Universidade de São Paulo
Instituto de Física de São Carlos

Thereza Cury Fortunato

*Imagens de refletância difusa para detecção de
inclusões absorvedoras em meio espalhador*

São Carlos

2016

Thereza Cury Fortunato

*Imagens de refletância difusa para detecção de
inclusões absorvedoras em meio espalhador*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestra em Ciências.

Área de Concentração: Física Aplicada
Orientadora: Dr^a. Lilian Tan Moriyama

Versão Corrigida
(versão original disponível na Unidade que aloja o Programa)

São Carlos

2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica revisada pelo Serviço de Biblioteca e Informação do IFSC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Fortunato, Thereza Cury

Imagens de refletância difusa para detecção de
inclusões absorvedoras em meio espalhador / Thereza
Cury Fortunato; orientadora Lilian Tan Moriyama -
versão corrigida -- São Carlos, 2016.

90 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Física Aplicada) -- Instituto de Física de São Carlos,
Universidade de São Paulo, 2016.

1. Refletância difusa. 2. Meios túrbidos. 3.
Distribuição de luz. 4. Óptica biomédica. I. Moriyama,
Lilian Tan, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, por ter me guiado em toda essa jornada, estando do meu lado em todos os momentos, tanto os mais difíceis quanto nos mais fáceis, me incentivando sempre a seguir meu sonho. Ao meu pai por me mostrar a importância do estudo em nossas vidas. Aos meus cachorros que me acompanharam nos estudos me alegrando Baco, Teka e Pandora.

Aos meus avós Nilo, Odília, Tita e Sebastião por me mostrarem que é necessário ter garra, fé, resiliência, paciência nessa vida para ter êxito em nossos projetos. Aos meus tios, tias e primos pelo apoio e incentivo constantes.

Ao meu namorado André, que sempre esteve ao meu lado me ajudando desde a faculdade até agora, dando apoio emocional e acadêmico tirando minhas dúvidas de física e programação, entre outras. Agradeço também a sua família, que me acolheu e fez meu tempo de descanso mais agradável.

Aos meus amigos e irmãos de coração que durante a minha faculdade, que e me acompanham até hoje, Paulo Matias, Cabeça (José), Pé de Pano (Vinícius), Krissia e Velma (Jéssica), que me apoiaram e incentivaram a estar aqui hoje.

Aos técnicos do laboratório de ensino, Bretas, Marcão, Daniele e Antenor, que nos mostraram que a ciência se faz com cooperação entre as pessoas. Aos apoios acadêmicos Edvane e Isabel na minha graduação e Ricardo, Patrícia e Sílvia na pós-graduação e às secretárias do grupo de óptica, que nos dão apoio nas burocracias necessárias.

Agradeço aos colegas do laboratório que me ensinaram e me acompanharam nos meus primeiros passos na ciência, Mirian, Cintia, Didi, Clóvis e Sebastião. Ao Ramon e Leandro que me ajudaram com as adaptações necessárias para a minha montagem experimental. Aos colegas de sala e laboratório que deixam meus dias mais alegres, Fernanda, Bruno, Antônio, Fábio Jr., Larissa, Ramon, Hilde, Paulinha, Renan, Amanda, Kate, Thaila, Marciana, Vitor, Michelle e Marcelo.

A todos os meus professores, desde o ensino básico até a graduação e ao Colégio Maxi que fez a minha vontade de estudar crescer e se fortalecer.

Aos professores Cristina e Vanderlei que me orientaram desde minha iniciação até o mestrado ajudando e orientando com excelentes ideias e proveitosas discussões.

Ao Grupo de Óptica “Milton Ferreira de Souza” e CEPOF pelo apoio estrutural e financeiro e ao IFSC pela estrutura de apoio e ensino em especial para a Oficina de Óptica que fizeram um excelente trabalho no corte das amostras utilizadas.

Por fim, e mais importante, a minha orientadora Lili, que aceitou estar comigo na minha jornada de mestrado, e que sempre esteve presente me guiando, cobrando e, acima de tudo, incentivando a fazer o que gosto, mostrando que ciência se faz com vontade e dedicação.

Quando se sonha sozinho é apenas um sonho. Quando se sonha juntos é o começo da realidade.

Cervantes

RESUMO

FORTUNATO, T. C. *Imagens de refletância difusa para detecção de inclusões absorvedoras em meio espalhador*. 2016. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

Dentre as diversas aplicações da luz em nosso dia-a-dia, as ligadas à área biomédica merecem destaque e são frequentemente objetos de pesquisa tanto para o desenvolvimento quanto para o aprimoramento de técnicas para o diagnóstico e terapias. Os tecidos biológicos são, em sua maioria, estruturas complexas, não-homogêneas e opticamente muito espalhadoras. Apesar das centenas de estudos existentes acerca da propagação da luz em tecidos biológicos, sua complexidade exige que novos estudos sejam conduzidos a fim de aprimorar o conhecimento já existente, que ainda apresenta muitas lacunas. A presença de heterogeneidades nos tecidos (vasos sanguíneos, hematomas, cistos, tumores e outras alterações macroscópicas) mudam a propagação da luz e dificultam a previsibilidade do seu comportamento por modelos matemáticos. O presente trabalho teve por objetivo estabelecer um método empírico que utiliza imagens de refletância difusa obtidas através de uma instrumentação simples, baseada em uma fonte de luz contínua no visível (laser de diodo em 660 nm) e uma câmera CMOS monocromática, para verificar a possibilidade de localização de inclusões absorvedoras embebidas em *phantoms* altamente espalhadores. Foi avaliada a capacidade de detectar inclusões de dois diferentes tipos de materiais em diversas geometrias e tamanhos, posicionadas em diferentes profundidades. O ângulo de incidência do feixe laser também foi variado, bem como a distância entre a fonte e o objeto, a fim de avaliar quais as melhores condições experimentais. Os resultados obtidos mostraram que os objetos puderam ser detectados, e suas formas puderam ser satisfatoriamente recuperadas através de um algoritmo desenvolvido para o processamento das imagens. Em algumas situações, mesmo para a maior profundidade utilizada, que foi de 20 mm, a inclusão pôde ser detectada nas imagens de refletância difusa processadas. Apesar da capacidade de detecção das formas geométricas representar um avanço com relação às possibilidades de identificação de estruturas em meios túrbidos, a determinação da profundidade ainda é um desafio a ser superado.

Palavras-chave: Refletância difusa. Meios túrbidos. Distribuição de luz. Óptica biomédica.

ABSTRACT

FORTUNATO, T. C. *Diffuse reflectance images to detect absorbing inclusions in scattering media*. 2016. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

Among the various applications of light in our daily life, those connected with biomedicine should be highlighted and are frequently subject of researches aiming for the development and for the enhancement of techniques for diagnosis and therapy. Biological tissues are mostly complex, non-homogeneous and optically highly scattering structures. Despite the hundreds of existent studies on the propagation of light in biological tissues, its complexity requires new studies to be conducted in order to improve the existing knowledge, which still has many gaps. The presence of heterogeneities in tissue (blood vessels, bruises, cysts, tumors and other macroscopic alteration) changes the light propagation and impedes the predictability of its behavior by mathematical models. This work aimed to establish an empirical method using diffuse reflectance images acquired with simple instrumentation, based on a source of continuous light in the visible (diode laser at 660 nm) and a monochromatic CMOS camera, to check the possibility of the location of absorbing inclusions embedded in highly scattering phantoms. The ability to detect inclusions of two different kinds of materials in different sizes and geometries, positioned at different depths were evaluated. The laser beam angle of incidence was also varied, as well as the distance between the source and the object, in order to evaluate the best experimental conditions. The results showed that the objects could be detected, and their shapes might be satisfactorily recovered by an algorithm developed for image processing. In some situations, even at the greatest depth used, which was 20 mm, the inclusion could be detected in diffuse reflectance processed images. Although the detection capability of geometric shapes represents an improvement over the structures of identification possibilities in turbid media, the determination of depth is still a challenge to be overcome.

Keywords: Diffuse reflectance. Turbid media. Light distribution. Biomedical optics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Geometria de reflexão especular e refração.	24
Figura 1.2 - Espectros de absorção da água, hemoglobina, oxi-hemoglobina e melamina, com indicação da "Janela óptica" entre 600 e 1300 nm.	25
Figura 1.3 - Feixe de luz incidindo sobre uma partícula de seção de choque geométrica A, sendo espalhado por uma seção de choque efetiva σ_s	26
Figura 1.4 - Relação das estruturas com seus respectivos tamanhos e regime de espalhamento para luz no comprimento visível.	27
Figura 1.5 - Digrama do funcionamento do método de Monte Carlo para cada fóton.	33
Figura 2.1 - A distribuição espacial da luz é fortemente alterada devido a presença do vaso, quando um feixe de laser incide próximo (imagem à esquerda) ou sobre um vaso sanguíneo (imagem à direita).	37
Figura 3.1 - Dimensões e geometria do recipiente utilizado nos experimentos com <i>phantom</i>	39
Figura 3.2 - Espectros da luz transmitida para soluções com diferentes concentrações de nanquim.	40
Figura 3.3 - Gráfico da luz transmitida em função da concentração de nanquim para os comprimentos de onda de 660 e 780 nm.	40
Figura 3.4 - Esquema do sistema de espectroscopia utilizado para as medidas da luz refletida pela superfície do EVA.	41
Figura 3.5 - Comparação da refletância do EVA com um espelho de 100% de reflexão no comprimento de onda de 660 nm.	42
Figura 3.6 - Geometria e dimensões dos objetos em EVA	42
Figura 3.7 - Espectro de transmissão do filtro óptico.	43
Figura 3.8 - Geometria e dimensões dos objetos feitos do filtro óptico no visível.	43
Figura 3.9 - Imagem do laser utilizado com a adaptação feita para colimar o feixe e variar o ângulo de incidência.	44

Figura 3.10 -Esquema da montagem experimental.	44
Figura 3.11 -Potência em função da posição para obtenção das dimensões do feixe. .	45
Figura 3.12 -Sensibilidade do sensor para diferentes comprimentos de onda	46
Figura 3.13 -Imagens da câmera e polarizador usados.	46
Figura 3.14 -Exemplo de imagem utilizada para a obtenção do fator de escala pixel para mm.	47
Figura 3.15 -Esquema da variação da distância fonte-objeto.	48
Figura 3.16 -Esquema do método utilizado para a remoção da região de saturação. .	49
Figura 3.17 -Diagrama do processamento das imagens utilizado.	50
Figura 4.1 - Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio sem heterogeneidade, ou seja, controle.	53
Figura 4.2 - Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um disco de 9,8 mm de diâmetro na profundidade de 10 mm.	53
Figura 4.3 - Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um disco de 5,65 mm de diâmetro na profundidade de 10 mm.	54
Figura 4.4 - Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um elipsoide com o seu eixo maior na direção x na profundidade de 10 mm.	54
Figura 4.5 - Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um elipsoide com o seu eixo maior na direção y na profundidade de 10 mm.	54
Figura 4.6 - Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro do disco (9,8 mm de diâmetro) na coordenada x para as diferentes profundidades.	55
Figura 4.7 - Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro do disco (5,65 mm de diâmetro) na coordenada x para as diferentes profundidades.	55

Figura 4.8 - Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro da elipse (eixo maior em x) na coordenada x para as diferentes profundidades.	56
Figura 4.9 - Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro da elipse (eixo maior em y) na coordenada x para as diferentes profundidades.	56
Figura 4.10 -Subtração das imagens com absorvedor pelo controle para o disco de 9,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) h=10mm, (b) h=15mm e (c) h=20mm.	57
Figura 4.11 -Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm ² para o disco de 9,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) h=10mm, (b) h=15mm e (c) h=20mm.	58
Figura 4.12 -Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm ² para o disco de 5,65 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) h=10mm, (b) h=15mm e (c) h=20mm.	59
Figura 4.13 -Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm ² para a elipse com o seu eixo maior na direção x em diferentes profundidades, na figura (a) h=10mm, (b) h=15mm e (c) h=20mm.	60
Figura 4.14 -Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm ² para a elipse com o seu eixo maior na direção y em diferentes profundidades, na figura (a) h=10mm, (b) h=15mm e (c) h=20mm.	61

