

1 2 9 0



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Diana Rita Valério Mimoso

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE
ESFERA INTEGRADORA DUPLA PARA
MEDIÇÃO DE PROPRIEDADES ÓTICAS**

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado de Engenharia Física, ramo de Instrumentação orientada pelo Professor Doutor António Miguel Lino Santos Morgado e apresentada ao Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologia.

Outubro de 2021



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Diana Rita Valério Mimoso

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE
ESFERA INTEGRADORA DUPLA PARA
MEDIÇÃO DE PROPRIEDADES ÓTICAS**

*Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para
Cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do
Grau de Mestre em Engenharia Física*

Orientador: António Miguel Lino Santos Morgado

Outubro de 2021

Esta cópia da tese é fornecida na condição de que quem a consulta reconhece que os direitos de autor são pertença do autor da tese e que nenhuma citação ou informação obtida a partir dela pode ser publicada sem a referência apropriada.

This copy of the thesis has been supplied on condition that anyone who consults it is understood to recognize that its copyright rests with its author and that no quotation from the thesis and no information derived from it may be published without proper acknowledgment.

Resumo

Nesta dissertação apresentam-se os trabalhos realizados para o desenvolvimento de um sistema de medição de propriedades óticas baseado na técnica de esfera integradora dupla. O objetivo do sistema é conseguir medir propriedades óticas de amostras de tecidos biológicos: o coeficiente de absorção (μ_a), o coeficiente de dispersão (μ_s) e a anisotropia de dispersão (g).

O sistema de medição permite obter os valores de parâmetros óticos (refletância difusa (M_R), transmitância difusa (M_T) e transmitância colimada (M_U)) usados para determinar a solução da equação de transporte radiativo. A partir dos parâmetros óticos, de algumas características da amostra a analisar e de propriedades dos componentes do sistema de medição, o método computacional *Inverse Adding Doubling* (IAD) resolve a equação de transporte radiativo e devolve as propriedades óticas.

Na caracterização do instrumento criado avaliou-se a precisão, exatidão e repetibilidade das medidas. Foram feitas medições com padrões de refletância, tinta da china, intralípido e filtros de absorbância. Estas medidas foram ainda utilizadas para determinar as gamas de valores dos parâmetros óticos para as quais é possível obter as propriedades óticas.

Durante o estudo do funcionamento do método IAD foi verificada que este assume a presença de um *baffle* nas esferas integradoras. Por esse motivo tornou-se importante estudar, recorrendo a simulações computacionais, a equivalência das medidas das propriedades óticas obtidas usando esferas integradoras com e sem *baffle*.

Palavras-chave: medição de propriedades óticas; método *Inverse Adding-Doubling*; coeficiente de absorção; coeficiente de dispersão; anisotropia de dispersão

Abstract

This thesis reports the development of an optical properties measurement system using the double integrating sphere technique. The aim of this project is to be able to use this system to measure optical properties of biological samples: absorption coefficient, reduced scattering coefficient and scattering anisotropy.

The system developed allows to measure the optical parameters (diffuse reflectance, diffuse transmittance and collimated transmittance) used to solve the equation of radiative transfer. Using these optical parameters, features of the analysed sample and properties of the components of the measurement system, the Inverse Adding-Doubling (IAD) computational method solves the radiative transfer equation and returns the optical properties of the sample.

The precision, the accuracy and the repeatability of the measures was evaluated to characterise the developed instrument. To do so, measurements were made with reflectance standards, Indian ink, intralipid and absorbance filters. These measures were also used to determine the optical parameters input range for which the IAD method returns valid optical properties values.

The documentation on the IAD method mentions that the algorithm assumes that the integrating spheres used to measure the optical parameters have a baffle. For this reason it became important to study, through computational simulations, the equivalence between measures of optical properties, obtained using integrating spheres with and without baffle.

Keywords: measurement of optical properties; Inverse Adding-Doubling method; absorption coefficient; scattering coefficient; scattering anisotropy

Constantes

$P_{R, sb}$	Potência detetada na esfera de refletância nas esferas sem <i>baffle</i>
$P_{R, cb}$	Potência detetada na esfera de refletância nas esferas com <i>baffle</i>
$P_{T, sb}$	Potência detetada na esfera de transmitância nas esferas sem <i>baffle</i>
$P_{T, cb}$	Potência detetada na esfera de transmitância nas esferas com <i>baffle</i>
P	Potência que entra na esfera de refletância
m	Fator de reflexão da parede da esfera
r	Fator de reflexão do detetor
R_d	Reflexão difusa da amostra com incidência de luz difusa
R_c	Reflexão colimada da amostra com incidência de luz colimada
R_{cd}	Reflexão difusa da amostra com incidência de luz colimada
T_d	Transmissão difusa da amostra com incidência de luz difusa
T_c	Transmissão colimada da amostra com incidência de luz colimada
T_{cd}	Transmissão difusa da amostra com incidência de luz colimada
A	Área total da esfera
δ	Área do detetor
s	Área da amostra
h	Área de portas das esferas
M_R	Medida da refletância total
M_T	Medida da transmitância difusa
M_U	Medida da transmitância colimada
μ_a	Coefficiente de absorção
μ'_s	Coefficiente de dispersão reduzido
μ_s	Coefficiente de dispersão
g	Anisotropia

Lista de Figuras

2.1	A figura da esquerda apresenta um esquema de uma esfera integradora das mais simples. O esquema é adaptado de um encontrado em [19]. Na figura da direita está a imagem de uma das esferas integradoras usadas neste trabalho (IS200-4, <i>Thorlabs</i>). A imagem foi retirada da folha de especificações das esferas. As esferas usadas têm 4 portas para entrada/saída de luz e uma porta para o fotodetector. A porta do detetor está desviada do centro da esfera.	9
2.2	Esquema de esferas integradoras. A esfera da esquerda, a primeira em que a luz incide é a esfera de refletância. A esfera da direita é a esfera de transmitância. A potência medida no detetor da esquerda é a potência refletida $P_{R, sb}$ e a potência medida no detetor da direita é a potência transmitida $P_{T, sb}$. O subscrito "sb" refere-se à utilização de esferas sem <i>baffle</i> . A imagem usada é adaptada de uma apresentada em [20].	10
2.3	Incerteza da medição da refletância em função do valor medido para a refletância, obtida por Pickering <i>et al.</i> [21]	11
2.4	Esferas integradoras com <i>baffle</i> , estrutura que permite evitar que chegue ao detetor luz vinda diretamente da amostra.[21]	11
2.5	Esquema de funcionamento do método IAD quando é medida a transmissão colimada [23]. A partir dos valores das medidas introduzidos, determinam-se valores para as propriedades τ , g e a que correspondem a valores de reflexão e de transmissões, calculados através do método AD. Quando os valores obtidos por AD forem suficientemente próximos dos valores medidos, as propriedades óticas μ_s , μ_a e g são calculadas a partir dos últimos valores determinados para τ , g e a . Neste caso, os modelos escolhidos para a função de fase são a função Henyey-Greenstein (HG) e a função delta-Eddington; no programa disponibilizado por Scott Prahl já não há a possibilidade de escolher os modelos matemáticos a utilizar.	14
2.6	Resultados representativos do que foi obtido no estudo [34]. O gráfico a) refere-se ao coeficiente de absorção medido em função do comprimento de onda. O gráfico b) refere-se ao coeficiente de dispersão medido em função do comprimento de onda. Os resultados a vermelho e a azul são referentes a diferentes grupos de amostras.	15

2.7	Comparação de propriedades óticas de tecidos adiposos de animais e humanos. As curvas referentes aos dados do estudo em causa são de tecidos recolhidos em porcos [35].	17
2.8	Propriedades óticas de amostras de esclera humana. Comparação de resultados obtidos em 4 estudos. A linha contínua representa o estudo [3]. Os círculos representam os dados do estudo [15]. Os quadrados representam os dados do artigo [10]; estes foram obtidos pelo método computacional Monte Carlo inverso e não pelo método IAD. Os triângulos representam os dados do estudo [9], em que foi usada apenas uma esfera integradora para medição de refletância e transmitância.	18
3.1	Esquema do sistema de medição das propriedades óticas de amostras de tecidos biológicos com 2 esferas integradas desenvolvido por <i>Pickering et al.</i> , [21] .	21
3.2	Diagrama de blocos da instrumentação para a medição das propriedades óticas de amostras de tecidos biológicos.	22
3.3	Medições necessárias para obter a transmitância colimada medida de uma amostra. [24]	23
3.4	Medições necessárias para obter a refletância medida e a transmitância difusa medida de uma amostra.[24]	24
3.5	Sistema utilizado usada para as medidas experimentais.	24
3.6	Cabeçalho do ficheiro de entrada para análise de amostras de tinta da china. . .	26
4.1	Fluxograma da simulação e tratamento de dados realizados no estudo da influência do <i>baffle</i> nas medições experimentais e no cálculo das propriedades óticas.	28
4.2	Distribuição das diferenças do coeficientes de absorção obtidos.	30
4.3	Distribuição das diferenças do coeficiente de dispersão reduzido obtidos.	30
4.4	Gráfico de <i>Bland-Altman</i> valores μ_a . O gráfico representa a diferença entre os valores obtidos com e sem <i>baffle</i> em função da média desses valores.	31
4.5	Gráfico de <i>Bland-Altman</i> para os valores μ'_s	32
4.6	Distribuição das diferenças nas medidas de M_R calculados. A diferença foi obtida subtraindo à medida M_R obtida com <i>baffle</i> o valor M_R obtido sem <i>baffle</i>	32
4.7	Distribuição das diferenças nas medidas de M_T calculados. A diferença foi obtida subtraindo à medida M_T obtida com <i>baffle</i> o valor M_T obtido sem <i>baffle</i>	33
5.1	Gama de valores percentuais de transmitância dispersa medidos nos diferentes materiais testados e obtidos nas simulações. A primeira figura mostra as gamas todas à mesma escala enquanto que a segunda figura mostra em detalhe cada as gamas de cada distribuição.	39

5.2	Gamas de valores percentuais das medidas de refletância. A primeira figura mostra as gamas todas à mesma escala enquanto que a segunda figura mostra em detalhe cada as gamas de cada distribuição. Na segunda figura, o primeiro gráfico refere-se a todos os valores que convergiram, independentemente da amostra que foi usada. Os gráficos seguintes referem-se à refletância dos dados que não convergiram para as medições com a tinta da china e para os filtros. O gráfico da direita diz respeito aos valores das simulações.	40
5.3	Gamas de valores percentuais da transmitância colimada medida. A primeira figura mostra as gamas todas à mesma escala enquanto que a segunda figura mostra em detalhe cada as gamas de cada distribuição. Os valores de M_U obtidos para a tinta da china e para o intralípido são muito distantes o que obrigou à sua representação em gráficos distintos.	43

Lista de Tabelas

5.1	Refletâncias medidas para os padrões de refletância difusa. Os valores de M_R correspondem à média \pm desvio-padrão.	36
5.2	Dados obtidos para as propriedades óticas das diferentes amostras de tinta da china.	36
5.3	Dados obtidos para as propriedades óticas das diferentes amostras de intralípido.	37
5.4	Valores dos parâmetros óticos para os diferentes filtros de absorbância.	38

Conteúdo

Resumo	i
Abstract	iii
Constantes	v
Lista de figuras	ix
Lista de tabelas	xi
1 Introdução	1
1.1 Motivação e enquadramento	1
1.2 Objetivos	4
1.3 Requisitos	4
1.4 Organização	4
2 Fundamentos e Estado da arte	7
2.1 Propriedades óticas	7
2.2 Esferas integradoras	8
2.2.1 Técnica de esfera integradora dupla	10
2.2.2 Influência do <i>baffle</i> na qualidade da medida	11
2.3 Método <i>Adding Doubling</i>	13
2.4 Método <i>Inverse Adding Doubling</i>	13
2.5 Estado da arte	13
3 Instrumentação	21
3.1 Arquitetura	21
3.2 Método de medição	22
4 Estudo da influência do <i>baffle</i>	27
4.1 Métodos	27
4.2 Resultados	29
4.3 Discussão	30

5	Caracterização do instrumento	35
5.1	Métodos	35
5.2	Resultados	36
5.3	Discussão	37
6	Conclusão e trabalhos futuros	45
	Referências	48
	Anexo	52
	Folha de especificações do díodo laser	53
	Folha de especificações das esferas integradoras	55
	Folha de especificações do fotodíodo SM1PD1A	57
	Folha de especificações do fotodíodo SM05PD1B	59
	Folha de especificações do amplificador	61
	Folha de especificações do amplificador <i>lock-in</i>	63

Capítulo 1

Introdução

1.1 Motivação e enquadramento

O modo como a luz se propaga não é igual em todos os meios. A luz pode atravessar o meio, ser absorvida por este ou ainda dispersada. O que acontece em cada ponto do caminho está relacionado com os coeficientes de absorção e de dispersão, μ_a e μ_s , respetivamente. Estes parâmetros permitem prever como é que os fótons se vão propagar no meio e saber como é que a luz vai interagir neste. A partir do comportamento previsto para cada meio material, pode-se criar ou melhorar processos de aquisição de informação sobre as características e condição de um dado meio, sejam eles baseados na medição de parâmetros ou na obtenção de imagens. Na área médica, estas informações revelam-se bastante importantes para melhorar ou criar métodos de diagnóstico, tratamento e reabilitação.

Para desenvolver modelos computacionais que simulam a propagação da luz em tecidos e meios biológicos também é necessário conhecer as propriedades óticas destes. Usado em conjunto com técnicas de imagiologia, os modelos computacionais podem permitir identificar alterações estruturais que não podem ser detectadas directamente pela análise de imagens, devido a insuficiente resolução espacial, nomeadamente alterações intracelulares, bem como distinguir entre processos intra e intercelulares. É o caso da imagiologia da retina por Tomografia de Coerência Óptica (OCT). Nesta técnica a lente objectiva inclui os componentes refractivos do olho: córnea e cristalino. Daqui resulta que as imagens de OCT não têm resolução espacial suficiente para distinguir as células da retina, o que torna os modelos computacionais muito valiosos para identificar as mudanças que ocorrem nesse meio.

Um bom exemplo da utilidade dos modelos computacionais no esclarecimento de processos não identificáveis por técnicas de imagiologia é o trabalho publicado em 2015 pelo grupo de investigação em que foi realizado este projecto de mestrado. [28] O problema clínico abordado diz respeito ao Edema Macular Diabético (EMD), uma patologia caracterizada pela acumulação de líquido na mácula, a área da retina responsável pela visão central nítida, utilizada para ler, reconhecer rostos, cores e executar todas as tarefas finas. O EMD é uma consequência da retinopatia diabética, resultando do aumento da permeabilidade da barreira hemato-retiniana. Cerca de metade dos diabéticos com retinopatia diabética desenvolve também EMD.

Estudos anteriores realizados no IBILI – Instituto Biomédico de Investigação da Luz Imagem da Universidade de Coimbra, resultaram na proposta de dois tipos de EMD: um tipo citotóxico e um tipo vasogénico, com o primeiro associado à acumulação de líquido no espaço intracelular e o segundo à acumulação no espaço extracelular. Enquanto o primeiro tipo representa uma ameaça aos fotorreceptores e, conseqüentemente, uma perda definitiva de visão, o segundo é normalmente reversível.

Clinicamente, a medição do EMD é baseada nas características estruturais da imagem OCT. Conforme dissemos acima, esta técnica não possui resolução lateral que permita identificar, a nível celular, onde ocorrem as alterações. Logo, não pode discriminar entre edema intra- e extracelular.

Também já tinha sido demonstrado no IBILI, que a imagiologia OCT é sensível a pequenas variações do índice de refração nos tecidos biológicos, através do impacto destas variações na secção eficaz de retro-dispersão. [6] Tal não é visível directamente na imagem OCT, mas está presente na estatística do sinal. Esse facto já tinha sido utilizado para detectar alterações locais na permeabilidade da barreira hemato-retiniana, e é hoje a base de uma linha de investigação do CIBIT - *Coimbra Institute for Biomedical Imaging and Translational Research* (um dos centros de investigação que teve origem no extinto IBILI) que utiliza o sinal OCT para discriminar entre indivíduos saudáveis e indivíduos com doenças neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson, Esclerose Múltipla). [18]

Com base nisto, concluiu-se que o desenvolvimento de um modelo óptico da retina humana era a única alternativa plausível para obter conhecimento sobre as alterações nos espaços intra- e extracelular que pudessem justificar os achados OCT nas retinas dos doentes. Este modelo óptico celular da retina deveria permitir ajustar as características estruturais e ópticas da retina (dimensões e densidade celular, índices de refração) até obter dados OCT equivalentes aos observados em imagens reais das retinas dos doentes.

Foi esta a metodologia empregue neste trabalho. Foi construído um modelo computacional tridimensional, estrutural e óptico, de uma pequena região de uma camada da retina. Foi escolhida a camada nuclear externa (ONL) por razões fisiológicas e físicas (nesta camada os dispersores são esféricos), resolveram-se as equações de *Maxwell* para este domínio 3D, utilizando um método descontínuo de *Galerkin* de elementos finitos, para obter o campo disperso e a secção eficaz e a anisotropia de dispersão. Com base nestes elementos foi possível parametrizar um modelo Monte-Carlo multicamada da imagiologia OCT da retina.

Este modelo computacional foi aplicado no estudo da EMD. Foram adquiridos varrimentos axiais OCT (A-Scans) de controlos saudáveis, doentes com EMD e aumento significativo da espessura da camada ONL e doentes com EMD mas sem alterações visíveis na ONL. O modelo computacional foi usado para simular um A-scan OCT para cada um dos grupos estudados.

Este A-scan foi comparado com os A-Scans reais.

Os resultados obtidos foram muito significativos. A reprodução do sinal obtido nos doentes sem aumento da espessura da ONL só era possível aumentando o raio dos núcleos celulares no modelo em 14%, relativamente à condição saudável, mantendo inalterados os outros parâmetros. Já os dados obtidos nos doentes com aumento da espessura da ONL só eram reproduzidos pelo modelo quando se diminuía a densidade de núcleos celulares na camada. Estes resultados corroboraram a existência de dois tipos de EMD: citotóxico (intracelular) e vasogénico (extracelular).

Uma forma fiável de validar modelos computacionais de propagação da luz em tecidos biológicos é medir experimentalmente os parâmetros ópticos desses tecidos: coeficiente de absorção, coeficiente de dispersão e anisotropia. Nos modelos computacionais baseados no método de Monte Carlo, há amostragem aleatória do que pode acontecer a cada fotão, dependendo das probabilidades atribuídas a cada ação. As ações possíveis para os fotões são: serem absorvidos, serem dispersados ou não interagirem com o meio; as probabilidades estão ligadas aos coeficientes de absorção e de dispersão. No caso de um fotão ser absorvido, começa uma amostragem com um novo fotão; se o fotão não for absorvido continua-se a amostragem desse fotão até que seja absorvido ou saia do sistema em simulação. Se o fotão for dispersado, interessa ainda saber em que direção o fotão se vai propagar, o que se consegue saber através da anisotropia. Como estes parâmetros ainda não são conhecidos para vários tecidos oculares, é justificável o desenvolvimento de um criar um sistema que permita medir as propriedades ópticas das diferentes camadas da retina. Estando disponíveis duas esferas integradoras (IS200-4, *Thorlabs*), surgiu a possibilidade de se construir um sistema para medição das propriedades ópticas de tecidos biológicos baseado nestes componentes. Escolheu-se como técnica de medição, a técnica de esfera integradora dupla e como método de medição o método *Inverse Adding Doubling* (IAD), pelas razões abaixo indicadas.

A técnica de esfera integradora dupla têm a vantagem de possibilitar a medição simultânea de todas as propriedades ópticas. Esta possibilidade é obrigatória se quisermos submeter a amostra a variações térmicas e saber como as propriedades ópticas variam com a temperatura, o que poderá ser útil no estudo dos efeitos da radiação óptica nos tecidos da retina.

O método IAD permite obter os valores dos coeficientes de absorção, dispersão e anisotropia de dispersão a partir das medidas experimentais de reflexão e transmissão totais e de transmissão colimada. De acordo com a literatura [26], o método permite exactidões de 2 a 3% para a maioria dos valores de reflexão e transmissão e é válido para amostras com valores similares de absorção e dispersão. Tal não acontece com métodos baseados na aproximação difusiva para a propagação da luz. Outra vantagem é a disponibilidade gratuita de uma implementação computacional do método IAD.

