AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ANÁLISE DE SINAIS DE TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA: EQUAÇÃO
LIDAR E MÉTODOS DE INVERSÃO**

MARCELLO MAGRI AMARAL

Tese apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Doutor em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Materiais

Orientador:
Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas

São Paulo
2012

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

ANÁLISE DE SINAIS DE TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA: EQUAÇÃO
LIDAR E MÉTODOS DE INVERSÃO

MARCELLO MAGRI AMARAL

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau
de Doutor em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais

Orientador: Prof. Dr. Anderson
Zanardi de Freitas

SÃO PAULO

2012

Agradecimentos

Agradeço,

Ao Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas pela orientação neste trabalho, pela confiança em mim depositada e amizade em todos os momentos.

Ao IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares) pela oportunidade e por disponibilizar sua infra-estrutura para execução deste trabalho.

Ao Centro de Lasers e Aplicações pela oportunidade de realização do trabalho.

À CPG desta instituição por todo o apoio.

Às agências de fomento, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro através de bolsa a mim concedida no período de 2008 à 2010.

À Natura Inovação e Tecnologia de Produtos Ltda. por permitir e apoiar a conclusão desta Tese.

A meus pais Adilson Amaral e Carla Teresa Magri Amaral, e irmãos Daniella Magri Amaral e Carlos Eduardo Magri Amaral (*in memoriam*), por sempre acreditar em meu potencial.

Ao amigos Marcus Paulo Raele e Daniela Morales Tolentino Leite (mesmo a distância)

por terem me acompanhado durante esta jornada desde a graduação, e por proporcionarem momentos de alegria.

À Livia Aceto por caminhar a meu lado por grande parte desta jornada, proporcionando momentos de alegria.

A Dra. Patrícia Moreira pelo auxílio na revisão do trabalho e pelos momentos felizes na parte final desta jornada.

Aos amigos Thiago Cordeiro, Jozismar, Tiago Almeida (Zé Colmeia), Graziela Bento e todos que me acompanharam desde a graduação ou que foram se agregando com o decorrer do tempo e proporcionaram momentos de alegria.

Aos colegas de sala de alunos Moises dos Santos (Chico Butico), José Rabelo (Juca), Carolina Benetti (Carol) por proporcionarem boas risadas.

Aos agentes de segurança Luiz e Rubens, por manter o astral sempre alto na portária garantindo nossa segurança psicológica.

A todos os colegas e funcionários do Centro de Lasers e Aplicações pelo apoio e consideração.

ANÁLISE DE SINAIS DE TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA: EQUAÇÃO LIDAR E MÉTODOS DE INVERSÃO

MARCELLO MAGRI AMARAL

RESUMO

A Tomografia por Coerência Óptica (OCT) baseia-se na propriedade de retroespalhamento dos meios para construir imagens tomográficas do interior das amostras. De maneira similar, a técnica LIDAR (Light Detection and Range) faz uso desta propriedade para determinar as características da atmosfera, em especial o coeficiente de extinção do sinal. Explorar esta similaridade permitiu aplicar métodos de inversão utilizados na técnica LIDAR às imagens OCT, permitindo construir imagens de coeficiente de extinção, resultado inédito até o momento. Este trabalho teve o objetivo de estudar, propor, desenvolver e implementar algoritmos de métodos de inversão do sinal OCT para determinação do coeficiente de extinção em função da profundidade. Foram utilizados três métodos de inversão, da inclinação, do ponto de contorno e da profundidade óptica, com implementação em ambiente LABView[®]. Estudo dos erros associados aos métodos de inversão foi realizado e, amostras reais (homogêneas e estratificadas) foram utilizadas para análises em uma e duas dimensões. As imagens de coeficiente de extinção obtidas pelo método da profundidade óptica claramente foram capazes de diferenciar o ar da amostra. As imagens foram estudadas empregando PCA e análise de *clusters* que avaliou a robustez da técnica em determinar o valor do coeficiente de extinção da amostra. Além disso, o método da profundidade óptica proposto foi empregado para estudar a hipótese de que existe correlação entre o coeficiente de extinção do sinal e a desmineralização de esmalte dental durante o processo cariogênico. Com a aplicação desta metodologia foi possível observar a variação do coeficiente de extinção em função da profundidade e sua correlação com a variação da microdureza, além de mostrar que em camadas mais profundas o valor do coeficiente de extinção valor tende ao de um dente sadio, comportando-se da mesma maneira que a microdureza do dente.

Palavras chave: Tomografia por Coerência Óptica, OCT, LIDAR, métodos de inversão.

OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY SIGNAL ANALYSIS: LIDAR LIKE EQUATION AND INVERSE METHODS

MARCELLO MAGRI AMARAL

ABSTRACT

Optical Coherence Tomography (OCT) is based on the media backscattering properties in order to obtain tomographic images. In a similar way, LIDAR (Light Detection and Range) technique uses these properties to determine atmospheric characteristics, specially the signal extinction coefficient. Exploring this similarity allowed the application of signal inversion methods to the OCT images, allowing to construct images based in the extinction coefficient, original result until now. The goal of this work was to study, propose, develop and implement algorithms based on OCT signal inversion methodologies with the aim of determine the extinction coefficient as a function of depth. Three inversion methods were used and implemented in LABView®: slope, boundary point and optical depth. Associated errors were studied and real samples (homogeneous and stratified) were used for two and three dimension analysis. The extinction coefficient images obtained from the optical depth method were capable to differentiate air from the sample. The images were studied applying PCA and cluster analysis that established the methodology strength in determining the sample's extinction coefficient value. Moreover, the optical depth methodology was applied to study the hypothesis that there is some correlation between signal extinction coefficient and the enamel teeth demineralization during a cariogenic process. By applying this methodology, it was possible to observe the variation of the extinction coefficient as depth function and its correlation with microhardness variation, showing that in deeper layers its values tends to a healthy tooth values, behaving as the same way that the microhardness.

Key words: Optical Coherence Tomography, OCT, LIDAR, inverse methods.

Sumário

1	ESTADO DA ARTE	12
2	INTRODUÇÃO TEÓRICA	17
2.1	Interferometria de Baixa Coerência	17
2.2	FD-OCT	22
2.3	Modelamento de meios espalhadores - LIDAR	25
3	OBJETIVO	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	Determinação do coeficiente de extinção em função da profundidade	31
4.2	Amostras	36
4.3	Equipamento OCT	43
5	RESULTADOS	44
5.1	Implementação dos métodos de inversão	44
5.2	Processamento do sinal	45
5.3	Avaliação do erro associado ao método de inversão (Sinal Simulado)	47
5.4	Caracterização do sistema OCT - Hardware	51
5.4.1	Formato (unidade de intensidade) da imagem	51
5.4.2	Ruído de Fundo (BG)	51
5.4.3	Ruído de Speckle	53
5.4.4	Decaimento do sinal com a distância - Curva de calibração	54
5.4.5	Curva de calibração	57
5.5	Protocolo Final de aquisição e análise	58

5.6	Resultados experimentais das soluções	59
5.6.1	Aplicação para análise de perfil 1D	59
5.6.2	Aplicação dos métodos de inversão a imagens (2D)	65
5.6.3	Amostras em Camadas (Mudanças bruscas de meio)	66
5.7	Estudo aplicado: Correlação entre Microdureza e Coeficiente de Extinção .	73
6	CONCLUSÕES	82
	APÊNDICE	85
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

Lista de Figuras

1.1	Exemplo de imagem da palma da mão gerada pela técnica OCT	13
1.2	Comparação da técnica OCT com outras técnicas de imagem (<i>AFM, Microscopia de Força Atômica; AOH, Histologia Óptica; BL, Bioluminescencia; FL, Microscopia de Fluorescencia; MEG, Magnetoencefalografia; MRI, Imagem de Resonância Magnética Funcional; PET, Tomografia por Emissão de Positron; TIR-FM, Microscopia de Fluorescencia por Reflexão Interna Total; US, Ultrasom.</i>) - Retirado de [34]	14
2.1	Interferômetro de Michelson	18
2.2	FDOCT (<i>Fourier Domain Optical Coherence Tomography</i>) baseado Interferômetro de Michelson, elemento dispersivo substituindo detector. . .	23
2.3	Representação esquemática do espalhamento da radiação eletromagnética .	26
4.1	Imagem da amostra e OCT da amostra de (a-d) Espelho de ouro, (b-e) lâmina de microscópio (vidro) e (c-f) gota d'água	37
4.2	Imagem da amostra e OCT da amostra de (a-c) Fita adesiva transparente, (b-d) Fita dupla-face	38
4.3	Imagem da amostra e OCT da amostra Homogêneas de (a-d) Alumina, (b-e) Plástico Amarelo (c-f) Plástico Branco	40
4.4	Amostras de Papel Vegetal (a-b) A (c-d) AA.	41
4.5	Amostras de Papel Vegetal (a-b) B (c-d) BB.	42
4.6	Amostras de Papel Vegetal (a-b) AB, (a-c) BA.	42
4.7	Equipamento OCT Thorlabs 930.	43

5.1	Macro etapas presentes em todos os programas desenvolvidos	45
5.2	Algoritmo implementado para o método da inclinação	46
5.3	Algoritmo implementado para o método do ponto de contorno	46
5.4	Algoritmo implementado para o método da profundidade óptica	47
5.5	Sinal retroespalhamento simulado	48
5.6	Erro percentual associado ao método da profundidade óptica.	49
5.7	Erro percentual associado ao método do ponto de contorno.	50
5.8	Representação esquemática da caracterização do ruído de fundo.	52
5.9	Análise do ruído de fundo (BG) médio calculado diretamente sobre o sinal adquirido em dB, após conversão do sinal para u.a. variando-se o foco da lente objetiva.	53
5.10	Montagem das imagens do substrato de vidro, variando-se a distância, utilizado para caracterização do sistema.	55
5.11	Variação da intensidade do sinal detectado pelo sistema OCT em função da distância	56
5.12	Curva de calibração para o sistema OCT	58
5.13	Descrição esquemática do protocolo de aquisição e análise das imagens OCT	59
5.14	(a) Média de 2000 imagens e (b) descontado o BG e corrigido o decaimento do sinal.	60
5.15	Decaimento médio (1D) das amostras de Alumina e Plástico A e B	61
5.16	Ajustes Lineares, métodos da inclinação para as três amostras 1D	62
5.17	Soluções para os métodos de inversão da inclinação (SM), do ponto de contorno (BP) e da profundidade óptica (OD) da amostra de Plástico B. .	63
5.18	Soluções para os métodos de inversão da inclinação (SM), do ponto de contorno (BP) e da profundidade óptica (OD) da amostra de Plástico A. .	64
5.19	Soluções para os métodos de inversão da inclinação (SM), do ponto de contorno (BP) e da profundidade óptica (OD) da amostra de Alumina. . .	65
5.20	Exemplo de Imagens OCT do Papel Vegetal (a) 1 camada e (b) 2 camadas; sinal de entrada dos métodos de inversão.	66

5.21	Imagem de coeficiente de extinção do papel vegetal (a) 1 camada A, (b) 2 Camadas A, (c) 2 camadas AB, (d) 1 camada B, (e) 2 camadas B, (f) 2 camadas BA, obtidos pelo método profundidade óptica.	67
5.22	Imagem de coeficiente de extinção do papel vegeta A (a) 1 camada e (b) 2 camadas.	68
5.23	Imagens Papel Vegetal A, limiarizada de coeficiente de extinção (a) 1 camada, (e) 2 camadas; análise de cluster com 2, 3 e 20 grupos (b, c, d) 1 camada e (f, g, h) 2 camadas.	70
5.24	Imagens Papel Vegetal B, limiarizada de coeficiente de extinção (a) 1 camada, (e) 2 camadas; análise de cluster com 2, 3 e 20 grupos (b, c, d) 1 camada e (f, g, h) 2 camadas.	71
5.25	Imagens 2 camadas limiarizada de coeficiente de extinção (a) Papel Vegetal A-B, (e) Papel Vegetal B-A; análise de cluster com 2, 3 e 20 grupos (b, c, d) Papel Vegetal A-B e (f, g, h) Papel Vegetal B-A.	72
5.26	Coeficiente de extinção e a microdureza dos dentes sem tratamento, grupo controle.	75
5.27	Coeficiente de extinção e a microdureza dos dentes após 7 dias tratamento desmineralizante, grupo G1.	76
5.28	Coeficiente de extinção e a microdureza dos dentes após 14 dias tratamento desmineralizante, grupo G2.	77
5.29	Coeficiente de extinção e a microdureza dos dentes após 21 dias tratamento desmineralizante, grupo G3.	78
5.30	Comparação entre grupos tratados e não tratados.	79
5.31	Análise de componentes principais dos grupo controle, 7, 14, 21 dias de desmineralização (G1, G2, G3, respectivamente).	80
5.32	Análise de cluster hierárquico (HCA) dos grupo controle, 7, 14, 21 dias de desmineralização (G1, G2, G3, respectivamente).	81
A.1	Algoritmo do método da inclinação implementado em ambiente Labview®.	86
A.2	Algoritmo do método da profundidade óptica implementado em ambiente Labview®.	87

A.3 Algoritmo do método do ponto de contorno implementado em ambiente

Labview [®]	88
--------------------------------	----

Lista de Tabelas

5.1	Coeficiente de Extinção obtido pelo método da inclinação.	62
-----	---	----

Capítulo 1

ESTADO DA ARTE

A Tomografia por Coerência Óptica, ou OCT do acrônimo do inglês *Optical Coherence Tomography*, foi desenvolvida em 1991, por Huang *et al* [1], no grupo liderado por J. Fujimoto. Neste trabalho foi proposta uma metodologia de tomografia baseada em interferometria de baixa coerência fundamentada em trabalhos anteriores de reflectometria óptica no domínio da coerência (OCDR)[2, 3]. Esta técnica, OCDR, foi originariamente desenvolvida para detectar falhas em fibras ópticas, mas sua habilidade de diferenciar as estruturas do olho [4] e outros tecidos biológicos [5, 6], foi logo reconhecida.