Figura 4.15 -Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de disco de 9,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades.	62
Figura 4.16 -Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de disco de 5,65 mm de diâmetro em diferentes profundidades.	62
Figura 4.17 -Visão tridimensional das bordas obtidas da alteração da refletância. Na figura (a) temos o formato do disco de 9,8 mm de diâmetro e na (b) o formato de disco de 5,65 mm de diâmetro.	63
Figura 4.18 -Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de elipse posicionada de forma em o raio maior esta posicionado no eixo X para diferentes profundidades.	63
Figura 4.19 -Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de elipse posicionada de forma em o raio maior esta posicionado no eixo Y para diferentes profundidades.	64
Figura 4.20 -Visão tridimensional das bordas obtidas da alteração da refletância. Na figura (a) a elipse se encontra com seu eixo maior na direção X e na (b) com o seu eixo maior na direção Y.	64
Figura 4.21 -Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um disco de 9,8 mm de diâmetro na profundidade de 10 mm.	65
Figura 4.22 -Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um disco de 7,8 mm de diâmetro na profundidade de 10 mm.	65

Figura 4.23 -Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão do quadrado na profundidade de 10 mm.	66
Figura 4.24 -Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro do disco (9,8 mm de diâmetro) na coordenada x para as diferentes profundidades.	67
Figura 4.25 -Perfil de intensidade pela coordenada x para a região relativa ao centro do disco (9,8 mm de diâmetro) na coordenada y para as diferentes profundidades.	67
Figura 4.26 -Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o disco de 9,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) $h=10\text{mm}$, (b) $h=15\text{mm}$ e (c) $h=20\text{mm}$	68
Figura 4.27 -Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o disco de 7,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) $h=10\text{mm}$, (b) $h=15\text{mm}$ e (c) $h=20\text{mm}$	69
Figura 4.28 -Esquema da variação da propagação da luz conforme há a variação do ângulo de incidência, sendo que o caso (a) tem um ângulo de incidência maior que o caso (b).	70
Figura 4.29 -Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o quadrado em diferentes profundidades, na figura (a) $h=10\text{mm}$, (b) $h=15\text{mm}$ e (c) $h=20\text{mm}$	71
Figura 4.30 -Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de disco de 9,8 cm de diâmetro em diferentes profundidades.	72

Figura 4.31 -Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de disco de 7,8 cm de diâmetro em diferentes profundidades.	72
Figura 4.32 -Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de quadrado em diferentes profundidades.	73
Figura 4.33 -Gráfico da relação área calculada/área real pela profundidade.	73
Figura 4.34 -Visão tridimensional das bordas obtidas da alteração da refletância. Na figura (a) temos o formato do disco de 9,8 mm de diâmetro, na (b) o formato de disco de 7,8 mm de diâmetro e na (c) temos o quadrado. .	74
Figura 4.35 -Visualização em coordenadas polares das bordas normalizadas obtidas no processamento para o formato de disco com 7,8 mm de diâmetro. .	75
Figura 4.36 -Visualização em coordenadas polares das bordas normalizadas obtidas no processamento para o formato de disco com 9,8 mm de diâmetro. .	76
Figura 4.37 -Visualização em coordenadas polares das bordas obtidas normalizadas no processamento para o formato de quadrado.	76
Figura 4.38 -Delineamento da inclusão absorvedora (disco em filtro óptico de 9,8 mm de diâmetro) com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 após processamento de imagens, para $\alpha = 55^\circ$, para as diferentes distâncias fonte-objeto (r).	78
Figura 4.39 -Delineamento da inclusão absorvedora (disco em filtro óptico de 9,8 mm de diâmetro) com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 após processamento de imagens, para $\alpha = 40^\circ$, para as diferentes distâncias fonte-objeto (r).	78
Figura 4.40 -Perfil da distribuição de luz para o caso controle para os diferentes ângulos de incidência.	80
Figura 4.41 -Perfil da distribuição de luz para o caso em que a inclusão é disco de 9,8 mm de diâmetro feito de filtro óptico para os diferentes ângulos de incidência.	80

Figura 4.42 -Processamento da subtração pelo controle com ajuste de intensidade para o disco de 9,8 mm de diâmetro.	80
Figura 4.43 -Perfil de intensidade da luz pelo eixo y na região em que a inclusão se encontra para a imagem resultante da soma dos ângulos de incidência em escala logaritma em y.	81
Figura 5.1 - Esquema do processamento proposto.	84

LISTA DE ACRÔNIMOS

LED - Diodo emissor de luz

CCD - Dispositivo de Carga Acoplada

CMOS - Semicondutor de Metal-Óxido Complementar

EVA - Etileno Acetato de Vinila

SUMÁRIO

1	Introdução	23
1.1	Comportamentos ópticos em tecidos biológicos	23
1.1.1	Absorção	24
1.1.2	Espalhamento	26
1.2	Meio turbido	28
1.3	Equação de transporte radiativo	30
1.3.1	Aproximação por difusão	31
1.3.2	Simulação de Monte Carlo	32
1.4	Reflexão difusa e suas aplicações	34
1.5	Aquisição e processamentos de imagens	34
2	Motivação e objetivos	37
3	Material e Métodos	39
3.1	<i>Phantom</i>	39
3.2	Simulação de heterogeneidades	41
3.2.1	EVA	41
3.2.2	Filtro óptico no visível	42
3.3	Fonte de luz	43
3.4	Aquisição das imagens	45
3.5	Medidas experimentais realizadas	47
3.5.1	EVA	47
3.5.2	Filtro Óptico	48
3.6	Métodos de aquisição	48

3.7	Processamento das imagens	49
3.7.1	Processamento individual	49
3.7.2	Reconstrução Tridimensional	51
4	Resultados e Discussões	53
4.1	Imagens de refletância difusa de <i>phantom</i> espalhador com inclusão parcialmente absorvedora	53
4.2	Imagens de reflectância difusa de <i>phantom</i> espalhador com inclusão totalmente absorvedora	65
4.2.1	Estudo da influência da profundidade para diferentes ângulos de incidência . .	65
4.2.2	Estudo da influência da distância da fonte de luz ao objeto para diferentes ângulos de incidência	77
4.3	Objeto predominantemente absorvedor em <i>phantom</i> túrbido	79
5	Conclusão	83
	REFERÊNCIAS	87

CAPÍTULO 1

Introdução

A luz tem inúmeras aplicações em nosso dia a dia, desde a visualização de objetos até as mais avançadas tecnologias, expandindo a capacidade do homem de indagar a Natureza sobre seu funcionamento. Na era moderna, grandes avanços foram feitos com o uso da luz, particularmente com o advento de fontes de luz de alta monocromaticidade, como dispositivos a laser e diodos emissores de luz (LED, do inglês light-emitting diodes); particularmente, a área de medicina recebeu grandes benefícios. Dentre as aplicações em saúde, podemos destacar o tratamento de lesões, a aceleração de cicatrização, a intensificação de metabolismo, a analgesia, e as técnicas de diagnósticos point-of-care (ambulatorial) cada vez menos invasivos.(1)

Todo este desenvolvimento torna extremamente importante o entendimento dos mecanismos de interação da luz com os tecidos biológicos, os quais são meios de alta turbidez óptica, pois este entendimento permite prever e, em determinadas condições, controlar os parâmetros dessa interação. Neste sentido, os modelos teóricos existentes são boas aproximações, mas dependem de um grande número de variáveis e tem um alto custo computacional e de tempo para sua aplicação. Por isso, abordagens empíricas apresentam potencial relevante para contribuir com a criação e aperfeiçoamento destes modelos quanto à previsão das interações luz-tecido biológico. Com isso, é possível contribuir com o desenvolvimento das técnicas ópticas existentes, em especial para o diagnóstico e tratamento de doenças, e este estudo pretende, portanto, explorar as possibilidades de avaliação empírica destas interações.

1.1 Comportamentos ópticos em tecidos biológicos

A luz pode ser descrita de duas formas: com base em seu comportamento como onda eletromagnética (pelas equações de Maxwell) ou como partícula (pela teoria quântica). Dizemos então que a luz é uma entidade quântica que tem comportamento dual onda-partícula.(2)

Quando um feixe de luz atinge um material homogêneo e transparente, podem ocorrer dois fenômenos principais: a reflexão especular e a refração, conforme figura 1.1.

Figura 1.1 – Geometria de reflexão especular e refração.

Fonte: Elaborada pela autora.

Esses fenômenos são bem conhecidos e têm seus comportamentos descritos pelas leis de reflexão e de Snell (equações 1.1), onde θ e θ' são respectivamente os ângulos de incidência (e reflexão) e refração, n_1 é o índice de refração do meio de incidência, e n_2 é o índice de refração do meio em que a luz é refratada.(3)

$$\begin{aligned}\theta_{\text{incidente}} &= \theta = \theta_{\text{refletido}} \\ n_1 \sin(\theta) &= n_2 \sin(\theta')\end{aligned}\tag{1.1}$$

Além das interações de superfície, no interior de um material podem ocorrer outros dois tipos de interações: absorção e espalhamento. Os tecidos biológicos são meios heterogêneos, e no seu interior acontecem esses dois tipos de interações, por isso são chamados de meios túrbidos.

1.1.1 Absorção

A absorção ocorre quando a onda eletromagnética, com uma certa frequência, atinge um átomo com igual frequência de transição eletrônica, ou seja, os elétrons absorverão a energia da onda incidente para realizarem uma transição entre estados eletrônicos.(4)

Para a descrição desse fenômeno, duas leis comumente são usadas: de Lambert e de Beer que são expressas pelas equações 1.2 e 1.3, respectivamente,

$$I(z) = I_0 e^{-\mu_a z}\tag{1.2}$$

$$I(z) = I_0 e^{-k' cz}\tag{1.3}$$

onde z é o eixo em que a luz se propaga, $I(z)$ a intensidade na posição z , I_0 a intensidade da

luz incidente, μ_a o coeficiente de absorção do meio, c a concentração de partículas absorvedoras e k' depende de fatores internos do meio que não são função da concentração. As duas leis descrevem o mesmo fenômeno de forma semelhante, então chamamos a união das duas de *Lei de Lambert-Beer*.(5)

Tomando o logaritmo da equação 1.2, temos

$$z = \frac{1}{\mu_a} \ln \frac{I_0}{I(z)}. \quad (1.4)$$

O inverso do coeficiente de absorção μ_a é chamado de comprimento de absorção L :

$$L = \frac{1}{\mu_a}, \quad (1.5)$$

que nos dá a distância em que uma intensidade $I(L)$ decai a $\frac{I_0}{e}$. Em um tecido biológico há a presença de água e outras moléculas orgânicas que são estruturas absorvedoras e são chamadas de cromóforos. Na figura 1.2 temos absorbância $\left(-\log_{10} \frac{I}{I_0}\right)$ em função do comprimento de onda. Dele, obtemos que as moléculas de água absorvem na região do infravermelho, enquanto a maior parte das estruturas biológicas (melanossomas, sangue, epiderme entre outras) absorvem no visível.

Figura 1.2 – Espectros de absorção da água, hemoglobina, oxi-hemoglobina e melanina, com indicação da "Janela óptica" entre 600 e 1300 nm.

Fonte: Adaptada de HUANG. (6)

Observa-se então que a região de 600 nm a 1300 nm corresponde à menor absorção. Esse intervalo é definido como “janela óptica biológica” ou “janela terapêutica” (7), pois fontes de luz nesse comprimento de onda tendem a ter maior penetração em meios biológicos, o que os torna ideal para o uso em terapias e diagnósticos.

1.1.2 Espalhamento

Considera-se que ocorre o espalhamento quando a onda eletromagnética incidente tem uma frequência diferente da frequência de transição de uma certa estrutura atômica ou molecular, possibilitando o redirecionamento da luz incidente. A figura 1.3 mostra um esquema geral do processo de espalhamento.(4)

Figura 1.3 – Feixe de luz incidindo sobre uma partícula de seção de choque geométrica A , sendo espalhado por uma seção de choque efetiva σ_s .