Um pormenor importante é o facto de as esferas integradoras disponíveis não possuírem um

baffle. Trata-se de uma anteparo interna, colocada perto do porto para o fotodíodo detector de luz, cuja função é impedir a detecção de luz proveniente de reflexões especulares na amostra. As esferas IS200-4 da *Thorlabs* possuem antes um recesso no porto do fotodíodo que faz com que o plano da área de detecção esteja recuado relativamente à superfície interna da esfera. Trata-se de uma solução intermédia entre presença e a ausência de *baffle*. Por esta razão, foi decidido fazer um estudo sobre a influência do *baffle* nas medidas das propriedades ópticas do meio.

1.2 Objetivos

Neste trabalho, pretende-se avaliar o desempenho de um sistema de medição de propriedades ópticas de amostras finas de tecidos biológicos, baseado na técnica de esfera integradora dupla e no método computacional IAD.

Para o efeito, é necessário:

- construir um sistema que meça o coeficiente de absorção, o coeficiente de dispersão e a anisotropia de amostras finas, baseado em duas esferas integradoras;
- caracterizar o sistema através de amostras padrão.

Como objectivo secundário, definiu-se a avaliação do impacto da presença do *baffle* nas esferas integradoras, sobre a qualidade das medidas das propriedades ópticas.

1.3 Requisitos

Para o sistema de aquisição, foi definido que se iria usar a técnica de esfera integradora dupla com um laser de 850 nm, comprimento de onda utilizado nos tomógrafos de coerência óptica de uso clínico em oftalmologia. O sistema tem que ser adequado para medição em amostras biológicas finas, considerando que as medições devem ser para cada camada da retina.

As medições devem ter erros de exatidão e precisão inferiores a 10 %.

1.4 Organização

Neste projeto desenvolveu-se um sistema de medição de propriedades ópticas. As bases para este trabalho são resumidas no capítulo 2. Nesse capítulo são apresentados conceitos fundamentais, conclusões já obtidas por outros autores para medições com esferas integradoras e o estado da arte relativo a aplicações das esferas integradoras na medição de propriedades ópticas.

No capítulo 3 é descrito o sistema de medição implementado e o método de medição usado. No capítulo 4 é analisado o impacto da presença do *baffle* nas medidas das propriedades ópticas. Através de simulação de dados, determinam-se as diferenças nas medidas para dois tipos de esferas (com e sem) e avalia-se a equivalência entre os dois conjuntos de medidas.

No capítulo 5 são apresentados os resultados obtidos na avaliação de desempenho do sistema implementado. Foram utilizadas amostras padrão e procurou-se avaliar a precisão, a exactidão e a repetibilidade das medidas. Determinaram-se ainda as gamas de valores dos parâmetros ópticos para as quais o método IAD apresenta resultados válidos. Para tal, utilizaram-se os dados simulados empregues nos estudos descritos no capítulo 4.

No capítulo final são revistas as conclusões obtidas a partir dos resultados dos estudos realizados e deixam-se sugestões para trabalhos futuros.

Em Apêndice, é possível consultar as folhas de especificação dos vários módulos utilizados na implementação do sistema de medição das propriedades ópticas.

Capítulo 2

Fundamentos e Estado da arte

2.1 Propriedades óticas

As propriedades óticas são fatores determinantes da forma como a luz se propaga num determinado meio. O coeficiente de dispersão, μ_s , o coeficiente de absorção, μ_a e a função de fase são as propriedades óticas de interesse. Estes coeficientes vão determinar a probabilidade com que o acontecimento ocorre, isto é, μ_a é proporcional à probabilidade do fóton ser absorvido e μ_s é proporcional à probabilidade do fóton ser disperso. A função de fase, $p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}')$, tem relevância para determinar em que direção o fóton vai ser disperso.

A função de fase, $p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}')$, depende da direção inicial do fóton, da direção para que este é disperso e do dispersor. Existem várias propostas para a função de fase para tecidos biológicos. A mais simples é a função de fase para tecidos isotrópicos. Embora mais complexas, são muito utilizadas a função de fase de Eddington e a função de fase de Henyey-Greenstein. Num contexto de aplicação prática é preferível utilizar a anisotropia, g , um valor mais facilmente medido. A anisotropia é mais relevante do que a função de fase para meios não isotrópicos e é definida como:

$$g = \int_{4\pi} p(\hat{\mathbf{s}}, \hat{\mathbf{s}}') (\hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{s}}') d\Omega = \int_{2\pi} \int_{\pi} p(\cos\theta) (\cos\theta) \cdot \sin\theta d\theta d\phi. \quad (2.1)$$

A função de fase é regularmente restringida e assume-se que depende apenas do cosseno do ângulo entre as direções $\hat{\mathbf{s}}$ e $\hat{\mathbf{s}}'$.

O que se verifica nas medições de propriedades óticas é que as técnicas permitem obter o coeficiente de dispersão reduzido, μ'_s . Através da relação do coeficiente de dispersão reduzido e da anisotropia calcula-se o coeficiente de dispersão, equação 2.2.

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

Há várias abordagens possíveis à medição das propriedades óticas. As que têm tido mais destaque são as técnicas de domínio da frequência, estado estacionário e domínio do tempo.

As abordagens de domínio da frequência e de estado estacionário usam esferas integradoras no sistema de medição. Este sistema mede parâmetros óticos (refletâncias e transmitâncias) que, por utilização de métodos computacionais, vão permitir calcular as propriedades óticas da amostra. As técnicas no domínio da frequência usam luz com modulação sinusoidal da potência radiante. A detecção de sinal é feita recorrendo a amplificadores lock-in. [11, 21, 5] Estes amplificadores permitem melhorar consideravelmente a relação sinal-ruído, uma vez que têm uma largura de banda muito estreita. Já a abordagem de estado estacionário usa fontes de luz com potência radiante constante. [7, 27] Esta abordagem é mais adequada para estudos das propriedades óticas ao longo de uma gama de comprimentos de onda.

As propriedades óticas podem ser obtidas a partir de diferentes métodos numéricos. Os mais utilizados são o método *Adding Doubling* inverso (IAD), o método de Monte Carlo inverso e o método de *Kubelka-Munk*. O método IAD é um método iterativo que resolve a equação do transporte radiativo. Introduzindo dados sobre as esferas integradoras e medidas relativas à amostra a analisar, nomeadamente refletância e transmitância, é possível obter as propriedades óticas.

O método de Monte Carlo inverso é um método estocástico. Através das medidas de refletância e transmitâncias, encontra-se os valores das propriedades óticas. Os valores introduzidos funcionam como modeladores da propagação de fótons simulada.[33, 34] O método de *Kubelka-Munk* é usado apenas em materiais em que o coeficiente de dispersão é maior do que o coeficiente de absorção. É um modelo de múltiplos fluxos. Tem expressões simples que relacionam as propriedades óticas com a refletância e transmitâncias.[4]

A técnica de domínio do tempo usa feixes de luz pulsada para analisar as amostras. É medido o tempo de voo de cada fóton. As propriedades óticas podem ser calculadas por expressões analíticas obtidas a partir da teoria de difusão.[13] Estes cálculos assumem aproximações que nem sempre se verificam. Para esses casos é usado o método de Monte Carlo para calcular as propriedades óticas modelando a simulação através das distribuições dos tempos de voo dos fótons.[1]

2.2 Esferas integradoras

As esferas integradoras foram desenvolvidas por R. Ulbricht e nas últimas décadas têm assumido bastante importância na medição dos valores das propriedades óticas, sendo consideradas o *gold standard* por alguns autores.[35]

As esferas integradoras têm duas finalidades: medição de luz e iluminação uniforme. Basicamente, na sua configuração mais simples, uma esfera integradora é constituída por uma superfície interior que constitui um refletor difuso e por duas portas: uma para entrada da luz e outra para colocação de um detector de luz, normalmente um fotodíodo. As esferas integradoras usadas neste trabalho possuem 4 portas de entrada/saída de luz e uma porta para detecção

de luz, como se pode verificar na figura 3.1. A luz entra na esfera e sofre múltiplas reflexões difusas na superfície interna, resultando numa dispersão uniforme da potência radiante. As paredes das esferas têm um revestimento apropriado para que haja reflexão difusa da luz, com a distribuição de raios incidentes na superfície interna a ser totalmente independente do ponto de incidência. O material mais utilizado é sulfato de bário (BaSO_4) [24]. A reflexão difusa permite que se crie um fluxo uniforme que depende apenas da potência radiante do feixe de luz que entrou na esfera, e é totalmente independente da inclinação ou de outro atributo espacial desse mesmo feixe.

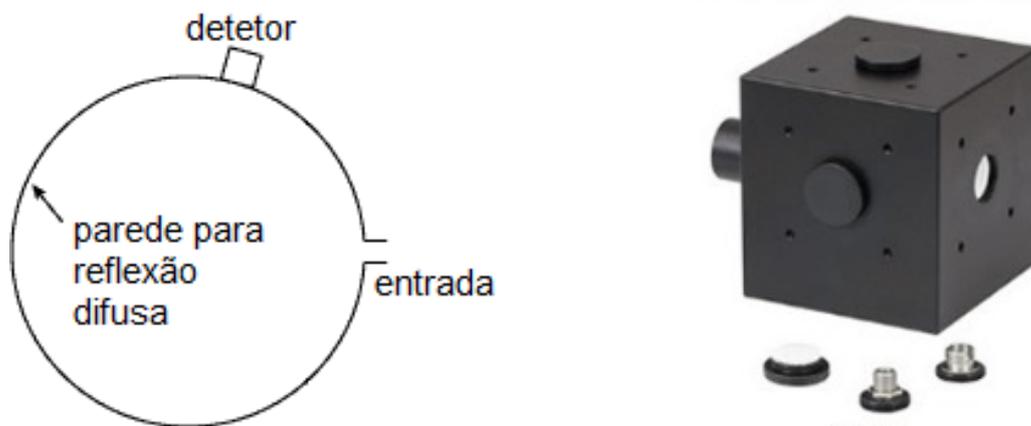


Figura 2.1: A figura da esquerda apresenta um esquema de uma esfera integradora das mais simples. O esquema é adaptado de um encontrado em [19]. Na figura da direita está a imagem de uma das esferas integradoras usadas neste trabalho (IS200-4, *Thorlabs*). A imagem foi retirada da folha de especificações das esferas. As esferas usadas têm 4 portas para entrada/saída de luz e uma porta para o fotodetetor. A porta do detetor está desviada do centro da esfera.

Quando as esferas são usadas para medições de luz, usam-se detetores, nomeadamente fotodíodos, para obter a potência radiante do fluxo. Para a análise de tecidos biológicos a medição das potências óticas permite determinar os valores de refletância e de transmitância das amostras. Com estes valores é possível obter os valores das propriedades óticas desejadas, através de métodos computacionais.

A medição da potência reflectida, da potência total transmitida e da espessura da amostra permite obter o coeficiente de absorção μ_a e o coeficiente reduzido de dispersão μ_s' . A medição adicional da potência transmitida de forma colimada permite decompor o coeficiente reduzido de dispersão no coeficiente de dispersão μ_s e na anisotropia g . Na técnica de esfera única, a medição da transmitância colimada é normalmente feita com uma amostra separada e mais fina, de forma a facilitar a detecção do sinal. Contudo, a técnica de esfera integradora dupla permite medir com uma única amostra, a refletância, a transmitância difusa e a transmitância colimada.

2.2.1 Técnica de esfera integradora dupla

A figura 2.2 mostra a montagem utilizada para realizar medições segundo a técnica de esfera integradora dupla. As esferas representadas são diferentes entre si e não apresentam *baffle*. Os detetores vão medir as potências radiantes do fluxo gerado após a incidência do feixe na amostra. Segundo o esquema das esferas da figura 2.2, as potências medidas são a potência refletida ($P_{R, sb}$, equação 2.6) no detetor acoplado à esfera de refletância e a potência transmitida ($P_{T, sb}$, equação 2.7) no detetor acoplado à esfera de transmitância. O subscrito "sb" refere-se à utilização de esferas sem *baffle*.

Conforme já se disse, com a técnica de esfera integradora dupla, é possível obter as medidas de refletância e transmitância simultaneamente, tornando as medições mais precisas. A aquisição simultânea permite que os dados sejam obtidos enquanto se aplicam estímulos externos, como, por exemplo, estímulos térmicos ou químicos, e sujeitos às mesmas flutuações na potência radiante do feixe de luz de entrada.[12]

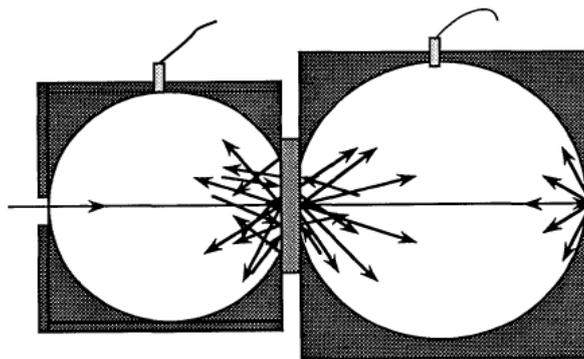


Figura 2.2: Esquema de esferas integradoras. A esfera da esquerda, a primeira em que a luz incide é a esfera de refletância. A esfera da direita é a esfera de transmitância. A potência medida no detetor da esquerda é a potência refletida $P_{R, sb}$ e a potência medida no detetor da direita é a potência transmitida $P_{T, sb}$. O subscrito "sb" refere-se à utilização de esferas sem *baffle*. A imagem usada é adaptada de uma apresentada em [20].

Pickering et al. aborda teoricamente a diferença na incerteza do valor calculado da refletância entre as condições de irradiação difusa e colimada da amostra, em técnicas de esfera integradora única e dupla.[21] A partir dos resultados obtidos, apresentados na figura 2.3, os autores concluíram que, quando se usa a técnica de esfera integradora única, as medidas de refletância realizadas com irradiação difusa da amostra resultam numa incerteza muito superior à obtida quando se usa irradiação colimada.

Quando se utiliza a técnica de esfera integradora dupla, existe uma incerteza adicional na medida da refletância, devido à luz que atravessa a amostra, vinda da esfera de transmitância. Contudo, a incerteza na medida da refletância continua a ser menor para irradiação colimada do que para iluminação difusa e é também menor do que a incerteza obtida com iluminação

difusa na técnica de esfera única. Estes resultados validam a utilização de luz de entrada colimada, muito facilitada com o uso de fontes de luz laser. Também permitem estabelecer as condições em que a técnica de dupla esfera proporciona incertezas na medida da refletância comparáveis às obtidas com a técnica de esfera única.

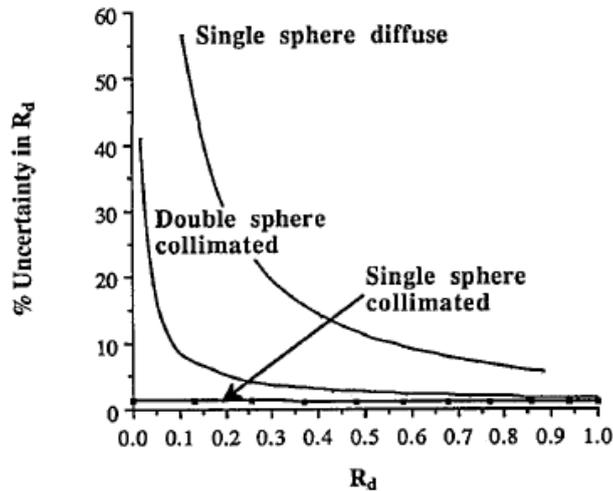


Figura 2.3: Incerteza da medição da refletância em função do valor medido para a refletância, obtida por Pickering *et al.* [21]

2.2.2 Influência do *baffle* na qualidade da medida

Nem todas as esferas integradoras têm *baffle*. No entanto nalgumas aplicações e algoritmos de análise dos dados, a presença do *baffle* (figura 2.4) é relevante para os resultados pretendidos. A função do *baffle* é apenas garantir que não há recolha de luz diretamente a partir da amostra. É uma estrutura pequena e revestida do mesmo material que o interior da esfera para garantir reflexões da luz semelhantes.

A influência do *baffle* na qualidade da medida foi estudada por Pickering *et al.* [20] que deduziu as equações para a potência detetada em função dos parâmetros das esferas e da refletância e transmitância da amostra, resumidas nas equações 2.6 e 2.7, no caso das esferas não terem *baffle* e nas equações 2.8 e 2.9, para as esferas com *baffle*.

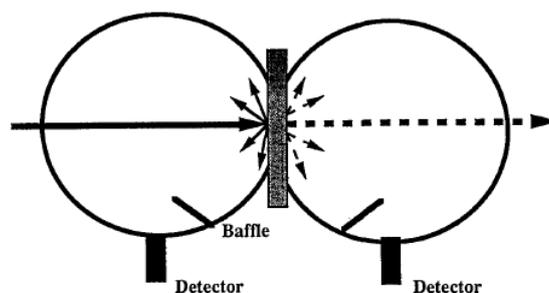


Figura 2.4: Esferas integradoras com *baffle*, estrutura que permite evitar que chegue ao detetor luz vinda diretamente da amostra.[21]

Para além da influência do *baffle*, as medidas dependem de outros fatores: características das esferas, características das amostras a analisar e características dos detetores usados. Os fatores determinantes das amostras são:

- área da amostra (s),
- reflexão colimada da amostra com incidência normal (R_c),
- reflexão difusa da amostra com incidência difusa (R_d),
- reflexão difusa da amostra com incidência colimada (R_{cd}),
- transmissão colimada da amostra com incidência normal (T_c),
- transmissão difusa da amostra com incidência difusa (T_d),
- transmissão difusa da amostra com incidência colimada (T_{cd}).

Os fatores das esferas que influenciam a potência detetada são: o fator de reflexão da parede da esfera (m), área total da esfera (A), área das portas (h). Os fatores do detetor são a área ativa (δ) e o fator de reflexão (r). Os valores α , T e T' das equações 2.3, 2.4, 2.5 não têm significado físico, servem apenas para simplificar as fórmulas. Nas equações 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 2.4 e 2.5, as constantes assinaladas com o sobrescrito servem apenas para distinguir as grandezas no caso de as esferas e/ou detetores usados serem diferentes entre si.

$$\alpha = 1 - (\delta/A + s/A + h/A) \quad (2.3)$$

$$T = \frac{s}{A} \frac{T_d}{1 - (m\alpha + R_d \cdot s/A + r \cdot \delta/A)} \quad (2.4)$$

$$T' = \frac{s}{A'} \frac{T_d}{1 - (m'\alpha' + R_d \cdot s/A' + r \cdot \delta'/A')} \quad (2.5)$$

As equações das potências detetadas são apresentadas a seguir. As equações 2.6 e 2.7 referem-se às potências obtidas com esferas de refletância e transmitância sem *baffle*. As equações 2.8 e 2.9, referem-se a potências medidas com esferas com *baffle*.

$$P_{R, \mathbf{sb}} = \frac{\delta}{A} \frac{mR_c + R_{cd} + T'(T_{cd} + m'T_c)}{\{1 - [m\alpha + R_d(s/A) + r(\delta/A)]\}(1 - TT')} P \quad (2.6)$$

$$P_{T, \mathbf{sb}} = \frac{\delta'}{A'} \frac{m'T_c + T_{cd} + T(R_{cd} + mR_c)}{\{1 - [m'\alpha' + R_d(s/A') + r'(\delta'/A')]\}(1 - TT')} P \quad (2.7)$$

$$P_{R, \mathbf{cb}} = \frac{\delta}{A} \frac{mR_c[1 - R_d(s/A)] + R_{cd}m\alpha + T'(T_{cd} + m'T_c)m\alpha}{\{1 - [m\alpha + R_d(s/A)]\}(1 - TT')} P \quad (2.8)$$

$$P_{T, \mathbf{cb}} = \frac{\delta'}{A'} \frac{m'T_c[1 - R_d(s/A')] + T_{cd}m'\alpha' + T(R_{cd} + mR_c)m'\alpha'}{\{1 - [m'\alpha' + R_d(s/A')]\}(1 - TT')} P \quad (2.9)$$

2.3 Método *Adding Doubling*

O método *Adding Doubling* (AD) foi introduzido por van de Hulst [32] como sendo uma solução numérica para a equação de transporte radiativo. Atualmente já está bem estudado e implementado [23, 22, 25]

O algoritmo funciona com as seguintes condições [23, 22]:

- a distribuição da luz é independente do tempo;
- as propriedades óticas das amostras são homogêneas;
- a geometria da amostra é uma placa paralela infinita;
- a refletância interna da amostra segue a lei de Fresnel;
- os efeitos de polarização são ignorados.

