

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ELETRÔNICA E SISTEMAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

WELLINGTON DOS SANTOS SOUZA

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE SISTEMAS
ESPECTROSCÓPICOS DE IMAGEM EXPLORANDO TELEFONES
MÓVEIS E RADIAÇÃO TERAHERTZ**

Recife

2018

WELLINGTON DOS SANTOS SOUZA

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE SISTEMAS
ESPECTROSCÓPICOS DE IMAGEM EXPLORANDO TELEFONES
MÓVEIS E RADIAÇÃO TERAHERTZ**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Elétrica.

Área de Concentração: Fotônica.

Orientador: Prof. Dr. Renato Evangelista de Araujo

Recife

2018

Catálogo na fonte
Bibliotecária Valdicéa Alves, CRB-4 / 1260

S729d Souza, Wellington dos Santos.
Desenvolvimento e aplicações de sistemas espectroscópicos de imagem explorando telefones moveis e radiação terahertz / Wellington dos Santos Souza - 2018.
91folhas, Il.; Abr. e Sigl.

Orientador: Prof. Dr. Renato Evangelista de Araújo

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, 2018.
Inclui Referências e Apêndices.

1. Engenharia Elétrica. 2. Espectroscopia optica. 3. Imagens opticas.
4. Smartphones. 5. THz. I. Araújo, Renato Evangelista de (Orientador).
II. Título.

UFPE

621.3 CDD (22. ed.)

BCTG/2018 - 493



Universidade Federal de Pernambuco
Pós-Graduação em Engenharia Elétrica

PARECER DA COMISSÃO EXAMINADORA DE DEFESA DE
TESE DE DOUTORADO DE

WELLINGTON DOS SANTOS SOUZA

TÍTULO

**“DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE SISTEMAS
ESPECTROSCÓPICOS DE IMAGEM EXPLORANDO
TELEFONES MÓVEIS E RADIAÇÃO TERAHERTZ”**

A comissão examinadora composta pelos professores: RENATO EVANGELISTA DE ARAUJO, DES/UFPE; JOAQUIM FERREIRA MARTINS FILHO, DES/UFPE; ANDERSON STEVENS LEONIDAS GOMES, DF/UFPE; SERGIO CAMPOLLO OLIVEIRA, POLI/UPE e ADRIANA FONTES, DBR/UFPE sob a presidência do primeiro, consideram o candidato **WELLINGTON DOS SANTOS SOUZA APROVADO.**

Recife, 30 de julho de 2018.

MARCELO CABRAL CAVALCANTI
Coordenador do PPGEE

RENATO EVANGELISTA DE ARAUJO
Orientador e Membro Titular Interno

ANDERSON STEVENS LEONIDAS GOMES
Membro Titular Externo

JOAQUIM FERREIRA MARTINS FILHO
Membro Titular Interno

ADRIANA FONTES
Membro Titular Externo

SERGIO CAMPOLLO OLIVEIRA
Membro Titular Externo

*Dedico este trabalho à Deus e
à toda minha família.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por tudo que ele tem feito em minha vida, por ser o meu refúgio e a minha fonte de sabedoria e forças para superar as dificuldades e seguir em frente, que toda honra e toda glória seja dada ao Senhor.

A minha esposa (Brunna Soares) pelo amor, amizade, força, carinho e compreensão que sempre recebi dela. Certamente sem o apoio incondicional dela eu não teria suportado as dificuldades e chegado até aqui. Agradeço aos meus pais (Manoel e Júlia) pelo apoio incondicional que sempre recebi deles e por sempre acreditarem no meu potencial. Aos meus irmãos (Uenilton e Emanuelle) pela amizade, por estarem comigo em momentos difíceis e por sempre compartilharem comigo o lado bom da vida.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da UFPE. Aos professores Adriana Fontes, Anderson Gomes, Sergio Campello e Joaquim Martins que aceitaram o convite para compor a banca examinadora da dissertação. Ao professor Renato de Evangelista de Araujo pela orientação durante o doutorado e pelas críticas construtivas que contribuíram para o meu crescimento acadêmico e, principalmente, na minha concepção de como fazer ciência.

Aos meus colegas da Pós-Graduação e do Laboratório de Óptica Biomédica e Imagens, em particular aos amigos Aguinaldo Nascimento, Carlos Eduardo, Caio, Carlos (Carlitos), Diógenes Moura, Dalton, Daniela, Daniel, Fábio, Gabrielli, José Neto, Sajid Farooq, Marcos e Wendell pelos estudos em grupo, pelas discussões acadêmicas e pelas brincadeiras nos corredores do Departamento de Engenharia, que tornaram o ambiente mais agradável e esses anos no doutorado menos cansativos. Por fim, agradeço a FACEPE pelo suporte financeiro concedido durante o período do doutorado.

RESUMO

Este trabalho tem por objetivo desenvolver e explorar técnicas de espectroscopia óptica por imagem, utilizando câmera de telefones móveis e espectroscopia na região do THz, para avaliação de sistemas biológicos. O desenvolvimento de plataformas espectroscópicas que exploram telefones celulares, podem contribuir para a democratização global de tecnologias para diagnóstico médico. Para isso, aqui é estabelecido um novo método para analisar cor relativa de um objeto, explorando câmeras de *smartphones* e eliminando o uso de calibradores de cores. O método espectrométrico proposto foi avaliado sob diversas condições de iluminação e usando diferentes telefones móveis. Imagens espectroscópicas da mucosa ocular de ratos e cães foram analisadas, com consequente determinação da concentração de hemoglobina presente no sangue desses animais. O método também foi utilizado para avaliar o processo de adsorção química de moléculas de Cisteamina em superfícies de nanopartículas de ouro. Os resultados mostram o potencial do uso de telefones móveis como instrumentos de imagens para avaliação espectroscópica de sistemas biomédicos, sem o uso de calibradores de cor. Além disso, foi desenvolvido um sistema para espectroscopia óptica explorando radiação Terahertz no Domínio do Tempo para avaliação de propriedades ópticas de diferentes estruturas de dentes humanos (dentina e esmalte). Na geração de imagens explorando radiação THz foi utilizado um conjunto de antenas fotocondutoras e um laser infravermelho com pulsos de femtossegundos. Além de imagens espectrais foram determinados, para diferentes estruturas de dente, o coeficiente de absorção e o índice de refração em função da frequência THz.

Palavras-chave: Espectroscopia óptica. Imagens ópticas. *Smartphones*. THz.

ABSTRACT

This work has to develop and explore techniques of optical spectroscopy by image, using mobile camera and spectroscopy in the THz region, for the evaluation of biological systems. The development of spectroscopic platforms that exploit cell phones can contribute to the global democratization of technologies for medical diagnosis. To do this, a new method is established here to analyze relative color of an object, exploring *smartphones* cameras and eliminating the use of color calibrators. The proposed spectrometric method was evaluated under different lighting conditions and using different mobile phones. Spectroscopic images of the ocular mucosa of rats and dogs were analyzed, with consequent determination of the concentration of hemoglobin present in the blood of these animals. The method was also used to evaluate the chemical adsorption process of Cysteamine molecules on gold nanoparticle surfaces. The results show the potential of using mobile phones as imaging instruments for the spectroscopic evaluation of biomedical systems, without the use of color calibrators. In addition, a system was developed for optical spectroscopy exploring Time-domain Terahertz radiation to evaluate the optical properties of different structures of human teeth (dentin and enamel). In the generation of images using THz radiation, a set of photoconductive antennas and an infrared laser with femtosecond pulses were used. In addition to spectral images, the absorption coefficient and the refractive index as a function of the THz frequency were determined for different tooth structures.

Keywords: Optical spectroscopy. Optical images. *Smartphones*. THz.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-----------|--|----|
| FIGURA 1 | – Cubo de dados de uma imagem Espectral | 14 |
| FIGURA 2 | – Processamento de cor em <i>smartphones</i> | 19 |
| FIGURA 3 | – Fluxograma | 21 |
| FIGURA 4 | – Padrão de cor | 22 |
| FIGURA 5 | – Calibrador de cor | 23 |
| FIGURA 6 | – Parâmetro de cor relativa (r) | 26 |
| FIGURA 7 | – Parâmetro de cor relativa (g) | 27 |
| FIGURA 8 | – Parâmetro de cor relativa (b) | 27 |
| FIGURA 9 | – Intensidade de cor relativa em função da fonte de luz | 29 |
| FIGURA 10 | – Espectro dos colóides com água, ouro e Cisteamina | 30 |
| FIGURA 11 | – Aplicativo Android para avaliar cor | 30 |
| FIGURA 12 | – Avaliação temporal da adsorção de Cisteamina | 31 |
| FIGURA 13 | – Espectro da reflectância de diferentes deciduos | 34 |
| FIGURA 14 | – Parâmetro de cor relativa para ratos | 37 |
| FIGURA 15 | – Hemoglobina em função do parâmetro de cor relativa (g) | 38 |
| FIGURA 16 | – Correlação entre os valores de Hemoglobina obtidos com o hemogramas e <i>smartphones</i> para os ratos | 39 |
| FIGURA 17 | – Mucosa ocular típica dos cães. | 39 |
| FIGURA 18 | – parâmetro de cor relativa para cães | 40 |
| FIGURA 19 | – Correlação entre os valores de Hemoglobina obtidos com o hemogramas e <i>smartphones</i> para os cães | 41 |
| FIGURA 20 | – Espectro eletromagnético exibindo a região do THz | 42 |
| FIGURA 21 | – Princípio básico de funcionamento das antenas PCA | 44 |
| FIGURA 22 | – Atraso temporal | 46 |
| FIGURA 23 | – Pulso do sinal THz | 47 |
| FIGURA 24 | – Pulso do sinal THz | 49 |
| FIGURA 25 | – Sistema para fatiamento dos dentes | 51 |
| FIGURA 26 | – Sistema THz para aquisição de imagem | 52 |
| FIGURA 27 | – Resolução do sistema | 53 |
| FIGURA 28 | – Resolução espacial do sistema | 54 |
| FIGURA 29 | – Pulso do sinal THz | 55 |
| FIGURA 30 | – Espectro no domínio da frequência | 56 |
| FIGURA 31 | – Estrutura dos dentes | 56 |
| FIGURA 32 | – Espectros do sinal THz da região da dentina | 57 |
| FIGURA 33 | – Espectros do sinal THz da região da dentina | 58 |
| FIGURA 34 | – Absorção da dentina | 59 |
| FIGURA 35 | – Espectros do sinal THz da região da dentina com cárie | 60 |
| FIGURA 36 | – Espectros do sinal THz da região do esmalte | 61 |
| FIGURA 37 | – Espectros do sinal THz da região do esmalte | 61 |
| FIGURA 38 | – Imagem do fio obtida usando o sistema para espectroscopia THz | 62 |
| FIGURA 39 | – Interação da luz com a matéria | 74 |
| FIGURA 40 | – Espectro de absorção da hemoglobina | 77 |

| | | | |
|-----------|---|--|----|
| FIGURA 41 | – | Percepção de cor | 78 |
| FIGURA 42 | – | Estimulo de cor | 78 |
| FIGURA 43 | – | Sensibilidade espectral dos cones | 79 |
| FIGURA 44 | – | Sensibilidade espectral dos cones | 80 |
| FIGURA 45 | – | Diagrama de cromaticidade CIE-1931 | 82 |
| FIGURA 46 | – | Diagrama de cromaticidade CIE-1931 | 83 |
| FIGURA 47 | – | Intrumentos para medir cor | 84 |
| FIGURA 48 | – | Filtros de Layer | 84 |
| FIGURA 49 | – | Imagem multiespectral | 86 |
| FIGURA 50 | – | Sensibilidade espectral de câmeras | 87 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------|--|
| THz | TeraHertz |
| THz-TD | TeraHertz no domínio do tempo |
| CCD | Charge-coupled device (Dispositivo de Carga Acoplada) |
| RGB | Red, Green and Blue (Vermelho, Verde e Azul) |
| LED | Light Emitting Diode (Diodo Emissor de Luz) |
| PNG | Portable Network Graphics (Gráficos Portáteis de Rede) |
| CIE | Portable Network Graphics |
| FWHM | Full width at half maximum (Largura à Meia Altura) |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| GaAS | Arseneto de Gálio |
| <i>InGaAS</i> | Arseneto de Gálio – Índio |
| TD | Domínio do Tempo |
| FD | Domínio da frequência |
| PCA | Photoconductive Antenna (Antena Fotocondutiva) |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 | MÉTODO PARA ANÁLISE DA INTENSIDADE DE COR RELATIVA EXPLORANDO SMARTPHONES | 17 |
| 2.1 | AVALIAÇÃO COLORIMÉTRICA EXPLORANDO <i>SMARTPHONES</i> ... | 17 |
| 2.2 | MATERIAIS E MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DE COR RELATIVA | 19 |
| 2.2.1 | Avaliação de cor usando <i>smartphones</i> | 19 |
| 2.2.2 | Programa para avaliar intensidade de cor relativa | 20 |
| 2.2.3 | Medições espectroscópicas usando <i>smartphones</i> | 22 |
| 2.3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 23 |
| 2.3.1 | Avaliação da intensidade de cor relativa usando diferentes <i>smartphones</i> .. | 23 |
| 2.3.2 | Avaliação de regiões com diferentes tons de cores usando <i>smartphones</i> | 26 |
| 2.3.3 | Parâmetro de cor relativa em função da fonte de iluminação | 28 |
| 2.3.4 | Avaliação da adsorção química de moléculas de Cisteamina em superfícies de nanopartículas de ouro | 29 |
| 2.4 | CONCLUSÃO | 32 |
| 3 | AVALIAÇÃO IN-VIVO DE CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA EXPLORANDO ESPECTROSCOPIA POR IMAGEM | 33 |
| 3.1 | AVALIAÇÃO NÃO-INVASIVA DO NÍVEL DE ANEMIA | 33 |
| 3.2 | MATERIAS E MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE ANEMIA EXPLORANDO <i>SMARTPHONES</i> | 35 |
| 3.2.1 | Indução e análise de anemia aguda em ratos <i>Wister</i> | 35 |
| 3.2.2 | Análise clínica de anemia em cães | 35 |
| 3.2.3 | Aquisição de imagem e avaliação de cor | 36 |
| 3.3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 36 |
| 3.3.1 | Análise de anemia em ratos | 37 |
| 3.3.2 | Análise de anemia em cães | 39 |
| 3.4 | CONCLUSÃO | 41 |
| 4 | ESPECTROSCOPIA THZ NO DOMÍNIO DO TEMPO PARA AVALIAÇÃO DE SISTEMAS BIOMÉDICOS | 42 |
| 4.1 | THZ E BIOLOGIA | 43 |
| 4.2 | GERAÇÃO E DETECÇÃO DO SINAL THZ USANDO ANTENAS PCA | 44 |
| 4.2.1 | Geração do pulso Terahertz | 44 |
| 4.2.2 | Detecção do sinal THz | 45 |
| 4.3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 46 |
| 4.3.1 | Sistema THz para espectroscopia no domínio do tempo | 46 |
| 4.3.2 | Estimativa dos parâmetros físicos das amostras analisadas | 47 |
| 4.3.3 | Seleção e preparação das amostras analisadas | 50 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4.3.4 | Sistema para aquisição de imagem utilizando espectroscopia THz | 51 |
| 4.4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 54 |
| 4.4.1 | Características de pulso THz | 54 |
| 4.4.2 | Espectroscopia THz no domínio da frequência | 55 |
| 4.4.3 | Avaliação de estruturas dentárias usando espectroscopia THz | 56 |
| 4.4.3.1 | Caracterização da dentina | 57 |
| 4.4.3.2 | Caracterização da região do esmalte | 60 |
| 4.4.4 | Aquisição de imagem utilizando espectroscopia THz | 62 |
| 4.5 | CONCLUSÃO | 62 |
| 5 | CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS | 63 |
| | REFERÊNCIAS | 66 |
| | Apêndice A – INTRODUÇÃO AO ESTUDO DA COLORIMETRIA | 74 |
| | Apêndice B – CÓDIGO PARA AVALIAR INTENSIDADE DE COR RELATIVA ... | 90 |

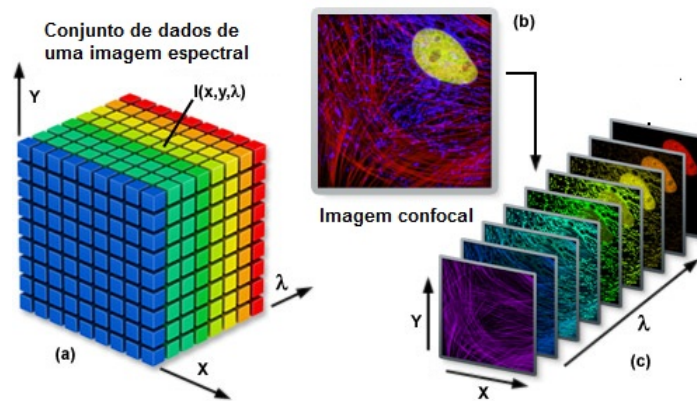
1 INTRODUÇÃO

O termo espectroscopia foi usado pela primeira vez no ano de 1666 quando Isaac Newton demonstrou que a luz branca dispersa em diferentes cores ao passar por um prisma [1]. Newton explicou que as cores não eram do prisma, como acreditava-se desde a antiguidade, mas correspondiam à decomposição das componentes da luz solar. Um marco importante e que contribuiu para o desenvolvimento da espectroscopia, foi a observação da existência de linhas escuras no espectro da luz solar pelo inglês William Hyde Wollaston em 1802 [2]. Cerca de 20 anos mais tarde, o físico alemão Joseph Von Fraunhofer redescobriu tais linhas escuras enquanto verificava a qualidade dos componentes ópticos que produzia em sua oficina [2]. Fraunhofer percebeu que as linhas espectrais eram melhor resolvidas usando um elemento difrator. Foi ele também quem construiu as primeiras redes de difração com as quais mediu os comprimentos de onda de cores específicas e das linhas escuras do espectro solar. Em 1859 Kirchhoff mostrou que todas as substâncias puras têm espectros característicos, sendo um dos idealizadores de um novo instrumento denominado espectroscópio. Os avanços nessa área possibilitaram a descoberta dos elementos Césio (Cs) e Rubídio (Rb).

Desde então diversas técnicas, métodos e instrumentos foram desenvolvidos com o objetivo de ampliar e melhorar o uso da espectroscopia em diversas áreas. São vários os exemplos de aplicações envolvendo a interação da luz com a matéria para análise das propriedades físicas e químicas de substâncias que a constitui. Por exemplo, técnicas de caracterização óptica podem ser classificadas em duas categorias: (i) espectroscopia e (ii) imagens ópticas [3]. Na primeira modalidade, espectro de absorção/transmissão/espalhamento/fluorescência de uma região específica do material em análise é obtido, sendo por isso, muitas vezes conhecido como método de medição pontual. As técnicas de imagens ópticas, por outro lado, proporcionam um mapeamento da região de análise, fornecendo uma imagem bidimensional (2D ou 3D) da estrutura em análise. A combinação dessas duas modalidades para diagnóstico fotônico é conhecida como imagem multiespectral ou imagem hiperespectral.

Uma imagem multiespectral apresenta um mapeamento (características espaciais) com informações espectrais para cada ponto da imagem (pixel). A informação multiespectral é muitas vezes apresentada como um "cubo de dados" [3]. Isso pode ser entendido como uma pilha de imagens (de dezenas à centenas), com cada imagem sucessiva apresentando uma banda espectral específica, ou equivalentemente, como uma curva espectral para cada pixel. Um exemplo de um "cubo de dados" hiperespectral é mostrado na Figura 1, com duas dimensões no espaço (x e y) e uma dimensão correspondente ao comprimento de onda (λ). Este tipo de imagem é obtida usando a combinação entre técnicas de espectroscopia óptica e o uso de métodos ou dispositivos de imagens, como por exemplo uma câmera CCD.

Figura 1: (a) Cubo de dados referente à uma imagem espectral;(b) Imagem obtida no plano xy para um comprimento de onda específico;(c) Para cada valor de λ pode-se obter uma imagem no plano xy correspondente.



Fonte: Adaptado de [1].

Imagens espectrais são exploradas em diversas áreas como nas indústrias farmacêuticas [5, 6], nas indústrias alimentícias [7], em ciência forense [8], na nanotecnologia [9] e em ciências biológicas e biomédicas [3, 10, 11]. Nessas áreas, utilizam-se diferentes técnicas espectrais como: a espectroscopia de fluorescência [12], a espectroscopia de absorção [13], a espectroscopia Raman [14] e espectroscopia Terahertz [15]. Em particular, os avanços tecnológicos nas últimas décadas, como por exemplo o desenvolvimento de lasers com pulsos de duração ultracurtos, o uso da radiação THz para espectroscopia no domínio do tempo vem ganhado destaque na literatura atual [16, 17]. A espectroscopia no domínio do tempo na região do THz é de extrema importância na avaliação de sistemas biológicos, por apresentar alta sensibilidade na detecção de propriedades como concentração de água, ligações de hidrogênio e estrutura molecular de sistemas biológicos [18]. A técnica de imagem multiespectral exige o uso de instrumentos ou equipamentos específico para cada tipo de análise. Frequentemente

imagens multiespectrais são obtidas usando dispositivos sofisticados, como microscópios ou espectrômetros, que são geralmente instrumentos pesados e caros, e que exigem especialistas capacitados ou técnicos para operar. Todavia, o acesso a esses instrumentos para avaliação espectroscópica é dificultado em países em desenvolvimento e nas regiões menos desenvolvidas do mundo, pois nem os dispositivos necessários e/ou o conhecimento para manusear tais aparelhos são acessíveis.

Neste contexto, o uso de telefones móveis como instrumentos para avaliação por imagens ópticas vem ganhando destaque ao longo dos últimos anos, proporcionando soluções rápidas, econômicas e precisas [19, 20]. Os avanços tecnológicos das últimas décadas, possibilitaram maiores recursos e poder de processamento aos telefones móveis [21]. Atualmente, um número crescente de aparelhos eletrônicos, como *smartphones*, tem pelo menos um sensor de câmera integrado com alta resolução, geralmente acima 3 Mpixels, com autofoco e zoom digital, processador de alto desempenho e com baixo consumo de energia e sistemas operacionais sofisticados, normalmente oferecendo suporte na plataforma JAVA e com opções para instalação e execução de aplicativos desenvolvidos. Com o desenvolvimento de sensores mais sofisticados em *smartphones*, o uso de telefones móveis como dispositivo de medição tornou-se mais acentuado [22]. Nos últimos anos, instituições de pesquisa e empresas comerciais desenvolveram aplicativos para *smartphones* que vão desde assistência pessoal a cuidados de saúde e diagnóstico médico. Este trabalho teve por objetivo desenvolver e explorar técnicas de imagem espectrais utilizando câmera de telefones móveis e radiação THz, para avaliação de sistemas biológicos. Para tal, as seguintes metas foram estabelecidas:

1. Desenvolver e avaliar um novo método auto-referenciado de imagem multiespectral explorando câmeras de telefones móveis.
2. Explorar método auto-referenciado de imagem multiespectral para a avaliação de sistemas biológicos. Neste caso, foram avaliadas imagens da mucosa ocular de ratos e cães, com consequente determinação da concentração de hemoglobina (Hb) dos animais estudados.
3. Desenvolver um sistema de imagem multiespectral baseado na geração e detecção de radiação de THz.
4. Explorar sistema de imagem multiespectral em THz para a avaliação de sistemas biológicos. Neste caso, foram exploradas diferentes estruturas de dentes humanos (dentina, esmalte e estruturas dentárias com cárie).

A presente tese está organizada em 5 capítulos. No Capítulo 2 é apresentado um novo método para avaliar cores explorando câmeras de telefones móveis, sem o uso de calibradores de cor. Foram avaliadas imagens com cores de diferentes tonalidades, usando 4 tipos de telefones móveis e sob diferentes iluminações. Além disso, o potencial do método é demonstrado pela análise do processo de adsorção química de moléculas de Cisteamina em superfícies de nanopartículas de ouro. No Capítulo 3 é apresentado o uso do método auto-referenciado de imagem multiespectral para estimar a concentração de hemoglobina presente no sangue de ratos Wister submetidos a anemia aguda. A concentração de hemoglobina em cães, saudáveis e anêmicos, também foi determinada pela técnica de avaliação espectral em imagem. No Capítulo 4 é descrito o sistema experimental desenvolvido para obtenção de imagens multiespectrais de sistemas biológicos usando espectroscopia de THz no domínio do tempo. Nesse capítulo também é descrito o uso da técnica para a determinação do coeficiente de absorção e o índice de refração de dentes humanos sob diversas condições (saúdáveis, com cárie, úmidos e desidratados). No Capítulo 5 são apresentadas as conclusões e as perspectivas futuras, destacando as aplicações do método auto-referenciado proposto e do sistema construído para espectroscopia THz no domínio do tempo.

2 MÉTODO PARA ANÁLISE DA INTENSIDADE DE COR RELATIVA EXPLORANDO SMARTPHONES

Neste capítulo será discutido um novo método para avaliação da intensidade de cor relativa explorando câmeras de *smartphones*. Será apresentada uma breve introdução sobre avaliações colorimétricas e as diversas aplicações que podem ser exploradas, bem como as limitações na avaliação de cor usando telefones móveis. Além disso, serão apresentados e discutidos os procedimentos experimentais e a instrumentação desenvolvida para avaliação da intensidade de cor relativa usando diferentes *smartphones*.

2.1 AVALIAÇÃO COLORIMÉTRICA EXPLORANDO SMARTPHONES

Testes colorimétricos têm sido amplamente utilizados em diversas aplicações como controle industrial [23], imunoenaios [24], indústria de alimentos [25], avaliação da qualidade da água [26]. Em geral, as avaliações de cores são realizadas por meio da exploração de técnicas de espectroscopia de reflexão, transmissão ou absorção, que podem exigir dispositivos caros, iluminação controlada e o uso de calibradores de cor para obter valores dos canais de cores (RGB) mais precisos. No entanto, há várias aplicações que exigem avaliação de cor em um ambiente de iluminação não controlada e sem objeto de cor de referência calibrado. Nesse contexto, os telefones celulares poderiam ser explorados na análise colorimétrica. Diversas aplicações para telefones móveis (Apps) estão disponíveis para realizar uma avaliação aproximada das cores de objetos, como o Catch Color Free (desenvolvido pela CeSnow) [27], o Color Grab (da Loomatix) [28], o LifeDropper (da Bitjutsu Software) [29].

No entanto, a análise de cores de um objeto usando telefones celulares e aplicativos distintos leva a resultados diferentes [30]. A popularização dos telefones celulares e o aprimoramento de seus componentes permitiram a implementação de diferentes técnicas de análise espectroscópica em diversas áreas, como ciências forenses [31], biotecnologia [32,33] e ciências da vida [34]. Os colorímetros baseados em telefones celulares podem ser classificados como 1) aplicativos com componentes de hardware e 2) dispositivos autônomos [35]. Os sistemas colorimétricos classificados nesta primeira categoria exigem aparelhos externos

específicos para cada dispositivo, como fontes de luz LED alimentadas por uma bateria para manter a iluminação constante. Esses tipos de sistemas têm como principal vantagem o controle da luz ambiente, o que possibilita o monitoramento contínuo das mudanças de cor de uma determinada amostra. Como exemplo, leitores colorimétricos baseados em telefones móveis para ensaios imunoenzimáticos (ELISA) foram recentemente desenvolvidos, exigindo o uso de plataforma mecânica e configuração de iluminação [36,37].

A necessidade de aparato externo pode limitar o uso do sistema móvel (primeira categoria). Por outro lado, os dispositivos autônomos têm a vantagem de não precisarem de aparato externo. Além disso, eles geralmente exploram um algoritmo de correção para minimizar a condição de luz variável. Colorímetros móveis com um aplicativo independente projetado para processar informações de cores são uma excelente alternativa de baixo custo para várias aplicações espectrométricas. Diversas aplicações de sistemas colorimétricos autônomos são descritas na literatura, tais como: quantificar as concentrações de pH, glicose e proteína [38]; avaliar a presença de albumina na urina [39]; monitorar a concentração de cloro e o pH na água [40, 41]; e estimar o nível de hemoglobina presente no sangue [42]. Normalmente, para estabelecer uma análise de cores precisa com dispositivos de telefonia móvel autônomos são necessários procedimentos de calibração. Para superar essa limitação, a determinação do valor de cor absoluto de um objeto pode ser ignorada e um valor de cor relativo determinado [32, 40, 41, 43]. No entanto, além das restrições relativas ao tipo de iluminação do ambiente, diferentes sistemas (hardware) de imagem e configuração de aquisição de telefones celulares podem levar à limitações na precisão da análise de cores.

