

# AUMENTO DA PROFUNDIDADE DE CAMPO DO MICROSCÓPIO ÓPTICO ATRAVÉS DE PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS

Vitor Ciciliato ✓

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo Chiquito ✓

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia  
Elétrica da Universidade Estadual de Campinas como  
parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título  
de DOUTOR EM ENGENHARIA ELÉTRICA.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA  
DEPARTAMENTO DE COMUNICAÇÕES

Campinas - SP

Março 1995

Este exemplar contém o texto final da tese  
defendida por VITOR CICILIATO

Comissão

Julgadora em 07 / 04 / 95

*José Geraldo Chiquito*

## Agradecimentos

Ao amigo e orientador Prof. Dr. José Geraldo Chiquito que sugeriu o tema e me incentivou a realizar este trabalho. Sua orientação e dedicação foram muito importantes para atingir os resultados desejados. Também não posso deixar de agradecer o seu apoio material ao trabalho, concretizado principalmente através do empréstimo da câmara de vídeo e do microscópio composto, além do fornecimento de várias referências das áreas da microscopia, fotografia e televisão.

Aos amigos do Laboratório de Processamento de Sinais e da UNICAMP pelas sugestões e contribuições.

Aos Profs. João Semir e Angelo Pires Prado do Instituto de Biologia da UNICAMP pelo fornecimento de alguns dos espécimes utilizados neste trabalho.

À minha esposa Margareth pela sua compreensão e apoio.

Às instituições financiadoras de pesquisas CAPES e CNPq pelo suporte financeiro.

A todos que de uma forma ou outra contribuíram para a realização deste trabalho.

Para Margareth,  
com muito amor.

AUMENTO DA PROFUNDIDADE DE CAMPO DO  
MICROSCÓPIO ÓPTICO ATRAVÉS DE  
PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS

Vitor Ciciliato  
José Geraldo Chiquito

DECOM - FEE - UNICAMP

Março 1995

## Resumo

Uma das principais limitações do microscópio óptico é a sua pequena profundidade de campo, que é tão mais grave quanto maior for a resolução empregada. Esta limitação impede, em muitos casos, a obtenção de imagens onde o espécime aparece nítido em todo o campo visual. Este trabalho desenvolve várias técnicas de processamento digital de imagens para aumentar a profundidade de campo das imagens obtidas com o microscópio óptico. As imagens são adquiridas através de uma câmara de vídeo montada, com um adaptador, no tubo da ocular do microscópio. Através da seleção do número de imagens de entrada, o microscopista pode controlar a profundidade de campo na imagem resultante.

Foram propostos dois métodos de processamento. O primeiro se baseia num método de enriquecimento de imagens para destacar bordas e formas conhecido por mascaramento não-nítido. O segundo se baseia num processo de “recorte” e “colagem” das regiões nítidas das imagens de entrada, sendo a posição do recorte determinada pelas curvas de nitidez destas imagens.

Um processo matemático para a reconstrução do espaço-objeto, com a conseqüente eliminação da limitação da profundidade de campo, é desenvolvido através do modelamento do sistema óptico formado pela objetiva do microscópio. Determina-se a resposta impulsiva e a função de transferência deste sistema linear variante com o deslocamento.

Também apresenta-se um sistema de aquisição de imagens estáticas, que emprega um digitalizador de áudio com taxa de amostragem de 15,75 kHz. Este sistema aproveita a característica estática das imagens para implementar uma amostragem “coluna a coluna” do sinal de vídeo produzido pela câmara – e não “linha a linha” como é comum em sistemas dedicados à aquisição de imagens através da digitalização de sinais de vídeo.

# Conteúdo

<b>I</b>	<b>O Microscópio Composto</b>	<b>1</b>
I.1	Introdução . . . . .	1
I.2	Descrição . . . . .	2
I.2.1	Partes mecânicas . . . . .	5
I.2.2	Partes ópticas . . . . .	6
I.2.3	Tipos de microscópios . . . . .	7
I.3	Princípios gerais . . . . .	9
I.4	Objetivas . . . . .	12
I.4.1	Tipos de objetivas . . . . .	12
I.4.2	Aberrações ópticas . . . . .	14
I.4.3	Curvatura de campo . . . . .	15
I.4.4	Abertura numérica . . . . .	16
I.4.5	Resolução, limite de resolução e poder de resolução . . . . .	17
I.5	Oculares . . . . .	19
I.5.1	Tipos de oculares . . . . .	19
I.6	Condensadores . . . . .	20
I.6.1	Tipos de condensadores . . . . .	20
I.7	Alguns aspectos físicos da formação da imagem . . . . .	22
I.7.1	Imagem de uma fonte pontual de luz monocromática . . . . .	22
I.7.2	Limite de resolução e poder de resolução pelo padrão de difração . . . . .	24
I.8	Profundidade de campo e de foco . . . . .	26
I.9	Técnicas convencionais para melhoria de imagens . . . . .	29
I.9.1	Campo escuro . . . . .	30
I.9.2	Contraste cromático diferencial de Rheinberg . . . . .	32
I.9.3	Contraste de fase . . . . .	33

I.9.4	Infravermelho e ultravioleta . . . . .	34
I.9.5	Fluorescência . . . . .	36
I.9.6	Interferência . . . . .	37
I.9.7	Polarização . . . . .	37
I.10	Uma visão geral do microscópio eletrônico . . . . .	38
I.10.1	Microscópio eletrônico X microscópio óptico . . . . .	39
<b>II</b>	<b>Técnicas Gerais de Melhoria de Imagens Digitais</b>	<b>41</b>
II.1	Introdução . . . . .	41
II.2	Enriquecimento de imagens . . . . .	42
II.2.1	Métodos baseados na modificação do histograma . . . . .	43
II.2.2	Métodos para suavizar imagens . . . . .	47
II.2.3	Métodos para destacar bordas e formas . . . . .	50
II.2.4	Método baseado no modelamento da imagem . . . . .	54
II.2.5	Modificação adaptativa de contraste local e luminância local média . . . . .	56
II.2.6	Métodos baseados em pseudo-cores . . . . .	57
II.2.7	Métodos para estimação de movimento . . . . .	59
II.2.8	Interpolação de imagens . . . . .	61
II.3	Restauração de imagens . . . . .	65
II.3.1	Métodos para estimação da degradação . . . . .	66
II.3.2	Métodos para redução de ruído aleatório aditivo . . . . .	67
II.3.3	Métodos para redução do embaçamento de imagens . . . . .	71
II.3.4	Métodos para redução de ruído dependente do sinal . . . . .	73
II.3.5	Métodos baseados em filtragem temporal . . . . .	74
II.3.6	Restauração interativa . . . . .	77
II.3.7	Transformações geométricas . . . . .	78
II.4	Observações . . . . .	80
<b>III</b>	<b>Modelamento do Sistema Óptico</b>	<b>82</b>
III.1	Resposta impulsiva . . . . .	83
III.1.1	Caracterização do microscópio composto como sistema linear variante . . . . .	89
III.2	Função de transferência . . . . .	90
III.2.1	Interpretação da função de transferência . . . . .	92
III.3	Obtenção de $f(x, y, z)$ a partir de $H(ju, jv, jw, x, y, z)$ e $g(x, y, z)$ . . . . .	93

<b>IV Sistema de Aquisição de Imagens</b>	<b>99</b>
IV.1 Histórico . . . . .	99
IV.2 Introdução . . . . .	100
IV.3 A câmara de vídeo . . . . .	101
IV.4 Particularidades do sistema de aquisição de dados (SAD) . . . . .	103
IV.5 Sistema externo de controle do SAD (SECSAD) . . . . .	105
IV.5.1 Descrição de operação . . . . .	106
IV.5.2 Descrição dos circuitos . . . . .	110
IV.5.3 Programas para gerar o arquivo imagem no padrão TIFF . . . . .	121
IV.6 Aquisição das imagens . . . . .	124
IV.6.1 Grupos de imagens macroscópicas obtidas com a objetiva normal da câmara	125
IV.6.2 Grupos de imagens obtidas com o microscópio . . . . .	126
IV.7 Resultados . . . . .	128
IV.7.1 Discussão dos limites de resolução do sistema . . . . .	130
IV.7.2 Conclusões . . . . .	133
<b>V Processamento das Imagens do Microscópio</b>	<b>135</b>
V.1 Introdução . . . . .	135
V.2 Concepção da técnica . . . . .	135
V.3 Procedimento para aplicar a técnica proposta . . . . .	136
V.4 Métodos propostos . . . . .	138
V.4.1 Método 1: derivado do mascaramento não-nítido . . . . .	138
V.4.2 Método 2: baseado nas curvas de nitidez . . . . .	140
V.5 Programas implementados . . . . .	142
V.5.1 Método 1 . . . . .	142
V.5.2 Método 2 . . . . .	142
V.6 Resultados dos processamentos . . . . .	143
V.6.1 Texto . . . . .	144
V.6.2 Parafuso allen . . . . .	148
V.6.3 Agulha de toca-discos de 78 rpm . . . . .	148
V.6.4 Aranha . . . . .	148
V.6.5 Estigma da flor da <i>Petúnia Exserta</i> . . . . .	153
V.6.6 Estigma da flor da <i>Petúnia Axillaris</i> . . . . .	155
V.6.7 Semente da <i>Petúnia Axillaris</i> . . . . .	155

V.6.8	Detalhe da semente da <i>Petúnia Axillaris</i> . . . . .	155
<b>VI</b>	<b>Conclusões</b>	<b>159</b>
<b>A</b>	<b>Arquivo de Imagem no Formato TIFF</b>	<b>162</b>
A.1	Exemplo de arquivo TIFF . . . . .	162
<b>B</b>	<b>Projeto dos Filtros Digitais</b>	<b>166</b>
B.1	Projeto do FPB-1D de 1 <sup>a</sup> ordem . . . . .	166
B.2	Projeto do FPB-1D de 2 <sup>a</sup> ordem . . . . .	168
B.3	Projeto do FPA-1D de 2 <sup>a</sup> ordem . . . . .	169
B.4	Obtenção do FPB-2D de 1 <sup>a</sup> ordem . . . . .	170
B.5	Obtenção do FPB-2D de 2 <sup>a</sup> ordem . . . . .	171
B.6	Obtenção do FPA-2D de 2 <sup>a</sup> ordem . . . . .	172
<b>Bibliografia</b>		<b>173</b>

# Lista de Figuras

I.1	Ângulo visual . . . . .	2
I.2	Esquema do microscópio composto . . . . .	3
I.3	Exemplo de microscópio composto . . . . .	5
I.4	Amplificador simples . . . . .	9
I.5	Amplificador composto e a formação de imagem no microscópio composto . . . . .	10
I.6	Aberração cromática . . . . .	14
I.7	Lente acromática . . . . .	15
I.8	Aberração esférica . . . . .	15
I.9	Abertura angular da objetiva . . . . .	17
I.10	Ferramentas de ampliação X faixa de aplicação . . . . .	18
I.11	Disco de Airy . . . . .	23
I.12	Vibrações em fase . . . . .	24
I.13	Vibrações em oposição de fase . . . . .	25
I.14	Intensidade do padrão de difração . . . . .	25
I.15	Padrões de difração disjuntos . . . . .	26
I.16	Curvas dos padrões de difração para quando o poder de resolução é atingido . . . . .	26
I.17	Padrões de difração para quando o poder de resolução é atingido . . . . .	27
I.18	Profundidade de foco . . . . .	27
I.19	Diagrama para cálculo da profundidade de campo . . . . .	28
I.20	Esquema do microscópio de campo escuro . . . . .	31
I.21	Barreira para a luz no microscópio de campo escuro . . . . .	31
I.22	Condensador para microscópio de campo escuro . . . . .	32
I.23	Esquema do microscópio de fluorescência . . . . .	36
II.1	Exemplo de filtragem por mediana numa vizinhança de 3 x 3 pixels . . . . .	48
II.2	Sistema para mascaramento não-nítido . . . . .	54
II.3	Sistema homomórfico para enriquecimento de imagem . . . . .	56

II.4	Modificação adaptativa do contraste local e da luminância local média . . . . .	57
II.5	Diagrama de blocos para transformação de nível de cinza para cor . . . . .	58
II.6	Um modelo de filtragem para pseudo-cores . . . . .	59
II.7	Interpolação bilinear . . . . .	63
II.8	Modelo do sistema de restauração de imagens . . . . .	65
II.9	Restauração de imagem com compensação de movimento . . . . .	77
II.10	Correspondentes pontos vinculados em dois segmentos de imagens . . . . .	79
III.1	Formação da imagem . . . . .	84
III.2	(a) Formação do cone de luz e (b) seção do cone de luz . . . . .	85
III.3	Aproximação para seção circular . . . . .	85
III.4	Ponto objeto sobre o eixo $x$ . . . . .	86
III.5	Ponto objeto $(x_o, y_o, z_o)$ . . . . .	87
III.6	Parcela do fluxo luminoso $\phi$ que atinge a lente . . . . .	88
III.7	Sistema linear invariante . . . . .	89
III.8	Sistema linear invariante deslocado . . . . .	89
III.9	Sistema linear variante . . . . .	90
III.10	Diagrama do sistema . . . . .	90
III.11	Composição espectral do sistema linear invariante . . . . .	94
III.12	Composição espectral do sistema linear variante . . . . .	94
IV.1	Diagrama do sistema de aquisição com o SECSAD . . . . .	101
IV.2	Diagrama do sistema de aquisição com a placa SVW . . . . .	101
IV.3	Desenho mecânico do suporte em L . . . . .	102
IV.4	Esquema de armazenagem das amostras na memória RAM do SAD . . . . .	105
IV.5	Diagrama de blocos funcionais simplificado . . . . .	107
IV.6	Diagrama de blocos funcionais detalhado . . . . .	109
IV.7	Separador de sincronismo e sinal para o sample-hold . . . . .	112
IV.8	Sinais do detector do campo 1 . . . . .	115
IV.9	Gerador da frequência de amostragem . . . . .	117
IV.10	Circuitos contadores e de partida . . . . .	120
IV.11	Circuitos fonte e sample-hold . . . . .	122
IV.12	O sistema SECSAD . . . . .	129
IV.13	Montagem do sistema de aquisição de imagens com o SECSAD . . . . .	129
IV.14	Padrão de barras . . . . .	131

IV.15	Dimensões e número de pixels da parte útil do CCD . . . . .	132
V.1	Diagrama de blocos do método 1: derivado do mascaramento não-nítido . . . . .	139
V.2	Diagrama de blocos do método 2: baseado nas curvas de nitidez . . . . .	141
V.3	Texto com a parte superior nítida . . . . .	145
V.4	Texto com a parte inferior nítida . . . . .	145
V.5	Texto processado segundo o método 1 . . . . .	146
V.6	Curva de nitidez da imagem texto da Fig. V.3 . . . . .	146
V.7	Curva de nitidez da imagem texto da Fig. V.4 . . . . .	147
V.8	Texto processado segundo o método 2 . . . . .	147
V.9	Primeira imagem parcial do parafuso allen . . . . .	149
V.10	Parafuso allen processado com junção pela maior nitidez . . . . .	149
V.11	Parafuso allen processado com junção ponderada . . . . .	150
V.12	Base da agulha do toca-discos . . . . .	150
V.13	Agulha do toca-discos processada . . . . .	151
V.14	Quarta imagem parcial da aranha . . . . .	151
V.15	Aranha processada . . . . .	152
V.16	Quinta imagem parcial do estigma da flor da <i>Petúnia Exserta</i> . . . . .	152
V.17	Estigma da flor da <i>Petúnia Exserta</i> processado . . . . .	154
V.18	Nona imagem parcial do estigma da flor da <i>Petúnia Axillaris</i> . . . . .	154
V.19	Estigma da flor da <i>Petúnia Axillaris</i> processado . . . . .	156
V.20	Quarta imagem parcial da semente da <i>Petúnia Axillaris</i> . . . . .	156
V.21	Semente da <i>Petúnia Axillaris</i> processada . . . . .	157
V.22	Trigésima imagem parcial do detalhe da semente da <i>Petúnia Axillaris</i> . . . . .	157
V.23	Detalhe da semente da <i>Petúnia Axillaris</i> processado . . . . .	158
B.1	Diagrama de blocos do FPB-1D de 1 <sup>a</sup> ordem . . . . .	168
B.2	Diagrama de blocos do FPB-1D de 2 <sup>a</sup> ordem . . . . .	169
B.3	Diagrama de blocos do FPA-1D de 2 <sup>a</sup> ordem . . . . .	171

# Lista de Tabelas

IV.1	Características das objetivas . . . . .	132
IV.2	Resolução fornecida pelas objetivas para o campo visual definido pelo CCD . . .	133
IV.3	Perdas da resolução fornecida pelas objetivas . . . . .	134

# Apresentação

O microscópio composto (ou óptico) é um instrumento que foi desenvolvido basicamente no século passado, sendo que neste século foram incorporadas algumas inovações tecnológicas, sem, no entanto, causar uma grande modificação no instrumento.

Por ser um instrumento desenvolvido a muito tempo o microscópio óptico está bastante difundido, podendo ser encontrado desde os laboratórios de ciências do 2º grau até os laboratórios de ensino e pesquisa das universidades, passando pelos laboratórios de análises clínicas, pelas indústrias da área da miniaturização, etc.

Os profissionais que trabalham com o microscópio óptico freqüentemente sentem necessidade de registrar (ou gravar), de alguma forma, as imagens dos espécimes observados. Normalmente o registro destas imagens é realizado através de gravações fotográficas<sup>1</sup> e este processo recebe um nome específico de acordo com a técnica fotográfica empregada:

**Fotografia** É a técnica fotográfica comum que usa filmes e máquinas fotográficas normais, para obter fotografias de objetos macroscópicos comuns e normais.

**Microfotografia** É a técnica fotográfica usada para obter fotografias de pequeno tamanho. Um bom exemplo desta técnica são os microfilmes.

**Macrofotografia** É a técnica fotográfica usada para obter fotografias de grandes dimensões. Os fotomurais são bons exemplos desta técnica.

**Fotomicrografia** É a fotografia realizada através do microscópio composto. Nesta técnica, usa-se uma ocular especial para fazer a projeção da imagem ampliada sobre o filme fotográfico. Neste caso usa-se o microscópio com as lentes ocular e objetiva, logo, consegue-se obter fotografias de objetos ampliados com a mesma ampliação usada no microscópio.

**Fotomacrografia** Esta técnica utiliza um microscópio composto sem a ocular, ou seja, a objetiva do microscópio projeta a imagem diretamente sobre o filme fotográfico. Consegue-se, desta

---

<sup>1</sup>Também pode ser usada a gravação cinematográfica.

forma, fotografias de objetos que têm detalhes muito pequenos para serem vistos a olho nu, com uma ampliação da ordem de 2 a 50 vezes. A fotomicrografia também pode ser realizada com lentes de câmaras fotográficas, com lentes de cinema, bem como com macro lentes especificamente projetadas para a técnica.

No seu emprego atual, o registro das imagens obtidas através do microscópio óptico utiliza, geralmente, ou a técnica da fotomicrografia ou a técnica da fotomicrografia. Nestes casos, considera-se que só são obtidas imagens de qualidade quando dois requisitos importantes são satisfeitos. O primeiro, consiste em arranjar iluminação apropriada para o espécime. E o segundo, em determinar a abertura numérica<sup>2</sup> ótima da objetiva para satisfazer o compromisso entre: (a) diminuir a abertura numérica da objetiva para aumentar a profundidade de campo<sup>3</sup>, e (b) aumentar a abertura numérica da objetiva para obter boa resolução.

Este compromisso gera uma das principais limitações do microscópio óptico, ou seja, a geração de imagens com uma profundidade de campo muito pequena. Esta limitação torna problemáticos o registro e a observação de espécimes volumosos<sup>4</sup>, pois, geralmente, o microscopista é obrigado a escolher uma objetiva com abertura numérica suficientemente alta, para obter a resolução necessária para resolver os pequenos detalhes da região de interesse do espécime. Porém, esta escolha gera freqüentemente imagens com profundidade de campo muito pequena, de forma que a cada ajuste do foco do microscópio apenas uma parte do espécime aparece de forma nítida no campo visual. Na observação visual direta de espécimes volumosos, o microscopista pode ir variando a posição de foco e ir criando assim uma imagem mental do espécime completo, porém, no registro fotográfico, torna-se muitas vezes impossível obter uma imagem simultaneamente nítida de todas as partes importantes do espécime. Nestes casos, uma possível solução para o problema emprega uma técnica mais cara, a microscopia eletrônica de varredura, que gera imagens com larga profundidade de campo. Entretanto, a microscopia eletrônica também tem as suas limitações como, por exemplo, não permite a observação de espécimes vivos.

A Referência [3] cita um método empregado para aumentar a profundidade de campo das imagens, através da realização de duas fotografias do mesmo espécime com o foco em posições (profundidades) distintas em cada imagem. As fotografias assim obtidas são recortadas na mesma posição, de forma que o recorte separe as porções em foco das duas fotografias originais. Estas

---

<sup>2</sup>A abertura numérica mede a capacidade da objetiva captar luz proveniente do espécime.

<sup>3</sup>A profundidade de campo é a distância entre o plano-objeto mais próximo e o plano-objeto mais distante, que parecem estar com foco aceitável.

<sup>4</sup>Espécimes volumosos são aqueles que apresentam uma dimensão na direção do eixo do microscópio maior do que a profundidade de campo fornecida pela objetiva.

porções em foco são agrupadas, através de colagem, para compor uma outra fotografia que contém duas regiões distintas em foco, logo aparenta ter uma profundidade de campo maior do que a profundidade de campo das imagens originais. Esta técnica tem um inconveniente importante causado pela definição manual da posição do recorte, o que pode levar a erros em fotos com muitos detalhes.

Se o método do parágrafo anterior for desconsiderado, aparentemente a limitação da profundidade de campo é aceita, pelos usuários e fabricantes de microscópios ópticos, como normal e impossível de ser eliminada. Isto é compreensível desde que se considere que tais indústrias são inerentemente indústrias ópticas e tendem, portanto, a procurar soluções ópticas para seus problemas. Como a limitação da profundidade de campo é gerada por uma limitação física, estas indústrias são levadas a acreditar que o problema não tem solução. No entanto, a história mostra que muitas vezes a interação de áreas diferentes do conhecimento, podem levar a solução de problemas antes aceitos como insolúveis.

É neste contexto que observa-se o aparecimento e o crescimento do registro de imagens na forma de números. Neste caso, as imagens são comumente chamadas de *imagens digitalizadas*, ou *imagens digitais*. Este processo de gravação foi viabilizado pela revolução tecnológica que atinge as áreas da eletrônica e da informática. O registro de uma imagem na forma digital é muito interessante do ponto de vista computacional, desde que está numa forma apropriada para ser utilizado e manipulado por computadores. Esta característica torna-se muito importante hoje em dia, visto a grande difusão dos computadores em todos os setores da atividade humana.

O desenvolvimento, barateamento e aumento da capacidade dos computadores, tanto em capacidade de processamento como em capacidade de armazenamento de dados, permitiram o surgimento de muitos sistemas periféricos e programas para a captura, aquisição e registro de imagens na forma digital. Estas facilidades impulsionaram o desenvolvimento e o crescimento da área do conhecimento chamada de *processamento digital de imagens*. As técnicas de processamento de imagens são desenvolvidas para atender alguma aplicação específica como: redução de ruído, redução de embaçamento, para destacar formas, etc., sendo o número e tipo de aplicações limitados pela imaginação humana.

Na comparação dos vários métodos de registrar imagens, torna-se evidente que o registro de imagens na forma digital é vantajosa, desde que, a possibilidade de aplicar um processamento digital sobre esta imagem abre um leque enorme de possíveis aplicações.

É na junção dos conhecimentos da microscopia óptica e do processamento digital de imagens, que vislumbra-se a possibilidade de eliminar a limitação da profundidade de campo das imagens do microscópio óptico, ou seja, através de um trabalho inter-disciplinar. Desta forma,

o Cap. I apresenta uma introdução ao microscópio composto, discutindo suas características, limitações e as técnicas convencionais desenvolvidas para melhorar as imagens geradas. No Cap. II apresenta-se, resumidamente, as principais técnicas de processamento digital de imagens.

Então, partindo destes dois capítulos introdutórios, pode-se considerar que a limitação da profundidade de campo nasce, em última instância, do processo de se projetar um espaço tri-dimensional (espaço-objeto) num espaço bi-dimensional (plano-imagem), com a inevitável perda de informações.

Assim a iluminação<sup>5</sup> de um plano-imagem pode ser considerada como uma amostragem do espaço-imagem tri-dimensional. Se forem obtidas as informações de iluminação de muitos planos-imagem, suficientemente próximos um do outro, é válido conceber a possibilidade da restauração do espaço-objeto, ao menos teoricamente.

Este trabalho demonstra, no Cap. III, a possibilidade da reconstrução do espaço-objeto a partir do conhecimento do espaço-imagem e da função de transferência óptica do microscópio, modelado como um sistema linear variante ao deslocamento.

Apesar dos conceitos de MTF (Modulation Transfer Function) e OTF (Optical Transfer Function) serem conhecidos há bastante tempo, [11], a aplicação de conceitos de sistemas lineares da forma apresentada neste trabalho, e, principalmente, a possibilidade da inversão da função de transferência do microscópio óptico, é inédita ao que se sabe.

Na reconstrução do espaço-objeto desaparece, evidentemente, a limitação da profundidade de campo do microscópio óptico. Porém, a implementação prática da reconstrução não é uma tarefa simples e rápida, logo não será abordada em detalhes neste trabalho.

Uma abordagem mais heurística da remoção da limitação da profundidade de campo é apresentada no Cap. V, onde foram obtidos resultados práticos muito interessantes. O processamento é aplicado sobre um conjunto apropriado de imagens adquiridas do espécime através do microscópio, gerando uma imagem final por um processo de "recorte" e "colagem" das regiões nítidas das imagens de entrada. A posição do recorte é determinada através da comparação das curvas de nitidez geradas para cada imagem de entrada. O microscopista pode controlar a profundidade de campo na imagem processada através da seleção do número de imagens de entrada.

O processo de concepção mental da imagem realizada pelo microscopista e o método manual citado acima da Referência [3], motivaram o desenvolvimento deste método de processamento de imagens para realizar este trabalho rotineiramente e com mais confiabilidade, de forma a poupar o microscopista para tarefas mais importantes como a análise das imagens geradas.

O Laboratório de Processamento de Sinais (LPS) onde este trabalho foi desenvolvido.

---

<sup>5</sup>Iluminação é o fluxo de luz por unidade de área ( $[\text{lumen}/\text{m}^2] = [\text{lux}]$ ) incidente no plano-imagem considerado.

não contava com equipamento para realizar a aquisição das imagens geradas pelo microscópio. A solução encontrada para este problema, apresentada no Cap. IV, levou ao desenvolvimento de um sistema de aquisição de imagens estáticas. O sistema desenvolvido aproveita um equipamento existente no LPS, o Sistema de Aquisição de Dados (SAD) para sinais com faixa de até 50 kHz, para realizar a aquisição do sinal de vídeo da câmara. O uso do SAD só é possível devido ao esquema de amostragem “coluna a coluna” adotado, que aproveita a característica estática das imagens. No final deste capítulo comenta-se as imagens adquiridas e discute-se os limites de resolução do sistema de aquisição.

As conclusões são apresentadas no Cap. VI, onde discute-se aspectos relacionados ao desempenho dos métodos desenvolvidos, custos e possíveis continuações do trabalho.

No final, o Apêndice A comenta o cabeçalho do formato de arquivos de imagem adotado (formato TIFF) e o Apêndice B traz o projeto dos filtros digitais implementados.

# Capítulo I

## O Microscópio Composto

### I.1 Introdução

Embora o olho humano seja notavelmente eficiente,<sup>1</sup> o seu alcance pode ser ampliado de muitas maneiras por uma grande variedade de instrumentos ópticos, tais como binóculos, lupas, projetores de cinema, máquinas fotográficas e de TV, microscópios, telescópios, etc. Em muitos casos, esses aparelhos estendem o alcance da visão para além do intervalo visível do espectro eletromagnético, sendo exemplos disso, satélites com câmaras infravermelhos, microscópios de raios X, etc.

O olho humano pode focalizar uma imagem nítida de um objeto na retina, desde que esse objeto se encontre localizado em qualquer ponto desde o infinito até um certo ponto chamado de *ponto próximo*, o qual nas pessoas normais está a cerca de 25 cm do olho. Deslocando-se o objeto para uma distância inferior à que é definida pelo ponto próximo, a imagem na retina se torna difusa, ou não nítida.

O tamanho da imagem do objeto na retina determina seu *tamanho aparente* e este tamanho depende do *ângulo visual*  $\theta_1$ , Fig. I.1 (a), com o qual se focaliza o objeto distintamente. Assim, quanto mais perto do olho está o objeto, Fig. I.1 (b), maior será o ângulo visual  $\theta_2$ , portanto maior será seu tamanho aparente e, conseqüentemente, melhor será a capacidade de distinguir detalhes neste objeto. No entanto, para uma pessoa com visão padrão, a menor distância para o olho sem nenhuma ajuda focalizar um objeto é a do ponto próximo, logo, esta distância é a mais favorável para se examinar em detalhe qualquer objeto.

Quando existe a necessidade de observar um objeto mais profundamente, com detalhes

---

<sup>1</sup>Os olhos dos insetos são ainda mais versáteis do que os olhos humanos, [1].

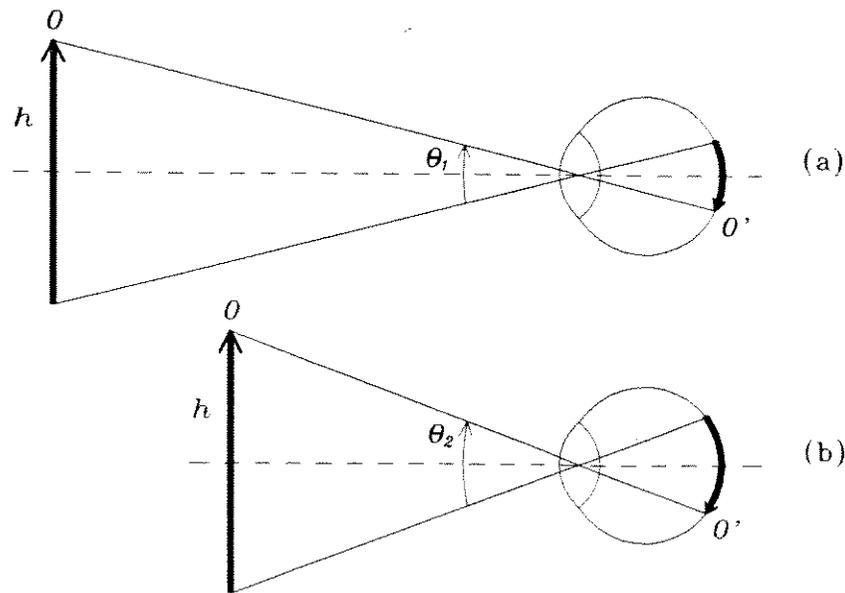


Figura I.1: Ângulo visual

mais finos ainda, o olho humano precisa ser ajudado. Neste caso é necessário empregar algum instrumento óptico (construído com base em algum fenômeno óptico), que seja capaz de ajudar o olho nesta observação mais detalhada. O *microscópio composto* é um exemplo de instrumento usado com esta finalidade.