O método AD permite obter estimativas precisas da distribuição de luz em tecidos biológicos.[23] O método AD não calcula diretamente as grandezas pretendidas, mas vai ser usado no processo que permite obter diretamente o coeficiente de absorção μ_a , o coeficiente de dispersão reduzido μ'_s e a anisotropia g .

2.4 Método *Inverse Adding Doubling*

O método *Inverse Adding Doubling* (IAD) é um método iterativo que permite obter as propriedades óticas a partir dos valores medidos nas esferas integradoras. A figura 2.5 esquematiza o método IAD para a situação em que é analisada a transmitância colimada. Os resultados obtidos são válidos para as condições estabelecidas para o método AD.

No método desenvolvido por Scott Prahl são introduzidas algumas características que facilitam a sua aplicação. O método já assume que a amostra pode estar posicionada entre lâminas de vidro e contabiliza as correspondentes perdas de luz. Outra característica é o facto de só precisar dos valores de refletância total, transmitância total e transmitância colimada: os outros valores são calculados considerando incidência da luz perpendicular ao plano da amostra e parâmetros das esferas integradoras [24].

2.5 Estado da arte

Atualmente, e com base nos artigos publicados e consultados, já não há discussão sobre se a melhor técnica para medir refletância e transmitância de amostras é a técnica de esferas integradoras. O que ainda é discutido é qual o melhor método computacional para obter as

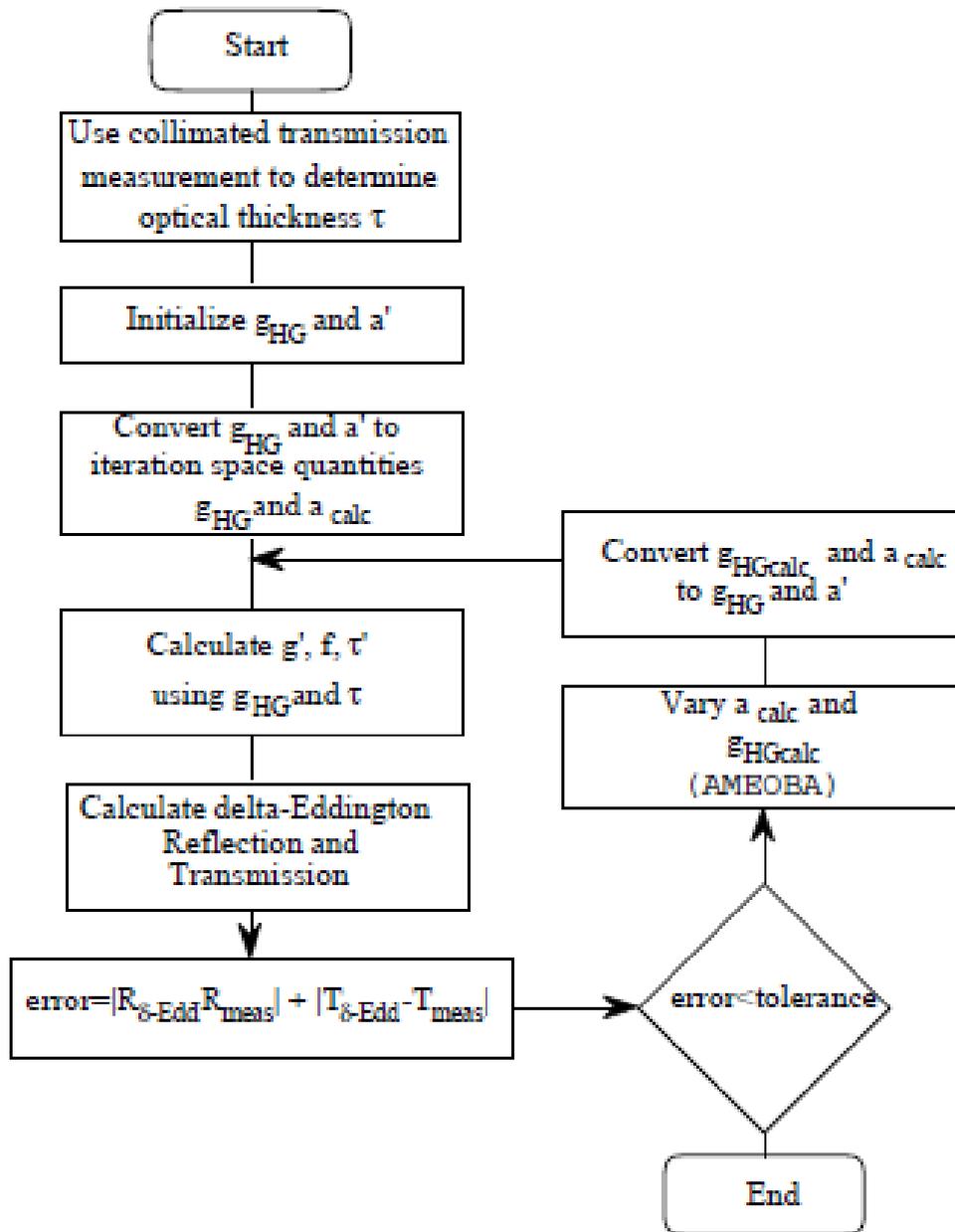


Figura 2.5: Esquema de funcionamento do método IAD quando é medida a transmissão colimada [23]. A partir dos valores das medidas introduzidos, determinam-se valores para as propriedades τ , g e a que correspondem a valores de reflexão e de transmissões, calculados através do método AD. Quando os valores obtidos por AD forem suficientemente próximos dos valores medidos, as propriedades óticas μ_s , μ_a e g são calculadas a partir dos últimos valores determinados para τ , g e a . Neste caso, os modelos escolhidos para a função de fase são a função Henyey-Greenstein (HG) e a função delta-Eddington; no programa disponibilizado por Scott Prahl já não há a possibilidade de escolher os modelos matemáticos a utilizar.

propriedades óticas.

Em [34], os autores comparam os métodos computacionais IAD, Monte Carlo inverso (IMC) e Kubelka-Munk (KM). Os valores de refletância total, transmitância total e transmitância colimada são medidos pela técnica de esfera integradora dupla e, pelos diferentes métodos, obti-

veram os coeficientes de absorção e de dispersão, μ_a e μ_s . Foram analisados vários tecidos biológicos (dados obtidos para 2 amostras de retina bovina representados na figura 2.6) e as conclusões a retirar sobre os dados obtidos são transversais. Todos os métodos obtêm resultados válidos dentro do erro, mas o método IMC produz coeficientes menos exatos, quando comparados com os obtidos pelos outros métodos. Tal é verificável na figura 2.6, pelo afastamento entre os dados obtidos pelo método IMC e os dados obtidos pelos outros métodos. A concordância entre os valores obtidos pelos restantes métodos leva-nos a concluir que os dados obtidos pelo método IMC são menos exatos. O facto do método IAD ser muito mais usado do que o método KM deve-se a ter um tempo de computação menor.

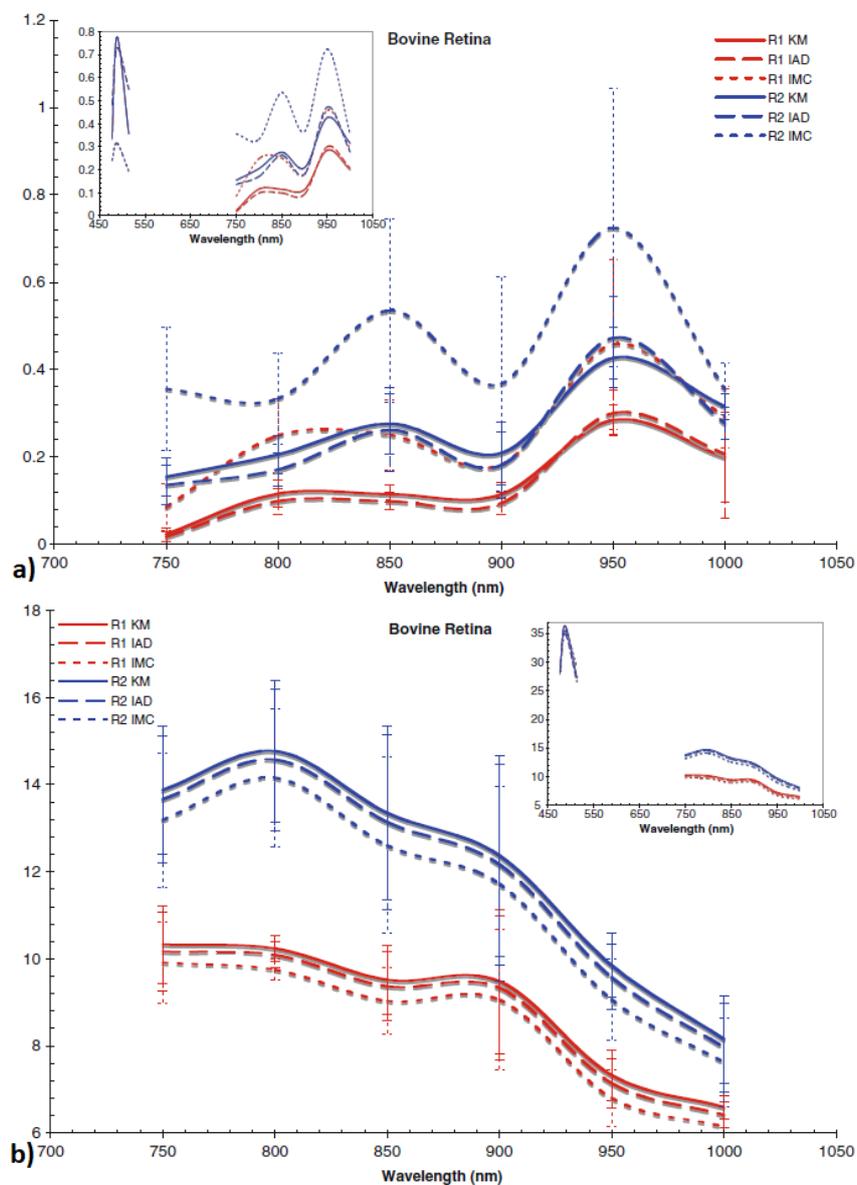


Figura 2.6: Resultados representativos do que foi obtido no estudo [34]. O gráfico a) refere-se ao coeficiente de absorção medido em função do comprimento de onda. O gráfico b) refere-se ao coeficiente de dispersão medido em função do comprimento de onda. Os resultados a vermelho e a azul são referentes a diferentes grupos de amostras.

Num estudo de tecido adiposo subcutâneo de suínos [35], os autores usaram um sistema de medição de esfera integradora dupla e o método computacional IAD para obter as propriedades óticas, μ_a , μ_s e g . Os resultados apresentados (figura 2.7) foram representados conjuntamente com resultados de outros estudos e, no caso dos dados referentes ao coeficiente μ_a , também é apresentado o valor teórico em função do comprimento de onda.

Estes resultados são particularmente relevantes pela concordância que apresentam com outros estudos e com o valor teórico. Os resultados do gráfico 2.7 a) mostram uma ligeira diferença entre o valor μ_a medido e o teórico, dentro do erro esperado, e uma grande semelhança com os valores medidos para tecidos de rato. No entanto, os resultados para o coeficiente de dispersão reduzido, μ_s' estão desviados relativamente ao esperado; a ausência dos picos em grandes comprimentos de onda é justificada pela insuficiente separação dos coeficientes: o coeficiente de absorção é sobrestimado enquanto que o coeficiente de dispersão reduzido é subestimado.

A proximidade das medições de μ_s' para amostras de porco e para amostras de ratos não é tão evidente. No entanto é possível que os valores estejam subestimados pelo método IAD devido ao facto de as esferas integradoras terem tendência a produzir um valor para M_R menor do que a refletância real, [24], e pelo facto de as refletâncias padrão (r_{std}) usadas para calibrar os sistemas poderem ser diferentes.

Os resultados referidos nos gráficos da figura 2.7 por "*Bashkatov et al., 2005a*" são provenientes de um estudo realizado com um sistema experimental e um método computacional idênticos aos utilizados neste projeto. Neste estudo, os autores apontaram para a predominância dos efeitos de absorção da água e dos lípidos para os comprimentos de onda maiores.

Noutro estudo mais recente [3] analisou-se a esclera de olhos humanos e compararam-se os resultados obtidos com resultados de outros estudos publicados. A figura 2.8 mostra a concordância entre diferentes estudos, vendo-se que na zona de radiação infravermelho próximo há uma boa correspondência entre resultados. Novamente há maior concordância entre coeficientes de absorção de diferentes experiências do que entre coeficientes de dispersão. Os erros associados para maiores comprimentos de onda são superiores.

Nos três estudos apresentados, os coeficientes μ_a e μ_s' variam de igual forma com o comprimento de onda. A exceção são os coeficientes medidos no estudo [35]. Os valores máximos de cada gráfico ocorrem aproximadamente para os mesmos comprimentos de onda, tanto para μ_a como para μ_s' de cada estudo representado. Esta diferença pode resultar da preparação da amostra para análise: as amostras do estudo [34] foram tratadas com PBS; as amostras do estudo [35] foram congeladas em azoto líquido e para melhor aderência ao vidro envolvente usaram uma solução 0.9% NaCl; as amostras do estudo [3] só foram tratadas com solução 0.9% NaCl. Em [2] (medidas "*Bashkatov et al. (2005a)*" do gráfico da figura 2.7) não é referida nenhuma solução, mas é referido que as amostras foram mantidas a 20° C.

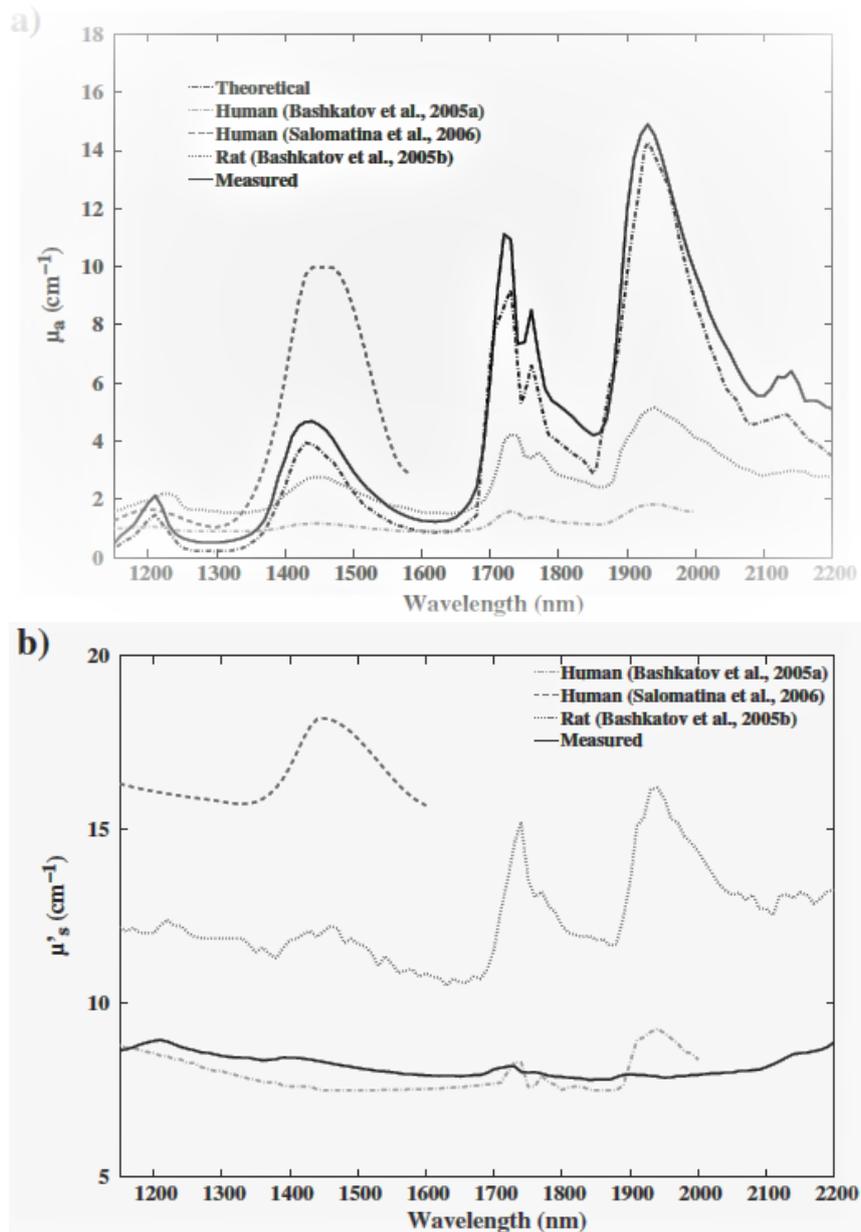


Figura 2.7: Comparação de propriedades óticas de tecidos adiposos de animais e humanos. As curvas referentes aos dados do estudo em causa são de tecidos recolhidos em porcos [35].

Como o uso conjunto de um sistema de esfera integradora dupla e IAD demonstrou ser uma opção viável tem sido usado para determinar propriedades óticas. Em artigos mais recentes, sistemas de medição em conjunto com o IAD estão a ser usados para estudos em diferentes áreas, nomeadamente:

- criação de novos métodos computacionais de medição de propriedades óticas, [17];
- avaliação da qualidade de vegetais, [30] e [31];
- melhoramento de terapêuticas baseadas em radiação ótica, [27].

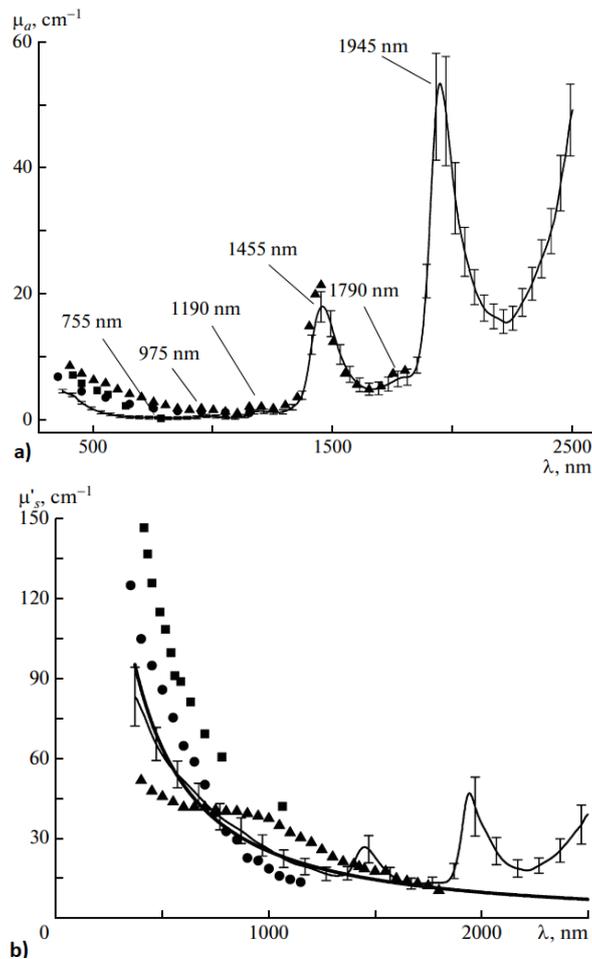


Figura 2.8: Propriedades óticas de amostras de esclera humana. Comparação de resultados obtidos em 4 estudos. A linha contínua representa o estudo [3]. Os círculos representam os dados do estudo [15]. Os quadrados representam os dados do artigo [10]; estes foram obtidos pelo método computacional Monte Carlo inverso e não pelo método IAD. Os triângulos representam os dados do estudo [9], em que foi usada apenas uma esfera integradora para medição de refletância e transmitância.