Neste trabalho, estabelecemos uma nova abordagem para avaliação de cores baseada em imagens de telefones móveis. Um algoritmo para determinar os valores da intensidade de cor relativa de uma imagem é proposto. O método para avaliação de cor relativa autônomo foi avaliado explorando quatro telefones celulares distintos e diferentes condições de iluminação. A capacidade de distinguir diferentes cores ou tons de cores explorando a técnica espectrométrica de auto-referência também é avaliada. Além disso, o uso potencial do método é demonstrado considerando o processo de adsorção química de moléculas de cisteamina em superfícies de nanopartículas de ouro.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DA INTESIDADE COR RELATIVA

2.2.1 AVALIAÇÃO DE COR USANDO *SMARTPHONES*

Câmeras digitais, dentre outros dispositivos, produzem ou capturam imagens de forma específica. Os valores numéricos dos canais de cor RGB são características de cada dispositivo, já que todos eles possuem seu próprio espaço de cor. Dessa maneira, os valores numéricos das coordenadas tricromáticas são dependentes do dispositivo (no apêndice A é discutido o processamento de imagens digitais coloridas utilizando *smartphones*). A Figura 2 mostra um esquema básico da reprodução de cor por uma câmera digital.

Figura 2: Representação básica do processamento de cor em *smartphones*.



Fonte: Wellington, 2018.

A câmera digital converte a cor de entrada (C) para uma cor de saída (C'), de modo que $C' = C^\gamma$ [44, 45], ou :

$$R' = R^{\gamma_R} \quad (1)$$

$$G' = G^{\gamma_G} \quad (2)$$

$$B' = B^{\gamma_B} \quad (3)$$

sendo γ_R , γ_G e γ_B os fatores gama de correção dos canais de cor R, G e B, respectivamente, que depende de cada dispositivo. Se dois ou mais celulares tiverem aproximadamente o mesmo valor de γ , a percepção de cor na saída para esses dispositivos será semelhante. No entanto, se γ for diferente, os valores de saída da cor mensurada serão distintos. Como estratégia para minimizar as diferenças dos resultados nas medições com diferentes dispositivos pode-se eliminar a contribuição do fator γ da informação espectroscópica. Para

isso, considera-se R'_r , G'_r e B'_r as coordenadas RGB de uma região de referência e R'_i , G'_i e B'_i as coordenadas RGB de uma região de interesse de uma mesma imagem. Da Equação 1, pode-se escrever as seguintes relações para o canal de cor R da região de interesse e da região de referência.

$$\ln(R'_i) = \gamma_R \ln(R_i) \quad (4)$$

$$\ln(R'_r) = \gamma_R \ln(R_r) \quad (5)$$

Sendo essas regiões parte da mesma imagem, o fator de aumento γ_R é o mesmo para ambas as áreas (de interesse e de referência). Logo, dividindo a Equação 4 pela Equação 5 obtém-se:

$$\frac{\ln(R'_i)}{\ln(R'_r)} = \frac{\ln(R_i)}{\ln(R_r)} = r \quad (6)$$

A Equação 6 mostra que a razão do logaritmo das coordenadas de saída da região de interesse em relação a região de referência é igual a razão do logaritmo das coordenadas de entrada da região de interesse em relação a região de referência. Definimos o parâmetro r como sendo a intensidade de cor relativa para o canal de R e que independe do fator γ_R do dispositivo. É evidente que, o método não determina a cor da região de interesse, mas se estabelece uma intensidade de cor relativa que mede o quanto o canal de cor da região de interesse é maior ou menor que a região de referência. Analogamente para os demais canais de cor, tem-se:

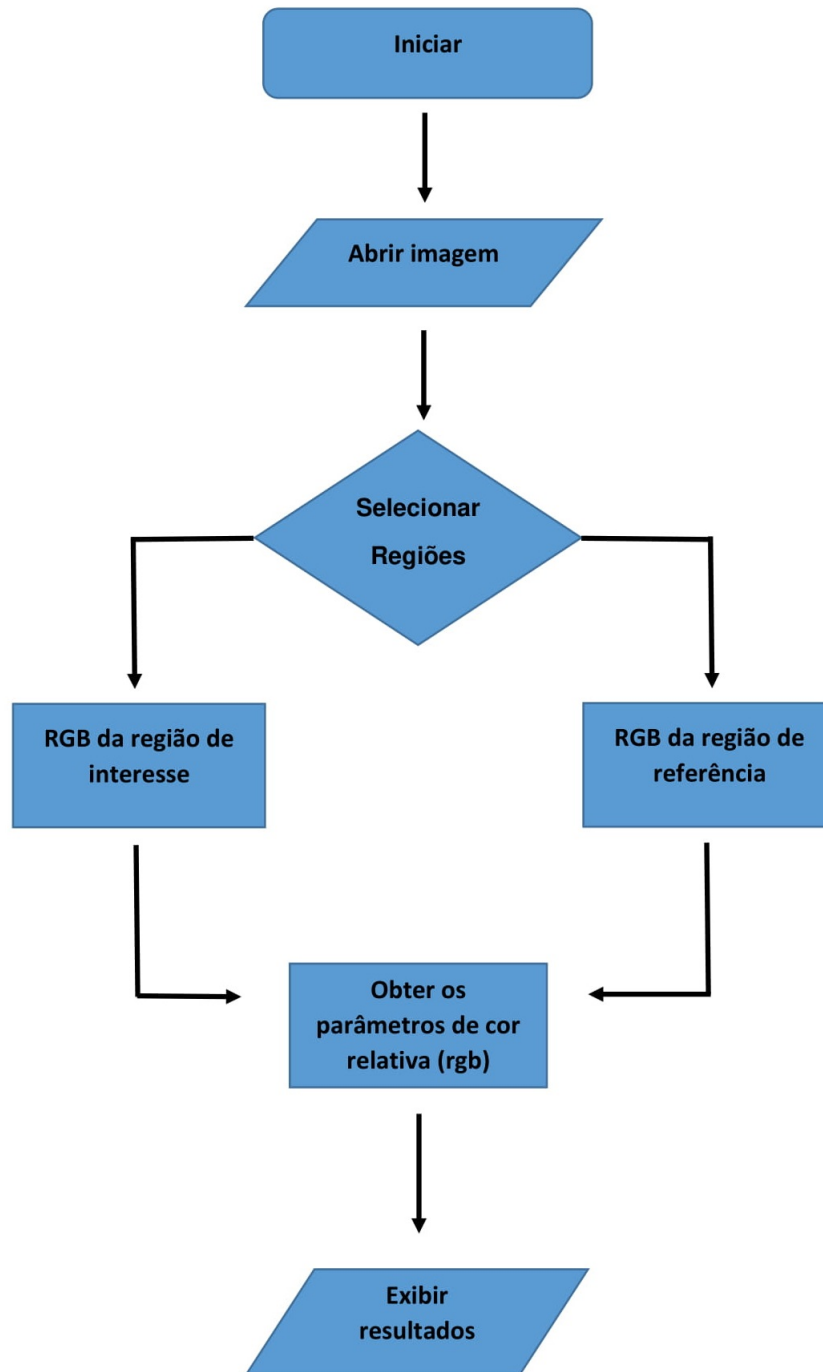
$$\frac{\ln(G'_i)}{\ln(G'_r)} = \frac{\ln(G_i)}{\ln(G_r)} = g \quad (7)$$

$$\frac{\ln(B'_i)}{\ln(B'_r)} = \frac{\ln(B_i)}{\ln(B_r)} = b \quad (8)$$

2.2.2 PROGRAMA PARA AVALIAR INTENSIDADE DE COR RELATIVA

Inicialmente um código foi escrito na linguagem Matlab para determinar a intensidade de cor relativa entre duas regiões (o código base é descrito no apêndice B). Basicamente, o que o código escrito faz é comparar duas áreas diferentes da imagem de entrada (sendo uma a região de referência e outra a região de interesse), calculando a intensidade de cor relativa utilizando as Equações 6, 7 e 8. A Figura 3 mostra um esquema básico do fluxograma do programa utilizado.

Figura 3: Fluxograma que representa programa utilizado.



Fonte: Wellington, 2018.

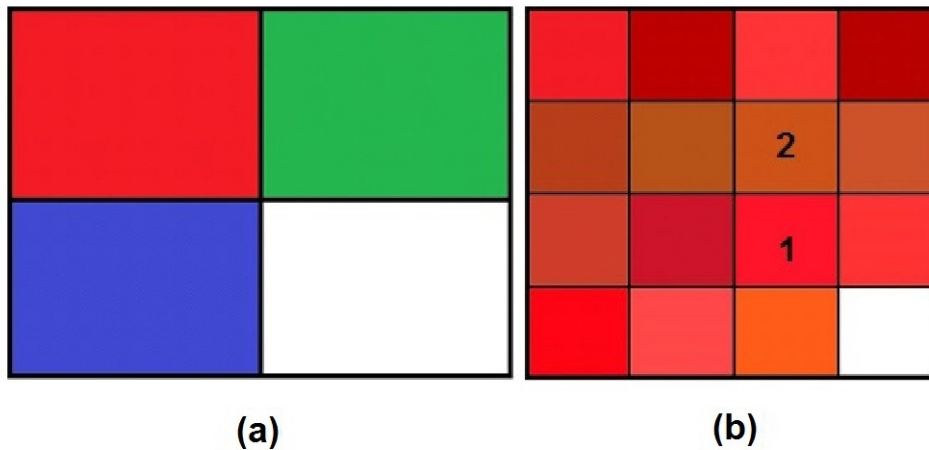
A área selecionada é representada por uma matriz de pixels no código em Matlab. Cada elemento da matriz refere-se a um pixel da região escolhida e para cada pixel atribui-se um valor para os canais de cor R, G e B no espaço de cor RGB. O valor médio das coordenadas RGB para a região selecionada é obtido através do cálculo da média global dos valores R, G e B de cada pixel da região. Com os valores desses canais de cor conhecidos, pode-se então determinar

os parâmetros de cor relativa r , g e b . Posteriormente o código escrito na linguagem Matlab foi transcrito para a linguagem JAVA. Em seguida, um aplicativo Android (App) foi programado na plataforma Android Studio para avaliar a cor relativa de acordo com as equações (Equação 6, 7 e 8) entre duas regiões diferentes da mesma imagem. As imagens capturadas usando o aplicativo foram salvas no formato PNG. O aplicativo para *smartphones* desenvolvido possui uma interface intuitiva, capacidade de ampliar as imagens e analisar imagens tiradas por outros dispositivos (armazenados no telefone móvel).

2.2.3 MEDIÇÕES ESPECTROSCÓPICAS USANDO SMARTPHONES

Para avaliar e comparar os diferentes métodos de cor relativa usados na literatura atual com o método proposto na seção 2.2.1 desta tese, quatro padrões de cores foram construídos, como apresentado nas Figuras 4 e 5. O padrão de cor da Figura 4(a) mostra quatro regiões com cores distintas (vermelho, verde, azul e branco), enquanto que o padrão de cor da Figura 4(b) apresenta regiões com diferentes tonalidades de vermelho.

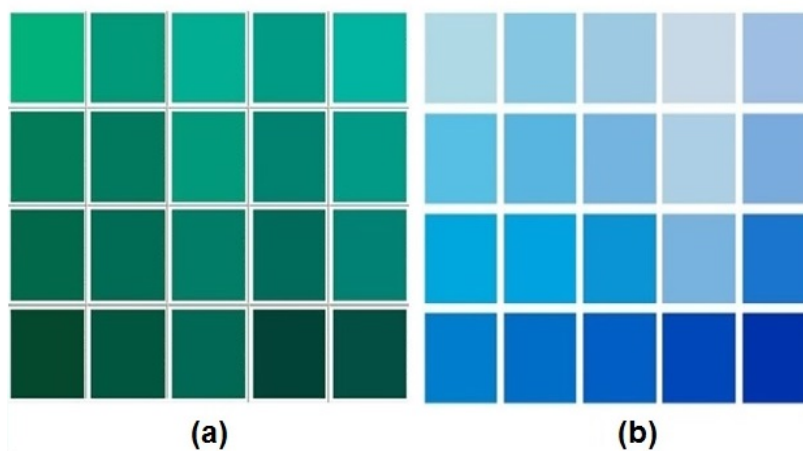
Figura 4: Padrão de cor utilizado para avaliação de cor usando diferentes smartphones.



Fonte: Wellington, 2018.

Já a Figura 5 mostra padrões de cores com diferentes tons de verde e azul. Todas as regiões dos padrões de cores foram avaliadas usando um colorímetro CR-400 da Konica Minolta. O colorímetro CR-400 fornece informações de cor no espaço XYZ-CIE sendo necessário converter esses valores para o espaço de cores RGB. Para isso, um código em Matlab foi elaborado (considerando o iluminante padrão D65 [105]). Imagens dos padrões de cores foram obtidas usando 4 diferentes *smartphones* (CP1: LG OptimusL3; CP2: iPhone 4s; CP3: Samsung Galaxy J3; CP4: Microsoft Lumia 640) e sob diferentes condições de iluminação.

Figura 5: Calibrador de cor: (a) regiões com diferentes tons de verde; (b) regiões com diferentes tons de azul.



Fonte: Wellington, 2018.

O dispositivo CP1 possui sistema operacional Android, câmera de 3,1 MP e resolução de imagem de 2048x1533 pixels. CP2 tem sistema operacional iOS 9, câmera de 8MP e resolução de imagem de 3264x2448 pixels. O telefone CP3 possui sistema operacional Android, câmera de 8MP e resolução de imagem de 3264x2448 pixels. Por fim, o CP4 executa a plataforma Windows Phone 8.1, câmera de 8 MP e resolução de imagem de 1280x721 pixels.

Apesar dessas diferenças, as imagens coloridas registradas por todos dispositivos são do tipo TrueColor, o que significa que cada pixel da imagem RGB possui informações de cor de 24 bits. Portanto, cada um dos componentes de três cores (vermelho, verde, azul) tem um valor entre 0 e 255 (8 bits). As fotos foram tiradas sem flash e a aproximadamente 30 cm do alvo. O foco automático também foi explorado no procedimento de captura de imagens. O procedimento de avaliação de cores também foi explorado na análise de absorção de moléculas em nanopartículas metálicas. Adicionou-se 0,01 g de Cisteamina, da Sigma-Aldrich, a 1,3 mL de uma solução coloidal de ouro, com nanoesferas de 50 nm, da Sigma-Aldrich. Fotografias do colóide foram tomadas antes e após a adição de cisteamina. Os espectros de absorção do coloide também foram obtidos usando um espectrômetro (USB 2000 Ocean Optics).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.3.1 AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DE COR RELATIVA USANDO DIFERENTES SMARTPHONES

Na avaliação da intensidade de cor relativa foram comparados os valores de saída dos parâmetros RGB obtidos por diferentes *smartphones* com os valores mensurados pelo

colorímetro. Para isso, considerou-se o padrão de cor da Figura 4(a) e registrou-se imagens usando os quatro telefones celulares disponíveis para o estudo. Além disso, as imagens foram obtidas sob a mesma condição de iluminação (sob luz fluorescente, com 200 Lux) e as avaliações de cor foram realizadas em uma área de 80 x 80 pixels.

A Tabela 1 apresenta os canais de cor (R, G e B) para as regiões vermelha, verde e azul. Estes valores foram obtidos usando o colorímetro e os quatro *smartphones*. Os resultados mostraram diferenças significativas nos valores dos parâmetros RGB medidos pelos *smartphones* quando comparados aos resultados fornecidos pelo colorímetro. Os valores médios RGB dos telefones celulares e os respectivos desvios padrões foram obtidos através da análise de 16 imagens (4 fotos de 4 telefones celulares). Discrepâncias entre os valores RGB obtidos pelos telefones e pelo colorímetro são esperadas. Isso se deve pelo fato que o colorímetro consiste de um sistema espectroscópico calibrado, que explora uma fonte de luz interna com características ópticas bem definidas.

Tabela 1: Avaliação dos componentes RGB de regiões de cores (vermelho, verde e azul) usando colorímetro e telefones móveis.

| | Região vermelha | | | Região verde | | | Região azul | | |
|--------------------|-----------------|-------|-------|--------------|--------|-------|-------------|-------|--------|
| Colorímetro | R | G | B | R | G | B | R | G | B |
| Média | 27,38 | 19,93 | 14,47 | 19,47 | 27,43 | 17,92 | 16,38 | 14,96 | 14,51 |
| D. relativo (%) | 0,11 | 0,16 | 0,32 | 0,35 | 0,23 | 0,59 | 0,22 | 0,23 | 0,15 |
| | Região vermelha | | | Região verde | | | Região azul | | |
| <i>smartphones</i> | R | G | B | R | G | B | R | G | B |
| Média | 147,72 | 69,15 | 74,17 | 73,52 | 125,08 | 77,43 | 45,57 | 64,21 | 139,44 |
| D. relativo (%) | 11,38 | 16,40 | 12,30 | 19,34 | 12,41 | 14,83 | 28,34 | 13,35 | 5,70 |

Fonte: Wellington, 2018.

Já os *smartphones*, além de não terem esse controle da iluminação externa, apresentam diferentes sensores, o que pode ocasionar diferenças nos valores de cor mensurados. Conforme mostrado na Tabela 1, as variações no valor RGB obtidas a partir das imagens de telefones celulares atingiram um desvio relativo entre 5% e 28%. Além disso, observa-se que os menores desvios relativos mensurados pelos *smartphones* ocorreram para a componente R da área de cor vermelha, para a componente G da área verde e para a componente B da área azul, com valores em torno de 11,38%, 12,41% e 5,70%, respectivamente. É bem conhecido da literatura que a avaliação de cores por telefones móveis distintos leva a uma diferença significativa de valores de cor [32]. Os valores de cores obtidos de uma imagem adquirida são influenciados pela iluminação ambiente e pelos filtros de cor da câmera [48].

Para reduzir essa limitação, a determinação do valor de cor absoluto de um objeto pode ser abandonada e um valor de cor relativo determinado. Na referência [49] Punkaj e

colaboradores estabeleceram um método para avaliar a cor relativa, com base nas diferenças de componentes RGB no espaço de cores RGB. Na análise de cores com telefones celulares observada na referência [40], Yestisen e colaboradores exploraram o espaço de cromaticidade 2D (x, y) CIE 1931, definindo uma distância de cor como $\sqrt{(x_i - x_r)^2 + (y_i - y_r)^2}$, onde x e y são os valores de cromaticidade obtidos pela normalização dos valores RGB de uma região de interesse (i) e de uma região de referência (r). Já na referência [42] Sumriddetchkajorn e colaboradores analisaram as cores definindo uma razão de cor específica como $\left(\frac{R_i}{R_r} + \frac{G_i}{G_r} + \frac{B_i}{B_r}\right)$. As medições apresentadas nas referências [32, 37, 42, 46, 47] foram realizadas utilizando um único telefone móvel. Com base nas referências [40, 42, 49] e na Equação 6, os valores de $|R_i - R_r|$, $\frac{R_i}{R_r}$, $|x_i - x_r|$ e r foram determinados. A cromaticidade x, utilizada para o cálculo da distância da cor relativa $|x_i - x_r|$, foi definida como $x = \frac{R}{(R+G+B)}$. Para isso, a área vermelha da Figura 4(a) foi definida como a região de interesse (i) e a área branca foi estabelecida como a região de referência (r). Os métodos também foram avaliados usando as componentes de cores G e B.

A Tabela 2 mostra os valores médios de intensidade de cor relativa para cada canal de cor e os desvios padrão obtidos usando todos os quatro telefones celulares. Pode-se observar que os valores relativos de cor (r, g, b), obtidos pelo método proposto, apresentam o menor desvio padrão (cerca de 2%, 3% e 3,5%, respectivamente), indicando que o procedimento proposto apresenta uma fraca dependência com telefone móvel usado. Os resultados apresentados na Tabela 2 indicam que o método de auto-referência para avaliação de cores baseado nas Equações 6, 7 e 8 reduz as discrepâncias dos valores de cores de saída dos telefones celulares.

Tabela 2: Avaliação dos parâmetros de cor relativa da região vermelha em relação à região branca usando diferentes telefones móveis.

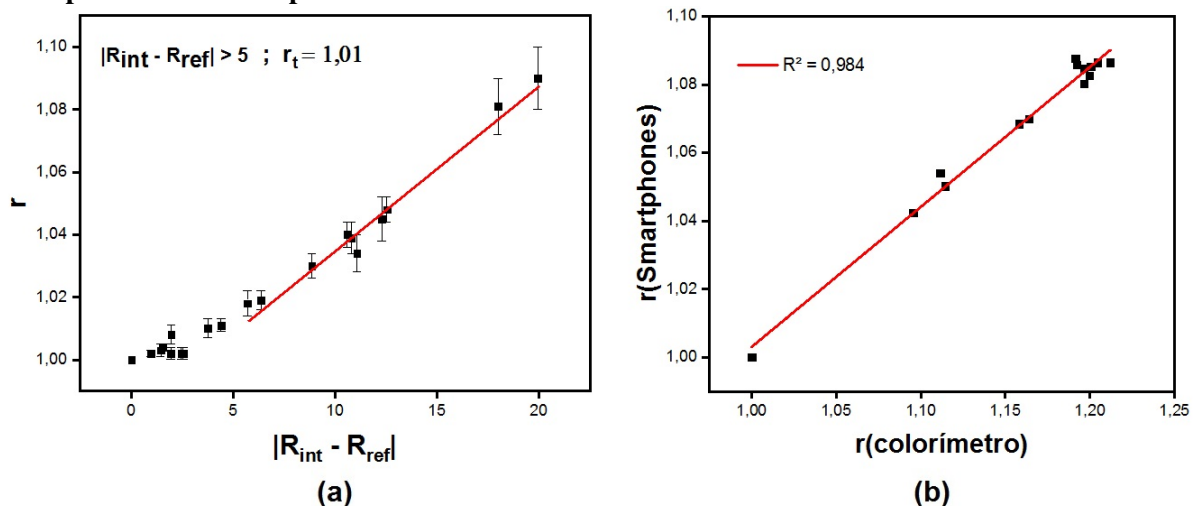
| Cor relativa | smartphone | Desvio relativo (%) |
|---------------|------------|---------------------|
| $ R_i - R_r $ | 48,90 | 37,99 |
| R_i/R_r | 0,75 | 9,72 |
| $ x_i - x_r $ | 0,18 | 10,06 |
| r | 1,06 | 1,93 |
| $ G_i - G_r $ | 127,32 | 16,53 |
| G_i/G_r | 0,35 | 14,86 |
| $ y_i - y_r $ | 0,09 | 11,11 |
| g | 1,25 | 3,2 |
| $ B_i - B_r $ | 134,35 | 23,08 |
| B_i/B_r | 0,36 | 15,83 |
| $ z_i - z_r $ | 0,091 | 13,19 |
| b | 1,25 | 3,46 |

Fonte: Wellington, 2018.

2.3.2 AVALIAÇÃO DE REGIÕES COM DIFERENTES TONS DE CORES USANDO SMARTPHONES

Para avaliar o desempenho do método proposto para distinguir diferentes tonalidades de uma cor, imagens do padrão de cor da Figura 4(b) foram registradas e analisadas usando a Equação 6. Inicialmente foi calculada a diferença de cor dada por ($\Delta R = |R_{int} - R_{ref}|$) onde R_{ref} corresponde ao maior valor do canal R dentre as regiões vermelhas analisadas. A diferença de cor entre duas regiões de diferentes tonalidades foi obtido usando o colorímetro. Em seguida foi comparado os valores de ΔR com o correspondente valor da intensidade de cor relativa. O gráfico da Figura 6(a) mostra os valores da intensidade da cor relativa r em função da diferença de cor ΔR para diferentes regiões da Figura 4(b).

Figura 6: (a) Intensidade de cor relativa (r) em função da diferença de cor para duas regiões distintas. (b) Correlação do parâmetro de intensidade de cor relativa (r) obtido utilizando os smartphones com os respectivos valores obtidos utilizando o colorímetro.

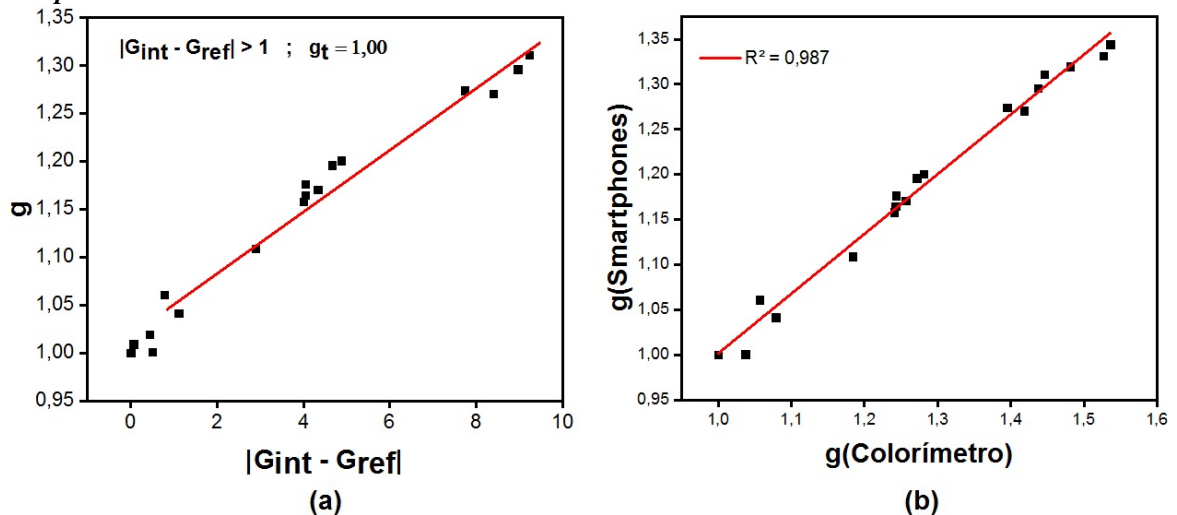


Fonte: Wellington, 2018.

A Figura 6(a) indica que o método colorimétrico proposto pode distinguir duas regiões de cores diferentes com $|R_i - R_j| > 5$, estabelecendo um limite para a intensidade de cor relativa no canal vermelho, r_t , de 1,02. Isto significa que abaixo desse valor, o parâmetro r é incapaz de distinguir diferença de cor entre duas regiões. Quando compara-se os valores da intensidade de cor relativa determinada pelos valores RGB fornecidos pelo colorímetro com os valores fornecidos pelos *smartphones*, observamos que existe uma forte correlação entre eles ($R^2 = 0,984$), como mostra a Figura 6(b).

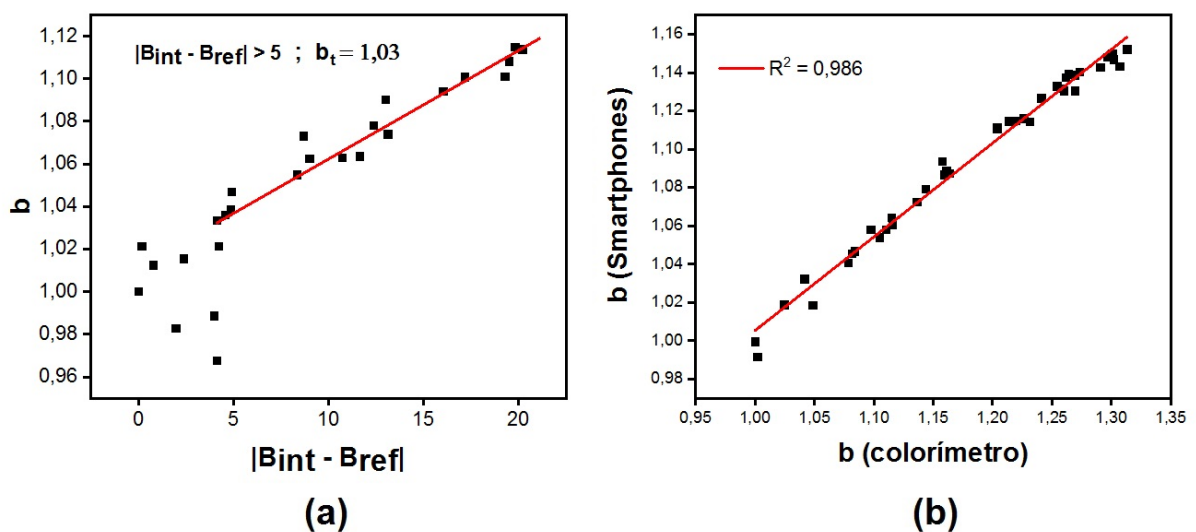
Análises semelhantes foram realizadas explorando as componentes de cor G e B, usando o método proposto na avaliação de regiões com diferentes tonalidades de verde e azul (Figuras 5(a) e 5(b)).