Fonte: PRAHL. (8)

A figura 1.3 mostra a existência de duas seções de choques utilizadas para descrever esse fenômeno, a geométrica e a efetiva. A seção de choque geométrica corresponde ao espaço ocupado pela estrutura, e a efetiva descreve o efeito de espalhamento resultante da interação, sendo definida como:

$$\sigma_s = Q_s A,$$

sendo A a seção de choque geométrica e Q_s um parâmetro adimensional relacionado à eficiência do espalhamento. Assim, para um meio com múltiplas estruturas espalhadoras, define-se o coeficiente de espalhamento (μ_s) como sendo a densidade volumétrica de partículas espalhadoras (ρ_s) multiplicada pela seção de choque efetiva (σ_s) do espalhamento, conforme a equação 1.6.(8)

$$\mu_s = \rho_s \sigma_s \quad (1.6)$$

Esse espalhamento poderá ocorrer por meio de dois tipos de processo: elástico e inelástico. No primeiro, a energia do processo é conservada, enquanto que no segundo esse fato não ocorre. Para o caso onde estuda-se a interação da luz com estruturas de tecido biológico, é importante analisar dois regimes de espalhamento elástico, conhecidos por espalhamentos Rayleigh e Mie. A diferença entre eles está no tamanho da partícula espalhadora, ou seja, o seu regime de vigência depende das características das estruturas espalhadoras. A figura 1.4 mostra alguns exemplos relacionados a estruturas biológicas para a luz no intervalo de comprimento de onda visível.

Figura 1.4 – Relação das estruturas com seus respectivos tamanhos e regime de espalhamento para luz no comprimento visível.

Fonte: Adaptada de PRAHL (9).

No espalhamento Rayleigh a intensidade da luz é proporcional a λ^{-4} , enquanto no espalhamento Mie essa dependência é bem maior, $\sim \lambda^{-x}$, com $0,4 \leq x \leq 0,5$. Outra diferença de comportamento é que no caso Mie os fótons são espalhados preferencialmente para frente, enquanto no Rayleigh existe uma proporção com dependência $1 + \cos(\theta)^2$, espalhando igualmente para frente e para trás.(4)

É conhecido que em tecidos biológicos, os fótons têm seu espalhamento ocorrendo preferencialmente para frente, o que não é explicado pela teoria de Rayleigh. Entretanto, a dependência da intensidade com o comprimento de onda é maior do que a prevista por Mie. Assim, podemos dizer que nenhuma das teorias descrevem por si só, de fato, o espalhamento em tecidos biológicos.(10)

Uma quantidade conveniente de se definir é função probabilidade $p(\theta)$ de um fóton a ser espalhado na direção θ , que pode ser obtida experimentalmente. Se for independente de θ , dizemos que o meio é isotrópico. Caso contrário, o meio é chamado anisotrópico.

Em coordenadas polares o coeficiente de anisotropia, denominado g , é definido pela média do $\cos(\theta)$,

$$g = \frac{\int_{4\pi} p(\theta) \cos(\theta) d\Omega}{\int_{4\pi} p(\theta) d\Omega}, \quad (1.7)$$

onde $d\Omega = \sin(\theta) d\theta d\Phi$ é o elemento de ângulo sólido e g pode assumir os valores 1 (puramente para frente), 0 (isotrópico) e -1 (puramente para trás).

Em tecidos biológicos, esse coeficiente apresenta valores dentro do intervalo $[0, 7; 0, 9]$, o que corresponde a ângulos de espalhamentos no intervalo $[8^\circ; 45^\circ]$.⁽¹¹⁾ A função de probabilidade $p(\theta)$ deve ser normalizada, isto é,

$$\frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\theta) d\Omega = 1. \quad (1.8)$$

Uma função de probabilidade conhecida, que é compatível com os dados experimentais em tecido, é a de *Heney-Greenstein* (12),

$$p(\theta) = \frac{1 - g^2}{[1 + g^2 - 2g \cos(\theta)]^{\frac{3}{2}}}. \quad (1.9)$$

É conveniente reescrevê-la em uma expansão na base de Legendre:

$$p(\theta) = \sum_{l=0}^{\infty} (2l+1) g^l P_l[\cos(\theta)] \quad (1.10)$$

onde o termo P_l representa os polinômios de Legendre.

1.2 Meio túrbido

Um meio túrbido é aquele que apresenta as duas características discutidas anteriormente, absorção e espalhamento, simultaneamente. A importância de se estudar o comportamento da luz nesses meios é que a maior parte dos tecidos biológicos tem essas características ópticas. Nesse tipo de meio, podemos definir um coeficiente de atenuação total (μ_t), tal que,

$$\mu_t = \mu_s + \mu_a,$$

onde μ_s e μ_a são os coeficientes de espalhamento e absorção, respectivamente. Assim, temos que, o livre caminho médio dos fótons incidentes é determinado pelo coeficiente μ_t , tal que, $L = \frac{1}{\mu_t}$.

Em um meio túrbido é conveniente definir um parâmetro chamado de albedo óptico a ,

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_t} = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s}, \quad (1.11)$$

que nos dá a razão entre a importância de cada regime (0 para total absorção e 1 para total espalhamento). Em geral os dois efeitos irão ocorrer em diferentes proporções.

Outro parâmetro útil a ser definido é o comprimento óptico d ,

$$d = \int_0^s \mu_t ds', \quad (1.12)$$

onde ds' é um segmento do caminho óptico e s é o tamanho desse caminho. No caso de uma atenuação uniforme, d pode ser reescrito de forma que,

$$d = \mu_t s. \quad (1.13)$$

A vantagem dessas definições é que se tratam de parâmetros adimensionais, sendo que o par (a, d) contém as mesma informações físicas do par (μ_a, μ_s) .

Quando um meio é túrbido a normalização da função de probabilidade, descrita na equação 1.8, deve ser alterada para

$$\frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\theta) d\Omega = a, \quad (1.14)$$

de forma que a função tenda a zero para condições sem espalhamento. Também é necessário alterar as equações 1.9 e 1.10, para

$$p(\theta) = a \frac{1 - g^2}{[1 + g^2 - 2g \cos(\theta)]^{\frac{3}{2}}} \quad (1.15)$$

e

$$p(\theta) = a \sum_{l=0}^{\infty} (2l+1) g^l P_l[\cos(\theta)]. \quad (1.16)$$

Outros parâmetros definidos na literatura são o coeficiente de espalhamento reduzido e o

coeficiente de atenuação total reduzido (4), representados por μ'_s e μ'_t , respectivamente:

$$\begin{aligned}\mu'_s &= \mu_s (1 - g), \\ \mu'_t &= \mu_a + \mu'_s.\end{aligned}\tag{1.17}$$

1.3 Equação de transporte radiativo

Para descrever o comportamento da luz em um meio biológico é necessário considerar a luz como um conjunto de fótons e então usar a teoria de transporte. Essa abordagem é utilizada, porque o tecido biológico tem estruturas complexas e, portanto, é inviável utilizar as equações de Maxwell para descrevê-lo, logo, também se torna inviável considerar a luz como uma onda eletromagnética.(13)

Na teoria de transporte a grandeza fundamental é a radiância $J(\vec{r}, \vec{s})$ [$Wm^{-2}sr^{-1}$]. A variação da radiância de um fóton em $\vec{r}$ com relação à sua direção de propagação $\vec{s}$ (ou seja, a quantidade de luz propagando numa dada direção) será descrita pela soma das componentes de luz espalhadas de uma direção $\vec{s}'$ para a mesma direção $\vec{s}$ e pelo desconto das componentes de luz absorvidas ou espalhadas. Esse processo é descrito na equação 1.18, conhecida como **equação de transporte radiativo**,

$$\frac{d}{ds} J(\vec{r}, \vec{s}) = -\mu_t J(\vec{r}, \vec{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} P(\vec{s}, \vec{s}') J(\vec{r}, \vec{s}') d\Omega',\tag{1.18}$$

$P(\vec{s}, \vec{s}')$ é a função de fase do fóton espalhado da direção $\vec{s}'$ até $\vec{s}$, ds é o diferencial na direção do caminho e $d\Omega'$ é o elemento de ângulo sólido da direção $\vec{s}'$.

Nas medidas ópticas usuais é considerada a grandeza *intensidade*, que é obtida da radiância pela integração no ângulo sólido como mostra a equação 1.19.

$$I(\vec{r}) = \int_{4\pi} J(\vec{r}, \vec{s}) d\Omega\tag{1.19}$$

Dessa maneira a expressão da radiância em termos da intensidade é dada por:

$$J(\vec{r}, \vec{s}) = I(\vec{r}) \delta(\omega - \omega_s),\tag{1.20}$$

onde $\delta(\omega - \omega_s)$ é a função delta de um ângulo sólido na direção de $\vec{s}$.

Quando temos a incidência de um feixe de laser em um meio turbido a radiância dentro do

meio pode ser dividida em duas partes: coerente e difusa ($J = J_c + J_d$). A radiância coerente é obtida da atenuação devido à absorção e ao espalhamento, portanto temos que

$$\frac{dJ_c}{ds} = -\mu_t J_c, \quad (1.21)$$

e resolvendo a equação diferencial ficamos com uma expressão para a atenuação da radiância

$$J_c = I_0 \delta(\omega - \omega_s) e^{-\mu_t d}, \quad (1.22)$$

onde I_0 é a intensidade inicial e d é o caminho óptico. Com isso, constatamos que a parte coerente da intensidade é caracterizada por um decaimento exponencial.

A grande dificuldade em se usar a teoria de transporte para calcular o comportamento dos fótons é como lidar com a parte difusa da radiância, já que não se tem um caminho óptico definido para ela. Desse modo, é necessário o uso de métodos estatísticos, métodos numéricos ou aproximações, dependendo das características de absorção e espalhamento do meio analisado. A seguir descrevemos brevemente alguns desses métodos.

1.3.1 Aproximação por difusão

Considerando que o albedo seja tal que $a \gg 0,5$, ou seja, que a taxa de espalhamento seja dominante com relação à de absorção, a parte difusa da intensidade luminosa, tende a ser isotrópica (equação 1.19). Dessa maneira, é possível expandir a radiância difusa J_d em séries (13) como mostra a equação 1.23,

$$J_d = \frac{1}{4\pi} \left(I_d + 3\vec{F}_d \cdot \vec{s} + \dots \right), \quad (1.23)$$

onde I_d é a intensidade difusa e o vetor fluxo $\vec{F}_d$ é dado por

$$\vec{F}_d = \int_{4\pi} J_d(\vec{r}, \vec{s}) \vec{s} d\Omega. \quad (1.24)$$

Aproximação de difusão se dá através dos dois primeiros termos da expansão (1.23). A intensidade difusa I_d já satisfaz a equação de difusão:

$$(\nabla^2 - k^2) I_d(\vec{r}) = -Q(\vec{r}), \quad (1.25)$$

onde k^2 é o parâmetro de difusão e Q a fonte dos fótons espalhados. É conhecido que, (13)

$$\begin{aligned} k^2 &= 3\mu_a [\mu_a + \mu_s (1 - g)], \\ Q &= 3\mu_s (\mu_t + g\mu_a) F_0 e^{-\mu_t d}, \end{aligned} \quad (1.26)$$

sendo F_0 a amplitude do fluxo incidente. Usando a definição dos coeficientes reduzidos (equação 1.17) ficamos com $k^2 = 3\mu_a \mu'_t$.

Com isso, é possível definir um comprimento de difusão L_{ef} e um coeficiente de atenuação efetivo μ_{ef} , tal que,

$$\begin{aligned} L_{ef} &= \frac{1}{k} = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a \mu'_t}}, \\ \mu_{ef} &= \frac{1}{L_{ef}} = \sqrt{3\mu_a \mu'_t}. \end{aligned} \quad (1.27)$$

Logo temos que essa aproximação nos leva a:

$$I = I_c + I_d = Ae^{-\mu_t z} + Be^{-\mu_{ef} z}, \quad (1.28)$$

com $A + B = I_0$.

1.3.2 Simulação de Monte Carlo

O método de Monte Carlo é uma abordagem computacional estatística, em que são realizadas diversas amostragens de forma a permitir a previsão do resultado.(14) A sua aplicação para o transporte de fótons em tecidos biológicos foi proposta por Wilson e Adam em 1983.(15)

A sua eficácia para solução da equação de transporte radioativo já é bem conhecida (16), o que o torna método padrão para o estudo de distribuição da luz em tecidos biológicos.(17) Dessa simulação, pode-se obter diretamente as propriedades ópticas, ou estimá-las através do ajuste do resultado por dados experimentais.