Em [17], os autores apresentam dados obtidos para a validação de um método de rede neuronal artificial (ANN) que pretende substituir o método método IAD. O método ANN tem a mesma função que o método IAD sem que seja um método iterativo, o que o torna mais rápido, e ainda tem em conta o comprimento de onda usado na irradiação da amostra. Os resultados obtidos apresentaram uma precisão semelhante à do método de Monte Carlo inverso e erros relativos baixos, sendo, portanto, um método com potencial para substituir os que atualmente são usados.

Em [30], os autores estudaram as propriedades óticas de diferentes camadas de células de citrinos, bem como o tamanho de células e a sua composição. Obtiveram espectros para diferentes citrinos e num artigo posterior [31] publicaram resultados comparando a evolução dos parâmetros obtidos anteriormente com o tempo de colheita, tamanho da peça de fruta e da variedade da tangerina Satsuma. A relação dos parâmetros medidos com a qualidade da tangerina vai contribuir para a criação de detetores que permitam avaliar cada tangerina de

forma não destrutiva.

Em [27], o objetivo dos autores foi comparar as propriedades óticas de amostras de pâncreas saudáveis com as propriedades óticas de amostras pancreáticas afetadas por um tumor neuroendócrino, para estudar a adequação da ablação a laser como forma de tratamento. A ablação a laser é uma técnica que evapora ou sublima materiais por irradiação com um laser. Para o caso do tumor do pâncreas, pretende-se que o laser provoque morte celular através de variação de temperatura induzida; as diferenças nas propriedades óticas traduzem-se numa diferença de transmissão da luz e numa diferença no aumento da temperatura local.

Capítulo 3

Instrumentação

Neste capítulo pretende-se detalhar a instrumentação implementada e o método usado para obter as propriedades óticas de amostras de tecidos biológicos.

3.1 Arquitetura

Considerando os componentes já adquiridos pelo laboratório, a abordagem considerada mais adequada é semelhante à descrita por Pickering.[21] O esquema do sistema de medição desenvolvido está representado na figura 3.1. Neste projeto, foi necessário introduzir algumas alterações ao esquema da figura 3.1 devido às restrições dos equipamentos disponíveis.

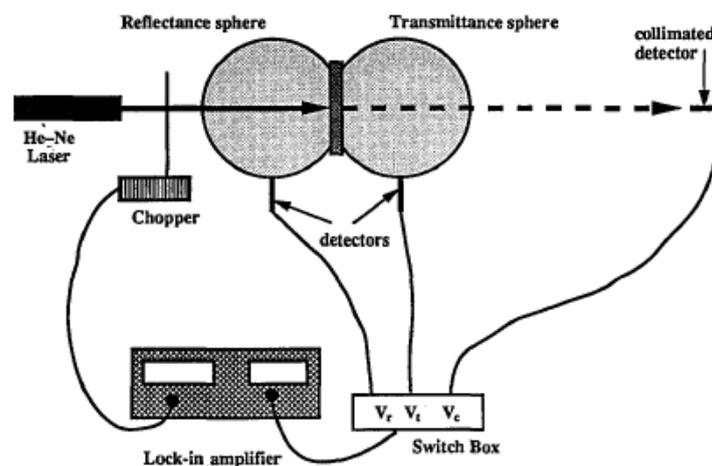


Figura 3.1: Esquema do sistema de medição das propriedades óticas de amostras de tecidos biológicos com 2 esferas integradas desenvolvido por *Pickering et al.*, [21]

A fonte de luz usada foi um laser de diodo, com emissão centrada nos 850 nm (LDM850, *Thorlabs*). A modulação do feixe foi feita com um *chopper* (SR540, *Stanford Research Systems*). Usaram-se frequências de modulação na banda de 400 a 900 Hz. Estes valores são compatíveis com a largura de banda dos amplificadores de fotodiodos utilizados. As medidas não dependem da frequência de modulação utilizada. A frequência de referência não pode ser transmitida diretamente do *chopper* para o amplificador *lock-in* (modelo 5105, *Ametek*). Por

isso teve que se desviar parte do feixe do laser para produzir o sinal de referência do amplificador *lock-in*. A divisão do feixe fez-se através de um *beamsplitter* que transmite cerca de 90% e reflete cerca de 10% da luz incidente. O *beamsplitter* ficou montado de forma que 90% do feixe incidisse na amostra.

O fotodíodo usado para produzir o sinal de referência para o amplificador *lock-in* é igual ao usado nas medições de transmitância colimada: SM1PD1A da *Thorlabs*. Os fotodíodos acoplados às esferas integradoras (IS200-4, *Thorlabs*) são os SM05PD1B da *Thorlabs*. Os amplificadores de fotodíodos usados foram os PDA 200 da *Thorlabs*. Uma vez que o sinal de transmitância colimada obtido num fotodíodo SM1PD1A saturava a entrada do amplificador *lock-in*, foi necessário diminuir a intensidade do feixe laser neste fotodíodo. Como a intensidade da luz que chega aos fotodíodos colocados nas esfera integradoras tem valores baixos, optou-se por diminuir a intensidade do feixe laser após a sua passagem pelas esferas integradoras. Para tal usou-se um filtro de absorbância gelatinoso (CAT 149 7346, *Kodak*). A razão de atenuação foi determinada experimentalmente. O valor real de potência radiante é 0,509 vezes maior que o valor medido. O diagrama da instrumentação de medição das propriedades óticas está representado na figura 3.2.

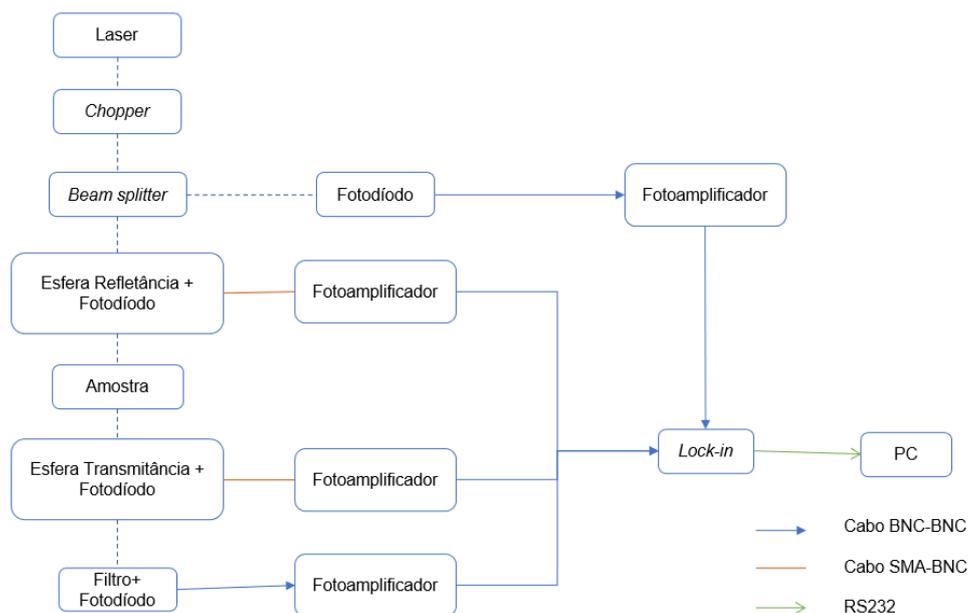


Figura 3.2: Diagrama de blocos da instrumentação para a medição das propriedades óticas de amostras de tecidos biológicos.

3.2 Método de medição

Para obter as três propriedades óticas é necessário medir 3 parâmetros: refletância total medida, M_R , transmitância total medida, M_T , e transmitância colimada medida, M_U . As figuras 3.3 e 3.4 foram retiradas do manual do IAD e exemplificam a forma como as medições devem

ser feitas.

As equações para M_R , M_T e M_U estão em conformidade com a nomenclatura das figuras. As medidas denominadas $R_2(r_s^{direct}, r_s, t_s^{direct}, t_s)$, $R_2(0, 0, 0, 0)$ e $R_2(r_{std}, r_{std}, 0, 0)$ são tensões elétricas correspondentes à potência radiante $P_{R,cb}$ da equação 2.8. As medidas $T_2(r_s^{direct}, r_s, t_s^{direct}, t_s)$, $T_2(0, 0, 0, 0)$ e $T_2(0, 0, 1, 1)$ são tensões elétricas correspondentes às potências radiantes $P_{T,cb}$.

$$M_R = r_{std} \cdot \frac{R_2(r_s^{direct}, r_s, t_s^{direct}, t_s) - R_2(0, 0, 0, 0)}{R_2(r_{std}, r_{std}, 0, 0) - R_2(0, 0, 0, 0)} \quad (3.1)$$

$$M_T = \frac{T_2(r_s^{direct}, r_s, t_s^{direct}, t_s) - T_2(0, 0, 0, 0)}{T_2(0, 0, 1, 1) - T_2(0, 0, 0, 0)} \quad (3.2)$$

$$M_U = \frac{U_s - U_0}{U_{100} - U_0} \quad (3.3)$$

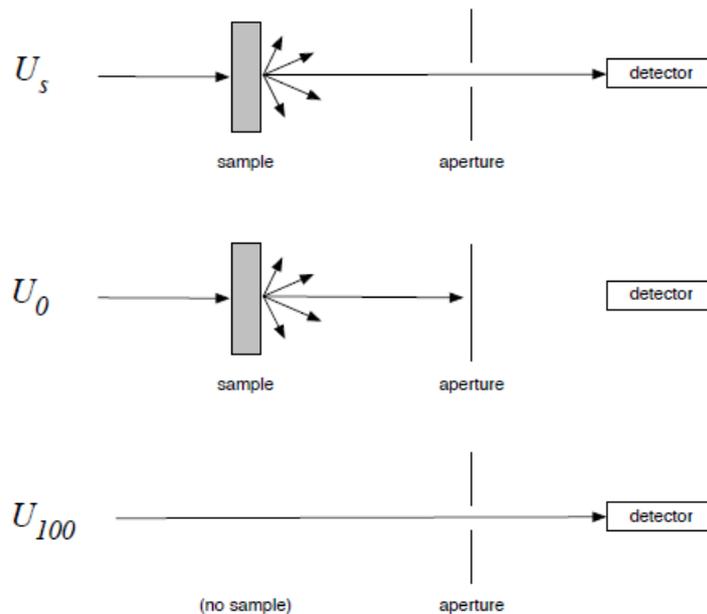


Figura 3.3: Medições necessárias para obter a transmitância colimada medida de uma amostra. [24]

As medições foram feitas com o sistema representado na figura 3.5. Para se obter cada conjunto de medições com os menores erros possíveis estabeleceu-se o seguinte protocolo:

1. Medição de U_{100} ;
2. Alinhamento da esfera de refletância de forma a que todo o feixe incida no detetor das medições de M_U ;
3. Medição de $R_2(r_{std}, r_{std}, 0, 0)$ e $R_2(0, 0, 0, 0)$;

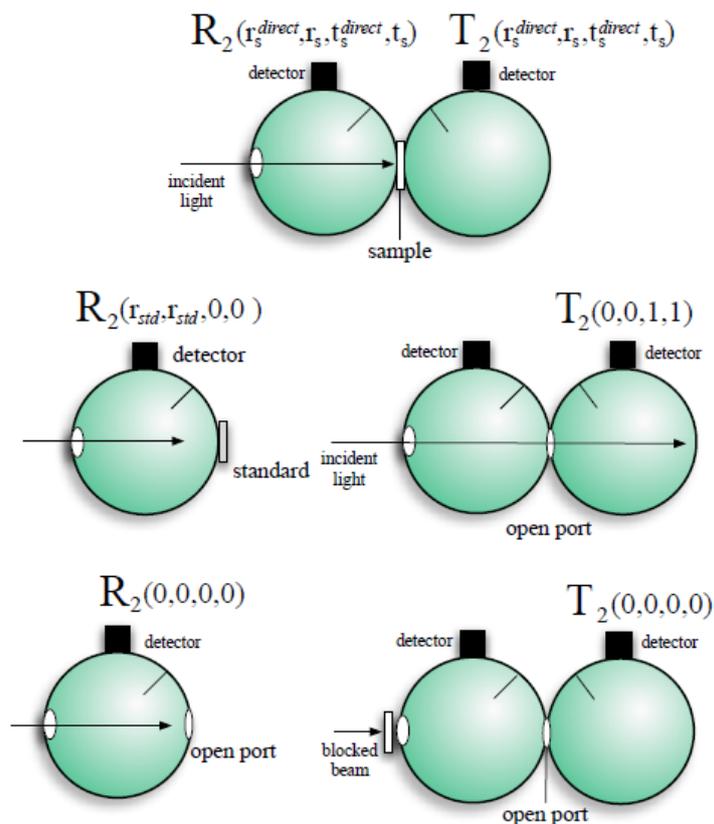


Figura 3.4: Medições necessárias para obter a refletância medida e a transmitância difusa medida de uma amostra.[24]

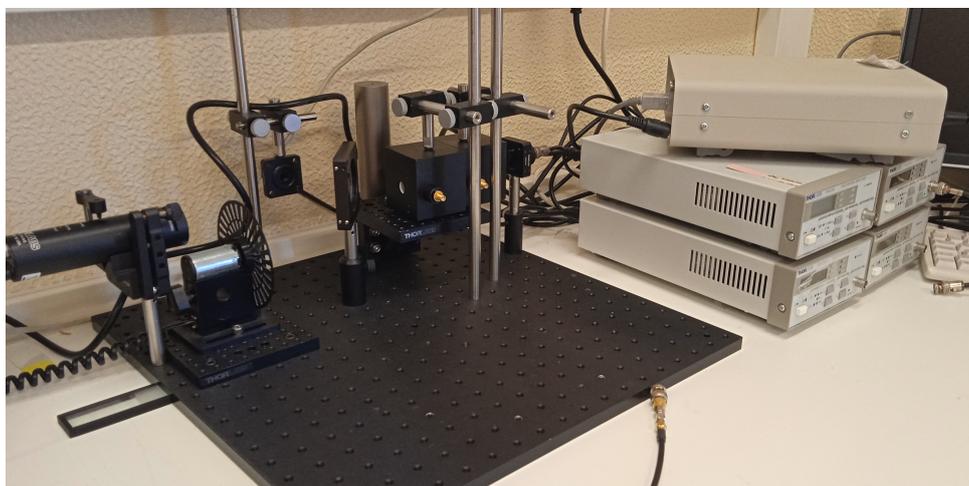


Figura 3.5: Sistema utilizado usada para as medidas experimentais.

4. Alinhamento da esfera de transmitância, com a porta de saída aberta para verificar a incidência colimada do feixe, deixando espaço para a amostra;
5. Fecho da porta de saída da esfera de transmitância ;
6. Medição de $T_2(0, 0, 1, 1)$ e $T_2(0, 0, 0, 0)$;
7. Colocação da amostra;

8. Medição de $R_2(r_s^{direct}, r_s, t_s^{direct}, t_s)$ e $T_2(r_s^{direct}, r_s, t_s^{direct}, t_s)$;
9. Elevação das esferas integradoras;
10. Medição de U_s e U_0 .

Para o método IAD calcular os coeficientes μ_a , μ_s e g é necessário fornecer informações adicionais ao algoritmo. Para o ficheiro ser lido é necessário introduzir na primeira linha o código "IAD1". Seguidamente é necessário introduzir 18 valores diferentes pela seguinte ordem:

1. índice de refração da amostra;
2. índice de refração do recipientes/lâminas em que a amostra se encontra;
3. espessura da amostra;
4. espessura do recipiente/lâminas;
5. diâmetro do feixe de iluminação;
6. refletividade do padrão de refletância;
7. número de esferas usadas;
8. diâmetro da esfera de refletância;
9. diâmetro da porta da amostra da esfera de refletância;
10. diâmetro da porta de entrada da esfera de refletância;
11. diâmetro da porta do detetor da esfera de refletância;
12. refletividade da parede da esfera de refletância;
13. diâmetro da esfera de transmitância;
14. diâmetro da porta da amostra da esfera de transmitância;
15. diâmetro da porta de entrada da esfera de transmitância;
16. diâmetro da porta do detetor da esfera de transmitância;
17. refletividade da parede da esfera de transmitância;
18. número de medidas realizadas.

Após estes 18 valores, introduzem-se as medidas obtidas. Na figura 3.6 está um cabeçalho representativo dos valores a introduzir.

```

1 IAD1
2
3 1.356 # Index of refraction of the sample
4 1.458 # Index of refraction of the top and bottom slides
5 2.0 # [mm] Thickness of sample
6 2.0 # [mm] Thickness of slides
7 7.85 # [mm] Diameter of illumination beam
8 0.99 # Reflectivity of the reflectance calibration standard
9
10 2 # Number of spheres used for the measurement
11
12 # Properties of sphere used for reflection measurements
13 50.8 # [mm] Sphere Diameter (8 in * 25.4 mm/in)
14 12.7 # [mm] Sample Port Diameter
15 12.7 # [mm] Entrance Port Diameter
16 4.1 # [mm] Detector Port Diameter
17 0.99 # Reflectivity of the sphere wall
18
19 # Properties of sphere used for transmission measurements
20 50.8 # [mm] Sphere Diameter (8 in * 25.4 mm/in)
21 12.7 # [mm] Sample Port Diameter
22 12.7 # [mm] Entrance Port Diameter
23 4.1 # [mm] Detector Port Diameter
24 0.99 # Reflectivity of the sphere wall
25
26 3 # Two measurements, i.e., M_R & M_T

```

Figura 3.6: Cabeçalho do ficheiro de entrada para análise de amostras de tinta da china.

Capítulo 4

Estudo da influência do *baffle*

Considerando que o IAD prevê a existência de *baffle* nas esferas integradoras [24], pretende-se avaliar o impacto da sua ausência nas medidas das propriedades óticas, recorrendo às equações 2.6, 2.7, 2.8 e 2.9. Para tal foram simuladas amostras, através da definição dos seus parâmetros óticos (refletância e transmitâncias difusas e colimadas), calcularam-se os valores da medida da refletância total (M_R) e da medida da transmitância difusa (M_T) e avaliou-se a concordância entre as medidas obtidas com e sem *baffle*.

4.1 Métodos

O impacto da ausência do *baffle* nas medidas das propriedades óticas foi avaliado por simulação computacional. A figura 4.1 apresenta o fluxograma desta simulação e o processamento dos dados por ela produzidos.

A ausência do *baffle* nas esferas integradoras tem impacto nas medidas da refletância total (M_R) e nas medidas da transmitância difusa (M_T). Em termos experimentais, estas medidas são obtidas de acordo com o esquematizado na figura 3.4, a partir da medição de 3 potências radiantes. Na nossa simulação, estas potências radiantes foram obtidas utilizando as equações que definem as medidas M_R e M_T , considerando a amostra simulada, uma amostra representativa do ar e uma terceira amostra correspondente a um padrão de refletância.

Na simulação todos os parâmetros correspondentes a características da instrumentação, nomeadamente parâmetros das esferas integradoras, correspondem aos parâmetros reais do sistema que desenvolvemos. Não tendo sido possível obter na literatura conjuntos de valores de refletâncias e transmitâncias (parâmetros R_c , R_d , R_{cd} , T_c , T_d e T_{cd}), utilizámos amostras sintéticas definidas a partir de valores aleatórios para os parâmetros R_c , R_d , T_c e T_d .