Figura 7: Parâmetro de cor relativa (g): (a) Intensidade de cor relativa (g) em função da diferença de cor medida por um colorímetro; (b) correlação entre o parâmetro de cor relativa fornecido pelo *smartphones* e o mensurado com o colorímetro.



Fonte: Wellington, 2018.

Figura 8: Parâmetro de cor relativa (b): (a) Intensidade de cor relativa (g) em função da diferença de cor medida por um colorímetro; (b) correlação entre o parâmetro de cor relativa fornecido pelo *smartphones* e o mensurado com o colorímetro.



Fonte: Wellington, 2018.

Imagens do calibrador de cor com diferentes tons de verde e azuis foram capturadas usando os telefones móveis e os parâmetros de cor relativa de cada região foram calculados em relação a uma área de referência. Neste caso os parâmetros da intensidade de cor relativa (g e b) foram determinados usando as Equações 7 e 8, respectivamente. Os gráficos das Figuras 7 e 8 apresentam a correlação entre os parâmetro de intensidade de cor relativa mensurado com os *smartphones* e o colorímetro. A Figura 7(a), mostra que, o limite para detecção de variação de cor é $|G_i - G_r| > 1$ com valor para g_i em torno de 1,05. Já o gráfico da Figura 8 para o parâmetro de cor relativa b, o limite para detectar diferença de cor entre duas regiões é $|B_i - B_r| > 5$ e b_i em torno de 1,03. Observa-se também que, assim como para o parâmetro r, a intensidade de cor relativa para os parâmetros g e b apresentam ótima correlação ($R^2 = 0,987$ e $R^2 = 0,986$, respectivamente) com o correspondente parâmetro medido explorando o colorímetro (Figuras 7(b) e 8(b)).

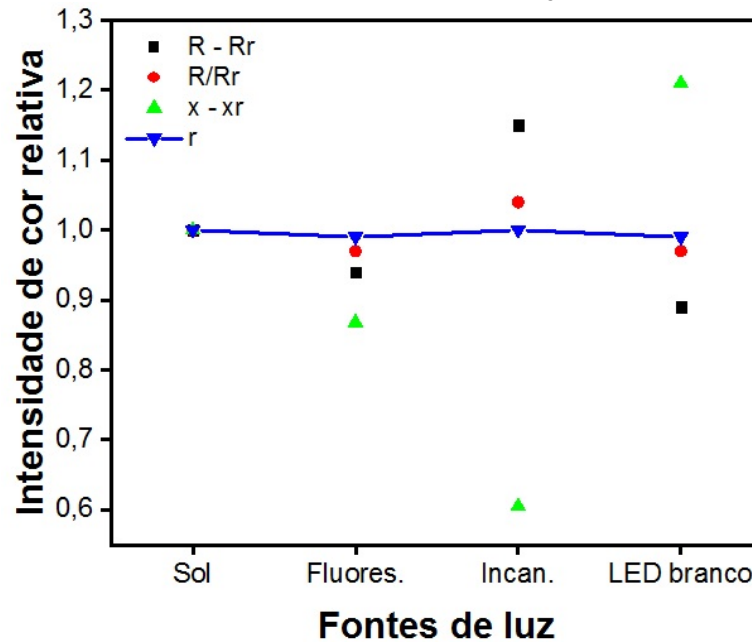
Dessa maneira, fica evidente que o método proposto pode ser usado como parâmetro para medir a intensidade de cor relativa entre duas regiões com diferentes tonalidades, fornecendo resultados que possuem ótima correlação com os valores reais (mensurado por um colorímetro).

2.3.3 PARÂMETRO DE COR RELATIVA EM FUNÇÃO DA FONTE DE ILUMINAÇÃO

Os valores de cor relativa apresentados nas Tabelas 1 e 2 foram obtidos de fotografias adquiridas sob uma mesma condição de iluminação. No entanto, a cor real de um objeto é dependente da fonte de luz de iluminação. A análise da intensidade de cor relativa também pode reduzir a dependência da iluminação na avaliação espectroscópica do objeto. A Figura 9 mostra os valores de intensidade de cor relativa média normalizada das áreas de tonalidades vermelhas (usando as regiões 1 e 2 da Figura 4(b)) sob diferentes iluminações.

Aqui, uma lâmpada fluorescente (175 Lux), uma lâmpada incandescente (33 Lux) e um LED branco (5 Lux) foram usados como fonte de luz. A luz solar (355 Lux) também foi explorada na iluminação do padrão de cores. O valor médio da cor relativa obtido sob iluminação solar foi utilizado para normalizar todos os valores medidos. O menor desvio (0,53%) dos valores médios das cores relativas foi observado pelo método proposto (Equação 6), sob diferentes condições de iluminação. O método proposto de intensidade de cor relativa pode minimizar a dependência da avaliação espectroscópica por telefones móveis com a fonte de iluminação.

Figura 9: Intensidade de cor relativa em função da fonte de luz.

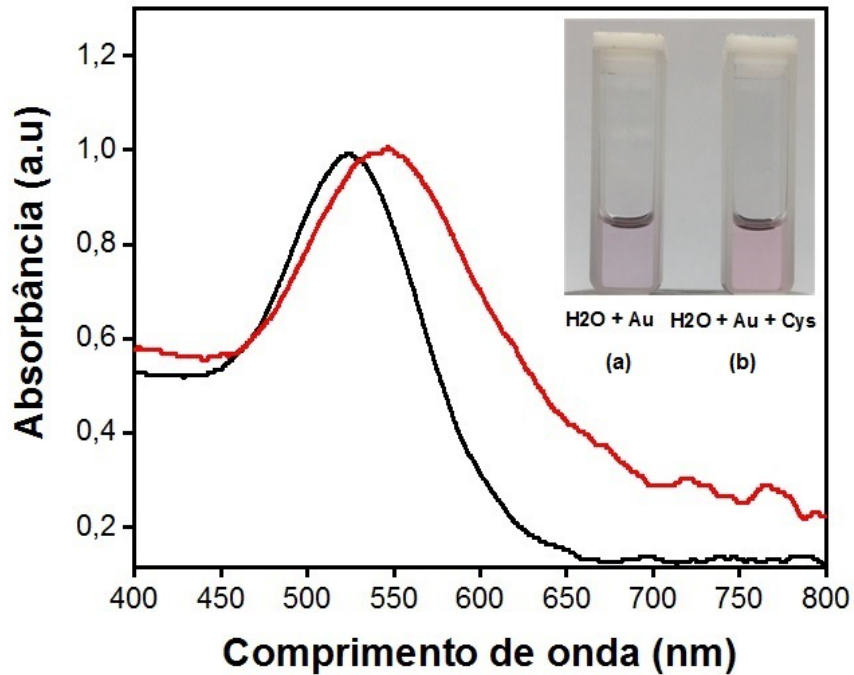


Fonte: Wellington, 2018.

2.3.4 AVALIAÇÃO DA ADSORÇÃO QUÍMICA DE MOLÉCULAS DE CISTEAMINA EM SUPERFÍCIES DE NANOPARTÍCULAS DE OURO

Para demonstrar o uso potencial do método, a adsorção química de moléculas em superfícies de nanopartículas foi avaliada, utilizando o telefone móvel (CP3). Propriedades ópticas (espalhamento e absorção) de nanopartículas metálicas podem ser alteradas pela adsorção de moléculas na superfície metálica [50]. Em particular, colóide de esfera de ouro de 50 nm apresenta uma cor rosa, com um espectro de extinção caracterizado por um pico de Plasmon em 523,94 nm e com uma largura à meia altura (FWHM) em torno de de 69,13 nm. A adição de Cisteamina ao volume coloidal e sua adsorção em nanoestruturas induz um deslocamento do pico de Plasmon para 544,91 nm. A Figura 10 apresenta os espectros de extinção do colóide de ouro com e sem cisteamina. A interação do grupo tiol da Cisteamina com a superfície do ouro é bem descrita na literatura [51,52]. A interação tiol-ouro estabelece a base para o desenvolvimento de camadas moleculares para diversas aplicações em nanotecnologia, como biossensores ópticos [53–55]. A inserção na Figura 10 mostra uma imagem das duas soluções (colóide com e sem Cisteamina) em cubetas de vidro de espessura de 1 cm. A diferença de cor entre as amostras é pouco perceptível. O valor da intensidade de cor relativa dos colóides foi determinado usando o aplicativo desenvolvido para *smartphones*, instalado no telefone móvel CP3. Para isso, a imagem que continha o colóide sem Cisteamina foi escolhida para ser a região de referência e uma área da imagem contendo a solução com ouro-Cisteamina foi selecionada como a região de interesse.

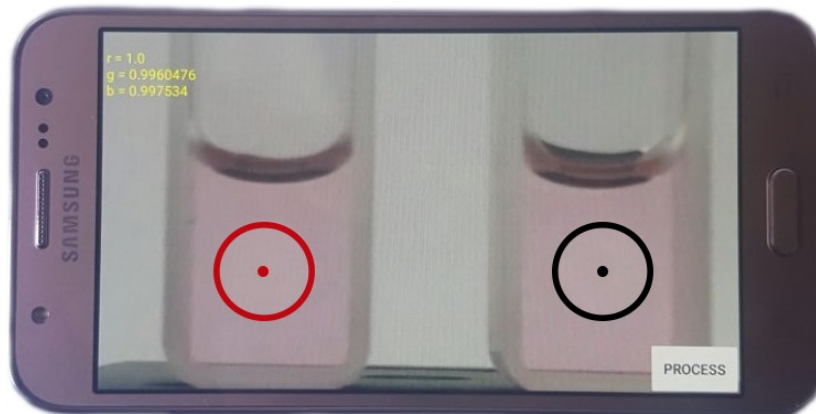
Figura 10: Espectro dos colóides: (a) Água + Ouro; (b) Água + Ouro + Cisteamina



Fonte: Wellington, 2018.

A interface do aplicativo bem como o resultado do processamento para uma determinada imagem são apresentadas na Figura 11. Depois de obter uma foto com o aplicativo de telefone móvel, a imagem é mostrada na tela do dispositivo com marcadores de duas regiões (preto e vermelho). O marcador preto foi posicionado sobre a região da imagem utilizada como referência de cor, enquanto o marcador vermelho foi colocado na região de interesse.

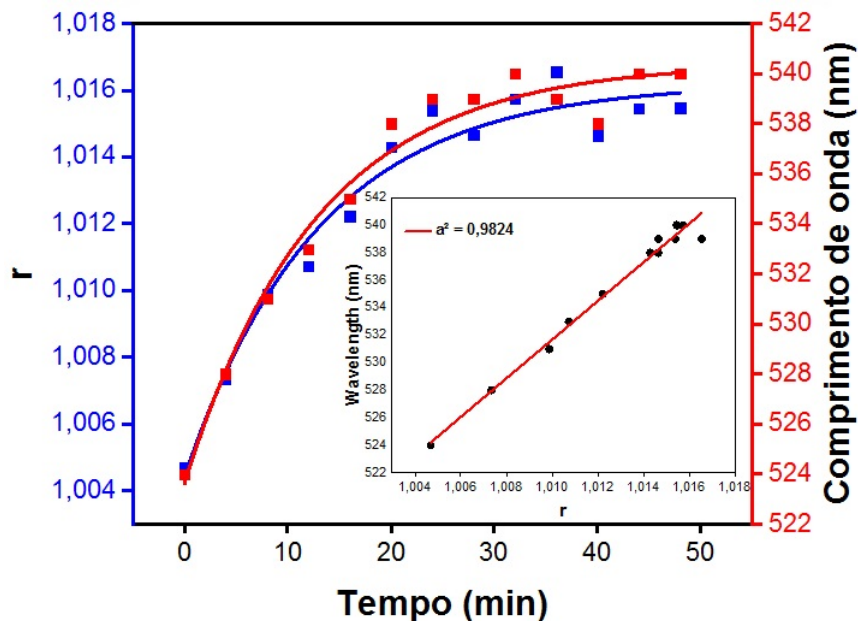
Figura 11: Interface do aplicativo desenvolvido para sistema Android. As regiões de referência e de interesse são obtidas manualmente.



Fonte: Wellington, 2018.

A análise de cores foi realizada selecionando o botão de (process) do aplicativo. O comportamento temporal da mudança de coloração do colóide devido a adsorção da Cisteamina na superfície do ouro foi também avaliado usando o método de auto-referência para determinação da intensidade de cor relativa. A Figura 12 mostra a evolução temporal do componente vermelho da amostra, através da análise do valor do parâmetro de cor relativa r , com a adição de Cisteamina no colóide de ouro e o desvio do pico no espectro devido à presença da Cisteamina.

Figura 12: Intensidade de cor relativa e do comprimento de onda do pico em função do tempo.



Fonte: Wellington, 2018.

Embora o método não permita identificar com precisão as mudanças de cor menores do que a r_t , verificou-se que o processo de adsorção leva aproximadamente 40 minutos para ser completamente estabelecido. Uma boa correlação ($a^2 = 0,9824$) entre o componente vermelho da cor relativa e o correspondente comprimento de onda do pico de extinção foi identificada, como mostrado com detalhe da Figura 12. A variação do valor de r medida ($r = 1,013$), foi próxima ao valor do limite de cor relativa, r_t , determinado na Figura 6(a), indicando a capacidade do método para distinguir pequenas mudanças de coloração. Além disso, conseguiu-se, com um telefone móvel, correlacionar a mudança de intensidade de cor relativa com o deslocamento de pico sofrido pelo espectro.

2.4 CONCLUSÃO

A análise de cores de um objeto usando telefones celulares distintos pode levar a resultados discrepantes. Para superar este obstáculo, foi proposto e avaliado um método espectroscópico de auto-referência para uso em telefones móveis, sem procedimentos de calibração, para determinar os valores de cor relativa em uma imagem. Na análise de um padrão de cores, não foram observados mais de 3,5% de desvio nos valores de cores relativas obtidos por quatro telefones celulares diferentes, indicando que o procedimento de avaliação de cores proposta é fracamente dependente do dispositivo de imagem utilizado. O método espectroscópico proposto explorando smartpone pode distinguir 2% ($|R_i - R_r| > 5$) na diferença da componente R das áreas com tonalidade vermelha. Também foi demonstrado que a análise de cor relativa também pode reduzir a dependência de iluminação na avaliação espectroscópica. Sob diferentes condições de iluminação, observou-se um desvio de 0,53% dos valores de cor relativos medidos de um padrão de cores. Além disso, o método permitiu a identificação de uma alteração de 20,99 nm do espectro de coloide de ouro, devido à adsorção de cisteamina na superfície do metal. A técnica de auto-referência proposta leva a valores de intensidade de cor relativa que são fracamente dependentes da condição de iluminação e do telefone móvel usado. Portanto, o método de análise de cores pode melhorar e expandir o uso de telefones celulares em aplicações espectroscópicas. Além disso, as plataformas espectroscópicas dos telefones celulares podem contribuir para a democratização global das tecnologias de diagnóstico, oferecendo sensores de alta sensibilidade e custo efetivo [56].

3 AVALIAÇÃO IN-VIVO DE CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA EXPLORANDO ESPECTROSCOPIA POR IMAGEM

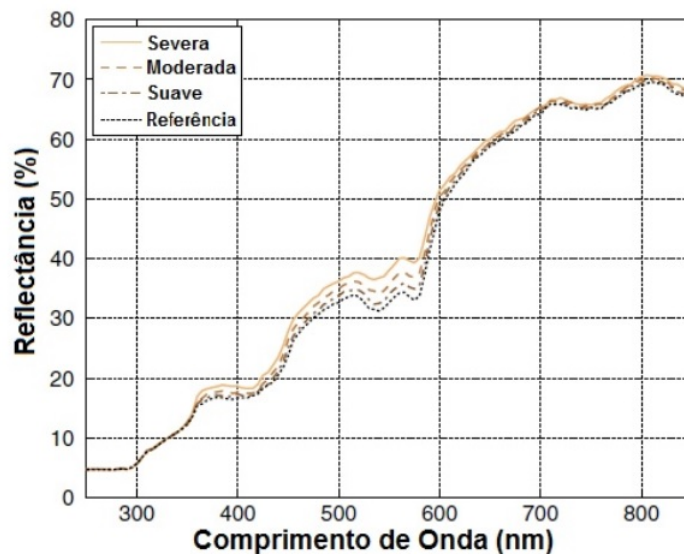
Neste capítulo é apresentado um método baseado em regressão linear/não-linear para estimar o nível de hemoglobina presente no sangue de ratos Wister e cães utilizando os parâmetros de intensidade de cor relativa obtidos da análise da mucosa ocular desses animais, sem uso de calibradores de cor ou qualquer outro método de calibração. Esta abordagem representa uma proposta inovadora e de baixo custo o que reforça a democratização do uso de smartphones como instrumento de medição.

3.1 AVALIAÇÃO NÃO-INVASIVA DO NÍVEL DE ANEMIA

A anemia é um problema de saúde pública global que afeta países desenvolvidos e em desenvolvimento, com graves consequências para a saúde humana [57]. Seu diagnóstico é uma atividade constante no cotidiano dos profissionais de saúde, apresentando alta prevalência na prática médica. Estima-se que cerca de 2 milhões de pessoas apresentem anemia, sendo gestantes e crianças as principais vítimas da doença [57, 58]. Esta patologia é caracterizada pela redução da concentração de hemoglobina no sangue total. O diagnóstico (padrão-ouro) da anemia é realizado por análises hematológicas ex-vivo. O alto custo do equipamento automatizado para análise hematológica, tanto em sua aquisição quanto em reagentes, e calibradores, torna o acesso a laboratórios com equipamento hematológicos limitado em países subdesenvolvidos. Normalmente, a triagem da anemia é realizada por inspeção visual da conjuntiva da pálpebra inferior, onde a palidez da mucosa é comparada à cor do tecido circundante. No entanto, devido as limitações do sistema visual humano, esse procedimento de triagem clínica é precário no diagnóstico de anemia, com uma precisão de cerca de 60%, o que reforça a necessidade de avaliações complementares [59, 60]. Recentemente, *Gladimir* e colaboradores avaliaram diferentes tecidos de pacientes afetados por anemia [98]. Na referência [98], correlacionou-se o grau de anemia (suave, moderada ou severa) com a reflectância dos tecidos analisados, como mostra a Figura 13. Verifica-se que o aumento na reflectância do tecido corresponde a uma evolução do quadro anêmico para o estado de anemia severa, sendo melhor

detectada na região verde do espectro óptico (entre 500 e 600 nm), que refere-se ao parâmetro G da cor observada (no espaço RGB). A quantificação da concentração de hemoglobina presente no sangue é extremamente importante para o diagnóstico de anemia. O desenvolvimento de métodos não-invasivos para medir a concentração de hemoglobina foi declarada pela OMS (Organização Mundial da Saúde), como uma importante ação para melhorar a saúde global. Nesse contexto, surge a necessidade de desenvolver dispositivos de baixo custo capazes de auxiliar os profissionais de saúde na triagem da anemia, obtendo resultados mais precisos em comparação com o sistema visual humano. Uma alternativa tecnológica para o auxílio à triagem de anemia consiste no uso de telefones móveis (e aplicativos) que podem proporcionar maior agilidade, eficiência e baixo custo no processo de diagnóstico [58,61]. Com o desenvolvimento tecnológico, os recursos e o poder de processamento dos telefones moveis aumentaram e, conseqüentemente, o número de aplicações que exploram esse dispositivo em áreas como medicina e engenharia tem crescido constantemente no mercado [62,63,66].

Figura 13: Espectro da reflectância de tecidos com diferentes níveis de anemia.



Fonte: adaptada de [98].

Atualmente, os *smartphones* têm pelo menos um sensor de câmera integrado com alta resolução, geralmente acima de 3Mpixels, autofocus e zoom digital, processador com baixo consumo de energia e alto desempenho [64] e sistemas operacionais sofisticados [65], geralmente suportando a plataforma JAVA e com opções para instalar e executar aplicativos. Para avaliação de cores usando diferentes *smartphones*, calibradores de cores são explorados para garantir uma confiabilidade na cor medida por diferentes dispositivos [67,68]. Alguns estudos mostram que a detecção dos níveis de anemia explorando *smartphones* requer o uso de calibradores de cores [58,61,67], o que limita o uso e a disseminação da tecnologia.

Neste capítulo é apresentado um novo método, não-invasivo, para estimar a concentração de hemoglobina em modelo animal explorando espectroscopia por imagens. Aqui é apresentada a associação de câmeras de smartphones e espectroscopia óptica por processamento de imagem, estabelecendo um novo sistema para triagem de anemia pela análise da intensidade de cor relativa da mucosa ocular de animais.

3.2 MATERIAS E MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE ANEMIA EXPLORANDO SMARTPHONES

3.2.1 INDUÇÃO E ANÁLISE DE ANEMIA AGUDA EM RATOS WISTER

Os experimentos foram realizados em um grupo de 15 ratos Wistar jovens, adultos, de ambos os sexos, com peso médio de 300 g e oriundos do biotério do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os animais foram identificados por um código A_i , onde i são números naturais variando de 1 a 15. Os ratos foram mantidos em gaiolas de polietileno (5 animais por gaiola) a uma temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 1$ em condições normais de iluminação (ciclo claro-escuro de 12/12 horas), com livre acesso a água e comida. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética da UFRPE (n° 23082:001660 = UFRPE). Os animais receberam anestesia geral e tiveram membranas da mucosas imediatamente fotografadas. Em seguida, 2 mL de sangue foram coletados por punção cardíaca. As amostras de sangue foram submetidas à análise hematológica, na qual foi avaliada a concentração de hemoglobina (método automatizado). A retirada do sangue induziu um estado de anemia no animal. Após 18 horas os ratos anêmicos foram novamente anestesiados. Novas imagens da mucosa ocular foram capturadas e outros 2 mL de sangue foram coletados.

3.2.2 ANÁLISE CLÍNICA DE ANEMIA EM CÃES

Análises clínicas foram realizadas em um grupo com 30 cães, em uma clínica veterinária escolhida por critério de proximidade e sob a supervisão de um médico veterinário. Todos os cães avaliados pertenciam ao canil da Polícia Militar do estado de Pernambuco. Foram avaliados cães de diferentes raças e idades. Inicialmente, os cães foram avaliados clinicamente pelo médico veterinário e, em seguida, as imagens da mucosa ocular dos cães foram capturadas. Posteriormente foram coletados 2 ml de sangue para análise do hemograma. O resultado clínico indicou que dos 30 cães avaliados, 10 estavam anêmicos e 20 saudáveis.

3.2.3 AQUISIÇÃO DE IMAGEM E AVALIAÇÃO DE COR

Imagens do tecido da mucosa ocular dos ratos foram capturadas usando os telefones celulares LG Optimus e Motorola Moto G. As resoluções das câmeras são 2048 x 1536 pixels para o celular LG e 3264 x 1836 pixels para o celular da Motorola. Os telefones foram configurados para não usarem a luz do flash. Imagens da mucosa foram capturadas em ambientes bem iluminados, com os celulares posicionados a uma distância de aproximadamente 10 cm da mucosa ocular do animal. Para os cães, as imagens foram obtidas usando o smartphone LG Optimus. Nesta etapa os mesmos procedimentos para obter as imagens da mucosa dos ratos foram seguidos: O telefone móvel foi posicionado a uma distância de 10 cm da mucosa ocular dos cães e a opção Flash da câmera foi desativada. Para as avaliações de anemia, duas regiões (com área de 10 x 10 pixels) para análise foram selecionadas na imagem de cada animal: uma área representando a região de interesse (mucosa ocular dos ratos/cães) e a outra a região de referência (pelo branco dos ratos e a íris dos cães). Além disso, foram registrados os valores médios das coordenadas RGB da mucosa ocular (R_m, G_m, B_m) e os valores médios das coordenadas RGB da região de referência (R_r, G_r, B_r). Os valores médios das coordenadas RGB para as regiões selecionadas foram obtidos calculando a média global dos valores dos pixels R, G e B das regiões selecionadas. Os parâmetro de cor relativa (r, g e b) foram determinados usando as equações 6, 7 e 8, respectivamente. Os valores de cores relativas foram determinados utilizando um programa em Matlab, para a análise da imagens obtidas. As imagens também foram avaliadas utilizando um aplicativo Android, desenvolvido na plataforma Android Studio. As imagens capturadas usando o aplicativo foram salvas no formato PNG. O aplicativo para *smartphone* desenvolvido possui uma interface intuitiva, capacidade de ampliar as imagens e analisar imagens tiradas por outros dispositivos (armazenados no telefone móvel). É importante ressaltar que o programa Matlab e o aplicativo de telefone móvel não determinam a cor real do objeto, mas sim um parâmetro de intensidade de cor relativa que identifica o quanto o componente de cor RGB de uma região de interesse é diferente de uma região de referência.

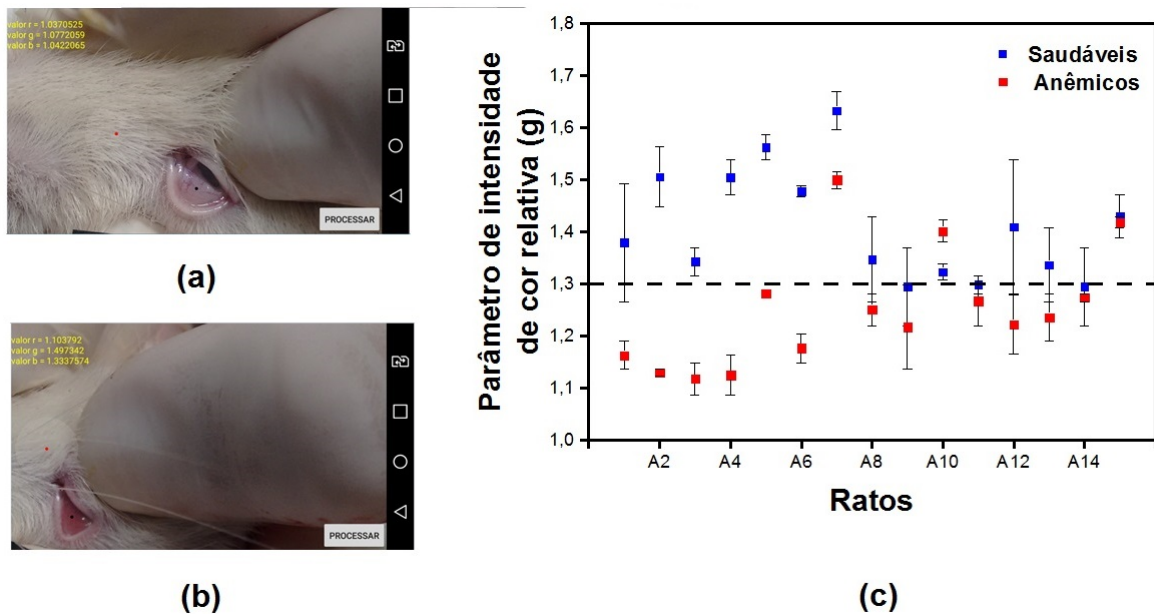
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta espectral da deficiência de hemoglobina presente no sangue é melhor detectada na região do verde [98], como indicado na Figura 13. Logo, nesta tese, para estimar a concentração de hemoglobina presente no sangue de animais, escolheu-se realizar as análises colorimétricas explorando o parâmetro de cor relativa verde (g).

3.3.1 ANÁLISE DE ANEMIA EM RATOS

A Figura 14 mostra imagens típicas obtidas com telefones móveis da mucosa dos ratos antes e 18 horas após a indução da anemia aguda. Também na figura 14(a) e 14(b), as regiões de interesse (mucosa ocular) e de referência (pelo de animal branco) são identificadas por pontos preto e vermelho, respectivamente.