## I.2 Descrição

O microscópio composto, segundo se usa o termo atualmente, consta fundamentalmente de três sistemas ópticos, em meio dos quais se encontra montada uma mesa, também chamada de platina, que é usada para posicionar a amostra.

Os dois primeiros sistemas ópticos são os mais importantes e trabalham em conjunto para produzir na retina do olho uma imagem ampliada do objeto. Cada um destes sistemas é formado por um conjunto de lentes e são instalados nas extremidades de um tubo, também chamado de corpo tubular. O primeiro sistema é chamado de objetiva, porque está montado na extremidade do tubo mais próxima do objeto, sendo responsável pela formação de uma imagem primária aumentada do objeto, que é posteriormente ampliada pelo segundo sistema. O segundo sistema, é chamado de ocular porque está montado na outra extremidade do tubo, ou seja, na extremidade que fica mais próximo do olho durante a observação do objeto.

O terceiro sistema óptico tem como finalidade iluminar eficazmente o objeto e, como

num projetor ou num ampliador, consta basicamente de um condensador óptico e de uma fonte de luz.

Resumindo, o microscópio composto fornece um meio conveniente para visualização de objetos sob alta ampliação, por usar um segundo sistema de lentes (a ocular) para reforçar a ampliação da imagem formada por um primeiro sistema de lentes (a objetiva). A iluminação apropriada do objeto geralmente requer não somente uma fonte de luz de alta intensidade, mas também o uso de uma lente (o condensador óptico) para focar a luz para, ou mais próxima do objeto. Os componentes ópticos do microscópio composto são mostrados (de forma bastante esquematizada) pela Fig. I.2.

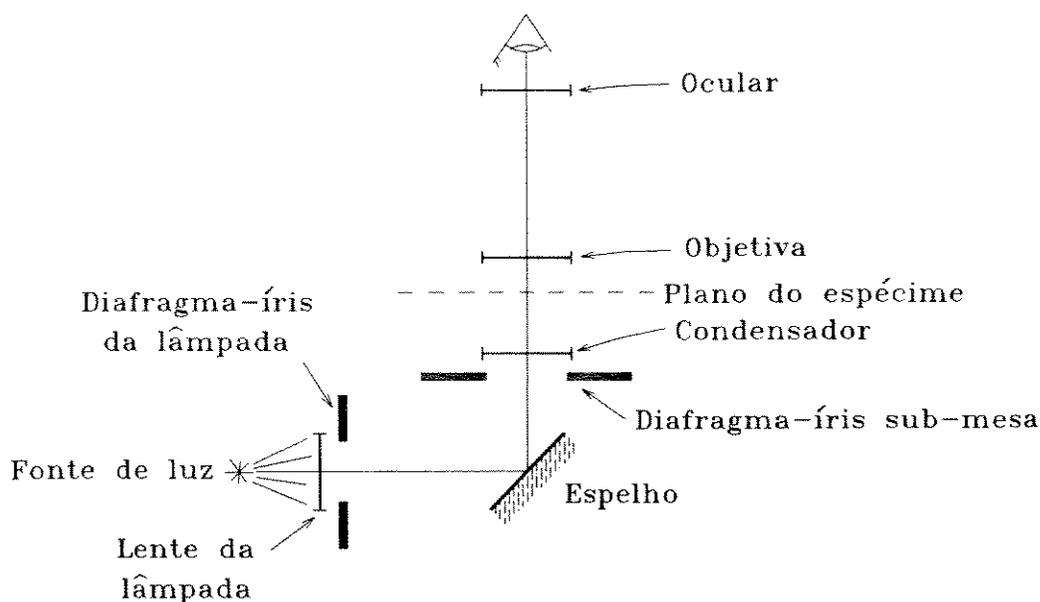


Figura I.2: Esquema do microscópio composto

A fonte de luz é usualmente um filamento de tungstênio incandescente. Um reostato pode ser usado para variar a potência fornecida para este tipo de lâmpada e assim controlar seu brilho. Quando fontes de alta intensidade são requeridas, arcos de carvão ou xenônio podem ser usados, enquanto lâmpadas a vapor de mercúrio ou sódio podem servir como fontes de luz monocromática.

Como mostrado na Fig. I.2, a luz da fonte pode convergir através de uma lente (lente da lâmpada), cuja distância entre lente e lâmpada é ajustável em alguns sistemas. O tamanho efetivo da fonte é controlado por um diafragma-íris variável (diafragma de campo, ou de lâmpada). Em sistemas simples, no entanto, a lente da lâmpada e o diafragma são trocados por uma placa

de vidro despolido, a qual, efetivamente, age como uma fonte de luz de dimensões extensas.

A luz do sistema de iluminação é coletada pela lente do condensador, cuja abertura de iluminação é controlada por um outro conjunto variável diafragma-íris (diafragma sub-mesa), o qual está localizado abaixo da lente do condensador. Este diafragma é colocado aproximadamente no primeiro plano focal do condensador e serve para controlar a sua abertura efetiva. Em microscópios usados somente para baixas ampliações, a lente condensadora é algumas vezes omitida e a luz da fonte é direcionada para o plano do espécime, através de um espelho, o qual pode ser curvo para convergir o feixe de iluminação. No entanto, na ausência de uma lente condensadora, a iluminação do espécime é insuficiente para altas ampliações. Condensadores de Abbe fazem uso de uma ou duas lentes não corrigidas, permitindo iluminação moderada ou muito intensa do espécime, para média ou alta ampliação, respectivamente. Condensadores aplanáticos e acromáticos também estão disponíveis; eles são corrigidos para aberrações esféricas e para ambas as aberrações esféricas e cromáticas, respectivamente.

O plano do espécime mostrado na Fig. 1.2 é a posição da platina do microscópio, sobre a qual o suporte do espécime (lâmina, etc.) descansa. A platina, em sua forma mais suscinta, consiste em uma mesa retangular provida de um furo central para a passagem da iluminação. Em geral, é dotada de um par de pinças para segurar o objeto montado sobre uma placa de vidro. Nos microscópios mais modernos, a platina é circular e giratória e se pode centrá-la. Os aparelhos mais caros possuem algum meio mecânico para mover o objeto sobre a platina (platina mecânica).

A objetiva e a ocular são fixadas pelo chamado tubo do microscópio. O comprimento óptico do tubo é definido como a distância do plano focal superior da objetiva para a imagem intermediária e pode ser diferente do seu comprimento mecânico. Usualmente o comprimento do corpo do tubo é fixado, mais comumente para 160 mm. Mas existem outros comprimentos mecânicos de tubos como 170 mm, 200 mm ou 210 mm.

A focalização da imagem é realizada pela variação da distância entre o espécime e a objetiva. Usualmente isto é feito pelo deslocamento para cima e para baixo do tubo do microscópio, embora ajustes finos de foco sejam algumas vezes produzidos pelo movimento axial da mesa do espécime.

Os sistemas de lentes, os mecanismos de enfoque e a platina constituem o *suporte* do microscópio, e vão unidos a um braço (estativo) que é sustentado por uma base ou pé. A título de ilustração, a Fig. 1.3 mostra um tipo de microscópio composto bastante comum:

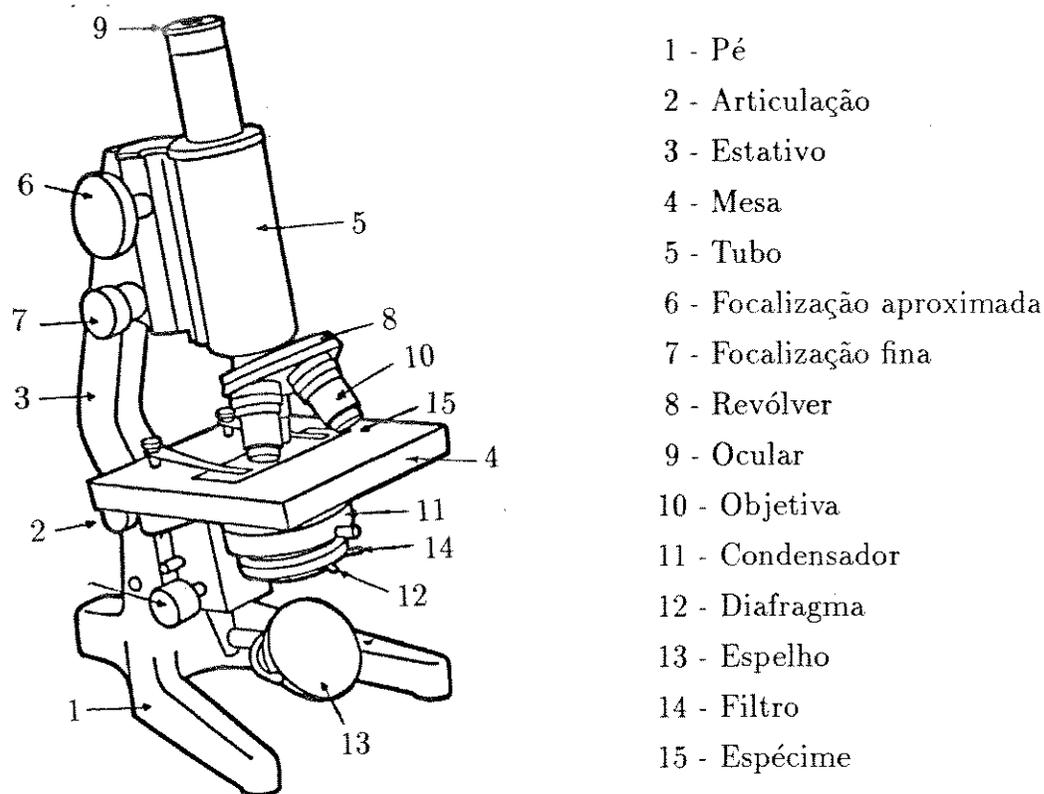


Figura I.3: Exemplo de microscópio composto

### I.2.1 Partes mecânicas

**Pé** É a base do aparelho. Na sua construção são utilizadas ligas de metais pesados para dar estabilidade à estrutura do instrumento.

**Articulação** Também chamada de *charneira de inclinação*, é um dispositivo na ligação do pé com o estativo, com freio de ação automática, que permite a inclinação do estativo até quase a linha horizontal.

**Estativo** É a haste que sustenta o tubo, a mesa, o espelho, o porta-condensador e os mecanismos macro e micrométricos.

**Mesa ou platina** Diversas construções são utilizadas, mas todas visam facilitar o posicionamento do objeto a ser estudado. No centro da mesa há uma abertura para a passagem dos raios luminosos coletados pelo espelho.

**Tubo de encaixe mono- ou binocular** Sua função é fixar a objetiva e a ocular, de forma a mantê-las alinhadas e com a distância óptica apropriada.

**Dispositivos macro e micrométricos** O mecanismo macrométrico consiste em cremalheira e pinhão com percurso vertical. Com ele, obtém-se a focalização grosseira do espécime a ser examinado. O mecanismo micrométrico é semelhante, mas de ação mais limitada e atua na focalização fina do espécime.

**Revólver ou porta-objetivas** É o mecanismo que fica na extremidade inferior do tubo acima da mesa, sendo usado para troca e proteção das objetivas. Apresenta, geralmente, de 3 a 6 orifícios circulares providos de roscas padronizadas, onde são montadas as objetivas.

### 1.2.2 Partes ópticas

**Ocular** É um sistema óptico geralmente construído com 2 ou 3 lentes superpostas. A ocular é encaixada na extremidade superior do tubo podendo ser retirada e substituída facilmente, segundo a necessidade do momento. Amplia a imagem formada pela objetiva sem, no entanto, melhorar sua qualidade.

**Objetiva** É um sistema óptico construído com 4, 6 ou mais lentes superpostas e fornece uma imagem real ampliada do objeto. Na construção das objetivas procura-se reduzir ao máximo as aberrações cromáticas e de esfericidade, já que o poder de resolução do microscópio é dado pelo desempenho da objetiva.

**Condensador com diafragma** O condensador é encaixado no porta-condensador localizado abaixo da mesa. Sua função principal é fornecer, “condensar”, luz para a iluminação do espécime. O diafragma do sistema-íris, cuja abertura é regulável, permite otimizar a iluminação em função da abertura numérica da objetiva, tipo de espécime, etc.

**Espelho** É encaixado por baixo do condensador num vão do pé do microscópio. É circular e articula-se entre dois braços laterais, sendo uma de suas faces plana e a outra côncava. A primeira colhe e projeta os raios paralelos e divergentes e a segunda os convergentes. O espelho côncavo é usado nas ampliações pequenas. O espelho plano, juntamente com o condensador, é usado nas grandes ampliações e com objetivas de imersão.

### 1.2.3 Tipos de microscópios

Os microscópios ópticos são fabricados em uma grande diversidade de formas, tamanhos e preços. No entanto, é possível dividi-los em alguns tipos básicos.

#### Microscópios de brinquedo

Comummente são descritos, com muito otimismo, como “ideais para os estudantes”. São pequenos, e, geralmente, a maioria de suas peças são fabricadas em plástico. Não obedecem as normas de comprimento do tubo, de fixação da ocular e nem de rosca de objetiva. As correções ópticas são quase sempre deficientes. Não existe mecanismo micrométrico nem condensador. A iluminação se efetua por meio de um espelho e, às vezes, por uma lâmpada. Em geral, a gama de aumentos é excessivamente ambiciosa com respeito às correções ópticas realizadas. Carece quase completamente de acessórios. Aplicações: muito limitadas, exceto para interessar as crianças pela microscopia.

#### Microscópios escolares simples

Muitos destes microscópios são fabricados por firmas ópticas de primeira classe. Geralmente, são bastante pequenos em termos de tamanho, mas o comprimento do tubo obedece a norma. As lentes são de boa qualidade. Carecem de condensador ou têm um do tipo lupa. O controle da abertura central, quando existente, se gradua por meio de um disco diafragma giratório. A iluminação se realiza por meio de um espelho, ou de uma lâmpada de pouca potência conectada à rede elétrica. Às vezes possuem um mecanismo micrométrico muito simples. Acessórios: escassos. Gama de aumento: de 25 a 300 vezes. Aplicações: limitadas pelo condensador deficiente.

#### Microscópios escolares avançados

São aparelhos monoculares, de tamanho padrão, de construção maciça e capazes de prestar muitos anos de serviço aos pouco cuidadosos estudantes do último ano de bacharelado e aos universitários. Tanto o comprimento do tubo como a ocular obedecem as normas. As objetivas são acromáticas e de boa qualidade. O condensador é do tipo Abbe, o qual permite a retirada da lente superior para os trabalhos que requerem um aumento menor. O controle da abertura se efetua por meio de um diafragma-íris situado no suporte do condensador. São dotados de mecanismos macrométricos e micrométricos de funcionamento preciso e estável. Iluminação: geralmente efetuada por meio de uma lâmpada de 25 watts conectada à rede elétrica; a ela se agrega uma placa de vidro esmerilhado posicionada na base do microscópio, ainda que em certos

modelos se possa instalar um espelho. Acessórios: cabeça binocular, cabeça microfotográfica. quase todos os tipos de oculares, objetivas e condensadores, platina mecânica acoplável, espelho para iluminação externa ou fontes de iluminação intercambiáveis, etc. Gama de aumento: de 30 a 1000 vezes. Aplicações: serve para a maior parte das investigações correntes.

### **Microscópios universais e para a investigação científica**

São dotados de suporte binocular ou fotobinocular formidavelmente bem construído. e seu tamanho vai desde grande a muito grande. A platina mecânica que faz parte do aparelho, permite deslocar o objeto observado com muita precisão. Os mecanismos macrométricos e micrométricos são da mais alta qualidade, e têm meios para compensar o desgaste. A seção da subplatina efetua o enfoque e a centralização do objeto por meio de um mecanismo de cremalheira. e pode trocar os condensadores de forma rápida. Iluminação: fonte de iluminação de grande intensidade e baixa voltagem. Variedade de acessórios: máxima. Aplicações: limitadas pela imaginação e recursos do usuário. Gama de aumento: de 20 a 1500 vezes.

### **Fotomicroscópios**

São microscópios universais ou para investigação científica, fornecidos com uma câmara fotográfica apropriada e com um controle automático da exposição.

### **Microscópios metalográficos**

São aparelhos do tipo escolar avançado ou para investigação, projetados especialmente para a observação de amostras opacas que requerem iluminação por cima. Alguns são do tipo invertido descrito a seguir.

### **Microscópios invertidos**

Possuem um suporte especial, no qual o corpo tubular e o condensador ocupam uma posição que é inversa à normal, pois a objetiva se encontra debaixo da platina e está dirigida para cima. Um dispositivo prismático permite colocar a ocular em um modo apropriado para a observação. Nos microscópios do tipo metalográfico falta o condensador, logo a platina se encontra na parte superior do suporte.

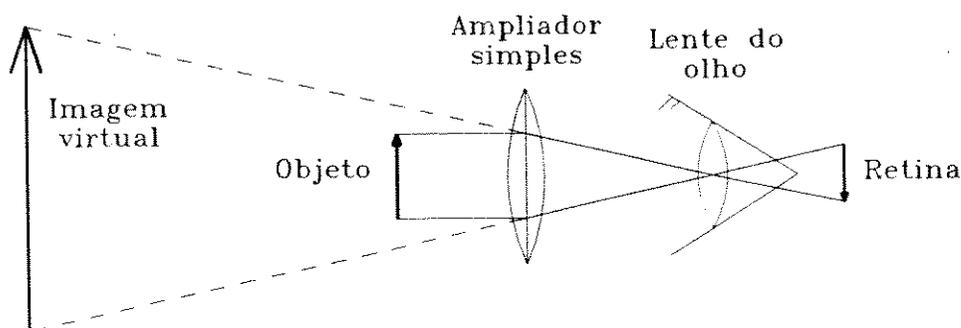


Figura I.4: Amplificador simples

### Microscópios miniatura

Variam desde os instrumentos simples até o microscópio McArthur que é verdadeiramente universal. Os melhores microscópios miniatura são muito úteis nos casos em que o pequeno tamanho e a facilidade de transporte são fatores da maior importância, como acontece nas expedições científicas.

### Microscópios estereoscópicos

São aparelhos binoculares que possuem o equivalente a dois sistemas completos de lentes, de modo que cada olho recebe uma imagem diferente do objeto. Proporcionam uma imagem tridimensional. Gama de aumentos: de 5 a 200 vezes. Os citados aumentos se obtém trocando os pares ocular/objetiva, ou por meio de um mecanismo de “zoom”. Estes microscópios são de grande utilidade para microdissecação, e para escolher o material a ser examinado com um microscópio ordinário.

## I.3 Princípios gerais

Um sistema amplificador simples usa uma única lente simples para formar uma imagem ampliada do objeto para observação ou projeção. Um exemplo de amplificador simples é o amplificador comum de bolso, mais conhecido como lupa, Fig. I.4. Na projeção de slides a iluminação que atravessa a transparência é ampliada com uma lente ampliadora simples formando uma imagem real sobre a tela.

No sistema amplificador composto, Fig. I.5, a ampliação é realizada em dois estágios. Por exemplo, no caso da projeção de slides, se a tela onde a imagem ampliada está focalizada é removida e atrás desta posição coloca-se uma lente ampliadora apropriada, esta lente formará outra imagem do slide ampliada grandemente. A ampliação total é o produto da ampliação da

primeira lente pelo da segunda lente. Se a segunda lente for usada como uma lupa, a imagem final será uma imagem virtual. Este é o princípio básico de um sistema ampliador composto — o mesmo princípio empregado pelo microscópio composto. Neste microscópio, o observador procura pela primeira imagem, ou imagem primária, com uma lente que produz uma imagem secundária ampliada, chamada imagem virtual, que é a imagem que o olho percebe.

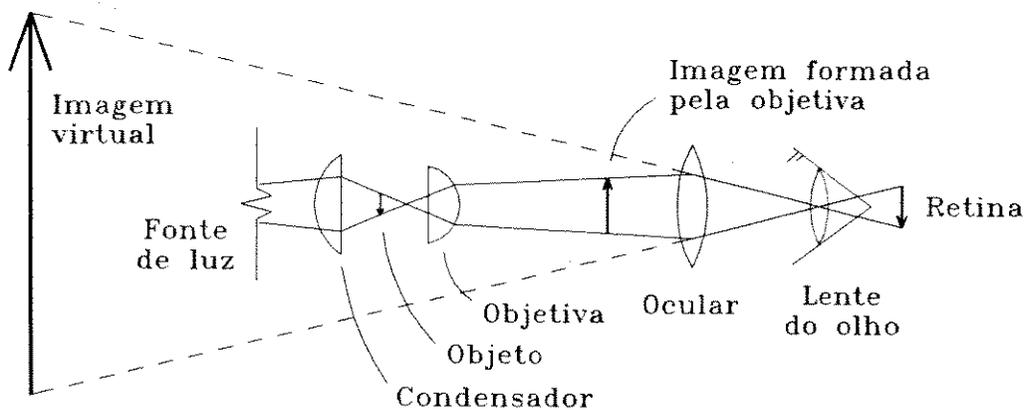


Figura I.5: Ampliador composto e a formação de imagem no microscópio composto

A primeira lente do microscópio, a objetiva, projeta a imagem ampliada do espécime para uma posição chamada de plano imagem intermediário ou primário. A ampliação que a objetiva produz para esta distância fixa é chamada de *poder de ampliação*. As objetivas são projetadas para um determinado poder de ampliação, e podem ser classificadas através dele. São comuns as objetivas de 1, 5, 10, 20, indo até 100 aumentos (escreve-se 1X, 5X, 10X, etc.) e, raramente, com aumentos maiores. A imagem primária está localizada aproximadamente 1 cm abaixo do topo do corpo do tubo do microscópio. A distância do plano focal da objetiva situado dentro do tubo até a imagem primária é chamado de comprimento óptico do tubo.

A segunda lente, a ocular, é colocada no corpo do tubo acima da imagem primária. Esta lente forma uma imagem secundária mais ampliada dentro do microscópio. A ocular, como a objetiva, é classificada em termos de poder de ampliação como 5, 10, ou maior, indo até 30 aumentos.

O poder de ampliação de uma lupa é calculado tomando-se por base a distância padrão de 250 mm. Já o poder de ampliação da objetiva do microscópio composto depende do comprimento do tubo do microscópio. Para uma mesma objetiva, consegue-se uma ampliação maior simplesmente aumentando o comprimento do tubo. No entanto, a eficiência das correções das aberrações ópticas de uma objetiva é máxima, quando a objetiva é utilizada com o comprimento do tubo para o qual foi projetada. Assim, é recomendado usar a objetiva com o comprimento do tubo para o qual foi projetada e desta forma, o poder de ampliação que vem gravado no corpo da

objetiva é válido e pode ser usado para calcular o poder de ampliação total do microscópio, que é igual ao poder de ampliação da objetiva multiplicado pelo da ocular.

Os raios de luz emergentes da ocular passam por um ponto chamado de *ponto do olho*. Quando se aproxima o olho da ocular de um microscópio para observar um espécime, é esta posição que o olho busca para ver o campo imagem total. O ponto do olho também é freqüentemente chamado de *disco de Ramsden* ou *pupila de saída*. No uso prático, a lente do olho é colocada exatamente neste lugar durante a observação. A distância do ponto do olho para a imagem virtual, ou imagem final, dentro do sistema do microscópio é de 250 mm. Logo o poder de ampliação do microscópio é arbitrariamente baseado sobre 250 mm, que é a distância do ponto próximo.

Ao invés de olhar para dentro do microscópio pela ocular e observar uma imagem virtual do objeto, pode-se modificar a condição de foco para produzir uma imagem real do objeto, que será projetada pela ocular sobre um anteparo ou filme fotográfico. Note que uma imagem real formada pela ocular estará localizada acima do tubo do microscópio. Assim, se o plano do filme ou da câmara estiver a 250 mm da ocular, a ampliação para o plano do filme será o produto das ampliações da objetiva e ocular. Distâncias maiores ou menores produzirão, respectivamente, ampliações maiores ou menores do que o produto das ampliações da objetiva e ocular. Uma imagem real é requerida somente para uma gravação fotográfica, recomenda-se então que a ocular usada para visualização direta seja trocada, ou por uma ocular projetada para fotomicrografia ou pela lente de uma câmara.

Os detalhes muito finos em um micro-espécime devem ser distinguidos pela lente objetiva. Esta lente deve ter qualidade suficientemente alta para resolver estes detalhes e produzir uma imagem primária nítida, de boa qualidade. A função principal da ocular é dar uma ampliação adicional à imagem formada pela objetiva. Esta imagem pode ser degradada por uma ocular de baixa qualidade, mas não pode ser melhorada acima do que a lente objetiva apresenta, independente da qualidade da ocular.

A formação da imagem em um microscópio composto pode ser acompanhada pela Fig. 1.5, que a representa de forma bastante simplificada. A objetiva produz uma imagem real primária ampliada do objeto, esta imagem é tratada como objeto pela ocular para produzir uma imagem virtual ampliada da imagem real primária. Resumindo, a imagem final de um microscópio composto é virtual e invertida, e muito maior do que o objeto.

Na sua forma mais simples, como na Fig. 1.5, com ocular e objetiva simples (cada uma formada por apenas uma lente), um microscópio composto não permite aumentos maiores que algumas dezenas de vezes, devido às aberrações ópticas envolvidas. Para maiores aumentos,

normalmente nem a objetiva e nem a ocular são lentes simples; ambas são lentes compostas formadas pelas combinações de diversos elementos de lentes. Para alcançar aumentos médios (de até algumas centenas de vezes) é preciso adotar objetivas e oculares compostas, as quais são sistemas de lentes bastante complexos. Em condições excepcionais, conseguem-se aumentos até pouco acima de 1200 vezes; aí já intervém de maneira decisiva o fenômeno da difração, tornando estéril qualquer tentativa de acréscimo ainda maior do aumento. Aumentos maiores só são alcançados mediante o uso de um microscópio eletrônico.

## I.4 Objetivas

A objetiva é o componente mais importante do microscópio composto, sua principal função é produzir uma imagem real e ampliada do objeto no plano focal da ocular, de forma que o microscopista possa examinar esta imagem através da ocular. Além disso, também é responsável pela resolução dos detalhes finos do objeto.

### I.4.1 Tipos de objetivas

Todas as objetivas têm sobre o seu corpo inscrições com o nome do fabricante e uma quantidade variável de dados, que são usados para classificá-las e orientar o usuário, tais como: os tipos de correções efetuadas, a distância focal, o poder de ampliação, a abertura numérica<sup>2</sup> ( $AN$ ), o sistema de imersão, o comprimento do tubo, se possui uma grande distância objetiva/amostra, etc. O tipo de correção efetuada na objetiva influi em sua classificação e finalidade. Assim, classificam-se as objetivas para microscópio da seguinte forma:

#### Objetivas acromáticas (Acro)

São objetivas com características estruturais relativamente simples, logo não são tão caras e são encontradas em qualquer microscópio que apresente alguma qualidade. As aberrações cromáticas são corrigidas para dois comprimentos de onda, usualmente os comprimentos do vermelho e do azul, os quais são conduzidos a um foco comum, mas os raios de comprimento de onda intermediário são focados somente de um modo aproximado, o que leva à formação de ligeiros halos. As aberrações esféricas são corrigidas somente para o comprimento de onda da luz verde, o comprimento para o qual o olho humano é mais sensível, e, conseqüentemente, os outros compri-

---

<sup>2</sup>É uma medida da capacidade da objetiva de captar luz e, portanto, do seu poder de resolução.

mentos de onda produzem uma certa falta de nitidez na imagem. Apresentam boa distância de trabalho, abertura numérica moderada e são adequadas para muitas aplicações.

#### **Objetivas de fluorita ou semi-apocromáticas (FI, semi-apo, -fluar)**

São objetivas dotadas de correções superiores àquelas das objetivas acromáticas. As aberrações cromáticas e esféricas destas objetivas, são ambas corrigidas para dois comprimentos de onda. Para uma dada amplificação, as correções superiores permitem alcançar aberturas numéricas mais altas do que as acromáticas. Correções superiores são obtidas através do uso da fluorita, que apresenta uma relação índice de refração/dispersão não obtida no vidro. O termo *fluorita* se empregou originalmente para designar as objetivas que ainda não eram completamente apocromáticas, e que incluíam elementos feitos de fluorita. Alguns fabricantes limitam as objetivas de fluorita ao tipo de 45 ou de 50 aumentos e ao de 100 aumentos, ambos de imersão em óleo, ainda que existam também umas poucas séries completas. As objetivas de fluorita, como as acromáticas de grande aumento, devem ser usadas com oculares compensadoras casadas.

#### **Objetivas apocromáticas (Apo, A)**

São as objetivas disponíveis que possuem as mais altas correções, obtidas através do uso de fluorita e de vidros especiais. As aberrações cromáticas são corrigidas para três comprimentos de onda, os comprimentos das cores vermelha, verde e azul, que são conduzidas a um foco comum. As aberrações esféricas são corrigidas para dois comprimentos de onda, os comprimentos das cores vermelha e azul. Estas objetivas são complexas e portanto mais caras. Para a mesma amplificação, apresentam aberturas numéricas mais altas do que os outros tipos de objetivas. Também apresentam menores distâncias objetiva/amostra. A curvatura de campo<sup>3</sup> freqüentemente é mais pronunciada que nas acromáticas. São empregadas combinadas com oculares compensadoras casadas.

#### **Objetivas de campo plano ou aplanáticas (Plan, planar)**

Em essência são objetivas acromáticas, de fluorita e apocromáticas que têm sido construídas de modo a proporcionar um campo praticamente plano de um extremo a outro da imagem. Nestes casos são chamadas de *planacromáticas*, *planofluoritas* e *planapocromáticas*, respectivamente. Em geral têm uma abertura numérica ligeiramente inferior às apocromáticas de mesmo

---

<sup>3</sup>Ou incapacidade de manter o foco na imagem toda.

aumento, mas suas imagens coloridas são excelentes devido ao campo plano e ao seu elevado contraste de cor. Algumas objetivas aplanáticas possuem distâncias objetiva/amostra muito curtas, e seus componentes côncavos frontais são difíceis de limpar caso se sujem acidentalmente. Devido às suas complexas características estruturais, são bastante caras. São usadas com oculares compensadoras aplanáticas e são indicadas para uso fotográfico.

## I.4.2 Aberrações ópticas

Uma aberração é uma falha da lente ao produzir a exata correspondência, ponto a ponto, entre um objeto e sua imagem. A imagem ampliada gerada por uma lente simples apresenta uma qualidade muito pobre devido às suas inerentes aberrações cromáticas e esféricas. A fim de melhorar a qualidade da imagem, é necessário projetar lentes de forma que as aberrações sejam reduzidas.

### Aberração cromática

Ocorre porque o comprimento focal<sup>4</sup> de uma lente simples varia notavelmente com o comprimento de onda. Raios azuis têm comprimento de onda mais curtos do que raios verdes e vermelhos, logo seu foco ocorre mais próximo da lente (aberração cromática longitudinal), ver Fig. I.6. Uma lente simples também não consegue trazer luz de todas as cores para um foco comum, o que resulta numa imagem de tamanho levemente diferente para cada comprimento de onda, localizadas em pontos focais também levemente diferentes (aberração cromática lateral). A correção para a aberração cromática, é realizada através da combinação de duas lentes de propriedades ópticas diferentes, cimentadas juntas para formar uma lente gêmea. A seleção apropriada da espessura, curvatura, índice de refração e dispersão, resulta em uma lente que reduz a aberração cromática, por levar dois comprimentos de onda para um ponto focal comum, ver Fig. I.7. As objetivas acromáticas possuem duas destas lentes gêmeas e existem objetivas com lentes trigêmeas.