O algoritmo consiste no cálculo da trajetória de cada fóton, através de passos aleatórios. Para isso cada fóton é inicializado com um determinado peso, e então, é determinado o tamanho do passo, através das propriedades ópticas do modelo estudado.

A cada iteração é analisado se a posição trata-se de uma interface, em que se verifica a ocorrência de transmissão ou reflexão através das equações de Fresnel, ou de uma posição interna ao meio, onde o fóton é movido usando as propriedades de espalhamento e absorção.

Por fim verifica-se o estado do fóton, “vivo” ou “morto”, para continuação ou finalização da simulação. Um esquema geral desse processo é representado na figura 1.5.

Esse processo é realizado diversas vezes (para cada fóton analisado), o que eleva o custo computacional dessa simulação. Com intenção de aumentar a eficiência computacional, existem diversos tipos de implementações na literatura, que utilizam aproximações e paralelismo computacional.(18) O tempo de processamento também foi reduzido com relação aos primeiros algoritmos devido ao desenvolvimento da eletrônica, que permitiu a construção de processadores e memórias mais eficientes.(17)

Figura 1.5 – Digrama do funcionamento do método de Monte Carlo para cada fóton.

Fonte: Adaptada de ZHU. (17)

1.4 Reflexão difusa e suas aplicações

Com a incidência da luz em um meio podem ocorrer dois fenômenos: refração e reflexão, sendo que, se ângulo de reflexão é o mesmo que o de incidência, esse fenômeno é chamado de reflexão especular.

Há uma parcela da luz, porém, que pode emergir da superfície com ângulos diferentes dos de entrada. Nesse caso, dizemos que ocorreu uma reflexão difusa. Esse efeito ocorre devido à presença de irregularidades na superfície, na sub-superfície e devido à luz que retorna do meio após ser espalhada. Essa parcela da luz reemitida pode conter informações importantes sobre o meio, e por isso o seu estudo é importante.

Atualmente existem varias técnicas que utilizam essa parte da luz para a detecção das propriedades do meio, como espectroscopia óptica difusa e tomografia óptica difusa.(19–20) Essas técnicas aplicadas em tecidos biológicos, na maior parte dos casos, usam luz no infravermelho e avaliam a absorção e fluorescência das moléculas, obtendo propriedades pontuais do meio e até mesmo sendo capazes de reconstruir o meio nas três dimensões do espaço.(21–22)

O uso dessa informação utilizando uma fonte de luz contínua para a detecção de heterogeneidades e distinção de profundidade no meio foi proposta por Cheng (23), que denominou essa técnica de tomografia óptica difusa por reflexão. Em seu estudo, ele concluiu ser possível a distinção de dois objetos com diferentes tamanhos e posições, porém nesse processo houve a necessidade de introduzir informações prévias como a dimensão do objeto.

A análise da parcela de luz refletida de forma difusa pode ser usada para a determinação do coeficiente de espalhamento em um meio. Para isso, são feitas imagens da superfície do material, eliminando a parcela refletida de forma especular através do uso de um polarizador cruzado com a fonte de luz. Nessa imagem é feita uma medida da alteração do feixe e então é determinado o seu coeficiente de espalhamento.(24–25)

1.5 Aquisição e processamentos de imagens

Recentemente, o avanço tecnológico fez com que o processamento de imagens se tornasse um importante método de extração de informação em diversas áreas da ciência, principalmente em estudos referentes à luz. Para os casos relacionados à refletância de tecidos biológicos, seu uso se torna essencial, por ser um método de fácil reprodutividade e de fácil adaptação

para o mercado, com uso dos atuais *smartphones*. Logo, é importante o entendimento de alguns conceitos relacionados à aquisição e processamento de imagens, que estarão descritos brevemente a seguir.

Uma imagem em escala de cinza é representada por uma matriz de elementos denominados píxeis, que armazenam valores relacionados à luminosidade de cada ponto da imagem. Usualmente em câmeras populares a aquisição é feita em 8 bits, ou seja, cada pixel é definido como um tipo inteiro com tamanho de 8 bits, assim só é possível armazenar valores numéricos no intervalo $[0; 255]$. Porém no meio científico são comuns câmeras com 12 ou 16 bits, representando intervalos $[0; 4095]$ e $[0; 65535]$, respectivamente.(26)

A aquisição de imagens se dá através um conjunto de lentes que projeta a imagem real sobre uma superfície capaz de converter essa informação luminosa em informações químicas, elétricas ou digitais, seja um filme fotográfico, ou dispositivos mais atuais como sensores, cujos tipos mais comuns são o CCD (dispositivo de carga acoplada, do inglês, *charge-coupled device*) e o CMOS (semicondutor de metal-óxido complementar, do inglês, *complementary metal-oxide-semiconductor*). (27–28)

No sensor CCD, a conversão da luminosidade é feita para sinais elétricos que são a partir de aí convertidos em sinais digitais. Já no sensor CMOS, essa é feita diretamente em sinais digitais. Assim o CMOS é mais eficiente energeticamente e tem o seu circuito simplificado, tornando o seu custo mais atrativo; apesar disso, o sensor CCD apresenta melhor qualidade.(29)

CAPÍTULO 2

Motivação e objetivos

Apesar das centenas de estudos existentes sobre a propagação da luz em tecidos biológicos, devido a sua complexidade, ainda não existem métodos que sejam capazes de prever o formato exato da distribuição da luz em um determinado tecido. Assim, há a necessidade da continuidade de estudos nessa área a fim de aprimorar o conhecimento já existente, bem como desenvolver novos métodos e técnicas que possam preencher as lacunas remanescentes.

Há diversas situações em que um tecido biológico apresenta heterogeneidades macroscópicas que alteram a propagação da luz nos tecidos e dificultam a capacidade de prever o formato da distribuição da luz em seu interior, o que compromete o estabelecimento de uma correta dosimetria para fototerapias, bem como a obtenção de informações relevantes para o foto-diagnóstico.

A figura 2.1 mostra um exemplo de como uma estrutura macroscópica absorvedora, como um vaso sanguíneo, em meio a um tecido de gordura pode alterar drasticamente a distribuição da luz. Em geral, a presença dessas heterogeneidades, que são obstáculos para que a luz se propague, não são verificadas e avaliadas previamente a uma fototerapia ou foto-diagnóstico. Fica evidente que a presença de uma estrutura com propriedades ópticas diferentes das do meio em que está inserida, altera de forma importante e não trivial a propagação da luz.

Figura 2.1 – A distribuição espacial da luz é fortemente alterada devido a presença do vaso, quando um feixe de laser incide próximo (imagem à esquerda) ou sobre um vaso sanguíneo (imagem à direita).

Fonte: Elaborada pela autora.

Já existem descritos na literatura métodos que tiveram êxito na detecção de heterogeneidades; os mesmos utilizam, como fonte de luz, lasers de pulsos ultracurtos (30) e luz

estruturada (31), por exemplo. Essas fontes requerem, ainda, o uso de sistemas mais complexos de detecção, levando a um elevado custo para implementação. O uso de uma fonte de luz mais simples, como um laser contínuo, na região do vermelho ou infravermelho próximo ainda parece ser uma alternativa mais acessível e com bons resultados.(23, 32)

Neste contexto, o trabalho desenvolvido teve por objetivo avaliar o uso de imagens de refletância difusa, tendo um laser de diodo vermelho contínuo (660 nm) como fonte de luz para localizar inclusões absorvedoras em *phantom* óptico altamente espalhador. Para isso, foram definidos os seguintes objetivos específicos.

- Avaliar a refletância difusa em um *phantom* puramente espalhador:
 - com a inserção de objetos feitos de um material parcialmente absorvedor, em diferentes formatos geométricos e profundidades com uma fonte de luz incidindo em diversos ângulos;
 - com a inserção de objetos feitos de um material predominantemente absorvedor, em diferentes formatos geométricos e profundidades com uma fonte de luz incidindo em diferentes ângulos;
 - com a inserção de objeto feito de um material predominantemente absorvedor com uma fonte de luz incidindo em diferentes ângulos de incidência e variando a distância fonte-objeto;
- Avaliar a refletância difusa em um *phantom* espalhador e absorvedor com um objeto predominantemente absorvedor inserido em diferentes profundidades com uma fonte de luz incidindo em diferentes ângulos.

CAPÍTULO 3

Material e Métodos

3.1 *Phantom*

Para a realização deste estudo, foi utilizado um *phantom* óptico de propriedades semelhantes às dos tecidos biológicos. Chamamos de *phantom* óptico os materiais que são capazes de simular as características ópticas de um determinado objeto. O primeiro *phantom* utilizado foi composto só por elementos predominantemente espalhadores (emulsão lipídica Lipofundin® MCT/LCT 20%, B.Braun Melsungen AG, Alemanha) na proporção 5ml/1000ml v/v. O uso desse tipo de emulsão para essa finalidade já é bem estabelecido na literatura. (33–34)

O segundo tipo de *phantom* apresentava características de turbidez, com a mesma concentração de espalhador do primeiro, porém, adicionamos como elemento absorvedor foi utilizada uma tinta nanquim (Nankin, Acrilex®, Brasil) (35) a uma concentração de 0,1ml/L. Ambos foram colocados em um recipiente de dimensões (25; 15; 18,5) mm, mostradas na figura 3.1, com cerca de 4 litros do líquido. Esse volume foi utilizado de forma a evitar efeitos da interface na propagação da luz no meio.

Figura 3.1 – Dimensões e geometria do recipiente utilizado nos experimentos com *phantom*.

Fonte: Elaborada pela autora.

Para a caracterização da absorção do nanquim, foi realizada medidas de porcentagem de transmissão da luz para diversas concentrações de nanquim, desde só a água até uma concentração em que há total absorção da luz, utilizando um espectrofotômetro de absorção (Cary® 50 UV-VIS Spectrophotometer, Varian). Na figura 3.2 encontra-se o gráfico da

transmissão em função do comprimento de onda. Nele notamos a existência de um pequeno aumento em função do comprimento de onda.

Figura 3.2 – Espectros da luz transmitida para soluções com diferentes concentrações de nanquim.
Fonte: Elaborada pela autora.

Para verificar a alteração da transmissão em função da concentração foi feito um gráfico (figura 3.3) para a região do 660 nm e 780 nm. Com ele, é possível notar um decaimento exponencial em função da concentração e ainda que a curva para 780 nm tem uma leve aumento na transmissão, o que acontece em tecidos biológicos como mostrado na figura 1.2.

Figura 3.3 – Gráfico da luz transmitida em função da concentração de nanquim para os comprimentos de onda de 660 e 780 nm.

Fonte: Elaborada pela autora.

3.2 Simulação de heterogeneidades

A fim de simular heterogeneidades presentes no tecido, foram incluídos diferentes objetos absorvedores de diferentes materiais no centro do recipiente do *phantom*, em diferentes profundidades (h), para a avaliação da refletância difusa na superfície.

3.2.1 EVA

O primeiro material utilizado foi o EVA (acetato-vinilo de etileno, do inglês *ethylene vinyl acetate*) na cor preta, por ser de fácil manipulação e possibilitar a construção de diferentes geometrias com baixo custo. Para verificar a alta absorção esperada desse material no comprimento de onda utilizado, foi feita uma medida utilizando uma fibra bifurcada em formato de Y (Ocean Optics®, EUA), na qual uma das entradas estava acoplada a um laser em 660 nm (Quantum Tech®, Brasil) e a outra a um espectrofotômetro (USB2000, Ocean Optics®, EUA), como mostrado no esquema da figura 3.4.

Figura 3.4 – Esquema do sistema de espectroscopia utilizado para as medidas da luz refletida pela superfície do EVA.

Fonte: Elaborada pela autora.

Foram coletados espectros do retroespalhamento do EVA em duas situações: seco e molhado. Como referência, um espelho com reflexão de 100% na região de 660 nm também foi medido. Na figura 3.5 observa-se que o EVA molhado retroespalha menos de 2,5% em comparação com o espelho, o que nos mostra que esse material não é totalmente absorvedor, apresentando assim uma característica levemente espalhadora. Portanto, iremos chamá-lo de um material **parcialmente absorvedor**.