OCT é uma técnica de diagnóstico que produz imagens de corte de uma seção transversal com alta resolução espacial permitindo a diferenciação e identificação de microestruturas internas de tecidos [1, 7, 8] tendo suas primeiras aplicações em medicina reportadas há cerca de duas década [9, 11–13, 19].

A capacidade da técnica de OCT realizar imagens microscópicas de estruturas de tecidos, explorando a curta coerência temporal das fontes de grande largura de banda espectral, vão além do alcance dos microscópios ópticos confocais tradicionais, pois têm atingido profundidades de até 2cm em tecidos transparentes, como o olho humano e embriões de sapos [15, 16].

Na pele e em outros tecidos altamente espalhadores, a técnica OCT permite construir imagens de pequenos vasos sanguíneos e outras estruturas numa faixa de $1 - 2\text{mm}$ abaixo da superfície [17]. Estas imagens (como o exemplo da figura 1.1), que são mapas topográficos obtidos pela técnica OCT, são apresentadas em esquemas de falsas cores para facilitar sua interpretação. Nas imagens geradas, as cores claras correspondem a áreas de

alto sinal de retroespalhamento, enquanto que cores escuras representam áreas de baixo sinal de retroespalhamento. O processo de construção das imagens OCT será descrito detalhadamente no Capítulo 2.

Figura 1.1: Exemplo de imagem da palma da mão gerada pela técnica OCT

A aplicação da interferometria de baixa coerência como ferramenta de diagnóstico por imagem é relativamente recente, entretanto a teoria já estava, em parte, desenvolvida há aproximadamente um século, por Albert Abraham Michelson em estudos da interferometria de luz branca [14].

A técnica OCT apresenta vantagens quanto a resolução longitudinal e profundidade de penetração com simplicidade e baixo custo quando comparada às outras técnicas de imagem. A Figura 1.2 extraída de um artigo publicado na Nature [34] demonstra como é possível comparar o OCT com as técnicas de diagnóstico por imagem amplamente utilizadas (*AFM*, *Atomic-Force Microscopy*; *AOH*, *All-Optical Histology*; *BL*, *Bioluminescence*; *FL*, *Fluorescence Microscopy at Visible Wavelengths*; *MEG*, *Magnetoencephalography*; *MRI*, *Functional Magnetic Resonance Imaging*; *PET*, *Positron Emission Tomography*; *TIR-FM*, *Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy*; *US*, *Ultrasound*).

Figura 1.2: Comparação da técnica OCT com outras técnicas de imagem (*AFM*, *Microscopia de Força Atômica*; *AOH*, *Histologia Óptica*; *BL*, *Bioluminescência*; *FL*, *Microscopia de Fluorescência*; *MEG*, *Magnetoencefalografia*; *MRI*, *Imagem de Resonância Magnética Funcional*; *PET*, *Tomografia por Emissão de Positron*; *TIR-FM*, *Microscopia de Fluorescência por Reflexão Interna Total*; *US*, *Ultrassom*.) - Retirado de [34]

Nota-se pela figura 1.2 que cada técnica possui seu campo de atuação, porém para algumas aplicações a técnica OCT apresenta vantagens. Comparado-a com a técnica de Ultrassom (*US*), a técnica OCT é capaz de atingir maior resolução para a mesma profundidade de penetração. Comparada as técnicas de histologia óptica (*AOH*) a técnica OCT apresenta a vantagem de realizar imagens similares aos cortes histológicos porém

de forma não invasiva, qualidade essencial para aplicações *in vivo*, como em oftalmologia por exemplo. Além disso, a técnica OCT utiliza radiação não ionizante, não é necessário realizar preparação da amostra a ser analisada. A relativa simplicidade e baixo custo dos equipamentos, nos quais os sistemas de OCT estão baseados, são outras vantagens importantes.

Atualmente a técnica OCT vem sendo empregada, com maior ou menor grau de maturidade, em diversas áreas da saúde além da oftalmologia, como: dermatologia [41, 42], oncologia [44, 45], cardiologia [43, 47] e odontologia [37, 39], por exemplo. Além disso, aplicações não biológicas vem sendo demonstradas devido as vantagens apresentadas [55].

Apesar deste grande número de atrativos, existem vários desafios relacionados à técnica que precisam ser superados. Atrás da simplicidade do sistema de OCT existem questões complicadas relacionadas à geração e interferência de campos ópticos parcialmente coerentes e como esses campos se propagam em tecidos biológicos [44, 46].

Igualmente importantes são as questões relacionadas à construção de interferômetros de varredura rápida para aquisição de imagens em tempo real [18] e sistemas de detecção [19], além de métodos para melhoria do contraste das imagens através de processamento de sinais [20, 21].

Na maioria das aplicações em tomografia por coerência óptica, a variação espacial da seção de choque de espalhamento é a primeira fonte de contraste para a construção das imagens. Vários trabalhos vêm sendo publicados com diversas abordagens para o aumento do contraste nas imagens OCT, como a utilização de nano partículas [22–24], a tentativa inicial de diferenciação molecular [25, 26] utilizando uma técnica *pump-probe* associada, contraste por espectroscopia de retroespalhamento [27, 28].

Em princípio qualquer propriedade física que altere a amplitude, fase ou polarização do sinal proveniente da amostra quando submetida a uma análise por OCT pode ser utilizada para extração de informações sobre as propriedades da mesma.

A medida das propriedades ópticas de tecidos biológicos de forma não invasiva são necessárias para diagnósticos médicos, como a distinção entre um tecido normal e alterado na pele [42, 45]. A vantagem desta medida utilizando a técnica OCT é que esta pode ser feita de forma não invasiva e *in vivo* com alta resolução lateral e em profundidade.

Neste sentido, alguns trabalhos mostraram a possibilidade do uso do sinal OCT para

determinar características físicas das amostras, como o coeficiente de extinção médio da mesma [29, 30, 54]. Porém nenhum trabalho utilizou esta abordagem quando o coeficiente muda ao longo do caminho óptico devido a uma característica da própria amostra ou a descontinuidade da mesma.

Capítulo 2

INTRODUÇÃO TEÓRICA

Inicialmente será apresentada a construção teórica necessária para o entendimento do funcionamento do OCT, partindo da interferometria entre ondas com um único comprimento de onda, e então generalizando para o caso da utilização de um espectro contínuo de frequências. A seguir, será mostrada a similaridade entre o retroespalhamento utilizado pela técnica OCT para a construção de imagens e o sinal de retroespalhamento utilizado pela técnica LIDAR, serão apresentados também os métodos de inversão, como esta técnica trata este retroespalhamento e quais as características que podem ser determinadas utilizando este tratamento.

2.1 Interferometria de Baixa Coerência

A técnica OCT baseia-se na Interferometria de Baixa Coerência (também conhecida como Interferometria de Luz Branca) para, a partir do sinal de retroespalhamento da amostra, construir imagens tomográficas (em secção transversal) de uma amostra.

A Interferometria de Baixa Coerência, como seu nome sugere, é uma técnica interferométrica e utiliza um interferômetro de Michelson (Figura 2.1) em sua construção.

A radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte, pode ser expressa em termos de seu campo elétrico E_f (equação 2.1), entra no interferômetro de Michelson e incide sobre um divisor de feixe. O divisor de feixe, por sua vez, divide a radiação em duas partes, que são direcionadas aos, assim chamados, braço de referência (E_r) e braço da amostra (E_A). Se utilizarmos um divisor de feixe que o divida em partes iguais (50:50), tem-se então as

equações 2.2 e 2.3.

Figura 2.1: Interferômetro de Michelson

$$E_f(x_f) = E_{fo} e^{i\left(\frac{\omega}{c}x_f\right)} \quad (2.1)$$

$$E_A(x_A) = \sqrt{1/2} E_{fo} e^{i\left(\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A\right)} \quad (2.2)$$

$$E_r(x_r) = \sqrt{1/2} E_{fo} e^{i\left(\frac{\omega}{c}x_r\right)} \quad (2.3)$$

A componente E_r atinge o espelho de referência, é refletida e retorna para o divisor de feixe. A componente E_A atinge a amostra e sofre espalhamento, somente a componente retroespalhada pela amostra retorna pelo mesmo caminho óptico chegando ao divisor de feixe.

A quantidade de radiação que retorna ao divisor de feixe é proporcional à capacidade do espelho e da amostra em refletir ou retroespalhar esta radiação. Esta capacidade $R(x)$, em caso geral, varia em função da posição em profundidade dependendo das

características da amostra, e assume valores entre 0 e 1, onde 0 corresponde a ausência de reflexão e 1 a reflexão total. Assim, os campos refletido e retroespalhado sofrem uma modulação de amplitude. Além disso, como o campo pode ser refletido ou retroespalhado a diferentes profundidades, sendo campos resultantes iguais à soma infinitesimal dos campos provenientes das diferentes profundidades.

Os campos que retornam ao divisor de feixe são novamente divididos em duas partes, representados pelas equações 2.4 e 2.5. Para o espelho $R_r(x) = R_r\delta(x - x_0)$, onde R_r é a refletividade do espelho.

$$E_r(x_r) = \frac{1}{2}E_{fo} \int_0^\infty R_r\delta(x_r - x_0)e^{i(2\frac{\omega}{c}x_r)}dx_r = \frac{1}{2}E_{fo}R_re^{i(2\frac{\omega}{c}x_0)} \quad (2.4)$$

$$E_A(x_A) = \frac{1}{2}E_{fo} \int_0^\infty R_A(x_A)e^{i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)}dx_A \quad (2.5)$$

O fator 2 na exponencial vem do fato da radiação ir e voltar pelo mesmo caminho óptico. O campo no detetor (E_D) será então a soma dos campos provenientes da amostra e da referência.

$$E_D = E_r + E_A = \frac{1}{2}E_{fo}R_re^{i(2\frac{\omega}{c}x_0)} + \frac{1}{2}E_{fo} \int_0^\infty R_A(x_A)e^{i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)}dx_A \quad (2.6)$$

A intensidade no detector (I_D) é proporcional ao módulo quadrado do campo elétrico no detector E_D :

$$\begin{aligned} I_D &\propto |E_DE_D^*| = \left| \frac{1}{2}E_{fo}R_re^{i(2\frac{\omega}{c}x_0)} + \frac{1}{2}E_{fo} \int_0^\infty R_A(x_A)e^{i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)}dx_A \right|^2 = \\ &= \left(\frac{E_{fo}}{2} \right)^2 \left(R_re^{i(2\frac{\omega}{c}x_0)} + \int_0^\infty R_A(x_A)e^{i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)}dx_A \right) \left(R_re^{i(2\frac{\omega}{c}x_0)} + \int_0^\infty R_A(x_A)e^{i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)}dx_A \right)^* \end{aligned}$$

$$= \left(\frac{E_{fo}}{2} \right)^2 \left(R_r^2 + R_r e^{i(2\frac{\omega}{c}x_0)} \int_0^\infty R_A(x_A) e^{-i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)} dx_A + \int_0^\infty R_A(x_A) e^{i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)} dx_A R_r e^{-i(2\frac{\omega}{c}x_0)} + \right. \\ \left. + \int_0^\infty R_A(x'_A) e^{i(2\frac{\omega}{c}n(x'_A)x'_A)} dx'_A \int_0^\infty R_A(x_A) e^{-i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)} dx_A \right) =$$

$$= \left(\frac{E_{fo}}{2} \right)^2 \left(R_r^2 + R e \left(\int_0^\infty R_r R_A(x_A) e^{-i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)} e^{i(2\frac{\omega}{c}x_0)} dx_A \right) + \right. \\ \left. + \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{i(2\frac{\omega}{c}n(x'_A)x'_A)} e^{-i(2\frac{\omega}{c}n(x_A)x_A)} dx_A dx'_A \right) =$$

$$= \left(\frac{E_{fo}}{2} \right)^2 \left(R_r^2 + \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{-i(2\frac{\omega}{c}(n(x'_A)x'_A - n(x_A)x_A))} dx_A dx'_A + \right. \\ \left. + R e \left(\int_0^\infty R_r R_A(x_A) e^{-i(2\frac{\omega}{c}(n(x_A)x_A - x_0))} dx_A \right) \right) = \quad (2.7)$$

$$= \left(\frac{E_{fo}}{2} \right)^2 \left(R_r^2 + \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{-i(2\frac{\omega}{c}(n(x'_A)x'_A - n(x_A)x_A))} dx_A dx'_A + \right. \\ \left. + \int_0^\infty R_r R_A(x_A) \cos \left(2\frac{\omega}{c} (n(x_A)x_A - x_0) \right) dx_A \right) \quad (2.8)$$

os dois primeiros termos do lado direito da equação correspondem a intensidade DC do braço de referência e da amostra, respectivamente, e não carregam informação sobre o caminho óptico. O terceiro termo, oscilatório, é que carrega a informação útil para a geração de imagem OCT.

Ao utilizar uma fonte de espectro largo a equação 2.8 deve ser modificada de forma que contenha um número infinito de comprimentos de onda separados um do outro por um intervalo infinitesimal. A interferência só ocorre entre ondas eletromagnéticas de mesma frequência e a interferência total no detetor será igual à soma das componentes infinitesimais de frequência.

$$I_D = \int_0^\infty \left[\left(\frac{E_{fo}}{2} \right)^2 \left(R_r^2 + \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{-i(2\frac{\omega}{c}(n(x'_A)x'_A - n(x_A)x_A))} dx_A dx'_A + \right. \right. \\ \left. \left. + \int_0^\infty R_r R_A(x_A) \cos \left(2\frac{\omega}{c}(n(x_A)x_A - x_0) \right) dx_A \right) \right] d\omega = \quad (2.9)$$

$$= \int_0^\infty I_D(\omega) d\omega \quad (2.10)$$

onde $I_D(\omega)$ é intensidade no detetor para um dado valor de ω , sendo sua integral em ω igual a potência total no detetor I_D .