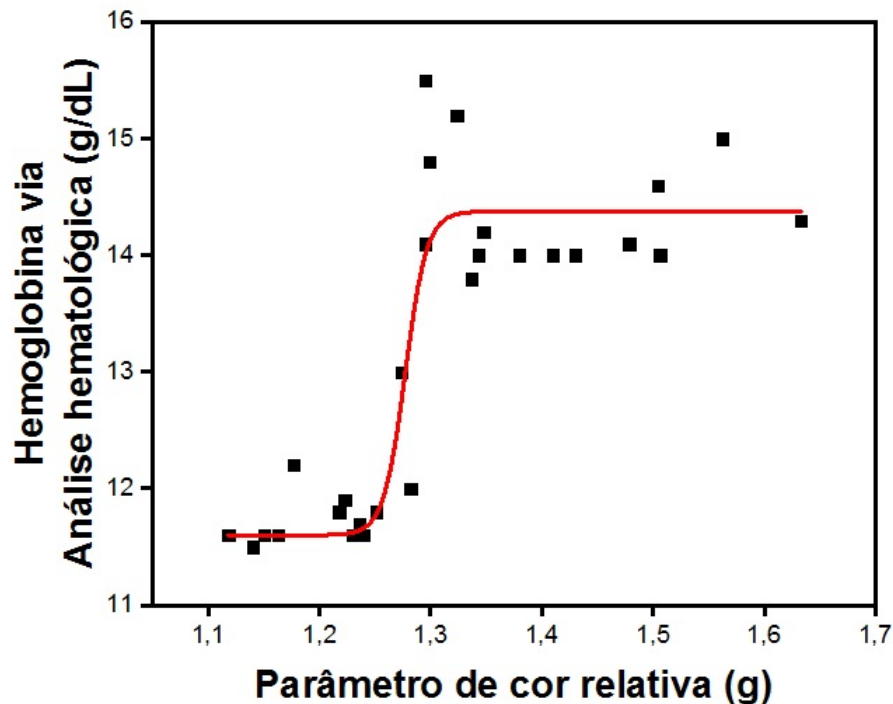
Figura 14: Coloração da mucosa ocular dos ratos: (a) Anêmicos; (b) Saudáveis; (c) valores dos parâmetros de intensidade de cor relativa.



Fonte: Wellington, 2018.

Os valores relativos referente ao canal de cor verde (G) da mucosa ocular dos ratos (antes e depois da retirada do sangue) foram mensurados, como mostrado na Figura 14(c). Os valores apresentados de g são os valores médios do parâmetro de intensidade de cor relativa verde obtidos usando telefones móveis LG e MT. Pode-se observar que o parâmetro de cor relativa g reduz após a retirada de sangue do animal. Pela figura 14(c), verifica-se que os ratos saudáveis apresentam valores de g maiores que 1,3, com média em torno de $1,41 \pm 0,11$. Depois da retirada de sangue, os valores médios de g reduzem para $1,21 \pm 0,053$. Os valores da cor relativa g obtidos foram comparados com a concentração de hemoglobina (H) indicadas nos hemogramas das amostras de sangue dos animais (H), como mostrado na figura 15. Todos os animais saudáveis apresentaram concentração de hemoglobina maior que 13,0 g/dL. Dezoito horas após a retirada do sangue, os valores medidos da concentração de hemoglobina diminuiram. Os ratos com $H < 13,0$ g/dL foram considerados anêmicos.

Figura 15: Relação entre a concentração de hemoglobina presente no sangue dos ratos saudáveis e anêmicos e o parâmetro de cor relativa (g).



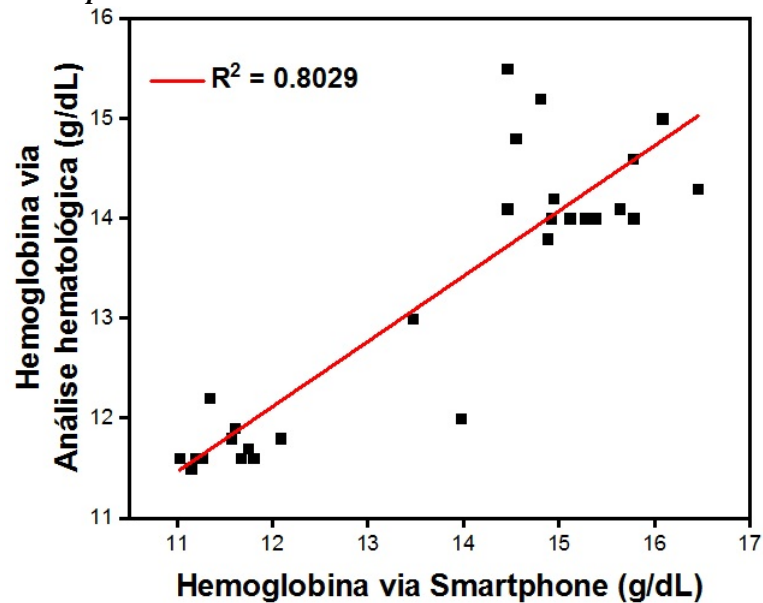
Fonte: Wellington, 2018.

Na figura 15, a linha sólida corresponde a uma relação não linear que correlaciona a concentração de hemoglobina do animal ao valor g obtido das imagens com os *smartphones*. Para estabelecer a concentração de hemoglobina usando os valores de cor relativa foi utilizada uma função empírica dada por:

$$H = \left[A_2 + \frac{(A_2 - A_1)}{1 + e^{(g-g_0)/d_g}} \right] + A_3 \cdot g - 6.5 \quad (9)$$

Na equação 9 os valores das constantes ($A_1 = 11,5$; $A_2 = 15,5$; $A_3 = 5,3$ e $d_g = 0,03$) foram escolhidos para obter o melhor ajuste entre o parâmetro g e H , como mostra a figura 16. A Equação 9 permite estimar a concentração de hemoglobina de ratos Wister pela análise de cor da mucosa ocular do animal. A Figura 16 mostra uma correlação linear da concentração de hemoglobina estimada pela Equação 9 e real (análise hematológica) de ratos, com $R^2 = 0,8029$. Estes resultados indicam que o método proposto tem potencial para ser aplicado no diagnóstico de anemia. Em particular, o método de imagem para determinação de concentração de hemoglobina foi demonstrado utilizando um modelo animal, cuja anemia foi induzida pela retirada de sangue nos ratos. Na próxima subseção, o método é avaliado em casos clínicos de anemia em cães.

Figura 16: Correlação entre o valor de hemoglobina mensurado pelo hemograma (por automação) e o estimado pelos *smartphones*.



Fonte: Wellington, 2018.

3.3.2 ANÁLISE DE ANEMIA EM CÃES

Na avaliação de anemia por espectroscopia por imagem com *smartphones* a escolha da região de referencia é fundamental. Diferentemente da análise com ratos Wister, os cães analisados apresentavam pelos com diferentes colorações, inviabilizando a escolha desses como área de referência para a aplicação do método.

Figura 17: Mucosa ocular típica dos cães.

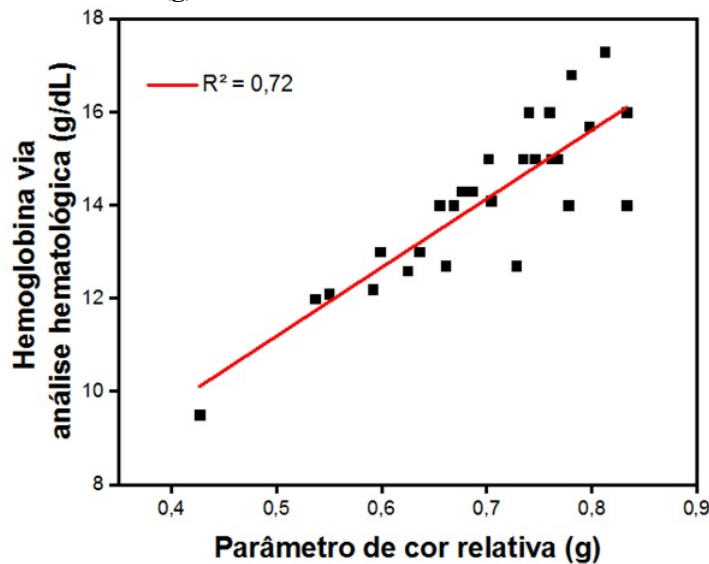


Fonte: Wellington, 2018.

A região esbranquiçada (esclera) do olho do animal também não se apresentou acessível para ser estabelecida como região de referencia. Desta forma o parâmetro de cor relativa para avaliação de anemia nos cães foi determinado considerando a íris do animal como

sendo a região de referência e a mucosa a região de interesse. A Figura 17 mostra a imagem da tela de smartphone utilizando o aplicativo de avaliação de cor relativa. Pela figura 17, pode-se identificar a mucosa ocular e a íris do animal. Das imagens dos 30 animais, foram obtidas os valores de parâmetro g de cor relativa . Os valores de g foram comparados com os valores de hemoglobina medidos por análise hematológica. Essa comparação é apresentada na figura 18. São considerados saudáveis os animais com H maior que $13,0g/dl$. A linha solida na figura 18 corresponde a uma relação linear correlaciona à concentração de hemoglobina do animal ao valor g obtido das imagens com os smarthphones.

Figura 18: Correlação entre a concentração de hemoglobina presente no sangue dos cães avaliados com o parâmetro de cor relativa (g).



Fonte: Wellington, 2018.

A relação encontrada que estabelece a concentração de hemoglobina usando os valores de cor relativa é dada por:

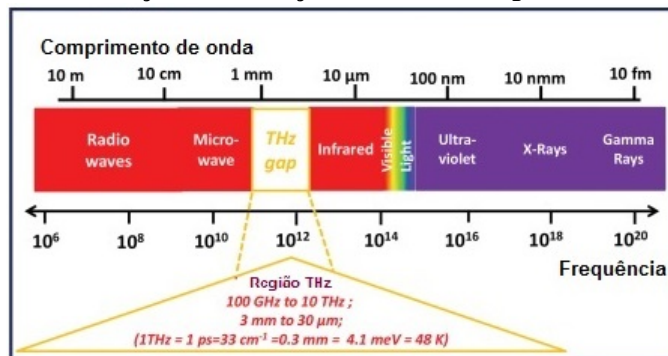
$$H_b = 14,75 \cdot g + 3,81 \quad (10)$$

A equações 10 permite estimar, pela imagem da mucosa dos animais, a concentração de hemoglobina presente no sangue dos cães. O gráfico 19 apresenta a correlação entre as concentrações de hemoglobina estimadas usando o *smartphone* LG e os valores reais

4 ESPECTROSCOPIA THZ NO DOMÍNIO DO TEMPO PARA AVALIAÇÃO DE SISTEMAS BIOMÉDICOS

A radiação eletromagnética na região do Terahertz (THz) possui frequência na faixa que vai de 0,1 THz (comprimento de onda de 3 mm) até 10 THz (comprimento de onda de 30 μm), sendo por esse motivo também chamada de "ondas milimétricas". A figura 20 indica a posição espectral da radiação THz no espectro eletromagnético.

Figura 20: Localização da radiação em THz no espectro eletromagnético.



Fonte: adaptada de [69].

As ondas THz penetram em uma grande variedade de materiais não-polares, tais como: papel, cartão, madeira, alvenaria, tecidos, plástico e cerâmica [70, 71]. Contudo, esse tipo de radiação é fortemente absorvido por moléculas de água, e altamente refletida por metais. São vários os mecanismos que podem ocorrer quando a radiação THz incide sobre um material. Esses mecanismos frequentemente envolvem vibrações e deformações de ligações fracas dos materiais e, portanto, são exclusivos da composição física e química do material analisado. Como resultado, variações internas na espessura, densidade e/ou composição química de um material podem ser percebidas por ondas THz, pelas variações de intensidade (absorção) e mudanças de fase (índice de refração) da onda. Essas informações podem ser usadas para gerar imagens bidimensionais de objetos opacos à luz visível ou infravermelho. Além disso, imagens espectroscópicas em THz permitem mapeamento da estrutura e da composição química dos materiais. Atualmente, imagens ópticas obtidas usando espectroscopia THz têm aplicações

em diversas áreas do conhecimento como física, química, ciências biomédicas e segurança [72, 73]. Pode-se citar diversas maneiras em que a radiação nesta faixa de frequências é criada: bombeamento óptico de moléculas polares como $^{13}\text{CD}_3\text{OD}$ por um laser de $^{13}\text{CO}_2$, retificação óptica, emissores de THz de campo de superfície, chaveamento fotocondutivo ou ainda lasers de cascata quântica. Contudo, a excitação de materiais fotocondutivos por lasers pulsados de femtossegundo é a técnica que mais vem sendo utilizada nas últimas décadas, possibilitando a geração de radiação THz e abrindo caminho para um aumento significativo do estudo espectroscópico nessa frequência. Neste capítulo, é descrito um sistema para espectroscopia THz no domínio do tempo explorando antenas fotocondutivas. O sistema é usado para caracterizar diferentes estruturas dentárias como a dentina e o esmalte [74, 75].

4.1 THZ E BIOLOGIA

Com o rápido desenvolvimento da tecnologia THz e aplicações relacionadas, estudos sobre os efeitos biológicos da radiação THz se tornaram um foco importante no campo das ciências da vida. A radiação THz é não ionizante e apresenta baixa energia de fótons, sendo estas características de grande importância para aplicações biológicas. Efeitos da radiação ionizante em água e moléculas biológicas são prejudiciais para amostras biológicas. Portanto, não há dano secundário ou indireto às moléculas biológicas submetidas à irradiação na faixa de THz [78, 79]. Outra característica física importante é que os modos vibracionais de várias moléculas, mais notadamente proteínas e outras macromoléculas biológicas, estão dentro da região de Terahertz. Mudanças estruturais minuciosas podem ser observadas e correlacionadas às alterações dos espectros de absorção de THz, tornando a espectroscopia THz uma técnica de caracterização única para a detecção de compostos orgânicos [80].

Recentemente, espectroscopia THz e imagens THz começaram a ser usadas para investigação de tecidos e moléculas biológicas [78]. Os tecidos utilizados nos estudos THz são classificados em dois grupos: tecido mole e tecido duro. As aplicações da tecnologia THz em biologia são usadas nas mais variadas áreas [81, 82] para obter um diagnóstico preciso. Em particular, em aplicações odontológicas, a radiação THz é capaz de distinguir entre os diferentes tipos de tecidos em um dente humano, por exemplo, detectar e diferenciar regiões da dentina e do esmalte. Além disso, é possível detectar cárie em um estágio inicial nas camadas de esmalte dos dentes humanos e monitorar a erosão precoce do esmalte na superfície do dente. A cárie é um resultado da perda mineral do esmalte, e isso causa uma mudança no índice de refração dentro do esmalte. A mudança no índice de refração significa que pequenas lesões acometem o tecido podendo ser detectadas espectroscopicamente [83].

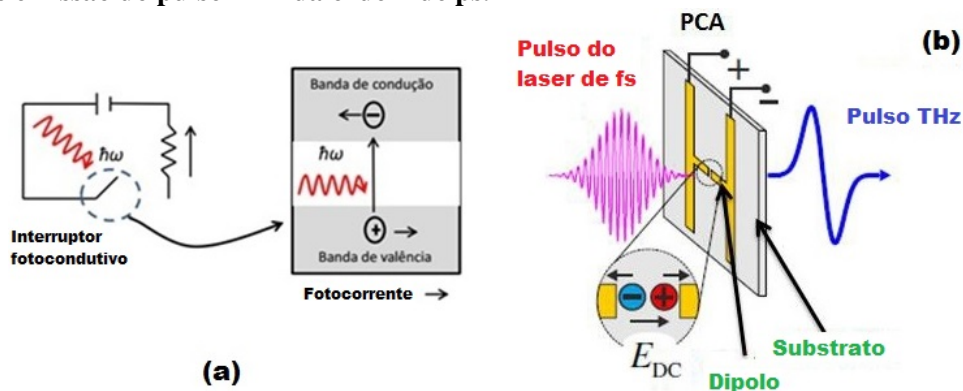
4.2 GERAÇÃO E DETECÇÃO DO SINAL THZ USANDO ANTENAS PCA

Os semicondutores GaAs (Arseneto de Gálio) e InGaAs (Arseneto de Gálio Índio) são os materiais mais populares para gerar e detectar radiação THz usando antenas fotocondutoras nos modos de operação no domínio do tempo (TD) e no domínio da frequência (FD) [84]. Neste trabalho as antenas fotocondutoras usadas são do tipo IPCA-21-05-1000-800, tendo como substrato o GaAs para gerar pulsos THz. Nesta seção, a geração e detecção do sinal THz em ambos domínio de tempo e domínio da frequência serão explicados.

4.2.1 GERAÇÃO DO PULSO TERAHERTZ

Atualmente uma das técnicas mais exploradas para gerar radiação na região do THz baseia-se no funcionamento de antenas fotocondutivas (*Photoconductive Antenna-PCA*). Este tipo de antena atua como um interruptor elétrico ativado quando exposto à luz. A Figura 21 exemplifica o princípio de funcionamento de uma antena fotocondutora para geração de pulso THz. Na figura observa-se que um pulso laser (com largura temporal de fs) incide na antena gerando um pulso THz da ordem de picosegundos.

Figura 21: Princípio básico de funcionamento das antenas PCA: (a) acionamento das antenas PCA quando expostas a um pulso de laser da ordem de fs; (b) fotocorrente gerada entre os terminais do eletrodo e emissão do pulso THz da ordem de ps.



Fonte: adaptada de [76,77].

A iluminação da antena fotocondutora induz um aumento da condutividade, devido a geração de portadores livres (elétrons e buracos). A energia dos fótons de ativação deve ser, portanto, maior que o gap do material [84]. Neste caso, um semicondutor de alta mobilidade (GaAs) é polarizado por um campo elétrico (E_{DC}) da ordem de 10^6 V/m na região entre dois eletrodos metálicos fixados no material. O campo elétrico DC induz a separação dos pares elétrons-buracos, gerando uma corrente transiente (fotocorrente), que é dependente do

comportamento temporal da excitação luminosa (pulso laser). Como os elétrons geralmente têm uma mobilidade maior do que os buracos, aqui a contribuição dos buracos pode ser ignorada na análise da corrente de transiente na antena fotocondutiva. Logo, a densidade de corrente pode ser

$$J(t) = N(t)e\mu E_b \quad (11)$$

com N correspondendo a densidade de elétrons, e denota a carga elementar, μ é a mobilidade dos elétrons e E_b corresponde ao campo elétrico de polarização. Transientes de densidade de corrente da ordem de picossegundos resultam na geração de radiação THz pela antena fotocondutora. Vale ressaltar que o processo de recombinação elétron-buraco também contribui para a dinâmica da densidade de corrente. Dessa maneira, para uma antena fotocondutiva no espaço livre, o campo elétrico irradiado $E(r,t)$ em função da distância r e do tempo t é descrito por:

$$E_{THz} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{A}{c^2 r} \frac{\partial J(t)}{\partial t} = \frac{Ae}{4\pi\epsilon_0 c^2 r} \frac{\partial N(t)}{\partial t} \mu E_b \quad (12)$$

com A sendo a área iluminada da antena, ϵ_0 é a permissividade no vácuo, e r corresponde a distância entre um ponto do campo elétrico e a fonte THz. Para a Equação acima, o ponto do campo elétrico é considerado localizado na posição normal à antena PCA e a distância entre o ponto do campo elétrico e a fonte THz é muito maior que as dimensões da antena. Na geração de pulsos THz, o pulso de laser ultrarrápido gera um par de elétrons que diminui a condutividade da abertura da antena. A taxa de recombinação de elétrons e buracos é determinada pelo tempo de recombinação.

4.2.2 DETECÇÃO DO SINAL THZ

As antenas fotocondutoras usadas para detecção do sinal de THz são idênticas as PCA usadas para emissão. Contudo para a detecção de THz os dois eletrodos da PCA são conectados ao sensor de corrente em vez de uma fonte de alimentação. Ao atingir a antena em coincidência com o pulso óptico, o campo elétrico do pulso THz irá induzir uma corrente entre os eletrodos, que pode ser medida e amplificada, fornecendo um sinal proporcional à magnitude do campo THz naquele determinado instante. Se não houvesse campo elétrico entre os eletrodos da PCA, os portadores gerados pelos pulsos ópticos não criariam qualquer fluxo. No entanto, se um pulso da radiação THz atinge a região entre os eletrodos, um campo elétrico associado à essa radiação surge. O sinal THz separa os pares elétron-buraco e uma corrente é criada.

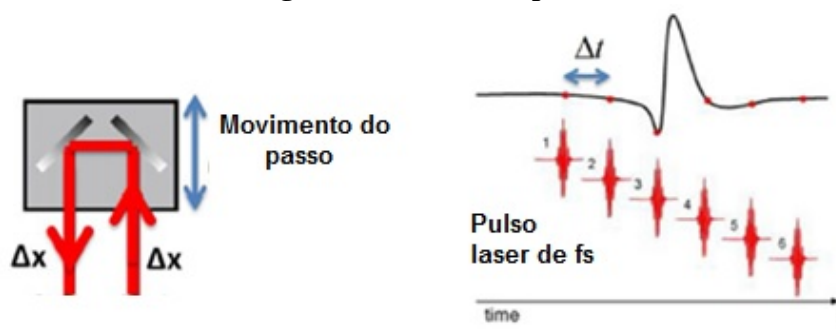
4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

4.3.1 SISTEMA THZ PARA ESPECTROSCOPIA NO DOMÍNIO DO TEMPO

A técnica empregada neste trabalho para gerar radiação na faixa do THz foi baseada no uso de antenas fotocondutoras, cuja estrutura básica é composta por metal-semicondutor-metal, juntamente com uma fonte de luz pulsada. No presente trabalho foi utilizado um Laser pulsado (Ti:Safira) com comprimento de onda em torno de 820 nm, taxa de repetição de 76 MHz e com pulsos com largura temporal de 150 fs. As antenas fotocondutoras foram obtidas da *Batop Optoelectronics* (IPCA-21-05-1000-800-h) [86], tendo como substrato o Arseneto de Gálio (GaAs).

A geração de sinal de THz consiste em direcionar a radiação do laser sobre a antena fotocondutora. O laser de femtossegundo é dividido em dois feixes: um para excitar o substrato presente na antena de emissão, gerando o sinal THz, e outro usado para excitar a antena de detecção. Para que o sinal THz seja detectado pela antena de detecção, é necessário que o sinal THz chegue ao mesmo tempo que o feixe nesta antena. Logo, é utilizado um atraso óptico variável no caminho do feixe de excitação. Para criar a linha de atraso entre o pulso de emissão e o pulso de detecção, um conjunto de espelhos planos acoplados a um motor de passos da Thorlabs foi utilizado. O sinal medido no detector é proporcional à magnitude e ao sinal do pulso THz em cada instante de tempo. Dessa forma, a variação do atraso temporal (Δt) entre a emissão e a detecção dos pulsos ópticos pode mapear todo o perfil temporal do pulso THz, como mostra a Figura 22.

Figura 22: Atraso temporal.



Fonte: adaptada de [76].

Movendo-se o motor de passos de Δx , o feixe de excitação sofrerá um deslocamento de $2\Delta x$. Logo, é fácil mostrar que o atraso temporal é dado por:

$$\Delta t = 2 \frac{\Delta x}{c} \quad (13)$$

Onde c é a velocidade da luz no vácuo. Sendo assim, o sinal THz é reconstruído a partir de uma sequência de medições para diferentes atrasos. Neste caso, a densidade de corrente detectada é descrita em função do atraso temporal, sendo definida como:

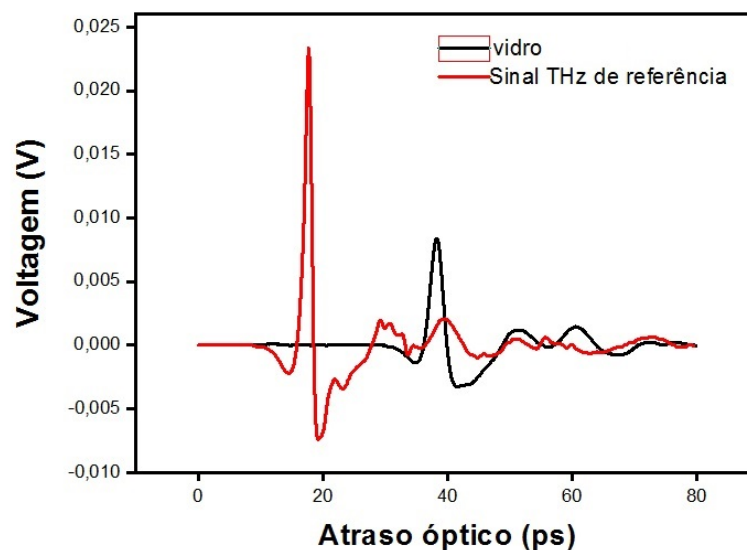
$$J_r = \int E(t) \sigma(t - \tau) dt \quad (14)$$

Na Equação 14 $E(t)$ é a amplitude campo THz, $\sigma(t)$ corresponde a condutividade e τ representa o atraso óptico.

4.3.2 ESTIMATIVA DOS PARÂMETROS FÍSICOS DAS AMOSTRAS ANALISADAS

Nesta tese a espectroscopia de diferentes materiais foi realizada analisando o feixe de THz transmitido. Na espectroscopia terahertz no domínio do tempo (THz-SDT) são analisados dois pulsos THz: um relacionado ao sinal de referência (E_r), obtido da propagação do pulso THz no ar, e outro relacionado ao sinal que é detectado após o pulso THz passar pela amostra em análise (E_a). Da análise gráfica do sinal THz é possível obter informações sobre as propriedades físicas do material, como por exemplo o coeficiente de absorção e o índice de refração. A Figura 23 mostra o sinal THz de referência e o sinal detectado após o pulso THz passar por um vidro de espessura 4 mm.

Figura 23: Sinal do pulso THz se propagando no meio de referência (ar) e no vidro.



Fonte: próprio autor.

Observa-se que a intensidade do sinal THz teve uma redução de aproximadamente 1/4 em relação ao sinal de referência. Além disso, percebe-se que o pico do sinal de maior intensidade sofre um deslocamento temporal de aproximadamente 20,5 ps. A diferença de intensidade está relacionada ao coeficiente de absorção do vidro e às reflexões nas superfícies, enquanto que o deslocamento temporal está diretamente relacionado ao índice de refração. Sendo a componente elétrica da radiação THz descrita como $E_r(\omega)$, o campo elétrico $E_a(\omega)$ da onda THz ao atravessar uma amostra de espessura d pode ser expressa por:

$$E_a(\omega) = E_r(\omega)T^2(n^*)\exp[-id(K^*(\omega) - K_0(\omega))] \quad (15)$$

com E_r sendo a amplitude do campo de referência (no ar), $K^* = k_0 + \frac{\omega(n^* - n_a)}{c}$ é o vetor de onda complexo (na amostra), $k_0 = \frac{\omega}{c}$ corresponde ao vetor de onda inicial (no ar), T é a transmitância, ω é a frequência angular em radianos, e n^* é o índice de refração complexo, dado por $n^* = n' - i\alpha$, sendo α o coeficiente de absorção e n' a parte real do índice de refração. Assim a equação 15 pode ser reescrita como:

$$E_a(\omega) = E_r(\omega)T^2(n^*)\exp\left[-id\left(\left(\frac{\omega}{c} + \frac{\omega(n' - n_a)}{c} - \frac{i\alpha}{c}\right) - \left(\frac{\omega}{c}\right)\right)\right] \quad (16)$$

O termo n_a representa o índice de refração do meio de referência (o ar). Assim:

$$\frac{E_a(\omega)}{E_r(\omega)} = T(n^*)\exp\left[-i\left(\frac{\omega(n' - n_a)d}{c} - \frac{i\alpha d}{2}\right)\right] \quad (17)$$

ou ainda,

$$\frac{E_a(f)}{E_r(f)} = T(n^*)\exp\left[\frac{-\alpha d}{d} - \frac{i(n' - n_a)2\pi f d}{c}\right] \quad (18)$$

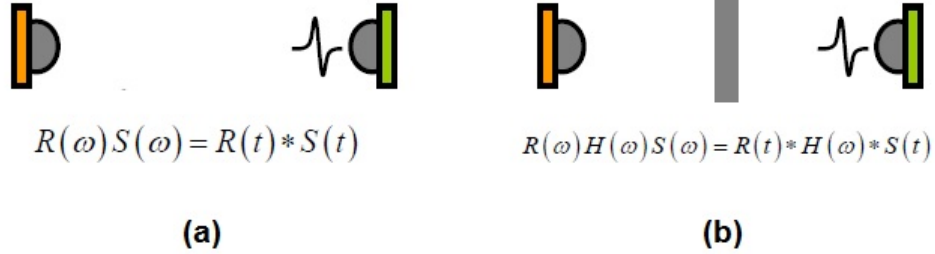
O sinal THz que é medido no receptor é uma convolução das funções de transferência do emissor $R(t)$ e do receptor $S(t)$. A amostra também dá a função de transferência $H(t)$ para o pulso THz medido quando ele é incluído no caminho THz. Logo, o campo elétrico detectado após o pulso THz passar pela amostra em termos do campo gerado é definido pela Equação 19

$$E_a(\omega) = R_0(\omega)S(\omega)H(\omega) = R_0(\omega)S(\omega)e^{-iK^*d} \quad (19)$$

Um diagrama mostrando o efeito da amostra nas funções de transferência no tempo e no

domínio de frequência é mostrado na Figura 24.

Figura 24: Detecção da onda THz no domínio do tempo e da frequência.