Figura 3.5 – Comparação da refletância do EVA com um espelho de 100% de reflexão no comprimento de onda de 660 nm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Três amostras de EVA, de tamanhos e formas diferentes, foram utilizadas, conforme mostrados na figura 3.6.

Figura 3.6 – Geometria e dimensões dos objetos em EVA

Fonte: Elaborada pela autora.

3.2.2 Filtro óptico no visível

Com o objetivo de avaliar o comportamento da luz para o caso de uma inclusão **predominantemente absorvedora**, um filtro óptico foi utilizado. Para verificar sua absorção na região de 660 nm, o filtro foi caracterizado em um espectrofotômetro de absorção (Cary® 50 UV-VIS Spectrophotometer, Varian) e o resultado é mostrado na figura 3.7, onde vemos que a transmissão da luz é nula.

Figura 3.7 – Espectro de transmissão do filtro óptico.

Fonte: Elaborada pela autora.

Três amostras de filtro, de tamanhos e formas diferentes, foram utilizadas. Para a obtenção dessas amostras o filtro foi cortado na Oficina de Óptica do IFSC/USP. A figura 3.8 mostra os tamanhos e geometrias das amostras utilizadas.

Figura 3.8 – Geometria e dimensões dos objetos feitos do filtro óptico no visível.

Fonte: Elaborada pela autora.

3.3 Fonte de luz

A fonte de luz utilizada em todos os experimentos de refletância difusa descritos neste estudo foi um laser de diodo no comprimento de onda 660 nm (Twin Laser®, MMOptics, Brasil), que tem uma adaptação para colimação do feixe. Também foram utilizados uma íris e um polarizador para uniformização do feixe. Para o controle do ângulo de incidência, foi utilizada uma plataforma móvel que permitiu variar o ângulo de incidência do laser no *phantom*

(figura 3.9).

Figura 3.9 – Imagem do laser utilizado com a adaptação feita para colimar o feixe e variar o ângulo de incidência.

Fonte: Elaborada pela autora.

A influência de parâmetros como ângulo de incidência (α) e distância da fonte ao objeto (r) foram avaliados. Um esquema geral da montagem é mostrado na figura 3.10.

Figura 3.10 – Esquema da montagem experimental.

Fonte: Elaborada pela autora.

Após essa montagem, foi realizada uma medida para determinar o diâmetro do feixe resultante. Para isso foi utilizado o método da faca, em que utilizamos um anteparo entre o laser e um medidor de potência. Esse anteparo foi movido em pequenos passos nas direções x e y , sendo que para cada posição foi medido o valor da potência. Com os resultados foi feito

um gráfico da potência em função da posição, e então um ajuste pela equação 3.1, onde P_1 corresponde a potência, P_2 ao deslocamento em x do cetro do feixe e P_3 ao raio.(36)

$$P_{medido} = \frac{P_1}{2} \left[1 \pm \operatorname{erf} \left(\frac{\sqrt{2}(x - P_2)}{P_3} \right) \right] \quad (3.1)$$

Na figura 3.11 temos os gráficos construídos para as duas variações, com eles obtemos que o raio em x foi de $(0,32 \pm 0,02)$ mm e em y $(0,34 \pm 0,01)$ mm, com potência máxima de $(3,1 \pm 0,1)$ mW.

Figura 3.11 – Potência em função da posição para obtenção das dimensões do feixe.

Fonte: Elaborada pela autora.

3.4 Aquisição das imagens

Para a aquisição das imagens de refletâncias difusas na superfície foi utilizada uma câmera com sensor CMOS (Firefly FMVU-03MTM-CS, Point Grey, Canadá) posicionada acima da superfície de forma a obter a distribuição de luz na superfície do *phantom*. É importante notar que o sensor dessa câmera na região do comprimento de onda 660 nm tem a sua sensibilidade

nominal superior a 80% (figura 3.12), o que permite a sua utilização para esse caso.

Figura 3.12 – Sensibilidade do sensor para diferentes comprimentos de onda
Fonte: POINT GREY. (37)

Logo abaixo da câmera foi colocado um polarizador com polarização perpendicular ao plano de incidência de forma a eliminar grande parte do feixe refletido de forma especular (figura 3.13).

Figura 3.13 – Imagens da câmera e polarizador usados.
Fonte: Elaborada pela autora.

Em todas as configurações, foi feita uma imagem com uma escala para correlacionar a unidade de comprimento milímetro com os píxeis, na figura 3.14 temos uma das imagens obtidas exemplificando o processo para medida de equivalência de 20 mm em 323 píxeis.

Figura 3.14 – Exemplo de imagem utilizada para a obtenção do fator de escala pixel para mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

3.5 Medidas experimentais realizadas

Para verificar as alterações que uma inclusão absorvedora provoca na distribuição de luz em um *phantom*, é importante conhecer a distribuição da luz sem a presença da inclusão. Por isso, imagens de “controle” foram registradas.

Como a variação da profundidade da inclusão foi feita através da inserção de mais volume de *phantom* no recipiente, foi necessária a tomada de imagens controle para cada uma das profundidades avaliadas, já que o aumento do volume no recipiente variava, também, a distância entre o *phantom* e a câmera e, consequentemente, a escala pixel-milímetro.

3.5.1 EVA

Os objetos em EVA (figura 3.6) foram posicionados no recipiente com o *phantom* em diferentes profundidades, h (10 mm, 15 mm e 20 mm). Para o caso da elipse, esse posicionamento ocorreu de duas maneiras: sobre o eixo principal em ambas as direções cartesianas x e y .

Com essas heterogeneidades posicionadas, foram capturadas imagens da refletância difusa na superfície para os ângulos de incidência α (40°, 45°, 50° e 55°), e para distância fonte-objeto de (15 ± 3) mm.

3.5.2 Filtro Óptico

Para o caso do filtro, inicialmente foi feita uma avaliação semelhante à do EVA, para análise do impacto da mudança do material nos resultados.

Após tal avaliação, ainda no *phantom* espalhador, foi feita uma avaliação da influência da distância fonte-objeto (r) para os diferentes ângulos de incidência, para o disco de filtro com diâmetro de 9,8 mm, à profundidade de 10 mm. Nesse estudo r foi variado de -25 mm a 25 mm com o passo de 5 mm (figura 3.15).

Figura 3.15 – Esquema da variação da distância fonte-objeto.

Fonte: Elaborada pela autora.

Por fim, foram feitos testes da influência da profundidade em função dos ângulos de incidência para o *phantom* túrbido, com a intenção de aproximar a informação obtida das medidas àquelas que seriam características dos tecidos biológicos. Esta avaliação foi feita apenas para o material totalmente absorvedor e somente para um formato, pois a finalidade era comparar a mudança de comportamento da refletância difusa quando incluímos absorção no meio de propagação da luz.

3.6 Métodos de aquisição

Os softwares usados para fazer a aquisição foram o Point Grey FlyCAP2® e MATLAB®. Para a aquisição via MATLAB® foi elaborada uma rotina onde todos os parâmetros de controle de aquisição da câmera (exposição e brilho) foram definidos de forma a não haver compensações automáticas.

Essa rotina faz a aquisição de 10 imagens com um tempo de 3 segundos entre elas, e salva a soma e a média em forma matricial e a média em forma gráfica. Esse processo é chamado método das médias locais e tem por objetivo a retirada de ruídos randômicos.

Para estudar o comportamento da reflexão difusa para diferentes ângulos de incidência e profundidade da inclusão, foi essencial remover a região de saturação da imagem, existente na região de incidência do feixe do laser, através um aumento óptico (figura 3.16) de modo a restringir a captura da imagem à região em que o objeto absorvedor encontrava-se e estendendo-a para além do objeto.

Figura 3.16 – Esquema do método utilizado para a remoção da região de saturação.

Fonte: Elaborada pela autora.

Também foi utilizado o software nativo da câmera, Point Grey FlyCAP2[®], para fazer esse controle no aumento de forma a garantir que o feixe sempre estivesse localizado na mesma distância e posição com relação aos objetos.

Para avaliar a influência da distância fonte-objeto, não houve preocupação em retirar a saturação da imagem, mas sim em não mover a câmera; logo, não foi possível a utilização do aumento, pois haveria perda de informação, já que a região da saturação se encontrava muito próxima ou acima da posição do objeto. Assim, as imagens foram obtidas com o mínimo de aumento possível. O restante da aquisição foi similar ao anterior inclusive a manutenção dos parâmetros de aquisição e rotinas.

3.7 Processamento das imagens

3.7.1 Processamento individual

Inicialmente, os dados da soma das imagens adquiridos pela câmera foram lidos e cortados para a seleção da região em que o objeto estava localizado. Em seguida as imagens foram normalizadas e então graficadas.

Como forma de tornar mais evidente a região de interferência do objeto absorvedor na imagem, subtraiu-se a imagem com o objeto da imagem controle, mostrando os pontos de divergência. Também foi realizado um ajuste de intensidade, para dar melhor contraste na

região de alteração referente ao objeto. Esse ajuste só foi realizado após a subtração, para não haver interferência na comparação das matrizes.

Em seguida, foi realizado mais um ajuste no qual foi localizado um limiar de intensidade, abaixo do qual a imagem é considerada completamente escura para a nossa análise. Para isso, foi utilizada a função “multithresh” do MATLAB®, que calcula múltiplos limiares utilizando o método de Otsu.(38) Como próximo passo, foi utilizado um filtro de média local nas imagens, de forma a tornar a imagem mais uniforme, eliminando assim possíveis ruídos ainda presentes da subtração. A partir da matriz resultante, foi realizado um novo ajuste de intensidade e, então, uma binarização de forma a obter-se uma borda para a região em que houve maior alteração da refletância devida à presença do objeto. A partir desses resultados, foram feitos gráficos da região de alteração da refletância com a sua respectiva borda obtida com correlação com a escala em milímetro e ao lado das bordas foram exibidos as áreas das bordas em milímetros quadrados. Na figura 3.17 temos um esquema geral do processamento realizado.

Figura 3.17 – Diagrama do processamento das imagens utilizado.

Fonte: Elaborada pela autora.

A partir das bordas foram obtidos os parâmetros relacionados a elas como a área e diâmetro equivalente. Essas áreas foram normalizadas pela área real e, então, foram construídos gráficos dos perfis de mudanças de áreas em função da profundidade do objeto. Isto foi feito tanto para imagens dos diferentes ângulos de incidência quanto o caso em que foi realizada a soma das imagens de cada ângulo de incidência. Também foram feitos gráficos dessas bordas em coordenadas polares, de forma a obtermos a variação do raio em função do ângulo de curvatura.

Além disso, foram analisados alguns perfis de intensidade. Para isso, foi selecionada a coordenada nas matrizes onde o objeto estava localizado e, dela, extraídos os vetores linhas e colunas dessa região. Esses perfis foram graficados com relação à sua posição.

3.7.2 Reconstrução Tridimensional

Para o estudo de profundidade, foi construída uma rotina com o objetivo de obter uma melhor resolução na obtenção das bordas dos objetos na superfície. Esta rotina realizava a soma das imagens para cada ângulo antes do processamento anterior. Com isso, foi possível obter as formas da alteração da refletância na superfície, devido à presença do objeto, para as diferentes profundidades. A partir disso, obteve-se um gráfico com a perspectiva tridimensional da alteração da forma pela profundidade.

CAPÍTULO 4

Resultados e Discussões

4.1 Imagens de refletância difusa de *phantom* espalhador com inclusão parcialmente absorvedora

As imagens capturadas para o caso controle e para as amostras em EVA foram normalizadas e estão apresentadas nas figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5. Observa-se que alterações na distribuição da luz na superfície do *phantom* são levemente visualizadas para a menor profundidade (10 mm) sem uma dependência visível da variação do ângulo de incidência. Para as demais profundidades não é possível visualizar as alterações apenas através das imagens normalizadas.