O campo proveniente do braço de referência e do braço da amostra, diferem apenas pelo caminho óptico, como expresso pelo termo de interferência (terceiro termo) da equação 2.8. Sendo t o tempo que a radiação leva para percorrer o caminho entre o divisor de feixe e o espelho de referência, e $t + \tau$ o tempo para percorrer o caminho óptico entre o divisor de feixe e a posição do centro espalhador na amostra, onde τ é o atraso temporal entre os dois braços do interferômetro. O termo de interferência da equação 2.8 pode então ser escrito como:

$$\int_0^\infty R_r R_A(x_A) \cos \left(2\frac{\omega}{c}(n(x_A)x_A - x_0) \right) dx_A = 2\text{Re}(\Gamma_{rA}(\tau)) \quad (2.11)$$

onde

$$\Gamma_{rA}(\tau) = \langle E_r(t) E_A^*(t + \tau) \rangle_T \quad (2.12)$$

A função $\Gamma_{rA}(\tau)$ é chamada de função de coerência ou função de correlação entre os campos E_r e E_A . Já a função

$$\Gamma_{AA}(\tau) = \langle E_A(t) E_A^*(t + \tau) \rangle_T \quad (2.13)$$

É conhecida como função de autocorrelação ou função de autocoerência. Da definição, pode-se deduzir que $\Gamma_{AA}(0) = I_A$ e $\Gamma_{rr}(0) = I_r$. Por conveniência utiliza-se a forma normalizada da função de correlação, chamada de grau de coerência parcial:

$$\gamma_{rA}(\tau) = \frac{\Gamma_{rA}(\tau)}{\sqrt{\Gamma_{rr}(0)\Gamma_{AA}(0)}} = \frac{\Gamma_{rA}(\tau)}{\sqrt{I_r I_A}} \quad (2.14)$$

A função $\gamma_{rA}(\tau)$ é, em geral, uma função complexa periódica em função de τ , logo obtêm-se padrão de interferência se o valor de $|\gamma_{rA}(\tau)|$ for diferentes de zero. $|\gamma_{rA}(\tau)|$ pode assumir qualquer valor entre 0 e 1, se o valor for igual a 1 diz-se que ocorreu coerência completa, se o valor for igual a 0 diz-se que ocorreu incoerência completa, já para valores entre 0 e 1 ocorre a coerência parcial.

$$|\gamma_{rA}(\tau)| = 1 \quad \text{coerência completa} \quad (2.15)$$

$$0 < |\gamma_{rA}(\tau)| < 1 \quad \text{coerência parcial} \quad (2.16)$$

$$\gamma_{rA}(\tau) = 0 \quad \text{incoerência completa} \quad (2.17)$$

2.2 FD-OCT

A tomografia por coerência óptica no domínio de Fourier, conhecido como FD-OCT (do inglês *Fourier Domain Optical Coherence Tomography*) utiliza no lugar do detetor um elemento dispersivo para análise espectral do sinal interferométrico (figura 2.2). Este elemento pode ser um espectrômetro ou um filtro de frequência sintonizável.

Figura 2.2: FDOCT (*Fourier Domain Optical Coherence Tomography*) baseado Interferômetro de Michelson, elemento dispersivo substituindo detector.

Podemos escrever a equação 2.8 como uma transformada de Fourier de $R_A(x_A)$. Neste caso é interessante escrever a equação como função de k (número de onda) ao invés de ω (frequência), como apresentado na equação 2.18. Isso porque, lembrando da Transformada de Fourier, existe uma correlação entre o espaço direto e o recíproco, ou seja, tempo (s) com frequências (1/s=Hz) e distância (m) com número de onda (1/m).

$$I_D(k) = \left(\frac{E_{fo}(k)}{2} \right) \left(R_r^2 + \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{-i(2k(n(x'_A)x'_A - n(x_A)x_A))} dx_A dx'_A + \frac{1}{2} \mathcal{F}_z[R_r R_A(z)] \right) \quad (2.18)$$

Onde

$$z = n(x_A)x_A - x_0 \quad (2.19)$$

é a diferença de caminho óptico entre o braço de referência é o da amostra.

Podemos ainda reescrever o segundo termo como uma distancia com relação ao espelho de referência.

$$\begin{aligned}
& \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{-i(2k(n(x'_A)x'_A - n(x_A)x_A))} dx_A dx'_A = \\
& = \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{-i(2k(n(x'_A)x'_A - x_0 - n(x_A)x_A + x_0))} dx_A dx'_A = \\
& = \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{-i(2k[(n(x'_A)x'_A - x_0) - (n(x_A)x_A - x_0)])} dx_A dx'_A \quad (2.20)
\end{aligned}$$

Fazendo então a substituição de variável 2.19 tem-se:

$$\int_0^\infty \int_0^\infty R_A(x_A) R_A(x'_A) e^{-i(2k[z' - z])} dz dz' \quad (2.21)$$

Como a autocorrelação é uma função simétrica tem-se que:

$$\begin{aligned}
& \int_0^\infty \int_0^\infty R_A(z) R_A(z') e^{-i(2k[z' - z])} dz dz' = \\
& = \frac{1}{2} \int_{-\infty}^\infty \frac{1}{2} \int_{-\infty}^\infty R_A(z) R_A(z') e^{-i(2k[z' - z])} dz dz' = \\
& = \frac{1}{4} \int_{-\infty}^\infty \int_{-\infty}^\infty R_A(z) R_A(z') e^{-i(2k[z' - z])} dz dz' \quad (2.22)
\end{aligned}$$

Novamente pode-se identificar este termo uma transformada de Fourier, portanto a equação 2.18 é reescrita da forma:

$$I(k) = \frac{E_{fo}(k)^2}{2} \left(R_r^2 + \frac{1}{2} \mathcal{F}_z[R_r R_A(z)] + \frac{1}{8} \mathcal{F}_z[AC(R_A(z))] \right) \quad (2.23)$$

Utilizando um espelho totalmente refletor no braço de referencia ($R_r = 1$) tem-se finalmente:

$$I(k) = \frac{E_{fo}(k)^2}{2} \left(1 + \frac{1}{2} \mathcal{F}_z[R_A(z)] + \frac{1}{8} \mathcal{F}_z[AC(R_A(z))] \right) \quad (2.24)$$

Para análise do sinal espectral $I(k)$ e recuperação da informação $R_A(x_A)$ da amostra de estudo, utiliza-se uma Transformada de Fourier inversa. Desta forma tem-se que:

$$\mathcal{F}_z^{-1}[I(k)] = \mathcal{F}_z^{-1} \left[\left(\frac{E_{fo}(k)}{2} \right)^2 \right] \otimes \left(\delta(z) + \frac{1}{2}R_A(z) + \frac{1}{8}AC(R_A(z)) \right) \quad (2.25)$$

$$\mathcal{F}_z^{-1}[I(k)] = A \otimes (B + C + D) \quad (2.26)$$

Utilizando a notação simplificada da equação 2.26 para a equação 2.25, a informação de $R_A(z)$ esta presente na convolução de A com C ($A \otimes C$). A convolução de $A \otimes B$ carrega informações sobre as propriedades da fonte de radiação. Já $A \otimes D$ traz informação sobre a interferência entre duas ondas refletidas pela amostra em diferentes posições. Este termo pode ser ignorado para meios altamente refletivos, visto que esse sinal é desprezível frente ao termo $A \otimes C$. Os sinais de $A \otimes B$ e $A \otimes D$ podem ser evitados pelo posicionamento adequado do espelho de referência, o zero do interferômetro.

2.3 Modelamento de meios espalhadores - LIDAR

O sistema OCT utiliza as propriedades de espalhamento de um meio para construir imagens de seção transversal, portanto o entendimento do espalhamento, e como o meio influencia no sinal de retroespalhamento, são de extrema importância para não só construir uma imagem mas também para determinar algumas propriedades ópticas do meio que se deseja estudar. Este problema é similar ao enfrentado no sistema LIDAR (acrônimo do inglês para Light Detection and Range), onde utilizando um feixe luminoso se estuda a atmosfera por meio da radiação espalhada por ela, por este motivo será utilizado o mesmo tratamento de sinal utilizado no LIDAR. Nesta seção é apresentado como a radiação interage com um meio espalhador chegando ao que se conhece como equação LIDAR [33].

LIDAR é uma técnica que utiliza um feixe de radiação eletromagnética lançada à atmosfera e a partir da radiação retroespalhada se estudam os componentes da atmosfera.

A principal diferença entre o OCT e LIDAR se dá na maneira como é realizada a discriminação espacial, no OCT é realizada através da interferometria (como descrito anteriormente) e no LIDAR é realizada pelo tempo de voo do fóton.

A radiação eletromagnética ao se propagar através de um meio pode sofrer atenuação à medida que o atravessa, esse processo ocorre por meio de espalhamentos e absorções. A figura 2.3 ilustra um feixe que se propaga através de uma camada de um meio dispersivo e absorvedor com espessura H .

Figura 2.3: Representação esquemática do espalhamento da radiação eletromagnética

Quando ocorre espalhamento de luz, uma porção do feixe incidente é dissipada em todas as direções com uma intensidade que varia: com o comprimento de onda da radiação incidente, com o ângulo entre o feixe incidente e o feixe espalhado, as características físicas do espalhador e a densidade de espalhadores. De forma similar a intensidade de luz absorvida depende da presença de absorvedores ao longo do caminho óptico percorrido pela radiação.

O fluxo radiante do feixe é $F_{0\lambda}$ quando entra na camada H . Após a radiação ter passado pela camada, ela decresce de um valor F_{λ} , tal que $F_{\lambda} < F_{0\lambda}$. A razão entre estes valores, $F_{\lambda}/F_{0\lambda}$, define a transmitância T da camada H que descreve a fração do fluxo radiante original que passou através da camada.

$$T(H) = \frac{F_\lambda}{F_{0\lambda}} \quad (2.27)$$

Pode-se definir um intervalo infinitesimal de espessura dr localizado na camada H a uma distância r do início da camada na direção do feixe incidente (figura 2.3 b). O feixe penetra o intervalo dr com fluxo radiante $F_\lambda(r)$. Definindo o coeficiente de extinção total ($\kappa_{t\lambda}$) como a probabilidade por unidade de caminho óptico de um fóton ser removido do feixe (tanto por espalhamento quanto absorção), então a redução do fluxo radiante no elemento diferencial ($dF_\lambda(r)$) será dado pela equação 2.28.

$$dF_\lambda(r) = \kappa_{t\lambda}(r)F_\lambda(r)dr \quad (2.28)$$

Integrando a equação 2.28 ao longo de todo o meio (de 0 a H), obtém-se a lei de Beer (equação 2.29), que descreve a extinção total do feixe em um meio heterogêneo.

$$F_\lambda(r) = F_{0\lambda}e^{-\int_0^H \kappa_{t\lambda}(r)dr} \quad (2.29)$$

A cada intervalo, uma fração da radiação que atinge este ponto é espalhada por partículas e moléculas presentes no meio. Este espalhamento pode ser elástico (Rayleigh e Mie), onde a radiação espalhada possui o mesmo comprimento de onda da radiação incidente, ou inelástico, onde o comprimento de onda da radiação reemitida é deslocado comparado com a radiação incidente (Raman). Para ambos os espalhamentos, o perfil em profundidade do sinal de retroespalhamento está correlacionado com a concentração de moléculas e partículas e o perfil da extinção ao longo do caminho óptico percorrido pelo feixe transmitido. Apenas uma porção da radiação espalhada retorna para o sistema na mesma direção com sentido contrário à radiação incidente, chamada de retroespalhamento (F_{bsc}).

O fluxo radiante total (F_{bsc}) do sinal de retroespalhamento é a soma das contribuições do espalhamento elástico único F_{elast_unico} , espalhamentos elásticos múltiplo F_{elast_unico} e a soma dos diversos espalhamentos inelástico $\sum F_{inelast}$:

$$F_{bsc} = F_{elast_unico} + F_{elast_multi} + \sum F_{inelast} \quad (2.30)$$

Entende-se por espalhamento único onde o fóton sofre apenas uma interação com o meio, retornando na mesma direção em sentido oposto, estes fótons são conhecidos como fótons balísticos.

No sistema OCT, por ser uma técnica de interferometria de baixa coerência, apenas os fótons balísticos contribuem para o sinal, por estarem dentro do tempo de coerência. Logo as componentes F_{elast_multi} e $\sum F_{inelast}$ não contribuem para o sinal.

Existe a componente do sinal devido ao ruído de fundo que resulta em um deslocamento constante no fluxo radiante que pode ser grande em relação à amplitude do sinal de retroespalhamento. Esta componente pode ser removida ou reduzida através da sua medida.

A potência retroespalhada pelo volume espalhador dr é $F(t) = dQ/dt$, onde Q é a energia radiante no feixe luminoso. O fluxo radiante, no detector, devido ao espalhamento elástico molecular e particulado no volume de profundidade dr é dado por:

$$dF_{elast,sing} = C_1 F(t) \frac{\beta_{\pi,p}(r) + \beta_{\pi,m}(r)}{r^2} e^{-2 \int_0^r [\kappa_p(x) + \kappa_m(x)] dx} dr \quad (2.31)$$

onde $\beta_{\pi,p}(r)$ e $\beta_{\pi,m}(r)$ são o coeficiente de espalhamento angular, particular e molecular, para o ângulo $\theta = \pi$ relativo a direção de propagação da radiação incidente, $\kappa_p(x)$ e $\kappa_m(x)$ são o coeficiente de excitação particular e molecular. $F(r)$ é o fluxo radiante emitido pela fonte de radiação, C_1 é a constante de calibração do sistema óptico. O termo exponencial é a transmitância do feixe durante a passagem de ida e volta entre o sistema óptico e o volume espalhador.