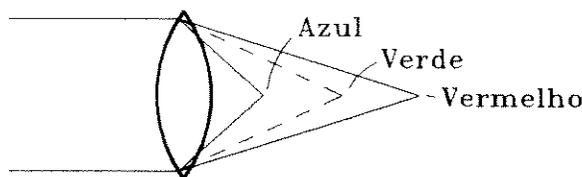


Figura I.6: Aberração cromática

<sup>4</sup>O comprimento focal também pode ser chamado de distância focal, e corresponde à distância entre o ponto focal e o vértice da lente. Pode ser calculado de modo muito aproximado dividindo-se o comprimento do tubo pelo aumento da objetiva.

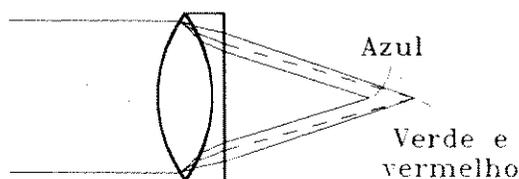


Figura I.7: Lente acromática

### Aberração esférica

Ocorre quando os raios de luz que passam através das porções central e periférica da lente, não têm seu ponto focal para a mesma distância da lente, ver Fig. I.8. Esta condição surge em lentes esféricas, porque a refração da luz é mais intensa nas bordas das lentes, diminuindo gradualmente à medida que se aproxima do seu centro óptico. Logo, a imagem de um ponto não é reproduzida como um ponto, mas como uma área circular mais larga. Assim, a imagem de um objeto, que é composta por um número infinito de pontos, não pode ser nítida enquanto a aberração esférica está presente. Além disso, a luz branca é composta de todas as cores, as quais são refratadas e focalizadas diferentemente, dependendo do comprimento de onda específico. É possível corrigir a aberração esférica de uma lente para uma cor, mas isto não garante que ela esteja corrigida para outras cores. A nitidez de uma imagem produzida em um microscópio é limitada pelo grau de correção para a aberração esférica de sua objetiva.

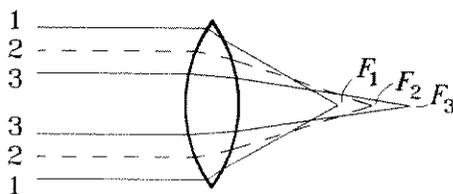


Figura I.8: Aberração esférica

### I.4.3 Curvatura de campo

As objetivas não conseguem formar a imagem de um objeto planar perpendicular ao seu eixo, sobre um plano do espaço-imagem também perpendicular ao seu eixo. Geralmente a imagem deste objeto planar se localiza sobre uma superfície de revolução. A curvatura de campo é uma aberração inerente a todas objetivas de microscópios.

Nas imagens que apresentam problemas de curvatura de campo, as regiões do objeto planar próximas ao eixo da objetiva são focalizadas sobre o plano imagem determinado pela relação

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{l} + \frac{1}{l'} \quad (1.1)$$

onde  $f$  é a distância focal da objetiva,  $l$  é a distância objeto-lente e  $l'$  é a distância imagem-lente. E pode ser mostrado (na ausência de outras aberrações), que as outras regiões do objeto planar geram imagens que caem fora deste plano imagem por uma quantidade que é proporcional ao quadrado da altura da imagem, ou seja, o lugar das posições de foco formam, em três dimensões, um parabolóide de revolução. A superfície focal é comumente conhecida como *superfície de Petzval*.

Então, dependendo da posição do foco, a imagem pode estar nítida no centro do campo de visão com a nitidez caindo em direção à periferia do campo, ou pode estar nítida na periferia e fora de foco no centro do campo de visão.

Na microscopia visual a curvatura de campo não é um problema, desde que o microscopista sempre tem uma maneira de controlar o foco, através de pequenos e contínuos ajustes enquanto faz uma varredura do campo. No entanto, a curvatura de campo torna-se um problema em fotomicrografia, desde que considera-se ruins as fotomicrografias com a periferia fora de foco. Este problema pode ser reduzido limitando-se a área a ser fotografada para o centro do campo, ou usando-se oculares especiais. Só pode ser eliminada completamente através do uso de objetivas de campo plano.

#### 1.4.4 Abertura numérica

A abertura numérica da objetiva de um microscópio é uma grandezza que serve para medir a sua capacidade de captar luz, mais especificamente, sua capacidade de capturar raios de luz, de formação da imagem, altamente difratados do espécime. São estes raios que permitem distinguir os detalhes estruturais finos de um espécime. Logo, a abertura numérica também pode ser vista, como a capacidade da objetiva para resolver detalhes finos do espécime.

As objetivas para microscópios nem sempre trabalham rodeadas de ar<sup>5</sup> (cujo índice de refração  $n$  é igual a 1). No caso das objetivas de grande aumento, freqüentemente, são construídas para trabalhar com a lente frontal submersa<sup>6</sup> em água ( $n = 1,3$ ), ou em óleo de cedro ( $n = 1,51$ ). Este fator deve ser levado em conta nas expressões matemáticas que representam o poder de captação luminosa de uma objetiva de microscópio. Matematicamente, a abertura numérica é dada por

---

<sup>5</sup>As objetivas projetadas para trabalhar com o meio ar, são chamadas de objetivas secas.

<sup>6</sup>Estas são chamadas de objetivas de imersão.

$$AN = n \sin(\alpha) \quad (I.2)$$

onde  $n$  é o índice de refração do meio existente entre o objeto e a lente frontal da objetiva, e  $\alpha$  é igual à metade da *abertura angular* da lente, ver Fig. I.9. A abertura angular varia com o comprimento focal da objetiva, e é igual ao ângulo máximo formado pelos raios de luz de formação da imagem provenientes do espécime, que a lente frontal da objetiva é capaz de captar quando o espécime está em foco.

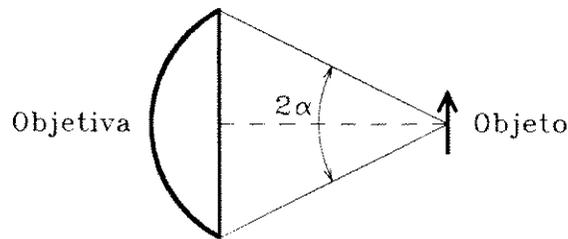


Figura I.9: Abertura angular da objetiva

A máxima abertura numérica teórica é igual a 1 para objetivas secas, e 1,5 para objetivas de imersão. Na prática, existem objetivas com abertura numérica até 0,95 para objetivas secas e próximas a 1,4 para objetivas de imersão. Uma abertura numérica alta é interessante porque proporciona uma resolução maior, mas, como será visto mais adiante, leva a uma *profundidade de campo* menor, o que é um problema em muitos casos.

A abertura numérica útil efetiva de uma objetiva, válida dentro de limites razoáveis, é determinada pela seguinte expressão

$$AN_{\text{útil}} = \frac{AN_{\text{objetiva}} + AN_{\text{condensador}}}{2}. \quad (I.3)$$

#### I.4.5 Resolução, limite de resolução e poder de resolução

A *resolução* pode ser definida como a capacidade da objetiva para separar dois pontos de um objeto que estão muito próximos entre si. Depende das condições de visualização, e atinge seu valor máximo, igual ao poder de resolução da objetiva, sob condições ótimas de visualização.

O *limite de resolução* é a menor separação de pontos, que podem ser reconhecidos como distintos por uma objetiva. O limite de resolução de lentes ópticas (e do microscópio óptico) é da ordem de  $0,2 \mu\text{m}$ . Para o olho humano, este limite é de aproximadamente  $0,1 \text{ mm}$  e para o microscópio eletrônico é da ordem de  $5 \text{ \AA}$ , ver Fig.I.10. O termo limite de resolução se confunde com o poder de resolução.

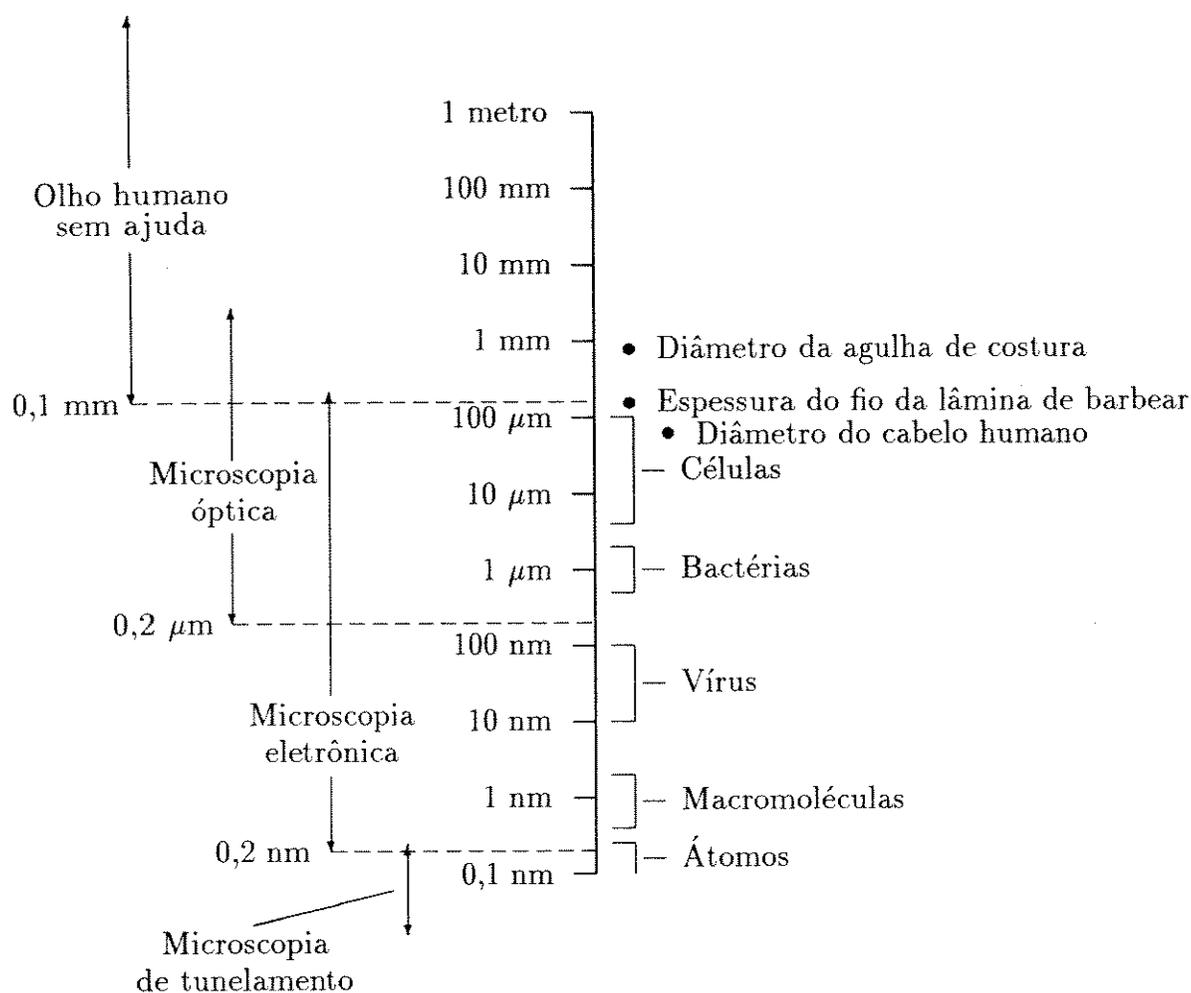


Figura I.10: Ferramentas de ampliação X faixa de aplicação

O *poder de resolução* do instrumento especifica a resolução que pode ser alcançada sobre condições ótimas de visualização. No entanto, este valor é subjetivo, desde que uma imagem pode estar não-nítida, mas ainda pode ser considerada resolvida. O poder de resolução é limitado pela  $AN$  da objetiva, mas também depende da  $AN$  de trabalho do condensador e do comprimento de onda da luz. Comprimentos de onda mais curtos permitem um poder de resolução maior. Existem muitas equações para calcular o poder de resolução, a mais comum é dada por:

$$d_{\min} = \frac{0,61\lambda}{AN} \quad (I.4)$$

onde  $d_{\min}$  é a menor distância entre dois elementos estruturais que podem ser observados como disjuntos;  $\lambda$  é o comprimento de onda da luz usada e  $AN$  é a abertura numérica.

A distinção entre resolução e poder de resolução é freqüentemente mal-interpretada, e deveria ser observada com cuidado: poder de resolução é característica do instrumento e é

uma quantidade que pode ser estimada sobre bases teóricas; resolução é igual ou mais pobre do que o poder de resolução e é a quantidade observada sob qualquer dado conjunto de condições experimentais. Para o microscópio eletrônico, especialmente, é verdade que a resolução obtida pode ser consideravelmente inferior ao poder de resolução do instrumento.

## I.5 Oculares

No microscópio composto, as oculares servem como segundo estágio de amplificação, ampliando a imagem primária formada pela objetiva no plano imagem intermediário. A ocular entrega esta imagem primária real e visível, como uma imagem virtual quando o microscópio é usado visualmente, ou como uma imagem real quando o microscópio a projeta sobre um filme. Desde que as oculares agem como um ampliador para examinar a imagem real formada pela objetiva, sua qualidade óptica e correção são muito importantes.

Existem diversos tipos de oculares, que vão desde as de Huygen, ou negativas, usadas mais com objetivas acromáticas; até as mais complexas do tipo positivo, usadas com objetivas acromáticas de alto poder de ampliação, com as de fluorita e com todas as apocromáticas.

### I.5.1 Tipos de oculares

#### Ocular de Huygen

Tem estrutura simples, sendo formada por duas lentes planoconvexas fixadas em cada uma das suas extremidades. Ambas as faces convexas das lentes estão voltadas para a objetiva. O diafragma de campo se encontra mais próximo da lente superior, ou lente do olho, do que da inferior, ou de campo. O plano focal inferior se encontra no plano do diafragma de campo, ou seja, entre as lentes, e, portanto, este tipo de ocular não pode ser usada como uma lupa quando está direita. Por ter esta característica se qualifica como de construção negativa. Por outro lado, são excelentes como lentes de aumento para examinar preparações sempre que sejam usadas invertidas, ou seja, aproximando o olho da lente de campo.

#### Ocular de Ramsden

É do tipo positivo e de campo amplo. O lado convexo de suas lentes estão voltados para dentro e o diafragma fica do lado de fora e abaixo das duas lentes.

### Ocular de projeção

É projetada especialmente para fotomicrografia e para microprojeção, produzindo campo plano e imagens completamente corrigidas. Algumas delas são oculares de Huygen corrigidas.

### Ocular de compensação

É mais complexa que a de Huygen e, portanto, tem preço maior. As oculares de compensação são calculadas para compensar os defeitos da imagem da objetiva. Devem ser empregadas sempre com objetivas apocromáticas e de fluorita. Geralmente proporcionam um rendimento superior se são combinadas com objetivas acromáticas de grande aumento (de 40 a 100 aumentos).

### Ocular compensadora de campo amplo

Incrementa o diâmetro do campo em uns 50 % ou mais para um aumento determinado. Estas oculares são as únicas que podem aproveitar ao máximo o campo amplo e plano produzido pelas melhores objetivas aplanáticas.

## I.6 Condensadores

Um condensador tem as seguintes funções:

1. Proporcionar um cone de raios luminosos, cujo ângulo seja tal que ilumine parcial ou totalmente a lente posterior da objetiva. Desta forma, pode-se utilizar a abertura numérica total da objetiva, e, nestas condições, obtém-se a máxima resolução que a objetiva é capaz de fornecer.
2. Facilitar o emprego de meios especiais de iluminação, como, por exemplo, contraste de fase e contraste cromático diferencial de Rheinberg.
3. Iluminar completamente o campo de visão da objetiva.

Em geral, um diafragma-íris é instalado na base de montagem do condensador, junto de seu plano focal posterior. Este diafragma-íris controla a abertura da objetiva. De baixo do diafragma-íris se encontra, geralmente, um porta-filtros para os filtros de 32 mm de diâmetro.

### I.6.1 Tipos de condensadores

Os tipos de condensadores mais comuns são os seguintes:

### Condensador de espelho côncavo

Consiste simplesmente num espelho côncavo apropriado somente para objetivas de 10 e 16 aumentos. Como não há diafragma-íris para controlar a abertura, torna-se difícil o seu emprego com objetivas de aumentos menores.

### Condensador de lupa

Formado por apenas um elemento e serve para objetivas de até 10 aumentos, dependendo da distância focal. Como condensador de lupa, pode-se empregar um condensador de Abbe de duas lentes, desde que se retire a lente superior.

### Condensador de Abbe

É um condensador de duas lentes não corrigidas, que se usa principalmente com objetivas de 10 e de 40 aumentos, ou com objetivas de menor poder de ampliação se a lente superior for retirada. Se instala ordinariamente nos microscópios escolares, sendo usado para trabalhos corriqueiros. Também serve para trabalhos de fundo escuro e para os de contraste cromático de Rheinberg.

### Condensador aplanático

Formado por três lentes, com correção parcial para a aberração esférica, nenhuma correção para a aberração cromática e conta com abertura numérica de 1,4, sendo que a abertura útil é muito menor do que esta.

### Condensador acromático

Possui uma abertura numérica de 0,95 e muitas correções ópticas, desta forma, proporciona uma abertura numérica útil bastante próxima do valor máximo já mencionado. Usado a seco, sendo muito sensível a erros de concentricidade, logo deve ser usado em subplatinas dotadas de algum meio regulador da concentricidade. Tirando sua lente superior, sua distância focal aumenta de uns 20 mm e seu campo de aplicação se estende até as objetivas de 10 aumentos. Tem preço elevado.

### Condensador acromático de imersão

Sua abertura numérica é de 1,3. Empregado submerso em óleo, por de baixo do porta-objetos, com objetivas de imersão que possuem alta abertura numérica, quando se deseja obter a resolução máxima. São caros e um pouco difíceis de se usar.

## I.7 Alguns aspectos físicos da formação da imagem

A formação e interpretação das imagens na investigação microscópica não pode ser baseada somente em considerações da óptica geométrica, já que para explicar a distribuição das intensidades de luz nas imagens mostradas por um microscópio, as leis da óptica física têm de ser levadas em conta.

### I.7.1 Imagem de uma fonte pontual de luz monocromática

No caso de um objeto suficientemente pequeno para ser tomado como um ponto de luz, sua imagem tem uma distribuição de intensidade de luz que segue uma lei determinada pela difração. Esta imagem é o padrão de difração elementar conhecido por *disco de Airy*, Fig. I.11. ou seja, é a imagem perfeita que deveria ser exibida por um microscópio perfeitamente focado e livre de aberrações.

As Figs. I.12 e I.13, ajudam a compreender o processo de formação do disco de Airy através da óptica ondulatória.

Se  $A'_0$  é o centro da esfera  $\Sigma_i$ , a Fig. I.12 mostra que todas as vibrações provenientes desta superfície de onda chegam em  $A'_0$  no mesmo estado vibratório. A fim de não sobrecarregar a figura, apenas as vibrações emitidas pelos pontos  $M_0$  e  $M$  são mostradas. A amplitude luminosa em  $A'_0$  é meramente a soma das amplitudes de todas as vibrações que chegam neste ponto. Como a intensidade de luz é proporcional ao quadrado da amplitude, a elevação ao quadrado da soma das amplitudes determina a intensidade para  $A'_0$ . Conseqüentemente, a intensidade de luz é máxima para  $A'_0$ .

Na Fig. I.13, considera-se as vibrações difratadas chegando ao ponto aleatório  $A'_1$  do plano  $\pi$ . Como o ponto  $A'_1$  não está no centro da esfera  $\Sigma_i$ , as distâncias dos vários pontos de  $\Sigma_i$  para  $A'_1$  não serão iguais. Conseqüentemente, as vibrações emitidas por  $\Sigma_i$  não chegam em  $A'_1$  na mesma condição vibracional. No caso da Fig. I.13, ambos os pontos  $M_0$  e  $M$  emitem vibrações que chegam em oposição de fase em  $A'_1$ . Nesta condição, a amplitude luminosa para  $A'_1$  proveniente de  $M_0$  e  $M$  é zero.

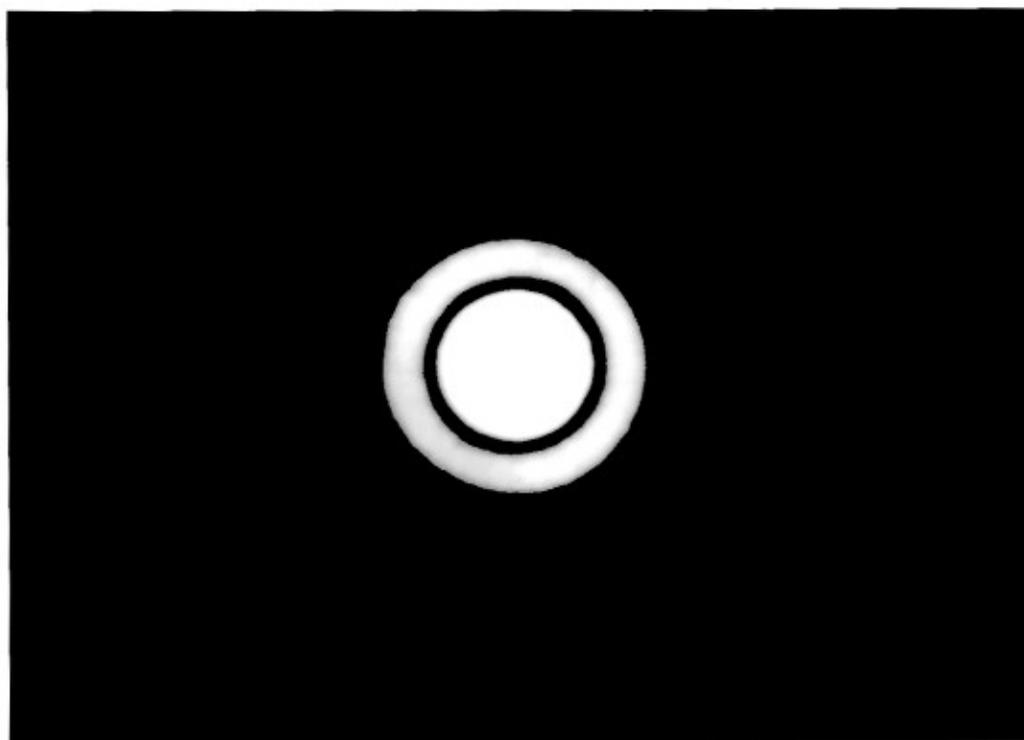


Figura I.11: Disco de Airy

Lembrando que a intensidade de luz em  $A'_1$  é proveniente de todos os pontos da superfície de onda  $\Sigma_i$ , e não meramente dos pontos  $M_0$  e  $M$ , calcula-se o fenômeno e descobre-se que a imagem do ponto luminoso  $A$ , é formada por um disco central circular muito brilhante, rodeado por anéis claros e escuros alternados, cuja intensidade diminui rapidamente com o aumento da distância do centro  $Z$ . Este padrão de difração é o disco de Airy já citado acima. A curva da Fig. I.14 exhibe a distribuição da intensidade de luz do padrão de difração, onde a ordenada mostra a intensidade e a abscissa depende não somente da distância geométrica do ponto  $A'_0$ , mas também das características da objetiva do microscópio.

O raio linear  $r'$  do disco central do padrão de difração no plano imagem  $\pi$ , pode ser calculado pela expressão

$$r' = \frac{0,61\lambda g}{AN} \quad (1.5)$$

onde  $\lambda$  é o comprimento de onda usado,  $g$  a ampliação, e  $AN$  a abertura numérica da lente. O fenômeno também pode ser considerado no plano do espécime, então, através da Eq. 1.5, o objeto pontual  $A$  é substituído por um pequeno disco de raio  $r'/g$ .

As imagens de objetos maiores são todas derivadas de um processo mais ou menos com-

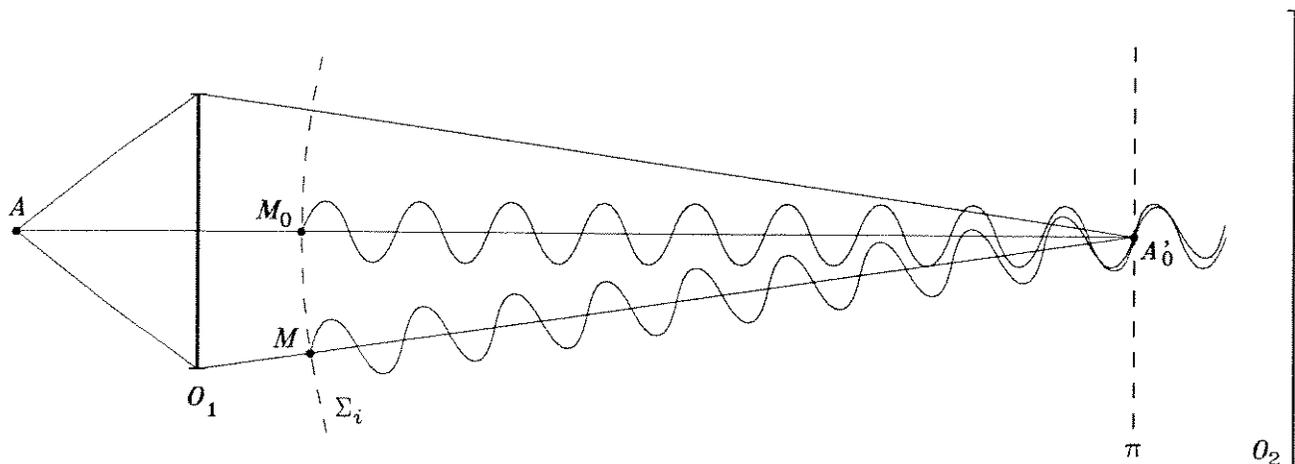


Figura I.12: Vibrações em fase

plexo envolvendo a imagem elementar, desde que, pode-se imaginar qualquer objeto como sendo formado por elementos suficientemente pequenos para serem considerados como fontes pontuais discretas. Portanto, sob tais condições, pode-se antecipar que os efeitos de difração deveriam ser mais proeminentes nas dimensões do objeto mais próximas do disco de Airy. Assim, os detalhes finos do espécime são os mais alterados pela difração. Como, naturalmente, tais detalhes são os mais valiosos para os microscopistas, é essencial determinar os resultados dados pela teoria da difração, a fim de reduzir os erros de interpretação a um mínimo.

### I.7.2 Limite de resolução e poder de resolução pelo padrão de difração

Se estes fenômenos são considerados no plano do espécime, pode-se substituir um detalhe pontual do espécime por um pequeno disco de raio  $r'/g$ , como foi visto na seção anterior. Assim, dois detalhes pontuais sobre fundo negro que emitem fluxos luminosos idênticos, só aparecem discretos na imagem, se os discos de difração relevantes não estão tão próximos um do outro. Neste caso, assume-se que os dois detalhes pontuais agem como duas fontes incoerentes sobre fundo negro. Na Fig. I.15, a distância entre os dois discos de difração é de aproximadamente duas vezes seus diâmetros, logo podem ser observados distintamente.

Como norma, considera-se alcançado o poder de resolução de uma objetiva, quando o máximo central de um dos padrões de difração corresponde ao primeiro mínimo zero do outro, isto é, quando as curvas de difração estão como mostradas na Fig. I.16. Desta figura, obtém-se a distância mínima entre os dois padrões de difração no plano imagem, que é igual ao raio  $r'$  do disco de difração dado pela Eq. I.5. A correspondente distância mínima no plano do espécime,

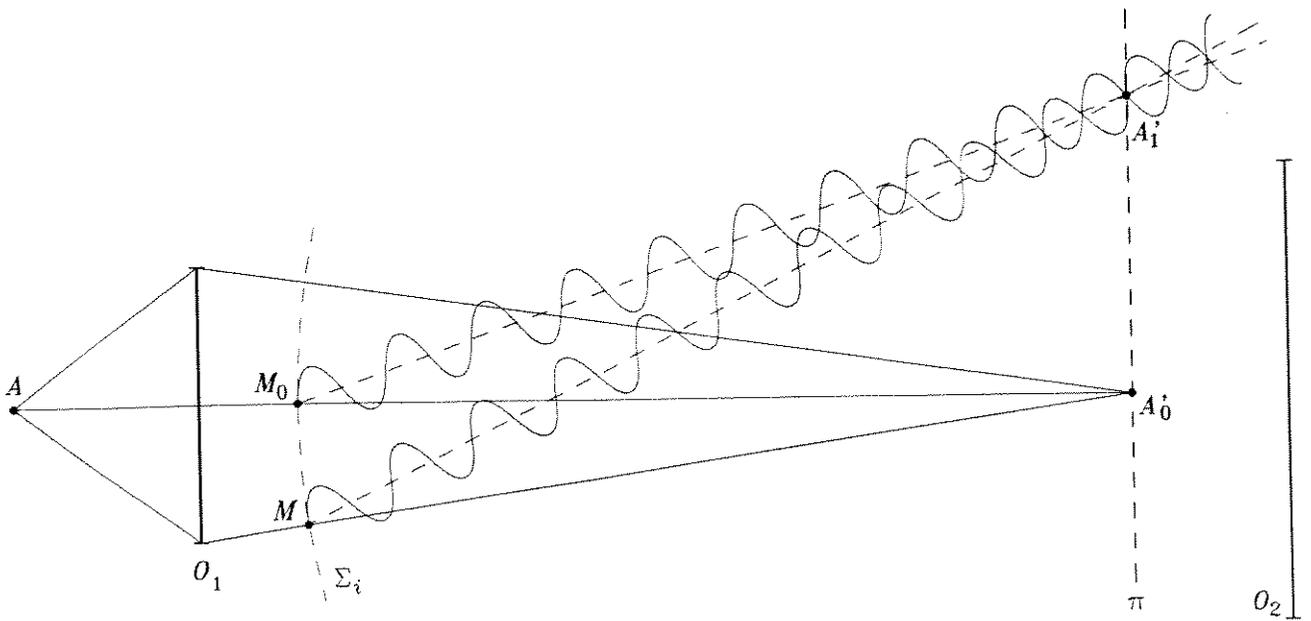


Figura I.13: Vibrações em oposição de fase

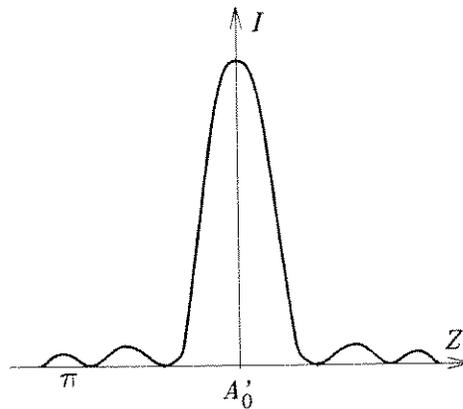


Figura I.14: Intensidade do padrão de difração

chamada de  $d_{mín}$ , é dada por

$$d_{mín} = \frac{r'}{g} = \frac{0,61\lambda}{AN}, \quad (I.6)$$

tal distância é o limite de resolução da objetiva, a qual define seu poder de resolução. A Fig. I.17 mostra os dois discos de difração, para quando o poder de resolução é alcançado.