Figura 4.1 – Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio sem heterogeneidade, ou seja, controle.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.2 – Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um disco de 9,8 mm de diâmetro na profundidade de 10 mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.3 – Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um disco de 5,65 mm de diâmetro na profundidade de 10 mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.4 – Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um elipsoide com o seu eixo maior na direção x na profundidade de 10 mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.5 – Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um elipsoide com o seu eixo maior na direção y na profundidade de 10 mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

A fim de melhor avaliar possíveis alterações na reflectância difusa causada pela inclusão absorvedora, analisou-se a intensidade da luz na superfície em função da distância (na direção y que corta o centro do objeto). Para isso, foi selecionado uma posição no eixo x (relativa a localização do centro da heterogeneidade) e as respectivas intensidades em função de y. Esse procedimento foi realizado para as diferentes formas geométricas construídas com o absorvedor,

para verificar se haveria alteração de acordo com a dimensão do objeto naquela direção. Nas figuras 4.6, 4.7, 4.8 e 4.9, temos os gráficos para os diferentes formatos.

Figura 4.6 – Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro do disco (9,8 mm de diâmetro) na coordenada x para as diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.7 – Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro do disco (5,65 mm de diâmetro) na coordenada x para as diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.8 – Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro da elipse (eixo maior em x) na coordenada x para as diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.9 – Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro da elipse (eixo maior em y) na coordenada x para as diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Analisando os casos controle para cada profundidade, notamos que há pouca variação entre os perfis dos diversos ângulos de incidência, isso indica que se a aplicação necessitar de um controle, esse pode ser feito utilizando somente um ângulo de incidência.

Quando olhamos o resultado dos perfis com a inclusão para a profundidade de 10 mm

notamos a presença da inclusão absorvedora, já que o perfil na região do objeto tem uma queda abrupta em relação aos perfis controles, com isso determinamos o início do objeto em torno de 5 mm, isso ocorre porque a escala utilizada teve início no corte realizado através do zoom óptico para remover da imagem a parte de saturação do feixe incidente, retirando assim uma região de cerca de 10 mm da imagem para que a saturação fosse removida.

Nas outras profundidades também é notada uma diferença, porém essa nem sempre é significativa para obtermos a detecção do objeto somente com a medida do perfil da distribuição de luz. Assim, de forma a tentar entender quanto essa alteração é significativa, foi feita a diferença entre as imagens com os absorvedores e seus respectivos controles. Na figura 4.10 temos esses resultados para o disco de 9,8 mm de diâmetro.

Figura 4.10 – Subtração das imagens com absorvedor pelo controle para o disco de 9,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) $h=10\text{mm}$, (b) $h=15\text{mm}$ e (c) $h=20\text{mm}$.

Fonte: Elaborada pela autora.

Nesses resultados é possível observar a presença do objeto para profundidade de 10 mm, uma leve alteração em 15 mm e apenas ruídos em 20 mm. Porém, mesmo nas condições em que é possível visualizar alterações (figuras 4.10.a e 4.10.b) há pouco contraste entre a imagem e o objeto, não permitindo uma caracterização da forma e dimensão do absorvedor.

Então, foi elaborada uma nova rotina em que o contraste foi melhorado e então conseguimos obter a forma (linha vermelha) e área (valor apresentado ao lado da forma em mm²) em que há alteração da refletância na superfície, através de detecção de bordas por binarização. Os resultados para todas as formas e configurações usadas são mostrados nas figuras 4.11, 4.12, 4.13 e 4.14.

Figura 4.11 – Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm² para o disco de 9,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) h=10mm, (b) h=15mm e (c) h=20mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Na primeira geometria analisada (disco de 9,8 mm de diâmetro) notamos que é possível a identificação da forma apenas na primeira profundidade (10 mm), sendo que houve uma

diferença na detecção das bordas conforme o ângulo de incidência foi variado. Na profundidade de 15 mm para os dois maiores ângulos de incidência foi possível obtermos a informação sobre a existência da heterogeneidade, porém a sua forma já não é tão clara. E por fim para a maior profundidade (20 mm), nessa geometria e dimensão, já não é possível a obtenção de informação sobre a existência desse objeto.

Com base nessas observações, e da análise das medidas para essa mesma geometria, porém com 5,65 mm de diâmetro (figura 4.12), foi possível constatar que o limite de profundidade do absorvedor em que esse é detectável na superfície, depende da sua dimensão; também é possível perceber que o ângulo de incidência altera o resultado, já que para o disco de 5,65 mm de diâmetro só é verificada a presença do absorvedor na profundidade de 15 mm para o caso em que o ângulo de incidência é o maior (55°).

Figura 4.12 – Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o disco de 5,65 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) $h=10\text{mm}$, (b) $h=15\text{mm}$ e (c) $h=20\text{mm}$.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.13 – Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm² para a elipse com o seu eixo maior na direção x em diferentes profundidades, na figura (a) h=10mm, (b) h=15mm e (c) h=20mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.14 – Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para a elipse com o seu eixo maior na direção y em diferentes profundidades, na figura (a) $h=10\text{mm}$, (b) $h=15\text{mm}$ e (c) $h=20\text{mm}$.

Fonte: Elaborada pela autora.

Quando olhamos os resultados para os casos em que o absorvedor era uma elipse, podemos ver que a forma é melhor visualizada quando o diâmetro maior é localizado na direção y. Isso pode ser explicado devido ao fato do laser estar incidindo no eixo x; assim, quando olhamos o perfil em x, naturalmente temos um decaimento de luz, enquanto no eixo y temos um perfil em que existe crescimento e depois um decaimento (figuras 4.8 e 4.9).

Analisando os perfis de intensidade, notamos que com a variação do ângulo de incidência há alguma diferença no valor de absorção e na definição do seu início. Assim podemos considerar que quando realizamos a soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, teremos uma maior definição da forma, melhorando a detecção das inclusões. Com essa ideia foi

elaborado um algoritmo que realizava a soma das imagens e então repetia o tratamento anterior de aumento de contraste e detecção de bordas. As figuras 4.15, 4.16, 4.18 e 4.19, mostram os resultados desse processamento para as diversas geometrias analisadas.

Figura 4.15 – Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de disco de 9,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.16 – Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de disco de 5,65 mm de diâmetro em diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.17 – Visão tridimensional das bordas obtidas da alteração da refletância. Na figura (a) temos o formato do disco de 9,8 mm de diâmetro e na (b) o formato de disco de 5,65 mm de diâmetro.

Fonte: Elaborada pela autora.

Como era esperado, foi possível determinar a forma mais precisamente, sendo que para o disco de 9,8 mm de diâmetro foi possível também a verificação até uma profundidade de 15 mm. Outra informação importante de mencionar é a detecção de regiões que não estão relacionadas com a existência do absorvedor. Esse fato ocorre devido ao ajuste de contraste ser feito de forma automática de acordo com o histograma da imagem, assim, é possível que no início essas regiões não continham alterações significativas.

Na figura 4.17 temos a perspectiva tridimensional das bordas da área em que há alteração da refletância. Porém, para esse material e dimensão, não foi possível determinar esse comportamento, visto que a detecção obtida não se repetiu para profundidades superiores. Nas figuras 4.18, 4.19 estão os resultados para o caso das geometrias de elipse.

Figura 4.18 – Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm² para o formato de elipse posicionada de forma em o raio maior esta posicionado no eixo X para diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.19 – Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de elipse posicionada de forma em o raio maior esta posicionado no eixo Y para diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Para o caso da elipse, percebe-se que quando posicionamos a dimensão maior no eixo y, temos o melhor resultado, tendo informação até para a profundidade $h = 20$ mm. Assim, é possível a verificação do comportamento tridimensional (figura 4.20.b), já que obtemos as bordas em diferentes profundidades.

Figura 4.20 – Visão tridimensional das bordas obtidas da alteração da refletância. Na figura (a) a elipse se encontra com seu eixo maior na direção X e na (b) com o seu eixo maior na direção Y.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.2 Imagens de reflectância difusa de *phantom* espalhador com inclusão totalmente absorvedora

4.2.1 Estudo da influência da profundidade para diferentes ângulos de incidência

Os mesmos procedimentos realizados para as amostras de EVA foram conduzidos para as amostras de filtro óptico totalmente absorvedoras. As imagens obtidas e normalizadas para as diferentes formas, ângulo de incidência e tamanhos, quando a profundidade da inclusão era de 10 mm, estão apresentadas nas figuras 4.21, 4.22 e 4.23. A presença da inclusão pode ser observada.

Figura 4.21 – Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um disco de 9,8 mm de diâmetro na profundidade de 10 mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.22 – Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão de um disco de 7,8 mm de diâmetro na profundidade de 10 mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.23 – Perfis da distribuição da refletância difusa na superfície para um meio com a inclusão do quadrado na profundidade de 10 mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Para termos uma análise comparativa de maneira mais concisa entre os ângulos de incidência e profundidade analisamos os perfis de intensidade pelo eixo x e o eixo y. Nas figuras 4.24 e 4.25 temos a análise para o formato de disco com 9,8 mm de diâmetro. Quando olhamos para o perfil do eixo x notamos que existe uma distinção nos perfis com a inclusão para os perfis controles, sendo que conforme essa inclusão se aprofunda o seu perfil vai se aproximando ao perfil controle, e a informação sobre os pontos de início e fim da posição do objeto se perde com o aumento da profundidade.

No perfil de intensidade em x há um decaimento da luz, isso acontece pelo fato da fonte de luz usada estar incidindo nesse eixo, assim, em mesmo em um meio homogêneo acontece um decaimento, pois a luz vai perdendo intensidade ao se afastar do ponto de incidência. Esse fato gera dificuldade para detecção da presença do objeto em um meio, por causa da informação referente ao objeto se misturar com a do decaimento.

Figura 4.24 – Perfil de intensidade pela coordenada y para a região relativa ao centro do disco (9,8 mm de diâmetro) na coordenada x para as diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.25 – Perfil de intensidade pela coordenada x para a região relativa ao centro do disco (9,8 mm de diâmetro) na coordenada y para as diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

A subtração das imagens do *phantom* com a inclusão pelas controles e a realização dos múltiplos ajuste de contraste evidenciando a região em que o objeto está presente foram realizadas para essas amostras. Os resultados desse processamento são mostrado nas figuras 4.26, 4.27 e 4.29.

Figura 4.26 – Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o disco de 9,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) $h=10\text{mm}$, (b) $h=15\text{mm}$ e (c) $h=20\text{mm}$.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.27 – Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm² para o disco de 7,8 mm de diâmetro em diferentes profundidades, na figura (a) h=10mm, (b) h=15mm e (c) h=20mm.

Fonte: Elaborada pela autora.

Das figuras 4.26 e 4.27, notamos que o processamento realizado obtém um raio maior no eixo x do que no eixo y para a menor profundidade (10 mm). Esse fato se dá pela dificuldade de determinarmos uma mudança abrupta de intensidade na região do objeto, já que esse se mistura com o decaimento da luz, como mencionado anteriormente. Isso faz com que a área detectada seja maior que área real desse disco.

Outro fato importante de destacar, quando comparamos os resultados dos dois discos, é o limite de profundidade em que há a detecção desses objetos na superfície, olhando para os resultados, é possível notar que em ambos os casos conseguimos identificar alguma alteração na região em que o objeto está localizado, sendo que, para o maior disco esse efeito é evidenciado na maior parte dos ângulos de incidência, exceto o caso $\alpha = 40^\circ$. Enquanto que para o disco menor essa identificação é obtida somente para os dois casos de maior ângulo de incidência.

Para entendermos melhor o efeito que a mudança do ângulo de incidência pode gerar, podemos voltar para a lei de Snell (equação 1.1) e realizar cálculos rápidos (equação 4.1), considerando que o índice de refração para o meio incidente (ar) seja 1 e para o meio seguinte seja aproximadamente o da água (meio predominante), 1,33.

$$\begin{aligned} \alpha = 55^\circ \Rightarrow \theta_1 = 35^\circ \Rightarrow \sin(\theta_2) &= \frac{\sin(35^\circ)}{1,33} \therefore \theta_2 \approx 25,55^\circ \\ \alpha = 40^\circ \Rightarrow \theta_1 = 50^\circ \Rightarrow \sin(\theta_2) &= \frac{\sin(50^\circ)}{1,33} \therefore \theta_2 \approx 35,17^\circ \end{aligned} \quad (4.1)$$

Para melhor compreensão dessas contas é importante dizer que os ângulos θ se dão com relação à reta normal a superfície. Logo, o ângulo α é inversamente proporcional ao ângulo que o feixe tem quando entra no meio com relação a reta normal. Com isso, para o caso em que $\alpha = 40^\circ$ temos um feixe mais superficial que o feixe com $\alpha = 55^\circ$, por isso temos melhor detecção para maiores ângulos de incidência (α) em maiores profundidades.