Devido ao comprimento de coerência ser sempre um valor finito, a radiação retroespalhada em uma posição r está relacionada com as propriedades de um volume contido entre r' e $r'' = r' + \delta r_0$. Assim, o fluxo radiante total no detector é criado pelo espalhamento dentro do volume de comprimento δr_0 .

$$F_{elast,sing} = C_1 \int_{r'}^{r'+\delta r_0} \left(F(t) \frac{\beta_{\pi,p}(r) + \beta_{\pi,m}(r)}{r^2} e^{-2 \int_0^r [\kappa_p(x) + \kappa_m(x)] dx} \right) dr \quad (2.32)$$

Assumindo que a intensidade não varia no tempo ($F(t) = F = \text{constante}$) e o coeficiente de retroespalhamento não varia dentro do volume δr_0 , uma aproximação para a equação 2.32 pode ser obtida.

$$F(r) = C_1 F \delta r_0 \frac{\beta_{\pi,p}(r) + \beta_{\pi,m}(r)}{r^2} e^{-2 \int_0^r [\kappa_p(x) + \kappa_m(x)] dx} \quad (2.33)$$

A potência instantânea $P(r)$ pode ser obtida transformando a equação 2.33 na forma:

$$P(r) = \gamma_{an} F(r) = C_0 \frac{\beta_{\pi}(r)}{r^2} e^{-2 \int_0^r \kappa_t(x) dx} \quad (2.34)$$

Onde γ_{an} é o fator de conversão entre o fluxo radiante e a potencia no detector, $\beta_{\pi}(r)$ é coeficiente de retroespalhamento total, $\kappa_t(r)$ é o coeficiente de extinção total e C_0 é uma constante que só depende do sistema.

$$C_0 = C_1 F_0 \delta r_0 \gamma_{an} \quad (2.35)$$

Capítulo 3

OBJETIVO

Estudar, propor, desenvolver e implementar algoritmos de métodos de inversão do sinal OCT (*Optical Coherence Tomography*) para determinação do coeficiente de extinção em função da profundidade, explorando a similaridade entre o OCT e o LIDAR (*Light Detection And Ranging*).

Capítulo 4

MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Determinação do coeficiente de extinção em função da profundidade

Para determinar o coeficiente de extinção total três diferentes métodos de inversão foram implementados para solução da equação 2.34: (1) método da inclinação, (2) método do ponto de contorno e (3) método da profundidade óptica.

Método de inversão é o processo de desenvolver modelos e simulações de fenômenos naturais a partir da observação destes fenômenos, permitindo inferir sobre as propriedades e estados do sistema estudado.

(1) Método da Inclinação.

Este método é usado para meios homogêneos, este requisito pode ser verificado pela análise das características do sinal de retroespalhamento. Com este método o valor médio do coeficiente de extinção do intervalo analisado é obtido.

Este primeiro método pode ser aplicado quando o coeficiente de extinção total do meio e o coeficiente de retroespalhamento podem ser assumidos constantes ao longo do caminho. Tal pressuposto pode ser verificado pela análise das características do sinal de retroespalhamento. Desta condição temos que:

$$\kappa_t(r) = \kappa_t = \text{constante} \quad (4.1)$$

e

$$\beta_\pi(r) = \beta_\pi = \text{constante} \quad (4.2)$$

O meio espalhador que se deseja determinar o coeficiente de extinção pode estar a certa distância da fonte de luminosa, ou ainda pode existir outro meio entre o sistema óptico e o meio de interesse. Por estes motivos, introduz-se na equação LIDAR um termo de transmitância T_0^2 .

$$P(r) = C_0 T_0^2 \frac{\beta_\pi(r)}{r^2} e^{-2 \int_0^r \kappa_t(x) dx} \quad (4.3)$$

O fator T_0^2 é a transmitância na dupla passagem na zona entre o sistema óptico e a posição r_0 do meio de interesse.

Utilizando as condições anteriores, a equação 4.3 se reduz a forma:

$$P(r) = C_0 T_0^2 \frac{\beta_\pi}{r^2} e^{-2\kappa_t(r-r_0)} \quad (4.4)$$

Diversos fatores podem influenciar a intensidade do sinal de retroespalhamento detectado, como, por exemplo, a queda da intensidade do sinal com a distância que dá origem ao fator $1/r^2$ na equação lidar. O sinal de retro-espalhamento pode ser corrigido, denotando-se por $Z_r(r)$, e pode ser escrito como:

$$Z_r(r) = P(r)r^2 = C_0 T_0^2 \beta_\pi e^{-2\kappa_t r} \quad (4.5)$$

Tomando-se o sinal corrigido ($Z_r(r)$) na equação 4.5, e tomando o logaritmo natural da equação obtém-se uma linearização da equação:

$$\Phi(r) = \ln Z_r(r) = \ln(C_0 \beta_\pi) - 2\kappa_t r \quad (4.6)$$

Onde os coeficientes linear e angular da linearização estão relacionados com os coeficientes de retroespalhamento e de extinção, respectivamente.

O uso deste método apresenta a desvantagem de, na prática, antes do processamento do sinal de retroespalhamento, o sinal de ruído de fundo deve ser subtraído. Assim, o sinal corrigido será então $Z_r(r) = [P(r) - P_{bg}(r)]r^2$. O uso da forma logarítmica pode criar problemas onde o sinal é corrompido pelo ruído, podendo gerar localmente sinais

negativos de $Z_r(r)$. O uso de filtros de suavização para remoção destes valores negativos nem sempre é possível, pois degrada a resolução no sinal de retroespalhamento.

Quando o coeficiente de extinção total e o coeficiente de retroespalhamento mudam ao longo do caminho ($\beta(r)$ e $\kappa(r)$), e assumindo que a razão entre eles é uma constante (conhecida como razão LIDAR), os outros dois métodos (método do ponto de contorno e método da profundidade óptica) devem ser aplicados, porém é necessário conhecer ou medir alguns parâmetros, como será mostrado. Para aplicação destes métodos algumas modificações na equação LIDAR são necessárias, estas modificações são mostradas a seguir.

Transformações da equação LIDAR

A transformação utilizada foi desenvolvida por Weinman [33] para análise de sinais em sistemas LIDAR, devido a similaridade dos problemas. Partindo da equação LIDAR para meios espalhadores constituído de partículas e moléculas que possuem quatro variáveis desconhecidas: coeficiente de retroespalhamento particular e molecular ($\beta_{\pi,p}$, $\beta_{\pi,m}$, respectivamente) e coeficiente de extinção total particular e molecular (κ_p e κ_m , respectivamente) em que todos podem depender da posição (r); teremos então:

$$P(r) = C_0 T_0^2 \frac{\beta_{\pi,p}(r) + \beta_{\pi,m}(r)}{r^2} e^{-2 \int_{r_0}^r [\kappa_p(r') + \kappa_m(r')] dr'} \quad (4.7)$$

Deve-se estabelecer as relações entre estas constantes. Se não houver absorção, a determinação da relação entre a extinção e o retroespalhamento molecular pode ser feita utilizando-se a teoria de espalhamento Rayleigh. Para o espalhamento particular a relação entre o retroespalhamento e a extinção depende da natureza, do tamanho e outros parâmetros da partícula espalhadora, podem ambos ($\beta_{\pi,p}(r)$ e $\kappa_p(r)$) apresentar grande variação.

Entretanto, a razão entre $\beta_{\pi,p}(r)$ e $\kappa_p(r)$ do espalhamento particular possui um intervalo de variação muito menor que os próprios coeficientes. Porém, a relação entre os coeficientes de retroespalhamento e extinção total precisam ser definidas.

De forma genérica define-se a razão entre retroespalhamento e extinção total ($\Pi_p(r)$) que pode ser utilizada para meios espalhadores e absorvedores, na presença de componentes molecular e particular, podendo-se escrever:

$$\Pi_p(r) = \frac{\beta_{\pi,p}(r)}{\kappa_p(r)} = \frac{\beta_{\pi,p}(r)}{\beta_p(r) + \kappa_{A,p}(r)} \quad (4.8)$$

e

$$\Pi_m(r) = \frac{\beta_{\pi,m}(r)}{\kappa_m(r)} = \frac{\beta_{\pi,m}(r)}{\beta_m(r) + \kappa_{A,m}(r)} \quad (4.9)$$

Onde $\kappa_{A,m}(r)$ e $\kappa_{A,p}(r)$ são as absorções molecular e particular. Através das equações 4.8 e 4.9, a equação de retroespalhamento pode ser reescrita da forma

$$P(r) = C_0 T_0^2 \frac{\Pi_p(r)\kappa_p(r) + \Pi_m(r)\kappa_m(r)}{r^2} e^{-2 \int_{r_0}^r [\kappa_p(r') + \kappa_m(r')] dr'} \quad (4.10)$$

Para resolver esta equação devemos escrever a equação para que ela fique com a seguinte estrutura:

$$Z(r) = C y(x) e^{-2 \int y(x) dx} \quad (4.11)$$

Onde C é uma constante arbitraria e $y(x)$ é uma nova variável da equação de retroespalhamento obtida após a transformação. Esta nova variável deve possuir uma relação unívoca com o parâmetro desconhecido na equação inicial, desta forma pode-se determinar este parâmetro a partir de $y(x)$.

Fazendo uma substituição de variável na equação 4.11, $\zeta = \int y(x') dx'$, decorre que $d\zeta = y(x) dx$, teremos:

$$Z(x) = C e^{-2\zeta} \frac{d\zeta}{dx} \quad (4.12)$$

Integrando os dois lados da equação, tem-se:

$$\int Z(x) dx = \frac{-C}{2} \left(1 - e^{-2 \int y(x) dx} \right) \quad (4.13)$$

Com isso a solução da equação 4.11 é da forma:

$$y(x) = \frac{Z(x)}{C - 2 \int Z(x) dx} \quad (4.14)$$

Portanto se for possível, fazendo algumas considerações, reescrever a equação LIDAR e deixa-la no formato da equação 4.11 obteremos sua solução.

Os meios espalhadores estudados utilizando-se a técnica OCT podem ser considerados como compostos puramente por partículas, logo o espalhamento molecular pode ser desprezado frente ao particular. Com isso a equação 4.10 se reduz a:

$$P(r) = C_0 T_0^2 \frac{\Pi_p(r) \kappa_p(r)}{r^2} e^{-2 \int_{r_0}^r [\kappa_p(r')] dr'} \quad (4.15)$$

Além disso, assumindo que a razão LIDAR é constante ao longo do caminho $\Pi_p(r) = \Pi_p = \text{constante}$, teremos:

$$Z_r(r) = P(r) r^2 = C_r \kappa_p(r) e^{-2 \int_{r_0}^r [\kappa_p(r')] dr'} \quad (4.16)$$

Onde

$$C_r = C_0 T_0^2 \Pi_p \quad (4.17)$$

Portanto, a equação 4.16 tem forma similar a 4.11. Logo, a solução é dada pela equação 4.14, e fica da forma:

$$\kappa_p(r) = \frac{Z_r(r)}{C_r - 2 \int_{r_0}^r Z(r') dr'} \quad (4.18)$$

Tais considerações e solução são empregadas nos métodos de ponto de contorno e profundidade óptica.

(2) Método do ponto de contorno.

Este método pode ser utilizado quando o coeficiente de extinção total muda ao longo do caminho, mas se faz necessário conhecer seu valor ($\kappa_p(r_b)$) na posição r_b , o que elimina a necessidade de se determinar todos os constituintes da constante C_r .

Resolvendo a equação 4.16 para a posição r_b temos que:

$$C_r = \frac{Z_r(r_b)}{\kappa_p(r_b) e^{-2 \int_{r_0}^{r_b} \kappa_p(r') dr'}} \quad (4.19)$$

Substituindo 4.19 na equação 4.18 teremos então a solução:

$$\kappa_p(r) = \frac{Z_r(r)}{\frac{Z_r(r_b)}{\kappa_p(r_b)} - 2 \int_{r_0}^r Z(r') dr'} \quad (4.20)$$

A posição r_b pode ser escolhida arbitrariamente, porém a solução pode divergir dependendo da escolha que se faça, a solução mais estável é quando se conhece o valor de $\kappa_p(r_b)$ no infinito, ou aplicado ao OCT em ponto mais profundo do meio espalhador.

(3) Método da profundidade óptica

Como visto anteriormente, este método de solução assume que a razão LIDAR é constante ao longo do caminho, mas neste caso é necessário conhecer a transmitância da amostra (T_{max}). A transmitância do meio quando o feixe passa através deste, nos dois sentidos (ida e volta), é dado por:

$$T_{max}^2 = \exp -2 \int_{r_0}^{r_b} \kappa_p(r') dr' \quad (4.21)$$

A determinação de T_{max}^2 evita a necessidade de determinar a constante C_r (equação 4.17), pois se integrarmos a equação 4.16 teremos:

$$I_{r,r_{max}} = \int_{r_0}^{r_{max}} Z_r(r) = \frac{1}{2} C_r (1 - T_{max}^2) \quad (4.22)$$

Assim,

$$C_r = \frac{2I_{r,r_{max}}}{1 - T_{max}^2} \quad (4.23)$$

Substituindo 4.23 em 4.18 teremos a solução para o coeficiente de extinção total ao longo do espaço.

$$\kappa_p(r) = \frac{0,5Z_r(r)}{\frac{2I_{r,r_{max}}}{1-T_{max}^2} - 2 \int_{r_0}^r Z(r') dr'} \quad (4.24)$$

Para aplicação desta técnica faz-se necessário então medir a transmitância do meio de interesse utilizando uma técnica auxiliar.

4.2 Amostras

Durante a fase de estudo, desenvolvimento e implementação dos softwares utilizados neste estudo, diversas amostras foram avaliadas para que fosse coberta uma variedade de situações, possíveis de serem encontradas durante uma medida OCT, e assim

determinar em quais situações seria possível extrair informação dos meios espalhadores. Assim, também foi possível determinar algumas propriedades da amostra necessárias estabelecendo alguns limites de utilização dos métodos de inversão propostos.

Neste processo, foram utilizados, espelho de ouro (Figura 4.1(a)), lâmina de microscópio (vidro) (Figura 4.1(b)) e gota d'água (Figura 4.1(c)) para se investigar o comportamento frente a uma amostra altamente refletiva na primeira superfície, porém com baixo retroespalhamento interno. As Figuras 4.1(d), 4.1(e) e 4.1(f) apresentam imagens OCT do espelho de ouro, lâmina de microscópio e gota d'água, respectivamente.

Figura 4.1: Imagem da amostra e OCT da amostra de (a-d) Espelho de ouro, (b-e) lâmina de microscópio (vidro) e (c-f) gota d'água

Na imagem OCT do espelho de ouro (Figura 4.1(d)), como era de se esperar, o sinal que retorna ao sistema OCT é tão grande que ocorre a saturação do detector gerando artefatos de imagem na forma de múltiplas superfícies onde deveria apenas existir uma única interface. Assim grandes reflexões de superfície devem ser evitadas.