Pelas Eqs. I.5 e I.6, fica claro que o aumento da  $AN$  da objetiva do microscópio, diminui o diâmetro do disco de difração, permitindo que detalhes menores do objeto sejam resolvidos. Isto evidencia claramente a importância da difração sobre a estrutura da imagem de objetos pequenos.

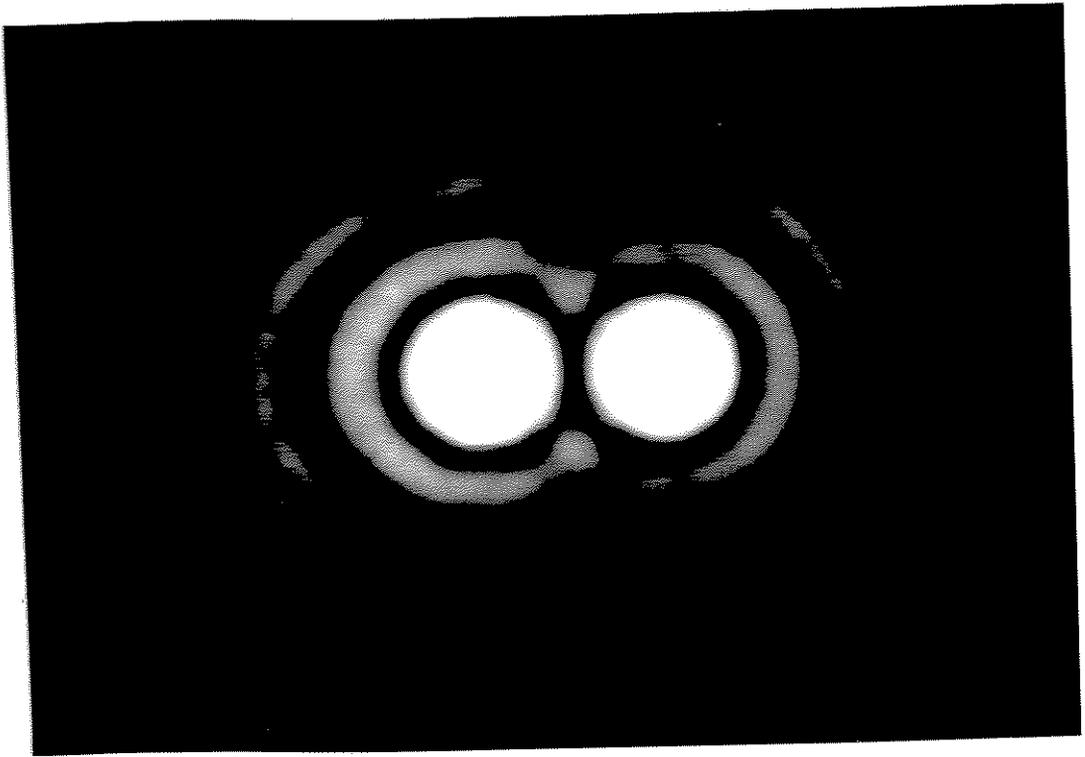


Figura I.15: Padrões de difração disjuntos

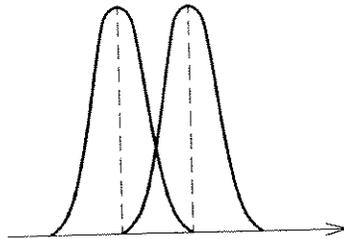


Figura I.16: Curvas dos padrões de difração para quando o poder de resolução é atingido

## I.8 Profundidade de campo e de foco

A formação de uma imagem planar  $A'B'C'$  de um objeto planar  $ABC$  é ilustrada pela Fig. I.18. De acordo com a geometria vista, uma imagem ideal deveria estar exatamente em foco somente no plano infinitamente fino  $A'B'C'$ . Fisicamente, no entanto, os “pontos” imagens  $A'$ ,  $B'$  e  $C'$  são de extensão finita. Mesmo quando livre de aberrações, eles formam figuras de difração as quais se estendem em três dimensões. (O disco de Airy é a seção da figura de difração dentro do plano imagem.) Assim existe uma região de largura finita dentro da qual a imagem de  $ABC$  pode ser considerada em foco. A extensão desta região (medida ao longo do eixo do microscópio) é a *profundidade de foco*, designada por  $D'$ . Similarmente, pontos objetos os

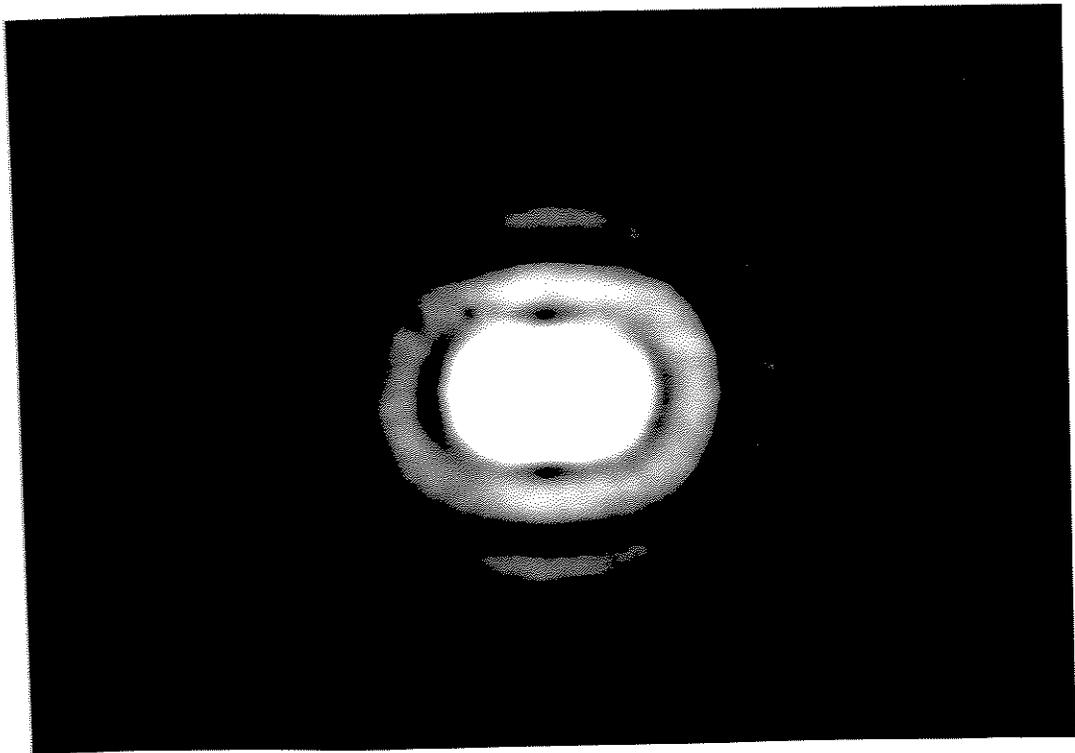


Figura I.17: Padrões de difração para quando o poder de resolução é atingido

quais estão levemente acima ou abaixo do plano  $ABC$  parecem estar em foco no plano imagem  $A'B'C'$ . A máxima separação de pontos do objeto os quais simultaneamente parecem estar em foco<sup>7</sup>, novamente medida ao longo do eixo da lente, é a *profundidade de campo*, designada por  $D$ .

Note que os termos “profundidade de foco” e “profundidade de campo” aplicam-se para o espaço-imagem e espaço-objeto, respectivamente.

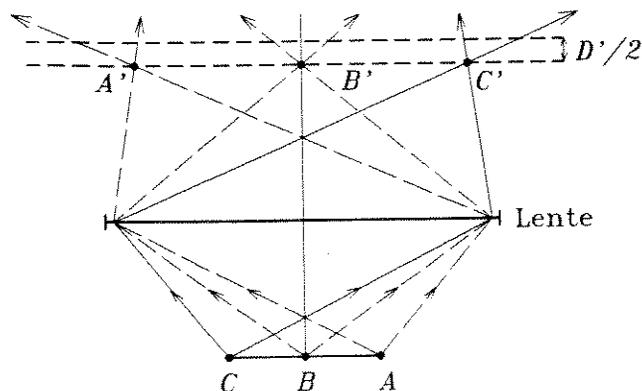


Figura I.18: Profundidade de foco

Na fotografia comum, a profundidade de campo é considerada como sendo a distância

<sup>7</sup>A profundidade de campo e de foco dependem do critério do que se considera “focalização aceitável”.

do plano objeto mais próximo, até o plano objeto mais distante, ambos com foco aceitável. Quando os objetos estão a uma considerável distância da lente, a profundidade de campo é grande, mas com objetos mais próximos da lente, a profundidade de campo decresce rapidamente. No caso da lente de uma câmara normal, com o foco mais próximo possível, a distância objeto-lente é ainda diversas vezes a distância imagem-lente. Em microscopia, a distância objeto-lente é consideravelmente menor do que a distância objeto-imagem e a profundidade de campo é excessivamente curta e expressa em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ). Em resumo, na fotografia a profundidade de campo é grande enquanto a profundidade de foco é pequena, e na microscopia a profundidade de campo é extremamente pequena enquanto a profundidade de foco é grande.

Uma quantidade estimada de profundidade de campo é considerada na Fig. I.19, a qual mostra raios que se estendem de dois pontos objetos  $O$  e  $P$  para as margens da lente. (A separação de  $O$  e  $P$  está muito exagerada na figura; de fato, os raios marginais de cada ponto imagem subtendem muito proximamente o mesmo ângulo  $\alpha$  para a lente.) Raios do ponto  $O$  subtendem um disco de diâmetro  $y = Y_1Y_2$  para o ponto  $P$ . Se o valor de  $y$  não é maior do que  $d_{\text{min}}$ , as imagens de  $O$  e  $P$  aparecem em foco no plano imagem geométrico<sup>8</sup>. Isto é,  $P$  aparece em foco para o plano imagem de  $O$ , e vice-versa, se

$$y = d_{\text{min}} = \frac{0,61\lambda}{n \sin(\alpha)}. \tag{I.7}$$

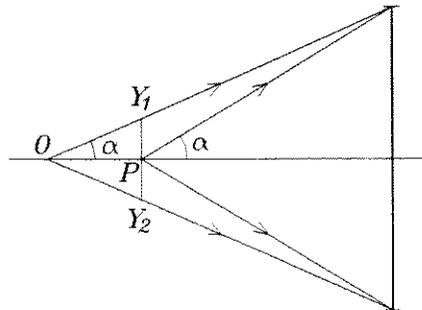


Figura I.19: Diagrama para cálculo da profundidade de campo

Como mostrado na Fig. I.19, a distância  $OP$  é metade da profundidade de campo  $D$ , desde que um ponto colocado à distância  $OP$  para a esquerda de  $O$ , deveria, como o ponto  $P$ , aparecer em foco no plano imagem geométrico de  $O$ . Do triângulo  $OPY_1$ ,

$$\tan(\alpha) = \frac{y}{D}, \quad \text{logo} \tag{I.8}$$

<sup>8</sup>Este critério de focalização é bastante rigoroso. Se houver um relaxamento do critério ter-se-á um aumento da profundidade de campo.

$$D = \frac{0,61\lambda \cos(\alpha)}{n[\sin(\alpha)]^2} = \frac{0,61\lambda(n^2 - AN^2)^{1/2}}{AN^2} \quad (1.9)$$

Esta equação é muito interessante, porque mostra qual a profundidade dentro do plano do espécime que aparece nítida para qualquer acerto de foco. Geralmente, deseja-se a maior profundidade de campo possível, mas, devido à natureza do sistema cuja lente é colocada muito próxima do objeto, a profundidade de campo é muito pouco profunda. Para aumentar a profundidade de campo, é necessário aumentar  $\lambda$  e/ou  $n$ . O aumento de  $\lambda$  implica em ir em direção ao vermelho no final do espectro, mas observe que isto é exatamente o oposto do que é necessário para máxima resolução. O aumento de  $n$  sugere o uso de sistemas de imersão e isto é importante, porque o aumento de  $n$  também melhora a resolução.

Em objetivas com alta  $AN$  a profundidade de campo é muito pequena, o que torna a focalização de imagens muito crítica, pois apenas um toque no ajuste de foco-fino do microscópio pode levar a imagem a sair de foco. Além disso, um espécime com espessura muito maior que a profundidade de campo, pode provocar uma perda de qualidade da imagem da pequena espessura que está em foco, devido às áreas fora de foco dentro do espécime, que espalham e difundem a luz que as atravessa. Este problema não é tão importante quando o espécime é examinado visualmente no microscópio, desde que o olho pode rapidamente se acomodar para a atual profundidade de campo, quando o microscopista fica constantemente subindo e descendo o foco no espécime para ver toda a sua estrutura. Assim, a profundidade de campo visual é aparentemente maior do que a profundidade de campo da imagem, devido à acomodação do olho.

## I.9 Técnicas convencionais para melhoria de imagens

A maioria dos objetos examinados ou fotografados através de um microscópio composto normal, aparecem nas imagens produzidas de forma escura, ou colorida, contra um fundo brilhante. Por causa desta característica o microscópio composto normal também é chamado de microscópio de campo brilhante.

Os objetos aparecem escuros nas imagens do microscópio devido à absorção de luz pelos elementos internos ao objeto e aparecem coloridos, freqüentemente, porque foram tratados com corantes biológicos para produzir o contraste colorido. Este contraste é resultado da absorção diferenciada dos vários corantes pelos elementos do espécime.

Em condições normais (sem aplicar tingimentos), muitos espécimes exibem pouco ou nenhum contraste quando observados num microscópio de campo brilhante. Estes espécimes são pouco coloridos e comparativamente transparentes e, conseqüentemente, são praticamente

invisíveis. Quando o tingimento de tais espécimes é impossível ou indesejável (por exemplo, para a observação de espécimes vivos), o microscópio de campo brilhante convencional não apresenta bons resultados. Assim deve-se lançar mão de outra técnica microscópica para tornar o espécime visível, sendo a seleção de um método particular dependente da natureza do espécime e do resultado desejado.

A discussão seguinte apresenta, brevemente, descrições das diversas técnicas especiais que, ou produzem melhor contraste óptico entre os elementos de um espécime e o fundo, ou permitem visualizar ou fotografar as imagens com resolução mais fina.

### I.9.1 Campo escuro

O uso do microscópio de campo brilhante para a observação de espécimes transparentes e semi-transparentes (como microorganismos e estruturas de células), os quais têm a propriedade de espalhar fortemente a luz, produz imagens claras contra um fundo também claro, ou seja, imagens de baixo contraste e, conseqüentemente, de difícil visualização. A visibilidade destes espécimes pode ser grandemente melhorada com o emprego da microscopia de campo escuro, na qual o espécime é visto como um objeto brilhante contra um fundo escuro.

No método de campo escuro, o cone de luz que normalmente ilumina o espécime não entra na objetiva do microscópio. Somente a luz que é espalhada ou refletida pelo espécime entra na objetiva.

O princípio fundamental deste método está na formação de um cone de luz oco, cujo vértice ocorre dentro do plano do espécime. Desta forma, quando a luz é cuidadosamente focalizada para o plano do objeto, mas nenhum objeto está presente, o cone de luz oco passa através do condensador não produzindo iluminação dentro do microscópio, porque a objetiva está dentro da parte escura do cone de luz oco. No entanto, se um espécime está presente, a luz é desviada, ou espalhada, para dentro da objetiva pelas estruturas do espécime, formando uma imagem brilhante e visível destes detalhes contra o fundo escuro. A vantagem do método está na obtenção de imagens de alto contraste quando a luz espalhada é focalizada contra o fundo escuro.

Um sistema de campo escuro é esquematizado na Fig. I.20, onde os raios de luz diretos do condensador de grande abertura numérica, são mostrados por linhas sólidas. Estes raios passam por fora da objetiva, que é uma lente de abertura numérica menor que a do condensador. A formação da imagem é realizada pelos raios espalhados pelo espécime, indicados por linhas tracejadas, que entram na objetiva.

Para observações de campo escuro com baixo e médio poder de ampliação e com obje-

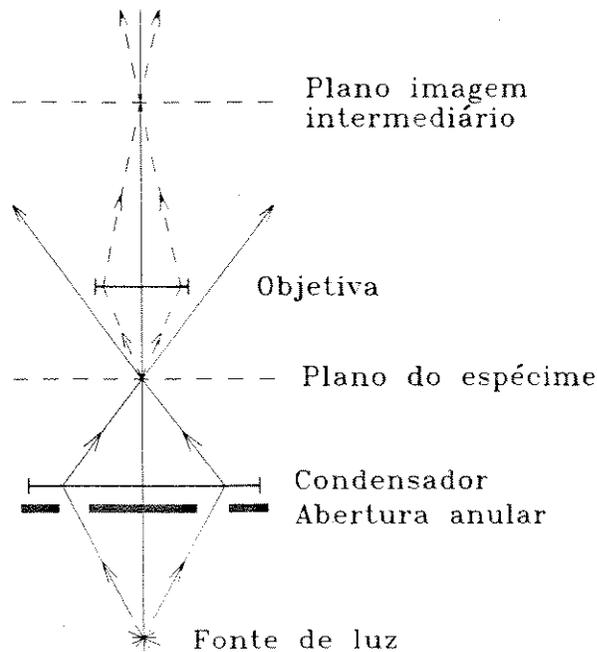


Figura I.20: Esquema do microscópio de campo escuro

tivas secas, a Fig I.20 sugere um sistema simples formado por um microscópio composto convencional, mais uma barreira para a luz direta com uma abertura em anel, como mostra a Fig. I.21. que é inserida abaixo da lente do condensador com a abertura do diafragma-íris no seu máximo. A abertura numérica da objetiva deve ser reduzida até o ponto no qual o feixe de luz direto é excluído.



Figura I.21: Barreira para a luz no microscópio de campo escuro

Para microscopia de campo escuro de alta resolução, existem condensadores especiais que fornecem cones de iluminação largos, permitindo o uso de objetivas de alta abertura numérica. (A abertura numérica do condensador de campo escuro, deve ser maior do que a abertura numérica da objetiva). Com o uso de imersão em óleo, a microscopia de campo escuro pode atingir aberturas numéricas tão altas quanto 1,2. Um condensador de campo escuro típico é esboçado na Fig. I.22. Condensadores de campo escuro com brilho de campo variável também estão disponíveis.

Por causa do alto contraste da imagem produzida pelo método de campo escuro, o sistema é capaz de detectar partículas extremamente pequenas. Algumas vezes é possível detectar

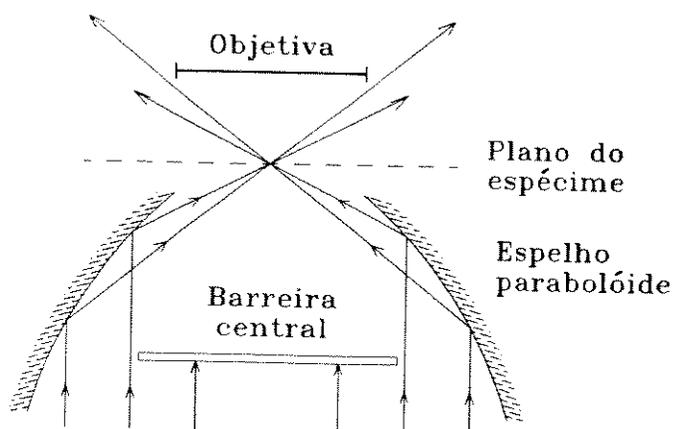


Figura I.22: Condensador para microscópio de campo escuro

estruturas de dimensões menores do que o limite mínimo de resolução,  $d_{\min}$ , calculado pela Eq. I.6. Por exemplo, esferas de poliestireno de aproximadamente 1000 Å de diâmetro, quando intensamente iluminadas podem ser observadas em imagens de campo escuro. No entanto, duas ou mais partículas adjacentes deste tamanho não podem ser observadas em separado, ou seja, as partículas não são resolvidas. A microscopia de campo escuro também é chamada de *ultramicroscopia*.

O microscópio de campo escuro é uma excelente ferramenta para uso em biologia e medicina. Pode ser usado, com alta ampliação, para detectar e fotografar bactérias vivas. Similarmente, para baixas ampliações, seções de tecidos podem ser visualizadas e fotografadas e, na biologia marinha, é usado para realizar gravações da vida marinha como algas e plânctons.

### I.9.2 Contraste cromático diferencial de Rheinberg

Em princípio, o método é uma extensão do método de campo escuro e a maior diferença está na substituição da barreira opaca com abertura em anel usada no campo escuro, por uma barreira transparente central colorida, este método também usa uma barreira transparente anular colorida no caminho normal da luz branca. Estas barreiras são na verdade filtros. A combinação destas barreiras anular e central coloridas, resulta na produção de imagens do espécime em qualquer cor, sobre um fundo de qualquer outra cor. O método, algumas vezes chamado de tingimento óptico, é especialmente útil para espécimes de pouca cor não-tingidos e transparentes — vivos ou não-vivos — que ordinariamente carecem de contraste por causa da proximidade do seu índice de refração com o índice de refração do meio de montagem.

As barreiras coloridas central e anular são colocadas abaixo do condensador, de forma que o caminho da luz atravesse ambos os filtros. Desta forma, a barreira transparente central colorida atenua a luz axial, dando a sua cor para o fundo do campo de visão. Se é usada somente

a barreira central colorida, o espécime aparece branco sobre um fundo da cor da barreira central. Quando se coloca a barreira anular de outra cor, o espécime aparece com a cor da barreira anular, sobre um fundo com a cor da barreira central.

### 1.9.3 Contraste de fase

O microscópio de contraste de fase, é um dispositivo que ressalta diferenças no índice refrativo entre regiões de um espécime, visíveis como diferenças na intensidade. Mais precisamente, diferenças no caminho óptico são convertidas em diferenças na intensidade. O microscópio de contraste de fase é um meio de produção de contraste em espécimes não-tingidos, ou seja, onde diferenças na absorção entre regiões do espécime são negligenciáveis. Em certas aplicações, o instrumento pode ser usado para quantificar diferenças em caminhos ópticos, mas sua principal função é qualitativa; o microscópio de interferência é o instrumento mais adequado para aplicações quantitativas.

Um microscópio de contraste de fase devidamente ajustado, pode ser usado para observar contrastes do espécime, por alguém familiarizado com os procedimentos empregados pela microscopia óptica ordinária. Observações não demandam um entendimento dos princípios ópticos sobre os quais o instrumento está baseado. No entanto, uma cuidadosa interpretação da aparência do espécime, depende de uma apreciação de como o contraste é efetivado no sistema de fase. Medidas quantitativas requerem um conhecimento das características do microscópio particular empregado.

O entendimento do mecanismo de ação do microscópio de contraste de fase, requer uma apreciação dos mecanismos pelo qual o contraste surge em imagens de microscópio, a compreensão dos princípios básicos governando a interferência de movimentos de onda e da análise de movimentos de ondas em suas componentes de vibrações.

O microscópio de contraste de fase pode ser usado para produzir excelentes efeitos de contraste, com uma larga variedade de espécimes transparentes diferentes. Desde que permite a visualização de detalhes interiores da estrutura das células, tem uma definitiva vantagem sobre o microscópio de campo escuro. É largamente usado para estudar cultura de tecidos, onde permite examinar e fotografar a vida e o crescimento das células. Com lapsos de tempo cinefoto-micrográficos, um espécime pode ser fotografado em intervalos de tempo sincronizados com a sua evolução. Na projeção comprime-se o tempo para aumentar a velocidade.

O método de contraste de fase fundamentalmente envolve um feixe de luz direto e um desviado. Assim, quando um raio de luz de uma simples fonte pontual é dividido em dois e cada

um dos dois raios passa através do mesmo meio transparente, eles podem ser recombinados sem interferência. Mas se cada feixe separado passa através de um meio de índice de refração diferente, um dos feixes será acelerado ou desacelerado relativamente para o outro. Então os dois, quando recombinados, podem estar fora de fase. Se eles estão fora de fase ocorre interferência e o feixe recombinado não será tão intenso quanto o original. Para apreciar isto, visualize os dois raios divididos como ondas viajando lado a lado. Se nenhuma é alterada, elas podem combinar em fase. Picos coincidem com picos e vales coincidem com vales; não há destruição de intensidade. Mas se uma componente é alterada em velocidade, as ondas podem não mais casar na combinação. Quando na combinação as ondas diferem por menos do que um comprimento de onda, as ondas estão fora de fase e sua recombinação resulta em perda de intensidade. Quando estão fora de fase por  $1/2$  comprimento de onda, os picos coincidem com os vales e os raios se cancelarão, extinguindo o feixe.

Além disso, a refração e o retardamento por meios diferentes, a difração das bordas e o espalhamento provocado por detalhes muito finos, também podem mudar a fase das ondas de luz. A difração é largamente responsável pelos efeitos de borda na microscopia de contraste de fase.

Como na microscopia de campo escuro, também se usa uma fonte anular no sistema de contraste de fase. Mas ao invés de uma máscara de densidade anular ao redor da objetiva, um anel de  $1/4$  de onda é usado. Este anel retarda uma onda por  $1/4$  de comprimento de onda. Como antes, o espécime dentro do feixe direto desvia muito da luz, dependendo do índice refrativo, espessura e estrutura fina. Novamente a luz desviada vai para a ocular via a imagem primária. No entanto, os raios desviados foram mudados em fase pelo espécime. A mudança joga um papel vital na formação de uma imagem de alto contraste, já pensando que ela pode ser tão pequena quanto  $1/20$  do comprimento de onda.

Quando os feixes de raios direto e desviados do espécime são focados na imagem primária, ocorre a interferência entre os dois na recombinação. Entre os componentes imagem-espécime e entre bordas e fundo. A quantidade de redução da intensidade dentro de qualquer estrutura depende da diferença de fase dos dois raios imagens daquela estrutura. Quando esta é de  $1/2$  comprimento de onda ocorre a redução máxima.

#### 1.9.4 Infravermelho e ultravioleta

Microscopia infravermelho e ultravioleta é uma técnica de investigação muito potente, a qual tem numerosas aplicações. É bem conhecido que existem muitos objetos transparentes na luz visível que têm bandas de absorção nas faixas infravermelho e ultravioleta do espectro. Então,

manipulando adequadamente a fonte de luz, de forma que a faixa de radiação usada contenha o comprimento de onda correspondente a uma das bandas de absorção do objeto, é possível captar uma imagem do objeto no receptor. Por exemplo, células vivas transparentes na luz visível exibem detalhes sob luz ultravioleta, porque as radiações de comprimento de onda de 2700 Å são absorvidas pelos ácidos nucleicos. Além disso, a luz ultravioleta reduz o diâmetro do disco de difração melhorando assim a resolução. Algumas substâncias sob efeitos de raios ultravioletas radiam alguma luz visível, freqüentemente colorida, ajudando na identificação ou discriminação destas substâncias.

Exame microscópico sob luz ultravioleta faz uso de comprimentos de onda na faixa de 2500 a 3500 Å. Comprimentos de onda na vizinhança de 2600 e 2800 Å são de interesse particular, por causa de sua absorção seletiva por ácidos nucleicos e proteínas, respectivamente. De fato, o interesse biológico em microscopia ultravioleta depende mais da observação de absorções específicas de substâncias biologicamente importantes, do que da melhoria de resolução final que é possível alcançar para estes comprimentos de onda menores.

Partes ópticas de quartzo são essenciais para a microscopia ultravioleta. (Vidros ópticos são opacos para comprimentos de onda menores do que aproximadamente 3100 Å, no entanto, o quartzo transmite apreciavelmente até 2200 Å). Por exemplo, para 2200 Å, 1 mm de quartzo transmite 94 % da intensidade incidente, e tem índice de refração de 1,53. Dispersão (variação do índice de refração com o comprimento de onda) é geralmente muito maior no ultravioleta do que na luz visível. Por esta razão, a correção adequada da aberração cromática de lentes de quartzo é difícil de realizar, tal que sistemas de microscópio ultravioleta são usualmente projetados para uso com iluminação monocromática.

Com iluminação monocromática é possível usar lentes monocromáticas, as quais podem ser altamente corrigidas para aberrações esféricas. Estas objetivas consistem de uma lente hiper-hemisférica simples seguida por uma série de lentes menisco. A imagem virtual formada por cada lente da série, está localizada no centro de curvatura da primeira superfície da lente subsequente. Assim, a imagem é inteiramente aplanática exceto pela contribuição muito pequena de um elemento de focalização final.

A posição da imagem ultravioleta focada deve ser localizada através de uma tela fluorescente ou fotograficamente. Note que um microscópio que produz uma imagem em foco com luz visível, também forma uma imagem ultravioleta fora do foco, desde que o comprimento focal de qualquer lente refrativa é sempre apreciavelmente diferente para estes comprimentos de onda mais curtos. Esta dificuldade é algumas vezes evitada pelo uso de lentes de reflexão, cujos comprimentos focais são independentes do comprimento de onda.

### I.9.5 Fluorescência

No método de microscopia por fluorescência, a iluminação incidente é removida pela absorção seletiva, enquanto a luz que tem sido absorvida pelo espécime é reemitida com um comprimento de onda alterado (isto é, fosforescência ou fluorescência). Assim uma imagem colorida é formada novamente sobre um fundo escuro. O interesse particular da microscopia por fluorescência deriva da natureza específica da emissão fluorescente. O método fornece uma técnica histoquímica extremamente sensível, ou quando materiais inerentemente fluorescentes estão presentes no espécime (ou seja, para observação de autofluorescência) ou quando o objeto está tingido com tinturas fluorescentes.

Um diagrama de um sistema para microscopia por fluorescência é mostrado na Fig. I.23. A fonte de luz deve fornecer um feixe ultravioleta intenso. Ambas, um arco de mercúrio (monocromático) ou uma combinação de lâmpada de xenônio e monocromador podem ser usados. Um filtro remove os comprimentos de onda que não são efetivos na excitação fluorescente. O feixe incidente consiste então de algum comprimento de onda  $\lambda_1$ . Iluminação de campo brilhante do espécime é mostrado na Fig. I.23, mas iluminação de campo escuro também é disponível.

