



Nº

1191464

NOME Bianca Santos Ferreira

**Notas explicativas:**

**An English version of the exam is at the end of the document.**

Comece o exame, colocando o seu número mecanográfico e nome completo na linha acima.

Leia o enunciado de cada pergunta com atenção.

As perguntas correspondem aos 7 capítulos de matéria dada.

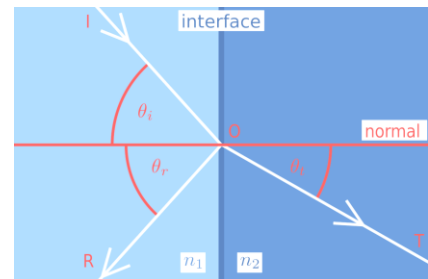
Para perguntas que não envolvem cálculos, dê a sua resposta por escrito imediatamente a seguir.

No fim do exame encontra-se um formulário.

Para as perguntas de resposta por cálculo, faça a resolução numa folha branca e depois digitalize para colocar a resolução a seguir à respetiva pergunta.

Quando terminar o exame, grave o seu ficheiro em formato PDF para submeter pelo MOODLE para ser avaliado.

1. [3] A figura ao lado representa um feixe laser ( $\lambda=532$  nm no vácuo) que incide numa interface que separa dois meios. O meio de incidência tem um índice de refração  $n_1=1.52$  e o ângulo de incidência é  $\theta_i = 36^\circ$ . Calcule:



- a. O índice de refração do meio 2,  $n_2$ , se a reflectância paralela na interface for de 0.03. Indique também em que zona do espectro emite o feixe laser nos dois meios.

a)  $n_2 = ?$   $R_p = 0.03$

$$R_p = \left| \frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right|^2 \Rightarrow 0.03 = \left| \frac{1.52 - n_2}{1.52 + n_2} \right|^2 \Rightarrow \sqrt{0.03} = \left| \frac{1.52 - n_2}{1.52 + n_2} \right|$$

$$\Rightarrow \frac{1.52 - n_2}{1.52 + n_2} = \sqrt{0.03} \vee \frac{1.52 - n_2}{1.52 + n_2} = -\sqrt{0.03} \Rightarrow$$

$$\Rightarrow 1.52 \cdot n_2 = \sqrt{0.03} \times 1.52 + \sqrt{0.03} \times n_2 \vee 1.52 - n_2 = -\sqrt{0.03} \times 1.52 - \sqrt{0.03} \times n_2$$

$$\Rightarrow -1.173 n_2 = 0.263 - 1.52 \vee -0.827 n_2 = -0.263 \neq 1.52 \Rightarrow$$

$$\Rightarrow n_2 \approx 1.072 \vee n_2 \approx 2.156$$

- b. Qual o ângulo de transmissão  $\theta_t$ ?

b) tomando o valor  $n_2 = 1.072$

$$n_1 \times \sin \theta_i = n_2 \times \sin \theta_t$$

$$1.52 \times \sin 36^\circ = 1.072 \times \sin \theta_t \Rightarrow \sin \theta_t \approx 0.833$$

$$\Rightarrow \theta_t \approx 56^\circ$$

- c. Suponha que a figura representava a entrada do feixe do meio 1 para o núcleo de uma fibra ótica (meio 2), sendo  $\theta_i$  o ângulo da abertura numérica da fibra. Supondo que o valor de  $n_2$  calculado na alínea (a) é o índice do núcleo, qual o índice da bainha da fibra?

$$c) \quad NA = n_i \times \sin \theta = \sqrt{n_{\text{núcleo}}^2 - n_{\text{bainha}}^2}$$

$$1.52 \times \sin 36^\circ = \sqrt{1.072^2 - n_b^2} \Rightarrow 0.893 = \sqrt{1.149 - n_b^2} \Rightarrow$$

$$\Rightarrow 0.797 - 1.149 = -n_b^2 \Rightarrow n_b^2 = 0.352 \Rightarrow n_b \approx 0.593$$

Nota: Se não calculou  $n_2$  na alínea a, considere  $n_2=1.42$  nas alíneas b e c.

