIN, V.; LJAMEC, A. Reflection refractometry for nearly normal incidence and at the brewster angle. *Journal of Applied Spectroscopy*, Springer, v. 79, n. 1, p. 148–156, 2012.
- [34] SHANKOFF, T. Phase holograms in dichromated gelatin. *Applied Optics*, Optical Society of America, v. 7, n. 10, p. 2101–2105, 1968.
- [35] CAMEO. *Gelatin* - *CAMEO*. Disponível em: <<http://cameo.mfa.org/wiki/Gelatin>>. Acesso em: 27 jun. 2019.

-
- [36] MOFFITT, T. P.; CHEN, Y.-C.; PRAHL, S. A. Preparation and characterization of polyurethane optical phantoms. *Journal of Biomedical Optics*, International Society for Optics and Photonics, v. 11, n. 4, p. 041103, 2006.
- [37] CABRELLI, L. C. et al. Oil-based gel phantom for ultrasound and optical imaging. In: INTERNATIONAL SOCIETY FOR OPTICS AND PHOTONICS. *Biophotonics South America*. [S.l.], 2015. v. 9531, p. 95310L.
- [38] FONSECA, M. B.; AN, L.; COX, B. T. Sulfates as chromophores for multiwavelength photoacoustic imaging phantoms. *Journal of Biomedical Optics*, International Society for Optics and Photonics, v. 22, n. 12, p. 125007, 2017.
- [39] LAUFER, J.; ZHANG, E.; BEARD, P. Evaluation of absorbing chromophores used in tissue phantoms for quantitative photoacoustic spectroscopy and imaging. *IEEE journal of selected topics in quantum electronics*, IEEE, v. 16, n. 3, p. 600–607, 2010.
- [40] MOFFITT, T. P. Compact Fiber-Optic Diffuse Reflection Probes for Medical Diagnostics. *PhD Thesis, Western Washington University*, 2007.