Estes artefatos de imagem já não se apresentam na amostra de vidro (lâmina de

microscópio - Figura 4.1(e)) onde é possível observar claramente a interface entre ar e material, porém não é possível observar sinal retroespalhado do interior da amostra, impossibilitando a aplicação do método da inclinação, pois não existem pontos suficientes para realização de um ajuste linear confiável. Além disso, a aplicação dos métodos de ponto de contorno e da profundidade óptica não trarão informação sobre as características da amostra para uma possível aplicação de diferenciação, por exemplo.

O mesmo comportamento descrito para a lâmina de vidro se observa na amostra de gota d'água (Figura 4.1(f)). Somado a isso, observa-se que a interface entre ar e material torna-se difícil de ser definida, acentuando as observações referentes quanto a aplicação dos métodos de inversão.

As três amostras anteriores possuíam uma única interface entre ar e material. Para explorar o comportamento das imagens OCT na presença de múltiplas interfaces foram utilizadas camadas de fita adesiva transparente e fita dupla face (Figuras 4.2(a) e 4.2(b)).

Figura 4.2: Imagem da amostra e OCT da amostra de (a-c) Fita adesiva transparente, (b-d) Fita dupla-face

Na imagem OCT da fita adesiva transparente (4.2(c)) é possível observar que, devido a espessura reduzida da fita não se observa o interior do material da fita, ficando evidente apenas as interfaces entre ar e fita, e entre fita e ar. É possível também observar diversos artefatos de imagem.

Na imagem OCT da fita dupla face (4.2(d)), é possível observar o interior do material da fita, porém este material é tão espalhador que não se observa a segunda camada de fita, apesar da fita possuir uma espessura física da mesma ordem da fita adesiva.

Todas as amostras descritas até aqui apresentaram características que de alguma impossibilitam a utilização dos métodos de inversão propostos, por apresentarem interfaces muito delgadas ou muito reflexivas, espalhamento interno muito baixo ou muito alto, fazendo a informação da amostra se perder. Isso limita a utilização dos métodos de inversão às amostras que possuam características intermediárias, ou seja, o retroespalhamento da amostra deve permitir a interpretação da estrutura interna, permitindo a visualização de múltiplas camadas, sem ser altamente refletivo. Além disso, durante o processo de desenvolvimento e aprimoramento das soluções o protocolo de aquisição das imagens foi modificado para que fosse possível estabelecer o protocolo final baseado na experiência adquirida.

A partir destes aprendizados e para avaliar a capacidade dos métodos de inversão propostos para recuperar a informação contida na imagem OCT utilizando as soluções finais implementadas (como será descrito nas próximas capítulos), foram utilizadas amostras separadas em dois grupos: "Homogêneas" e "Camadas". A nomenclatura dos grupos de classificação se referem a seu comportamento frente a uma avaliação visual da imagem OCT.

As amostras de Al_2O_3 (Alumina) e dois materiais plásticos (denominados de Plástico A e Plástico B) foram classificadas como Homogêneas pelas características da imagem OCT de amostra homogêneas. Esta homogeneidade se refere a não variação do sinal em posições laterais adjacentes à mesma profundidade.

Figura 4.3: Imagem da amostra e OCT da amostra Homogêneas de (a-d) Alumina, (b-e) Plástico Amarelo (c-f) Plástico Branco

Duas amostras de papel vegetal foram utilizadas como amostras em Camadas (papel vegetal A e B), este material foi escolhido pois o sinal retroespalhado é grande o suficiente para permitir que seja feita imagem de seu interior, porém não tão grande que todo sinal se perca na primeira camada, permitindo construção de amostra com 2 camadas e eventualmente 3 camadas para futuras medições. Foram utilizadas as amostras em uma única camada (A e B) e foram construídas portanto 4 amostras, contemplando as combinações possíveis, de 2 camadas (AA, BB, AB e BA).

(a)

(b)

(c)

(d)

Figura 4.4: Amostras de Papel Vegetal (a-b) A (c-d) AA.

Figura 4.5: Amostras de Papel Vegetal (a-b) B (c-d) BB.

Figura 4.6: Amostras de Papel Vegetal (a-b) AB, (a-c) BA.

4.3 Equipamento OCT

Para adquirir as imagens OCT em todos os experimentos foi utilizado o sistema comercial OCT ThorLabs 930 (Figura A.3). Este equipamento é um FD-OCT que utiliza um LED superluminescente com comprimento de onda central em $930nm$, largura espectral de $100nm$ conferindo às imagens uma resolução de $6,2\mu m$ no ar e potência óptica (típica) de $2mW$. O sistema utiliza um espectrometro com resolução de $0,14nm$, permitindo uma profundidade máxima da imagem adquirida de $1,6mm$. As imagens adquiridas pelo sistema possuem 512 pixel de profundidade e 1000 pixel de largura, sendo que cada pixel corresponde a $3,088803\mu m$, a uma taxa de repetição de $5frames/s$. O sistema possui uma ponta de prova móvel, permitindo fácil aquisição de imagens em diferentes situações.

Figura 4.7: Equipamento OCT Thorlabs 930.

Capítulo 5

RESULTADOS

5.1 Implementação dos métodos de inversão

Os métodos de inversão da equação LIDAR, descritos na seção 4.1, foram implementados utilizando linguagem ambiente LabView[®] (vide Apêndices). Esta linguagem foi escolhida devido a sua rápida curva de aprendizado.

Os programas em LabView[®] são chamados de Virtual Instruments (VI) e, sua estrutura de programação permite a utilização de um programa dentro de outro programa, quando é então chamada de sub-VI. Estruturar os programas utilizando as subrotinas (sub-VI) permite manter o controle sobre as alterações em todos os programas que utilizam esta sub-VI. Para simplificar o entendimento, pode-se traçar um paralelo com as funções da linguagem de programação C.

Todos os programas desenvolvidos possuem algumas macro-etapas que se repetem. As imagens adquiridas utilizando qualquer equipamento de OCT, independente de suas características de hardware, passam por estas etapas para serem caracterizadas com os métodos propostos (Figura 5.1). Por mais simples que possa parecer, estas etapas básicas, bem como as específicas, necessitam de programação.

Figura 5.1: Macro etapas presentes em todos os programas desenvolvidos

O Banco de Dados de imagens OCT é construído a partir dos experimentos realizados.

O formato do arquivo e as características de como as informações são salvas dependem tanto do equipamento utilizado, podendo variar dependendo de seu fabricante, quando das configurações de software de operação escolhidas durante a realização dos experimentos. Conhecer essas características é fundamental para que nenhuma informação seja perdida e na etapa seguinte de abrir e recuperar estas informações.

O pré-processamento da imagem é uma etapa essencial para minimizar interferências de qualquer fonte que possa levar a interpretação equivocada dos resultados (como será discutido nas seções a seguir).

A etapa de processamento do sinal é o "coração" do programa e, consiste na extração das informações e, é nesta fase que os três métodos de inversão propostos são aplicados.

5.2 Processamento do sinal

O processamento do sinal utiliza as equações dos métodos de inversão da inclinação, do ponto de contorno e da profundidade óptica descritas na seção 4.1 para recuperar a informação a respeito da amostra estudada. As Figura 5.2 à Figura 5.4 representam os fluxogramas dos algoritmos implementados para os métodos de inversão da inclinação, do ponto de contorno e da profundidade óptica, respectivamente.

Figura 5.2: Algoritmo implementado para o método da inclinação

Figura 5.3: Algoritmo implementado para o método do ponto de contorno

Figura 5.4: Algoritmo implementado para o método da profundidade óptica

5.3 Avaliação do erro associado ao método de inversão (Sinal Simulado)

Todo processo computacional pode possuir erros associados ao processamento do sinal, além disso, o próprio método de inversão pode ser uma fonte de erros. Para avaliação dos erros introduzidos pelos algoritmos implementados dos métodos de inversão, foram gerados sinais simulados, utilizando-se a própria equação LIDAR e valores do coeficiente de extinção total de $0,002\mu m^{-1}$ a $0,1018\mu m^{-1}$, constantes em função da profundidade. A Figura 5.5 apresentam exemplos da característica do sinal para diferentes coeficientes de extinção. A função geradora utilizada foi a mesma do modelo da solução a fim de avaliar somente os erros associados aos métodos de inversão e algoritmos implementados, eliminando-se possíveis outras fontes de erro.

Figura 5.5: Sinal retroespalhamento simulado

Os três métodos de inversão foram utilizados para analisar o sinal gerado e determinar o coeficiente de extinção em função da profundidade. A diferença entre estes valores ($\kappa(r)$) e o valor utilizado para gerar o sinal (κ_{real}) é igual ao erro associado (5.1) a cada um dos métodos de inversão.

$$Erro(r) = \kappa(r) - \kappa_{real} \quad (5.1)$$

Para o método da inclinação não foi possível mensurar erros computacionais, pois se trata de um ajuste linear à uma curva simulada que segue perfeitamente uma reta.

A Figura 5.6 e 5.7 apresentam mapas de cor dos erros para valores de coeficiente de extinção simulado (eixo das ordenadas) em função da profundidade (eixo das abscissas) para os métodos da profundidade óptica e ponto de contorno, respectivamente.

Figura 5.6: Erro percentual associado ao método da profundidade óptica.

Figura 5.7: Erro percentual associado ao método do ponto de contorno.

Para ambos métodos é possível notar que quanto maior o valor do coeficiente de extinção (eixo das ordenadas) mais rasa a posição de divergência da solução (eixo das abscissas). Isso ocorre pois quanto maior o valor do coeficiente de extinção mais rapidamente o sinal tende a zero, assim a solução diverge quando o sinal se aproxima de zero. No método da profundidade óptica (Figura 5.7) este processo se acentua quanto o valor do coeficiente de extinção se torna maior do que aproximadamente $0,03\mu m^{-1}$, assumindo valores de erro iguais ou maiores que 100%. No método do ponto de contorno (Figura 5.7) a solução diverge no ponto de contorno escolhido ($1600\mu m$) e após o ponto de divergência da solução (área em preto) a solução perde seu significado (representado pela cor vermelho escuro).

Baseado nesta análise, deve-se trabalhar com amostras espalhadoras que possuem valores de coeficiente de extinção menores que $0,03\mu m^{-1}$.

5.4 Caracterização do sistema OCT - Hardware

Em geral sinais reais não se comportam da mesma maneira que o sinal simulado utilizado para teste do algoritmo. Alguns aspectos relacionados à construção do equipamento, como divergência do feixe, ou até unidades de medida em que as imagens são salvas, podem influenciar no comportamento da solução e resultados obtidos após a aplicação dos métodos de inversão. Desta forma, se faz necessário conhecer o sistema OCT através da sua caracterização para, quando necessário, aplicar as correções adequadas e minimizar estas fontes de erro.

5.4.1 Formato (unidade de intensidade) da imagem

Usualmente, as imagens OCT são expressas em dB (equação 5.2), pois permite visualizar com maior clareza a superfície da amostra e seu interior devido a grande diferença entre o número de fótons retroespalhados na primeira superfície e no interior da amostra.

$$1dB = 10 * \log(I/I_0) \quad (5.2)$$

Onde I/I_0 corresponde à razão da intensidade medida pela inicial. Desta forma é preciso cautela, pois os modelos propostos assumem a equação de LIDAR colocada em função da intensidade I e não em dB. Assim, faz-se a transformação inversa de unidades para que exista correlação correta e a aplicação dos métodos de inversão seja realizada de forma adequada.

5.4.2 Ruído de Fundo (BG)

Todas as imagens de OCT apresentam um sinal de ruído de fundo (BG), definido com uma imagem obtida sem a presença de amostra que não apresenta zero como valor médio, e sim um valor que pode variar com a profundidade. A origem deste valor encontra explicação no termo de correlação que acrescenta um sinal DC ao mensurando. Este valor pode não ter grande influência sobre uma análise tradicional de identificação morfológica

de estruturas nas imagens, porém, quando os métodos de inversão propostos são aplicados sem considerá-lo, pode-se reduzir a qualidade e assertividade dos resultados obtidos, levando inclusive a uma análise equivocada dos mesmos.

Pode-se verificar analiticamente que, a soma de um termo constante à equação LIDAR e, posterior aplicação do método da inclinação, modifica a solução, uma vez que quando se aplica o logaritmo ao sinal, a solução não se torna mais linear.

Para exemplificar o efeito do ruído de fundo da imagem sobre os métodos de inversão, foi realizada uma análise somando-se ao sinal simulado um valor constante, e aferindo-se novamente o erro computacional.

Para caracterizar a presença de ruído de fundo, foi realizada a aquisição de 40 imagens sem a presença de qualquer amostra no braço da amostra. Foi realizada então a média destas imagens e a partir desta imagem média, foi realizada a média das colunas que constituem esta imagem (Figura 5.8).

Figura 5.8: Representação esquemática da caracterização do ruído de fundo.

As médias foram realizadas seguindo dois procedimentos. O primeiro baseia-se na média direta do arquivo em dB e, posterior transformação de seu valor em u.a. (como mostrado na seção 5.4.1). Já o segundo procedimento transformou o valor inicial em u.a. e, posteriormente, tirou-se a média. A Figura 5.9 mostra o comportamento do BG em profundidade para os dois procedimentos mencionados.

O equipamento OCT possui uma lente objetiva para focalização do feixe na amostra, a Figura 5.9 apresenta uma terceira curva que se refere à análise da variação do comportamento do ruído de fundo quando variado o foco desta objetiva. Esta análise foi realizada para confirmar a hipótese de que a variação do foco da imagem não varia

seu ruído de fundo. Nota-se ainda a presença de estruturas repetidas cuja origem ainda é indeterminada, porém pode ser originária tanto da construção do sistema óptico quanto da transformada de Fourier.

Figura 5.9: Análise do ruído de fundo (BG) médio calculado diretamente sobre o sinal adquirido em dB, após conversão do sinal para u.a. variando-se o foco da lente objetiva.