2. [4] Um tecido biológico com elevado conteúdo de proteínas, ADN, sangue oxigenado e alguns lípidos foi estudado, tendo-se feito medições da espessura do tecido, e medições espectrais (de 200 a 1000 nm) de transmitância colimada ( $T_c$ ), transmitância total ( $T_t$ ) e reflectância total ( $R_t$ ).

- a. Identifique as bandas de absorção espectáveis para este tecido, indicando os respetivos comprimentos de onda. Considerando as medições disponíveis, qual o método mais fiável para identificar a banda do ADN e porque falham os restantes métodos nessa identificação?

Sabe-se que os componentes dos tecidos, como as proteínas e o ADN apresentam fortes bandas de absorção na zona do ultravioleta (aproximadamente entre os 200 e 400 nm).

- b. Se a 350 nm, este tecido apresentar:  $\mu_a = 15 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_s = 140 \text{ cm}^{-1}$  e  $g=0.03$ , calcule o valor do coeficiente de espalhamento reduzido e da profundidade de penetração da luz.

$$b) \quad \lambda = 350 \text{ nm}$$

$$\mu_a = 15 \text{ cm}^{-1} \quad \mu_s = 140 \text{ cm}^{-1} \quad g = 0.03$$

$$\mu'_s = \mu_s(1-g) \Rightarrow \mu'_s = 140 \times (1-0.03) \approx 135.8 \text{ cm}^{-1}$$

$$\delta = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}} \Rightarrow \delta = \frac{1}{\sqrt{6786}} \Rightarrow \delta = 0.01 \text{ cm}$$

- c. Supondo que o tecido estudado tinha uma espessura  $d=0.7 \text{ mm}$ , calcule a sua absorvância e transmitância colimada para 350 nm.

$$c) \quad d = 0.7 \text{ mm} = 0.7 \times 10^{-1} \text{ cm}$$

$$A = 100 - (T_t + R_t) = \mu_a \times d \Rightarrow A = 15 \times 0.07 = 1.05$$

$$\mu_t = \mu_a + \mu_s = 15 + 140 = 155 \text{ cm}^{-1}$$

$$T_c = \exp(-\mu_t \times d) = \exp(-155 \times 0.7 \times 10^{-1})$$

$$T_c = 1.940 \times 10^{-5}$$

3. [2] A microscopia foto-acústica consiste numa técnica de imagem de modulação de fase. Explique como funciona esta técnica e como se pode variar a profundidade de aquisição.

Consiste na utilização de um laser espacialmente coerente como um feixe sensor que pode ser focado a profundidades no tecido de pelo menos até 1  $\mu\text{m}$ . O varrimento transversal de um feixe de laser focado

através da face do tecido e o registo do sinal foto-acústico através de um microfone ou de um transdutor piezoelétrico possibilita obter as distribuições das propriedades óticas, térmicas e acústicas do tecido. Esta técnica admite obter dados à profundidade do tecido. Isto é, quando o comprimento de onda da fonte de excitação é alterado, a profundidade de penetração da luz altera também, e o sinal foto-acústico é gerado a diferentes profundidades.

4. [3] A técnica de foto-diagnóstico e fototerapia (PDT) é uma técnica de fluorescência, que permite tanto a aquisição de imagem e de espetros. Explique como funciona esta técnica, que tipo de fluorescência é gerada quando administrado o Aminolevulinic Acid (ALA) e indique em que zona do espectro se localizam os comprimentos de onda de excitação e de emissão.

Na técnica PDT é administrado ALA e depois ativado com um laser no ultravioleta. Após a sua ativação localizada nas moléculas de cancro é feito o diagnóstico por imagem, antes de outro comprimento de onda mais elevado ser usado para eliminar o composto, que ao desfazer se se torna tóxico para as células cancerígenas onde se agregou, eliminando o tumor. É na zona ultravioleta do espectro se localizam os comprimentos de onda de excitação e na zona do visível ou infravermelhos a zona de emissão.

5. [4] Um tecido biológico apresenta um conteúdo de água móvel de 41% e os valores do índice de refração do tecido e do seu líquido intersticial a 200 e 500 nm são:  $n_{\text{tecido}}(200\text{nm})=1.47$ ,  $n_{\text{tecido}}(500\text{nm})=1.38$ ,  $n_{\text{ISF}}(200\text{nm})=1.42$  e  $n_{\text{ISF}}(500\text{nm})=1.36$ . Depois de tratado durante 20 min com uma solução aquosa com 50% de sacarose, observou-se um aumento de transparência.
- a. O que caracteriza o tempo de difusão avaliado para o tratamento indicado?