A definição de cada amostra inicia-se com a atribuição de valores para a reflexão total (R) e para a transmissão total (T). Para cada valor R, é obtido, através de um gerador de números aleatórios, o parâmetro R_c e calculado o parâmetro R_{cd} através da relação $R_c + R_{cd} = R$. Analogamente,

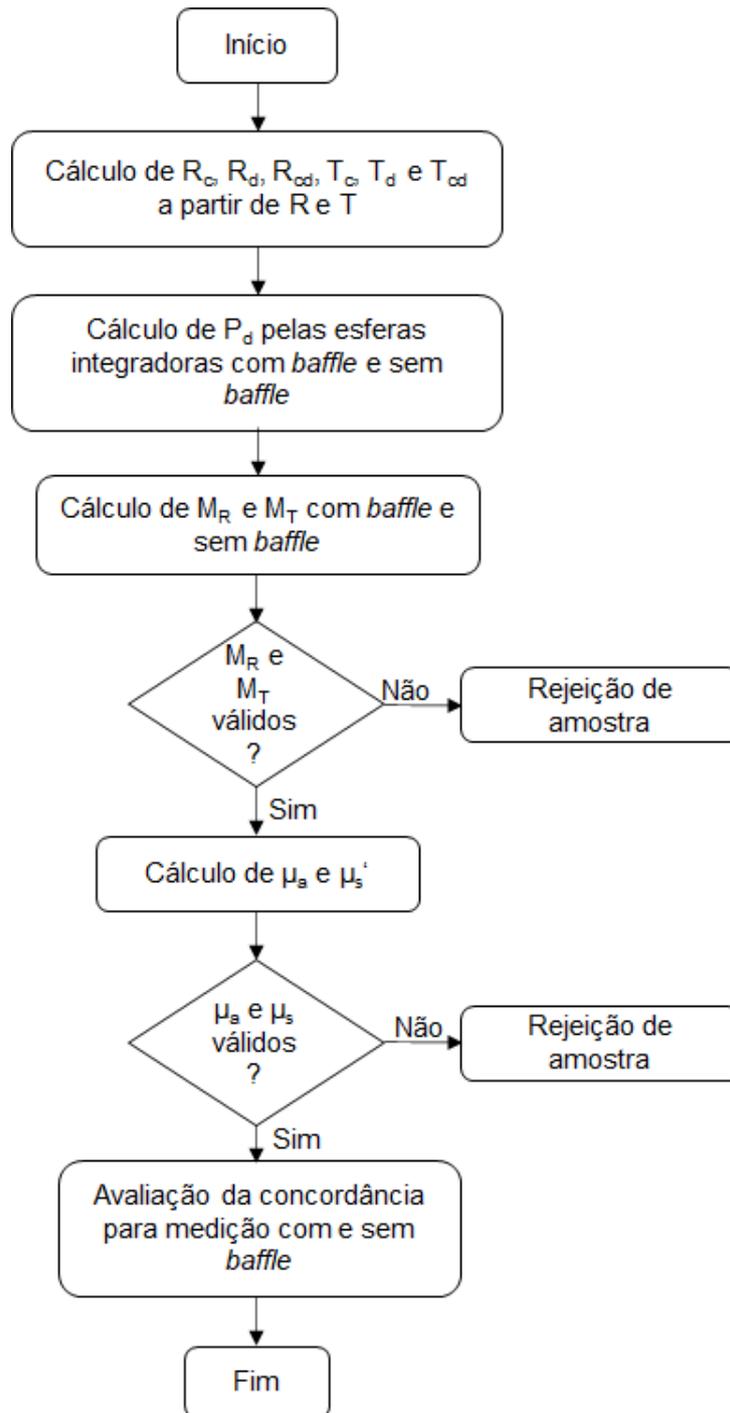


Figura 4.1: Fluxograma da simulação e tratamento de dados realizados no estudo da influência do *baffle* nas medições experimentais e no cálculo das propriedades óticas.

mente, para cada valor T é gerado aleatoriamente o parâmetro T_c e calculado o parâmetro T_{cd} recorrendo à equação $T_c + T_{cd} = T$. Importa notar que os valores R e T estão sujeitos à restrição $R + T < 1$.

Para a análise do ar (medições $R_2(0,0,0,0)$ e $T_2(0,0,1,1)$, figura 3.4) e do padrão de reflexão (medição $R_2(r_{std}, r_{std}, 0, 0)$, figura 3.4) foram utilizados valores de referência.

Uma vez definidos os parâmetros R_c , R_d , R_{cd} , T_c , T_d e T_{cd} de cada amostra, são calculados os valores M_R e M_T com base nas equações 3.1 e 3.2. A obtenção de valores negativos ou de valores superiores a 1 para estes parâmetros conduz à rejeição da amostra.

Os valores M_R e M_T , provenientes de amostras consideradas como válidas, são utilizados como entradas no algoritmo IAD para cálculo do coeficiente de absorção, μ_a , e do coeficiente de dispersão reduzido, μ_s' .

As amostras que produziram valores μ_a e/ou μ_s' inferiores a $0,005 \text{ mm}^{-1}$ foram rejeitadas. A concordância entre os valores das propriedades óticas obtidas com e sem *baffle* foi avaliada de acordo com o método proposto por *Bland e Altman* [8]. Este método permite obter intervalos de concordância para um determinado nível de significância estatística. O nível de significância utilizado foi de 95%.

4.2 Resultados

Verificou-se que para valores $R \geq 0,4$, todas as amostras eram inválidas para pelo menos uma das condições analisadas (com ou sem *baffle*). Para o menor valor R analisado ($R=0,1$) apenas as amostras com valor T mais elevado ($T \geq 0,6$) produziram valores M_R e M_T válidos. Para valores R superiores a 0,1, foram invalidadas algumas amostras com valores T extremos.

Para a análise *Bland-Altman* é exigido que a distribuição das diferenças dos dados a analisar seja próxima da distribuição normal. Como se pode verificar nas figuras 4.2 e 4.3, as diferenças nas propriedades óticas são próximas, mas não são uma distribuição normal. Isso mesmo foi confirmado pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Assim, de forma a poder utilizar o método de *Bland-Altman*, foi necessário realizar transformações às variáveis estatísticas (coeficientes μ_a e μ_s').

Foram avaliadas as seguintes transformações: logarítmica, exponencial, raiz quadrada, inversa, quadrado, cubo, logaritmo da raiz quadrada, inverso da raiz quadrada, logaritmo do inverso, logaritmo do inverso da raiz quadrada, raiz cúbica e logaritmo da raiz cúbica. Para ambos os coeficientes, nenhuma das transformadas seguia uma distribuição normal. O método de *Bland-Altman* é relativamente tolerante a desvios na distribuição dos dados relativamente à distribuição normal. Assim, optámos por usar os dados não transformados, que eram mais adequados para analisar do que os dados transformados.

A aplicação do método *Bland-Altman* permitiu determinar o intervalo de concordância entre os valores obtidos com e sem *baffle* e obter os gráficos de *Bland-Altman* (figuras 4.4 e 4.5). Para o coeficiente de absorção, μ_a , o intervalo de concordância obtido foi de $[-0,1459; 0,1619] \text{ mm}^{-1}$. Este intervalo significa que, em 95% dos casos, a diferença entre os coeficientes de absorção obtidos com e sem *baffle* está situada entre $-0,1459 \text{ mm}^{-1}$ e $0,1619 \text{ mm}^{-1}$. Para o coeficiente de dispersão reduzido o intervalo de confiança obtido foi $[-0,7603; 0,8432] \text{ mm}^{-1}$.

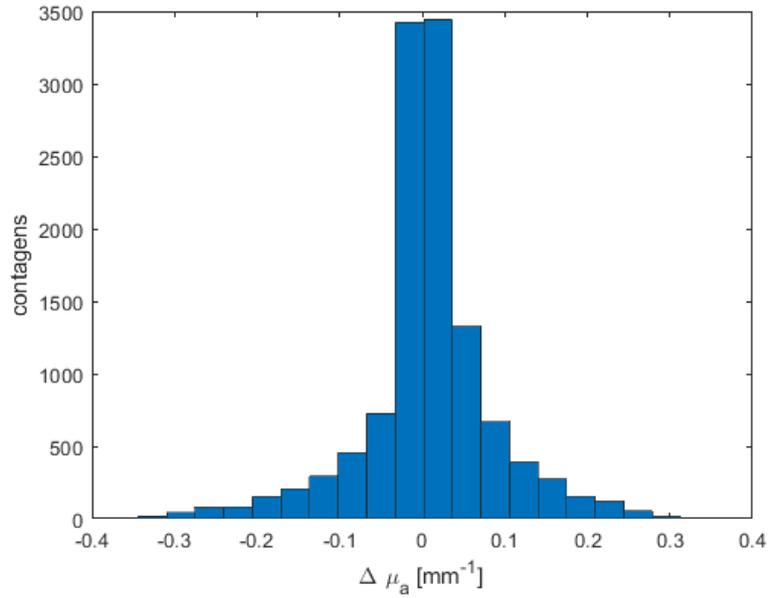


Figura 4.2: Distribuição das diferenças do coeficientes de absorção obtidos.

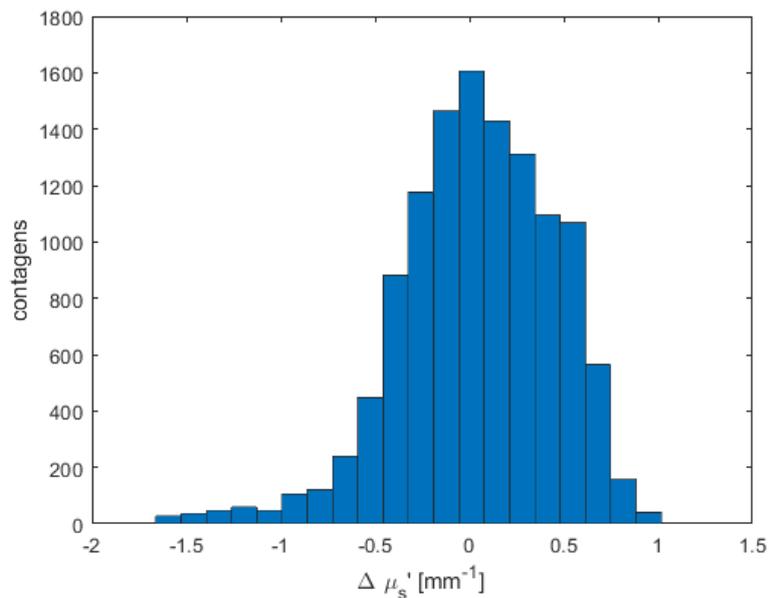


Figura 4.3: Distribuição das diferenças do coeficiente de dispersão reduzido obtidos.

4.3 Discussão

Nesta discussão, todas as diferenças foram calculadas subtraindo à medida obtida com *baffle* o valor correspondente obtido sem *baffle*.

Ao verificar as diferenças nos valores obtidos para M_R e M_T , na condição, figuras 4.6 e 4.7, observa-se que há mais diferenças negativas que positivas. No gráfico da figura 4.6, verifica-se que os valores medidos são maiores quando a medição de M_R é feita sem o *baffle*. Para além de existirem mais diferenças negativas, as diferenças negativas têm maior valor absoluto que

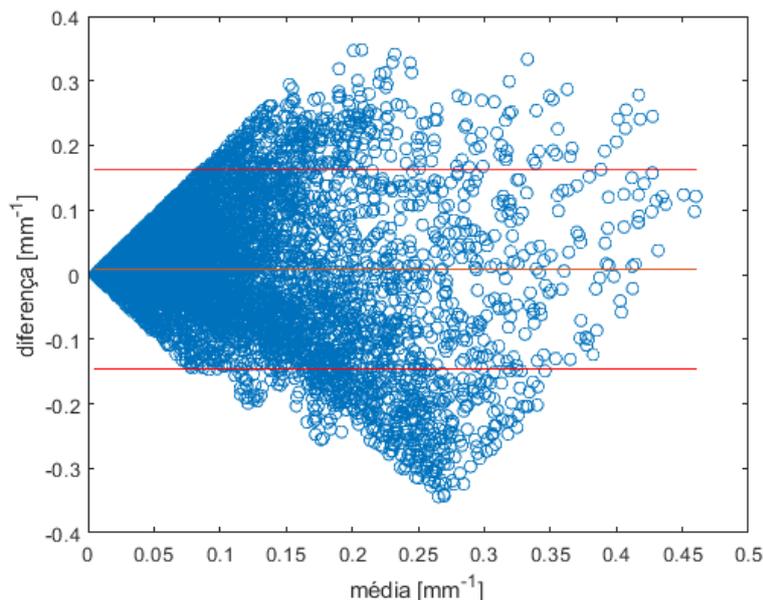


Figura 4.4: Gráfico de *Bland-Altman* valores μ_a . O gráfico representa a diferença entre os valores obtidos com e sem *baffle* em função da média desses valores.

as diferenças positivas. A medida de M_R permite ao IAD calcular o coeficiente de absorção. Neste coeficiente, as diferenças calculadas apresentam mais valores positivos que negativos. Considerando que a tendência para os valores M_R obtidos era serem sobrestimados na ausência do *baffle*, já se esperava que os coeficientes de absorção fossem subestimados. Os valores extremos das diferenças positivas e negativas são semelhantes.

Também as diferenças nos dados de M_T , figura 4.7, apresentam muitos mais valores negativos do que positivos. No entanto estas diferenças são de menor amplitude do que as verificadas para os dados de M_R e nos coeficientes de dispersão reduzido têm maiores amplitudes. As diferenças são maioritariamente negativas. O perfil de distribuição das diferenças do coeficiente de dispersão reduzido é semelhante ao da distribuição das diferenças da refletância. Considerando que para obter os coeficientes de dispersão reduzido é necessário introduzir os valores M_R e M_T , esta semelhança resultar da influência dos valores de refletância.

A ausência do *baffle* nas esferas introduz erros consideráveis nos parâmetros óticos. Analisando as diferenças pelo método *Bland-Altman*, o intervalo de confiança para os valores de M_R é $[-0,259;0,218]$. O intervalo de confiança para os valores de M_T é $[-0,165;0,069]$. Os valores de M_T são menos influenciados pela ausência de *baffle* do que os valores de M_R .

Para as propriedades óticas, os intervalos de confiança são mais significativos. Para o coeficiente de dispersão reduzido, o intervalo de confiança é largo. Isto significa que, com esferas integradoras sem *baffle*, não é possível determinar o coeficiente de dispersão reduzido com exatidão aceitável. Quanto ao coeficiente de absorção, o intervalo de confiança é menor. Tal permite afirmar que é possível obter uma exatidão aceitável nas medidas do coeficiente de ab-

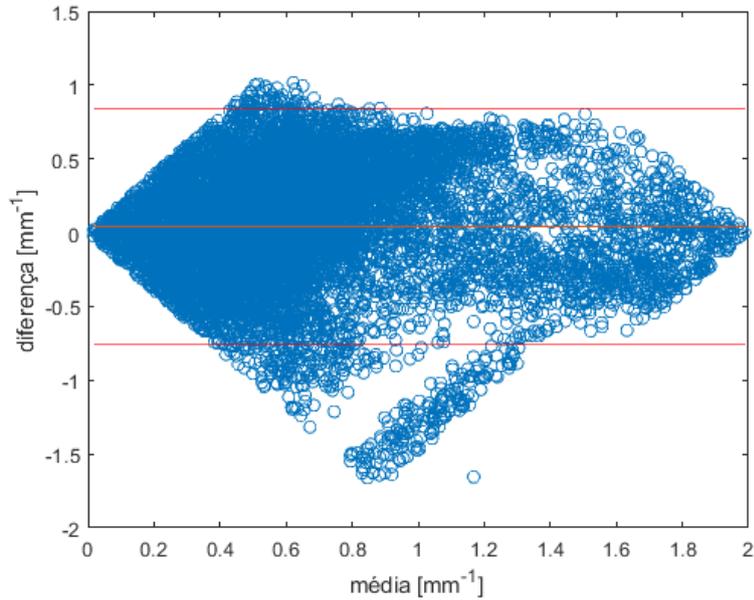


Figura 4.5: Gráfico de *Bland-Altman* para os valores μ'_s .

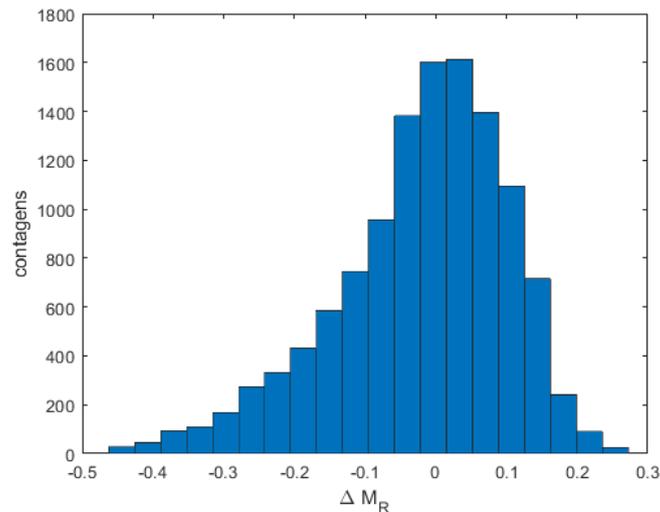


Figura 4.6: Distribuição das diferenças nas medidas de M_R calculados. A diferença foi obtida subtraindo à medida M_R obtida com *baffle* o valor M_R obtido sem *baffle*.

sorção, quando se usam esferas integradoras sem *baffle*. No entanto, introduzindo correções de esfera no IAD será possível obter coeficientes mais próximos dos reais. [24]

Conforme disse anteriormente, as esferas integradoras utilizadas neste projecto apresentam uma configuração em que, apesar da ausência de *baffle*, existe uma protecção contra a detecção de luz vinda directamente da amostra: colocação do fotodetector numa posição recuada face à superfície interna da esfera. Concretizando, a superfície ativa do fotodetector está posicionada cerca de 8 mm abaixo da superfície interna da esfera, com o acesso ao fotodetector a ser feito por um canal com um diâmetro de 3 mm. Com este arranjo, podemos afirmar que o comportamento das esferas integradoras utilizadas não deve apresentar um desvio sig-

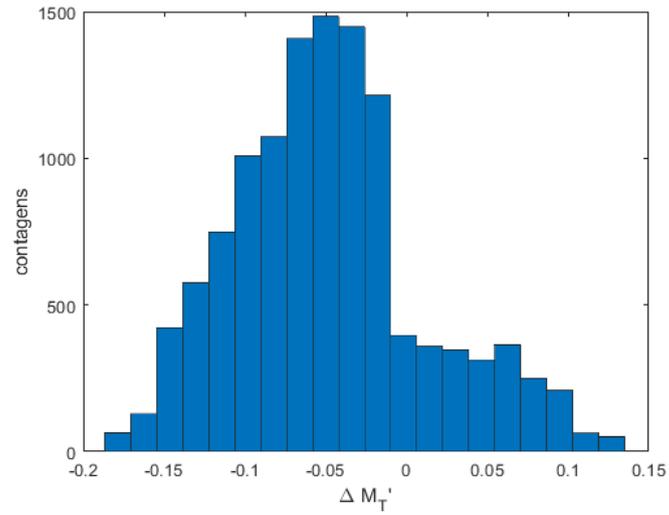


Figura 4.7: Distribuição das diferenças nas medidas de M_T calculados. A diferença foi obtida subtraindo à medida M_T obtida com *baffle* o valor M_T obtido sem *baffle*.

nificativo, relativamente a uma esfera equivalente com *baffle*.

Capítulo 5

Caracterização do instrumento

Para a caracterização do instrumento de medição de propriedades óticas, pretende-se aferir a exatidão, a gama de medições e a sua repetibilidade.

5.1 Métodos

Para a análise de exatidão do sistema de medição só foi possível testar a exatidão das medidas de refletância. A refletância foi calculada utilizando a equação 3.1. As amostras usadas foram os padrões de refletância difusa (componentes SRS-02-010, SRS-50-010 e SRS-75-010 da *Labsphere*), com reflectâncias de 2%, 50% e 75%, respectivamente.

A avaliação da gama de medição foi feita analisando um absorvente, um dispersor e um material misto para determinar a gama de valores de refletância, transmitância colimada e transmitância difusa para os quais o IAD consegue calcular as propriedades óticas.

O absorvente escolhido foi a tinta da china. Criaram-se soluções com concentrações de 0,1%, 0,25%, 0,4% e 0,5% . O dispersor usado foi o intralípido 20%. Criaram-se soluções com concentrações de 2%, 4%, 6%, 8% e 10%. Os materiais mistos usados foram filtros gelatinosos com absorbância 0.1, 0.2, 0.5, 0.6 e 0.9.