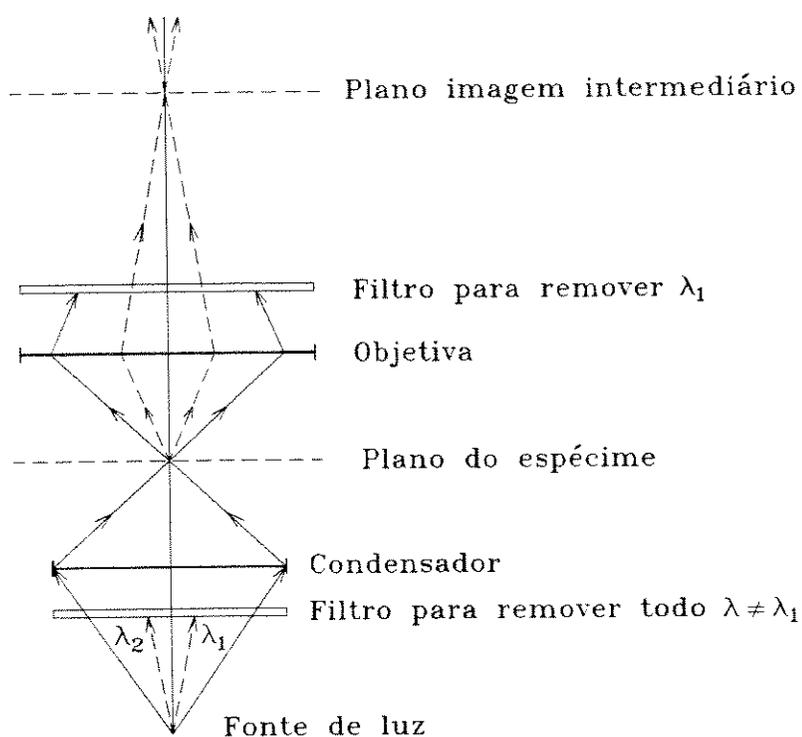


Figura I.23: Esquema do microscópio de fluorescência

A luz emitida por fluorescência pelo espécime é transmitida através de um segundo filtro, o qual remove o comprimento de onda incidente  $\lambda_1$  do feixe. Assim, somente luz que tenha

interagido com o espécime de tal maneira para sofrer uma mudança no comprimento de onda. pode contribuir para a formação da imagem no plano imagem. (Note que, na Fig. I.23, caminhos separados de comprimentos de onda incidentes e transmitidos são mostrados somente por conveniência; em microscopia fluorescente não há diferença na abertura angular com o comprimento de onda.)

Uma limitação do método é sua alta sensibilidade. Lentes, lâminas, lamínulas, meios de montagem e fixadores podem todos fluorescer em algum grau e certos materiais usados em microscopia (por exemplo, bálsamo do Canadá) fluorescem fortemente. Por esta razão reagentes especialmente purificados e outras provisões são requeridos para microscopia por fluorescência.

### I.9.6 Interferência

O microscópio de interferência, como o microscópio de contraste de fase, produz uma imagem na qual diferenças no caminho óptico através do espécime aparecem como diferenças na intensidade. Este instrumento também pode ser usado para observar espécimes vivos não-tingidos. No microscópio de interferência, entretanto, o contraste é obtido de uma maneira adaptada para medidas quantitativas diretas de diferenças na grossura óptica do espécime. Este tipo de instrumento não é apropriado para observações gerais, desde que o campo de visão é normalmente atravessado por um sistema de franjas. Os sistemas de interferência requerem ajustes cuidadosos e demorados, a fim de obter uma contemplação adequada do espécime.

### I.9.7 Polarização

O microscópio de polarização é usado para revelar a birefringência<sup>9</sup> de espécimes. Com o uso de acessórios apropriados o tipo de birefringência pode ser estabelecido. Estas medidas podem ser conseguidas sobre material vivo ou não-tingido.

Desde que a birefringência de materiais está relacionada com a estrutura do espécime para o nível molecular e macromolecular, a informação obtida do microscópio de polarização pode ser usada para deduzir a estrutura macromolecular de espécimes, mesmo que a ultra-estrutura não seja resolvida diretamente. Em muitas aplicações qualitativas, o instrumento é usado simplesmente para localizar estruturas com características de birefringência (por exemplo, fibras de músculo estriado) e para observar seu comportamento.

---

<sup>9</sup>É a refração de luz em duas direções levemente diferentes para formar dois raios. Elementos polarizantes que contêm cristais orientados em uma direção são birefringentes.

Uma interpretação completa das imagens do microscópio de polarização requer um entendimento das propriedades dos feixes de luz polarizada e das propriedades de materiais birefringentes.

## I.10 Uma visão geral do microscópio eletrônico

Como será visto no Cap. V, a técnica de processamento digital de imagens desenvolvida neste trabalho, se aplica sobre as imagens obtidas do microscópio óptico com a finalidade de aumentar a sua profundidade de campo. Como o microscópio eletrônico de varredura também apresenta imagens com larga profundidade de campo, é natural que a técnica desenvolvida seja respeitada as proporções, concorrente da microscopia eletrônica de varredura na geração de imagens com larga profundidade de campo. Por esta razão foi incluída neste capítulo esta seção, que trata das principais características da microscopia eletrônica.

Dois tipos básicos de instrumentos são chamados de microscópios eletrônicos. Ambos foram inventados na mesma época, mas têm usos fundamentalmente diferentes. O *microscópio eletrônico de transmissão* (MET) projeta elétrons através de uma fatia muito fina de tecido (espécime), para produzir uma imagem bidimensional sobre uma tela fosforescente. O brilho de uma área particular da imagem é proporcional ao número de elétrons que são transmitidos através do espécime. O *microscópio eletrônico de varredura* (MEV) produz uma imagem que dá a impressão de ser tridimensional. Este microscópio usa um feixe de elétrons de 2 a 3 nm, que varre a superfície do espécime para gerar elétrons secundários do espécime que são então detectados por um sensor. A imagem é produzida ao mesmo tempo em que é feita a varredura do espécime. Um terceiro e pouco usado tipo de microscópio eletrônico, o *microscópio eletrônico de transmissão e varredura* (METV), tem características de ambos os microscópios eletrônicos de transmissão e de varredura. O METV usa uma varredura de feixes de elétrons para penetrar espécimes finos.

Os microscópios de transmissão e de varredura possuem muitas características semelhantes, tais como o canhão de elétrons, as lentes condensadoras, o sistema de vácuo, etc. No entanto, a maneira de produzir e amplificar as imagens são inteiramente diferentes. Enquanto o MET fornece informação sobre a estrutura interna de espécimes finos, o MEV é usado para estudar a superfície ou a estrutura superficial de espécimes volumosos<sup>10</sup>.

---

<sup>10</sup>São espécimes que possuem uma dimensão física muito grande na direção do eixo do microscópio.

### I.10.1 Microscópio eletrônico X microscópio óptico

A primeira diferença óbvia entre os microscópios eletrônicos e os microscópios ópticos está no comprimento de onda das radiações empregadas por cada um. Os comprimentos de onda diferem por um fator de milhares de vezes com implicações imensas para a microscopia.

Outra grande diferença é que os elétrons são muito mais fortemente espalhados por gases do que a luz. Este efeito é tão grave que o uso de elétrons pela microscopia, exige a evacuação do ambiente de trabalho para pressões abaixo de  $10^{-2}$  Pa. Os elétrons penetram uns poucos milímetros de ar sob pressão atmosférica normal.

A resolução teórica do microscópio eletrônico atinge valores tão baixos quanto 0,02 nm, que é muito menor do que o tamanho de um átomo. Infelizmente no microscópio eletrônico de varredura esta resolução tão desejada não pode ser atingida, devido às aberrações das lentes que são meros campos magnéticos. No microscópio de luz é possível corrigir ambas as aberrações cromáticas e acromáticas usando combinações adequadas de lentes. No microscópio eletrônico é muito difícil corrigir as aberrações, consegue-se no máximo eliminar virtualmente as aberrações cromáticas pelo uso de elétrons de uma faixa muito pequena de comprimentos de ondas. Não é possível eliminar as aberrações esféricas, mas apenas minimizá-las por restringir o movimento dos elétrons para caminhos muito próximos do eixo óptico, através do uso de pequenas aberturas de objetiva. O uso de uma abertura pequena reduz a aberração esférica mas piora a resolução. No entanto, existe um valor de abertura ótima que permite aos melhores microscópios de varredura resolver dois pontos separados por uma distância de até 0,2 nm, que é aproximadamente a separação de átomos em um sólido. Com o microscópio óptico consegue-se, relativamente, chegar muito mais próximo da resolução teórica.

A necessidade de usar aberturas pequenas para reduzir as aberrações esféricas, permite que o microscópio eletrônico de varredura apresente uma profundidade de campo muito grande, a qual é considerada uma de suas principais vantagens. Esta característica também é uma vantagem do microscópio de varredura sobre o microscópio óptico quando são comparados para a mesma ampliação.

A carga elétrica dos elétrons permite que campos magnéticos sejam usados na construção de lentes para os elétrons. A possibilidade de controlar facilmente a varredura de um feixe de elétrons, levou ao desenvolvimento dos microscópios eletrônicos de varredura. Por causa disto, os microscópios eletrônicos não necessitam de movimentos mecânicos para focalizar o espécime, como necessitam os microscópios ópticos.

Durante a observação de um espécime pelo microscópio eletrônico, um feixe de elétrons de alta energia bombardeia a sua superfície. Se a superfície do espécime não for eletricamente

condutora, como ocorre com polímeros, cerâmicas e materiais biológicos, haverá o acúmulo de cargas negativas sobre a sua superfície. Neste caso a carga do elétron se torna um problema, porque serão repelidas pelas cargas acumuladas na superfície do espécime provocando uma distorção na imagem gerada. Para resolver este problema é usual cobrir o espécime com uma camada condutora muito fina ( $\sim 10$  nm) de ouro ou carbono. Isto é feito atualmente através de aparelhos chamados de *evaporadores de cobertura*. Se o microscópio está operando na sua resolução mais alta, deve-se tomar cuidado para que a cobertura condutora não mascare detalhes finos da superfície. A preparação de espécimes é mais trabalhosa e cara que no caso da microscopia óptica. Além disso a cobertura de ouro ou carbono não permite a observação de espécimes vivos.

O microscópio eletrônico de transmissão é de muitas maneiras similar ao microscópio composto óptico. Por exemplo, em ambos microscópios as radiações eletromagnéticas são geradas de um filamento de tungstênio, e convergem para um espécime fino através de um sistema de lentes condensadoras. A iluminação transmitida através do espécime é focalizada e amplificada primeiro por uma lente objetiva, para posteriormente ser amplificada por uma série de lentes intermediárias e projetoras até a imagem final ser visualizada. Ambos tipos de microscópios podem gravar imagens usando uma emulsão fotográfica a base de prata, que é sensível para ambos tipos de radiações.

É claro que as lentes do microscópio óptico são feitas de vidro ou quartzo, enquanto solenóides magnéticos são usados nos microscópios eletrônicos. Os microscópios eletrônicos requerem um elaborado sistema de vácuo, para remover as moléculas de ar interferentes que impediriam o fluxo de elétrons na coluna. Tal alto vácuo é necessário desde o ponto de origem dos elétrons (o filamento) até, e usualmente incluindo, o filme fotográfico. Conseqüentemente o espécime também é submetido a este alto vácuo, e espécimes vivos seriam desidratados rapidamente se fossem colocados diretamente dentro do microscópio eletrônico. Todavia, é possível ver rapidamente espécimes finos hidratados e congelados, usando crio-estágios para manter o estado sólido da água celular durante o bombardeio de um feixe eletrônico.

Uma grande vantagem da microscopia óptica é a possibilidade de geração de imagens coloridas, enquanto que a microscopia eletrônica só gera imagens monocromáticas.

Resumindo, a microscopia eletrônica oferece resolução mais alta (até 0,2 nm), amplificação mais alta (até 1.000.000 X), maiores profundidades de campo e maior versatilidade do que os microscópios ópticos a um custo muito alto que pode passar dos 200 mil dólares. O microscópio óptico por sua vez oferece imagens coloridas, uma preparação de espécimes mais simples, facilidade de manuseio e um preço muito mais acessível.

# Capítulo II

## Técnicas Gerais de Melhoria de Imagens Digitais

### II.1 Introdução

Qualquer técnica de melhoria de imagem digital, têm por objetivo principal realizar um processamento sobre uma dada imagem e obter uma imagem resultante melhorada em algum sentido, ou seja, a informação relevante para um dado problema pode ser extraída mais facilmente da imagem resultante, através de uma análise visual, ou através de algum sistema de análise automático. Nos últimos 30 anos foram desenvolvidas muitas técnicas de melhoria de imagens, mas muitas trabalham com princípios similares, ou produzem resultados comparáveis. Nas seções seguintes deste capítulo, apresenta-se de forma resumida as principais técnicas de melhoria de imagens e seus fundamentos, com a finalidade de dar uma visão geral sobre o universo das técnicas existentes.

As técnicas de melhoria de imagens digitais podem ser divididas em dois grandes grupos, conhecidos como *enriquecimento de imagens* e *restauração de imagens*. No entanto, existe uma estrita relação entre estes dois grupos, desde que uma imagem degradada que sofre um processo de restauração, freqüentemente acaba sendo enriquecida durante este processo. Mesmo assim, existem algumas diferenças importantes entre restauração e enriquecimento de imagens, que serão apresentadas na seqüência.

Quando uma imagem ideal sofre algum fenômeno de degradação, a restauração de imagem tem por objetivo obter uma imagem processada tão parecida quanto possível com a imagem ideal. No enriquecimento de imagem, o objetivo é fazer a imagem processada melhor do que a imagem não-processada em algum sentido. Neste caso, a imagem processada ideal depende

do contexto do problema e freqüentemente não é bem definida. Além disso, um algoritmo simples, heurístico, e que não considera as características do sinal e da degradação, é geralmente considerado um algoritmo de enriquecimento, enquanto um algoritmo que é mais matemático e complexo, e explora as características do sinal e da degradação, com um critério de erro explícito que procura comparar a imagem processada com a imagem original não degradada, é geralmente considerado um algoritmo de restauração.

## II.2 Enriquecimento de imagens

As técnicas de enriquecimento de imagens são aplicadas no processamento de uma dada imagem com a finalidade de melhorar sua aparência para observadores humanos, ou para enriquecer o desempenho de outros sistemas de processamento de imagens. Os métodos e objetivos do processamento variam com a aplicação, já que são orientados para a solução de problemas e, portanto, projetados segundo critérios subjetivos dependentes do problema. Assim, por exemplo, o enriquecimento de imagens para observadores humanos, tem por objetivo a melhora de aspectos ligados à percepção como: inteligibilidade, aparência visual, qualidade da imagem, etc. Em outras aplicações, como na identificação de objetos pela máquina, a imagem pode ser enriquecida num pré-processamento para melhorar o desempenho da máquina. Em muitos casos, portanto, é de importância secundária manter a originalidade da imagem.

Como o objetivo do enriquecimento de imagens é dependente do contexto da aplicação e os critérios para enriquecimento são freqüentemente muito complexos para serem traduzidos em medidas objetivas úteis, os algoritmos das técnicas de enriquecimento de imagens tendem a ser simples, heurísticos e qualitativos. Além disso, um algoritmo que funcione bem para uma determinada classe de imagens, pode não ser adequado para outras classes.

As técnicas de enriquecimento de imagens podem ser divididas em dois grupos básicos: *técnicas no domínio do espaço* e *técnicas no domínio da freqüência*, sendo que estas técnicas podem ser classificadas em métodos dependentes do sinal ou independentes do sinal, e em métodos lineares ou não-lineares.

As técnicas de processamento no domínio do espaço, são baseadas em procedimentos que manipulam diretamente os pixels que compõem a imagem. As funções de processamento de imagem dentro do domínio espacial podem ser expressas como

$$g(n_1, n_2) = T[f(n_1, n_2)] \quad (\text{II.1})$$

onde  $f(n_1, n_2)$  é a imagem de entrada,  $g(n_1, n_2)$  é a imagem processada, e  $T$  é um operador sobre  $f$ .

definido sobre uma vizinhança de  $(n_1, n_2)$ . É também possível deixar  $T$  operar sobre um conjunto de imagens de entrada, como na soma pixel-a-pixel de  $K$  imagens.

Já as técnicas do domínio da frequência são baseadas em procedimentos que modificam a transformada de Fourier da imagem, ou seja, no teorema da convolução

$$g(n_1, n_2) = h(n_1, n_2) * f(n_1, n_2) \quad (\text{II.2})$$

onde  $g(n_1, n_2)$  é a imagem formada pela convolução da imagem de entrada  $f(n_1, n_2)$  e o operador invariante com o deslocamento  $h(n_1, n_2)$ .

Neste ponto observa-se que não existe uma teoria geral de enriquecimento de imagem. Quando uma imagem é processada para interpretação visual, o observador é o juiz supremo na avaliação final de quão bem um método trabalha. A avaliação visual da qualidade de uma imagem é um processo altamente subjetivo, assim a definição de uma “boa imagem” torna-se um padrão ilusório pelo qual se avalia o desempenho de um algoritmo. Quando o problema é de processamento de imagens para percepção de máquina, a tarefa de avaliação é um pouco mais fácil. Se, por exemplo, trata-se de uma aplicação para reconhecimento de caracteres, o melhor método de processamento de imagem será aquele que produzir o melhor resultado de reconhecimento na máquina.

É importante notar que mesmo em situações onde pode-se estabelecer um critério claro de desempenho para um problema, é inevitável a experiência da “tentativa e erro” antes de ser capaz de se estabelecer um método de processamento adequado para uma imagem particular.

As próximas seções tentam organizar os diversos métodos de enriquecimento de imagens em categorias semelhantes, introduzindo-os de forma resumida. Maiores detalhes podem ser encontrados nas Referências [17], [18] e [19].

### II.2.1 Métodos baseados na modificação do histograma

O *histograma* de uma imagem, denotado por  $p(f)$ , representa o número de pixels que tem uma específica intensidade  $f$ , também é chamado de função de densidade de distribuição (ou de probabilidade) dos níveis da imagem. Resumindo, o histograma fornece uma descrição global da aparência de uma imagem. Os métodos discutidos nesta seção realizam enriquecimento modificando o histograma de uma dada imagem de uma maneira específica. O tipo e grau de enriquecimento obtido depende da natureza do histograma especificado e da natureza da transformação aplicada.

A determinação da transformação desejada depende da aplicação e em algumas aplicações considerações físicas podem determinar esta transformação. É o caso de sistemas com características não-lineares, como a relação entre brilho e tensão nos tubos de raios catódicos, onde deseja-se compensar estas não-linearidades. Em tais casos, a transformação mais apropriada pode ser determinada da não-linearidade do sistema. Uma boa transformação em aplicações típicas pode ser identificada pelo cálculo do histograma da imagem de entrada e do estudo das suas características. Com alguma prática é possível estabelecer, de forma manual e interativa, transformações que levem a resultados agradáveis. Geralmente este processo manual e interativo é demorado, devido às muitas experimentações (“tentativa e erro”) necessárias para se chegar à transformação adequada. Assim, prefere-se empregar processos mais automáticos que levam à economia de tempo, como os que são descritos nas próximas seções.

Por uma questão de simplicidade, as intensidades são normalizadas e o problema é analisado e desenvolvido no domínio contínuo, com posterior discretização para aplicação nas imagens digitais. Para encontrar a transformação adequada através da teoria elementar de probabilidade, as transformações discutidas aqui obedecem às relações e condições abaixo:

$$s = T(r) \quad \text{e} \quad r = T^{-1}(s) \quad (\text{II.3})$$

onde  $r$  e  $s$  são as intensidades das imagens de entrada e de saída, respectivamente, para a posição contínua  $(x, y)$ ;  $T$  a transformação desejada com a restrição de ser monotonamente crescente e  $T^{-1}$  a transformação inversa. Então se  $p_r(r)$  e  $T(r)$  são conhecidos e se  $T^{-1}(s)$  é monotonamente crescente, tem-se da teoria elementar de probabilidade a relação

$$p_s(s) = \left[ p_r(r) \frac{dr}{ds} \right]_{r=T^{-1}(s)} \quad (\text{II.4})$$

onde  $p_r(r)$  é a função densidade de probabilidade da imagem de entrada e  $p_s(s)$  é a função densidade de probabilidade da imagem processada.

### Equalização do histograma

Nesta técnica deseja-se aplicar uma transformação sobre o histograma da imagem de entrada de forma que o histograma da imagem de saída seja plano. A transformação desejada neste caso é dada por

$$s = T(r) = \int_0^r p_r(w) \cdot dw \quad (\text{II.5})$$

onde  $T$  é a transformação desejada e  $w$  a variável de integração. Observe que a transformação  $T$  é a função *densidade de distribuição acumulada* e que a derivada de  $s$  em relação a  $r$  é igual a  $p_r(r)$ . Substituindo  $dr/ds$  em (II.4) tem-se

$$p_s(s) = \left[ p_r(r) \frac{1}{p_r(r)} \right]_{r=T^{-1}(s)} = 1 \quad (II.6)$$

que confirma o histograma plano da imagem processada. Mas como as imagens a serem processadas estão na forma discreta, a Eq. (II.5) deve ser discretizada para poder ser usada, assim obtém-se

$$s_k = T(r_k) = \sum_{j=0}^k \frac{n_j}{n} = \sum_{j=0}^k p_r(r_j), \quad \text{para } k = 0, 1, \dots, L - 1. \quad (II.7)$$

onde  $s_k$  é o  $k$ -ésimo nível de intensidade da imagem processada,  $r_k$  é o  $k$ -ésimo nível da imagem de entrada,  $L$  é o número de níveis,  $p_r(r_k)$  é a densidade de probabilidade do  $k$ -ésimo nível da imagem de entrada,  $n_j$  é o número de vezes que este pixel aparece na imagem e  $n$  é o número de pixels da imagem.

### Especificação direta do histograma

Nesta técnica deseja-se que o histograma da imagem processada tenha um formato que é especificado de acordo com alguma necessidade ou objetivo. Um exemplo de formato especificado poderia ter um máximo ao redor do meio da faixa dinâmica<sup>1</sup>, diminuindo lentamente para quando a intensidade aumenta ou diminui.

Os passos necessários para se obter uma imagem processada com um histograma especificado, são os seguintes:

1. Equalizar os níveis da imagem original através do método anterior, usando a Eq. (II.5)

$$s = T(r) = \int_0^r p_r(w)dw . \quad (II.8)$$

2. Especificar o histograma desejado para a imagem processada e obter a função transformação  $U(z)$

$$v = U(z) = \int_0^z p_z(w)dw . \quad (II.9)$$

---

<sup>1</sup>A faixa dinâmica corresponde à faixa de valores que a intensidade dos pixels de uma dada imagem assumem.

3. Aplicar a função transformação inversa,  $U^{-1}$ , sobre os níveis obtidos no passo (1), para obter os níveis da imagem processada

$$z = U^{-1}(s) = U^{-1}[T(r)] . \quad (\text{II.10})$$

Pelo último termo da Eq. (II.10), constata-se que esta técnica consiste na combinação de duas transformações diferentes. No caso contínuo, explicitado pela Eq. (II.10), defronta-se com a dificuldade de cálculo da transformação inversa,  $U^{-1}$ , analiticamente. Já para o caso discreto dado pelas Eqs. (II.7) e (II.11), o problema é contornado devido ao pequeno número de níveis distintos que os pixels podem assumir, o que torna mais fácil o cálculo e armazenagem de um mapeamento para cada possível valor de pixel.

$$v_k = U(z_k) = \sum_{j=0}^k p_z(z_j), \quad \text{para } k = 0, 1, \dots, L - 1. \quad (\text{II.11})$$

### Enriquecimento local

As duas técnicas anteriores têm uma característica global, porque os pixels são modificados através de uma função de transformação baseada na distribuição de níveis da imagem inteira. Uma técnica global é apropriada para enriquecimento de toda a imagem, não sendo adequada para enriquecimento de detalhes sobre pequenas áreas da imagem, já que o número de pixels nestas áreas podem ter influência desprezível no cálculo de uma transformação global. Logo o uso deste tipo de transformação não garante o enriquecimento local desejado.

A solução é projetar uma função de transformação baseada na distribuição de níveis, ou outras propriedades, da vizinhança de todo pixel em uma dada imagem. O procedimento consiste em definir uma vizinhança de  $N \times M$  pixels e mover o centro desta área de pixel para pixel na imagem. Para cada localização calcula-se o histograma da área de  $N \times M$  pixels, obtendo-se a função de transformação da equalização do histograma, ou a função de transformação da modificação direta do histograma. Esta função é finalmente usada para mapear o nível do pixel centrado na área. O centro da área de  $N \times M$  pixels é movido para a localização do pixel adjacente e o procedimento é repetido.

## II.2.2 Métodos para suavizar imagens

Operações suavizadoras são usadas primariamente para diminuir efeitos espúrios<sup>2</sup>, que podem estar presentes em uma imagem digital como resultado de um sistema de amostragem pobre, ou de um canal de transmissão deficiente. Esta área do enriquecimento de imagens, que visa reduzir degradações presentes na imagem, obviamente sobrepõe-se ao campo de atuação da restauração de imagem.

### Média da vizinhança

É uma técnica muito forte no domínio espacial. Para uma imagem  $f(n_1, n_2)$  de  $N \times N$  pixels, o procedimento é gerar uma imagem suavizada  $g(n_1, n_2)$ , tal que cada um de seus pontos  $(n_1, n_2)$  é obtido através da média dos valores dos pixels de  $f$ , contidos na vizinhança pré-definida de  $(n_1, n_2)$ . A expressão que representa este procedimento é

$$g(n_1, n_2) = \frac{1}{M} \sum_{(k_1, k_2) \in S} f(k_1, k_2) \quad (\text{II.12})$$

para  $n_1, n_2 = 0, 1, \dots, N - 1$ ;  $S$  é o conjunto de coordenadas dos pontos da vizinhança do ponto  $(n_1, n_2)$  (alguns autores incluem o ponto  $(n_1, n_2)$  neste conjunto e outros não); e  $M$  é o número total de pontos na vizinhança considerada.

A média da vizinhança como descrita acima, tem a característica intrínseca de borrar ou embaçar a imagem, tanto mais quanto maior for a vizinhança considerada. Para diminuir este efeito emprega-se o procedimento abaixo que estabelece um limiar

$$g(n_1, n_2) = \begin{cases} \frac{1}{M} \sum_{(k_1, k_2) \in S} f(k_1, k_2) & \text{se } \left| f(n_1, n_2) - \frac{1}{M} \sum_{(k_1, k_2) \in S} f(k_1, k_2) \right| < T \\ f(n_1, n_2) & \text{se } \left| f(n_1, n_2) - \frac{1}{M} \sum_{(k_1, k_2) \in S} f(k_1, k_2) \right| \geq T \end{cases} \quad (\text{II.13})$$

onde  $T$  é um limiar especificado e não-negativo. Desta forma, reduz-se o embaçamento por deixar inalteradas regiões da imagem com grandes variações de níveis. Geralmente espera-se que as partes das imagens com grandes variações de níveis, correspondam às partes que contenham bordas.

Um dos principais problemas deste método é o embaçamento provocado em bordas e detalhes nítidos, embora possa ser razoavelmente evitado com o emprego do limiar. No entanto, a escolha do limiar envolve considerável “tentativa e erro”.

<sup>2</sup>Podem ser ruídos do tipo aleatório e/ou impulsivo.

### Filtragem por mediana

A filtragem por mediana é um processo não-linear, onde o nível de cada pixel é trocado pela mediana dos níveis dos pixels da vizinhança considerada. Os resultados obtidos com este método são particularmente bons para imagens contaminadas por forte ruído impulsivo, nas quais deseja-se manter a nitidez das bordas.

Um exemplo de filtragem por mediana é dado pela Fig. II.1 (a), onde o pixel de intensidade 10 está sendo processado. Ordenando-se as intensidades da vizinhança de 3 x 3 pixels têm-se a seqüência: 10, 12, 15, 15, 18, 20, 20, 30 e 30, cujo quinto termo é a mediana<sup>3</sup>. A Fig. II.1 (b) mostra o resultado do processamento deste pixel.

12	15	20
30	10	18
30	20	15

(a)

12	15	20
30	18	18
30	20	15

(b)

Figura II.1: Exemplo de filtragem por mediana numa vizinhança de 3 x 3 pixels

O parâmetro mais importante a ser definido num processamento por mediana é o tamanho da vizinhança ou janela a ser usada. O tamanho da janela geralmente depende do contexto e é difícil de ser definida, portanto, é comum a realização de vários processamentos com tamanhos de janelas diferentes, para permitir a escolha do melhor resultado.

### Filtragem passa-baixas

A energia de uma imagem típica concentra-se nas suas componentes de baixa freqüência, devido à alta correlação espacial existente entre pixels vizinhos. A energia das degradações de imagens, tais como ruído aleatório de faixa larga e ruído impulsivo, caracteriza-se por estar mais espalhada sobre a faixa de freqüência. Assim, geralmente, as degradações deste tipo contribuem muito no conteúdo de componentes de alta freqüência da imagem.

Portanto a redução das componentes de alta freqüência, enquanto preserva-se as componentes de baixa freqüência, reduz uma grande quantidade de ruído ao custo de reduzir uma pequena quantidade do sinal.

Esta técnica do domínio da freqüência, como já foi dito, baseia-se na modificação da transformada de Fourier da imagem original, ou seja, na relação

<sup>3</sup>A mediana  $m$  da seqüência é tal que, metade dos termos da seqüência são menores do que  $m$  e a outra metade são maiores do que  $m$ .

$$G(\omega_1, \omega_2) = H(\omega_1, \omega_2)F(\omega_1, \omega_2) \quad (\text{II.14})$$

onde  $F(\omega_1, \omega_2)$  é a transformada da imagem a ser suavizada, e  $G(\omega_1, \omega_2)$  é a transformada da imagem suavizada. Então, todo o problema reduz-se em encontrar a função  $H(\omega_1, \omega_2)$  que produz  $G(\omega_1, \omega_2)$ , por atenuar as componentes de alta frequência de  $F(\omega_1, \omega_2)$ . O tratamento teórico da especificação e projeto de filtros passa-baixas, é um assunto muito extenso e não será abordado neste trabalho. As Referências [17] e [23] tratam amplamente deste assunto. Além disso, no Apêndice B pode-se encontrar o projeto dos filtros passa-baixas usados nos processamentos realizados neste trabalho.

A principal limitação da filtragem passa-baixas, é o embaçamento provocado pela tentativa de diminuir mais o ruído da imagem diminuindo-se a frequência de corte do filtro passa-baixas.

### Média de múltiplas imagens

Considere-se a imagem ruidosa  $g(n_1, n_2)$ , formada pela soma de ruído  $v(n_1, n_2)$  e de uma imagem original  $f(n_1, n_2)$

$$g(n_1, n_2) = f(n_1, n_2) + v(n_1, n_2) \quad (\text{II.15})$$

onde assume-se que para todo par de coordenadas  $(n_1, n_2)$  o ruído é não-correlacionado e tem valor médio zero. Assim é fácil mostrar, [26], que se uma imagem  $\bar{g}(n_1, n_2)$  é formada pela média de  $M$  imagens ruidosas diferentes,

$$\bar{g}(n_1, n_2) = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M g_i(n_1, n_2), \quad (\text{II.16})$$

segue-se que

$$E\{\bar{g}(n_1, n_2)\} = f(n_1, n_2) \quad \text{e} \quad (\text{II.17})$$

$$\sigma_{\bar{g}(n_1, n_2)}^2 = \frac{1}{M} \sigma_{v(n_1, n_2)}^2 \quad (\text{II.18})$$

onde  $E\{\bar{g}(n_1, n_2)\}$  é o valor esperado de  $\bar{g}$ ,  $\sigma_{\bar{g}(n_1, n_2)}^2$  e  $\sigma_{v(n_1, n_2)}^2$  são as variâncias de  $\bar{g}$  e  $v$  na coordenada  $(n_1, n_2)$ .