A difusão do agente para o interior do tecido depende da capacidade de difusão das suas moléculas através das membranas dos tecidos. Uma forma de se aumentar a rapidez de desidratação e facilitar a difusão do agente para o interior, é adicionar um agente higroscópico à solução preparada. Adicionando, por exemplo, álcool etílico a uma solução aquosa de glicerina, faz com que o álcool puxe mais moléculas de água para o exterior, o que facilita a rapidez de difusão da glicerina para o interior. Com uma solução aquosa com 50% de sacarose, temos apenas a indução da desidratação dos tecidos.

- b. Considerando um modelo do tecido com apenas espalhadores e água móvel, estime o RI dos espalhadores aos comprimentos de onda indicados. Se durante o tratamento tiver ocorrido um aumento em  $n_{\text{ISF}}$  de 25% (a 200 nm) e de 5% (a 500 nm), qual a percentagem de diminuição do índice de refração relativo ( $n=n_{\text{scat}}/n_{\text{ISF}}$ ) a esses comprimentos de onda durante o tratamento? Assuma que não há alteração de  $n_{\text{scat}}$ .

Espalhamentos:  
 $n_{\text{teido}}(\lambda=200) = f_{\text{scat}} n_{\text{scat}} + f_{\text{ISF}} n_{\text{ISF}}$   $f_{\text{scat}} = 0.4$   
 $n_{\text{ISF}} = 0.6$   
 $1.47 = 0.4 \times n_{\text{scat}} + 0.6 \times 1.42 \Rightarrow n_{\text{scat}} = 1.545$   
 $n_{\text{teido}}(\lambda=500)$   
 $1.38 = 0.4 \times n_{\text{scat}} + 0.6 \times 1.36 \Rightarrow n_{\text{scat}} = 1.410$   
 $n = \frac{n_{\text{scat}}}{n_{\text{ISF}}}$   $n_{\text{inicial}} = \frac{1.545}{1.42} = 1.088$   
 $n_{\text{final}} = \frac{1.545}{1.42 + 25\%} = \frac{1.545}{1.67} = 0.925$   
 $\frac{n_f}{n_i} = 0.85$  85% diminuição 200nm  
 $n_i(500\text{nm}) = \frac{1.410}{1.36} = 1.0368$   $n_f(500\text{nm}) = \frac{1.410}{1.36 + 5\%} = \frac{1.41}{1.41} = 1$   
96% (500nm)

c. Durante o tratamento, verificou-se que a eficiência de transparência a 200 nm era de 300% ao fim de 180 seg e de 420% ao fim de 600 seg. Determine a taxa de dissociação de proteínas nesse intervalo de tempo, em que a eficiência é linear.

Como as proteínas apresentam uma forte banda de absorção no UV profundo 200 a 230 nm e existe elevado espalhamento nessa zona espectral, a sua dissociação permite uma melhor adaptação de RIs nessa zona espectral e este é considerado também um mecanismo do tratamento de transparência.

6. [2] Explique como funciona a técnica de imagem Speckle, indicando como são formadas as imagens.

A configuração mais comum para aquisição de imagem Speckle é por microscópio. Este termo é empregado para relatar um fenómeno ótico que é causado pela interferência construtiva de frentes de ondas eletromagnéticas que sofrem dispersão, isto é, espalhamento em diferentes direções de luz com diferentes comprimentos de onda, parecidos ao efeito do arco íris criado por um prisma, após a interação com um material. A iluminação que origina a dispersão é feita com um laser.

7. [2] Um feixe laser com potência de 5mW apresenta um diâmetro 5mm, sendo classificado na Classe I. Se à sua frente for colocada uma lente que foca o feixe numa área, cujo diâmetro é de 0.5 mm, o laser passa a ser de Classe III. Explique porque é necessária tal reclassificação. Se o laser emitir a 230 nm, que tipo de efeitos são esperados em tecidos oculares em caso de exposição acidental?