5.4.3 Ruído de Speckle

Em todas as imagens OCT existe a presença de ruído, chamado de ruído de speckle. Este fenômeno causa flutuação do sinal entre duas imagens consecutivas.

Uma das formas de se reduzir o ruído da imagem (speckle), é adquirir diversas imagens na mesma posição da amostra e, posteriormente, calcular a média das diversas imagens. Após análise exploratória, escolheu-se realizar a aquisição de 2000, ou mais, imagens da mesma amostra na mesma posição.

Além de realizar a média de várias imagens para reduzir o ruído de speckle, quando a amostra não apresenta grandes variações de comportamento (chamada neste trabalho de homogênea) pode-se realizar a média das colunas da imagem, chegando-se a uma

representação unidimensional (1D) média do comportamento do sinal no interior da amostra.

Ambas abordagens foram empregadas para análise das amostras estudadas.

5.4.4 Decaimento do sinal com a distância - Curva de calibração

Devido às características de construção do sistema OCT, uma mesma amostra posicionada em diferentes distâncias da saída do feixe no braço da amostra, pode apresentar intensidades diferentes de retroespalhamento. Este efeito se deve tanto ao decaimento do sinal com a distância ao quadrado quanto ao parâmetro confocal da lente que focaliza a radiação sobre a amostra.

Para caracterizar o decaimento do sinal em função da distância, foram realizadas diversas medidas de um mesmo substrato de vidro, posicionado perpendicularmente à incidência do feixe, variando-se a distância entre o substrato e a saída do feixe da ponta de prova do sistema OCT. A Figura 5.10 mostra exemplos de imagens do substrato de vidro utilizadas para a caracterização. Esta variação de distância corresponde a diferentes profundidades das imagens OCT medidas.

A caracterização do sistema permite, além de entender o comportamento do próprio sistema, determinar uma curva de calibração para corrigir o sinal OCT a fim de ampliar a possibilidade de caracterização óptica das amostras estudadas.

Figura 5.10: Montagem das imagens do substrato de vidro, variando-se a distância, utilizado para caracterização do sistema.

Figura 5.11: Variação da intensidade do sinal detectado pelo sistema OCT em função da distância

As imagens do substrato de vidro foram adquiridas com 500 colunas de largura. As análises foram realizadas utilizando-se três colunas da imagem (colunas 149, 249 e 349). Optou-se pela realização deste procedimento, pois quando realizada a média das colunas da imagem, qualquer desvio de alinhamento entre o feixe e o substrato de vidro poderia levar a uma imprecisão na determinação da posição do espelho.

Foi identificada a posição em profundidade dos valores máximos destas três colunas em todas as imagens, correspondentes a posição da superfície do substrato de vidro. A Figura 5.11 mostra os valores máximos em função da distância entre a superfície do substrato de vidro e a saída do feixe da ponta de prova do sistema OCT.

É possível observar que a variação do sinal, em função da distância é de cerca de 25dB. Além disso, a região no início da imagem, abaixo de 40 pixels, deve ser evitada durante as aquisições das imagens, pois, nesta região, o sinal sofre uma variação abrupta impossibilitando sua caracterização com confiabilidade. A distância foi expressa em

posição do pixel possibilitando a correção do sinal antes de qualquer tratamento, após conhecida a curva de calibração (mostrada a seguir).

5.4.5 Curva de calibração

A curva de calibração corrige uma determinada medida para um valor que teria, se o sistema fosse ideal. Assumido que o valor verdadeiro do retroespalhamento, para o substrato de vidro, é igual ao valor máximo medido (Max) na Figura 5.11, a curva de calibração (C) nada mais é do que este valor máximo dividido pelo valor medido (I) ponto a ponto.

$$C = \frac{Max}{I} \quad (5.3)$$

Utilizando-se os dados apresentados na Figura 5.11 e na equação 5.3 foram obtidos valores para a curva de calibração, porém somente para os mesmos valores de posição da Figura 5.11. Para determinar a curva de calibração em todos os pontos, apresentada na Figura 5.12, foi utilizado o método de interpolação numérica.

Figura 5.12: Curva de calibração para o sistema OCT

A alteração da posição do foco do sistema OCT altera a curva de calibração, assim, após calibrado o sistema, deve-se manter o sistema inalterado.

5.5 Protocolo Final de aquisição e análise

Após conhecer as limitações do método, relacionadas às influências dos ruídos (de fundo e de speckle) na análise, decaimento do sinal, e como mitiga-los e corrigi-los, chegou-se ao protocolo final de aquisição e análise do sinal OCT, descrito esquematicamente na Figura 5.13. Este protocolo foi aplicado a todos os experimentos apresentados neste trabalho.

Figura 5.13: Descrição esquemática do protocolo de aquisição e análise das imagens OCT

Resumidamente, 2000 imagens sequenciais foram adquiridas e sua média calculada para redução do ruído de speckle. A seguir, o ruído de fundo BG foi subtraído, a queda do sinal corrigida e a superfície da amostra determinada. Finalmente os métodos de inversão foram aplicados.

5.6 Resultados experimentais das soluções

5.6.1 Aplicação para análise de perfil 1D

Para amostras que podem ser consideradas homogêneas pode-se utilizar a média das colunas das imagens, transformando o sinal de 2D para 1D, avaliando assim o comportamento médio da amostra.

As Figura 5.14a e b apresentam o resultado da média de 2000 imagens e a imagem média descontado o BG e corrigidas para o decaimento em profundidade.

Figura 5.14: (a) Média de 2000 imagens e (b) descontado o BG e corrigido o decaimento do sinal.

A partir das imagens médias OCT corrigidas e aproveitando as características das amostras homogêneas, foi realizada a média das colunas, chegando-se a um perfil médio do decaimento do sinal em função da profundidade (apresentada na Figura 5.15). A este perfil médio do decaimento do sinal, foram aplicados os métodos de inversão.

Figura 5.15: Decaimento médio (1D) das amostras de Alumina e Plástico A e B

Figura 5.16: Ajustes Lineares, métodos da inclinação para as três amostras 1D

Primeiramente foi aplicado o método da inclinação para determinação do coeficiente de extinção médio (Figura 5.16). Os valores de coeficiente de extinção obtidos pelo método da inclinação estão apresentados na Tabela (5.1).

Tabela 5.1: Coeficiente de Extinção obtido pelo método da inclinação.

Amostra	Coeficiente de extinção ($\#pixel^{-1}$)	Coeficiente de extinção (μm^{-1})
Alumina	0,0429(14)	0,01389(45)
	0,01003(13)	0,003247(42)
Plástico B	0,01993(25)	0,006452(81)
Plástico A	0,02200(37)	0,00712(12)

O coeficiente de extinção médio adquirido pelo método da inclinação foi utilizado como condição de contorno, para o método ponto de contorno, no ponto correspondente

a máxima profundidade que a amostra se mostrava próxima a linearidade pelo método anterior. Para o método da profundidade óptica foi considerado um valor de transmissão igual a zero ($T = 0$), por se tratar de amostras espessas onde o sinal vai à zero.

As Figura 5.17 a 5.19 apresentam os valores obtidos para os três métodos de inversão para as três amostras. Nota-se pelo comportamento das soluções que, apesar de ainda expressos em $1/\#pixel$ (cada pixel corresponde a $3,088803\mu m$), quanto maior o valor do coeficiente de extinção da amostra, mais próximo a superfície ocorre diferença entre a solução e o valor médio obtido pelo método da inclinação.

Figura 5.17: Soluções para os métodos de inversão da inclinação (SM), do ponto de contorno (BP) e da profundidade óptica (OD) da amostra de Plástico B.

Figura 5.18: Soluções para os métodos de inversão da inclinação (SM), do ponto de contorno (BP) e da profundidade óptica (OD) da amostra de Plástico A.

Figura 5.19: Soluções para os métodos de inversão da inclinação (SM), do ponto de contorno (BP) e da profundidade óptica (OD) da amostra de Alumina.

5.6.2 Aplicação dos métodos de inversão a imagens (2D)

O grande diferencial da aplicação dos métodos de inversão ao modelo proposto é que, a princípio, pode-se determinar o valor do coeficiente de extinção em função da profundidade, de cada coluna da imagem. Permitindo assim construir imagens de coeficiente de extinção possibilitando determinar este parâmetro em 2 ou 3 dimensões espaciais. A vantagem de se obter esta imagem é que ela se refere a uma característica da amostra estudada e não das características de equipamento OCT utilizado, como potência por exemplo. A mudança de uma imagem OCT tradicional para uma imagem das características da amostra pode permitir comparações entre imagens adquiridas em diferentes estudos, facilitando futuras descobertas.

5.6.3 Amostras em Camadas (Mudanças bruscas de meio)

Para avaliação do comportamento das soluções frente a amostras com grande variação do valor do coeficiente de extinção foram construídas amostras em camadas, utilizando papel vegetal. Este material foi escolhido por apresentar características que permitem a colocação de mais de uma camada mantendo-se a qualidade da imagem das camadas abaixo da primeira.

Inicialmente foram utilizados 2 folhas de papel vegetal de fontes distintas, chamados de A e B. Seguindo o protocolo estabelecido, os dois materiais foram medidos no sistema OCT. Além disso, utilizando uma esfera integradora, foram medidas suas características de absorção espectral e determinados os valores de transmitância a serem utilizado no método da profundidade óptica. Esta medida também permite determinar o coeficiente de extinção a partir da Lei de Beer para comparação com o valor obtido através dos métodos de inversão propostos.

A seguir, os dois tipos de papel vegetal foram dispostos em 2 camadas formando portando 4 combinações possíveis (AA, BB, AB e BA).

A Figura 5.20 (a) e (b) apresentam as imagens das amostras do papel vegetal 1 camada e 2 camadas adquiridas pelo OCT. Pela imagem OCT não é possível diferenciar a amostra de papel vegetal A da B, seja em 1 ou 2 camadas, e nem suas combinações.

Figura 5.20: Exemplo de Imagens OCT do Papel Vegetal (a) 1 camada e (b) 2 camadas; sinal de entrada dos métodos de inversão.

Para aplicação do método de profundidade óptica, a transmitância das amostras de papel vegetal foram medidas utilizando esfera integradora. Os valores da transmitância em $930nm$ encontrados e utilizados, para 1 camada e 2 camadas, do Papel Vegetal A

foram, respectivamente, 84,84% e 69,63%, do papel Vegetal B 76,75% e 63,95% e do Papel Vegetal de camada dupla combinada AB ou BA foi 55,20%. Os resultados obtidos expressos como imagem, em escala de cor falsa, do coeficiente de extinção estão apresentados na Figura 5.21, nota-se que é possível distinguir claramente a amostra do ar a seu redor.

Figura 5.21: Imagem de coeficiente de extinção do papel vegetal (a) 1 camada A, (b) 2 Camadas A, (c) 2 camadas AB, (d) 1 camada B, (e) 2 camadas B, (f) 2 camadas BA, obtidos pelo método profundidade óptica.

A princípio o valor da extinção do sinal fora da região do Papel Vegetal deve ser igual a zero, porém quando aplicada esta condição de contorno ao método do ponto de contorno a solução não converge em nenhum ponto. A alternativa foi utilizar o menor valor possível para a extinção no ponto de contorno para a qual a solução convergisse.

Foi utilizado $10^{-8} \#pixel^{-1}$, porém ainda assim a solução não converge completamente impossibilitando qualquer eventual comparação, como pode-se notar pela Figura 5.22 que expressa o coeficiente de extinção obtido pelo método do ponto de contorno.

Figura 5.22: Imagem de coeficiente de extinção do papel vegeta A (a) 1 camada e (b) 2 camadas.

Análise estatística aplicada às imagens

A aplicação do método da profundidade óptica apresentou melhores resultados, não apresentando divergência da solução como o obtido pelo método do ponto de contorno. Desta forma, aos resultados obtidos pelo método da profundidade óptica foram aplicados métodos análise de cluster hierarquico (HCA). Foi implementada uma rotina em MatLab[®] utilizando distância Euclideana e método de Ward para realização destas análise.

Os métodos de clusterização baseam-se na variâncias dos valores analisados, e os resultados obtidos possuem uma grande variação de valores principalmente devido às interfaces de superfície das amostras analisadas. Por este motivo, as imagens passaram inicialmente por uma limiarização, utilizando como limite superior o valor de $0,02\#pixel^{-1}$ e como limite inferior o valor de $7.10^{-5}\#pixel^{-1}$ da mesma forma que aplicado a Figura 5.21, sendo qualquer valor acima de $0,02\#pixel^{-1}$ trocado pelo mesmo, e qualquer valor abaixo de $7.10^{-5}\#pixel^{-1}$ trocado por zero.

A maior parte das imagens não se refere a amostra de interesse e, pela limiarização anterior, apresentam valor igual a zero. Foi então construída uma máscara para selecionar as regiões onde estes valores são diferentes de zero (região de interesse de amostra na imagem).

A imagem limiarizada foi analisada utilizando HCA para separação em 2, 3 e 20 grupos cujos resultados estão apresentados nas Figuras 5.23, 5.24 e 5.25.

Figura 5.23: Imagens Papel Vegetal A, limiarizada de coeficiente de extinção (a) 1 camada, (e) 2 camadas; análise de cluster com 2, 3 e 20 grupos (b, c, d) 1 camada e (f, g, h) 2 camadas.

Figura 5.24: Imagens Papel Vegetal B, limiarizada de coeficiente de extinção (a) 1 camada, (e) 2 camadas; análise de cluster com 2, 3 e 20 grupos (b, c, d) 1 camada e (f, g, h) 2 camadas.

Figura 5.25: Imagens 2 camadas limiarizada de coeficiente de extinção (a) Papel Vegetal A-B, (e) Papel Vegetal B-A; análise de cluster com 2, 3 e 20 grupos (b, c, d) Papel Vegetal A-B e (f, g, h) Papel Vegetal B-A.

Pelas análises aplicadas as imagens de 1 camada (5.23a-d e 5.24a-d) pode-se observar que mesmo aumentando o número de possibilidades de agrupamento (5.23d e 5.24d), existe um grupo que permanece majoritário mostrando uma homogeneidade do grupo, dentro da variância apresentada pela amostra. Além disso, nos agrupamentos com 2 e 3 grupos (5.23b-c e 5.24b-c) observa-se uma diferenciação entre o interior do papel vegetal e a superfície como esperado, pois o coeficiente de extinção é maior na superfície comparado ao interior.