A Eq. (II.18) indica que quando  $M$  aumenta, a variabilidade de cada pixel diminui, mais  $\bar{g}(n_1, n_2)$  se aproxima de  $f(n_1, n_2)$ . Na prática existem dificuldades para se obter as  $M$

imagens ruidosas e ao mesmo tempo em registro<sup>4</sup>.

### Filtragem não-linear (subtração espectral)

Além de métodos lineares, como a filtragem passa-baixas descrita anteriormente, métodos não-lineares também podem ser utilizados no domínio da frequência espacial, para a suavização de imagens contaminadas com forte ruído branco gaussiano. Para este tipo de imagem os resultados obtidos com este método são particularmente bons, quando comparados com os resultados obtidos com a filtragem passa-baixas.

No domínio da frequência, o espectro da imagem ruidosa é formado pela soma do espectro da imagem propriamente dita, mais o espectro do ruído que apresenta um platô com amplitude média constante. Este método elimina por subtração no domínio espectral, o valor médio do ruído do espectro da imagem ruidosa. O método é representado pelas expressões

$$|G(\omega_1, \omega_2)| = \begin{cases} [|F(\omega_1, \omega_2)|^2 - \lambda^2 \bar{R}^2]^{1/2} & \text{para } |F(\omega_1, \omega_2)| > \bar{R} \\ 0 & \text{para } |F(\omega_1, \omega_2)| \leq \bar{R} \end{cases} \quad \text{e} \quad (\text{II.19})$$

$$\phi\{G(\omega_1, \omega_2)\} = \phi\{F(\omega_1, \omega_2)\} \quad (\text{II.20})$$

onde  $G(\omega_1, \omega_2)$  é o espectro da imagem processada;  $F(\omega_1, \omega_2)$  é o espectro da imagem original ruidosa;  $\bar{R}$  é a amplitude média do ruído;  $\phi\{G(\omega_1, \omega_2)\}$  e  $\phi\{F(\omega_1, \omega_2)\}$  são as fases da imagem processada e original, respectivamente; e  $\lambda$  é um fator utilizado para a obtenção da supressão ótima no sentido quadrático,  $\lambda \geq 1$ . A determinação de  $\lambda$  é realizada experimentalmente, como uma função da energia média do ruído,  $\bar{R}^2$ , e das propriedades do espectro do sinal. Em muitos casos a amplitude média do ruído,  $\bar{R}$ , pode ser estimada através da análise da parte de alta frequência do espectro da imagem ruidosa, desde que, geralmente a relação sinal/ruído é muito baixa nesta região.

### II.2.3 Métodos para destacar bordas e formas

Uma *borda* ou *forma* em uma imagem, é uma fronteira ou contorno onde ocorre uma mudança significativa em algum aspecto físico da imagem. Estas mudanças de aspecto físico se manifestam de muitas formas como, por exemplo, em mudanças de intensidade, cor, textura, etc.

---

<sup>4</sup>Em registro significa que cada pixel de uma imagem está sempre na mesma posição ( $n_1, n_2$ ) nas outras imagens.

As técnicas aqui discutidas são representativas das muitas existentes e são úteis como ferramentas de enriquecimento para destacar bordas e/ou formas nas imagens, podendo ser utilizadas em numerosos contextos como, por exemplo, na detecção de objetos.

### Diferenciação

Como foi visto na Seção II.2.2, a média da vizinhança tende a embaçar detalhes na imagem. Desde que média é análoga a integração, é natural esperar que a diferenciação tenha o efeito oposto, ressaltando detalhes na imagem.

Existem várias famílias de métodos de enriquecimento de imagens para destacar formas por diferenciação, por exemplo: (1) Métodos baseados no gradiente, (2) Métodos baseados no laplaciano, e (3) Método de Marr e Hildreth.

Todas as famílias de métodos da lista acima têm fundamentação semelhante, diferindo em alguns pontos como, por exemplo: os métodos baseados no gradiente utilizam-se de derivadas primeiras, enquanto que os baseados no laplaciano utilizam-se de derivadas segundas; o critério para determinar se um pixel é uma borda no método do gradiente, é o máximo da derivada primeira e é o cruzamento de zero da derivada segunda no caso do laplaciano; também a maneira de aproximar as derivadas por equações a diferenças gera muitas variantes em cada método; etc.

Como representante desta categoria de técnicas de enriquecimento de imagens, será apresentado a seguir um método dependente do sinal bastante comum baseado no gradiente. Dada a função  $f(n_1, n_2)$ , o gradiente de  $f$  para as coordenadas  $(n_1, n_2)$  é definido como o vetor

$$\mathbf{G}[f(n_1, n_2)] = \begin{bmatrix} \frac{\partial f}{\partial n_1} \\ \frac{\partial f}{\partial n_2} \end{bmatrix} \quad (\text{II.21})$$

onde o vetor  $\mathbf{G}[f(n_1, n_2)]$  aponta na direção de maior crescimento da função  $f(n_1, n_2)$ , e a magnitude de  $\mathbf{G}[f(n_1, n_2)]$  é dada por

$$G[f(n_1, n_2)] = \text{mag}[\mathbf{G}] = [(\partial f / \partial n_1)^2 + (\partial f / \partial n_2)^2]^{1/2}. \quad (\text{II.22})$$

Na prática, a função escalar  $G[f(n_1, n_2)]$  é comumente chamada de gradiente de  $f$  e a Eq. (II.22) é a base para numerosos métodos de diferenciação de imagens. No caso de imagens digitais, as derivadas desta equação são aproximadas por equações a diferenças e, obviamente, existe mais de uma aproximação possível. Uma aproximação típica é dada pela relação

$$G[f(n_1, n_2)] = \{[f(n_1, n_2) - f(n_1 + 1, n_2)]^2 + [f(n_1, n_2) - f(n_1, n_2 + 1)]^2\}^{1/2}. \quad (\text{II.23})$$

Do ponto de vista computacional, a equação acima pode ser reduzida para a forma absoluta dada abaixo, sem grandes influências no resultado.

$$G[f(n_1, n_2)] \cong |f(n_1, n_2) - f(n_1 + 1, n_2)| + |f(n_1, n_2) - f(n_1, n_2 + 1)| \quad (\text{II.24})$$

Para mostrar que a aproximação dada pelas Eqs. (II.23) e (II.24) não é única, as equações abaixo apresentam uma outra aproximação, algumas vezes chamada de *gradiente Roberts*, que usa diferenças cruzadas:

$$G[f(n_1, n_2)] = \{[f(n_1, n_2) - f(n_1 + 1, n_2 + 1)]^2 + [f(n_1 + 1, n_2) - f(n_1, n_2 + 1)]^2\}^{1/2} \quad (\text{II.25})$$

ou na forma absoluta

$$G[f(n_1, n_2)] \cong |f(n_1, n_2) - f(n_1 + 1, n_2 + 1)| + |f(n_1 + 1, n_2) - f(n_1, n_2 + 1)|. \quad (\text{II.26})$$

Nas duas aproximações dadas acima, o valor do gradiente é proporcional à diferença de níveis entre pixels adjacentes. Assim, o gradiente assume valores maiores em regiões da imagem que contenham bordas, valores menores em regiões suavizadas e valor nulo somente em regiões que têm nível constante.

Uma vez escolhido o método para aproximar o gradiente, ainda existem numerosas maneiras de usar o resultado para gerar uma imagem processada  $g(n_1, n_2)$ . Abaixo cita-se algumas maneiras usadas para gerar  $g(n_1, n_2)$ :

- O mais simples é tomar o valor de cada ponto da imagem processada  $g(n_1, n_2)$ , como sendo o valor do gradiente para cada ponto da imagem  $f(n_1, n_2)$ , isto é,

$$g(n_1, n_2) = G[f(n_1, n_2)]. \quad (\text{II.27})$$

A principal desvantagem deste caso ocorre nas regiões de  $f(n_1, n_2)$  com variações suaves, as quais aparecem escuras em  $g(n_1, n_2)$ .

- Tentando contornar a desvantagem do caso acima,  $g(n_1, n_2)$  é tomado como

$$g(n_1, n_2) = \begin{cases} G[f(n_1, n_2)] & \text{se } G[f(n_1, n_2)] \geq T \\ f(n_1, n_2) & \text{se } G[f(n_1, n_2)] < T \end{cases} \quad (\text{II.28})$$

onde  $T$  é um limiar positivo. A seleção apropriada de  $T$  permite realçar bordas sem destruir as características das regiões com variação suave.

- Uma variação do caso acima é designar um nível  $L_G$  para as bordas, ou seja,

$$g(n_1, n_2) = \begin{cases} L_G & \text{se } G[f(n_1, n_2)] \geq T \\ f(n_1, n_2) & \text{se } G[f(n_1, n_2)] < T. \end{cases} \quad (\text{II.29})$$

- Para estudar a variação dos níveis das bordas sem a interferência do fundo, usa-se

$$g(n_1, n_2) = \begin{cases} G[f(n_1, n_2)] & \text{se } G[f(n_1, n_2)] \geq T \\ L_B & \text{se } G[f(n_1, n_2)] < T \end{cases} \quad (\text{II.30})$$

onde  $L_B$  é o nível especificado para o fundo.

- Um último caso a comentar é aquele que destaca apenas a localização das bordas, a relação

$$g(n_1, n_2) = \begin{cases} L_G & \text{se } G[f(n_1, n_2)] \geq T \\ L_B & \text{se } G[f(n_1, n_2)] < T \end{cases} \quad (\text{II.31})$$

fornece como resultado do processamento uma imagem binária, onde as bordas e o fundo são exibidos em quaisquer dois níveis especificados.

### Filtragem passa-altas

Como foi visto na filtragem passa-baixas da Seção II.2.2, uma imagem pode ser embaçada atenuando-se as componentes de alta-freqüência da sua transformada de Fourier. Desde que bordas e outras mudanças abruptas nos níveis de uma imagem estão diretamente associadas às componentes de alta-freqüência, é de se esperar que a manutenção das componentes de alta freqüência, junto com a atenuação das componentes de baixa freqüência da transformada de Fourier de uma imagem, ressalte as bordas e formas desta imagem. Este processo é chamado de *filtragem passa-altas*.

Como na filtragem passa-baixas, o problema neste caso também se reduz em encontrar a função de transferência do filtro passa-altas. A teoria sobre filtros passa-altas é bastante extensa e pode ser encontrada nas Referências [17] e [23] já citadas na seção da filtragem passa-baixas. Além disso, no Apêndice B pode-se encontrar o projeto do filtro passa-altas usado nos processamentos realizados neste trabalho.

Uma limitação da filtragem passa-altas é a pequena diferença entre os níveis das bordas ressaltadas e os níveis das outras regiões da imagem processada, que tinham predominância de componentes de baixa-freqüência.

Para diminuir esta limitação pode-se somar uma constante à função de transferência do filtro passa-altas. Este procedimento preserva componentes de baixa-freqüência enquanto amplifica as componentes de alta-freqüência, o método assim descrito é chamado de *ênfase em altas-freqüências*. Um resultado melhor é obtido aplicando-se a ênfase em altas-freqüências, e em seguida a equalização de histograma.

**Mascaramento não-nítido**

Os procedimentos utilizados em artes gráficas para a impressão de fotografias, serviram de inspiração para o desenvolvimento deste método. O processo consiste em tomar a imagem original e produzir a partir dela uma imagem embaçada, uma fração da imagem embaçada é subtraída da imagem original, ou seja, este método é de alguma forma um tipo de filtragem passa-altas. O resultado é representado pela expressão

$$g(n_1, n_2) = \alpha \cdot f(n_1, n_2) - \beta \cdot f_L(n_1, n_2), \tag{II.32}$$

onde  $g(n_1, n_2)$  é a imagem processada,  $f(n_1, n_2)$  é a imagem original,  $f_L(n_1, n_2)$  é a imagem embaçada e  $\alpha$  e  $\beta$  são escalares positivos com  $\alpha > \beta$ . Da Eq. (II.32) é claro que as componentes de alta-freqüência são enfatizadas, enquanto que as componentes de baixa-freqüência são atenuadas. A Fig. II.2 mostra um diagrama de blocos para este método, onde  $\alpha = 2$  e  $\beta = 1$ .

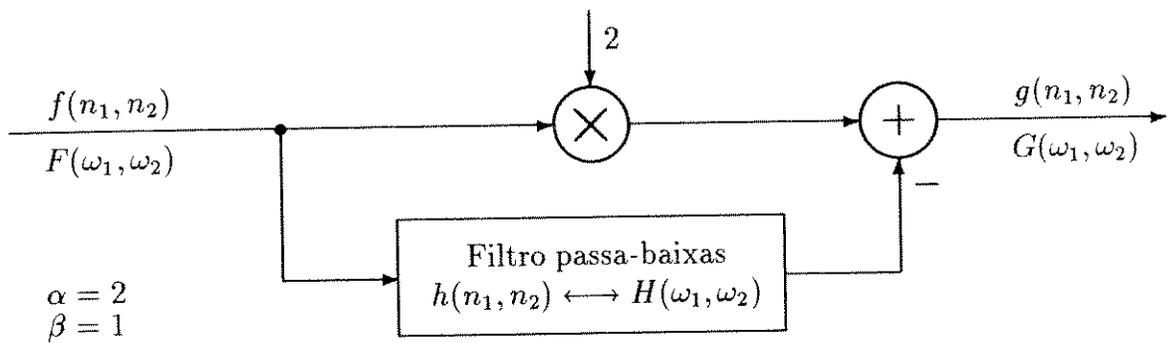


Figura II.2: Sistema para mascaramento não-nítido

**II.2.4 Método baseado no modelamento da imagem**

**Modelamento da imagem**

Uma imagem é tipicamente formada pela luz refletida de um objeto iluminado por alguma fonte de luz. Assim uma imagem pode ser modelada como uma função bidimensional da

intensidade de luz, representada por  $f(n_1, n_2)$ , onde o valor da amplitude de  $f$  nas coordenadas  $(n_1, n_2)$  dá a intensidade ou brilho da imagem neste ponto. Desde que a luz é uma forma de energia,  $f(n_1, n_2)$  deve ser finito e maior do que zero.

A formação da imagem  $f(n_1, n_2)$  pode ser considerada como sendo caracterizada por duas componentes. Uma é a quantidade de luz da fonte incidente sobre a cena e a outra é a quantidade de luz refletida pelos objetos da cena. Estas componentes são chamadas de *iluminação* e *refletância*, sendo representadas por  $i(n_1, n_2)$  e  $r(n_1, n_2)$ , respectivamente. Assim,

$$f(n_1, n_2) = i(n_1, n_2)r(n_1, n_2), \quad \text{onde } 0 < i(n_1, n_2) < \infty \quad (\text{II.33})$$

$$\text{e } 0 < r(n_1, n_2) < 1.$$

Na Eq. (II.33), os valores limites indicados para a iluminação e para a refletância são valores teóricos, na prática estes valores nunca são atingidos. Por exemplo, os casos limites da refletância se fossem atingidos, corresponderiam às seguintes situações:  $r(n_1, n_2) = 0$  indicaria a absorção total da luz incidente (preto absoluto) e  $r(n_1, n_2) = 1$  indicaria a reflexão total da luz incidente (branco absoluto).

### Processamento homomórfico

Quando uma imagem com larga faixa dinâmica, tal como uma cena de um dia ensolarado, é gravada sobre um meio com pequena faixa dinâmica, tal como um filme fotográfico, tem-se uma sensível redução do contraste da imagem principalmente nas regiões escuras e brilhantes. Uma maneira empregada para diminuir este problema, consiste em enriquecer a imagem através da redução de sua faixa dinâmica e do aumento de seu contraste local, antes de gravá-la sobre o meio com pequena faixa dinâmica. O processamento homomórfico realiza este tipo de enriquecimento por empregar o modelo de imagem dado pela Eq. (II.33), reproduzida abaixo

$$f(n_1, n_2) = i(n_1, n_2)r(n_1, n_2). \quad (\text{II.34})$$

A componente de iluminação,  $i(n_1, n_2)$ , é caracterizada por lentas variações espaciais que representam as regiões homogêneas do objeto, logo será considerada a principal contribuidora para a faixa dinâmica da imagem. Já a componente da refletância,  $r(n_1, n_2)$ , é caracterizada por variações abruptas que representam os detalhes de um objeto, logo será considerada a principal contribuidora para o contraste local. Resumindo, a iluminação está diretamente relacionada à faixa dinâmica em que os pixels da imagem excursionam, enquanto que o contraste é uma função da refletividade natural dos objetos da imagem.

Para reduzir a faixa dinâmica e aumentar o contraste local, é necessário reduzir as variações da componente  $i(n_1, n_2)$  e aumentar as variações da componente  $r(n_1, n_2)$  da imagem. Um sistema que realiza esta operação é o sistema homomórfico da Fig. II.3.

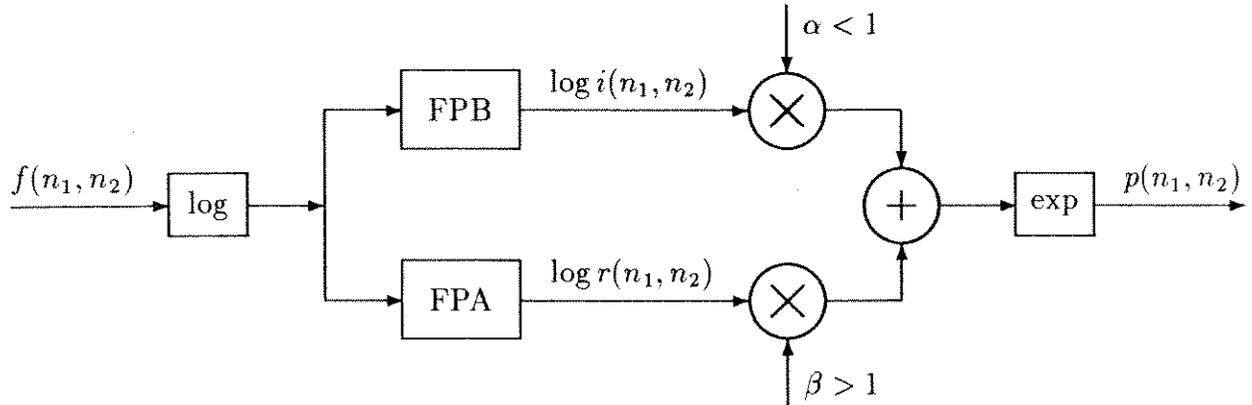


Figura II.3: Sistema homomórfico para enriquecimento de imagem

A operação logarítmica é necessária para separar as componentes de iluminação e de refletância da Eq. (II.34), gerando

$$\log f(n_1, n_2) = \log i(n_1, n_2) + \log r(n_1, n_2), \quad (II.35)$$

onde  $\log i(n_1, n_2)$  varia lentamente e  $\log r(n_1, n_2)$  varia rapidamente. Assim a aplicação de filtros passa-baixas e passa-altas sobre  $\log f(n_1, n_2)$ , produzirá a separação das componentes  $\log i(n_1, n_2)$  e  $\log r(n_1, n_2)$ , respectivamente. Então procede-se a atenuação de  $\log i(n_1, n_2)$  pela constante positiva  $\alpha$ , ( $\alpha < 1$ ), e a amplificação de  $\log r(n_1, n_2)$  pela constante positiva  $\beta$ , ( $\beta > 1$ ). A imagem resultante é obtida aplicando-se a exponenciação na soma das componentes processadas no domínio da intensidade logarítmica.

### II.2.5 Modificação adaptativa de contraste local e luminância local média

Algumas vezes é necessário modificar o contraste local e a luminância local média, de acordo com as variações das características locais de uma imagem. Em tais casos é razoável processar a imagem adaptativamente.

Um exemplo típico para a aplicação deste tipo de processamento são as imagens do solo tiradas de avião, quando existem nuvens entre o avião e o solo. A imagem das regiões encobertas por nuvens estão degradadas, desde que têm aumentada a sua luminância local média, devido à

reflexão da luz do sol sobre a cobertura de nuvens; e o seu contraste local também está diminuído, por causa da atenuação que sofre o sinal vindo do solo ao atravessar a cobertura de nuvens.

O enriquecimento deste tipo de imagem consiste em aumentar o contraste local e diminuir a luminância local média quando se detecta a cobertura de nuvens. A cobertura de nuvens é detectada através da medida da luminância local média, se ela é alta, significa que a cobertura de nuvens está presente.

Um exemplo de sistema que reduz o efeito da cobertura de nuvens é dado na Fig. II.4, onde  $f_L(n_1, n_2)$  é a luminância local média;  $f_H(n_1, n_2)$  é o contraste local;  $k(f_L)$  é uma constante que varia, ou se adapta, de acordo com a presença de nuvens que é detectada por  $f_L$  e tem por função amplificar  $f_H$ ; a não-linearidade é um sistema para atenuar a luminância local média; e  $p(n_1, n_2)$  é a imagem processada.

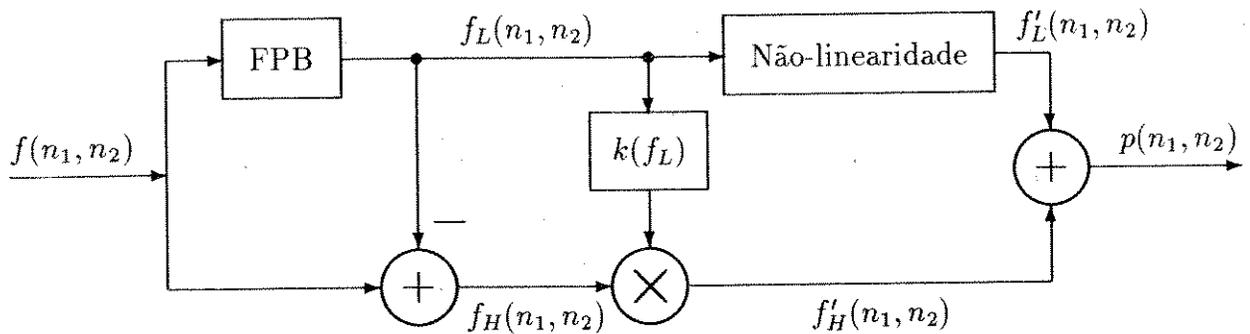


Figura II.4: Modificação adaptativa do contraste local e da luminância local média

### II.2.6 Métodos baseados em pseudo-cores

A motivação para usar cores em processamento de imagens, vem do fato que o olho humano pode distinguir milhares de cores e intensidades diferentes. Esta característica está em nítido contraste com o desempenho relativamente baixo do olho quando as imagens são formadas somente por níveis de cinza. Neste caso, somente uma a duas dúzias de níveis de cinza são detectáveis pelo observador médio em qualquer ponto da imagem. O olho possui grande capacidade de interpretação de imagens coloridas, além de que imagens coloridas são mais agradáveis de serem observadas.

O objetivo básico destas técnicas é tomar uma imagem monocromática e designar uma cor para cada pixel, baseando-se por exemplo em sua intensidade. A quantidade de técnicas para designar cores são limitadas somente pela capacidade de exibição do sistema e pela imaginação do usuário, não existindo regras ou fórmulas a serem seguidas. Como as cores atribuídas não

constituem as cores naturais da imagem, então elas são chamadas de *pseudo-cores*.

### Fatiando intensidade

Esta técnica de processamento de imagens com pseudo-cores é uma das mais simples já desenvolvida. Nesta técnica a imagem é vista como uma função bidimensional da intensidade, onde a escala de intensidade é dividida em vários segmentos, que são mapeados para cores diferentes. ou seja, para cada pixel da imagem processada atribui-se uma cor de acordo com o segmento a que pertence a intensidade deste pixel na imagem original.

Resumindo, suponha-se que a escala de intensidade da imagem original,  $f(n_1, n_2)$ , é dividida em  $M$  segmentos representados por:  $s_1, s_2, \dots, s_M$  e que a cada segmento é relacionada uma cor diferente  $c_1, c_2, \dots, c_M$ . Então a imagem processada  $g(n_1, n_2)$  é dada por

$$g(n_1, n_2) = c_k, \quad \text{se } f(n_1, n_2) \in s_k, \quad \text{para } k = 1, 2, \dots, M. \quad (\text{II.36})$$

### Transformação de níveis de cinza para cores

A Fig. II.5 representa a idéia básica desta técnica, que consiste em realizar três transformações independentes sobre o nível de cinza de qualquer pixel da imagem de entrada. Os três resultados assim obtidos podem ser combinados para formar uma imagem colorida, cujo conteúdo de cor é modulado pela natureza das funções de transformação utilizadas. É importante observar que estas transformações são realizadas sobre os valores de níveis de cinza da imagem, não sendo, portanto, funções da posição.

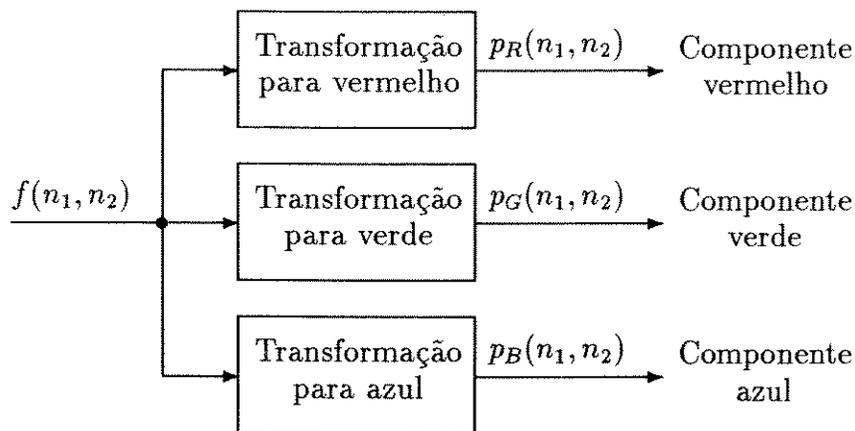


Figura II.5: Diagrama de blocos para transformação de nível de cinza para cor

### Filtragem para pseudo-cores

A Fig. II.6 mostra um esquema de codificação de cor baseado em operações no domínio da frequência.

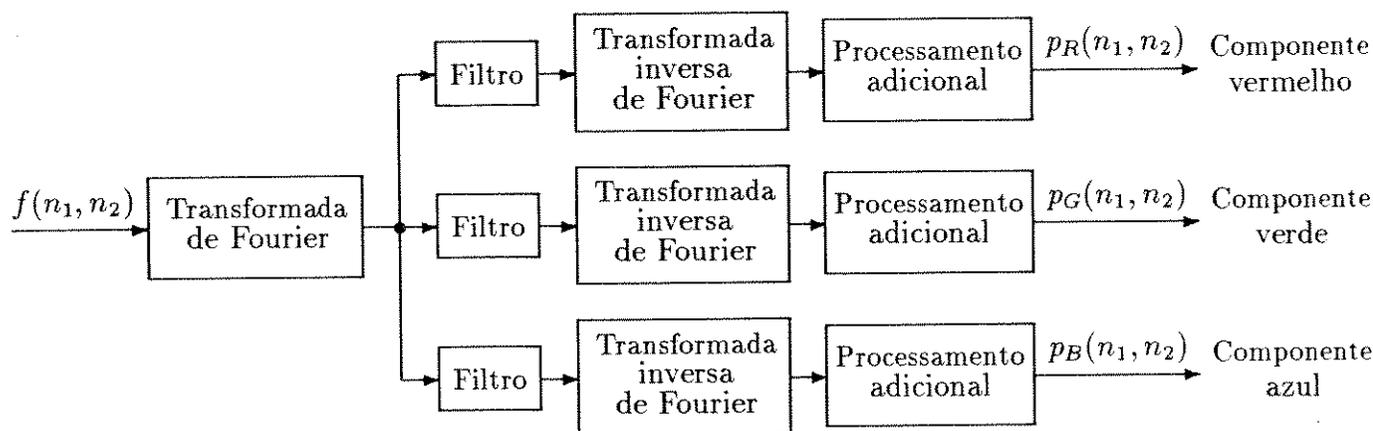


Figura II.6: Um modelo de filtragem para pseudo-cores

Neste processamento, a transformada de Fourier da imagem monocromática de entrada é modificada por três funções filtro independentes, gerando as três componentes RGB da imagem colorida. Em cada caminho de processamento, após a transformada inversa de Fourier, existe um *processamento adicional* que pode ser, por exemplo, uma equalização de histograma.

Um exemplo típico de escolha para as funções filtro, é usar filtros passa-baixas, passa-faixa e passa-altas, obtendo-se assim três faixas de frequência, de forma que o resultado do caminho do filtro passa-baixas é considerado como a componente azul, do passa-faixa a componente verde e do passa-altas a componente vermelha da imagem final.

### II.2.7 Métodos para estimação de movimento

Um filme de cinema ou uma irradiação de televisão, são na verdade uma seqüência de quadros fotográficos mostrados em rápida sucessão (24 e 30 quadros/s respectivamente). A taxa de exibição de quadros necessária para dar a sensação de movimento é suficientemente alta para permitir uma grande quantidade de redundância temporal entre quadros adjacentes. Uma boa parte das variações de intensidade existente entre quadros adjacentes é devida à movimentação de objetos. O processo que determina a movimentação de objetos dentro de uma seqüência de quadros de imagem, é chamado de *estimação de movimento*. O processamento de imagens que leva em conta a presença de movimento é chamado de *processamento de imagem com compensação de movimento*.

Este tipo de processamento com compensação de movimento tem muitas aplicações:

1. Na interpolação de imagens, a estimativa dos parâmetros de movimento permite a criação de um novo quadro de imagem, a partir de dois quadros existentes e adjacentes.
2. Na restauração de imagens, a estimativa dos parâmetros de movimento permite identificar regiões dentro de diferentes quadros, onde espera-se que as intensidades das imagens sejam as mesmas ou similares.
3. Na codificação de imagens, este processamento permite a predição do quadro corrente através dos quadros anteriores, limitando a codificação para a diferença de intensidades entre o quadro corrente e o quadro corrente predito e além disso pode-se descartar alguns quadros na codificação, para depois reconstruí-los através da interpolação dos quadros codificados.

A estimação do movimento translacional de objetos, considera  $f(x, y, t_{-1})$  e  $f(x, y, t_0)$  como representantes da intensidade da imagem nos instantes  $t_{-1}$  e  $t_0$ , respectivamente ( $t_{-1}$  corresponde ao instante passado e  $t_0$  ao instante corrente). Assumindo que

$$f(x, y, t_0) = f(x - d_x, y - d_y, t_{-1}) \quad (\text{II.37})$$

onde  $d_x$  e  $d_y$  correspondem aos deslocamentos horizontal e vertical entre os instantes  $t_{-1}$  e  $t_0$ . E se o movimento é uniforme entre estes instantes, então

$$f(x, y, t) = f(x - v_x(t - t_{-1}), y - v_y(t - t_{-1}), t_{-1}), \quad \text{para } t_{-1} \leq t \leq t_0 \quad (\text{II.38})$$

onde  $v_x$  e  $v_y$  são as velocidades uniformes horizontal e vertical.