A sinalização de risco de exposição à radiação laser utiliza um código numérico. Quanto maior for o número da classe laser, maior o potencial de risco. Os níveis de risco variam entre 1 (situação sem qualquer risco) e 4 (situação de maior potencial de risco na criação de lesões). Deve notar se que as classes laser são consideradas para a radiação do feixe emitido à saída da cavidade laser. Dependendo dos elementos que constituem o sistema ótico em frente do feixe laser, ou até de eventuais reflexões do feixe, a radiação pode ser focada, expandida, atenuada ou amplificada. Tudo depende do que acontece ao feixe após deixar a cavidade e por onde ele passa. A melhor forma de explicar o exemplo referido na questão é através do uso da irradiância. A irradiância representa a densidade superficial de luz numa área onde é projetada. E é conseguida pela divisão entre a potência e a área. Logo, quando há uma diminuição da área, existe um aumento na irradiância, tornando assim o laser mais perigoso. Quando o laser emite uma onda de 230 nm, a absorção ocorre nas camadas de células superiores dos olhos e da pele altamente, sendo efectiva na

produção de foto querato conjuntivite (inflamação dolorosa da córnea) germicida. A radiação é fortemente absorvida pelo oxigénio do ar.

**Formulário**

Velocidade da luz no vácuo	$c = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$	Coefficiente de espalhamento reduzido	$\mu'_s = \mu_s \times (1 - g)$
Constante de propagação	$K = \frac{2\pi}{\lambda}$	Profundidade de penetração da luz	$\delta = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}}$
Frequência angular	$\omega = 2\pi f$	Transmitância colimada	$T_c = \exp(-\mu_t \times d)$
Máximos de interferência	$d \times \sin\theta = m\lambda,$ $m=(0,1,2,...)$	Lei de Gladstone e Dale	$n_{tissue} = f_{scat} \times n_{scat} + f_{ISF} \times n_{ISF}$
Reflectância paralela	$R_s = \left  \frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right ^2$	Coefficiente de difusão num tecido <i>ex vivo</i>	$D = \frac{d^2}{\pi^2 \tau}$
Lei de Snell-Descartes	$n_1 \sin\theta_1 = n_2 \sin\theta_2$	Abertura numérica de uma fibra ótica	$NA = n_i \times \sin\phi$ $= \sqrt{n_{núcleo}^2 - n_{bainha}^2}$
Absorvância	$A = 100 - (T_t + R_t)$ $= \mu_a \times d$	Irradiância para um feixe laser	$I = \frac{P}{A}$

Nº

NAME

**Important notes:**

Start the exam by writing your student number and full name in the line above.

Read each question carefully.

The following questions correspond to the 7 chapter that were presented in this chair.

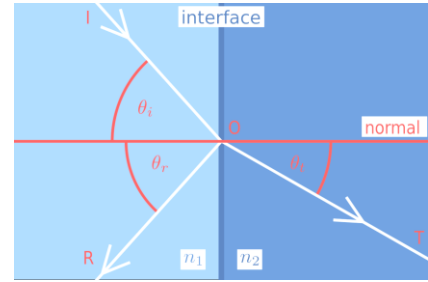
For questions that do not need calculations, please write your answer immediately after the question.

There are some equations available at the end of the exam.

For questions that need calculations, please resolve them in a white sheet and then digitize your resolution to place after the corresponding question in this document.

Once you end the exam, save the document with your answers in PDF format and submit it through MOODLE to be evaluated.

1. [3] The figure represents a laser beam ( $\lambda=532$  nm in vacuum) that hits an interface between two media. The incidence medium has a refractive index  $n_1=1.52$  and the incidence angle is  $\theta_i=36^\circ$ . Calculate:



- The refractive index in the second medium,  $n_2$ , if the shear reflectance is 0.03. Say in which spectral range the laser emits in the two media.
- The transmission angle,  $\theta_t$ ?
- Suppose now that the figure represents the entrance of the beam from medium 1 to the nucleus of an optical fiber (medium 2), where  $\theta_i$  represents the angle that corresponds to the numerical aperture of the fiber. Assuming that the  $n_2$  value calculated in (a) is the RI of the core, calculate the RI of the cladding.

Note: If you have not calculated  $n_2$  in (a), please consider  $n_2=1.42$  in (b) and in (c).