Fonte: adaptada de [85].

Semelhantemente, o campo elétrico do sinal de referência é definido como,

$$E_r(\omega) = R_0(\omega)S(\omega)e^{-iK_0^*d} \quad (20)$$

Logo, combinando as Equações 18, 19 e 20, pode-se mostrar que:

$$\frac{E_a}{E_r} = \frac{R_0(\omega)S(\omega)e^{-iK^*d}}{R_0(\omega)S(\omega)e^{-iK_0^*d}} = T(n^*) \exp \left[\frac{-\alpha d}{2} - \frac{i(n' - n_a)2\pi f d}{c} \right] \quad (21)$$

Assim a diferença de fase ($\phi_a - \phi_r$) entre sinais detectados (com e sem amostra no percurso do feixe).

$$-i\phi_a - (-i\phi_r) = -\frac{i(n' - n_a)2\pi f d}{c} \quad (22)$$

E finalmente,

$$n' = n_a + \frac{(\phi_a - \phi_r)c}{2\pi f d} \quad (23)$$

O coeficiente de absorção é obtido a partir da equação:

$$\alpha = -\frac{1}{d} \times \ln \left[\frac{(E_a)^2}{(E_r)^2 \times T^2} \right] \quad (24)$$

sendo $(E_a)^2$ a magnitude do espectro de potência do sinal THz que atravessou a amostra. Da mesma forma, $(E_r)^2$ corresponde ao espectro de potência do sinal THz de referência. Na Equação 24 T corresponde a transmitância do sinal THz para o campo elétrico, dado pela Equação de Fresnel (Equação 25).

$$T^2 = (1 - r)^2 = \left[1 - \left(\frac{n_i \cos(\theta_i) - n_t \cos(\theta_t)}{n_i \cos(\theta_i) + n_t \cos(\theta_t)} \right)^2 \right]^2 \quad (25)$$

Onde r é o coeficiente de refletividade, θ_i e θ_t correspondem aos ângulos de incidência e transmissão, respectivamente. Neste caso, a transmitância é calculada considerando a passagem do pulso THz pela primeira interface (entre o ar e a amostra) e pela segunda interface (entre a amostra e o ar). Se a radiação incidente for perpendicular à interface ($\theta_i = 0$), como consequência direta da lei de Snell, ($\theta_t = 0$). Logo, a equação 25 pode ser escrita de acordo com a relação 26

$$T^2 = \left(\frac{4n \times n_a}{(n + n_a)^2} \right)^2 \quad (26)$$

A partir das Equações 23 e 24 é possível obter informações do índice de refração e coeficiente de absorção do material.

4.3.3 SELEÇÃO E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS ANALISADAS

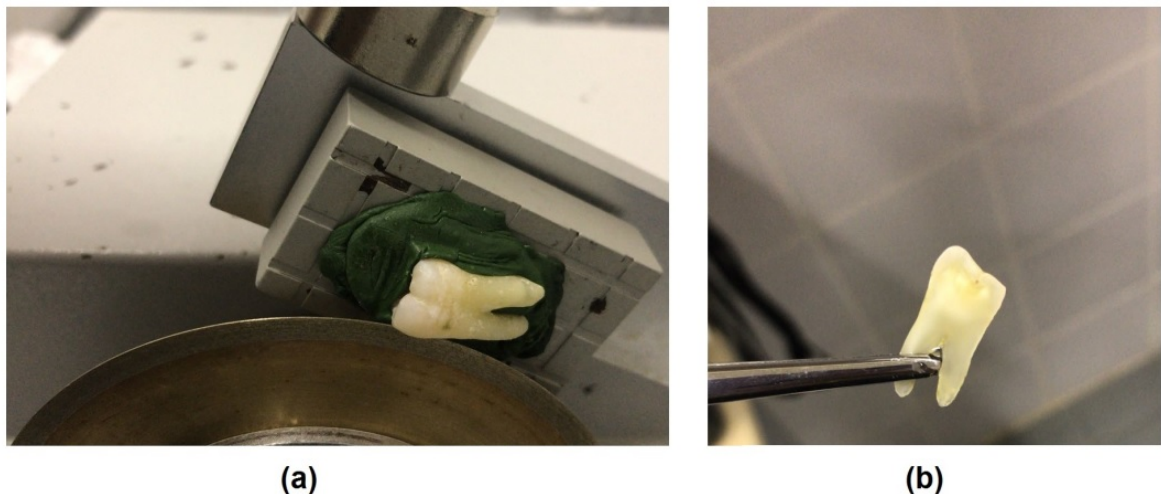
Foram selecionados 20 fatias de dentes humanos recém-extraídos, configurando dentes anteriores, doados por pacientes e obtidos no banco de dentes humanos da Faculdade ASCES ou UFPE. Os dentes foram selecionados de acordo com os critérios abaixo.

- **Critérios de Inclusão** Dentes decíduos e permanentes anteriores e posteriores com superfícies íntegras, podendo apresentar manchas brancas e/ou amarronzadas, com ou sem lesões cariosas cavitadas.
- **Critérios de Exclusão** Dentes restaurados e tratados endodonticamente; com facetas de desgaste oclusal; com fraturas coronoradiculares, reabsorções radiculares e demais situações que impossibilitassem inspeção pelo sistema de THz.

Em seguida, foram obtidas fatias dos dentes selecionados de modo a facilitar a caracterização usando espectroscopia THz das estruturas do dente. Esta etapa do projeto foi realizada no Laboratório de Biofotônica do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco. Cada espécime foi seccionada em fatias com espessuras entre 1, 2 e 3 mm aproximadamente ($\pm 0,2$ mm) no sentido mesiodistal de forma paralela ao longo eixo do dente, determinando, desta maneira, a unidade amostral a ser analisada, totalizando 20 fatias. A Figura 25 mostra o método utilizado para efetuar o seccionamento dos dentes. Logo após o processo

de fatiamento, para tomada dos primeiros espectros, as amostras foram armazenadas em água deionizada e avaliadas no estado úmido. Com o intuito de analisar a diferença entre as amostras úmidas e secas, as fatias correspondente a região da dentina ficaram fora do recipiente com água deionizada por 72 horas a uma temperatura ambiente de 27°C. Durante a caracterização usando o sistema THz, as fatias foram posicionadas entre duas placas de alumínio de dimensões 2,5 cm x 2,5 cm cuja porção central é perfurada em formato circular com diâmetro de 6 mm. Em sequência, as placas foram posicionadas em um suporte e a posição do suporte foi ajustada para que o foco e a intensidade máxima do sinal THz gerado coincidisse com o diâmetro do furo da placa.

Figura 25: (a) Sistema para seccionamento dos dentes; (b) Dente seccionado.

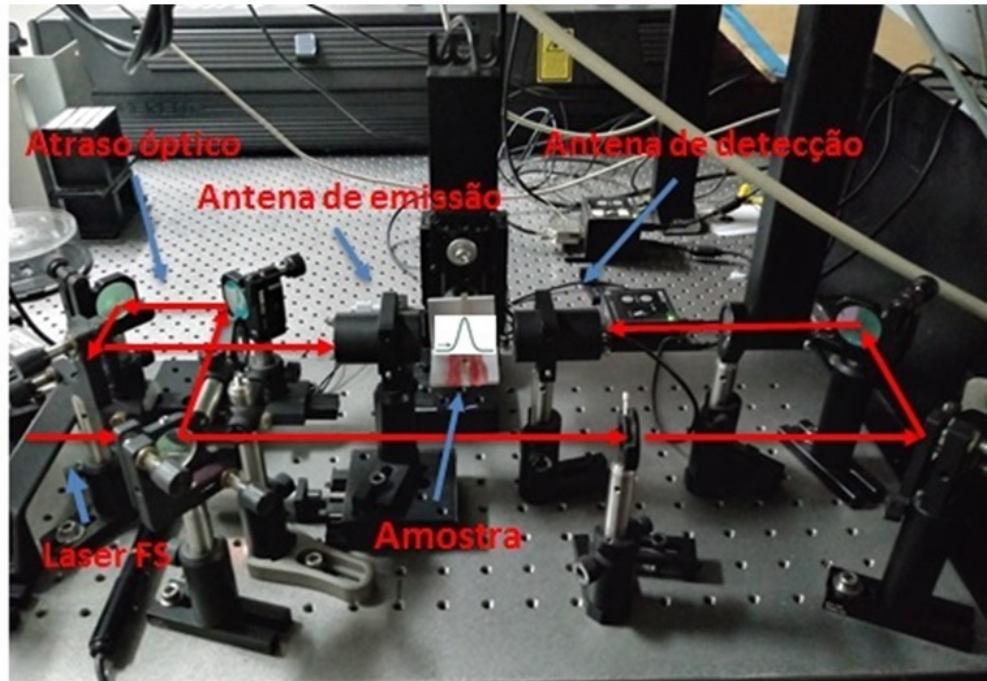


Fonte: Wellington, 2018.

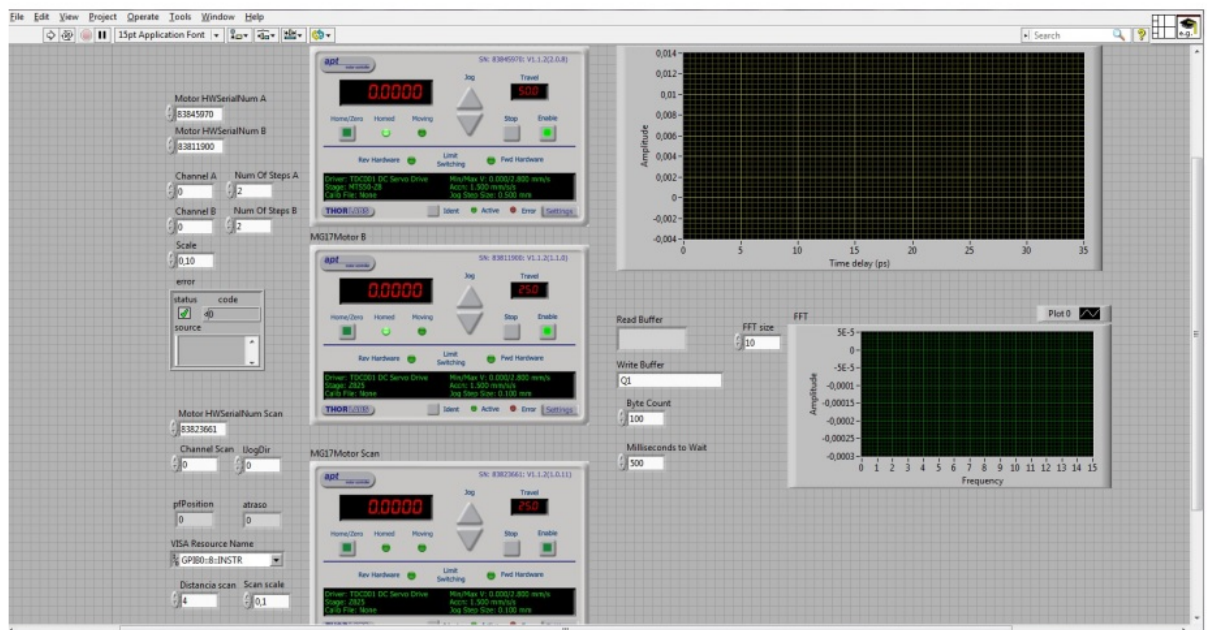
4.3.4 SISTEMA PARA AQUISIÇÃO DE IMAGEM UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA THZ

Utilizando um sistema de espectroscopia THz no domínio do tempo é possível obter imagens 2D por transmissão. O sistema de espectroscopia THz de imagem é construído com foco na localização desejada do objeto a ser capturado. A forma de onda do pulso THz que passa pelo objeto naquele foco pode então ser medido. Ao deslocar o objeto e medir a forma de onda transmitida para cada posição do objeto, uma imagem pode ser construída pixel por pixel. A Figura 27(a) mostra o sistema de espectroscopia THz no domínio do tempo (THz-TD) desenvolvido neste trabalho. A imagem bidimensional que é formada pode ser representada pelos aspectos da forma de onda como amplitude, fase, ou uma combinação dos dois.

Figura 26: (a) Sistema desenvolvido para espectroscopia THz no domínio do tempo; (b) Interface do programa em Labview para espectroscopia THz e aquisição de imagem.



(a)



(b)

Fonte: Wellington, 2018.

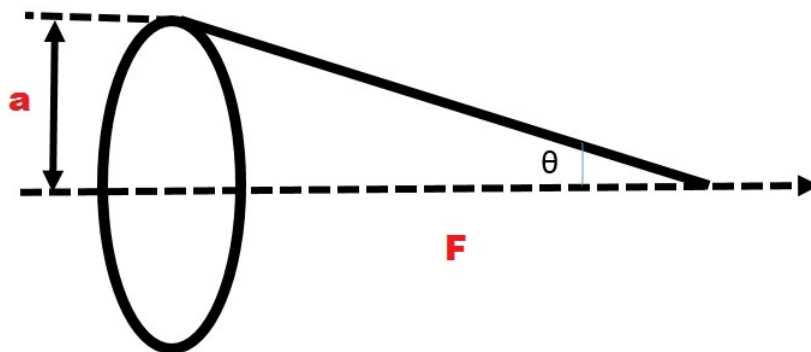
Neste trabalho um sistema para obter imagens 2D por transmissão usando espectroscopia THz no domínio do tempo também foi desenvolvido. Para isso, foi acrescentado ao sistema de espectroscopia THz, dois motores automatizados da thorlabs para deslocar o objeto (transversalmente à direção de propagação do feixe de THz -no plano xy).

A figura 27(b) mostra a interface do programa em Labview desenvolvido para controlar a linha de atraso, o movimento dos motores para deslocar o objeto no plano xy e coletar informações do sinal para cada posição. Para determinar a resolução do sistema de aquisição de imagem, foi capturada a imagem de uma fio de Nylon de diâmetro de 0,5 mm. Inicialmente, uma placa para suporte da amostra (placa de alumínio com dimensões de 2,5 cm x 2,5 cm e com um furo no centro de diâmetro 6 mm) foi posicionada na região do foco do feixe. Em seguida o fio foi posicionado no centro do orifício e o programa foi ajustado para deslocar o suporte com o fio por uma área de 6 x 6 mm, dando 60 passos de 0,1 mm. Em um sistema de imagem com duas lentes iguais com abertura numérica (NA), a resolução é dada por [87]:

$$d = \frac{0,5 \cdot \lambda}{NA} = \frac{0,5 \cdot c}{NA \cdot f} \quad (27)$$

sendo d a resolução espacial do sistema, c a velocidade da luz no vácuo e λ o comprimento de onda associado a frequência (f) da radiação THz gerada. A distância focal (F) e o raio (a) das lentes usadas no sistema de espectroscopia THz desenvolvido neste trabalho são apresentadas na Figura 27. Logo, a abertura numérica é definida como $NA = a \cdot \sin(\theta)$.

Figura 27: Distância focal das lentes usadas no sistema de espectroscopia na região do THz.



Fonte: Wellington, 2018.

As lentes usadas possuem um diâmetro de aproximadamente 2 cm, dessa maneira, a abertura numérica depende apenas da distância focal da lente. A tabela 3 mostra a resolução (d) e abertura numérica para lente com diferentes distâncias focais.

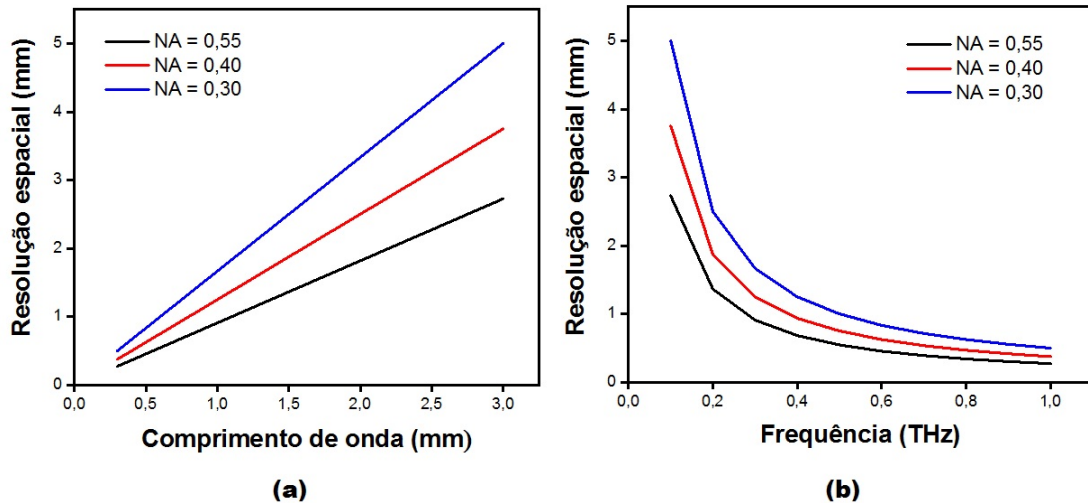
Tabela 3: Resolução espacial e abertura numérica em função da distância focal da lente.

| Distância focal (F) | (NA) | Resolução |
|---------------------|------|---------------------------|
| 1,5 cm | 0,55 | $(\frac{10}{11}).\lambda$ |
| 2,5 cm | 0,40 | $(\frac{5}{4}).\lambda$ |
| 3,0 cm | 0,30 | $(\frac{5}{3}).\lambda$ |

Fonte: Wellington, 2018.

Considerando que a frequência THz gerada se estende de 0,1 THz a 1,0 THz, é possível avaliar o comportamento da resolução espacial do sistema (d) em função do comprimento de onda (λ) e da frequência (f) como é mostrado na Figura 28. Nas antenas PCA foram adaptadas lentes com comprimento focal de 3 cm para focalizar e capturar a radiação de THz. Isso significa que, de acordo com os gráficos da Figura 28, a resolução espacial máxima do sistema está em torno de $d \approx 5,0$ mm. Logo, a resolução espacial do sistema está limitada pela largura do feixe do sinal THz gerado.

Figura 28: Resolução espacial do sistema: (a) em função do comprimento de onda; (b) em função da frequência.



Fonte: Wellington, 2018.

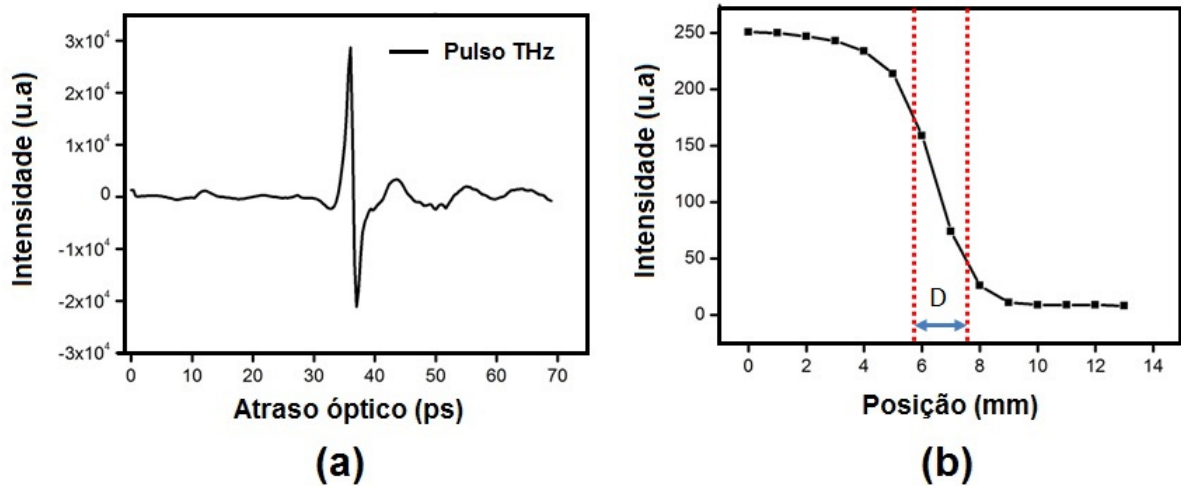
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 CARACTERÍSTICAS DE PULSO THZ

A Figura 29(a) mostra o pulso THz em função do atraso de tempo, obtido pelo sistema desenvolvido neste trabalho. Observa-se que a largura do pulso do sinal gerado é aproximadamente 3 ps. Na caracterização da cintura mínima do feixe de THz foi utilizada a

“técnica de faca”, na qual um anteparo é transladado transversalmente ao feixe de THz. A largura espacial do feixe de THz foi obtida detectando a intensidade do sinal em função da posição do anteparo (“faca”). O gráfico da Figura 29(b) mostra o decaimento do sinal detectado em função da posição. A análise gráfica mostra que cintura mínima do feixe de THz tem uma largura espacial em torno de $D = 2$ mm.

Figura 29: (a) Pulso do sinal THz gerado pelo sistema desenvolvido neste trabalho; (b) Intensidade do sinal em função da posição.

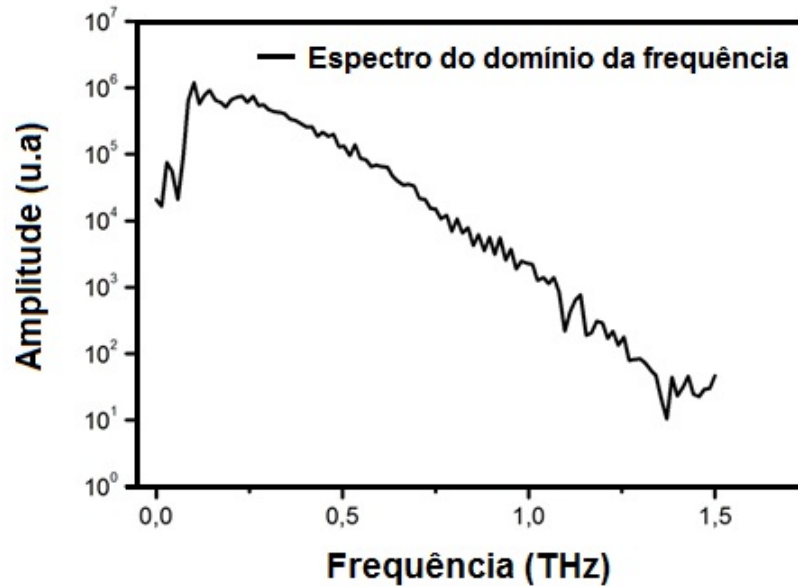


Fonte: Wellington, 2018.

4.4.2 ESPECTROSCOPIA THz NO DOMÍNIO DA FREQUÊNCIA

Para obter informações do comportamento do sinal THz em função da frequência, faz-se necessário o uso da Transformada Rápida de Fourier (FFT), que produz informação sobre a intensidade do sinal em função da frequência. Logo, com o sistema desenvolvido pode-se obter informações sobre a radiação THz gerada pela antena fotocondutiva tanto em função do atraso temporal, quanto em função da frequência do sinal. A Figura 30 mostra a amplitude do sinal do pulso de THz da Figura 29(a) em função da frequência. Observa-se que o pulso THz gerado apresenta frequências THz no intervalo de 0 a 1,50 THz.

Figura 30: Espectro no domínio da frequência do sinal THz.

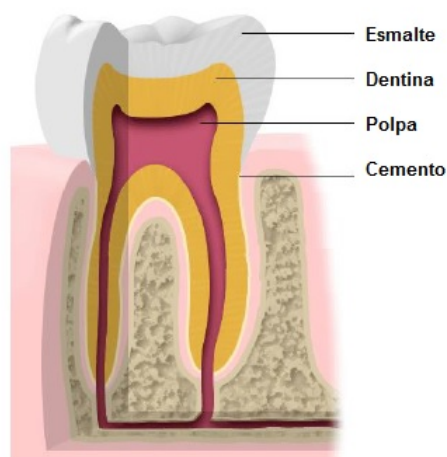


Fonte: Wellington, 2018.

4.4.3 AVALIAÇÃO DE ESTRUTURAS DENTÁRIAS USANDO ESPECTROSCOPIA THZ

A estrutura do dente é composta de quatro partes principais: o esmalte, a dentina, o cimento, e a polpa, como mostrado na Figura 31.

Figura 31: Tecidos do dente.



Fonte: Adaptada de [92].

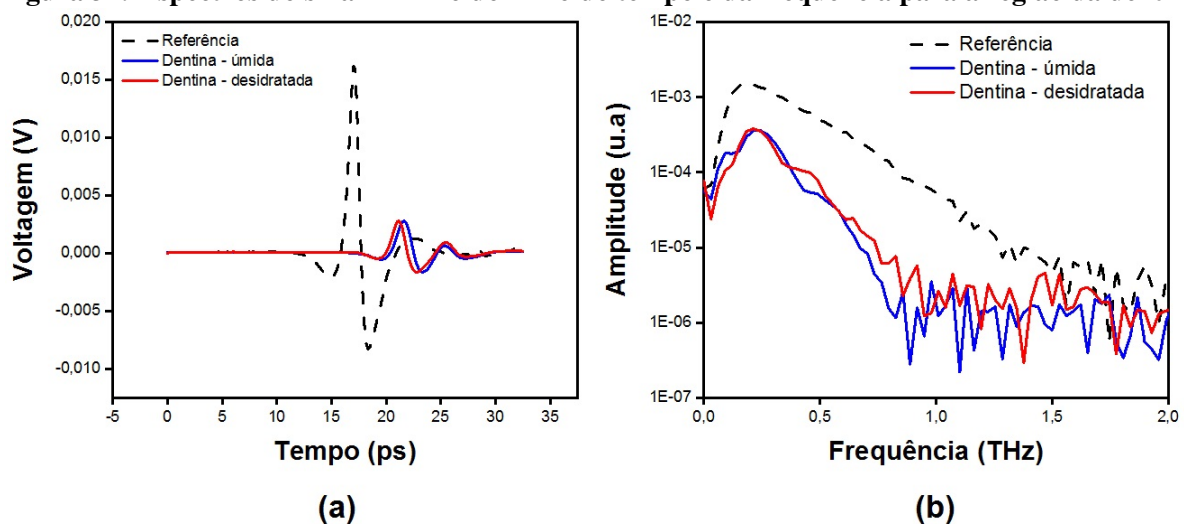
Os materiais que compõem essas partes são diferentes o que causa a diferença entre as propriedades espectroscópicas desses tecidos como o índice de refração e o coeficiente de absorção. Aqui serão avaliadas apenas as estruturas referente às regiões do esmalte e da dentina

do dente usando espectroscopia THz no domínio do tempo. Os espectros do sinal THz dessas regiões foram coletados e a análise dos dados obtidos, tanto no domínio do tempo quanto da frequência, possibilitaram a caracterização dessas estruturas de acordo as suas propriedades físicas específicas. Além disso, estruturas dentárias com cáries também foram analisadas e caracterizadas utilizando o sistema de espectroscopia THz. Sabe-se que a cárie é um resultado da perda mineral do esmalte, e isso causa uma mudança no índice de refração dentro do esmalte. A mudança no índice de refração significa que pequenas lesões, menores que as detectadas a olho nu, podem ser detectadas [88].

4.4.3.1 CARACTERIZAÇÃO DA DENTINA

Inicialmente foram avaliadas 10 fatias de dentes referentes a região da dentina com espessuras média de $d \approx 1,20 \text{ mm} \pm 0,02 \text{ mm}$ correspondente a região da dentina. A análise das medidas dos espectros, considerando as amostras úmidas e desidratadas, também foram avaliadas nesta primeira etapa. A Figura 32 mostra a intensidade do sinal THz de transmissão da região da dentina em função do tempo e a amplitude deste sinal em função da frequência. Os gráficos correspondem a uma média do sinal transmitido das 10 fatias correspondente a região da dentina.

Figura 32: Espectros do sinal THz no domínio do tempo e da frequência para a região da dentina.



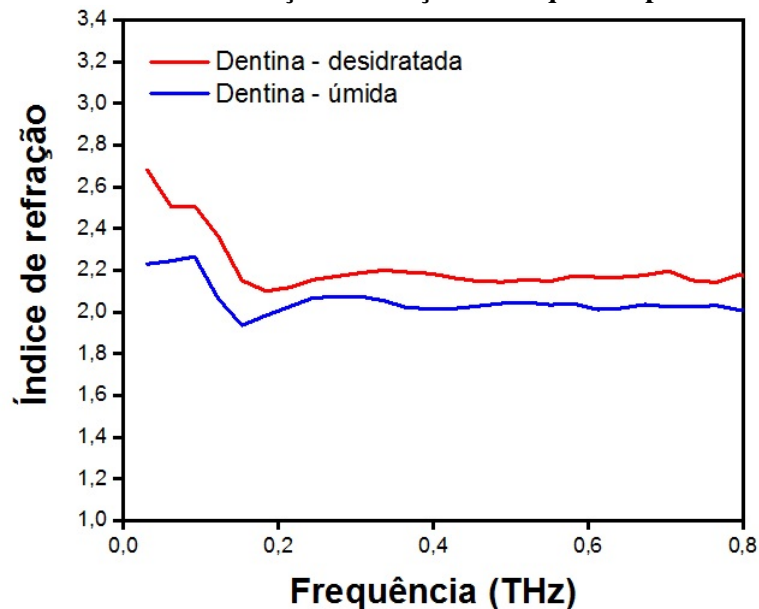
Fonte: Wellington, 2018.