A consequência direta da Eq. (II.38) é uma equação diferencial que relaciona  $v_x$  e  $v_y$  com  $\partial f(x, y, t)/\partial x$ ,  $\partial f(x, y, t)/\partial y$  e  $\partial f(x, y, t)/\partial t$ , sendo válida na região espaço-temporal sobre a qual assume-se o movimento translacional uniforme. A equação é

$$v_x \frac{\partial f(x, y, t)}{\partial x} + v_y \frac{\partial f(x, y, t)}{\partial y} + \frac{\partial f(x, y, t)}{\partial t} = 0. \quad (\text{II.39})$$

A hipótese de simples translação que leva à Eq. (II.38) e a hipótese adicional de velocidade uniforme que leva à Eq. (II.39), são altamente restritivas não permitindo rotações de objetos, zoom, múltiplos objetos se movendo com diferentes  $v_x$  e  $v_y$ , etc. Mas considerando-se o movimento translacional uniforme somente localmente e estimando os dois parâmetros de movimento ( $d_x, d_y$ ), ou ( $v_x, v_y$ ), para cada pixel ou para cada pequena sub-imagem, as Eqs. (II.38) e (II.39) são válidas

para as regiões de fundo que não são afetadas pelo movimento do objeto e para regiões ocupadas por objetos os quais de fato transladam com velocidade uniforme.

Os métodos de estimação de movimento podem ser classificados em dois grupos. *métodos de casamento de região* e *métodos com restrição espaço-temporal*. Maiores detalhes sobre estes métodos podem ser encontrados na Referência [17].

Os métodos de restrição espaço-temporal são computacionalmente mais simples do que os de casamento de região, no entanto ambos os métodos apresentam erros substanciais na estimação de movimento de algumas regiões, devido a falha da hipótese de movimento translacional uniforme, ou por causa da presença de ruídos.

### II.2.8 Interpolação de imagens

A interpolação de sinais tem por objetivo chegar a um sinal contínuo, por meio da reconstrução deste sinal através das suas amostras. A interpolação de imagens segue os mesmos objetivos da interpolação de sinais, logo é útil em muitas aplicações, tal como na mudança do tamanho de uma imagem digital para melhorar sua aparência no dispositivo de visualização. Por exemplo, uma imagem de 64 x 64 pixels aparece “quadriculada” no monitor, mas pode ser interpolada e re-amostrada para 256 x 256 pixels, de forma que a imagem resultante terá uma aparência mais suave e mais agradável. Uma seqüência de quadros de imagem também pode ser interpolada ao longo do tempo, por exemplo, um filme de 24 quadros/s pode ser convertido para 60 quadros/s através de interpolação temporal.

#### Interpolação espacial

A imagem digital  $f(n_1, n_2)$  é obtida através da amostragem e digitalização da imagem real contínua  $f_a(x, y)$ , ou seja,

$$f(n_1, n_2) = f_a(x, y)|_{x=n_1T_1, y=n_2T_2}. \quad (\text{II.40})$$

Se  $f_a(x, y)$  é obtido através de um filtro *anti-aliasing*, [17], e as frequências de amostragem  $1/T_1$  e  $1/T_2$  são maiores do que a *taxa de Nyquist*, [17], então, teoricamente, pode-se recuperar  $f_a(x, y)$  através das expressões

$$f_a(x, y) = \sum_{n_1=-\infty}^{\infty} \sum_{n_2=-\infty}^{\infty} f(n_1, n_2)h(x - n_1T_1, y - n_2T_2) \quad (\text{II.41})$$

onde  $h(x, y)$  é um filtro passa-baixas analógico ideal separável dado por

$$h(x, y) = \frac{\sin \frac{\pi x}{T_1} \sin \frac{\pi y}{T_2}}{\frac{\pi x}{T_1} \frac{\pi y}{T_2}}. \quad (\text{II.42})$$

As Eqs. (II.41) e (II.42) representam a interpolação espacial. Na prática, entretanto, não se consegue recuperar  $f_a(x, y)$  através destas equações, pois  $h(x, y)$  tem resposta impulsiva infinita e  $f_a(x, y)$  não é limitada em banda, apesar do uso do filtro anti-aliasing, levando à ocorrência de aliasing na amostragem de  $f_a(x, y)$ .

Conseqüentemente, a interpolação espacial é implementada através de aproximações para as Eqs. (II.41) e (II.42). A seguir descrevem-se algumas destas aproximações:

**De ordem-zero** Para uma função  $h(x, y)$  limitada espacialmente a somatória da Eq. (II.41) terá um número finito de termos. Assim, na interpolação espacial com segurador de ordem-zero,  $h(x, y)$  é definido como uma função janela retangular dada por

$$h(x, y) = 1, \quad \text{para } -\frac{T_1}{2} \leq x \leq \frac{T_1}{2}, \text{ e } -\frac{T_2}{2} \leq y \leq \frac{T_2}{2}. \quad (\text{II.43})$$

Nesta interpolação a imagem aproximada de  $f_a(x, y)$ , chamada de  $f'_a(x, y)$ , toma o valor de cada ponto  $(x, y)$  como sendo o valor do pixel de  $f(n_1, n_2)$  mais próximo de  $(x, y)$ . Existem outros exemplos de  $h(x, y)$  com formato mais suave e que são usados mais comumente, como as funções gaussianas limitadas espacialmente, ou os filtros passa-baixas ideais janelados.

**Bilinear** É um método largamente usado na prática. Consiste em aproximar  $f_a(x, y)$  por uma combinação linear dos quatro pixels de  $f(n_1, n_2)$  mais próximos de  $(x, y)$ . A Fig. II.7 mostra uma situação onde se deseja calcular  $f(x, y)$  para  $n_1 T_1 \leq x \leq (n_1 + 1)T_1$  e  $n_2 T_2 \leq y \leq (n_2 + 1)T_2$ . A imagem interpolada é dada por

$$f'_a(x, y) = (1 - \Delta_x)(1 - \Delta_y)f(n_1, n_2) + (1 - \Delta_x)\Delta_y f(n_1, n_2 + 1) + \quad (\text{II.44})$$

$$+ \Delta_x(1 - \Delta_y)f(n_1 + 1, n_2) + \Delta_x \Delta_y f(n_1 + 1, n_2 + 1). \quad (\text{II.45})$$

**Polinomial** Neste caso a aproximação da interpolação espacial é realizada por um polinômio, sobre uma vizinhança de  $M \times N$  pixels de  $f(n_1, n_2)$  centrada sobre  $(x, y)$ . Assim,

$$f'_a(x, y) = \sum_{i=1}^{MN} S_i \phi_i(x, y), \quad (\text{II.46})$$

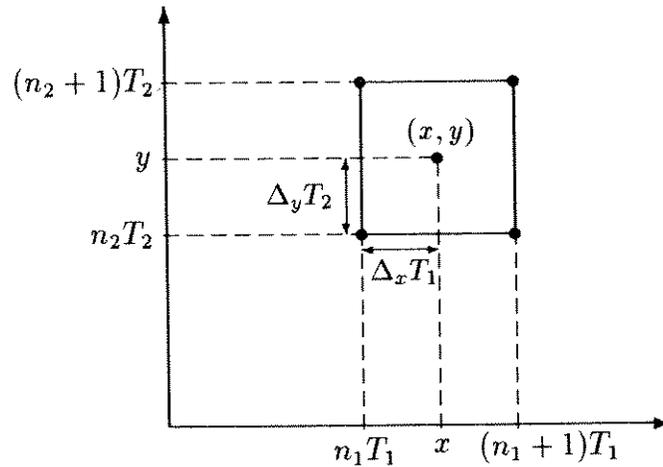


Figura II.7: Interpolação bilinear

onde  $\phi_i(x, y)$  é o  $i$ -ésimo termo do polinômio; e os coeficientes  $S_i$  podem ser calculados pela minimização da expressão do erro,

$$\text{Erro} = \sum_{(n_1, n_2) \in \psi} \sum \left[ f(x, y) - \sum_{i=1}^{MN} S_i \phi_i(x, y) \right]^2 \Bigg|_{x=n_1 T_1, y=n_2 T_2} \quad (\text{II.47})$$

onde  $\psi$  representa o conjunto dos pixels da vizinhança sobre a qual  $f(x, y)$  é aproximada. A interpolação polinomial gera imagens  $f'_a(x, y)$  mais suaves; as derivadas parciais de  $f'_a(x, y)$  são calculadas com simplicidade, facilitando seu uso em aplicações como detecção de bordas e estimação de movimento; se o polinômio utilizado contiver menos termos do que o número de pixels da vizinhança  $\psi$ , então alguma suavização de ruído pode ser realizada.

**Com estimação de movimento** A interpolação espacial com estimação de movimento agrega mais informação no processo de interpolação, as informações do movimento melhoram o desempenho do processamento. É útil em muitas aplicações tais como: melhorar a resolução vertical de quadros congelados e televisão com 60 quadros/s sem aumento da largura de faixa.

Muitos elementos do mundo visual como as linhas e os contornos são espacialmente contínuos, podendo tal informação ser explorada na criação de um quadro a partir de um campo. Se  $f(x, y_{-1})$  e  $f(x, y_0)$ , representam as intensidades de duas linhas adjacentes de varredura horizontal de um campo, deseja-se gerar uma nova linha entre estas para compor o segundo campo. Um modelo que leva em conta a continuidade espacial de contornos e linhas é dado por

$$f(x, y) = f(x - d_x, y_{-1}) \quad (\text{II.48})$$

onde  $d_x$  é um deslocamento horizontal entre as linhas  $y_{-1}$  e  $y_0$ .

### Interpolação temporal

A interpolação temporal é usada para criar novos quadros de imagens a partir de quadros já existentes. É muito usada para modificar a taxa de quadros de filmes de cinema ou de programas de TV. Geralmente produz vídeo com qualidade comparável ao original.

Diferentemente da interpolação espacial, a interpolação temporal requer uma grande quantidade de dados armazenados, já que a criação do novo quadro de imagem está baseada em dois outros quadros adjacentes temporalmente, um no passado e o outro no futuro. Alguns métodos de interpolação temporal são descritos a seguir.

**De ordem-zero** A interpolação temporal com segurador de ordem-zero é o método mais simples usado na prática. A geração do novo quadro de imagem é implementada pela repetição do quadro existente mais próximo temporalmente. No entanto se existem grandes movimentos globais na seqüência de quadros, este método pode causar o aparecimento de movimentos “aos trancos”.

**Compensada em movimento** A interpolação temporal compensada em movimento, utiliza um dos algoritmos de estimação de movimento vistos na Seção II.2.7. Como ilustração, assume-se o modelo de movimento translacional uniforme dentro de uma região espaço-temporal local. Através do quadro de imagem passado, chamado de  $f(n_1, n_2, t_{-1})$ , e do quadro atual, chamado de  $f(n_1, n_2, t_0)$ , calcula-se as velocidades para o instante  $t$  onde se quer gerar uma imagem interpolada, chamada de  $f(n_1, n_2, t)$ , ( $t_{-1} < t < t_0$ ).

De posse das velocidades de cada pixel do quadro  $f(n_1, n_2, t)$  e sabendo qual dos quadros  $f(n_1, n_2, t_{-1})$  ou  $f(n_1, n_2, t_0)$  está mais próximo do quadro que se deseja interpolar, então os pixels do quadro  $f(n_1, n_2, t)$  são projetados sobre o quadro mais próximo de acordo com as velocidades calculadas. Estas projeções indicam as posições espaciais do quadro mais próximo, que no instante  $t$  correspondem às posições de amostragem na imagem interpolada. Como as velocidades calculadas variam de acordo com a região considerada, têm-se que as projeções, geralmente, não caem sobre os pontos de amostragem da imagem, logo é necessária a realização de uma interpolação espacial sobre a imagem que recebeu as projeções, para se

calcular os valores dos pixels da imagem interpolada temporalmente com compensação de movimento.

Se a velocidade calculada para algum pixel for zero, têm-se que o valor do pixel da imagem interpolada será idêntico ao da mesma posição da imagem mais próxima.

## II.3 Restauração de imagens

Na restauração de imagens as técnicas tentam restaurar, reconstruir, ou recuperar as propriedades de uma imagem que tenham sido degradadas por algum fenômeno, através do conhecimento a priori do fenômeno de degradação. Assim as técnicas de restauração são orientadas na direção de modelar a degradação e aplicar o processo inverso na imagem original, de forma a obter uma imagem resultante que seria a melhor estimativa da imagem original sem a degradação. Isto usualmente envolve a formulação de critérios de qualidade definidos matematicamente – geralmente baseados em modelos do sinal – que são usados para produzir a melhor estimativa da imagem original sem a degradação. Portanto, os algoritmos de restauração são tipicamente mais matemáticos e complexos do que os algoritmos de enriquecimento, sendo projetados para explorar as características do sinal e da degradação.

Se toda degradação da imagem ocorre antes do sistema de restauração de imagem, então pode-se considerar o problema de restauração inteiramente no domínio do espaço discreto. A Fig. II.8 apresenta o modelo do sistema de restauração considerado nesta seção, onde  $f(n_1, n_2)$  é a imagem digital original ideal,  $g(n_1, n_2)$  é a imagem digital degradada e  $p(n_1, n_2)$  é a imagem digital processada ou restaurada. Obviamente o objetivo da restauração de imagens é obter uma imagem processada  $p(n_1, n_2)$  o mais parecida possível com a imagem original  $f(n_1, n_2)$ .

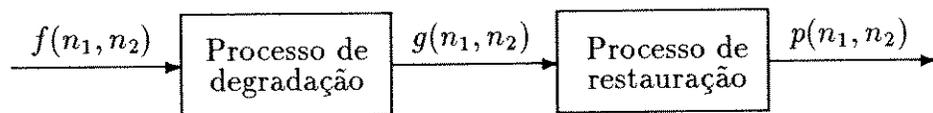


Figura II.8: Modelo do sistema de restauração de imagens

O desenvolvimento de um sistema de restauração está intimamente relacionado ao tipo de degradação envolvida. Assim, algoritmos que procuram reduzir ruído aleatório aditivo, são diferentes daqueles que procuram reduzir embaçamento. Portanto o conhecimento acurado da degradação é essencial para o desenvolvimento de bons algoritmos de restauração.

A Seção II.3.1 discute como obter informações sobre o tipo de degradação da imagem. As seções seguintes tentam organizar os diversos métodos de restauração de imagens em categorias

semelhantes, introduzindo-os de forma resumida. Maiores detalhes podem ser encontrados nas Referências [17], [18] e [19].

### II.3.1 Métodos para estimação da degradação

Saber obter informações sobre a degradação que atua em uma dada imagem é muito importante em restauração de imagem, como foi visto na seção anterior. Existem dois métodos para obter informações sobre a degradação. O primeiro obtém informações através da própria imagem degradada. E o segundo, através do estudo do mecanismo que causa a degradação.

#### Estimação pela imagem degradada

Em imagens onde é possível identificar regiões com intensidade aproximadamente uniforme, é possível estimar a função densidade espectral de potência, ou a função densidade de probabilidade do ruído de fundo aleatório, através das flutuações de intensidade destas regiões uniformes.

Se a imagem está embaçada e é possível identificar na imagem degradada uma região onde o sinal original não-degradado é conhecido, então é possível estimar a função embaçante  $b(n_1, n_2)$  através da expressão

$$g(n_1, n_2) = f(n_1, n_2) * b(n_1, n_2) \quad (\text{II.49})$$

onde assume-se que  $g(n_1, n_2)$  e  $f(n_1, n_2)$  correspondem à imagem degradada e a imagem original, respectivamente, sendo que  $g(n_1, n_2)$  é conhecida e  $f(n_1, n_2)$  pode ser estimado com relativa segurança de  $g(n_1, n_2)$ .

#### Estimação pelo mecanismo que causa a degradação

Um exemplo de mecanismo que causa degradação é o movimento translacional do sistema que gera a imagem no momento da exposição. Neste caso a imagem gerada fica embaçada. Se não há outra degradação, a imagem degradada  $g(x, y)$  pode ser expressa no domínio contínuo por

$$g(x, y) = \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} f(x - x_0(t), y - y_0(t)) dt \quad (\text{II.50})$$

onde  $x_0(t)$  e  $y_0(t)$  representam as translações horizontal e vertical de  $f(x, y)$  no instante  $t$ , em relação ao sistema que gera a imagem; e  $T$  é a duração da exposição. Considerando o modelo de

degradação dado por

$$g(x, y) = f(x, y) * b(x, y) \quad (\text{II.51})$$

e a transformada de Fourier  $G(\Omega_x, \Omega_y)$  de  $g(x, y)$  que é dada por

$$G(\Omega_x, \Omega_y) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} g(x, y) e^{-j\Omega_x x} e^{-j\Omega_y y} dx dy \quad (\text{II.52})$$

$$= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \left[ \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} f(x - x_0(t), y - y_0(t)) dt \right] e^{-j\Omega_x x} e^{-j\Omega_y y} dx dy, \quad (\text{II.53})$$

obtem-se:

$$G(\Omega_x, \Omega_y) = F(\Omega_x, \Omega_y) B(\Omega_x, \Omega_y) \quad (\text{II.54})$$

onde

$$B(\Omega_x, \Omega_y) = \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} e^{-j\Omega_x x_0(t)} e^{-j\Omega_y y_0(t)} dt. \quad (\text{II.55})$$

A imagem discreta  $g(n_1, n_2)$  pode ser aproximadamente modelada por

$$g(n_1, n_2) = f(n_1, n_2) * b(n_1, n_2) \quad (\text{II.56})$$

onde  $B(\omega_1, \omega_2)$ , a transformada discreta de Fourier de  $b(n_1, n_2)$ , é a versão “aliased” de  $B(\Omega_x, \Omega_y)$  da Eq. (II.55).

### II.3.2 Métodos para redução de ruído aleatório aditivo

O modelo de uma imagem degradada por ruído aleatório aditivo é dado por

$$g(n_1, n_2) = f(n_1, n_2) + v(n_1, n_2) \quad (\text{II.57})$$

onde  $v(n_1, n_2)$  representa o ruído aleatório aditivo independente do sinal.

#### Filtragem de Wiener

Se  $f(n_1, n_2)$  e  $v(n_1, n_2)$  são amostras de processos aleatórios estacionários de média zero que são linearmente independentes entre si e se as suas densidades espectrais de potência  $P_f(\omega_1, \omega_2)$  e  $P_v(\omega_1, \omega_2)$  são conhecidas, ou podem ser estimadas, então a estimativa ótima de

$f(n_1, n_2)$  no sentido do mínimo erro quadrático médio, é obtida na filtragem de  $g(n_1, n_2)$  com um filtro de Wiener cuja resposta impulsiva  $H(\omega_1, \omega_2)$  é dada por

$$H(\omega_1, \omega_2) = \frac{P_f(\omega_1, \omega_2)}{P_f(\omega_1, \omega_2) + P_v(\omega_1, \omega_2)}. \quad (\text{II.58})$$

Em aplicações típicas, é relativamente fácil estimar a densidade espectral de potência do ruído, [17, pág. 359]. Já a densidade espectral de potência do sinal não é tão fácil de ser estimada.

O filtro de Wiener é tipicamente um filtro passa-baixas neste caso, desde que a energia da maioria das imagens está concentrada nas componentes de baixa frequência e a energia do ruído aleatório de fundo é geralmente de faixa larga.

### Variações da filtragem de Wiener

O erro quadrático médio minimizado para obter o filtro de Wiener não é o critério usado pelo observador humano no julgamento de quão próximo da imagem original está a imagem processada. Desde que não existe um critério objetivo consistente com o julgamento humano, muitas variações baseadas no filtro de Wiener foram propostas. Em seguida comentam-se algumas delas.

**Filtragem do espectro de potência** Neste método, o filtro usado tem a resposta em frequência  $H(\omega_1, \omega_2)$  dada por

$$H(\omega_1, \omega_2) = \left( \frac{P_f(\omega_1, \omega_2)}{P_f(\omega_1, \omega_2) + P_v(\omega_1, \omega_2)} \right)^{1/2}. \quad (\text{II.59})$$

Se  $f(n_1, n_2)$  e  $v(n_1, n_2)$  são amostras de processos aleatórios estacionários linearmente independentes, a densidade espectral de potência da imagem processada  $P_p(\omega_1, \omega_2)$  será dada por

$$P_p(\omega_1, \omega_2) = |H(\omega_1, \omega_2)|^2 P_g(\omega_1, \omega_2) = P_f(\omega_1, \omega_2) \quad (\text{II.60})$$

ou seja, a imagem processada tem a mesma densidade espectral de potência da imagem original.

**Generalização do filtro de Wiener** Muitas variações do filtro de Wiener podem ser expressas pela seguinte relação

$$H(\omega_1, \omega_2) = \left( \frac{P_f(\omega_1, \omega_2)}{P_f(\omega_1, \omega_2) + \alpha P_v(\omega_1, \omega_2)} \right)^\beta \quad (\text{II.61})$$

onde  $\alpha$  e  $\beta$  são constantes. Para  $\alpha = 1$  e  $\beta = 1$  tem-se o filtro de Wiener; e para  $\alpha = 1$  e  $\beta = 1/2$  a filtragem do espectro de potência visto no item anterior.

Todos os filtros derivados da Eq. (II.61) são filtros de fase-zero que tendem a manter alta a relação sinal-ruído. Assume-se que as densidades espectrais de potência  $P_f(\omega_1, \omega_2)$  e  $P_v(\omega_1, \omega_2)$  são conhecidas e que estes filtros são implementados através de transformadas rápidas de Fourier.

Além disso, devido à hipótese de que as características do sinal e do ruído não mudam de uma região para outra da imagem, os filtros desenvolvidos são invariantes com o espaço, tipicamente passa-baixas, reduzem o ruído, mas embaçam significativamente a imagem. Uma das causas deste embaçamento é a falha da hipótese acima, pois, em imagens típicas, as características das imagens diferem consideravelmente de uma região para outra. Assim o uso de um filtro fixo através da imagem toda não é a melhor solução. Melhores resultados, com significativa redução do embaçamento, são obtidos com métodos adaptativos de processamento.

### Processamento adaptativo da imagem

Como as características do sinal e da degradação variam consideravelmente de uma região para outra da imagem, é natural processar a imagem levando em conta estas variações. Nesta seção os métodos descritos se adaptam durante o processamento da imagem, de acordo com as variações das características do sinal e da degradação da região da imagem que está sendo processada. Desta forma podem ser classificados como *métodos de restauração variantes com o espaço*.

Embora os métodos de restauração invariantes com o espaço sejam os mais difundidos, os métodos variantes com o espaço estão se tornando gradualmente muito populares, devido à melhor compreensão das questões teóricas sobre o comportamento destes sistemas, e também por causa do aumento da capacidade de processamento dos sistemas de computação disponíveis, já que a implementação de sistemas variantes com o espaço é mais custosa do ponto de vista computacional. Algumas razões para o uso de métodos de restauração variantes com o espaço são listadas abaixo:

1. Muitos sistemas que geram imagens têm características variantes com o espaço, o que causa degradações no sinal da imagem gerada. Estas degradações podem ser compensadas, pelo menos parcialmente, através de uma apropriada filtragem inversa variante com o espaço.
2. Certos sistemas de geração de imagens, como sistemas de tomografia, produzem imagens numa forma codificada variante com o espaço. Conseqüentemente, é necessário aplicar uma

decodificação (filtragem) variante com o espaço, antes das imagens poderem ser examinadas visualmente.

3. As propriedades estocásticas dos sinais das imagens são variantes com o espaço, logo a estimação do sinal usada para a restauração de sinais de imagens distorcidas, deve ser adaptada para as propriedades dos sinais variantes com o espaço.
4. Sinais de imagens freqüentemente têm ruído dependente do sinal superposto e assim têm-se uma relação sinal-ruído variando localmente. Isto tem de ser levado em conta na restauração ótima.

Os casos (1) e (2) levam à realização de filtros lineares dependentes das coordenadas espaciais, ou seja, as suas características de transferência variam em função das coordenadas espaciais. Já os casos (3) e (4) requerem filtros cujas características de transferência são dependentes do sinal da imagem a ser filtrada. Em seguida descrevem-se alguns métodos de processamento adaptativo.

**Processamento pixel a pixel** Neste caso o método de processamento é adaptado para cada pixel da imagem, de acordo com as características locais do sinal, da degradação e de qualquer outra informação relevante sobre a vizinhança do pixel que está sendo processado. Como cada pixel é processado diferentemente, este método é altamente adaptativo e não apresenta descontinuidades de intensidade artificiais na imagem processada. No entanto o método pode ser computacionalmente pesado e é tipicamente implementado no domínio espacial.

**Processamento bloco a bloco** Neste método, também chamado de *processamento sub-imagem a sub-imagem*, a imagem é dividida em muitas sub-imagens que são processadas separadamente. Para terminar as sub-imagens processadas são combinadas para formar a imagem processada. O tamanho típico da sub-imagem se situa entre 8 x 8 e 32 x 32 pixels. Cada sub-imagem é processada por um operador invariante com o espaço determinado através das características locais do sinal, da degradação, e de qualquer outra informação relevante da sub-imagem.

Como o processamento aplicado nas sub-imagens é invariante com o espaço, existe, geralmente, mais flexibilidade na sua implementação. Por exemplo, se o operador for um filtro passa-baixas, sua implementação pode ser realizada tanto no domínio espacial como no domínio da freqüência. Além disso, este processamento não é tão pesado computacionalmente como o processamento pixel a pixel. No entanto devido ao tipo de processamento

realizado, podem ocorrer mudanças abruptas de intensidade quando se passa de uma sub-imagem para a sub-imagem adjacente. Estas descontinuidades de intensidade artificial aparecem nas fronteiras de sub-imagens adjacentes na imagem processada, isto é chamado de *efeito de bloco*.

**Filtragem de Wiener adaptativa** Como foi visto no item sobre a filtragem de Wiener, é necessário conhecer ou estimar os valores médios do sinal e do ruído, e as densidades espectrais de potência do sinal e do ruído para a imagem toda, com este conhecimento é possível definir um filtro de Wiener fixo para toda a imagem.

A filtragem de Wiener adaptativa estima os valores médios do sinal e do ruído, e as densidades espectrais de potência do sinal e do ruído localmente. Desta forma pode-se definir um filtro de Wiener que varia com o espaço. Este método apresenta muitas variações, que dependem de como os parâmetros são estimados localmente e de como o filtro de Wiener resultante variante com o espaço é implementado.

Na prática, existem muitos outros métodos não descritos aqui e também existem variações dos métodos que foram descritos. Com relação ao efeito de bloco do processamento sub-imagem a sub-imagem, existem métodos específicos de processamentos para reduzir este efeito das regiões de fronteira das sub-imagens.

A determinação de qual tipo de processamento usar depende de numerosos fatores, tais como: qual o tipo de conhecimento disponível sobre a imagem e como este conhecimento pode ser explorado na estimativa dos parâmetros de um método de processamento. Em geral, quanto maior e melhor for o conhecimento empregado em um dado processamento, melhor será o desempenho do método. Entretanto, se a informação disponível é imprecisa, o desempenho do sistema pode ser degradado. Por razões de ordem computacional, as fórmulas de adaptação mais complexas e sofisticadas estão, geralmente, associadas com processamento de sub-imagem em sub-imagem, enquanto que fórmulas mais simples estão associadas a processamentos de pixel em pixel.

### II.3.3 Métodos para redução do embaçamento de imagens

A imagem degradada por embaçamento pode ser modelada como

$$g(n_1, n_2) = f(n_1, n_2) * b(n_1, n_2). \quad (\text{II.62})$$

A imagem degradada  $g(n_1, n_2)$  é o resultado da convolução da imagem original com uma resposta impulsiva  $b(n_1, n_2)$ , a qual é chamada de *função de espalhamento de ponto* ou *função*

embaçante.

O problema de reduzir o embaçamento de imagens pode ser classificado em duas categorias. Na primeira assume-se que  $b(n_1, n_2)$  é conhecido e o problema se reduz a um problema de desconvolução. Na segunda assume-se que  $b(n_1, n_2)$  não é conhecido e deve ser estimado da informação disponível, assim têm-se um problema de desconvolução “cega”.

### Filtragem inversa

A filtragem inversa é um método usado para desembaçar uma imagem quando a função embaçante  $b(n_1, n_2)$  é conhecida, assim da Eq. (II.62) obtém-se

$$F(\omega_1, \omega_2) = \frac{G(\omega_1, \omega_2)}{B(\omega_1, \omega_2)}, \quad (\text{II.63})$$

e conseqüentemente a função de transferência do filtro inverso  $H(\omega_1, \omega_2)$  é dada por

$$H(\omega_1, \omega_2) = \frac{F(\omega_1, \omega_2)}{G(\omega_1, \omega_2)} = \frac{1}{B(\omega_1, \omega_2)}. \quad (\text{II.64})$$

O filtro inverso da Eq. (II.64) é muito sensível ao ruído, pois pequenos valores de  $B(\omega_1, \omega_2)$  levam  $1/B(\omega_1, \omega_2)$  a assumir valores muito altos; logo, o ruído existente nestas regiões, onde  $1/B(\omega_1, \omega_2)$  é grande, será enfatizado.

Uma forma de reduzir o problema de sensibilidade ao ruído da filtragem inversa, é limitar  $1/B(\omega_1, \omega_2)$  por um limiar  $\gamma$  como segue:

$$H(\omega_1, \omega_2) = \begin{cases} \frac{1}{B(\omega_1, \omega_2)} & \text{se } \frac{1}{|B(\omega_1, \omega_2)|} < \gamma \\ \gamma \frac{|B(\omega_1, \omega_2)|}{B(\omega_1, \omega_2)} & \text{se } \frac{1}{|B(\omega_1, \omega_2)|} \geq \gamma. \end{cases} \quad (\text{II.65})$$

### Algoritmos para desconvolução cega

Se a função embaçante  $b(n_1, n_2)$  não é conhecida precisamente, então deve-se estimá-la antes da filtragem inversa. O nome *desconvolução cega* vem do fato de tentar-se desconvoluir  $g(n_1, n_2)$  conhecendo-se apenas algumas informações estatísticas de  $b(n_1, n_2)$ .

O problema da desconvolução cega só tem solução quando se tem alguma informação sobre  $f(n_1, n_2)$ ,  $b(n_1, n_2)$ , ou ambos. Assim os algoritmos da desconvolução cega variam de acordo com o que se assume saber e de acordo com a maneira que este conhecimento é usado.

Um exemplo de desconvolução cega é a remoção de embaçamento causado por movimento linear uniforme, onde a informação sobre a degradação é obtida através do estudo do mecanismo que causa a degradação. O exemplo da Seção II.3.1 exhibe as expressões que modelam

uma estimativa deste tipo de degradação. A Eq. (II.55) reproduzida abaixo representa a versão contínua da função embaçante, a qual é usada para reduzir o embaçamento da imagem através de um processo de filtragem inversa.

$$B(\Omega_x, \Omega_y) = \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} e^{-j\Omega_x x_0(t)} e^{-j\Omega_y y_0(t)} dt. \quad (\text{II.66})$$

### II.3.4 Métodos para redução de ruído dependente do sinal

Qualquer imagem degradada por um ruído dependente do sinal pode ser representada pela expressão

$$g(n_1, n_2) = f(n_1, n_2) + d(n_1, n_2) \quad (\text{II.67})$$

onde

$$d(n_1, n_2) = g(n_1, n_2) - f(n_1, n_2). \quad (\text{II.68})$$

Como  $d(n_1, n_2)$  é função de  $f(n_1, n_2)$ , então  $d(n_1, n_2)$  é chamado de ruído aditivo dependente do sinal. Um método para reduzir o ruído dependente do sinal, consiste em aplicar uma transformação em  $g(n_1, n_2)$  para levá-la a um domínio onde o ruído se torne um ruído aditivo independente do sinal e então reduzir o ruído independente do sinal. Outro método consiste em reduzi-lo diretamente no domínio do sinal.