A repetibilidade avaliada é a das medições de refletância e das transmitâncias. A repetibilidade é calculada através da equação 5.1, em que \bar{X} se refere à média dos valores de refletância medida, transmitância colimada medida ou transmitância dispersa medida, e σ_X se refere ao correspondente desvio padrão. De cada conjunto de medidas realizadas foram retirados os valores considerados *outliers* pelo critério da distância de *Cook*. Os *outliers* estavam a uma distância de *Cook* de pelo menos $4/n$, sendo n o número de medições para cada amostra.

$$R_X(\%) = \frac{\sqrt{2} \times 1.96 \times \sigma_X}{\bar{X}} \times 100 \quad (5.1)$$

5.2 Resultados

A exatidão foi medida a partir de padrões de refletância difusa de 75%, 50% e 2%. As medidas da refletância estão resumidas na tabela 5.1.

Tabela 5.1: Refletâncias medidas para os padrões de refletância difusa. Os valores de M_R correspondem à média \pm desvio-padrão.

Padrão	M_R	erro relativo
75%	$0,755 \pm 0,012$	0,71%
50%	$0,469 \pm 0,004$	6,12%
2%	$0,01 \pm 0,001$	47,84%

Para cada padrão de refletância obteve-se um conjunto de 13 medidas.

As medidas referentes às amostras de tinta da china foram inseridas no IAD e as correspondentes propriedades óticas estão resumidas na tabela 5.2.

Tabela 5.2: Dados obtidos para as propriedades óticas das diferentes amostras de tinta da china.

amostra	μ_a (mm ⁻¹)	μ'_s (mm ⁻¹)	g
0,25%	$0,436 \pm 0,1037$	$0,2428 \pm 0,1395$	$0,2428 \pm 0,4161$
0,4%	$0,708 \pm 0,0302$	$0,4081 \pm 0,0568$	$-0,119 \pm 0,0719$

Para as medidas referentes à amostra de concentração 0,1%, a maioria dos valores inseridos no IAD não convergiu devido a um baixo valor de refletância medida. O único conjunto de dados que convergiu devolveu os seguintes valores: coeficiente de absorção $0,1301 \text{ mm}^{-1}$, valor do coeficiente de dispersão reduzido $0,1601 \text{ mm}^{-1}$ e anisotropia $0,2475$.

Para a maioria dos valores referentes ao fantoma de concentração 0,5%, o IAD devolveu um código de erro de transmitância colimada medida muito alta. Apenas 1 conjunto de medidas convergiu. Os valores das propriedades óticas devolvidos pelo IAD foram: $1,21 \text{ mm}^{-1}$ para o coeficiente de absorção, $0,1021 \text{ mm}^{-1}$ para o coeficiente de dispersão reduzido e $0,3909$ para a anisotropia.

O objetivo das medições com o dispersor era obter a gama de medição dos valores de transmitância. As propriedades óticas obtidas para as diferentes concentrações de intralípido estão resumidas na tabela 5.3. Todos os dados recolhidos convergiram.

As medidas feitas com os filtros de densidade neutra resultaram em conjuntos de dados que não convergiram no IAD. Para algumas medições dos 3 filtros de maior densidade, o IAD deu o código de erro referente à transmitância colimada ser muito alta. Para todos os filtros, à exceção do filtro de densidade 0.9, alguns dados produziram o código de erro de refletância baixa.

A repetibilidade foi medida para alguns dos dados obtidos anteriormente. Para a medição de refletância, o intervalo de repetibilidade obtido é entre 18,3% e 19,7%. Para a medição

Tabela 5.3: Dados obtidos para as propriedades óticas das diferentes amostras de intralípido.

amostra	μ_a	μ'_s	g
2%	$0,0604 \pm 0,0125$	$2,9203 \pm 0,43$	$0,2096 \pm 0,1137$
4%	$0,0674 \pm 0,0107$	$3,4512 \pm 0,341$	$0,0609 \pm 0,0901$
6%	$0,0688 \pm 0,0222$	$3,6562 \pm 0,483$	$0,0378 \pm 0,1277$
8%	$0,1373 \pm 0,0459$	$3,8893 \pm 0,4224$	$0,0015 \pm 0,1052$
10%	$0,0759 \pm 0,0147$	$5,008 \pm 0,5052$	$-0,2487 \pm 0,1194$

de transmitância dispersa, a repetibilidade obtida é entre 2,3% e 24,3%. Para a medição de transmitância colimada, a repetibilidade está entre 1,8% e 7,2%.

5.3 Discussão

A tabela 5.1 mostra que o valor obtido para o padrão de maior refletância está de acordo com o valor dado pelo fornecedor. No entanto, para os outros padrões, o valor medido é inferior ao valor do fornecedor. Com estes dados conclui-se que, para amostras mais refletoras, o valor da refletância vai estar próximo do real. O erro de medição obtido para o padrão de reflexão de 75% é de 0.6%, é quase vestigial. Dependendo do rigor necessário, o valor obtido para o padrão de 50% de reflexão pode ser considerado aceitável. No entanto o valor obtido para o terceiro padrão tem um erro relativo muito grande. As medidas obtidas mostram que quanto mais absorvente for a amostra, menor é a exatidão da refletância medida.

As medidas da tabela 5.1 apresentam melhor precisão do que as outras medidas obtidas. Isto deve-se ao facto de, nestas medições, a esfera de refletância estar sempre na mesma posição. Para a análise das restantes amostras, de cada vez que se mede um conjunto de valores é necessário remover as esferas do trajeto da luz para obter a transmitância colimada, o que resulta em diferenças na posição de medição e, conseqüentemente, menor precisão das medidas obtidas, conforme se pode verificar nas tabelas 5.2 e 5.3.

Os dados das propriedades óticas obtidos para a tinta da china estão resumidos na tabela 5.2. Verifica-se que o coeficiente de absorção aumenta com a concentração, como era esperado. Para o coeficiente de dispersão reduzido, à exceção do valor obtido para a concentração 0,5%, os valores também aumentam com a concentração. Para além dessa tendência, verifica-se que o coeficiente de dispersão reduzido é significativo quando comparado com o coeficiente de absorção, com um valor de cerca de 56% do valor do coeficiente de absorção. A maioria dos estudos sobre as propriedades óticas da tinta da china não faz observações sobre o coeficiente de dispersão. *Di Ninni et al.*, [16], apresenta um conjunto de valores para os coeficientes de atenuação e de absorção que nos permite verificar que o coeficiente de dispersão aumenta com a concentração da tinta da china. O estudo de *Madsen et al.*, [14], apresenta o coeficiente de atenuação, anisotropia e albedo. Recorrendo à fórmula do coeficiente de atenuação linear e do albedo essa tendência não se verifica, e os coeficientes de dispersão são da mesma ordem de grandeza que os coeficientes de absorção obtidos. À semelhança do que se verificou com

o padrão de 2%, os valores de refletância destas amostras devem estar abaixo do valor real, a medida de refletância é inferior ao valor real. Como consequência, as iterações do IAD vão dar coeficientes de absorção inferiores aos reais.

Os resultados referentes às amostras de intralípido estão resumidos na tabela 5.3. Para o coeficiente de absorção, espera-se valores baixos e independentes da concentração da solução. À exceção do valor obtido para a amostra de 8%, observa-se o comportamento esperado, com os valores medidos para as diferentes soluções a serem bastante próximos. Comparando com os coeficientes de dispersão reduzida, os valores obtidos para o coeficiente de absorção são pequenos. Isto também era esperado, pois o intralípido é essencialmente um dispersor.

Os valores de coeficiente de dispersão reduzido aumentam com a concentração enquanto a anisotropia diminuí com o aumento da concentração. Estes coeficientes obtidos apresentam as tendências esperadas. Calculando o valor do coeficiente de dispersão absoluto, o valor referente à amostra de 2% é $3,6949 \text{ mm}^{-1}$ enquanto o coeficiente referente à amostra de 4% é $3,6749 \text{ mm}^{-1}$. Para estas duas amostras de intralípido, os valores do coeficiente de dispersão não seguem a tendência esperada.

Em relação às medições realizadas com os filtros de absorbância, nenhum dos conjuntos de dados convergiu. Na tabela 5.4 estão resumidos os valores de refletância, transmitância difusa e transmitância colimada obtidos. Por observação direta, durante a execução das experiências, é possível ver que os filtros não dispersam a luz e que a sua transmitância diminui com o aumento da densidade ótica, como seria de esperar. Com o sistema de medição verificase que a refletância e a transmitância dos filtros diminuem com o aumento da absorbância. Mais ainda, considerando os valores das transmitâncias medidas, a transmitância colimada é muito maior do que a transmitância difusa, o que confirma que a luz não é dispersa pelos filtros.

Tabela 5.4: Valores dos parâmetros óticos para os diferentes filtros de absorbância.

filtro	M_R	M_T	M_U
0,9	$0,068 \pm 0,0045$	$0,0512 \pm 0,0028$	$0,2865 \pm 0,0019$
0,6	$0,0747 \pm 0,0049$	$0,0568 \pm 0,0047$	$0,438 \pm 0,0786$
0,5	$0,0528 \pm 0,0182$	$0,0406 \pm 0,0099$	$0,5079 \pm 0,0038$
0,2	$0,1286 \pm 0,0179$	$0,0885 \pm 0,0082$	$0,7327 \pm 0,0076$
0,1	$0,1705 \pm 0,0281$	$0,1358 \pm 0,0161$	$0,841 \pm 0,0265$

Analisando os dados que não convergiram no IAD, verificou-se que alguns dos valores rejeitados por serem muito pequenos, eram superiores a outros que convergiram. Portanto, a rejeição dos valores, em cada análise, deve-se ao valor percentual de cada medida (M_R , M_T ou M_U) em relação à soma das medidas ($M_R+M_T+M_U$).

Relativamente às medidas de transmitância dispersa, o IAD não produziu nenhum código de erro. Na figura 5.1 estão representadas as gamas de valores percentuais obtidos. Para o intralípido os valores de M_T medidos estão entre 9,1% e 33,8%. Para a tinta da china, os

conjuntos de medidas que convergiram tinham valores de M_T entre 6% e 31,5%. Para os filtros, obtiveram-se valores de M_T entre 5,9% e 13,3%. Na simulação apresentada no capítulo 4, os valores que convergiram tinham valores de M_T entre 15,6% e 89,3%. Assim, podemos considerar que os valores de M_T válidos estão, pelo menos, entre 9,1% e 89,3%.

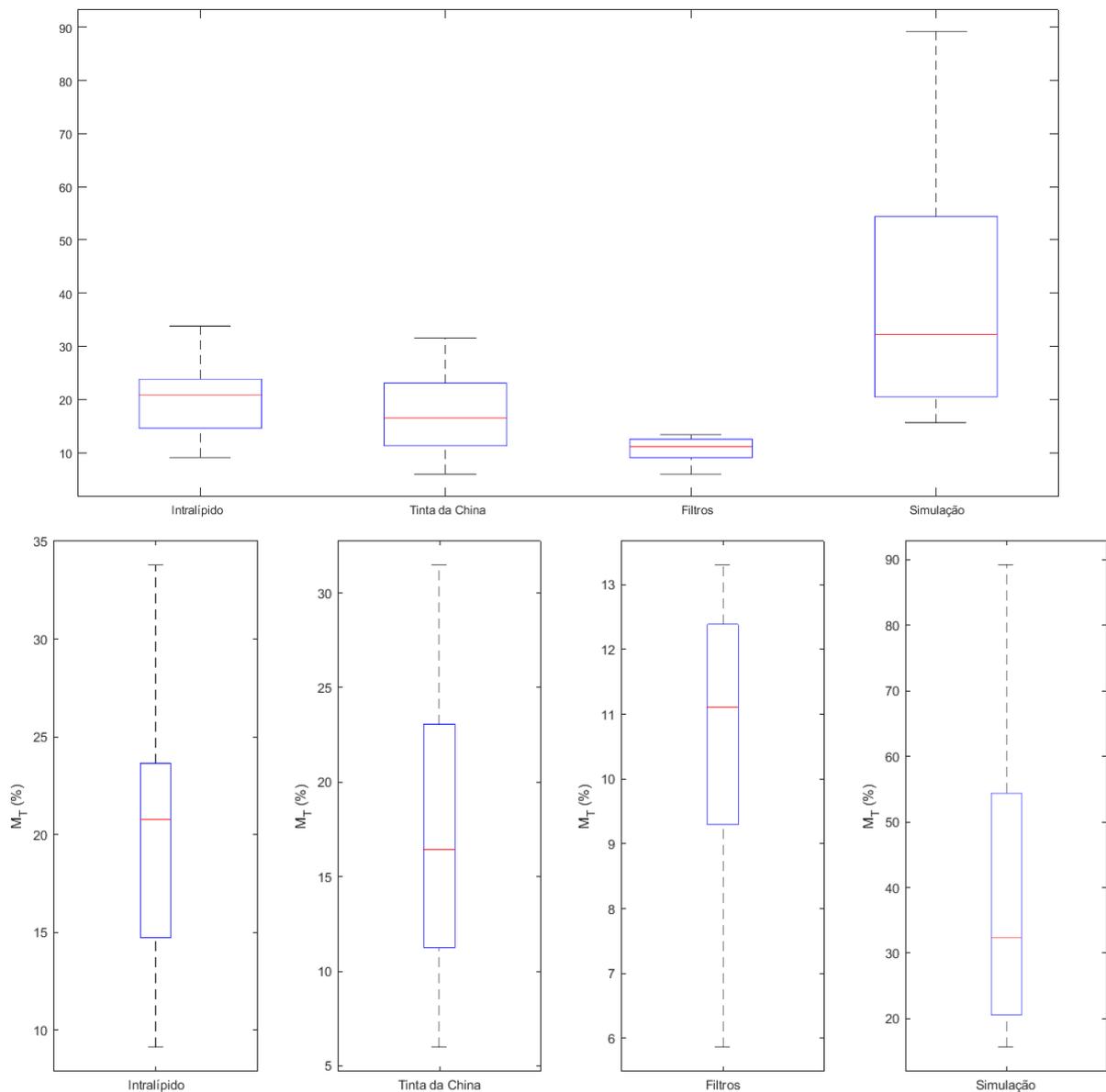


Figura 5.1: Gama de valores percentuais de transmitância dispersa medidos nos diferentes materiais testados e obtidos nas simulações. A primeira figura mostra as gamas todas à mesma escala enquanto que a segunda figura mostra em detalhe cada as gamas de cada distribuição.

O IAD não rejeitou nenhum conjunto de medidas de refletância por ter valores muito elevados. As medidas de refletância que convergiram e as que foram apontadas como sendo demasiado baixas estão representadas nos gráficos da figura 5.2. Nos dados referentes aos filtros de densidade neutra, vários conjuntos de dados não convergiram por a medida da refletância ser demasiado baixa. O valor máximo da medida de refletância que não convergiu foi de 17,3%. Nas medições com o intralípido há valores de refletância entre 66% e 90,7%. Os

dados da tinta da china que convergiram tinham refletância entre 14,9% e 27,2%. Pela análise dos dados da simulação, os conjuntos de medidas que apresentaram erro por a refletância ser demasiado baixa tinham um valor de refletância máximo de 18,9%. Os dados simulados que convergiram tinham valores de refletância entre 10,7% e 84,6%.

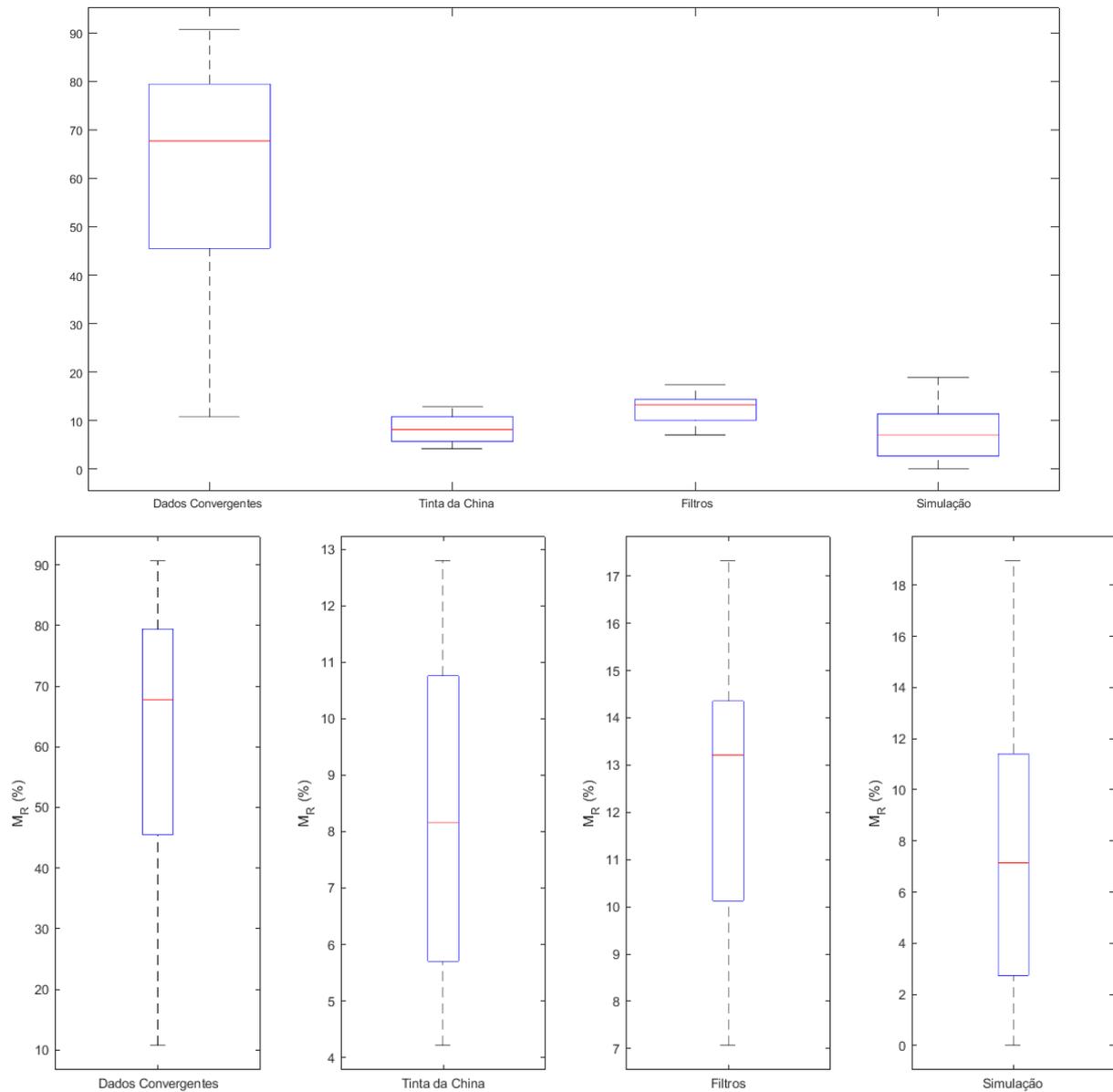


Figura 5.2: Gamas de valores percentuais das medidas de refletância. A primeira figura mostra as gamas todas à mesma escala enquanto que a segunda figura mostra em detalhe cada as gamas de cada distribuição. Na segunda figura, o primeiro gráfico refere-se a todos os valores que convergiram, independentemente da amostra que foi usada. Os gráficos seguintes referem-se à refletância dos dados que não convergiram para as medições com a tinta da china e para os filtros. O gráfico da direita diz respeito aos valores das simulações.

No conjunto de dados das amostras de tinta da china de 0,5%, houve um valor que apresentou refletância demasiado baixa, e, por esta razão, não está representado no gráfico. Esta omissão deve-se apenas ao facto do valor de refletância percentual estar muito longe dos res-

tantes valores rejeitados. O valor de refletância era de 32%, o maior valor de refletância obtido em todas as medições desta amostra. Segundo o critério da distância de Cook, este valor não deve ser rejeitado.

Com base no que acima escrevemos, podemos definir a gama de valores válidos de refletância. O intervalo mais fiável corresponde a valores de refletância medida entre 10,7% e 90,7%. O limite superior é estabelecido por falta de medidas de maior valor. O limite inferior, ainda que seja conflituoso com uma das medidas, é definido com base nos resultados convergentes. Este intervalo pode conter alguns resultados para os quais o IAD não consiga convergir, mas não elimina uma gama de dados dos quais é possível obter propriedades óticas.