- [4] A biological tissue with high content of proteins, DNA, oxygenated blood and some lipids was subject of a study, where thickness and spectral measurements of total transmittance ( $T_t$ ), total reflectance ( $R_t$ ) and collimated transmittance ( $T_c$ ) between 200 and 1000 nm were performed.
  - Identify the expected absorption bands by name and central wavelength. Considering the available measurements, which estimation method to obtain the absorption band of DNA is more reliable and why the other methods fail in such identification?
  - If at 350 nm, this tissue presents:  $\mu_a = 15 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_s = 140 \text{ cm}^{-1}$  and  $g=0.03$ , calculate the values for the reduced scattering coefficient and light penetration depth.
  - Supposing that the tissue had a thickness of  $d=0.7$  mm, calculate its absorbance and collimated transmittance at 350 nm.
- [2] Photo-acoustic microscopy consists on an imaging technique that works through phase modulation. Explain how it works and how the acquisition depth can be changed.
- [3] Photo-diagnosis and phototherapy (PDT) is a fluorescence technique that allows both imaging and spectra acquisition. Explain com this technique works, which type of fluorescence is generated when Aminolevulinic Acid (ALA) is administered and say in which spectral range the stimulation and emission wavelengths are located.
- [4] A biological tissue has a mobile water content of 41% and the RI values for the tissue and its interstitial fluid at 200 and 500 nm are respectively:  $n_{\text{tissue}}(200\text{nm})=1.47$ ,  $n_{\text{tissue}}(500\text{nm})=1.38$ ,  $n_{\text{ISF}}(200\text{nm})=1.42$  e  $n_{\text{ISF}}(500\text{nm})=1.36$ . After treating the tissue with an aqueous solution containing 50% saccarose, an increase in transparency was observed.
  - Explain what characterizes the diffusion time obtained for this treatment.
  - Considering a tissue model with only scatterers and mobile water, estimate the RI of tissue scatterers at the wavelengths indicated above. If the treatment has produced an increase in  $n_{\text{ISF}}$  of 25% (at 200 nm) and of 5% (at 500 nm), what is the percentage decrease in the relative RI ( $n=n_{\text{scat}}/n_{\text{ISF}}$ ) at these wavelengths? Assume that no change occurred in  $n_{\text{scat}}$ .
  - During treatment, it was verified that the clearing efficiency at 200 nm was 300% after 180 sec and 420% after 600 sec. Estimate the protein dissociation rate for this time span, where the efficiency is linear.
- [2] Explain how the Speckle imaging technique works, indicating how images are formed.

7. [2] A laser beam with 5 mW power presents a 5 mm diameter and is classified as Class I laser. If a converging lens is placed in front of the laser, focusing the beam into an area with diameter of 0.5 mm, the laser changes its classification to Class III. Explain why such reclassification is necessary. If the laser emits at 230 nm, what type of photo biological effects can be expected in ocular tissues as a result of accidental exposure?

**Equations**

Light speed in vacuum	$c = 3 \times 10^8 \text{ m/s}$	Reduced scattering coefficient	$\mu'_s = \mu_s \times (1 - g)$
Light propagation constant	$K = \frac{2\pi}{\lambda}$	Light penetration depth	$\delta = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu'_s)}}$
Angular frequency	$\omega = 2\pi f$	Collimated transmittance	$T_c = \exp(-\mu_t \times d)$
Interference maxima	$d \times \sin\theta = m\lambda,$ $m=(0,1,2,...)$	Gladstone and Dale law	$n_{tissue} = f_{scat} \times n_{scat} + f_{ISF} \times n_{ISF}$
Shear reflectance	$R_s = \left  \frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right ^2$	Diffusion coefficient for ex vivo slab sample	$D = \frac{d^2}{\pi^2 \tau}$
Snell-Descartes law	$n_1 \sin\theta_1 = n_2 \sin\theta_2$	Numerical aperture of an optical fiber	$NA = n_i \times \sin\phi$ $= \sqrt{n_{nucleo}^2 - n_{bainha}^2}$
Absorbance	$A = 100 - (T_t + R_t)$ $= \mu_a \times d$	Laser beam irradiance	$I = \frac{P}{A}$