Nas Figuras 5.23f-h, pode-se observar que no interior da área correspondente a amostra de Papel Vegetal, existem pontos que correspondem ao grupo identificado como ar, desta forma o método não foi capaz de determinar com precisão o coeficiente de extinção em todos os pontos. O mesmo se observa para as Figuras 5.24f-h, porém com muito menos ocorrências.

As análises realizadas para as amostra de 2 camadas de papel vegetal (AB e BA) não foram capazes de diferenciar os diferentes papeis (Figura 5.25). Este resultado mostra que a grande variação dos resultados obtidos, fruto da somatória de diversos fatores, desde a variação do sinal no momento da aquisição da imagens até o divergência do método de inversão, impossibilita a diferenciação de materiais.

5.7 Estudo aplicado: Correlação entre Microdureza e Coeficiente de Extinção

Um problema atual da área odontológica é a identificação e determinação prévia do nível de desmineralização do dente, antes que uma lesão seja importante com o aparecimento de manchas brancas, estagio avançado do processo de desmineralização [56]. É amplamente conhecido que a desmineralização provoca redução na dureza do dente, porém esta determinação só pode ser realizada através de um ensaio destrutivo. Portanto, estabelecer uma metodologia para medição não destrutiva do grau de desmineralização do dente ou, que de forma indireta, permita aferir a dureza do dente em função da profundidade de sua estrutura, é de grande valia para o campo da odontologia.

O dente possui estrutura cristalina e o processo de desmineralização pode alterar suas

propriedades ópticas que, a princípio, podem ser determinadas utilizando a técnica OCT e aplicando-se os métodos de inversão aqui propostos. Em um trabalho de mestrado ([57]), defendido neste grupo, um protocolo de desmineralização foi aplicado a 160 dentes que foram acompanhados ao longo do tempo por medidas OCT. Neste trabalho foi determinado o coeficiente de extinção médio (através do método da inclinação) e, demonstrou-se que é possível estabelecer uma correlação entre o coeficiente de extinção do sinal e a microdureza do dente.

No entanto, o processo de desmineralização (assim como em nossa boca) ocorre de fora para dentro devido à exposição da face mais externa do dente ao meio ácido. Por isso, existe um gradiente decrescente de desmineralização na estrutura, que chega a atingir a mesma composição (e mesma dureza) de um dente sadio a uma profundidade de aproximadamente $120\mu m$.

Como existe um gradiente crescente da microdureza (devido ao processo de desmineralização) em função da profundidade, o valor da extinção do sinal também deve variar. Neste caso, o método da inclinação pode muitas vezes não representar bem a caracterização do dente, uma vez que perde a dependência da profundidade, tomando assim um valor médio, além disso é necessário escolher uma região de interesse para análise do sinal. Já os métodos de profundidade óptica e do ponto de contorno apresentam grande potencial para caracterização dos dentes de forma mais precisa já que não apresentam as limitações do método da inclinação e não ser necessária escolha de uma região de interesse para análise do sinal.

No entanto, o método do ponto de contorno torna-se difícil de ser aplicado na prática, pois exige o conhecimento da amostra em algum ponto em seu interior. Já o método da profundidade óptica, torna-se mais aplicável para esta análise, pois é possível estabelecer que, por dedução lógica sem a necessidade de medição, o sinal chega à zero dentro da profundidade máxima da imagem e, desta forma, a transmissão é igual a zero ($T = 0$).

Às imagens adquiridas durante este trabalho de mestrado foram submetidas às mesmas metodologias aplicadas às amostras homogêneas 1D para o método de inversão com transmitância igual a zero. Os resultados do coeficiente de extinção e a microdureza obtidos estão apresentados nas Figuras 5.26 a 5.29 (controle, 7, 14 e 21 dias de desmineralização).

Figura 5.26: Coeficiente de extinção e a microdureza dos dentes sem tratamento, grupo controle.

Figura 5.27: Coeficiente de extinção e a microdureza dos dentes após 7 dias tratamento desmineralizante, grupo G1.

Figura 5.28: Coeficiente de extinção e a microdureza dos dentes após 14 dias tratamento desmineralizante, grupo G2.

Figura 5.29: Coeficiente de extinção e a microdureza dos dentes após 21 dias tratamento desmineralizante, grupo G3.

É possível notar que existe uma correlação clara entre o valor médio da extinção (vermelho) e de microdureza (pontos pretos), onde quanto maior a microdureza menor o valor do coeficiente de extinção. Além disso, ao se colocar no mesmo gráfico todos os valores de coeficiente de extinção (Figura 5.30), existe uma diferença clara entre os valores do grupo controle e desmineralizado para a região mais externa do dente. Para profundidades maiores, o valor do coeficiente de extinção dos grupos tratados tende ao valor do grupo controle, da mesma forma que o esperado, pois o gradiente de desmineralização encontra-se refletido na microdureza.

Figura 5.30: Comparação entre grupos tratados e não tratados.

Existe ainda um problema a ser solucionado, que se refere à divergência da solução quando o valor de sinal se aproxima muito de zero. É possível ver seu efeito no valor da flutuação da extinção para profundidades maiores. Porém o comportamento médio da solução apresenta suficiente consistência com o racional biológico para permitir as afirmações acima postas.

A utilização do método de inversão permitiu obter o valor do coeficiente de extinção para cada ponto em profundidade, como existe correspondência entre as profundidades para todos os diferentes grupos de desmineralização, pode-se entender o resultado, para esta aplicação, como multiplas variáveis, de forma similar a utilizada em quimiometria para análises espectrais [59, 60]. Desta forma, foi aplicada análise de componentes principais (PCA) e análise de cluster hierárquico (HCA) para avaliar a existência de padrões entre os grupos de tratamento, implementados em MatLab®. Para o método HCA foi utilizada distância Euclideana e método de Ward. Estes métodos foram aplicados às curvas de coeficiente de extinção de cada individuo até a $80\mu\text{m}$ de profundidade, evitando

a região onde a solução do método de inversão diverge.

As Figuras 5.31 e 5.32 mostram os resultados obtidos pelo método PCA e HCA respectivamente. Para ambos os casos é possível obter uma diferenciação entre os amostras não tratadas (controle) e as amostras tratadas (G1, G2, G3), porém não observada diferenciação entre os grupos de tratamento (G1, G2, G3).

Figura 5.31: Análise de componentes principais dos grupo controle, 7, 14, 21 dias de desmineralização (G1, G2, G3, respectivamente).

Figura 5.32: Análise de cluster hierárquico (HCA) dos grupo controle, 7, 14, 21 dias de desmineralização (G1, G2, G3, respectivamente).

Capítulo 6

CONCLUSÕES

A técnica OCT vem sendo amplamente empregada para análise de tecidos biológicos. Estas análises são em sua maioria baseadas em alterações morfológicas presentes nos tecidos quando comparados a seu respectivo grupo controle (sem alterações). Mais recentemente, características de decaimento médio do sinal tem sido empregadas para diferenciar tecidos. Entretanto, para a realização destas análises se faz necessário selecionar, previamente, uma região de interesse.

Explorar a similaridade entre as técnicas OCT e LIDAR, na descrição dos fenômenos, permitiu aplicar à técnica OCT os três métodos de inversão do sinal utilizados na técnica LIDAR.

Implementar os métodos de inversão, em ambiente LABView[®], permitiu estudar e identificar seu respectivo comportamento quando submetido à avaliação de um sinal simulado. O método da inclinação, por se tratar de uma solução exata da equação LIDAR, quando utilizado coeficiente de extinção constante ao longo do caminho óptico, não apresentou divergência frente aos valores simulados. Porém quando o coeficiente de extinção se torna dependente do caminho óptico este método perde sua validade. Para este último caso, os métodos do ponto de contorno e da profundidade óptica se mostraram mais promissores. No entanto, pela análise dos erros associados aos métodos de inversão, nota-se que a solução diverge para grandes profundidades, tornando o erro mais acentuado quando o valor do sinal tende a zero. Este efeito se acentua quando o valor do coeficiente de extinção aumenta, pois o sinal tende a zero mais rapidamente. Para ambos os métodos de inversão, após o ponto onde o sinal diverge, a solução perde o significado. Através

destas análises, os métodos de inversão da profundidade óptica e do ponto de contorno possuem um limite de validade superior do valor do coeficientes de extinção de $0,03\mu m^{-1}$.

O ruído de fundo e de speckle e o decaimento do sinal ao longo do caminho óptico (devido a queda da intensidade com a distância ao quadrado e ao parâmetro confocal do sistema) possuem grande influência na resposta dos métodos, podendo levar a degradação da solução e interpretação errôneas dos resultados. Com o estabelecimento e utilização das etapas de aquisição e pré-processamento estes efeitos foram reduzidos.

Seguindo o protocolo final, amostras de Alumina (Al_2O_3), Plástico Branco e Plástico Amarelo foram medidas e avaliadas pelos três métodos de inversão. Os valores de coeficiente de extinção obtidos pelos três métodos de inversão apresentaram concordância entre si. Além disso foi possível diferenciar as três amostras para todos os métodos de inversão utilizados.

Para todas as amostras de papel vegetal construídas, o método da profundidade óptica apresentou melhores resultados, frente ao do ponto de contorno, pois a segunda não foi capaz de convergir para uma solução fisicamente possível, uma vez que o coeficiente de extinção foi, em muitos casos, maior no ar do que na amostra de papel vegetal.

As imagens de coeficientes de extinção obtidas pelo método da profundidade óptica representam resultados inéditos na literatura, até o momento, e claramente foram capazes de diferenciar regiões de ar da amostra.

A análise de cluster hierárquico identificou uma consistência entre os grupos formados, porém o método não foi capaz de diferenciar os dois tipos de papel vegetal quando estes são colocados na mesma imagem. Por levar em consideração a variação dos valores para realização dos agrupamentos, pode-se entender que não foi possível obter a diferenciação dos materiais pela variação elevada nos valores de coeficiente de extinção. Isso indica que, um caminho a ser considerado futuramente é a melhora da qualidade das imagens da etapa de aquisição e pré-processamento das imagens, para diminuir a variação ou ruído nas imagens OCT.

Além disso, outros fenômenos não considerados durante as análises desenvolvidas neste trabalho podem ser futuramente incluídos na descrição do sinal, podendo colaborar para aprimorar os resultados obtidos, tais como: múltiplos espalhamentos, possíveis absorções ou grandes variações de coeficiente de espalhamento (como encontrado nas mudanças de

meio apresentada pelo papel vegetal).

O emprego do método da profundidade óptica no estudo de dentes durante o processo cariogênico demonstrou que existe uma clara correlação entre o coeficiente de extinção do sinal e a desmineralização, avaliado pela microdureza (característica avaliada para estabelecer a presença de processo cariogênico), em função da profundidade. Os valores obtidos pelo método de inversão estão de acordo com os valores apresentados na literatura [58]. Observou-se também que em camadas mais profundas, os coeficientes de extinção dos dentes desmineralizados tendem ao valor dos dentes sadios, da mesma maneira que a microdureza do dente. Com a aplicação de PCA e HCA foi possível diferenciar o grupo controle dos que passaram pelo processo de desmineralização, não sendo possível diferenciar as amostras no decorrer do período (três tempos de demineralização).

Apêndice A

Métodos de inversão implementados em ambiente Labview®

Figura A.1: Algoritmo do método da inclinação implementado em ambiente Labview®.

Figura A.2: Algoritmo do método da profundidade óptica implementado em ambiente Labview®.

Figura A.3: Algoritmo do método do ponto de contorno implementado em ambiente Labview®.

Referências Bibliográficas

- [1] HUANG, D; SWANSON, E.A.; LIN, C.P.; SCHUMAN, J.S.; STINSON, W.G.; CHANG, W.; HEE, M.R.; FLOTTE, T.; GREGORY, K.; PULIAFITO, C.A.; FUJIMOTO, J.G.; Optical Coherence Tomography. Science, v.254, n.5035, p.1178, 1991.
- [2] YOUNGQUIST, R.C.; CARR, S. AND DAVIS, D.E.N.; Optical coherence-domain reflectometry: A new optical evaluation technique. Opt. Lett., v.12, pp. 158-160, 1987.
- [3] TAKADA, I.; YOKOHAMA, I.; CHIDA, K.; AND NODA, J.; New measurement system for fault location in optical waveguide devices based on an interferometric technique. Appl. Opt., v.26, pp. 1603-1606, 1987.
- [4] FERCHER, A.F.; MENGEDOHT, K. AND WERNER, W.; Eye-length measurement by interferometry with partial coherent light. Opt. Lett., v.13, pp. 1867-1869, 1988.
- [5] CLIVAZ, W.; MARQUIS-WEIBLE, F.; SALATHE, R.P.; NOVAK, R.P. AND GILGEN, H.H.; High-resolution reflectometry in biological tissue. Opt. Lett. v.17, pp. 4-6, 1992.
- [6] SCHIMITT, M.; KNÜTTEL, A. AND BONNER, R.F.; Measurement of optical properties of biological tissues by low-coherence reflectometry. Appl. Opt., v.32, pp. 6032-6042, 1993.
- [7] FREITAS, A.Z.; ZECELL, D.M.; VIEIRA, N.D.; RIBEIRO, A.C.; GOMES, A.S.L.; Imaging carious human dental tissue with optical coherence tomography. J. App. Physics, v.99, 024960, 2006.