Os valores de interesse de transmitância colimada medida estão resumidos nos gráficos da figura 5.3. Os valores obtidos para o intralípido estão entre 0,06% e 0,17%. Todos estes valores apresentavam uma anisotropia diferente de zero, o que significa que em nenhum dos casos o valor de M_U foi ignorado. Nos casos em que o IAD considerar a medida de transmitância colimada muito baixa, espera-se que ignore essa medida e calcule apenas os coeficientes de absorção e de dispersão reduzida.

Esperava-se que os dados que não convergiram por ter os valores de M_U demasiado elevados permitissem definir um limite superior para a gama de medição. O que se verifica é que os valores de M_U que o IAD devolve com o código de transmitância colimada demasiado elevada, são inferiores ao intervalo dos valores que convergem. Isto é, na análise dos dados de tinta da china verifica-se que os dados que convergiram tinham valores de M_U entre 50,2% e 73,3% enquanto os dados que não convergiram por terem valores de M_U muito altos estavam entre 41,3% e 43,7%. Analisando os dados como percentagem das transmitâncias medidas, o intervalo dos dados que convergiram tem valores de M_U mais elevados do que os valores de M_U dos dados que não convergiram. Calculado a percentagem de M_U em relação às medidas de transmitâncias ($M_T + M_U$), os conjuntos de dados com o código de erro de M_U demasiado elevado apresentavam valores entre 69,2% e 78,2%. Estes resultados não eram esperados e não se conseguiram explicar. No caso das medidas de M_U , não foi possível estabelecer um limite dos valores que o IAD conseguirá usar para calcular as propriedades óticas.

Os valores de repetibilidade máxima e mínima encontrados para a medição da refletância são bastante próximos. Quanto à repetibilidade calculada para as medições de transmitância dispersa e refletância, há uma maior variação entre o valor máximo e mínimo encontrados. No geral, o valor de repetibilidade mais baixo refere-se a medidas com filtros de densidade neutra como amostra. Estas amostras permitem um trajeto de luz menor e uma posição entre esferas e amostra muito mais controlada. Nas medições com os filtros, estes estavam em contacto com ambas as esferas. Nas amostras de intralípido e de tinta da china não foi possível manter a célula que continha a amostra encostada a ambas as esferas. Importa referir que o processo de medição implicava retirar e recolocar no trajeto óptico as esferas integradoras. Tal levava a alterações no posicionamento das esferas ao longo das várias medições. Apesar de se

garantir que o feixe laser incidia sempre no centro das portas, ocorriam alterações na posição relativa entre as amostras e as esferas. Estes desvios eram mais significativos nas medidas da esfera de refletância. A repetibilidade calculada para a transmitância colimada dá confiança nas medições.

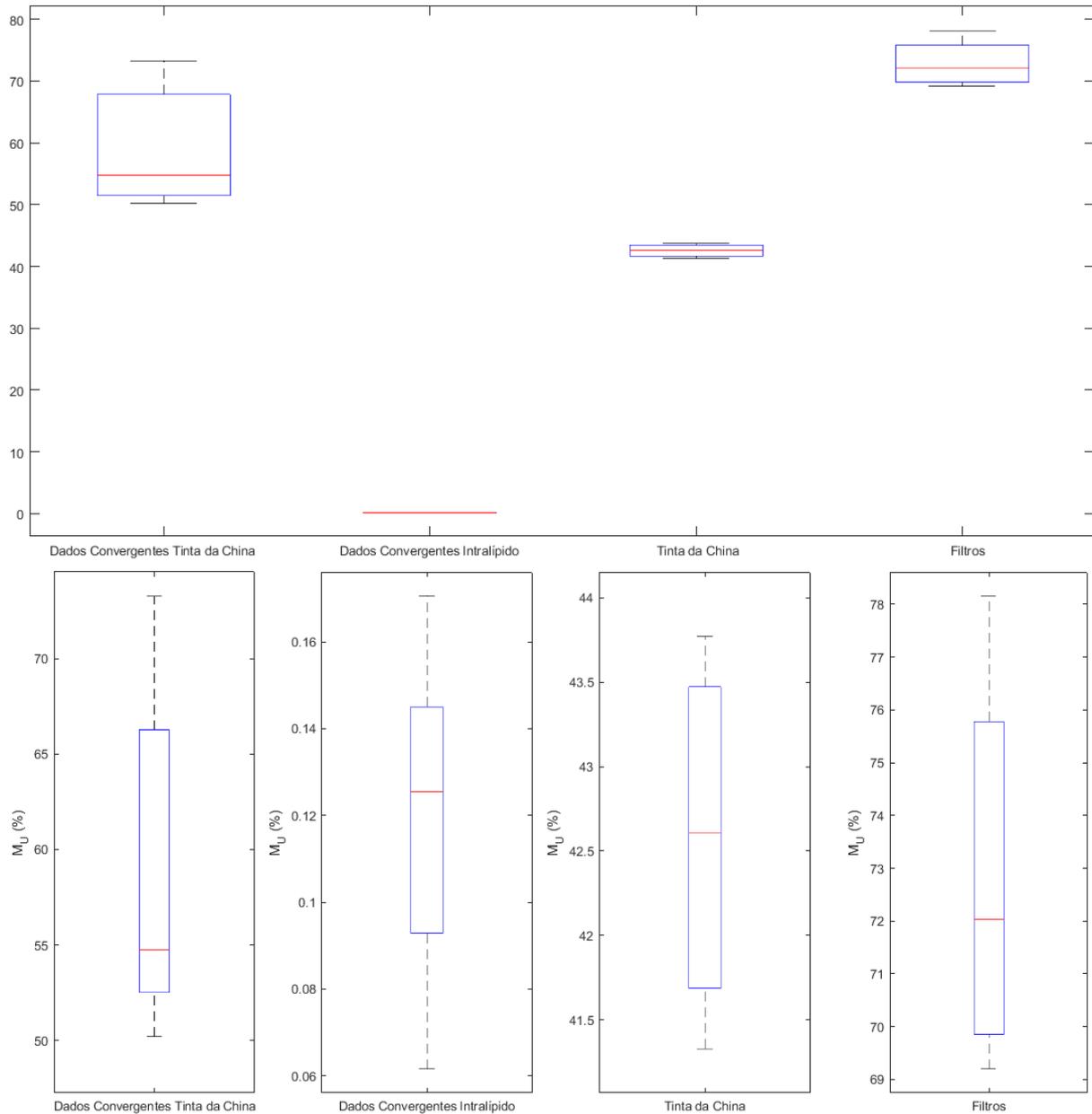


Figura 5.3: Gamas de valores percentuais da transmitância colimada medida. A primeira figura mostra as gamas todas à mesma escala enquanto que a segunda figura mostra em detalhe cada as gamas de cada distribuição. Os valores de M_U obtidos para a tinta da china e para o intralípido são muito distantes o que obrigou à sua representação em gráficos distintos.

Capítulo 6

Conclusão e trabalhos futuros

Neste trabalho começou por se descrever o sistema de medição de propriedades óticas construído. A nível das esferas integradoras, o seu fabricante refere que são construídas de forma que seja evitada a iluminação direta do detetor, pela sua colocação num plano recuado relativamente ao da superfície interna da esfera, e com acesso por um canal estreito. As esferas integradoras não têm *baffle*, mas segundo as indicações do fornecedor tal não deve ser necessário, e as medidas devem ser equivalentes às obtidas quando se utilizam esferas integradoras com *baffle*. Este é um aspeto importante pois, como demonstrado pelas simulações computacionais apresentadas no Capítulo 4, as medidas obtidas com esferas sem *baffle* não são propriamente equivalentes às obtidas com esferas com *baffle*. Isto verifica-se principalmente para as medidas de refletância, que terão grande impacto na determinação do coeficiente de absorção.

Comparando outros sistemas de medição de propriedades óticas que usam a técnica de esfera integradora dupla há duas características principais em que este sistema difere: a potência radiante empregue costuma ser mais elevada e a maioria das esferas integradoras têm maior diâmetro do que as que usámos para construir o nosso sistema. Em relação à potência do laser incidente, no sistema de medição por nós construído, a potência máxima que chega à amostra é 18 mW. Considerando o facto de o amplificador *lock-in* permitir mudar a gama de sensibilidade de acordo com a medida, pode-se sempre usar a menor gama de sensibilidade possível e, assim, obter uma maior exatidão.

Relativamente ao tamanho das esferas, a principal desvantagem da utilização de esferas de pequenas dimensões é a maior fracção da superfície interna ocupada pelos portos de entrada e de saída. Tal resulta em menor uniformidade na distribuição de luz no interior da esfera e, conseqüentemente, menor exatidão das medidas. Contudo, as esferas de menor dimensões apresentam algumas vantagens. O menor custo é a vantagem principal mas também é de referir a maior eficiência na transmissão de potência radiante.

Em [29], um conjunto de laboratórios reportam medidas independentes para tentarem criarem valores de referência de propriedades óticas da tinta da china e do intralípido. Neste artigo apresentam-se resultados para diferentes comprimentos de onda. São propostas equa-

ções que permitem calcular o coeficiente de absorção para uma dada concentração de tinta da china e o coeficiente de dispersão reduzido em função da concentração de intralípido. Os valores obtidos foram comparados com os que seriam esperados pela aplicação destas equações para o comprimento de onda de 830 nm. Os valores das propriedades óticas que nós medimos estão distantes dos valores previstos.

Os valores do coeficiente de absorção obtidos para a tinta da china são maiores do que os previstos no estudo de *Spinelli et al.* [29]. Verificou-se que, para as concentrações das soluções de tinta da china mais elevadas, os valores que medimos estão mais próximos. Para a concentração de 0,5% de tinta da china o valor do coeficiente de absorção que o artigo prevê é de cerca de $1,45 \text{ mm}^{-1}$, enquanto que o valor que obtivemos foi de $1,21 \text{ mm}^{-1}$. Quanto aos valores obtidos para o coeficiente de dispersão reduzido do intralípido, os valores previstos pela equação são mais do que o dobro dos que obtivemos. As diferenças nos coeficientes de absorção podem dever-se ao facto de as medidas serem da ordem de grandeza do ruído, o que implica uma baixa precisão. Já as diferenças observadas no coeficiente de dispersão reduzido para o intralípido não podem ser justificadas desta forma, pois, neste caso, as medidas realizadas estão claramente acima do nível do ruído. Quer as nossas medições, quer as reportadas no artigo, usam Intralípido 20%. Contudo, é de notar que as propriedades óticas do intralípido variam consideravelmente entre lotes do produto. O intralípido foi desenvolvido para ser uma emulsão de administração intravenosa para proporcionar energia e ácidos gordos essenciais a doentes que necessitam de nutrição intravenosa. Apesar de muito utilizado para simular as propriedades de dispersão da pele e outros tecidos não foi desenvolvido para ser um padrão de dispersão. Torna-se necessário avaliar as medidas de transmitância feitas com estas esferas integradoras utilizando padrões de dispersão.

Só foi possível avaliar a exatidão das medidas de refletância. Os valores obtidos indicam que os valores medidos de M_R têm tendência a ser inferiores aos valores reais. No manual do IAD [24], *Scott Prah* apresenta a mesma conclusão. Para os valores de M_T verificou o contrário. Neste estudo não foi possível avaliar essas medidas. Para verificar a exatidão das medidas de M_T , poderiam usar-se os filtros de absorbância. No entanto, os filtros de absorbância não indicavam a sua transmitância nominal, nem conhecíamos o valor dessa transmitância para o comprimento de onda de 850 nm. Uma alternativa aos filtros da *Kodak* são padrões de transmitância do conjunto TFS-ND-06-cuv da *Avian Technologies*.

Para o caso de se verificar que as esferas integradoras IS200-4 não são adequadas para medir as propriedades óticas das amostras que pretendemos estudar, há duas opções que podem ser consideradas: usar outro método computacional para calcular as propriedades óticas ou substituir as esferas integradoras.

Ao contrário do método IAD, o método de Monte Carlo não tem nenhum algoritmo estabelecido como sendo o melhor ou o mais versátil para diferentes usos. Cada autor utiliza o seu próprio método. Um bom exemplo são os trabalhos realizados no NIST (*National Institute*

of Standards and Technology). Na tentativa de criar um método *standard* de medição das propriedades óticas, usaram esferas integradoras UMBK-190 da *Gigahertz-Optik*, com *baffle* e mesmo tendo avaliado o método IAD, optaram por desenvolver o próprio método de determinação das propriedades óticas.[12]

No caso de se optar por substituir as esferas integradoras, há várias opções viáveis. Uma delas são as já referidas esferas integradoras UMBK-190 da *Gigahertz-Optik*. As esferas integradoras AvaSphere-200 da *Avantes* são outra possibilidade. Como já foi referido, a técnica de dupla esfera integradora e o método IAD não exigem que as duas esferas sejam iguais.

Referências

- [1] I. Bargigia, A. Tosi, A. B. Shehata, A. D. Frera, A. Farina, A. Bassi, P. Taroni, A. D. Mora, F. Zappa, R. Cubeddu, and A. Pifferi. Time-resolved diffuse optical spectroscopy up to 1700 nm by means of a time-gated ingaas/inp single-photon avalanche diode. *Appl. Spectrosc.*, 66(8):944–950, 2012.
- [2] A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey, and V. V. Tuchin. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 38(15):2543–2555, 2005.
- [3] A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey, and V. V. Tuchin. Optical properties of human sclera in spectral range 370–2500 nm. *Biomedical Optics and Spectroscopy*, 109(2), 2010.
- [4] A. N. Bashkatov, E. A. Genina, and V. V. Tuchin. Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 04(01):9–38, 2011.
- [5] J. F. Beek, P. Blokland, P. Posthumus, M. Aalders, W. Pickering, H. J. C. M. Sterenberg, and M. J. C. van Gemert. In vitro double-integrating-sphere optical properties of tissues between 630 and 1064 nm. *Physics in medicine and biology*, 42(11), 1997.
- [6] R. Bernardes, T. Santos, P. Serranho, and C. L. J. Cunha-Vaz. Noninvasive evaluation of retinal leakage using optical coherence tomography. *Ophthalmologica*, 226(2):29 – 36, 2011.
- [7] F. Bevilacqua, A. J. Berger, A. E. Cerussi, D. Jakubowski, and B. J. Tromberg. Broadband absorption spectroscopy in turbid media by combined frequency-domain and steady-state methods. *Applied Optics*, 39(34):6498–6507, 2000.
- [8] J. M. Bland and D. G. Altman. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 327(8476), 1986.
- [9] E. K. Chan, B. Sorg, D. Protsenko, M. O’Neil, M. Motamedi, and A. J. Welch. Effects of compression on soft tissue optical properties. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2(4):943–950, 1996.
- [10] M. Hammer, A. Roggan, D. Schweitzer, and G. Muller. Optical properties of ocular fundus tissues-an in vitro study using the double-integrating-sphere technique and inverse monte carlo simulation. *Physics in Medicine and Biology*, 40(6):963–978, 1995.

- [11] T. Kiris, S. Akbulut, A. Kiris, Z. Gucin, O. Karatepe, G. B. Ates, and H. Özgür Tabakoğlu. Optical characterization of pancreatic normal and tumor tissues with double integrating sphere system. In *Optical Interactions with Tissue and Cells XXVI*, volume 9321, pages 234 – 238. SPIE, 2015.
- [12] P. Lemaillet, J.-P. Bouchard, J. Hwang, and D. W. Allen. Double-integrating-sphere system at the National Institute of Standards and Technology in support of measurement standards for the determination of optical properties of tissue-mimicking phantoms. *Journal of Biomedical Optics*, 20(12):1 – 8, 2015.
- [13] A. Liebert, H. Wabnitz, D. Grosenick, M. Möller, R. Macdonald, and H. Rinneberg. Evaluation of optical properties of highly scattering media by moments of distributions of times of flight of photons. *Applied Optics*, 42(28):5785–792, 2003.
- [14] S. J. Madsen, M. S. Patterson, and B. C. Wilson. The use of india ink as an optical absorber in tissue-simulating phantoms. *Physics in Medicine and Biology*, 37(4):985–993, 1992.
- [15] B. Nemati, H. G. Rylander, and A. J. Welch. Optical properties of conjunctiva, sclera, and the ciliary body and their consequences for transscleral cyclophotocoagulation. *Appl. Opt.*, 35(19):3321–3327, 1996.
- [16] P. D. Ninni, F. Martelli, and G. Zaccanti. The use of india ink in tissue-simulating phantoms. *Optics express*, 18(26):26854–26865, 2010.
- [17] T. Nishimura, Y. Takai, Y. Shimojo, H. Hazama, and K. Awazu. Determination of optical properties in double integrating sphere measurement by artificial neural network based method. *Optical Review*, 28(1):42–47, 2021.
- [18] A. Nunes, G. Silva, C. Duque, C. Januário, I. Santana, A. F. Ambrósio, M. Castelo-Branco, and R. Bernardes. Retinal texture biomarkers may help to discriminate between alzheimer’s, parkinson’s, and healthy controls. *PLOS ONE*, 14(6):1–13, 2019.
- [19] D. R. Paschotta. Integrating spheres. URL https://www.rp-photonics.com/integrating_spheres.html.
- [20] J. W. Pickering, C. J. M. Moes, H. J. C. M. Sterenborg, S. A. Prahl, and M. J. C. van Gemert. Two integrating spheres with an intervening scattering sample. *J. Opt. Soc. Am. A*, 9(4):621–631, 1992.
- [21] J. W. Pickering, S. A. Prahl, N. van Wieringen, J. F. Beek, H. J. C. M. Sterenborg, and M. J. C. van Gemert. Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue. *Appl. Opt.*, 32(4):399–410, 1993.
- [22] W. Poppendieck. Double integrating spheres: A method for assessment of optical properties of biological tissues. Master’s thesis, Institut für Biomedizinische Technik, 2004.
- [23] S. Prahl. Light transport in tissue. Master’s thesis, Faculty of the Graduate School of The University of Texas at Austin, 1988.

- [24] S. Prahl. *Everything I think you should know about Inverse Adding-Doubling*. <https://omlc.org/software/iad/manual.pdf>, 2011.
- [25] S. A. Prahl. The adding-doubling method. In A. J. Welch and M. J. C. van Gemert, editors, *Optical-Thermal Response of Laser Irradiated Tissue*, chapter 5, pages 101–129. Plenum Press, 1995.
- [26] S. A. Prahl, M. J. C. van Gemert, and A. J. Welch. Determining the optical properties of turbid media by using the adding–doubling method. *Appl. Opt.*, 32(4):559–568, 1993.
- [27] P. Saccomandi, E. S. Larocca, V. Rendina, E. Schena, R. D’Ambrosio, A. Crescenzi, F. M. D. Matteo, and S. Silvestri. Estimation of optical properties of neuroendocrine pancreas tumor with double-integrating-sphere system and inverse monte carlo model. *Lasers in medical science*, 31(6):1041 – 1050.
- [28] M. Santos, A. Araújo, S. Barbeiro, F. Caramelo, A. Correia, M. I. Marques, L. Pinto, P. Seranho, R. Bernardes, and M. Morgado. Simulation of cellular changes on optical coherence tomography of human retina. In *Proceedings of the 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBS)*, pages 8147–8150, 2015. doi: <https://doi.org/10.1109/EMBC.2015.7320285>.
- [29] L. Spinelli, M. Botwicz, N. Zolek, M. Kacprzak, D. Milej, P. Sawosz, A. Liebert, U. Weigel, T. Durduran, F. Foschum, A. Kienle, F. Baribeau, S. Leclair, J.-P. Bouchard, I. Noiseux, P. Gallant, O. Mermut, A. Farina, A. Pifferi, A. Torricelli, R. Cubeddu, H.-C. Ho, M. Mazurenka, H. Wabnitz, K. Klauenberg, O. Bodnar, C. Elster, M. Bénazech-Lavoué, Y. Bérubé-Lauzière, F. Lesage, and et al. Determination of reference values for optical properties of liquid phantoms based on intralipid and india ink. *Biomedical Optics Express*, 5(7): 2037–2053, 2014.
- [30] C. Sun, R. V. Beers, B. Aernouts, and W. Saeys. Bulk optical properties of citrus tissues and the relationship with quality properties. *Postharvest Biology and Technology*, 163, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111127>.
- [31] C. Sun, B. Aernouts, and W. Saeys. Effects of harvest time, fruit size and cultivar on the bulk optical properties of satsuma mandarin. *Postharvest Biology and Technology*, 175: 111412, 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111412>.
- [32] H. C. van de Hulst. A new look at multiple scattering. Technical report, NASA Institute for Space Studies, New York, 1962.
- [33] V. D. Vincely. Estimating optical properties of liquid phantoms with multiple correction methods using measurements from a single integrating sphere and the inverse adding-double method. Master’s thesis, Faculty of Miami University, 2020.
- [34] B. G. Yust, L. C. Mimun, and D. K. Sardar. Optical absorption and scattering of bovine cornea, lens, and retina in the near-infrared region. *Lasers in medical science*, 27(2), 2012.