O gráfico 32(a) mostra a intensidade do sinal THz transmitido pela amostra úmida e desidratada em relação ao pulso do sinal THz de referência. Observa-se que o pico do pulso do sinal transmitido sofre um deslocamento temporal de 4,6 ps e 4,2 ps para as amostras úmidas e

desidratadas, respectivamente. Esse deslocamento no tempo, em relação ao sinal de referência, é diretamente relacionado ao índice de refração do material. Usando a Equação 23, é possível obter o índice de refração em função da frequência como mostra a Figura 33.

Considerando o índice de refração do ar em torno de $n_a \approx 1$ e a espessura média da região analisada ($d \approx 1,20$ mm), os valores médios para o índice de refração da dentina no estado úmido e seco são 2,05 e 2,15, respectivamente. Estes valores foram determinados em um ambiente com temperatura em torno de 24°C e umidade relativa do ar de 64% e estão próximos aos que são encontrados na literatura para a região da dentina [90].

Figura 33: Índice de refração em função da frequência para a dentina.



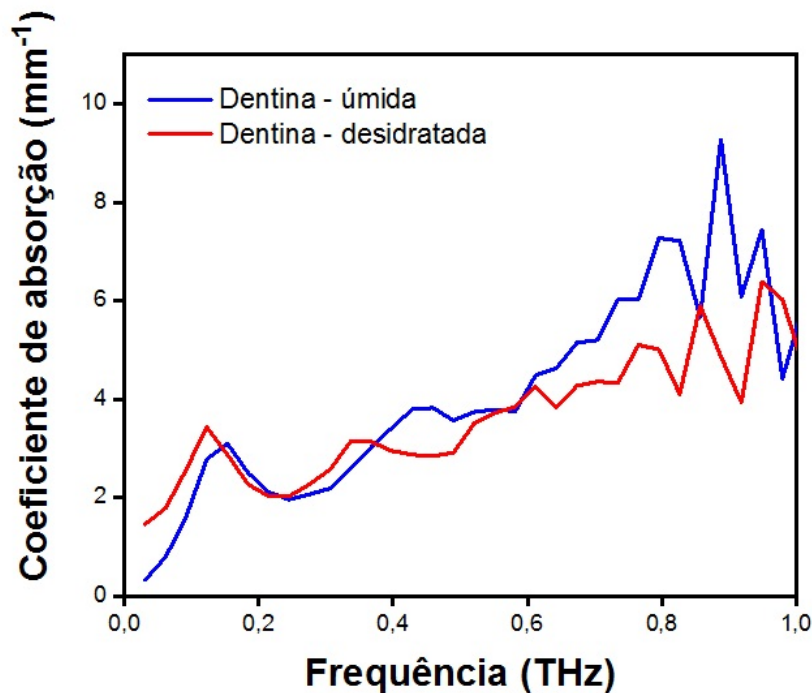
Fonte: Wellington, 2018.

Os resultados mostram que as amostras úmidas apresentam menor índice de refração em relação as amostras desidratadas. A mudança no índice de refração, após a amostra ter secado, é por causa da absorção devido ao teor de água nas amostras úmidas. Logo, as amostras úmidas apresentam maior potência de absorção do que as amostras desidratadas. Isto pode ser observado analisando a Figura 34.

Observa-se que a região da dentina úmida possui maior coeficiente de absorção [91]. Isto ocorre devido a maior concentração de água nestas amostras, uma vez que as moléculas de água são grandes absorvedoras de radiação na faixa do THz. Dessa maneira, as amostras úmidas apresentam menor índice de refração e maior coeficiente de absorção em comparação com as amostras desidratadas, o que é esperado devido as propriedades físicas do líquido. Além disso, verifica-se que a região da dentina apresenta picos de absorção em frequências diferentes

quando levamos em consideração o estado da amostra (úmida ou seca). O gráfico acima mostra que a região da dentina úmida tem picos de absorção nas frequências em torno de 0,2 THz, 0,5 THz e entre 0,8 - 0,9 THz, que também podem ser observados na referência [90]. Já as amostras desidratadas, apresentam picos de absorção em frequências próximas a 0,1 THz, 0,35 THz e entre 0,65 – 0,9 THz.

Figura 34: Coeficiente de absorção para a dentina.



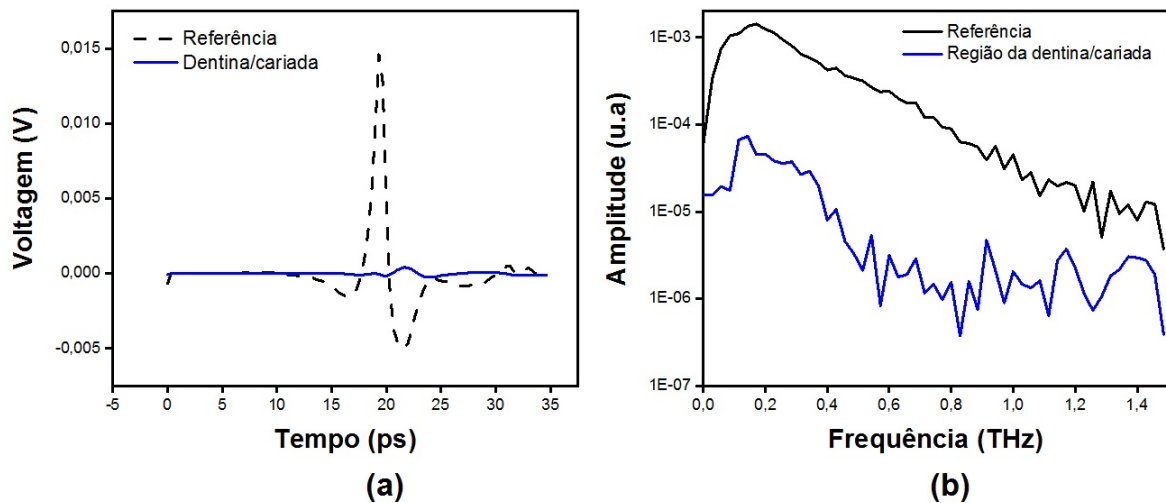
Fonte: Wellington, 2018.

Foram analisadas também 04 fatias de dentes, diferentes das anteriores analisadas, com regiões cariadas ambas úmidas e sobre a região da dentina. A espessura média das fatias dos dentes analisados foi de $d \approx 1,8$ mm. Os gráficos abaixo mostram a intensidade e a amplitude do sinal THz transmitido. O deslocamento temporal para a região com cárie sobre a dentina foi em torno de $\Delta t \approx 2,3$ ps em relação ao sinal de referência. Logo, o índice de refração médio para essa região é aproximadamente $n \approx 1,40$.

Este resultado mostra que a presença de regiões com cáries alteram o índice de refração do meio. Dessa maneira, o uso da radiação THz pode contribuir para detectar precocemente regiões cariadas na estrutura do dente, através da observação na mudança do índice de refração da região analisada. Além disso, outra maneira possível de detectar regiões cariadas no dente, é através da análise do coeficiente de absorção do meio. A análise do gráfico 35(b) mostra que as regiões com cáries são regiões de grande absorção [91]. Para as fatias de dentes com

cáries, a região de grande absorção da radiação THz ocorreu em torno de 0,6 THz. Ou seja, para frequências acima desse valor (frequência de corte), não foi possível observar o sinal THz da mostra, sendo detectado pelo sistema de espectroscopia apenas ruído.

Figura 35: Índice de refração e absorção para região da dentina com cáries.



Fonte: Wellington, 2018.

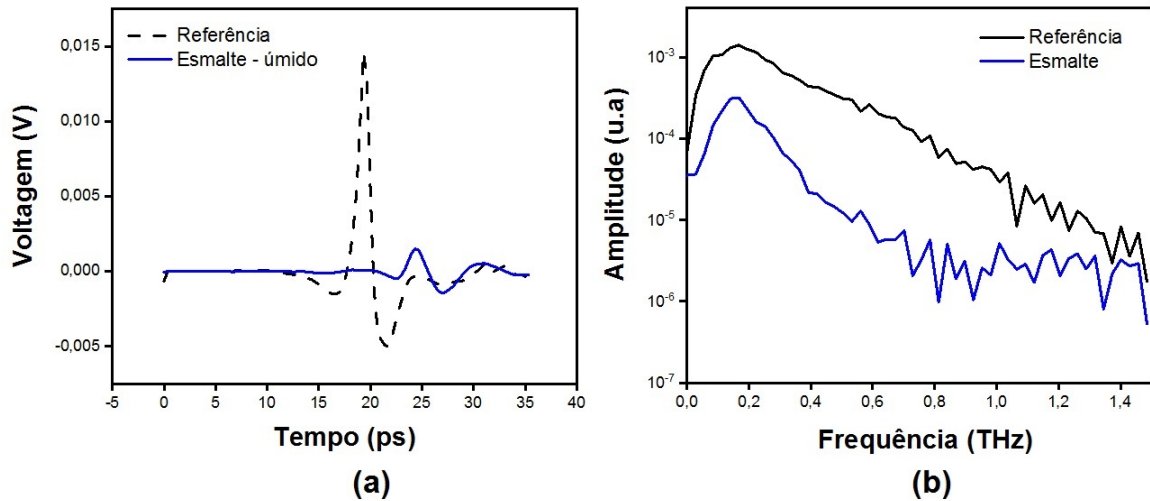
4.4.3.2 CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO DO ESMALTE

Análises semelhantes foram obtidas para região do esmalte. Para análise dessa região foram avaliadas 6 fatias (todas úmidas), com espessura média de 1 mm. O gráfico 36(a) mostra a intensidade do sinal THz transmitido por essa região em função do tempo e a amplitude do sinal em função da frequência. O deslocamento temporal para a região do esmalte foi aproximadamente $\Delta t \approx 6,0$ ps. O gráfico 37(a) mostra a dependência do índice de refração em função da frequência para a região do esmalte. O índice de refração médio para o esmalte considerando um ambiente com temperatura em torno de 24°C e umidade relativa do ar de 64% é de aproximadamente $n_e \approx 2,8$.

O valor do índice de refração do esmalte, encontrado na literatura atual, varia entre 2,7 e 3,1 [90, 92], o que mostra que o valor determinado pelo sistema de espectroscopia THz desenvolvido neste trabalho está dentro de um valor aceitável. Comparando os valores do índice de refração com os obtidos para a região da dentina, verifica-se que o índice de refração do esmalte é maior que o índice de refração da dentina. Isto induz um maior deslocamento temporal do pulso transmitido pelo esmalte em relação ao deslocamento temporal da dentina [90, 92]. Essa diferença no índice de refração deve-se a composição química desses tecidos. O esmalte é composto predominantemente por minerais, sendo a hidroxiapatita (índice de refração $n =$

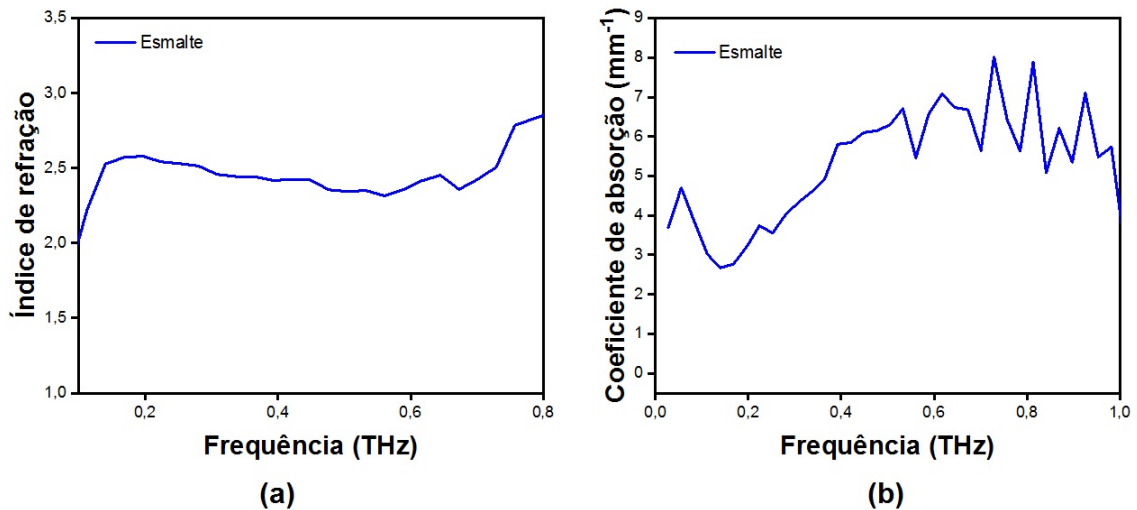
1,62) o principal mineral presente nessa estrutura. Já a região da dentina é predominantemente composta por estruturas orgânicas, sendo o colágeno (índice de refração $n = 1,40$) o principal elemento presente neste tecido [93].

Figura 36: Espectros do sinal THz no domínio do tempo e da frequência para a região do esmalte.



Fonte: Wellington, 2018.

Figura 37: Índice de refração e absorção para o esmalte.



Fonte: Wellington, 2018.

Os gráficos 36(b) e 37(b) apresentam a intensidade da amplitude do sinal THz transmitido pela região do esmalte e o coeficiente de absorção para esta região. Em ambos os gráficos percebem-se picos de absorção bem específicos, com frequências em 0,3 THz e entre 0,6 - 1,0 THz. Este resultado apresenta mais uma diferença nas propriedades físicas dos tecidos

dentina e esmalte do dente. Como visto anteriormente, região da dentina úmida apresenta picos de absorção bem específicos nas frequências 0,2 THz, 0,5 THz e entre 0,8 e 0,9 THz.

4.4.4 AQUISIÇÃO DE IMAGEM UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA THZ

A Figura 38 mostra imagem de um fio de 0,5 mm obtida usando o sistema de THz. Pela imagem da Figura 38, o fio tem um diâmetro de aproximadamente 2 mm. Dessa maneira, a resolução do sistema é em torno de 2 mm. Cada pixel da imagem carrega informação spectral do feixe de THz. O resultado obtido mostra que a resolução do sistema para espectroscopia THz está dentro do limite apresentado no gráfico da Figura 28 discutido na seção 4.3.4.

Figura 38: Imagem de um fio com diâmetro de 0,5 mm obtido com o sistema de espectroscopia THz.



Fonte: Wellington, 2018.

4.5 CONCLUSÃO

Foi construído um sistema de espectroscopia THz no domínio do tempo que permitiu caracterizar tecidos dentários (esmalte e dentina), determinando o índice de refração e coeficiente de absorção das amostras estudadas. Além disso, foi verificado que tecidos cariados são regiões de grande absorção de radiação THz e provocam a mudança no índice de refração da estrutura na qual eles estão inseridos. O sistema de geração de imagens desenvolvido, possibilita a obtenção de imagens espectrais para avaliar a estrutura de diferentes materiais que apresentam respostas espectrais dentro da faixa de frequência de 0,1 a 1,0 THz. Particularmente, pretende-se obter imagens de dentes, identificando os diferentes tecidos, tais como a dentina e esmalte.

5 CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS

• Conclusão

Neste trabalho desenvolveram-se técnicas de imagens espectrais para a avaliação e caracterização de tecidos biológicos. Uma nova abordagem para avaliação de intensidade relativa de cores usando telefones móveis foi apresentada, eliminando o uso de calibradores de cor. O método auto-referenciado proposto foi avaliado sob diferentes condições de iluminação e usando quatro telefones celulares distintos. Na análise dos canais de cores (RGB) para diferentes padrões de cor (verde, vermelho e azul), não foi observado mais de 3,5% de desvio nos valores de cores relativas obtidos por quatro telefones celulares diferentes, indicando que o procedimento de avaliação de cores proposta é fracamente dependente do dispositivo de imagem utilizado. Além disso, foi verificado que os parâmetro de intensidade de cor relativa (r, g e b) podem ser usados para detectar diferença de cor entre duas regiões desde que $r_t \approx 1,01 \implies |R_{int} - R_{ref}| > 5$, $g_t \approx 1,00 \implies |G_{int} - G_{ref}| > 1$ e $b_r \approx 1.03 \implies |B_{int} - B_{ref}| > 5$. Contudo, esses parâmetros apresentam ótima correlação com os valores reais medidos por um colorímetro quando é analisada apenas a intensidade de cor relativa entre duas regiões. Foram obtidas correlações de $R^2 = 0,987$, $R^2 = 0,986$ e $R^2 = 0,986$ para os parâmetros r, g e b, respectivamente, obtidos com smartphones e colorímetro. Como aplicação do método, foi avaliado o processo de adsorção química de moléculas de Cisteamina em superfícies de nanopartículas de ouro. Neste caso, foi utilizado o parâmetro r para avaliar a mudança na cor do coloide (água + ouro + Cisteamina) devido a adsorção da cisteamina.

O método também foi explorado na avaliação da coloração da mucosa ocular de ratos e cães, com consequente determinação da concentração de hemoglobina dos animais estudados. Para este estudo, anemia aguda foi induzida em um grupo de 15 ratos Wistar jovens e análise clínica foi realizada em um grupo de 30 cães. Os resultados obtidos indicam a possibilidade de explorar o método em procedimentos de rotina de clínicas veterinárias. Além disso, foram obtidas informações sobre a concentração de hemoglobina no sangue de maneira não invasiva tendo uma correlação entre a

concentração de hemoglobina obtida pelo hemogram (método automatizado) e pelo os *smartphones* de $R^2 \approx 0,80$ e $R^2 \approx 0,85$ para os ratos e cães, respectivamente.

Além disso, nesta tese foi desenvolvido um sistema para espectroscopia THz no domínio do tempo utilizando antenas fotocondutivas. A espectroscopia de diferentes tecidos do dente foi realizada analisando o pulso de THz transmitido. Foi possível caracterizar e diferenciar a região do esmalte e da dentina do dente através da análise do índice de refração e do coeficiente de absorção. Os resultados mostraram que essas estruturas apresentam picos de absorção em frequências bem específicas na faixa do THz, com a dentina absorvendo radiação THz nas frequências 0,2 THz, 0,5 THz e 0,8-0,9 THz e o esmalte nas frequências 0,3 e 0,6-0,8 THz. Outro fator importante observado foi que regiões do dente com cárie apresentam grande absorção de radiação THz o que torna a avaliação dessas regiões bem característica além de que, tecidos do dente cariado, apresentam uma mudança significativa no índice de refração. Logo, é possível diagnosticar regiões cariadas no dente de maneira precoce analisando mudança no índice de refração e coeficiente de absorção do tecido. Aqui também foi construído um sistema THz de imagem espectral. O sistema desenvolvido possui resolução espacial ≈ 2 mm.

● **Perspectivas**

Diversas aplicações envolvendo mudança de cor que podem ser explorados usando o método colorimétrico de intensidade de cor relativa descrito neste trabalho. Por exemplo, na área de odontologia, em alguns procedimentos o cirurgião dentista necessita escolher a resina que melhor se adequa a cor do dente do paciente. Normalmente este procedimento é realizado pela inspeção visual, tendo como referência uma tabela de cor, o que resulta em um processo lento e limitado. O uso de *smartphones* para determinar a melhor resina a ser utilizada baseando-se na cor do dente pode fornecer resultados mais rápidos e eficientes. Já na área médica, uma etapa importante e que pode ser desenvolvida em outros trabalhos, seria determinar a concentração de hemoglobina presente no sangue de humanos usando o método proposto e comparar com resultados obtidos através dos hemogramas. Ou seja, uso de telefones móveis como instrumentos para avaliação colorimétrica de sistemas biomédicos é uma área importante e de extrema expansão.

O sistema de THz desenvolvido nesta tese possibilita o início de vários estudos espectrais ainda não abordados na literatura científica. Um fator interessante e que pode ser explorado em outros trabalhos, seria analisar os parâmetros físicos (índice de refração e coeficiente de absorção) dessas estruturas dentárias em função da temperatura. No entanto, para se obter resultados precisos, é necessário ter um maior controle sobre a

temperatura e umidade relativa do ar. Isto pode ser obtido isolando todo o sistema em uma caixa de acrílico e acrescentando dispositivos (como aquecedores resistivos e sensores de temperatura e umidade) que possam variar e medir a temperatura e umidade.

A obtenção de imagens espectrais usando o sistema para espectroscopia THz no domínio do tempo desenvolvido neste trabalho também pode ser foco de trabalhos futuros. Toda a plataforma (sistema de espectroscopia THz + sistema para aquisição de imagem) para obtenção e avaliação de imagens em diferentes frequências foi feita nesta tese. Contudo, é necessário realizar pequenos ajustes afim de determinar com mais facilidade a posição do foco, onde deve ser posicionada a amostra, e melhorar a resolução do sistema. Em particular, imagens espectrais do dente são de interesse para a odontologia, uma vez que podem possibilitar avaliação precoce de lesões nos diferentes tecidos do dente (dentina, esmalte, cemento e polpa).

REFERÊNCIAS

- [1] M.N. Berberan e Santos, **Espectroscopia (Princípios de química-física)**, Técnico Lisboa, Lisboa, Portugal, Março de 2018.
- [2] Kepler de Souza e Maria de Fátima, **Espectroscopia**, disponível em: <http://astro.if.ufrgs.br/rad/espec/espec.htm>, acesso em: 29/05/2018.
- [3] Tuan Vo-Dinh, **Biomedical Photonics Handbook**, Vol. 03, Ed. 02, CRC PRESS, New York, USA, Julho de 2014.
- [4] Mary E. Dickinson e Michael W. Davidson, **Education in Microscopy and Digital Imaging**, disponível em: <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/espectralimaging/introduction.html>, acesso em: 29/05/2018.
- [5] Atsushi Kuriyama e Yukihiro Ozaki, **Assessment of Active Pharmaceutical Ingredient Particle Size in Tablets by Raman Chemical Imaging Validated using Polystyrene Microsphere Size Standards**, AAPS PharmSciTech, Vol. 15, No. 02, Abril de 2014.
- [6] Tomas Svensson, **Pharmaceutical and Biomedical Applications of Spectroscopy in the Photon Migration Regime**, Tese de doutorado, Lund University, Lund, Suécia, março de 2008.
- [7] Marena Manley, **Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials**, Chem. Soc. Rev., 43, 8200-8214, 2014.
- [8] Cullen, P.; Edelman, G. J.; Van Leeuwen, T. G.; Aalders, M. C. e Gaston, E, **Hyperspectral Imaging for Non-Contact Analysis of Forensic Traces**, Forensic Science International, 22nd, Outubro de 2012.
- [9] Onofrio M. Maragò; Philip H. Jones; Pietro G. Gucciardi; Giovanni Volpe; e Andrea C. Ferrari, **Optical trapping and manipulation of nanostructures**, Nature nanotechnology, VOL 8, novembro de 2013.
- [10] Valery V. Tuchin, **Handbook of Photonics for Biomedical Science**, CRC Press, 2014.
- [11] Laura Marcu, Paul M. W. French, Daniel S. Elson, **Fluorescence Lifetime Spectroscopy and Imaging: Principles and Applications**, CRC Press, 2015.
- [12] Silas J. Leavesley; Mikayla Walters; Carmen Lopez; Thomas Baker; Peter F. Favreau; Thomas C. Rich; Paul F. Rider; e Carole W. Boudreaux, **Hyperspectral imaging fluorescence excitation scanning for colon cancer detection**, Journal Biomedical Optics, outubro de 2016.
- [13] Aaron M. Katzenmeyer; Glenn Holland; Kevin Kjoller and Andrea Centrone, **Absorption spectroscopy and imaging from the visible through mid-infrared with 20 nm resolution**, disponível em: <https://ws680.nist.gov/publication/getpdf.cfm?pubid=917528>, acesso: 03/02/2018.

- [14] Qifeng Li; Xiangyun Ma; Huijie Wang; Yang Wang; Xinwei Zheng e da chen, **Speeding up Raman spectral imaging by the three-dimensional low rank estimation method**, Optics Express, Vol. 26, No. 1, Janeiro de 2018.
- [15] Josette El Haddad; Bruno Bousquet; Lionel Canioni e Patrick Mounaix, **Review in terahertz spectral analysis**, Trends in Analytical Chemistry, Elsevier, 44, 98-105, 2013.
- [16] Stantchev, R. I.; Sun, B.; Hornett, S. M.; Hobson, P. A.; Gibson, G. M.; Padgett, M. J.; e Hendry, E., **Non-invasive, near-feld terahertz imaging of hidden objects using a single pixel detector**, Sci Adv, junho de 2016.
- [17] Gowena, A.A.;C. O’Sullivan, C.; e O’Donnella, C.P., **Terahertz time domain spectroscopy and imaging: Emerging techniques for food process monitoring and quality control**, trends in Food Science Technology, 25, 40-46, 2012.
- [18] Maxim Nazarov; Alexander Shkurinov; Valery V. Tuchin; end X.-C. Zhang, **Terahertz Tissue Spectroscopy and Imaging**, Handbook of Photonics for Biomedical Science, CRC PRESS, New York, 2010.
- [19] Hongying Zhu, Ikbal Sencan, Justin Wong, Stoyan Dimitrov, Derek Tseng, Keita Nagashimaa, Aydogan Ozcan,**Cost-effective and rapid blood analysis on a cellphone**, Lab on a Chip, 2013, 13, 12821288.
- [20] Erika A. Tyburski, Scott E. Gillespie, **Disposable platform provides visual and color-based point-of-care anemia self-testing**, The Journal of Clinical Investigation, Volume 124, 2014.
- [21] A. García, M.M. Erenas, E. D. Marinetto, C. A. Abad, I. de Orbe-Paya, A. J. Palma, L. F. Capitán-Vallvey, **Mobile phone platform as portable chemical analyzer**, Sensors and Actuators B: Chemical, 2011, 156 (350359).
- [22] A. Gebejes, I. Tomic, I. Karlovic, I. Juric, **Evaluation of the algorithms for recovering reflectance from virtual digital camera response**, Journal of Graphic Engineering and Design, Vol. 3(2), 2012.
- [23] Cleve, E., Bach, E. and Schollmeyer, E., **Using chemometric methods and NIR spectrophotometry in the textile industry**, Analytica Chimica Acta, 420, 163–167, (2000).
- [24] Yin, Y., Cao, Y., Xu, Y. and Li, G., **Colorimetric immunoassay for detection of tumor markers. International Journal Molecular sciences**, 11, 5077–5094, (2010).
- [25] Xing, J., Ngadi, M., Gunenc, A., Prasher, S. and Garipey, C, **Use of visible spectroscopy for quality classification of intact pork meat**, Journal of Food Engineering, 82, 135–141, (2007).
- [26] Zhang, C. and Suslick, K. S., **A colorimetric sensor array for organics in water**, Journal of the American chemical society, 127, 11548–11549, (2005).
- [27] Catch Color Free APK, **Aplicativo para smartphone**, disponível em: <https://apkpure.com/catch-color-free/cesnow.tools.CatchColorLite>, acesso em 15/01/2017.
- [28] Color Grab, **Aplicativo para smartphone**, disponível em: <http://www.loomatix.com/>, acesso em 16/01/2017.