- [8] DE MELO, L.S.A.; DE ARAUJO, R.E.; FREITAS, A.Z.; ZEZEEL, D.; VIEIRA, N.D.; GIRKIN, J.; HALL, A.; CARVALHO, M.T.; GOMES, A.S.L.; Evaluation of enamel dental restoration interface by optical coherence tomography. *J. Biomed. Optics*, v.10, 064027, 2005.
- [9] FERCHER, A.F.; HITZENBERGER, C.K.; DREXLER, W.G.; KAMP, AND SATTAMANN, H.; In vivo optical coherence tomography. *Amer. J. Ophthalmol.*, v. 116, p.113, 1993.
- [10] SCHIMITT, J.M.; KNÜTTEL, A.; YADLOWSKY, M. AND BONNER, R.F.; Optical coherence tomography of a dense tissue: statistics of attenuation and backscattering. *Phys. Med. Biol.*, v.42, p.1427, 1994
- [11] SCHIMITT, J.M.; YADLOWSKY, M. AND BONNER, R.F.; Subsurface imaging in living skin with optical coherence tomography. *Dermatol.*, v.191, p.93, 1995.
- [12] FUJIMOTO, J.G.; BREZINSKI, M.E.; TEARNEY, G.J.; BOPPART, S.A.; BOUMA, B.E.; HEE, M.R.; SOUTHERN, J.F. AND SWANSON, E.A.; Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography. *Nature Med.*, v.1, p.970, 1995.
- [13] STANDISH, B.A.; LEE, K.K.C.; MARIAMPILLAI, A.; MUNCE, N.R.; LEUNG, M.K.K.; YANG, V.X.D.; VITKIN, I.A.; In vivo endoscopic multi-beam optical coherence tomography. *Phys. Med. Biol.*, v. 55, n.3, p. 615, 2010.
- [14] MICHELSON, A.A. *Studies In Optics*. 1º Edição, Mineola, NY: Editora Dover, 1995.
- [15] HEE, M.R.; IZATT, J.A.; SWANSON, E.A.; HUANG, D.; LIN, C.P.; SCHUMAN, J.S.; PULIAFITO, C.A. AND FUJIMOTO, J.G.; Optical coherence tomography of the human retina. *Arch. Ophthalmol.*, v.113, pp.326-332, 1995.
- [16] BOPPART, S.A.; BREZINSKI, M.E.; BOUMA, B.E.; TEARNEY, G.J.; FUJIMOTO, J.G.; Investigation of developing embryonic morphology using optical coherence tomography. *Develop. Biol.*, v.117, n.1, p.54, 1996.

- [17] PAN, Y.; LANKENAU, E.; WELZEL, J.; BIRNGRUBER, R. AND ENGELHARDT, R.; Optical coherence-gated imaging of biological tissues. *IEEE J. Select. Topics Quantum Electron.*, v.2, p. 1029-1034, 1996.
- [18] COLSTON JR., B.W.; SATHYAM, U.S.; DA SILVA L.B. AND EVERETT, M.J.; Dental OCT. *Opt. Express*, v.3, n.6, p.230, 1998.
- [19] SCHMITT, J.M.; Optical coherence tomography (OCT): A Review. *IEEE J. Select. Topics Quantum Electron*, v.5, n.4, p.1205, 1999.
- [20] YU, K.; JI, L.; WANG, L. AND PING, P.; How to optimize OCT image. *Opt. Express*, v.9, n.1, p. 24, 2001.
- [21] ROY, R. AND SEVICK-MURACA, E. M.; A numerical study of gradient-based nonlinear optimization methods for contrast enhanced optical tomography. *Opt. Express*, v.9, n.1, p. 49, 2001.
- [22] KAH, J.C.Y.; CHOW, T.H.; NG, B.K.; RAZUL, S.G.; OLIVO, M.; SHEPPARD, C.J.R.; Concentration dependence of gold nanoshells on the enhancement of optical coherence tomography images: a quantitative study. *Appl. Opt.*, v.48,n.10, p. D96, 2009.
- [23] LANGHAMMER, C; KASEMO, B; ZORIC, I; Absorption and scattering of light by Pt, Pd, Ag, and Au nanodisks: Absolute cross sections and branching ratios. *J. Chem. Phys.*, v.126, n.19, 2007.
- [24] ZAGAYNOVA, E.V.; SHIRMANOVA, M.V.; KIRILLIN, M.Y.; KHLEBTSOV, B.N.; ORLOVA, A.G.; BALALAEVA, I.V.; SIROTKINA, M.A.; BUGROVA, M.L.; AGRBA, P.D.; KAMENSKY, V.A.; Contrasting properties of gold nanoparticles for optical coherence tomography: phantom, in vivo studies and Monte Carlo simulation. *Phys. Med. Biol.*, v.53, n.18, p. 4995, 2008.
- [25] YAQOOB, Z.; MCDOWELL, E.; WU, J.; HENG, X.; FINGLER, J.; YANG, C.; Molecular contrast optical coherence tomography: a pump-probe scheme using indocyanine green as a contrast agent. *J. Biomed. Optics*, v.11, n.5, 2006.

- [26] YANG, C.H.; Molecular contrast optical coherence tomography: A review. *Photochem. Photobiol.*, v.81, n.2, p. 215, 2005.
- [27] DESJARDINS, A.E.; VAKOC, B.J.; TEARNEY, G.J.; BOUMA, B.E.; Backscattering spectroscopic contrast with angle-resolved optical coherence tomography. *Opt. Lett.*, v.32, n.21, p.3158, 2007.
- [28] XU, C.Y.; VINEGONI, C.; RALSTON, T.S.; LUO, W.; TAN, W.; BOPPART, S.A.; Spectroscopic spectral-domain optical coherence microscopy. *Opt. Lett.*, v.31, n.8, p. 1079, 2006.
- [29] SCHMITT, J.M.; KNUTTEL, A.; BONNER, R.F.; Measurement Of Optical-Properties Of Biological Tissues By Low-Coherence Reflectometry. *Appl. Opt.*, v.32, n.30, p.6032, 1993.
- [30] BOSSCHAART, N.; AALDERS, M.C.G.; FABER, D.J.; WEDA, J.J.A.; VAN GEMERT, M.J.C.; VAN LEEUWEN, T.G.; Quantitative measurements of absorption spectra in scattering media by low-coherence spectroscopy. *Opt. Lett.*, v.34, n.23, p. 3746, 2009.
- [31] HUBER, R.; WOJTKOWSKI, M.; TAIRA, K.; FUJIMOTO, J.G.; HSU, K.; Amplified, frequency swept lasers for frequency domain reflectometry and OCT imaging: design and scaling principles. *Opt. Express*, v.13, n.9, p.3513, 2005.
- [32] HUBER, R. AND WOJTKOWSKI, M. AND FUJIMOTO, J.G.; Fourier Domain Mode Locking (FDML): A new laser operating regime and applications for optical coherence tomography. *Opt. Express*, v.14, n.8, p.3225, 2006.
- [33] KOVALEV, V.A.; EICHINGER, W.E.; Elastic Lidar: Theory, Practice, and Analysis Methods. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004.
- [34] TSIEN, R.Y.; Imagining imaging's future. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* p.SS16-21, 2003.
- [35] SOWA, M.G.; POPESCU, D.P.; FRIESEN, J.R.; HEWKO, M.D. AND CHOO-SMITH, L.P.; A comparison of methods using optical coherence tomography to detect demineralized regions in teeth. *J. Biophot.*, v.4, p.814-823, 2011.

- [36] HARIRI, I.; SADR, A.; SHIMADA, Y.; TAGAMI, J.; SUMI, Y.; Effects of structural orientation of enamel and dentine on light attenuation and local refractive index: An optical coherence tomography study. *J. Dent.*, v. 40, n. 5, p.387-396, 2012.
- [37] NI, Y.R.; GUO, Z.Y.; SHU, S.Y.; ZENG, C.C.; ZHONG, H.Q.; CHEN, B.L.; LIU, Z.M. AND BAO, Y. Determination of optical properties of oxidative bleaching human dental tissue samples using optical coherence tomography. *Las. Phys.*, v. 22, n.1, p. 294-299, 2012.
- [38] CARA, A.C.B.; ZECELL, D.M.; ANA, P.A.; DEANA, A.M.; AMARAL, M.M.; VIEIRA JR., N.D.; FREITAS, A.Z.; Comparative analysis of optical coherence tomography signal and microhardness for demineralization evaluation of human tooth enamel. *Proc. SPIE 84271H*, Junho 2012.
- [39] AZEVEDO, C.S.; TRUNG, L.C.E.; SIMIONATO, M.R.L.; FREITAS, A.Z.; MATOS, A.B.; Evaluation of caries-affected dentin with optical coherence tomography. *Braz. Oral Res.*, v.25, n.5, p. 407-413, 2011.
- [40] SADR, A.; HARIRI, I.; NAZARI, A.; BAKHSH, T.A.; SHIMADA, Y.; NAKASHIMA, S.; SUMI, Y. and TAGAMI, J.; Demineralization Affects Refractive Indices of Human Enamel and Dentin. *Proc. IADR.*, 2606, Barcelona, 2010.
- [41] BOONE, M.; JEMEC, G.B.; DEL MARMOL, V.; High-definition optical coherence tomography enables visualization of individual cells in healthy skin: comparison to reflectance confocal microscopy. *Exp Dermatol.* e-published, Julho 2012.
- [42] ALEX, A.; WEINGAST, J.; WEINIGEL, M.; KELLNER-HÖFER, M.; NEMECEK, R.; BINDER, M.; PEHAMBERGER, H.; KÖNIG, K.; DREXLER, W.; Three-dimensional multiphoton/optical coherence tomography for diagnostic applications in dermatology. *J Biophotonics.*, e-published, Junho 2012.
- [43] LI, N.; ZHANG, S.; HOU, J.; JANG, I.K.; YU, B.; Assessment of Pulmonary Artery Morphology by Optical Coherence Tomography. *Heart Lung Circ.*, e-published, Agosto 2012.

- [44] ABTAHIAN, F.; JANG, I.K.; Optical coherence tomography: basics, current application and future potential. *Curr. Opin. Pharmacol.*, e-published, Agosto 2012.
- [45] SHIELDS, C.L.; KALIKI, S.; ROJANAPORN, D.; FERENCZY, S.R.; SHIELDS, J.A.; Enhanced depth imaging optical coherence tomography of small choroidal melanoma: comparison with choroidal nevus. *Arch. Ophthalmol.*, v. 130, n.7, p. 850-856, 2012.
- [46] POPESCU, D.P.; FLUERARU, C.; MAO, Y.; CHANG, S.; SOWA, M.G.; Extracting information from optical coherence tomography images of tissues: signal attenuation and fractal analysis of speckle pattern. *Proc. SPIE*, 75550C, Fevereiro 2010.
- [47] POPESCU, D.P.; FLUERARU, C.; MAO, Y.; CHANG, S.; SOWA, M.G.; Signal attenuation and box-counting fractal analysis of optical coherence tomography images of arterial tissue. *Biomed. Opt. Expr.*, v. 1, n.1, p. 268-277, 2010.
- [48] KODACH, V.M.; FABER, D.J.; VAN MARLE, J.; VAN LEEUWEN, T.G. AND KALKMAN, J.; Determination of the scattering anisotropy with optical coherence tomography. *Opt. Expr.*, v.19, n.7, p. 6131, 2011.
- [49] VAN DER MEER, F.J.; FABER, D.J.; AALDERS, M.C.G.; POOT, A.A.; VERMES, I. AND VAN LEEUWEN, T.G.; Apoptosis- And Necrosis-Induced Changes In Light Attenuation Measured By Optical Coherence Tomography. *Las. Med. Sci.* v.25, n. 2, p.259-267, 2010.
- [50] KOK, P.H.B.; VAN DIJK. H.W.; VAN DEN BERG, T.J.T.P.; VERBRAAK, F.D.; A Model for the Effect of Disturbances in the Optical Media on the OCT Image Quality. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*; v. 50, n. 2, P. 787-792, 2009.
- [51] HOJJATOLESLAMI, A. AND AVANAKI, M.R.N.; OCT Skin Image Enhancement Through Attenuation Compensation. *Appl. Opt.*, v. 51, n. 21, p. 4927-4935, 2012.
- [52] FLUERARU, C.; POPESCU, D.P.; MAO, Y.; CHANG, S. AND SOWA, M.G.; Added soft tissue contrast using signal attenuation and the fractal dimension for optical coherence tomography images of porcine arterial tissue. *Phys. Med. Biol.*, v.55, p. 2317, 2010.

- [53] VAN DER SCHOOT, J.; VERMEER, K.A.; DE BOER, J. F.; LEMIJ, H.G.; The Effect Of Glaucoma On The Optical Attenuation Coefficient Of The Retinal Nerve Fiber Layer In Spectral Domain Optical Coherence Tomography Images. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, v. 53, n. 4, p. 2424-2430, 2012.
- [54] BOSSCHAART, N.; FABER, D.J.; VAN LEEUWEN, T.G.; AALDERS, M.C.G.; Measurements Of Wavelength Dependent Scattering And Backscattering Coefficients By Low-Coherence Spectroscopy. *J. Biomed. Opt.*, v.16, n.3, p. 030503, 2011.
- [55] KUNICKI-GOLDFINGER, J.; TARGOWSKI, P.; GÓRA, M.; KARASZKIEWICZ, P.; DZIERZANOWSKI, P.; Characterization of Glass Surface Morphology by Optical Coherence Tomography. *Stud. Conserv.*, v.54, p. 117-128, 2009.
- [56] KIELBASSA, A.M.; WRBAR, K.T.; SCHULTE-MÔNTING, J.; HELLWIG, E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on *in situ*-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Arch. Oral Biol.*, v.44, n.3, p.243-251, 1999.
- [57] de Cara, A.C.B. **Avaliação do processo de desenvolvimento de desmineralização em esmalte dental humano utilizando a técnica de tomografia por coerência óptica.** 2012. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
- [58] SOWA, M.G; POPESCU,D.P.; FRIESEN,J.R.; HEWKO, M.D.; CHOO-SMITH, L-P. A comparison of methods using optical coherence tomography to detect demineralized regions in teeth. *J. Biophotonics*, v.4, No. 11-12, 814-823, 2011.
- [59] OTTO, M., *Chemometrics*, Wiley-VCH, Weinheim, 1999.
- [60] VANDEGINSTE, B.G.M.; MASSART, D.L.; BUYDENS, L.M.C.; Jong, S.; Lewi, P.J.; Smeyers-Verbeke, J.; *Handbook of chemometrics and qualimetrics: part B*, Elsevier, Amsterdam, 1998.