Na figura 4.28, temos um diagrama que mostra a variação que o ângulo de incidência tem com o comportamento do feixe no meio. Para a sua construção foi levado em consideração o comportamento já descrito na literatura em demonstra que o feixe em um meio turbido tem a sua trajetória em forma de “banana”.(39) Assim no digrama temos que $\theta_1 > \theta_3$ e com isso a profundidade do espalhamento para o caso (a) maior que o (b).

Figura 4.28 – Esquema da variação da propagação da luz conforme há a variação do ângulo de incidência, sendo que o caso (a) tem um ângulo de incidência maior que o caso (b).

Fonte: Elaborada pela autora.

Outro fator limitante para maiores profundidades é a dimensão da inclusão, pois quanto maior a área absorvida menos espalhamento ocorrerá naquela região e portanto essa informação conseguirá percorrer um maior caminho. Esse fato é notado nos resultados para as diferentes geometrias, já que a maior dimensão (quadrado) tem a melhor detecção em maiores profundidades.

Figura 4.29 – Processamento da subtração pelo controle e ajuste de intensidade com as bordas obtidas e suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o quadrado em diferentes profundidades, na figura (a) $h=10\text{mm}$, (b) $h=15\text{mm}$ e (c) $h=20\text{mm}$.

Fonte: Elaborada pela autora.

Ao analisarmos somente o formato quadrado (figura 4.29), notamos que para $h = 10\text{mm}$ para o maior ângulo ($\alpha = 55^\circ$) ocorre a perda de informação em x, isso ocorre pelo fato de que

para esse ângulo o feixe de luz tende a ir mais profundo e portanto o decaimento na superfície tende a ser mais abrupto, impossibilitando a obtenção da informação para maiores x .

Também é visto que para a a profundidade de 20 mm e $\alpha = 50^\circ$ não é detectado a presença do absorvedor, esse resultado trata-se de um artefato de técnica, que pode ter ocorrido devido a trepidações e movimentações da mesa em que o recipiente do *phantom* estava localizado, pois sendo líquido dificulta o controle de variação da superfície como, por exemplo, vibrações.

Com todas essas constatações, confirmamos a teoria de que uma soma de diferentes ângulos pode ser a solução para a identificação de inclusões em um meio. Nas figuras 4.30, 4.31 e 4.32 temos os resultados da soma para as inclusões feitas do material predominantemente absorvedor.

Figura 4.30 – Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de disco de 9,8 cm de diâmetro em diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.31 – Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de disco de 7,8 cm de diâmetro em diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.32 – Resultado da soma das imagens para os diferentes ângulos de incidência, com ajuste de intensidade e detecção da região de alteração com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 para o formato de quadrado em diferentes profundidades.

Fonte: Elaborada pela autora.

Nos resultados para todos os formatos é possível verificar que a área da alteração da refletância difusa devido ao objeto sofre aumento. Ao analisar a figura 4.33, que contém um gráfico da área calculada/área real pela profundidade, nota-se que existe um aumento em relação a área real, entre $[1, 1; 1, 7]$ vezes.

Figura 4.33 – Gráfico da relação área calculada/área real pela profundidade.

Fonte: Elaborada pela autora.

A figura 4.34 contém a visão tridimensional das bordas, esses gráficos dão uma visão

concisa do comportamento da refletância pela profundidade do objeto.

Figura 4.34 – Visão tridimensional das bordas obtidas da alteração da refletância. Na figura (a) temos o formato do disco de 9,8 mm de diâmetro, na (b) o formato de disco de 7,8 mm de diâmetro e na (c) temos o quadrado.

Fonte: Elaborada pela autora.

Percebe-se que nas duas inclusões de maiores dimensões que essa área tende a aumentar com a profundidade. Isso ocorre pois quanto mais profundo o objeto encontra-se, existe uma distância maior para os fótons incidentes serem espalhados no caminho para chegarem no objeto, o que torna o número de fótons absorvido devido a presença da inclusão, menor que os espalhados do caminho diminuindo o contraste. Assim, quando subtraímos da imagem controle a alteração se torna menos perceptível com o aumento da profundidade.

Essa alteração também vai ser dependente da dimensão do objeto, pois quanto maior a área de absorção, mais fótons serão absorvidos. Isso fica evidente para o caso do menor disco, já que para a maior profundidade, $h = 20$ mm, a área detectada pela rotina elaborada diminui.

Esse fato ocorre justamente porque a quantidade de fótons que chegaram é menor devido a profundidade e também a sua área de absorção ser menor, isso faz com que a quantidade de absorção seja menor que a espalhada no caminho até o objeto.

Para examinar a informação de formato foram feitos gráficos de $r(\theta)$ em coordenadas polares tomando como origem o centro de massa da borda normalizando as curvas, que estão expostos nas figuras 4.35, 4.36 e 4.37. Assim, temos como obter o número de pontos de inflexão da forma, que permite determinar o formato da curva.

Analisando uma curva que seja perfeitamente circular, temos que o raio deve ser constante em toda curva, assim, para os dois primeiros formatos a nossa comparação com o formato ideal será essa. Na figura 4.35 são exibidos os resultados para o caso do menor disco em diferentes profundidades com a luz incidindo em diversos ângulos.

Para esse caso, constatamos que em todas as situações em que a inclusão é localizada em uma profundidade de 10 mm, é verificada que a forma tem dois picos, ou seja, uma elipse, porém esses são pequenos, isso ocorre pela dificuldade que temos na detecção devido a informação sobre a presença do objeto se confundir com o decaimento no eixo x, como já discutido. Olhando para as outras profundidades percebemos que conforme essa aumenta, a curva torna-se mais irregular se distanciando do formato ideal. Esse comportamento se repete para o caso do disco com maior área de absorção.

Figura 4.35 – Visualização em coordenadas polares das bordas normalizadas obtidas no processamento para o formato de disco com 7,8 mm de diâmetro.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.36 – Visualização em coordenadas polares das bordas normalizadas obtidas no processamento para o formato de disco com 9,8 mm de diâmetro.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.37 – Visualização em coordenadas polares das bordas obtidas normalizadas no processamento para o formato de quadrado.

Fonte: Elaborada pela autora.

No caso em que a inclusão absorvedora é um quadrado, a tendência da perda da resolução do formato com a profundidade também é confirmada. Nesse, é importante dizer que para um caso ideal a curva do raio em função de θ deve ter quatro picos, que representam os vértices do quadrado.

Comparando todos os formatos, percebemos que com essa análise é possível dizer que na profundidade de 10 mm conseguimos distinguir a forma da inclusão absorvedora, o que pode ajudar a compreender a composição do que há no interior de um meio espalhador. Já para os ângulos de incidência não foi possível evidenciar nenhuma relação quanto forma, porém, quando analisamos o resultado da soma dos ângulos, constatamos uma melhor resolução de forma.

4.2.2 Estudo da influência da distância da fonte de luz ao objeto para diferentes ângulos de incidência

Verificada a possibilidade da detecção de inclusões no meio para uma distância fonte-objeto (r) de aproximadamente 15 mm, foi feita a avaliação de como essa distância altera a detecção da presença da inclusão. Para isso, foi fixada a profundidade da inclusão ($h = 10$ mm), o formato geométrico (disco de 9,8 mm de diâmetro), material absorvedor (filtro óptico) e então realizada as medidas para os diferentes ângulos de incidência com r variando. Nas figuras 4.38 e 4.39 temos os resultados do processamento com a subtração pelo controle, múltiplos ajustes de contraste e detecção de bordas para os dois ângulos de incidências extremos, $\alpha = 55^\circ$ e $\alpha = 40^\circ$.

Figura 4.38 – Delineamento da inclusão absorvedora (disco em filtro óptico de 9,8 mm de diâmetro) com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 após processamento de imagens, para $\alpha = 55^\circ$, para as diferentes distâncias fonte-objeto (r).

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.39 – Delineamento da inclusão absorvedora (disco em filtro óptico de 9,8 mm de diâmetro) com suas respectivas áreas (linha em vermelho com numeração ao lado) em mm^2 após processamento de imagens, para $\alpha = 40^\circ$, para as diferentes distâncias fonte-objeto (r).

Fonte: Elaborada pela autora.

Em ambos os casos foi possível a detecção da presença da inclusão, isso ocorreu pois a profundidade escolhida foi a de 10 mm, que em medidas previa, já havia mostrado a possibilidade da identificação. Porém, ficou evidente que para detecção mais exata existe a necessidade de que haja uma distância mínima do feixe de incidência em relação à inclusão, pois na região em que o feixe está presente na imagem há uma saturação, assim não é possível fazer pequenas distinções.

Outro fato observado é que foi possível fazer a identificação da inclusão mesmo para o caso em que esse se encontrava atrás do feixe, ou seja, posições negativas. Isso se dá ao fato de que há uma pequena porcentagem de fótons que se espalham para trás e podem ser absorvidos pela inclusão e então detectados pelo algoritmo elaborado nesse trabalho. Esse tipo de incidência pode ser útil, pois como a porcentagem de fótons espalhados é menor, a chance de haver saturação se torna menor.

Por fim, confirmando as medidas anteriores constatamos que para a profundidade de 10 mm o ângulo de incidência menor foi o que melhor mostrou a presença da inclusão na superfície. Esse fato como dito anteriormente ocorre devido aos efeitos de interface.

4.3 Objeto predominantemente absorvedor em *phantom* túrbido

Com a intenção de validar os resultados obtidos em meios com maior semelhança ao tecido biológico, foram realizadas medidas com a inclusão do disco em filtro óptico de 9,8 mm de diâmetro, o mesmo usado na seção 4.2, com a mesma fonte de luz e configurações da subseção 4.2.1. Na aquisição foram feitos pequenos ajustes nos parâmetros, já que o meio também é absorvedor e então foi necessário o aumento da exposição da câmera. Nas figuras 4.40 e 4.41 estão apresentados os perfis medidos para os casos controle e inclusão na profundidade de 10 mm.

Figura 4.40 – Perfil da distribuição de luz para o caso controle para os diferentes ângulos de incidência.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4.41 – Perfil da distribuição de luz para o caso em que a inclusão é disco de 9,8 mm de diâmetro feito de filtro óptico para os diferentes ângulos de incidência.

Fonte: Elaborada pela autora.

Como pode-se ver, nos perfis de distribuição de luz, não é possível a identificação visual de alguma alteração na refletância devido a presença da inclusão. Assim, realizamos o processamento com o algoritmo final para o aumento de contraste e detecção de borda, esses resultados estão apresentados na figura 4.42.

Figura 4.42 – Processamento da subtração pelo controle com ajuste de intensidade para o disco de 9,8 mm de diâmetro.

Fonte: Elaborada pela autora.

O resultado do processamento não foi satisfatório, não sendo possível a identificação da inclusão. Assim, para averiguar se de fato não havia diferença entre a presença ou não da inclusão, analisamos o caso em que se soma as imagens obtidas para cada ângulo de incidência, construindo um gráfico em escala logaritma do perfil de intensidade de luz pelo eixo y para a região central do objeto, figura 4.43.

Figura 4.43 – Perfil de intensidade da luz pelo eixo y na região em que a inclusão se encontra para a imagem resultante da soma dos ângulos de incidência em escala logaritma em y.

Fonte: Elaborada pela autora.

Nesse decaimento foi possível notar um pequeno deslocamento para baixo do perfil de intensidade em relação ao controle para o caso $h = 10$ mm, esse deslocamento pode ser usado para dizermos que há uma heterogeneidade absorvedora no meio, porém como essa diferença não é significativa não podemos afirmar a sua dimensão e nem sua forma.

Para o caso do meio túrbido, não obtivemos resultados tão significativos quanto no caso do meio espalhador. Existem várias razões para que isso aconteça, desde uma aquisição não eficiente, devido a presença de muitos ruídos pela alta exposição, até ao comprimento de onda utilizado ser absorvido antes dos fótons chegarem à inclusão.

Portanto, é possível realizar alterações no sistema, como o melhor ajuste dos parâmetros de aquisição ou, até mesmo, a utilização de uma câmera mais eficiente. Outro ajuste possível, seria o uso de um laser no comprimento de onda na região do infravermelho, na qual há pouco absorção pelo meio, evidenciando melhor a região da inclusão.