- [29] LifeDropper APK, **Aplicativo para *smartphone***, disponível em: <https://apkpure.com/br/lifedropper/ca.bitjutsu.lifedropper>, acesso em 15/01/2017.
- [30] Kim, H., Awofeso, O., Choi, S., Juang, Y. and Bal, E., **Colorimetric analysis of saliva–alcohol test strips by *smartphone*-based instruments using machine-learning algorithms**, *Applied Optics*, 56, 84-92, (2017).
- [31] Ilja, z., **colour management using mobile phone camera. bachelor’s thesis**, helsinki metropolia university of applied sciences, Filand,(2013).
- [32] Shin, J., Choi, S., Yang, J., Song, J., Chui, J. and Juang, H., **Smart forensic phone: colorimetric analysis of a bloodstain for age estimation using a *smartphone***, *Sensors and actuators B*, 243, 221–225, (2017).
- [33] Xu, W., Lu, S., Chen, Y., Zhao, T., Jiang, Y., Wang, Y. and Chen X., **Simultaneous color sensing of O₂ and pH using a *smartphone***, *Sensors and actuators B*, 220, 326–330, (2015).
- [34] Zachary, J.S., Kaiqin, C., Alyssa, R.E., Mehdi, R., Amy, G., Marco, M., Denis, M.D., Stephen, L., Dennis, M. and Sebastian, W.H., **Cell-phone-based platform for biomedical device development and education applications**, *PLoS ONE*, 6, 1–11, (2011).
- [35] Sewoong, K., Dongrae, C., Jihun, K., Manjae, K., Sangyeon, Y., Jae, E.J., Minkyu, J., Dong, H.L., Boreom, L., Daniel, L.F. and Jae, Y.H., ***smartphone*-based multispectral imaging: system development and potential for mobile skin diagnosis**, *Biomedical Optics Express*, 7, 5294-53071, (2016).
- [36] Karthik, R.K., Surya, C. and Michael, G., **mHealth Dipstick Analyzer for Monitoring of Pregnancy Complications**, *IEEE Sensors Journal*, 17, 7311-7316, (2017).
- [37] Sandeep, K.V., Thomas, V.O., Marion, S., Roland, Z., Felix, V.S., John, L., **A *smartphone*-based colorimetric reader for bioanalytical applications using the screen-based bottom illumination provided by gadgets**, *Biosensors and Bioelectronics*, 67, 248-255, (2015).
- [38] Brandon, B., Bingen, C., Derek, T., Haydar, O., Steve, F., Qingshan, W., et al., **Cellphone-Based Hand-Held Microplate Reader for Point-of-Care Testing of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays**, *Asc Nano*, 9, 7857–7866, (2015).
- [39] Wang, Y., Liu, X., Chen, P., Tran, N.T., Zhang, J., Chia, W.S., et al., ***smartphone* spectrometer for colorimetric biosensing**, *Analyst*, 141, 3233-3238, (2016).
- [40] Yetisen, A.K., Martinez-Hurtado, J.L., Garcia-Melendrez, A., Vasconcelos, F.C. And Lowe, C.R., **A *smartphone* algorithm with inter-phone repeatability for the analysis of colorimetric tests**, *Sensors and Actuators B*, 196, 156–160. (2014).
- [41] Mathaweesansurn, A., Maneerat, N. and Choengchan, N., **A mobile phone-based analyzer for quantitative determination of urinary albumin using self-calibration approach**, *Sensors and Actuators B*, 24: 476–483, (2017).
- [42] Sumriddetchkajorn, S., Chaitavon, K. and Intaravanne, Y, **Mobile device-based self-referencing colorimeter for monitoring chlorine concentration in water**, *Sensors and Actuators B*, 182, 592– 597, (2013).

- [43] Samuel, S. **Colorimetric water quality sensing with mobile smart phones**, Tese de doutorado, University of British Columbia, British Columbia, (2014).
- [44] Stephen, W. and Catarina, R., **Computational colour science using matlab**, John Wiley Sons Ltd, 2004.
- [45] Charles, A.P. **Gamma and Its Disguises: The Nonlinear Mappings of Intensity in Perception**, CRTs, Film, and Video, Smpte Journal, 1993.
- [46] Erika, A.T., Scott, E.G., William, A.S., Robert, G.M., Alexander, J.W., Alexa, F.S., et al., **Disposable platform provides visual and color-based point-of-care anemia self-testing**, J. Clin. Invest, 124, 4387–4394, (2014).
- [47] Yuttana, I., Sarun, S. and Jiti, N. **Cell phone-based two-dimensional spectral analysis for banana ripeness estimation**, Sensors and Actuators B, 168, 390–394, (2012).
- [48] Felix, K., Peter, B., Sangam, C. and Tran, Q.K. **Optimized flash light-emitting diode spectra for mobile phone cameras**, Applied Optics, 36, 8779-8788, (2013).
- [49] Punkaj, A., Maria, A.P., Brian, D.H. and Miklós, G., **Minimizing color interference from biological samples in optode-based measurements**, Sensors and Actuators B, 204, 319–325, (2014).
- [50] Willets, K.A. and Van Duyne, R.P., **Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing**, Annu. Rev. PhysChem, 58, 267–297, (2007).
- [51] Yurui, X., Xun, L., Hongbin, L. and Wenke, Z., **Quantifying thiol–gold interactions towards the efficient strength control**, Nature communications, 5, 4348, (2014).
- [52] Michel, G., Martin, B., Matthias, R. and Hermann, E., **How strong is a covalent bond**, Science, 283, 1727–1730.
- [53] Anker, J.N., Hall, W.P., Lyandres O., Shah, N.C, Zhao, J. and Van Duyne R.P., **Biosensing with plasmonic nanosensors**, Nat. Mater, 7, 442–453, (2008) .
- [54] Jie, C., Tong, S. and Kenneth, G., **Gold nanorod-based localized surface plasmon resonance biosensors: A review**, Sensors and Actuator B, 195, 332–351, (2014).
- [55] Alexandre, C., Paula, G., Ana, C., Arthur, M., Rosa, D., Renato, E.A., et al., **Dengue immunoassay with an LSPR fiber optic sensor**, Optics Express, 21, 27023-27031, (2013).
- [56] Aydogan, O., **Mobile phones democratize and cultivate next-generation imaging, diagnostics and measurement tools**, Lab On A Chip, 14, 3187-3194, (2014).
- [57] B. Benoist, E. Mclean, I. Egli and M. Cogswell, **Worldwide prevalence of anaemia 1993/2005: WHO global database on anemia**, World Health Organization, 2008.
- [58] E. Tyburski and S. Gillespie, **Disposable platform provides visual and color-based point-of-care anemia self-testing**, The Journal of Clinical Investigation, Vol. 124; 2014.
- [59] M. Bass, J. Enoch and V. Lakshminarayanan, **Handbook of Optics: Vision and Vision Optics**, Vol. III, Third Edition, McGraw-Hill, 2010.

- [60] F. Capanema, L. Filho, R. Pedrosa, C. Drummond, R. Norton and J. Lamounier, **Acurácia do exame clínico na determinação de anemia em crianças**, Revista Médica de Minas Gerais, 2011.
- [61] Zhu H, Sencan I, Wong J, Dimitrov S, Tseng D, Nagashima K and Ozcan A, **Cost-effective and rapid blood analysis on a cell-phone**, Lab on a Chip, 2013.
- [62] A. García, M. Erenas, E. Marinetto, C. Abad, I. de Orbe-Paya, A. Palma and L. Capitán-Vallvey, **Mobile phone platform as portable chemical analyzer**, Sensors and Actuators B: Chemical, 2011.
- [63] S. Vashist, O. Mudanyali, E. Schneider, Zengerle and A. Ozcan, **Cellphone-based devices for bioanalytical sciences**, Anal Bioanal Chem, 2014.
- [64] ARM, **Cortex-A8 Technical Reference Manuale**, disponível em: <http://infocenter.arm.com/help/topic/com.arm.doc.ddi0344k/index.html>, acesso em : 03/12/2017.
- [65] G. Baranoski and A. Chen, **Assessing the sensitivity of human skin hyperspectral responses to increasing anemia severity levels**, Journal of Biomedical Optics, 2015.
- [66] Zegars I, **Colour Management Using Mobile Phone Camera**, Helsinki Metropolia University of Applied Sciences, 2013.
- [67] C. Wang and J. Chong, **Improved non local fuzzy color segmentation-based color reconstruction hybrid approach for white-RGB imaging systems**, Journal of Electronic Imaging, 2014.
- [68] Aplicativo para smartphone, **Eyenaemia**, Disponível em: <http://www.dailymail.co.uk/health/article2713947/Australianstudentswin-Microsoft-technologycontest.html>, acesso em: 15 de agosto de 2015.
- [69] W. Ghann and J. Uddin, **Terahertz (THz) Spectroscopy: A Cutting-Edge Technology**, Published by Intech, 2017.
- [70] Valery V. Tuchin, **Handbook of photonics for biomedical science**, CRC Press, New York, 2010.
- [71] Zomega Terahertz Corporation, **The terahertz wave eBook**, Technical Overview, 2012.
- [72] Mikhail K. Khodzitsky, **Summer school on optics and photonics**, Junho de 2017, Filândia.
- [73] Elise M. Pogson, **Terahertz applications in medicine, Yhe enviroment and optics**, Tese de doutorado, Universidade de Wollongng, 2012.
- [74] K. Kamburoglu, N. Ö Yetimoglu, and H. Altan, **Characterization of primary and permanent teeth using terahertz spectroscopy**, Dentomaxillofac Radiol, v.43(6), 2014.
- [75] M.M. Nazarov, A.P. Shkurinov, and V.V. Tuchinb, **Tooth study by terahertz time-domain spectroscopy**, Optical Technologies in Biophysics and Medicine IX, SPIE Vol. 6791, 679109, (2008).

- [76] Ehson Dadrasnia, **Terahertz Time-Domain Spectroscopy to Characterize Graphene Nanostructures for New Optoelectronic Applications**, Universidade de Madri, 2015.
- [77] Igor Jose G. da Silva, **Aplicações analíticas da espectroscopia vibracional: estudo de sacarídeos por espectroscopia terahertz e aplicação de laser de cascata interbanda para determinação de metano por infravermelho médio**, Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2017.
- [78] B. Jin, C. Zhang, P. Wu, and S. Liu, **Recent progress of terahertz spectroscopy on medicine and biology in china**, *Terahertz Sci. Technol*, vol. 3, no. 4, pp. 192200, 2010.
- [79] G. J. Wilminck and J. E. Grundt, **Invited review article: current state of research on biological effects of terahertz radiation**, *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*, vol. 32, no. 10, pp. 10741122, 2011.
- [80] P.H. Siegel, **Terahertz technology in biology and medicine**, *IEEE Trans. Microw. Theory Tech*, Vol. 52, no. 10, 2438-2447 (2004).
- [81] A. Fitzgerald, E. Berry, N. Zinov'ev, S. Homer-Vanniasinkam, R. Miles, J. Chamberlain, and M. Smith, **Catalogue of human tissue optical properties at terahertz frequencies**, *Journal of Biological Physics*, vol. 29, no. 2-3, pp. 123128, 2003.
- [82] R. Miles, X.-C. Zhang, H. Eisele, and A. Krotkus, **Terahertz frequency detection and identification of materials and objects**, Springer Science Business Media, 2007.
- [83] MacPherson EP, **Biological applications of terahertz pulsed imaging and spectroscopy**, Cambridge: Cambridge University Press; 2005.
- [84] Y. Lee, **Principles of terahertz science and technology**, Springer, 2009.
- [85] Christopher D. Stoik, **Nondestructive evaluation of aircraft composites using terahertz time domain spectroscopy**, Dissertação, Department of the Air Force, Air university, 2008.
- [86] Batop Optoelectronics, **Instruction manual and data sheet iPCA-21-05-1000-800-h**, disponível em: <https://www.batop.de/products/terahertz/photoconductive-antenna/photoconductive-antenna-800nm.html>, acesso em: 20 de julho 2018.
- [87] Tomasz S. Tkaczyk, **Field Guide to Microscopy**, SPIE Field Guide, Vol. FG13, 2010.
- [88] Y. Sun, M. Yiu Sy, Y. Wang, A. Ahuja, Y. Zhang and E. Pickwell-MacPherson, **A promising diagnostic method: Terahertz pulsed imaging and spectroscopy**, *World J Radiol*, vol. 03, 55–65, 2011.
- [89] W. Zouaghi, M. D. Thomson, K. Rabia, R. Hahn, V. Blank and H. G. Roskos, **Broadband terahertz spectroscopy: principles, fundamental research and potential for industrial applications**, *Eur. J. Phys.*, vol. 34, p. S179, 2013.
- [90] Yookyeong Carolyn Sim, InheeMaeng, Joo-HiukSon, **Frequency-dependent characteristics of terahertz radiation on the enamel and dentin of human tooth**, *Current Applied Physics*, 2009.
- [91] Zeynep özer, **In partial fulfillment of the requirements For the degree of master of science in physics**, tese de doutorado, universidade técnica do oriente médio, turquia, 2016.

- [92] Maxim M. Nazarov, Valery Victorovich Tuchin, A.P. Shkurinov, **Terahertz time-domain spectroscopy of biological tissues**, Quantum Electronics, 2008.
- [93] Luciano Bachmann, Denise M. Zzell, **Estrutura e composição do dente e da dentina - Tratamento térmico e irradiação laser**, Livraria da Física, São Paulo, 2005.
- [94] J.D. Jackson, **Classical Electrodynamics**, John Wiley Sons, Inc., New York , 1998.
- [95] D. J. Griffiths, **Introduction to Electrodynamics**, 3^a edição, Prentice Hall, 1999.
- [96] Markolf H. Niemz, **Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications**, 3rd Edition, Springer, New York , 1996.
- [97] Alexey Lihachev, Alexander Derjabo, Inesa Ferulova, Marta Lange, Ilze Lihacova, Janis Spigulis, **Autofluorescence imaging of basal cell carcinoma by *smartphone* RGB camera**, Journal of Biomedical Optics, Vol. 20, 2015.
- [98] Gladimir V. G. Baranoski, Ankita Dey, and Tenn F. Chen, **Assessing the sensitivity of human skin hyperspectral responses to increasing anemia severity levels**, Journal of Clinical Investigation, Journal of Biomedical Optics 20(9), 095002 , 2015.
- [99] Carlos T. Amâncio, **Produção e caracterização de vidros tuloretos tridopados com íons de terras raras e nano partículas metálicas para uso em displays coloridos**, dissertação de mestrado, pós-graduação em engenharia, USP -SP(2011).
- [100] Madden, T.E. and E.J. Giorgianni, **Measuring Colour, in Digital Colour Management**, John Wiley Sons, Ltd., 2007
- [101] Heron T. Amorim, **Geração de cores primárias e efeitos térmicos em vidros especiais dopados com íons terras raras**, dissertação de mestrado, pós-graduação em física - UFAL, Macei-AL(2002).
- [102] Elias A. da Silva Jr., **conversão ascendente de energia em vidros fluorogermanatos dopados com íons terras raras**, monografia apresentada ao curso de física da UFRPE, Recife - PE(2008).
- [103] Santana, A., **Notas de Aula**, disponível em <http://www.inf.unioeste.br>, acesso em: 21 de Setembro de 2015.
- [104] Manuel agudo acemel, **digitization of colorimetric measurements for quantitative analyses using a smartphone**, dissertação de mestrado, Universidade Aberta da Catalonia, 2017.
- [105] Fred W. Bilmlmeyer, Max Saltzamn, **Principles of color Technology**, Segunda edição, John Wiley sons, New York, 1981.
- [106] **Planckian locus**, disponível em en.wikipedia.org/wiki/planckianlocus, acesso em: 15 de janeiro de 2016.
- [107] **Dispositivos**, disponível em <https://www.deltacolorbrasil.com>, acesso em: 10 de maio de 2017.

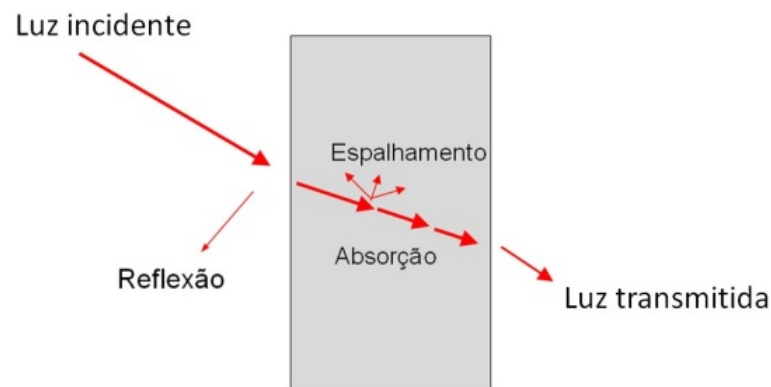
[108] **Filtro de Bayer**, disponível em <http://wikipedia.qwika.com/en2pt/Bayerfilter>, acesso em 11 de maio de 2017.

APÊNDICE A – INTRODUÇÃO AO ESTUDO DA COLORIMETRIA

- **Características ópticas dos tecidos biológicos**

A radiação eletromagnética pode interagir com a matéria de várias formas. A Figura 39 mostra uma situação típica, onde um feixe de luz ao incidir sobre a superfície da matéria ocasiona os efeitos de reflexão, refração, absorção e espalhamento.

Figura 39: Efeitos ocasionados pela interação da luz com a matéria.



Fonte: adaptada de [96].

Quando a luz interage com tecidos biológicos, os processos de absorção e espalhamento de fótons ocorrem simultaneamente como fruto de um processo estatístico: existe uma probabilidade de um fóton ser absorvido baseado na sua energia e no coeficiente de absorção do meio para aquela frequência específica. Os fótons que não são absorvidos são transmitidos ou espalhados, o que caracteriza um meio turbido [96]. Quando o fóton atinge a interface entre dois meios, sob condições específicas, ele pode atravessar e ser transmitido à interface entre os meios (refração) ou retornar ao meio de origem (reflexão). Quando um fóton é absorvido por uma molécula presente no tecido biológico, outros processos subsequentes podem ocorrer. É o caso das emissões, como a fluorescência e a fosforescência. A maioria desses mecanismos de interação luz-tecido (reflexão,

refração, espalhamento, absorção e emissão) tem uma origem microscópica, como é o caso da reflexão e da transmissão que possui origem nas condições de contorno do campo elétrico e magnético na interface dos meios [94, 95], ou uma origem à nível molecular, como no caso da absorção, que pode ser explicada em termos de orbitais atômicos e transições de elétrons entre eles. As interações microscópicas relativas a um único fóton, ou uma onda eletromagnética, ocorrem em larga escala, onde a contribuição de milhares de fótons compõe o cenário da interação. Além disso, as propriedades do tecido biológico (coeficiente de absorção, níveis de energia, constante de elasticidade e cisalhamento, entre outros) e as características da fonte de luz (tipos, potência e tempo de exposição) também interferem no processo. A análise óptica não-invasiva das propriedades do tecido é usada para vários fins em ciência da vida, incluindo a avaliação quantitativa da pele em termos de grandes cromóforos, como a hemoglobina e melanina. A fim de compreender as técnicas de espectroscopia de tecido, também é importante estabelecer uma compreensão da maneira pela qual a luz se propaga através do tecido biológico. Assim, neste capítulo vamos descrever alguns dos mecanismos que regulam o transporte da luz através de tecidos biológicos, introduzindo leis e definições relevantes para a sua quantificação e mensuração.

● Absorção da luz em tecidos

Considere um feixe de luz com intensidade I_0 que, após atravessar uma porção do tecido, emerge desta com intensidade I_T . A intensidade I_T que emerge é menor que a intensidade incidente I_0 . Isso se deve as perdas de energia devido aos processos de reflexões (I_R), espalhamentos (I_E) e absorção da luz (I_A). Dessa maneira, podemos escrever a seguinte relação:

$$I_0 = I_R + I_E + I_A + I_T \quad (28)$$

Se os efeitos de reflexão e espalhamento forem desprezíveis, teremos

$$I_0 = I_A + I_T \quad (29)$$

A quantidade de energia absorvida por esse meio depende dos seguintes fatores:

- concentração das entidade absorvedoras;
- distância que o feixe atravessa o tecido;
- natureza do meio o qual a luz atravessa.

A lei que descreve a intensidade da luz após atravessar uma porção do tecido é a Lei de Beer-Lambert. Essa lei descreve que a taxa de variação da intensidade da luz, ao atravessar um meio, é diretamente proporcional à própria intensidade naquele instante. Matematicamente, a Lei de Beer-Lambert é escrita como

$$\frac{dI}{dl} = -\alpha(\lambda)I \quad (30)$$

A constante de proporcionalidade é denominada coeficiente de absorção (α). Para o caso de um comprimento de onda específico, o coeficiente de absorção é praticamente constante. Se tomarmos apenas um dos componentes do tecido como absorvedor, sua concentração também é constante. Isso implica em:

$$\ln\left(\frac{I_T}{I_0}\right) = -\varepsilon.C.l \quad (31)$$

onde C é a concentração da amostra, l a espessura da amostra e ε o coeficiente de absorção, definido por $\alpha = C.\varepsilon$. Logo, é fácil mostrar que:

$$I_T = I_0.e^{-\varepsilon Cl} \quad (32)$$

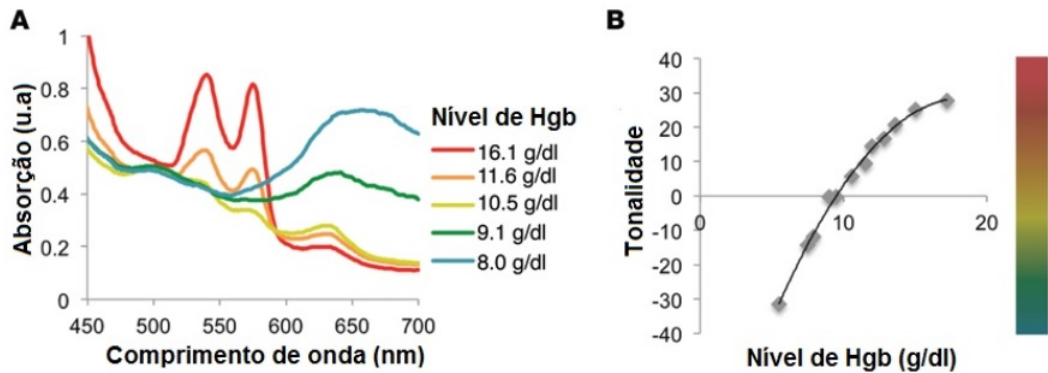
Podemos generalizar a Equação 32 levando em consideração que o coeficiente de absorção depende do comprimento de onda da radiação incidente e que existam n elementos absorvedores, o que implica em:

$$\ln\left[\frac{I_T(\lambda)}{I_0(\lambda)}\right] = -l\left[\sum_{i=1}^n \varepsilon_i(\lambda)C_i\right] \quad (33)$$

Nos tecidos biológicos, a absorção é causada principalmente pelas moléculas de água ou macromoléculas, tais como proteínas e pigmentos. As moléculas de água são os principais absorvedores na região do infravermelho (IR), enquanto que as proteínas, bem como os pigmentos, absorvem principalmente na região do ultravioleta e visível do espectro eletromagnético [96]. A Figura 40(a) mostra o espectro de absorção da hemoglobina (H_bO_2) para diferentes concentrações. A concentração de hemoglobina presente no sangue pode ser relacionada ao nível de anemia (suave, moderada ou severa) apresentada por um indivíduo. Na Figura 40(a) observa-se que o nível de anemia em função da concentração de hemoglobina no sangue é melhor detectado na região do verde (com absorção máxima entre 525 e 600 nm). Essas variações podem ser relacionadas com a tonalidade observada na mucosa ocular ou regiões palmares de pacientes, de modo

que, a tonalidade observada se desloca para regiões mais avermelhadas com o aumento da concentração de hemoglobina no sangue, como mostra a Figura 40(b).

Figura 40: A: Espectro de absorção da hemoglobina. B: Correlação da concentração da hemoglobina com a tonalidade observada.



Fonte:

adaptada de [97].

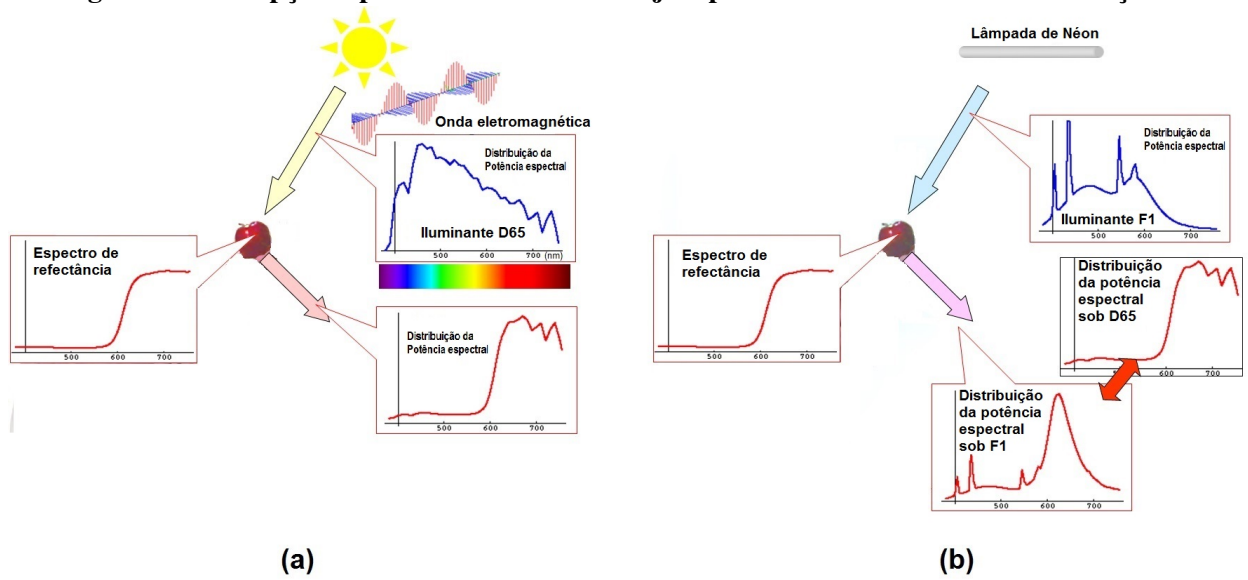
• Estudos das cores

As cores são sensações formadas por estímulos eletromagnéticos no sistema visual humano, que é composto por células sensíveis à intensidade e a determinadas frequências do espectro eletromagnético [ão], com comprimento de onda entre de 400 a 700 nm. Ao comprimento de onda, está associada à sensação de cor denominada tonalidade ou matiz. A cor percebida em um objeto é uma combinação de suas características ópticas e da distribuição da potência espectral da fonte de luz. Diferentes fontes de luz podem apresentar distribuição de potência espectral bem distintas, razão pela qual um mesmo objeto pode parecer mudar de cor sob diferentes iluminações. A Figura 41 exemplifica este fenômeno. Nela observa-se que o estímulo de cor do objeto é diferente quando o ambiente é iluminado com a luz solar ou por uma lâmpada de néon.

No estudo das cores o termo estímulo refere-se à cor observada ou medida. Os estímulos de cores do objeto são produtos de sua reflectância com a distribuição da potência espectral da fonte de luz (Figura 42). Logo, é possível alterar os estímulos de cor para um mesmo objeto simplesmente mudando a fonte de iluminação do ambiente. Um

fenômeno muito estudado em ciência da cor, e que também mostra a importância da fonte de iluminação na percepção de cor de um objeto, é denominado de metamerismo. Neste caso, objetos com propriedades espectrais diferentes apresentam o mesmo estímulo de cor quando iluminados por um dado iluminante.

Figura 41: Percepção espectral da cor de um objeto para diferentes fontes de iluminação.



Fonte: adaptada de

Figura 42: Esquema simplificado que ilustra como o estímulo de cor de um objeto é calculado como um produto da distribuição de potência relativa da fonte de luz e da reflectância do objeto.



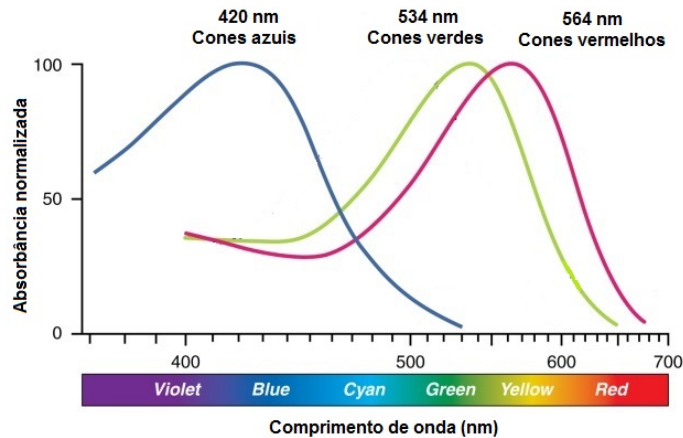
Fonte: adaptada de [100].

- **Teoria tricromática da cor**

Em 1802, Thomas Young, propôs a teoria tricromática, afirmando que a percepção de cor dependia de 3 tipos de fotorreceptores (cones) presentes na retina [103]. Young

mostrou que todas as cores do espectro visível podiam ser representadas pela soma de três cores primárias, em decorrência da composição do sistema visual humano. Os cones do olho humano possuem três pigmentos distintos relativos ao vermelho (Red), ao verde (Green) e ao azul (Blue). Cada um desses pigmentos possui uma sensibilidade luminosa que é função de λ . As sensibilidades espectrais máximas desses pigmentos ocorrem em torno de 420 nm para o azul, 534 nm para o verde e 564 nm para o vermelho, como pode ser observado na Figura 43. Portanto, a percepção de cor é determinada pela média das respostas das sensibilidades espectrais dos cones. Espectralmente quando a radiação eletromagnética de uma fonte de luz incide sobre um material ela pode ser absorvida, refletida, espalhada ou transmitida. A cor percebida do objeto depende da reflectância espectral $R(\lambda)$, que é soma de todos os comprimentos de ondas refletidos pelo material. Pode-se dizer que $R(\lambda) = 0$ se a radiação incidente for totalmente absorvida ou transmitida pela material. Caso $R(\lambda) = 1$, toda radiação incidente foi refletida pelo corpo e a cor observada é branca. Para valores intermediários ($0 < R(\lambda) < 1$), a cor percebida será a composição de todos os comprimentos de onda refletidos.