- [35] E. Zamora-Rojas, B. Aernouts, A. Garrido-Varo, D. Pérez-Marín, J. E. Guerrero-Ginel, and W. Saeys. Double integrating sphere measurements for estimating optical properties of pig subcutaneous adipose tissue. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19:218 – 226, 2013.

Anexo I

Folha de especificações do laser

IR Laser Module, 850 nm, 20 mW



LDM850

Description

The 850 nm LDM compact laser source has a Ø1.40" by 5.8" housing that contains a laser diode, collimating lens, and automatic power control circuit. The module includes a built in shutter and SM1 internal thread for mounting with an extensive range of optomechanical devices. It can be mounted to an optical table using one of our C1512, C1513, or VC3C V-groove mounts. The module features a remote interlock connection, key-lock power switch, enable/disable toggle switch, a laser on indicator LED, and power adjustment potentiometer.

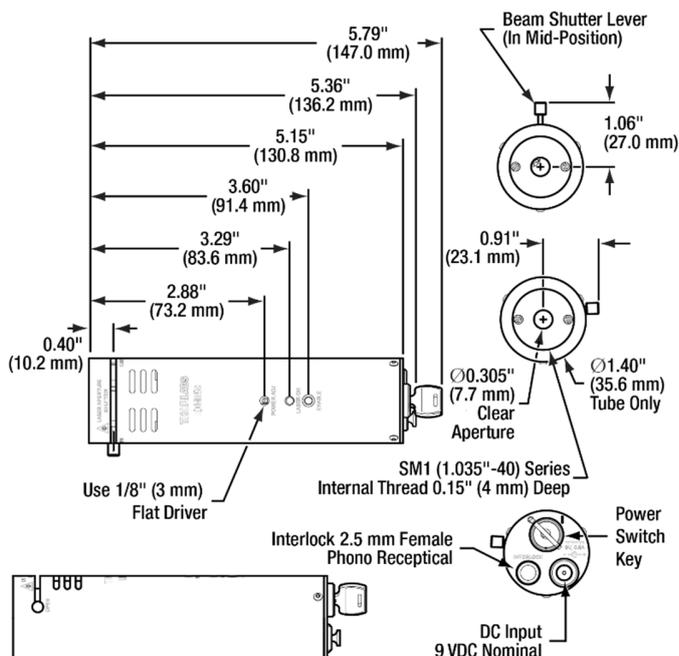
Specifications

Specification	Value
Wavelength, Typical	850 nm
Wavelength, Min/Max	840 - 860 nm
Beam Diameter ^a	3.5 mm x 4.4 mm
Power, Adjustable ^b	20 mW

- Measured 3 m from module. Beam shape is elliptical.
- The maximum power is given for an operating temperature of 25 °C. When operated at a temperature other than this, the maximum output will vary.

Specification	Value
Stability, Short-Term (30 min)	0.01 dB
Stability, Long-Term Drift (24 hr)	0.1 dB
Operating Temperature	10 - 40 °C
Storage Temperature	5 - 50 °C
Power Supply @ ±10% (Included)	100 - 240 VAC, 0.48 A 50 - 60 Hz Output: 9 VDC @ 2.2 A

Drawings



Folha de especificações das esferas integradoras

CHAPTERS

Power Meters

Detectors

Beam Characterization

Polarimetry

Electronics Accessories

SECTIONS

Biased Photodetectors

Amplified Photodetectors

Photon Counter

Integrating Spheres

Photomultiplier Tubes

Balanced Detectors

Position-Sensing Detectors

Photodiodes

Photocurrent Amplifiers

Cameras

Integrating Spheres

The IS200 Integrating Sphere is a general-purpose integrating sphere enabling high sensitivity measurements of optical signals. An Integrating Sphere evenly spreads the incoming light by multiple reflections over the entire sphere surface. This makes it the ideal instrument for many applications such as laser power, flux, reflectance and radiance measurements.

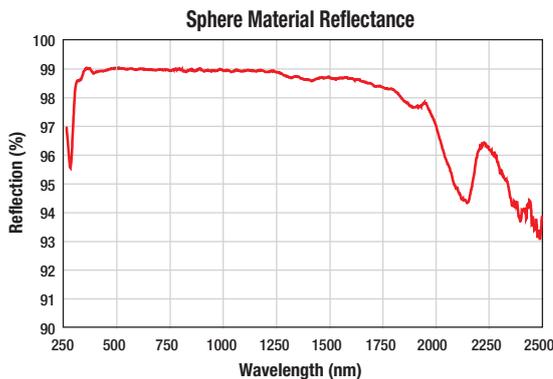
The Input and Output Ports can be equipped with fiber adapters or closed using the included port plugs. The detector port is recessed to avoid direct light exposure to the active area of the photodiode from incidental light. The sphere is manufactured from PTFE-based bulk material, which is highly reflective (250 – 2500 nm) and resistant to heat, humidity, and high levels of radiation.

Our IS200 Integrating Spheres are available with a mounted Si photodiode (350 – 1100 nm), a mounted InGaAs photodiode (800 – 1700 nm), or without a detector. When purchasing an Integrating sphere without a built-in detector, the sphere's operating range is 250 – 2500 nm; any of our SM05PD series of detectors featured on page 1591 can be mounted using the included Ø3 mm detector port, which features SM05 (0.535"-40) threading.

The sphere is compatible with Thorlabs' SM05 thread standard as well as our 30 mm cage systems, thereby enabling easy integration into existing setups. It also features an 8-32 and M4 tap for post mounting.



Directly Compatible with SM05 Lens Tubes and 30 mm Cage Systems (See Page 176)



SMA, FC, and SM05 Adapters Included

Features

- Ø2" Sphere in Black Anodized Aluminum Housing
- Available With or Without Si or InGaAs Detector
 - Si: 350 – 1100 nm (IS236A or IS236A-4)
 - InGaAs: 800 – 1700 nm (IS210C)
- 3- and 4-Port Versions with Ø1/2" Clear Aperture
 - FC and SMA Fiber Adapters Included
 - Recessed Ø3 mm Port Directly Compatible with SM05PD Series of Photodiodes Featured on Page 1591
- SM05 (0.535"-40) and 30 mm Cage System Compatible
- 8-32 and M4 Taps for Post Mounting
- Calibration of Detector/Sphere Available Upon Request

SPECIFICATIONS

Sphere Diameter	2"
Port Diameter	1/2"
Ports	3 or 4 (0°, 90°, 180°, North Pole)*
Photodiode Port**	Ø3 mm
Wavelength Range	350 – 1100 nm (IS236A), 800 – 1700 nm (IS210C) 250 - 2500 nm (Without Detector)
Reflectance	~99% (350 – 1300 nm) >95% (250 – 2500 nm)
Thermal Stability	250 °C (Max)
Laser Damage Threshold	7 J/cm ²
Weight	0.35 kg (0.77 lb)
Dimensions	61 mm x 61 mm x 65 mm (2.4" x 2.4" x 2.56")

*180° Port is for the 4 Port Version Only

**Designed for use with our SM05PD Series of Photodiodes

ITEM #	\$	£	€	RMB	DESCRIPTION
IS200	\$ 950.00	£ 684.00	€ 826.50	¥ 7,571.50	Ø2" Integrating Sphere, 3 Ports Without Detector
IS200-4	\$ 970.00	£ 698.40	€ 843.90	¥ 7,730.90	Ø2" Integrating Sphere, 4 Ports Without Detector
IS236A	\$ 990.00	£ 712.80	€ 861.30	¥ 7,890.30	Ø2" Integrating Sphere, 3 Ports with Si Detector, 350 – 1100 nm
IS236A-4	\$ 1,005.00	£ 723.60	€ 874.35	¥ 8,009.85	Ø2" Integrating Sphere, 4 Ports with Si Detector, 350 – 1100 nm
IS210C	\$ 1,140.00	£ 820.80	€ 991.80	¥ 9,085.80	Ø2" Integrating Sphere, 3 Ports with InGaAs Detector, 800 – 1700 nm

Folha de especificações do fotodíodo SM1PD1A

SM1PD1A



Description

Thorlabs' SM1PD1A photodiode is ideal for measuring both pulsed and CW fiber light sources by converting the optical power to an electrical current. The detector is mounted in a convenient SM1 (Ø1.035"-40) externally threaded tube for easy mounting and integration in to existing set up. The photodiode is a *Type A (Cathode Grounded)* arrangement, and the pin codes for the specific package can be found in the drawing below. The photodiode anode produces a current, which is a function of the incident light power (P) and the wavelength (λ). The responsivity, $\mathcal{R}(\lambda)$, can be read from the responsivity curve (below) to estimate the amount of photocurrent. This current can be converted to a voltage by placing a load resistor (R_L) from the photodiode anode to the circuit ground. Where P is the power, the output voltage is expressed by

$$V_o = P \times \mathcal{R}(\lambda) \times R_L$$

The bandwidth, f_{BW} , and the rise time response, t_r , are determined from the diode capacitance, C_j , and the load resistance, R_L , as shown below. The diode capacitance can be lowered by placing a bias voltage from the photodiode cathode to the circuit ground. Ω

$$f_{BW} = \frac{1}{(2\pi)R_L C_j}, t_r = \frac{0.35}{f_{BW}}$$

Specifications



Specifications ^a		
Wavelength Range	λ	350 - 1100 nm
Peak Wavelength	λ_p	970 nm
Responsivity	$\mathcal{R}(\lambda)$	0.725 A/W
Active Area		10 x 10 mm Behind Ø9 mm Clear Aperture
Rise/Fall Time (632 nm, $R_L=50 \Omega$, 5 V)	t_r/t_f	65 ns
NEP, Typical (970 nm, 5 V)	W/√Hz	2.07×10^{-13}
Dark Current (5 V)	I_d	600 nA (Max)
Capacitance (5 V)	C_j	375 pF (Typ.)
Package		SM1, External Thread
Sensor Material		Si
Corresponding Unmounted Diode		FDS1010

Maximum Rating	
Max Bias (Reverse) Voltage	25 V
Reverse Current	10 mA
Operating Temperature	-10 to 60 °C
Storage Temperature	-20 to 70 °C

a. Unless otherwise noted, all measurements are performed at 25 °C ambient temperature.

Folha de especificações do fotodíodo SM05PD1B

SM05PD1B



Description

Thorlabs' SM05PD1B photodiode is ideal for measuring both pulsed and CW fiber light sources by converting optical power to electrical current. The detector is mounted in a convenient SM05 (Ø0.535"-40) externally threaded tube for easy mounting and integration into existing setups. The photodiode is a *Type B (Anode Grounded)* arrangement, and the pin codes for the specific package can be found in the drawing below. The photodiode anode produces a current, which is a function of the incident light power (P) and the wavelength (λ). The responsivity, $\mathfrak{R}(\lambda)$, can be read from the responsivity curve (below) to estimate the amount of photocurrent. This current can be converted to a voltage by placing a load resistor (R_L) from the photodiode anode to the circuit ground. Where P is the power, the output voltage is expressed by

$$V_o = P \times \mathfrak{R}(\lambda) \times R_L$$

The bandwidth, f_{BW} , and the rise time response, t_R , are determined from the diode capacitance, C_j , and the load resistance, R_L , as shown below. The diode capacitance can be lowered by placing a bias voltage from the photodiode cathode to the circuit ground. Ω

$$f_{BW} = \frac{1}{(2\pi)R_L C_j}, t_R = \frac{0.35}{f_{BW}}$$

Specifications

Specifications ^a		
Wavelength Range	λ	350 - 1100 nm
Peak Wavelength	λ_P	980 nm
Responsivity	$\mathfrak{R}(\lambda)$	0.65 A/W
Active Area (Dimension)		13 mm ² (3.6 x 3.6 mm)
Rise/Fall Time (632 nm, $R_L=50 \Omega$, 20 V)	t_r/t_f	10 ns / 10 ns
NEP, Typical (900 nm, 20 V)	W/√Hz	1.2×10^{-14}
Dark Current (20 V)	I_d	1.0 nA (Typ.) 20 nA (Max)
Capacitance (20 V)	C_j	24 pF (Typ.)
Package		SM05, External Thread
Sensor Material		Si
Corresponding Unmounted Diode		FDS100
Maximum Rating		
Max Bias (Reverse) Voltage		25 V
Reverse Current		5 mA
Operating Temperature		-40 to 100 °C
Storage Temperature		-55 to 125 °C



a. Unless otherwise noted, all measurements are performed at 25 °C ambient temperature.

Folha de especificações do amplificador

5.3 Technical data

Full scale current measurement ranges	100 nA ... 10 mA (in decade steps)
Maximum display resolution	10 pA
Photodiode polarity	cathode grounded (CG) or anode grounded (AG)
Display range	0 ... 10000 (CG), 0 to -10000 (AG)
Bias voltage	0 ... -10 V (CG), Bias off, 0 ... +10 V (AG)
Photodiode sensitivity (for calibrated power display)	0.05 ... 2 A/W
Max. photodiode capacitance for frequency compensated operation	10 nF
Input impedance	~0 Ω (Virtual Ground)
Nominal output voltage range (analog output)	0 ... +10 V (CG), 0 ... -10 V (AG)
Minimum load resistance	10 k Ω
Temperature coefficient	≤ 50 ppm/ $^{\circ}$ C
Noise (rms)	≤ 0.02 % f.s.

Current range	Resolution	Amplification	Accuracy	Bandwidth ¹⁾
10 mA	1 μ A	1 x 10 ³ V/A	± 0.05 % f.s.	500 kHz
1 mA	100 nA	1 x 10 ⁴ V/A	± 0.05 % f.s.	250 kHz
100 μ A	10 nA	1 x 10 ⁵ V/A	± 0.05 % f.s.	70 kHz
10 μ A	1 nA	1 x 10 ⁶ V/A	± 0.05 % f.s.	20 kHz
1 μ A	100 pA	1 x 10 ⁷ V/A	± 0.05 % f.s.	5 kHz
100 nA	10 pA	1 x 10 ⁸ V/A	± 0.1 % f.s.	1 kHz

Connectors

Photodiode input, PD INPUT	BNC
Control output, ANALOG OUT	BNC
Chassis ground	4mm banana jack
Mains input	IEC 60320

General data

Line voltage (selectable)	100 V / 115 V / 230 V (-10%, +15 %)
Line frequency	50 ... 60 Hz
Maximum power consumption	10 VA
Supply mains over-voltage	Category II (Cat II)
Operating temperature ²⁾	0 ... +40 $^{\circ}$ C
Storage temperature	-40 $^{\circ}$ C ... +70 $^{\circ}$ C

¹⁾ Small signal 3dB bandwidth of the control output

²⁾ non condensing

Folha de especificações do amplificador *lock-in*

Specifications

General

Dual-phase analog lock-in amplifier operating over a reference frequency range of 5 Hz to 20 kHz, but also available calibrated for use at one user-specified spot frequency in the range 20 kHz to 100 kHz

The model 5105 is a complete tested module and the model 5106 is tested PCB assembly. Both units share common specifications.

Measurement Modes

The instrument can simultaneously measure these outputs:

X	In-phase
Y	Quadrature
R	Magnitude
θ	Phase Angle

Signal Channel Input

Modes	Single-ended or pseudo-differential
Grounding	Input signal ground can be grounded or floated via 1 k Ω to ground using internal jumper
Full-scale Sensitivity	10 μ V to 1 V in a 1-3.16-10 sequence (10 dB steps)
Max. Dynamic Reserve	> 80 dB
Impedance	10 M Ω // 30 pF
Maximum Safe Input	20 V pk-pk
Voltage Noise	< 30 nV/ $\sqrt{\text{Hz}}$ @ 1 kHz
C.M.R.R.	> 40 dB @ 1 kHz
Frequency Response	5 Hz to 100 kHz
Gain Accuracy	2% typical for digital outputs; 6% typical for analog outputs
Gain Stability	200 ppm/ $^{\circ}$ C typical

Signal Channel Filters

High-pass Signal Channel Filter -3 dB frequency	1 Hz, 10 Hz, 100 Hz or 1 kHz
Low-pass Signal Channel Filter -3 dB frequency	50 Hz, 500 Hz, 5 kHz or 50 kHz or, by jumper selection, 220 Hz, 2.2 kHz, 22 kHz or 220 kHz
Frequency Accuracy	\pm 10%

Reference Channel

Mode	TTL or Analog input
Frequency Range	5 Hz to 20 kHz or spot frequencies to 100 kHz
Analog Impedance	1 M Ω // 30 pF
Reference harmonic	F only
Phase Set Resolution	0.1° increments
Phase Set Accuracy	± 1°
Phase Noise	≤ 0.015° rms @ 1 kHz, 100 ms, 12 dB TC ≤ 0.007° rms @ 10 kHz, 100 ms, 12 dB TC
Phase Drift	< 0.05°/°C
Orthogonality	± 1°
Acquisition Time	1 s + 2 cycles max

Demodulator and Output Processing

Mode	Squarewave switching demodulator + HP/LP filters
------	--

Zero stability/Dynamic Reserve

Setting	Dynamic Reserve for signals within filter pass-band	Stability
High Reserve	46 dB	500 ppm/°C
Normal	26 dB	100 ppm/°C
High Stability	6 dB	40 ppm/°C

Output Filters

Time Constants	
Analog and Digital Outputs	
Fast Mode	300 μ s, 1 ms, 3 ms or 10 ms (316 μ V to 1 V FS sensitivity)
Normal Mode	30 ms, 100 ms, 300 ms or 1 s
Digital Outputs only	3 s and 10 s
Accuracy	±10%
Slope	6 dB/octave or 12 dB/octave
Offsets	±20% full-scale, X and/or Y

Outputs

Main Analog (X and Y) Outputs	
Amplitude	±1 V FS
Impedance	1 k Ω
Signal Monitor	10 V pk-pk maximum
Reference Output	
Waveform	0 to 5 V rectangular wave
Impedance	TTL-compatible

Interface

Type

RS232 via 9-pin D type plug, configured as a DTE device. Two ports are provided allowing up to fifteen model 5105/5106 or compatible instruments to be controlled from a single computer port

Parameters (fixed)

4800 baud, no parity, 8 data bits and 1 stop bit

Addressing

Rear panel rotary switch assigns a unique address to each instrument

Controls

Sensitivity, High and Low-Pass Filter settings, Dynamic Reserve, Reference Phase, Time Constant and Slope can all be set and read via RS232 command

Auto Functions

Auto-Phase and Auto-Offset

Data Transfer Rate

6 - 8 readings per second typical

Outputs

X and Y	Max count = ± 1200 ($\pm 1000 = \text{FS}$)
Magnitude	Max count = 1200 (1000 = FS)
Signal Phase	Max count = ± 1800 , corresponding to $\pm 180^\circ$
Ref Frequency	Response in millihertz

Software & RS232 Cable

A full applications package for PC compatible computer providing access to all instrument controls and outputs, and supporting up to 16 units, is supplied with each instrument. In addition, a LabVIEW driver software suitable for versions 4.01 and later of LabVIEW is available by download from our website at www.signalrecovery.com

The instrument is also compatible with the **SIGNAL RECOVERY** Acquire Lock-in Amplifier Applications software. A free demonstration version can be downloaded from the above website.

2 meter null-modem cable suitable for connecting the instrument to a 9-pin D-type RS232 plug on a PC computer also included.

Power Requirements

+18 V DC unregulated @ 300 mA -18 V DC unregulated @ 80 mA
A separate power supply (model PS0108) suitable for 110 V 60 Hz or 230 V 50 Hz operation is supplied with each model 5105 and available as an optional extra for each model 5106 instrument