CAPÍTULO 5

Conclusão

Os experimentos conduzidos neste trabalho, permitiram melhorar o conhecimento envolvendo a propagação da luz em um meio altamente espalhador e contendo inclusões absorvedoras. O desenvolvimento de um algoritmo para analisar as imagens de refletância difusa adquiridas na superfície do *phantom*, permitiram identificar, até certo ponto, a presença da inclusão absorvedora e também a sua forma.

Em *phantom* espalhador com uma concentração de 0,5% em volume de Lipofundim[®], foi possível fazer a detecção das inclusões absorvedoras a uma profundidade de 10 mm, com boa resolução de forma, para os dois materiais absorvedores utilizados: um parcialmente (EVA) e outro predominantemente absorvedor (filtro óptico). Já, para maiores profundidades, vários parâmetros interferiram no resultado, como material absorvedor, a dimensão da área de absorção e o ângulo de incidência da luz utilizada.

Quando comparados os materiais utilizados para simular as heterogeneidades, notou-se que o material EVA se mostrou menos capaz, do que o filtro óptico no visível, de transmitir a informação referente a absorção até a superfície. Assim, para o caso do EVA, percebeu-se que a existência da inclusão foi detectada na maior parte dos casos até a profundidade de 15 mm, salvo o caso em que foi colocada a inclusão em formato de elipse com o seu eixo maior da direção y, em que foi possível detectar o corpo até a profundidade de 20 mm.

Entretanto, nas situações em que foi utilizado o filtro óptico, foi possível a detecção de objetos até a profundidade de 20 mm. Notou-se também que, com o aumento da profundidade, houve uma dispersão dos fótons absorvidos, o que gerou um aumento na área detectada em relação ao original.

Os resultados mostraram também a importância do ângulo de incidência da luz para a detecção, já que o ângulo de incidência da luz influencia na profundidade de alcance, mostrando que para maiores ângulos foi possível a detecção de objetos mais profundos, enquanto os menores ângulos exibem melhor detecção de objetos superficiais.

Assim, foi proposto o método de soma de imagens para a incidência de luz em diferentes ângulos, e esse se mostrou eficiente para a detecção das inclusões. De forma geral, esse

método consiste em realizar uma medida controle, com a incidência em qualquer ângulo, depois fazer imagens de refletância de uma fonte de luz contínua incidindo com vários ângulos. Essas imagens então, são somadas e depois subtraídas pela imagem controle, que passará por múltiplos ajustes de contraste e então, exibe a área em que há alteração na refletância. A figura 5.1 mostra um esquema geral desse processo.

Figura 5.1 – Esquema do processamento proposto.

Fonte: Elaborada pela autora.

Quando analisados a importância da distância fonte-objeto, percebeu-se que essa pode alterar a detecção devido ao fato de que para pequenas distâncias fonte-objeto, a saturação impede que objeto seja detectado com exatidão. Assim, com as medidas realizadas, concluiu-se que a distância ideal para detecção está no intervalo $[10; 25]$ mm.

Nas medidas feitas para o caso do *phantom* turbido, não se obteve sucesso, por causa da impossibilidade de detectar alterações significativas nas imagens. Porém, quando analisado os perfis de intensidade luminosa pelo eixo y para a profundidade de 10 mm, percebeu-se que a existência de uma leve alteração na região do objeto, o que sugere a presença da heterogeneidade.

Para a melhoria da técnica, como trabalho futuro é necessário a variação de parâmetros utilizados (diâmetro do laser, comprimento de onda, e forma de aquisição) para verificar a possibilidade da otimização dos resultados. Também, ainda é necessário a realização de testes *ex vivo* e *in vivo* para comprovação da aplicação biomédica da técnica.

Portanto, como resultado geral pode-se dizer que a medida de refletância difusa na superfície, com uma instrumentação simples e de baixo custo, pode fornecer informação sobre a presença de heterogeneidades macroscópicas em meios espalhadores e até mesmo características simples de suas geometrias.

REFERÊNCIAS

- 1 BAGNATO, V. S. *Novas técnicas ópticas para as áreas da saúde*. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2008.
- 2 CARLSON, E. *Wave-particle duality: light*. Disponível em: <http://www.physnet.org/modules/pdf_modules/m246.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2016. 2000.
- 3 NUSSENZVEIG, H. M. *Curso de física básica: óptica, relatividade e física quântica*. São Paulo: Edgar Blücher, 1998, v. 4.
- 4 NIEMZ, M. H. *Laser-tissue interactions: fundamentals and applications*. New York: Springer Science & Business Media, 2013.
- 5 RICCI, R. W.; DITZLER, M.; NESTOR, L. P. Discovering the Beer-Lambert law. *Journal of Chemical Education*, v. 71, n. 11, p. 983, 1994. doi: 10.1021/ed071p983.
- 6 HUANG, Y.-Y.; CHEN, A. C.-H.; HAMBLIN, M. Low-level laser therapy: an emerging clinical paradigm. *SPIE Newsroom*, 2009. doi: 10.1117/2.1200906.1669.
- 7 ANDERSON, R. R.; PARRISH, J. A. The optics of human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 77, n. 1, p. 13–19, 1981.
- 8 JACQUES, S. L. ; PRAHL, S. A. Definition and units of scattering coefficient μ_s [cm⁻¹]. Disponível em: <<http://omlc.org/classroom/ece532/class3/musdefinition.html>>. Acesso em: 07 maio 2016.
- 9 JACQUES, S. L. ; PRAHL, S. A. Some biological scatterers. Disponível em: <<http://omlc.org/classroom/ece532/class3/scatterers.html>>. Acesso em: 20 jan. 2016.
- 10 JACQUES, S. L. Optical properties of biological tissues: a review. *Physics in Medicine and Biology*, v. 58, n. 11, p. R37, 2013.
- 11 CHEONG, W.; PRAHL, S.; WELCH, A. A review of the optical properties of biological. *IEEE J. Quantum Electronics*, v. 26, p. 2166–2185, 1990.
- 12 REYNOLDS, L.; MCCORMICK, N. Approximate two-parameter phase function for light scattering. *Journal of the Optical Society of America*, v. 70, n. 10, p. 1206–1212, 1980.

- 13 ISHIMARU, A. *Wave propagation and scattering in random media*. New York: Academic Press, 1978.
- 14 HAMMERSLEY, J. *Monte Carlo methods*. New York: Springer Science & Business Media, 2013.
- 15 WILSON, B.; ADAM, G. A Monte Carlo model for the absorption and flux distributions of light in tissue. *Medical Physics*, v. 10, n. 6, p. 824–830, 1983.
- 16 FLOCK, S. T.; PATTERSON, M. S.; WILSON, B. C.; WYMAN, D. R. Monte Carlo modeling of light propagation in highly scattering tissues. I. model predictions and comparison with diffusion theory. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, v. 36, n. 12, p. 1162–1168, 1989.
- 17 ZHU, C.; LIU, Q. Review of Monte Carlo modeling of light transport in tissues. *Journal of Biomedical Optics*, v. 18, n. 5, p. 050902, 2013.
- 18 FANG, Q.; BOAS, D. A. Monte Carlo simulation of photon migration in 3D turbid media accelerated by graphics processing units. *Optics Express*, v. 17, n. 22, p. 20178–20190, 2009.
- 19 TSENG, S.-H.; GRANT, A.; DURKIN, A. J. In vivo determination of skin near-infrared optical properties using diffuse optical spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics*, v. 13, n. 1, p. 014016, 2008.
- 20 BOAS, D. A.; BROOKS, D. H.; MILLER, E. L.; DIMARZIO, C. A.; KILMER, M.; GAUDETTE, R. J.; ZHANG, Q. Imaging the body with diffuse optical tomography. *IEEE of Signal Processing Magazine*, v. 18, n. 6, p. 57–75, 2001.
- 21 NISSILÄ, I.; NOPONEN, T.; HEINO, J.; KAJAVA, T.; KATILA, T. Diffuse optical imaging. In: LIN, J. C. (Ed.). *Advances in electromagnetic fields in living systems*. New York: Springer, 2005. v. 4, p. 77–129.
- 22 CERUSSI, A.; SHAH, N.; HSIANG, D.; DURKIN, A.; BUTLER, J.; TROMBERG, B. J. In vivo absorption, scattering, and physiologic properties of 58 malignant breast tumors determined by broadband diffuse optical spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics*, v. 11, n. 4, p. 044005, 2006.
- 23 CHENG, X.; BOAS, D. A. Diffuse optical reflection tomography with continuous-wave illumination. *Optics Express*, v. 3, n. 3, p. 118–123, 1998.
- 24 WANG, L.; JACQUES, S. L. Use of a laser beam with an oblique angle of incidence to measure the reduced scattering coefficient of a turbid medium. *Applied Optics*, v. 34, n. 13, p. 2362–2366, 1995.

- 25 JUTTULA, H. J.; KANANEN, T. P.; MAKYNEN, A. J. Instrument for measurement of optical parameters of turbid media by using diffuse reflectance of laser with oblique incidence angle. *IEEE Instrumentation and Measurement*, v. 63, n. 5, p. 1301–1309, 2014.
- 26 GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. *Processamento de imagens digitais*. São Paulo: Edgard Blücher, 2000.
- 27 JANESICK, J. R. *Scientific charge-coupled devices*. Bellingham: SPIE Publications, 2001.
- 28 KANG, S.-M.; LEBLEBICI, Y. *CMOS digital integrated circuits*. California: Tata McGraw-Hill Education, 2003.
- 29 TELEDYNE DALSA. CCD vs. CMOS. Disponível em: <<https://www.teledynedalsa.com/imaging/knowledge-center/appnotes/ccd-vs-cmos/>>. Acesso em: 08 maio 2016.
- 30 WAN, S. K.; GUO, Z.; KUMAR, S.; ABER, J.; GARETZ, B. A. Detecting inhomogeneity in a turbid medium. Disponível em: <http://coewww.rutgers.edu/radiation/Conference%20Papers/CP_31.pdf>. Acesso em: 10 maio 2016.
- 31 BASSI, A.; D'ANDREA, C.; VALENTINI, G.; CUBEDDU, R.; ARRIDGE, S. Detection of inhomogeneities in diffusive media using spatially modulated light. *Optics Letters*, v. 34, n. 14, p. 2156–2158, 2009.
- 32 DI ROCCO, H.; IRIARTE, D.; LESTER, M.; POMARICO, J.; RANEA-SANDOVAL, H. CW laser transillumination in turbid media with cylindrical inclusions. *Optik-international journal for light and electron optics*, v. 122, n. 7, p. 577–581, 2011.
- 33 FLOCK, S. T.; JACQUES, S. L.; WILSON, B. C.; STAR, W. M.; VAN GEMERT, M. J. Optical properties of intralipid: a phantom medium for light propagation studies. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 12, n. 5, p. 510–519, 1992.
- 34 DI NINNI, P.; BÉRUBÉ-LAUZIÈRE, Y.; MARTELLI, F. Possible diffusive reference standards for tissue phantoms based on fat emulsions. *Proceedings of SPIE*, v. 8229, 2012. doi: 10.1117/12.908621.
- 35 MADSEN, S. J.; PATTERSON, M. S.; WILSON, B. C. The use of India ink as an optical absorber in tissue-simulating phantoms. *Physics in Medicine and Biology*, v. 37, n. 4, p. 985, 1992.
- 36 MAGNES, J.; ODERA, D.; HARTKE, J.; FOUNTAIN, M.; FLORENCE, L.; DAVIS, V. Quantitative and qualitative study of Gaussian Beam visualization techniques. Disponível em: <<http://arxiv.org/pdf/physics/0605102v1.pdf>>. Acesso em: 11 maio 2016.

- 37 POINT GREY. *Firefly® MV technical reference manual*. Disponível em: <https://www.ptgrey.com/support/downloads/10116>. Acesso em: 21 mar. 2016.
- 38 OTSU, N. A threshold selection method from gray-level histograms. *Automatica*, v. 11, n. 285-296, p. 23–27, 1975.
- 39 FENG, S.; ZENG, F.-A.; CHANCE, B. Photon migration in the presence of a single defect: a perturbation analysis. *Applied Optics*, v. 34, n. 19, p. 3826–3837, 1995.