Figura 43: Sensibilidade espectral relativo aos cones do olho humano.



Fonte: adaptada de [104].

- **Colorimetria e espaço de cor**

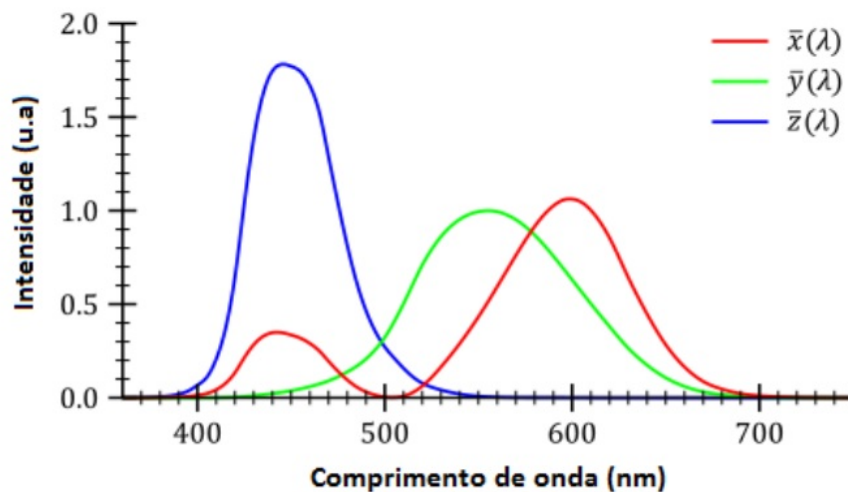
O estudo da colorimetria é responsável por fornecer a descrição e a especificação de uma cor. Tendo como base o fato de que o sistema visual humano é composto de três tipos de cones fotorreceptores, são necessários três valores numéricos $(\bar{x}, \bar{y}, \bar{z})$, ou tristímulos, que especificam a cor e o brilho de um estímulo visual particular homogêneo. O estímulo de uma cor é fornecido pela combinação adequada entre a fonte de luz, o objeto e o observador. Dessa maneira, em 1931, a CIE introduziu o elemento de padronização da

fonte e do observador, e a metodologia para derivar números que fornecem uma medida de uma cor vista sob uma fonte padrão de iluminação por um observador padrão [105]. No espaço de cor CIE, as coordenadas $\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$ são definidas como:

$$\begin{aligned}\bar{x} &= \int_0^{\infty} f(\lambda) I(\lambda, T) d\lambda \\ \bar{y} &= \int_0^{\infty} f(\lambda) I(\lambda, T) d\lambda \\ \bar{z} &= \int_0^{\infty} f(\lambda) I(\lambda, T) d\lambda\end{aligned}\quad (34)$$

Sendo $I(\lambda, T)$ a radiação emitida por um corpo negro ideal. Essas coordenadas em conjunto provocam a sensação de cor para um observador padrão internacional, sendo que \bar{x} e \bar{y} representam a posição da cor no espaço de cromaticidade e \bar{z} corresponde ao brilho. O observador padrão definido pela CIE representa a média da população de humanos com visão de cor normal [105]. As variações dos tristímulos são representadas por curvas nas quais as coordenadas correspondem a unidades arbitrárias tais que, as áreas delimitadas pelas três curvas sejam iguais (Figura 44).

Figura 44: Curvas padrão CIE para a composição de cores.



Fonte: adaptada de [106].

Já o iluminante padrão é descrito por um conjunto de fontes de luz (D50, D65, etc.) definidas pela CIE, a partir de estudos da distribuição de energia espectral da luz natural do dia. Eles representam a luz natural média na faixa espectral de 300-830 nm e correlacionaram a temperatura de cor entre 4000 e 25000 K [105]. Dentre as fontes

padrões definidas pela CIE, o mais importante deles é o iluminante D65, que simula a distribuição espectral da luz do dia com uma temperatura de cor correlacionada de 6500K.

- **Cálculo das componentes tricromáticas**

As coordenadas XYZ são denominadas componentes tricromática da cor e representam a percepção de cor para um dado objeto tendo como base os parâmetros para um observador padrão definido pela CIE. As coordenadas XYZ são tipicamente usadas para obter informações da resposta espectral de uma amostra, normalmente utilizando instrumentos como colorímetros. São matematicamente definidas pelas Equações 35, 36 e 42.

$$X = k \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \phi(\lambda) \bar{x} d\lambda \quad (35)$$

$$Y = k \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \phi(\lambda) \bar{y} d\lambda \quad (36)$$

$$Z = k \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \phi(\lambda) \bar{z} d\lambda \quad (37)$$

Os valores das coordenadas tricromáticas são calculadas tomando a integral na região de comprimento de onda visível, de 380nm à 780nm [105]. A função $\phi(\lambda)$ que aparece nas Equações 35, 36 e 42 corresponde ao estímulo de cor da luz refletida, sendo definida como $\phi(\lambda) = R(\lambda)S(\lambda)$. Nestes casos, $R(\lambda)$ é a reflectância do objeto e $S(\lambda)$ é a distribuição de energia espectral relativa da fonte de iluminação. O parâmetro k nas equações acima é uma constante e os trístimulos (\bar{x} , \bar{y} e \bar{z}) são funções de correspondência para um observador padrão determinado pela CIE.

- **Coordendas de cromaticidade**

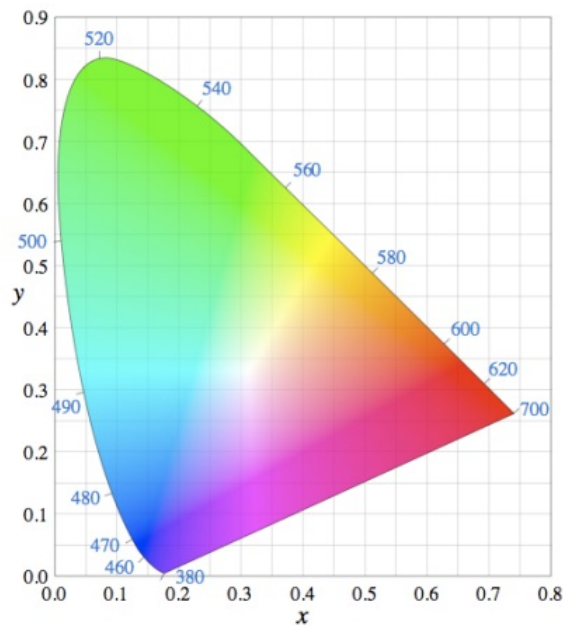
Um espaço de cor é uma região tridimensional, que no caso da CIE, é determinado pelas coordendas de tricromáticas (X, Y e Z), que correspondem a sensação de cor percebida por um olho padrão. No entanto, é mais prático representar a cor percebida de um objeto em um espaço bidimensional. Para isso, defini-se as coordenadas de cromaticidade (x , y e z) que são dadas pela normalização das coordendas tricromáticas pela seguinte relação:

$$x = \frac{X}{X+Y+Z} \quad ; \quad y = \frac{Y}{X+Y+Z} \quad ; \quad z = \frac{Z}{X+Y+Z} \quad (38)$$

sendo por definição $x + y + z = 1$. Logo, bastam dois quaisquer desses coeficientes para definir uma cor no diagrama de cromaticidade. Em 1931 a CIE criou, através

de experimentos, o diagrama de cores que representa as cores perceptíveis pela visão humana, chamado de diagrama de cromaticidade CIE, mostrado na Figura 45. O contorno desse diagrama representa os comprimentos de onda do espectro visível e no seu interior são encontradas as cores obtidas pela combinação destas frequências, sendo cada cor definida pelas coordenadas x e y .

Figura 45: Diagrama de cores CIE 1931.

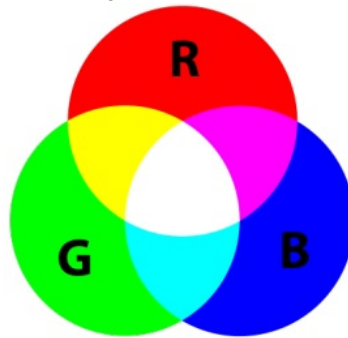


Fonte: adaptada de [106].

- **Espaço de cor RGB**

O espaço de cor RGB é um conjunto de cores definida pela cromaticidade de vermelho, verde e azul. Este sistema é representado em um cubo, que contém o máximo de cores que é possível obter pela combinação das cores primárias, sendo que as coordenadas $(1,1,1)$ e $(0,0,0)$ correspondem as cores branca e preta, respectivamente. Cada cor contém a intensidade de cada canal (RGB), sendo expressa com valores entre 0 e 255 pixels, ou entre 0 e 1, quando os valores estão normalizados. Este espaço de cor é bastante utilizado em modelos orientados para Hardwares como monitores e câmeras de vídeo. A reprodução de cores nestes dispositivos baseia-se na adição de cor, sendo representada pela combinação das cores primárias e da fração de cada primário misto, como pode ser observado na Figura 46. Nos dispositivos de imagem e vídeo, os feixes dos espectros vermelho, verde e azul são somados fisicamente na superfície da tela de projeção.

Figura 46: Adição de cores no espaço RGB.

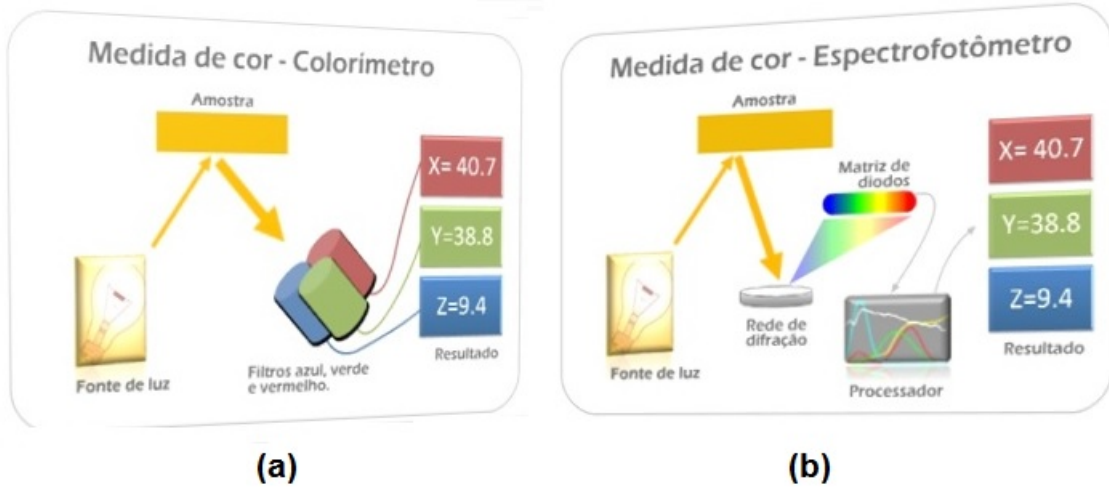


Fonte: adaptada de .

- **Instrumentos para medir cor**

Através de experimento foi possível desenvolver equipamentos para a medição de cores como espectrômetros e colorímetros. Estes equipamentos implementam uma forma de captar e calcular os valores dos triestímulos tentando chegar o mais próximo possível da visão humana. Um espectrômetro possui uma fonte de luz, porém a luz refletida pela amostra é separada de acordo com o comprimento de onda, desta forma a matriz de diodos (sensores) mede a quantidade de luz recebida em várias regiões de comprimento de onda. A resolução do espectrofotômetro depende justamente da quantidade de sensores nesta matriz, sendo mais comum resoluções de 10nm. Com isto, é possível obter a curva espectral e a partir desta curva pode-se calcular o resultado em XYZ triestímulos, bem como índices específicos e simular iluminantes/observadores. Já os colorímetros, Possuem uma fonte de luz e três filtros que simulam o comportamento da visão humana e medem a quantidade de luz que foi refletida pela amostra. No colorímetro são usados matrizes matemáticas que aproximam o resultado da medição com a percepção visual humana, resultando em dados XYZ triestímulos. A Figura 47 mostra o princípio de funcionamento básico dos colorímetros e dos espectrômetros. Percebe-se que a diferença entre esses dois dispositivos refere-se ao fato que os espectrômetros medem a curva espectral das amostras em análise, enquanto que os colorímetros, capturam diretamente as informações pelos filtros triestímulos Azul, Verde e Vermelho. Além disso, o desenvolvimento tecnológico ocorrido nas últimas décadas em áreas como a física e a engenharia possibilitou o desenvolvimento de sensores ópticos, que integram dispositivos como câmeras fotográficas, câmeras de vídeos e *smartphones*. Estes sensores associam a intensidade de cada pixel da imagem aos correspondente valores RGB e, conseqüentemente, a cor percebida da imagem em análise.

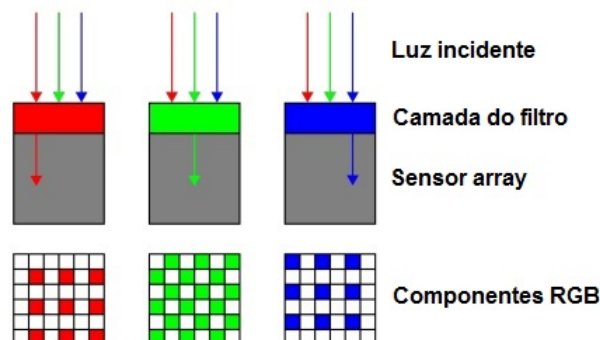
Figura 47: Princípio básico do funcionamento de colorímetros (a) e espectrômetros (b).



Fonte: adaptada de [107].

Em particular, as câmeras de *smartphone* podem ser usadas para detecção colorimétrica através do processamento dos valores RGB a partir dos pixels de uma imagem. Hoje, os *smartphones* vem com pelo menos uma câmera para obter imagens e vídeos. O método utilizado para digitalizar imagens é um mosaico de filtro Bayer, uma matriz de filtros de cores para arrumar filtros de cor RGB em uma grade quadrada de fotossensores. O seu arranjo particular de filtros de cor é usado na maioria dos sensores de imagem digital de um único chip instalados em câmeras e scanners para criar uma imagem colorida. A figura 48 representa o padrão formado por 50 por cento de verde, 25 por cento de vermelho e 25 por cento de azul, portanto, também é chamado RGBG, GRGB ou RGGB [14].

Figura 48: Filtro de cor RGB.



Fonte: adaptada de [108].

- **Imagem digital**

Uma imagem digital é definida como uma função bidimensional da intensidade luminosa, denotada por $f(x,y)$, em que o valor ou amplitude de f nas coordenadas espaciais (x,y)

corresponde a intensidade (brilho) da imagem naquele ponto. A intensidade luminosa no ponto (x,y) pode ser decomposta em: (i) componente de iluminação, $i(x,y)$, associada à quantidade de luz incidente sobre o ponto (x,y) ; e a componente de reflectância, $r(x,y)$, associada à quantidade de luz refletida pelo ponto (x,y) . O produto de $i(x,y)$ e $r(x,y)$ resulta em $f(x,y) = i(x,y).r(x,y)$ na qual $0 < i(x,y) < \infty$ e $0 < r(x,y) < 1$, sendo $i(x,y)$ dependente das características da fonte de iluminação, enquanto $r(x,y)$ dependente das características das superfícies dos objetos. A função $f(x,y)$ precisa ser digitalizada tanto espacialmente, quanto em amplitude para ser processada computacionalmente. A digitalização das coordenadas espaciais (x,y) é denominada amostragem da imagem e a digitalização da amplitude é chamada quantização em níveis de cinza. Caso a função $f(x,y)$ seja contínua, ela pode ser aproximada por amostras igualmente espaçadas, arranjadas na forma de uma matriz $N \times M$ como mostra a equação 39, em que cada elemento é uma quantidade discreta.

$$f(x,y) = \underbrace{\begin{bmatrix} f(0,0) & f(0,1) & \cdots & f(0,M-1) \\ f(1,0) & f(1,1) & \cdots & f(1,M-1) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ f(N-1,0) & f(N-1,1) & \cdots & f(N-1,M-1) \end{bmatrix}}_{\text{ImagemDigital}} \quad (39)$$

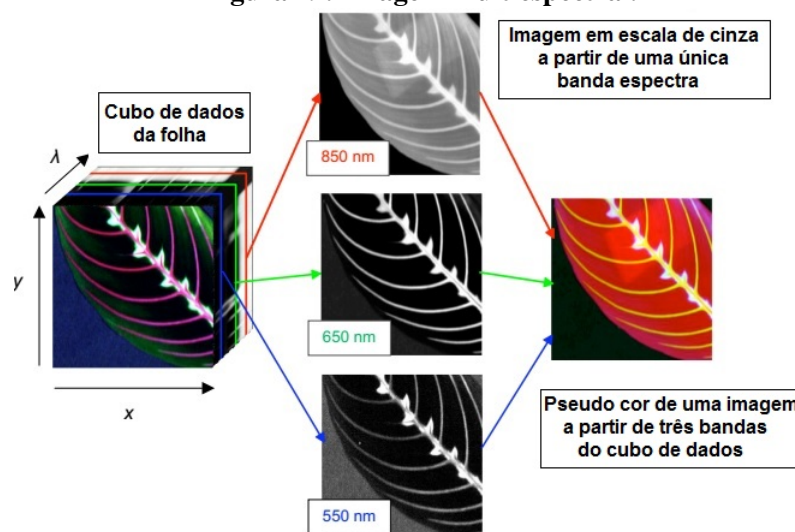
Cada elemento da matriz corresponde a um pixel da imagem. Um pixel é o menor elemento individual em uma imagem e contém a informação de cor para cada posição dentro de uma matriz bidimensional. Ou seja, a cada pixel da imagem é possível atribuir um parâmetro de cor (RGB). Logo, em uma imagem digital colorida no sistema RGB, um pixel pode ser visto como um vetor cujas componentes representam as intensidades de vermelho, verde e azul de sua cor. A imagem colorida pode ser vista como a composição de três imagens monocromáticas $f(x,y) = f_R(x,y) + f_G(x,y) + f_B(x,y)$ na qual $f_R(x,y)$, $f_G(x,y)$, $f_B(x,y)$ representam, respectivamente, as intensidades luminosas das componentes vermelha, verde e azul da imagem, no ponto (x,y) . A resolução de uma imagem digital depende de dois fatores: o número de elementos da mostra e do número de nível de cinza. Quanto maiores são esses parâmetros, melhor será a resolução da imagem digital.

- **Imagem Multiespectrais**

Uma imagem multiespectral produz a imagem de um objeto em função do comprimento de onda que o objeto reflete (ou emite). Pode-se dizer que uma imagem espectral é um conjunto de imagens onde cada imagem desse conjunto é representada por diferentes

comprimentos de onda. Em espectroscopia, as imagens espectrais são representadas por um cubo de dados espectrais. Este cubo é composto por n imagens bi-dimensionais da amostra, concatenada e em sequência crescente com a banda espectral de detecção (λ). O número n de imagens determina o número de imagens espectrais em que o sinal óptico foi detectado. Normalmente, na avaliação de sistemas físicos através de imagens ópticas convencionais, a emissão óptica de cada pixel de uma imagem pode ser registrada, mas apenas para um comprimento de onda específico ou um intervalo de banda espectral. De maneira semelhante, utilizando espectroscopia convencional, é possível registrar sinal em cada comprimento de onda dentro de uma faixa espectral, mas apenas para um único ponto. O conceito de imagens multiespectrais combina essas duas modalidades de gravação e permite o registro de toda a emissão para cada pixel da imagem observado no campo de visão e com o auxílio de dispositivos de estado sólido de varredura rápida, como o filtro sintonizável acústico-óptico ou um filtro sintonizável de cristal líquido [3]. A Figura 49 mostra a estrutura básica para a formação de imagens multiespectrais exibindo um cubo de dado espectral para a imagem de uma folha e as respectivas imagens espectrais para os comprimentos de onda 550 nm, 650 nm e 850 nm. Os dados do cubo estão dispostos de forma que cada um dos pixels das imagens na mesma posição (x,y) pertencem a um sinal óptico detectado na posição (x,y) da imagem. A composição das três bandas espectrais do cubo de dados da figura 49 são usadas para gerar a pseudo-cor observada na figura do lado direito.

Figura 49: Imagem multiespectral.

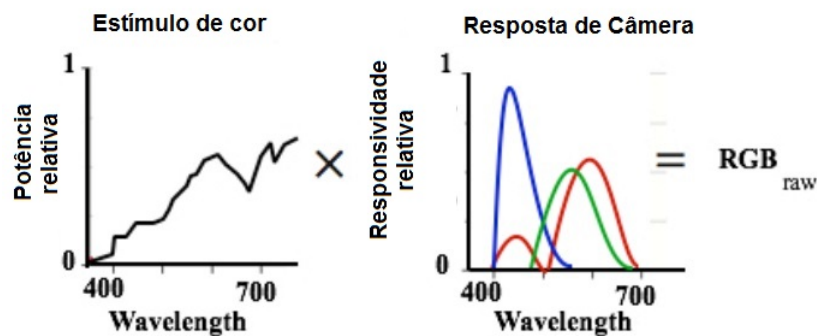


Fonte: adaptada de .

- **Captura de imagem**

A maioria das câmeras de *smartphones* usam sensores semicondutores de óxido de metal (CMOS). Sensores de imagem digital detectam luz em matrizes de sensores fotográficos consistindo em pequenas grades de detecção de fótons. Cada detector de fóton gera um sinal proporcional ao número de fótons detectados. Em sensores de imagens coloridas, cada grade (região) da foto detecta apenas uma das três cores primárias. Isso é obtido colocando um filtro sobre o detector de fótons, que permite a passagem de fótons com comprimento de onda dentro do intervalo correspondente para aquela região. Os filtros são do tipo Bayer, como mostrado na seção A. Estes tipos de filtros, apresentam blocos de quatro detectores de fótons: um vermelho, um azul e dois verdes. O motivo de ter mais canais verdes é se aproximar do sistema visual humano, que é mais sensível a luz verde. A resposta espectral do sensor de imagem, isto é, a sua resposta relativa à fótons de diferentes comprimentos de onda, varia entre diferentes dispositivos. Isto deve ser sempre levado em consideração, uma vez que tem influência sobre os estímulos de cores detectados, ou seja, os sinais bruto de "entrada" dos canais de cor. O sinal bruto do estímulo de cor multiplicado pela resposta do sensor da câmera é ilustrado na simplificação da Figura 50 [100]. As equações que descrevem os valores RGB de saída para um dado sensor de câmera, tendo como referência as Equações 35, 36 e 42, são:

Figura 50: Esquema simplificado ilustrando como o estímulo de cor e a resposta da câmera decidem o sinal bruto de entrada para os canais de cor.



Fonte: adaptada de [100].

$$R = K \cdot \sum S(\lambda)R(\lambda)r(\lambda) \quad (40)$$

$$G = K \cdot \sum S(\lambda)R(\lambda)g(\lambda) \quad (41)$$

$$B = K \cdot \sum S(\lambda)R(\lambda)b(\lambda) \quad (42)$$

Neste caso, R, G e B são os sinais brutos para os canais de cor, $S(\lambda)$ é a distribuição espectral da fonte de luz, $R(\lambda)$ é a reflectância do objeto e $r(\lambda)$, $g(\lambda)$ e $b(\lambda)$ é a resposta espectral do sensor da imagem.

- **Processamento de sinal**

Embora algumas configurações de câmeras, como a exposição e o foco, estejam diretamente relacionadas ao hardware, outras configurações, como balanço de branco e técnica de compressão, estão relacionadas à modificação do sinal bruto. Na imagem final, cada pixel tem seus próprios valores R, G e B que determinam a cor do pixel. No entanto, esses valores foram submetidos a várias etapas de processamento de sinal. Assim, os valores de pixel em um arquivo de imagem, como jpeg, não são os mesmos que os valores de pixel em um arquivo de imagem em sinal bruto. O sinal de processamento geralmente é dividido em duas partes; processamento de sinal de entrada e processamento de sinal de saída [100]. A parte de processamento de sinal de entrada trata da transformação do sinal bruto para os valores RGB armazenados no arquivo de imagem, enquanto o processamento do sinal de saída trata de como os valores RGB são representados por uma exibição de imagem. Ao tentar obter medidas quantitativas com uma câmera digital, a parte importante é entender a parte de processamento de sinal de entrada. Infelizmente, diferentes fabricantes de *smartphones* geralmente desenvolvem seus próprios algoritmos de processamento, o que torna esse entendimento complicado e, por vezes, são necessárias aproximações ou pressupostos. Algumas informações sobre o processamento do sinal de entrada podem ser encontradas em arquivos metadados da imagem. Essas informações podem incluir técnica de compressão, formato de arquivo, espaço de cores e configurações da câmera, como balanço de branco, gama, exposição e foco.

- **Correção Gama**

Mensurar cor usando dispositivos diferentes é uma tarefa complicada devido a diversos fatores, como a iluminação do ambiente e o tipo de sensor utilizado que podem influenciar na medição, tendo como resultados valores diferentes para cada dispositivo. Neste contexto, surge a necessidade de desenvolver técnicas para minimizar estes fatores. Um método bastante utilizado em aquisição de imagens para correção de imagens coloridas é denominada correção gama. A correção gama é um processo no qual a intensidade do valor de cada cor é ajustada compensando irregularidades do dispositivo de captura. Os

monitores de aparelhos eletrônicos geralmente possuem uma relação não linear, em termo da potência, entre os valores RGB digitais enviados para o conversor analógico digital (DAC) e a saída de exibição. Esta relação pode ser escrita de acordo com a Equação 43.

$$Y = K \cdot \left(\frac{RGB}{RGB_{max}} \right)^\gamma + Y_0 \quad (43)$$

Onde Y é a luminosidade da luz emitida na tela, K é um fator de normalização, RGB corresponde ao valores de entrada, RGB_{max} é o valor RGB máximo detectado pelo dispositivo, γ é o valor do expoente geralmente conhecido como valor gama e Y_0 é um valor de compensação do dispositivos [100]. O valor de gama geralmente é especificado por um espaço de cores. Para poder reproduzir corretamente um sinal RGB recebido, suas características em escala de cinza devem ser compensadas. Isso é feito codificando os valores RGB recebidos para que eles tenham as características inversas do display do dispositivo. A codificação gama ou correção gama pode ser expressa usando a Equação 44.

$$RGB = RGB_{max} \left(\frac{Y - Y_0}{k} \right)^{1/\gamma} + Y_0 \quad (44)$$

APÊNDICE B – CÓDIGO PARA AVALIAR INTENSIDADE DE COR RELATIVA

%Parâmetros iniciais

```
clear;  
close all;  
clc;  
fontSize = 1;
```

%Abrir e visualizar a imagem

```
I = imread('imagem.jpg');  
[rows, columns, numberOfColorBands] = size(I);  
imshow(I);  
title('Imagem original', 'FontSize', fontSize);
```

%Selecionar área de referência

```
h = imrect(gca, [75 68 40 40]);  
setResizable(h,0)  
position = wait(h);  
Ir = imcrop(I,position);
```

%Obter o valor médio das coordenadas RGB da área de referência

```
Mean = mean(Ir);  
A = mean(Mean);
```

```
 $R_r = A(1,1);$ 
```

```
 $G_r = A(1,2);$ 
```

```
 $B_r = A(1,3);$ 
```

%Selecionar área de interesse

```
h = imrect(gca, [75 68 40 40]);
```

```
setResizable(h,0)
```

```
position = wait(h);
```

```
 $I_i = \text{imcrop}(I, \text{position});$ 
```

%Obter o valor médio das coordenadas RGB da área de interesse

```
Mean2 = mean( $I_i$ );
```

```
B = mean(Mean2);
```

```
 $R_i = B(1,1);$ 
```

```
 $G_i = B(1,2);$ 
```

```
 $B_i = B(1,3);$ 
```

%Valores de saída

```
r = abs(log( $R_i$ )/log( $R_r$ ));
```

```
display(r);
```

```
g = abs(log( $G_i$ )/log( $G_r$ ));
```

```
display(g);
```

```
b = abs(log( $B_i$ )/log( $B_r$ ));
```

```
display(b);
```