#### Redução de ruído dependente do sinal através de transformação para ruído aditivo independente do sinal

Para uma imagem contaminada com ruído dependente do sinal que é modelada pela Eq. (II.67), suponha-se que possa ser determinado um operador  $T$ , tal que, quando aplicado na Eq. (II.67) produz

$$T[g(n_1, n_2)] = T[f(n_1, n_2) + d(n_1, n_2)] = T_1[f(n_1, n_2)] + v(n_1, n_2) \quad (\text{II.69})$$

onde  $T_1$  é um operador que pode ser diferente de  $T$  e  $v(n_1, n_2)$  é um ruído aditivo independente do sinal. Para restaurar  $f(n_1, n_2)$  de  $g(n_1, n_2)$  primeiro aplica-se a transformação  $T$  sobre  $g(n_1, n_2)$  como mostra a Eq. (II.69), em seguida estima-se  $T_1[f(n_1, n_2)]$  através da redução do ruído aditivo independente do sinal  $v(n_1, n_2)$  por algum dos métodos já estudados e então estima-se  $f(n_1, n_2)$  do estimado  $T_1[f(n_1, n_2)]$  aplicando-se a transformação inversa. Este método explora o fato de

que é mais fácil reduzir o ruído aditivo independente do sinal, do que reduzir o ruído dependente do sinal.

### Redução de ruído dependente do sinal no domínio do sinal

Quando não é possível determinar um operador  $T$ , tal que a sua aplicação sobre  $g(n_1, n_2)$  produz a transformação do ruído dependente do sinal em ruído aditivo independente do sinal, é necessário empregar um método alternativo para a redução do ruído dependente do sinal. Este método trabalha no domínio do sinal, minimizando o seguinte critério de erro

$$\text{Erro} = E[(f(n_1, n_2) - \hat{f}(n_1, n_2))^2] \quad (\text{II.70})$$

onde  $\hat{f}(n_1, n_2)$  é a estimativa de  $f(n_1, n_2)$ . Uma solução ótima para minimizar o critério de erro acima, ver Ref. [17, pág. 565], utiliza a esperança condicional de  $f(n_1, n_2)$  dado  $g(n_1, n_2)$  representada por

$$\hat{f}(n_1, n_2) = E[f(n_1, n_2)|g(n_1, n_2)]. \quad (\text{II.71})$$

O cálculo de  $\hat{f}(n_1, n_2)$  é tipicamente muito difícil, mas pode ser simplificado assumindo-se que o estimador é linear:

$$\hat{f}(n_1, n_2) = \sum_{k_1} \sum_{k_2} g(k_1, k_2)h(n_1, n_2; k_1, k_2) + c(n_1, n_2) \quad (\text{II.72})$$

onde  $h(n_1, n_2; k_1, k_2)$  e  $c(n_1, n_2)$  são escolhidos para minimizar o critério de erro da Eq. (II.70). A solução deste problema de otimização linear é muito custosa computacionalmente e requer ainda estatísticas de primeira e segunda ordem como a função de covariância cruzada entre o sinal  $f(n_1, n_2)$  e o ruído dependente do sinal  $d(n_1, n_2)$ , o qual pode ser muito difícil de estimar na prática.

### II.3.5 Métodos baseados em filtragem temporal

Nas aplicações que envolvem filmes sempre se tem disponível uma seqüência de imagens correlacionadas na dimensão temporal e esta característica pode ser explorada através da filtragem temporal. A maior vantagem da filtragem temporal sobre os métodos de restauração descritos anteriormente, que são algoritmos de filtragem espacial, está na sua capacidade potencial de reduzir a degradação sem distorcer o sinal. Em seguida discutem-se alguns métodos de filtragem temporal.

### Quadro médio

Este método de filtragem temporal é um dos mais simples, sendo muito eficaz para processar seqüências de quadros de imagens onde a imagem não muda de quadro para quadro, mas a degradação muda.

Dentre as inúmeras variações deste método, a mais simples e mais comum estima uma imagem  $f(n_1, n_2)$  de uma seqüência de  $N$  quadros de imagens degradadas  $g_i(n_1, n_2)$ , para  $1 \leq i \leq N$ , da seguinte forma:

$$\hat{f}(n_1, n_2) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N g_i(n_1, n_2). \quad (\text{II.73})$$

Um outro exemplo de estimador que pode ser utilizado é

$$\hat{f}(n_1, n_2) = \left( \prod_{i=1}^N g_i(n_1, n_2) \right)^{1/N}. \quad (\text{II.74})$$

O tipo específico de média temporal que é melhor numa dada aplicação depende de vários fatores, como o critério de erro usado e as hipóteses assumidas a respeito da degradação da imagem. Assim, por exemplo, se a seqüência de imagens degradadas  $g_i(n_1, n_2)$  é dada por

$$g_i(n_1, n_2) = f(n_1, n_2) + v_i(n_1, n_2), \quad 1 \leq i \leq N \quad (\text{II.75})$$

onde  $v_i(n_1, n_2)$  é um ruído gaussiano branco estacionário de média zero e variância  $\sigma_v^2$ ,  $v_i(n_1, n_2)$  é independente de  $v_j(n_1, n_2)$  para  $i \neq j$  e se  $f(n_1, n_2)$  não é aleatório, então o estimador de máxima verossimilhança de  $f(n_1, n_2)$  que maximiza  $p_{g_i(n_1, n_2)|f(n_1, n_2)}$  é dado por

$$\hat{f}(n_1, n_2) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N g_i(n_1, n_2). \quad (\text{II.76})$$

Das Eqs. (II.75) e (II.76),

$$\hat{f}(n_1, n_2) = f(n_1, n_2) + \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N v_i(n_1, n_2). \quad (\text{II.77})$$

A Eq. (II.77) mostra que a imagem processada continua com uma degradação do tipo ruído gaussiano branco estacionário de média zero, mas agora com variância de  $\sigma_v^2/N$ , ou seja, houve uma redução na variância do ruído por um fator  $N$ . Neste caso a imagem processada não sofre nenhum embaçamento por causa da redução do ruído.

O método de estimação de máxima verossimilhança é muito mais simples do que o método de estimação do mínimo erro quadrático médio. No método de estimação de máxima

verossimilhança assume-se que nenhum conhecimento prévio dos parâmetros (ou sinal) estimado está disponível, assim uma solução útil é obtida quando o número de parâmetros estimados é menor do que o número de observações. Já o método de estimação pelo mínimo erro quadrático médio, combina algum conhecimento prévio dos parâmetros a serem estimados com as observações. Se o conhecimento prévio disponível é exato e significativo, um procedimento de estimação útil pode ser desenvolvido mesmo quando o número de parâmetros estimados é comparável ao número de observações. Esta é uma das razões de se ter contado com o critério do mínimo erro quadrático médio, melhor do que o critério de máxima verossimilhança no desenvolvimento de algoritmos de filtragem espacial das seções anteriores.

### Com compensação de movimento

Embora o método do quadro médio seja tipicamente muito simples e efetivo, é essencial para seu sucesso um registro preciso dos quadros de imagens. No entanto, nas seqüências de quadros de filmes e de televisão, a imagem pode mudar de um quadro para o próximo devido ao movimento de objetos, movimentos da própria câmara e outros. Assim para aplicar alguma forma de quadro médio para tais quadros de imagem, é necessário estimar o movimento da imagem de um quadro para o próximo. A restauração de imagem com compensação de movimento estima primeiro os parâmetros de movimento, e em seguida os quadros de imagem são filtrados ao longo das trajetórias de movimento estimadas.

O tipo de filtragem realizada ao longo das trajetórias de movimento, depende do tipo da degradação. Para redução de ruído aleatório aditivo, as intensidades da imagem nos diferentes quadros ao longo das trajetórias do movimento são submetidas a uma filtragem passa-baixas. Desde que uma filtragem temporal envolve armazenagem de quadros de imagem, somente filtros de ordem baixa são geralmente usados. Um exemplo de filtro FIR de três pontos aplicado ao longo das trajetórias do movimento é ilustrado na Fig. II.9.

O quadro do meio  $g(n_1, n_2, t_0)$  é o quadro corrente em processamento. A imagem processada  $\hat{f}(n_1, n_2, t_0)$  é obtida através dos quadros: corrente  $g(n_1, n_2, t_0)$ , passado  $g(n_1, n_2, t_{-1})$ , e o próximo quadro  $g(n_1, n_2, t_1)$ . Para cada pixel do quadro corrente são calculadas duas velocidades ou deslocamentos, um de  $g(n_1, n_2, t_{-1})$  para  $g(n_1, n_2, t_0)$  e o outro de  $g(n_1, n_2, t_0)$  para  $g(n_1, n_2, t_1)$ . Os dois deslocamentos são usados na identificação das posições espaciais correspondentes aos tempos  $t_{-1}$  e  $t_1$  como mostrado na Fig. II.9. As três intensidades para os correspondentes três pixels são então ponderadas para obter  $\hat{f}(n_1, n_2, t_0)$  para cada pixel. Como as correspondentes posições espaciais para os tempos  $t_{-1}$  e  $t_1$  não caem geralmente sobre a grade de amostragem, é necessário realizar uma interpolação espacial para determinar  $g(x, y, t_{-1})$  e  $g(x, y, t_1)$  para as

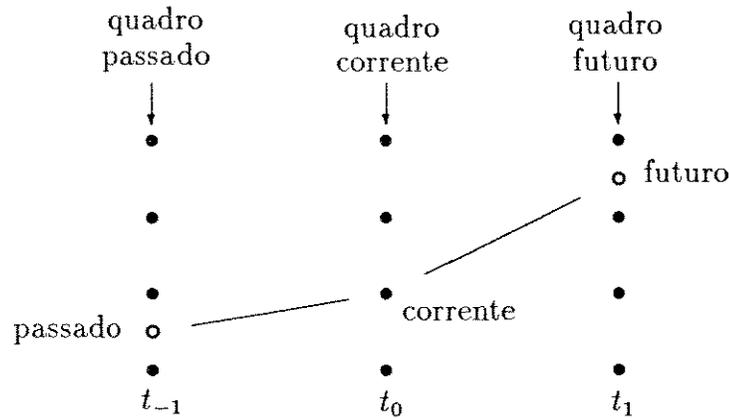


Figura II.9: Restauração de imagem com compensação de movimento

localizações espaciais desejadas.

### II.3.6 Restauração interativa

Em muitas aplicações é prático e vantajoso usar a intuição humana, junto com a versatilidade dos computadores digitais, para restaurar imagens de modo interativo. Neste caso, o observador tem controle total sobre o processo de restauração através do ajuste adequado dos parâmetros disponíveis, sendo desta forma capaz de obter um resultado final que possa ser muito adequado para um propósito específico.

Por exemplo, um dos casos mais simples de corrupção de imagem que é bem tratado pela restauração interativa, é a ocorrência de um padrão de interferência senoidal bidimensional superposto sobre a imagem, freqüentemente chamado de *ruído coerente*. Um padrão de interferência senoidal de amplitude  $A$  e componentes de freqüência bidimensional  $(u_0, v_0)$  é representado por

$$n(x, y) = A \sin(u_0x + v_0y) \tag{II.78}$$

e sua transformada de Fourier é dada pela relação

$$N(u, v) = \frac{-jA}{2} \left[ \delta \left( u - \frac{u_0}{2\pi}, v - \frac{v_0}{2\pi} \right) - \delta \left( u + \frac{u_0}{2\pi}, v + \frac{v_0}{2\pi} \right) \right]. \tag{II.79}$$

Em outras palavras, a transformada de Fourier de uma função seno ideal bidimensional, é um par de impulsos de força  $-A/2$  e  $A/2$  localizados, respectivamente, nas coordenadas  $(u_0/2\pi, v_0/2\pi)$  e  $(-u_0/2\pi, -v_0/2\pi)$  do plano de freqüência. Como a degradação considerada é do tipo ruído aditivo, têm-se

$$G(u, v) = F(u, v) + N(u, v). \quad (\text{II.80})$$

Uma visualização da magnitude de  $G(u, v)$  é formada pela soma das magnitudes de  $F(u, v)$  e  $N(u, v)$ . Se  $A$  é suficientemente grande, os dois impulsos de  $N(u, v)$  usualmente aparecerão como pontos brilhantes sobre a visualização, especialmente se eles estão localizados relativamente longe da origem, tal que a contribuição das componentes de  $F(u, v)$  é pequena.

Se  $n(x, y)$  fosse completamente conhecida, a imagem original poderia, é claro, ser recuperada pela subtração da interferência de  $g(x, y)$ . Desde que este é raramente o caso, um método útil é identificar visualmente a localização das componentes impulsivas no domínio da frequência e usar um filtro rejeita-faixa para retirá-las.

A presença de um padrão de interferência definido, simples e claro, tal como dito acima raramente ocorre na prática. Geralmente o padrão de formação da interferência periódica de uma imagem é consideravelmente mais sutil e, conseqüentemente, mais difícil de detectar no plano de frequência. Inclusive a interferência pode ser formada por mais de uma componente senoidal e quando diversas componentes senoidais estão presentes o método discutido acima não é sempre aceitável, porque pode haver a remoção de muita informação da imagem durante o processo de filtragem.

Um procedimento que encontra boa aceitação nestes casos, consiste em primeiro isolar os principais contribuidores do padrão de interferência e então subtraí-los, ponderados por uma função, do padrão da imagem degradada. Esta função é selecionada de forma a obter um resultado ótimo em algum sentido.

### II.3.7 Transformações geométricas

Diferentemente das técnicas de restauração de imagens discutidas até aqui, as transformações geométricas são técnicas de restauração que geralmente modificam as relações espaciais entre os pixels de uma imagem. Por esta razão são freqüentemente chamadas de *transformações folha de borracha*, desde que podem ser vistas como o processo de “imprimir” uma imagem sobre uma folha de borracha e então esticar esta folha de acordo com algum conjunto de fórmulas pré-definidas.

Em termos de processamento digital de imagens, uma transformação geométrica consiste de duas operações básicas: (1) de uma *transformação espacial* que define o “rearranjo” dos pixels sobre o plano imagem; e (2) de uma *interpolação espacial* que ocupa-se com a definição dos níveis de cinza para os pixels da imagem transformada espacialmente. As próximas seções

discutem estas duas operações básicas.

### Transformações espaciais

Suponha que uma imagem  $f$  com coordenadas de pixel  $(x, y)$  sofre distorção geométrica para produzir uma imagem  $g$  com coordenadas  $(\hat{x}, \hat{y})$ . Esta transformação pode ser expressa como

$$\hat{x} = r(x, y) \tag{II.81}$$

$$\hat{y} = s(x, y), \tag{II.82}$$

onde  $r(x, y)$  e  $s(x, y)$  representam as transformações espaciais que produzem a imagem  $g(\hat{x}, \hat{y})$  distorcida geometricamente.

Se  $r(x, y)$  e  $s(x, y)$  fossem conhecidas analiticamente, talvez fosse possível, em princípio, recuperar  $f(x, y)$  da imagem distorcida  $g(\hat{x}, \hat{y})$  aplicando as transformações reversas. Na prática, no entanto, é geralmente impossível formular analiticamente um conjunto simples de funções  $r(x, y)$  e  $s(x, y)$  que descrevam o processo de distorção geométrica sobre o plano imagem inteiro. O método mais freqüentemente usado para superar esta dificuldade, consiste em formular a realocação espacial dos pixels através do uso de *pontos vinculados*, os quais formam um subconjunto de pixels cuja localização na imagem de entrada (distorcida) e na imagem de saída (corrigida) é conhecida precisamente.

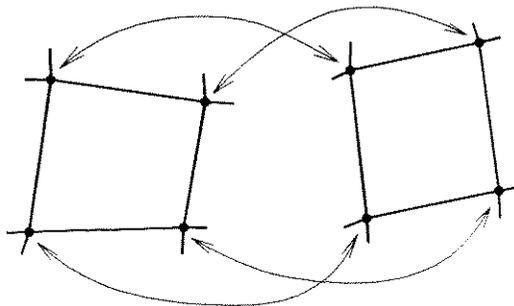


Figura II.10: Correspondentes pontos vinculados em dois segmentos de imagens

A Fig. II.10 exibe a região de um quadrilátero em uma imagem distorcida e a correspondente região em uma imagem corrigida. Supondo que o processo de distorção geométrica dentro da região do quadrilátero é modelada por um par de equações bilineares como

$$r(x, y) = c_1x + c_2y + c_3xy + c_4 = \hat{x} \tag{II.83}$$

$$s(x, y) = c_5x + c_6y + c_7xy + c_8 = \hat{y} \quad (\text{II.84})$$

então este par de equações pode ser facilmente resolvido para os oito coeficientes  $c_i$ ,  $i = 1, 2, \dots, 8$ , desde que existe um total de oito pontos vinculados. Uma vez que os coeficientes são conhecidos, eles constituem o modelo usado para transformar *todos* os pixels dentro da região do quadrilátero, caracterizada pelos pontos vinculados usados para obter os coeficientes. Em geral muitos pontos vinculados são necessários para gerar um conjunto de quadriláteros que cobrem a imagem inteira, com cada quadrilátero tendo seu próprio conjunto de coeficientes.

O procedimento usado para gerar a imagem corrigida é direto. Por exemplo, para gerar  $f(0, 0)$ , primeiro substitui-se  $(x, y) = (0, 0)$  nas Eqs. (II.83) e (II.84), obtendo-se o correspondente par de coordenadas  $(\hat{x}, \hat{y})$ , então faz-se  $f(0, 0) = g(\hat{x}, \hat{y})$ . Este procedimento é repetido pixel por pixel por todas as coordenadas da imagem  $g$ , devendo ter em conta a posição do pixel em processamento para se empregar os coeficientes apropriados para a região deste pixel.

### Interpolação espacial

A transformação espacial discutida acima usa valores inteiros nas coordenadas  $(x, y)$  para gerar a imagem corrigida  $f(x, y)$ . No entanto, dependendo dos coeficientes  $c_i$  calculados, as Eqs. (II.83) e (II.84) pode produzir valores não-inteiros para  $\hat{x}$  e  $\hat{y}$ . Como a imagem distorcida  $g$  é digital, seus valores de pixel são definidos somente nas coordenadas inteiras. Assim, o uso de valores não-inteiros para  $\hat{x}$  e  $\hat{y}$  leva a um mapeamento para localizações de  $g$  onde os níveis de cinza não são definidos. Portanto é necessário inferir os valores dos níveis de cinza para estas localizações baseando-se somente nos valores dos pixels das coordenadas inteiras. A técnica usada para inferir estes valores é chamada de interpolação espacial. Na Seção II.2.8 já foram discutidos vários métodos de interpolação espacial que são plenamente válidos para este caso.

## II.4 Observações

As técnicas apresentadas neste capítulo são representativas das usualmente empregadas na prática, mas deve-se ressaltar que existem muitas variantes das técnicas e aplicações aqui discutidas. Além disso, a área de processamento de imagens está muito ativa atualmente, como provam as muitas publicações sobre o tema na literatura.

Também é importante notar que a classificação das técnicas aqui empregada não é única, havendo outras maneiras de classificá-las.

Bons resultados muitas vezes só são obtidos através da combinação de duas ou mais técnicas diferentes.

Muitas vezes, principalmente quando velocidade de processamento e simplicidade de implementação são importantes, as filtragens passa-baixas e passa-altas que são especificadas no domínio da frequência não satisfazem estas condições. Para contornar o problema a Ref. [18] apresenta um método para gerar uma máscara espacial que aproxima (no sentido do mínimo erro quadrático médio) um dado filtro no domínio da frequência.

A aplicação de sistemas de enriquecimento de imagens adaptativos na mudança de características locais, é uma idéia muito útil que pode ser aplicada em numerosos contextos diferentes. No entanto, um sistema adaptativo geralmente requer mais tempo de processamento do que um sistema não-adaptativo, mas seu desempenho é geralmente consideravelmente melhor.

Na maior parte deste capítulo consideram-se imagens monocromáticas na discussão das técnicas apresentadas. No entanto, a maior parte do que foi dito se aplica às imagens coloridas, desde que uma imagem colorida pode ser decomposta em três imagens monocromáticas que podem ser processadas individualmente e então combinadas para obter a imagem colorida processada.

## Capítulo III

# Modelamento do Sistema Óptico

Qualquer fenômeno óptico pode ser analisado dentro de três quadros de referência:

1. Óptica geométrica, a qual utiliza o conceito do “raio”.
2. Óptica física ou ondulatória, a qual trata a luz como uma onda em movimento.
3. Óptica quântica, a qual trata a luz como um fluxo de partículas de massa zero (isto é, massa residual zero) denominadas fótons.

**Óptica geométrica** A óptica geométrica trata o comportamento da luz diretamente como observado macroscopicamente; ela descreve o caminho viajado pelo feixe de luz e prediz a localização e ampliação das imagens. A natureza física da luz propriamente dita não é considerada, conseqüentemente a óptica geométrica não faz predições a respeito das interações dos feixes de luz com a matéria e nem com outros feixes de luz. As leis da óptica geométrica podem ser consideradas como uma extrapolação das observações da óptica ondulatória, para o caso de comprimento de onda infinitesimal.

Um tratamento geométrico é usado para explicar o processo de focalização de lentes e de sistemas de lentes, para explicar aberrações que ocorrem em imagens de lentes e também para descrever os caminhos de luz através dos instrumentos (microscópios, espectrofotômetros, etc.) os quais podem, no entanto, requerer uma discussão em cima das propriedades de ondas ou de fótons para explicar suas características específicas.

**Óptica ondulatória** A óptica ondulatória ou física trata a luz como uma oscilação periódica de campos elétricos e magnéticos no espaço. Estas oscilações são análogas em muitos aspectos às ondas da mecânica observadas em fluidos e outras formas de matéria.

Um tratamento óptico-ondulatório é necessário para explicar o funcionamento de alguns instrumentos, como os microscópios de fase, interferência, ou polarização e também para entender alguns efeitos como a formação de interferência colorida e padrões de difração. Em particular a teoria de ondas da luz clarifica a relação entre padrões de difração e imagens de microscópio, explicando inclusive o seu limite de resolução.

**Óptica quântica** A aproximação quântica para a óptica descreve o feixe de luz como sendo formado por um fluxo de “pacotes” de energia de tamanho definido, chamados de fótons. O fóton pode ser descrito como uma partícula fundamental de massa zero, ou mais precisamente como uma partícula de massa residual zero, desde que o movimento do fóton, como o movimento de outras partículas, está associado a uma massa relativística determinada por sua velocidade. A emissão de luz e sua interação com a matéria só pode ser explicada deste ponto de vista.

A óptica quântica fornece a maneira mais consistente de considerar os efeitos ópticos, desde que, pelo menos em princípio, o método pode ser aplicado na descrição de todos os fenômenos ópticos. Um tratamento óptico quântico é requerido para a explicação da absorção, fluorescência e efeitos relacionados, e de dispositivos tais como o laser e fluorofotômetro.

Almejando obter um modelo teórico suficiente para a aplicação desejada, adota-se a óptica geométrica como referencial no desenvolvimento dos temas das próximas seções.

## III.1 Resposta impulsiva

O sistema considerado na obtenção da resposta impulsiva é formado por uma lente convergente simples, que representa a objetiva, e por um ponto situado no espaço-objeto que representa um ponto do objeto em estudo. Como o objeto é iluminado por uma fonte de luz, pode-se simplificar o sistema imaginando que cada ponto deste objeto é um ponto emissor de luz. Com este sistema determina-se a contribuição da luz proveniente de um ponto do objeto, na formação da imagem do outro lado da lente. Assume-se as seguintes convenções e nomenclaturas no desenvolvimento deste modelo:

1. A lente convergente tem espessura infinitesimal.
2. A origem do sistema de coordenadas  $xyz$  é colocado no centro da lente e a lente está sobre o plano  $yz$ .

3. O semi-eixo  $x$  negativo corresponde ao espaço-objeto e o semi-eixo  $x$  positivo ao espaço-imagem.
4. A Fig. III.1 apresenta o diagrama de formação da imagem através de raios de luz e os parâmetros considerados no desenvolvimento do modelo.

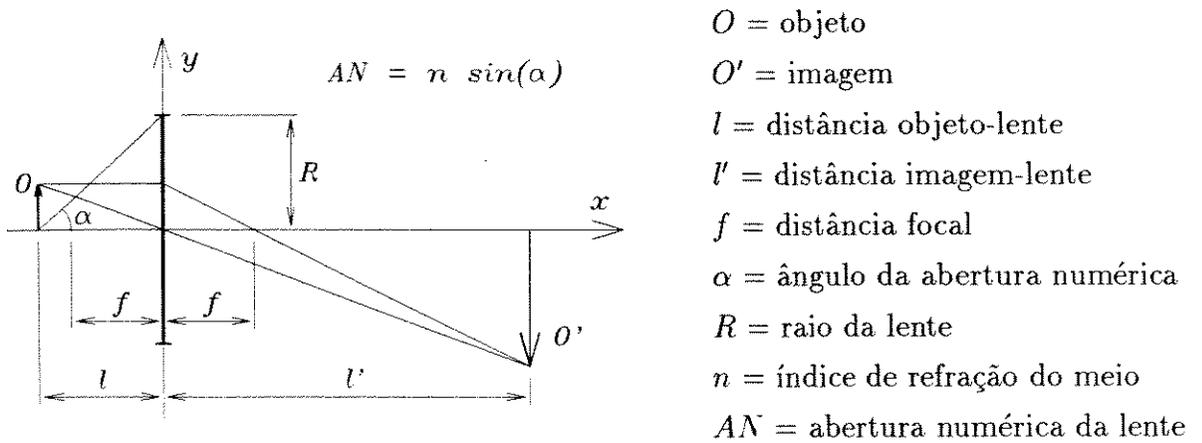


Figura III.1: Formação da imagem

5. A função impulso unitário tridimensional é representada por uma fonte pontual de luz (ponto objeto), com potência (ou intensidade) luminosa  $P$  de uma candela (cd), estando localizada na posição  $(x_o, y_o, z_o)$  do espaço-objeto. Esta função é definida pela expressão:

$$\delta(x - x_o, y - y_o, z - z_o) = \begin{cases} 1, & \text{para } x = x_o, y = y_o \text{ e } z = z_o \\ 0, & \text{caso contrário.} \end{cases} \quad (\text{III.1})$$

A Fig. III.2 (a) apresenta a contribuição do fluxo de luz proveniente de um ponto do objeto na iluminação do espaço-imagem. A luz proveniente deste ponto objeto que atinge a lente gera no espaço-imagem um correspondente fluxo de luz, que ocupa uma região espacial definida por dois cones colocados “vértice a vértice”. A imagem do ponto objeto gerada por esta lente estará nítida no plano imagem  $yz$  que contém o vértice dos cones. Se o plano  $yz$  é colocado um pouco à frente ou um pouco atrás desta posição, a imagem do ponto objeto se torna embaçada e parecida com uma elipse como mostra a Fig. III.2 (b).

Levando em conta as dimensões reduzidas dos objetos observados no microscópio composto, pode-se supor que qualquer ponto objeto emissor de luz está tão próximo do eixo  $x$ , que

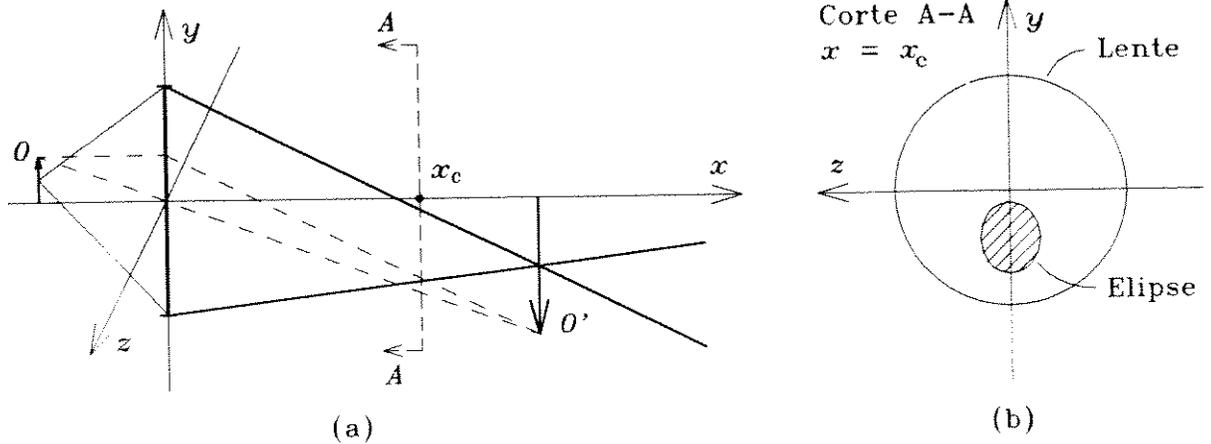


Figura III.2: (a) Formação do cone de luz e (b) seção do cone de luz

qualquer seção do cone de luz gerado no espaço-imagem por este ponto, pode ser aproximada por uma seção circular como mostra a Fig. III.3. Neste contexto define-se uma função auxiliar chamada de *função círculo*, para representar a área circular da Fig. III.3. Esta função será útil no desenvolvimento da resposta impulsiva do sistema e é apresentada na Eq. (III.2):

$$CIR(y, z, y_c, z_c, r_c) = \begin{cases} 1, & \text{para } (y - y_c)^2 + (z - z_c)^2 \leq r_c^2 \\ 0, & \text{para } (y - y_c)^2 + (z - z_c)^2 > r_c^2 \end{cases} \quad (III.2)$$

onde  $y_c$  e  $z_c$  são as coordenadas do centro da seção circular no plano  $yz$  e  $r_c$  é o raio da seção circular. Os parâmetros  $y_c$ ,  $z_c$  e  $r_c$  devem ser calculados como funções de parâmetros conhecidos ou fornecidos, tais como a posição do ponto objeto, a abertura numérica e a distância focal da objetiva.

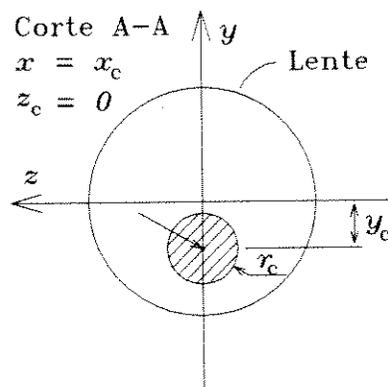


Figura III.3: Aproximação para seção circular

A expressão para  $r_c$  é obtida assumindo-se o ponto objeto sobre o eixo  $x$  como mostra a Fig. III.4. O raio de luz convergente exibido no espaço-imagem desta figura, indica que o ponto

objeto está à esquerda do ponto focal anterior. As outras duas situações possíveis são: (1) o ponto objeto está sobre o ponto focal anterior, o que gera raios de luz paralelos ao eixo  $x$  no espaço-imagem; e (2) o ponto objeto está à direita do ponto focal anterior, o que gera raios de luz divergentes no espaço-imagem. O cálculo da expressão de  $r_c$  considerando cada uma das situações acima leva ao mesmo resultado. Desta forma, apresenta-se o cálculo de  $r_c$  para a situação da Fig. III.4, ou seja, para  $l > f$ .

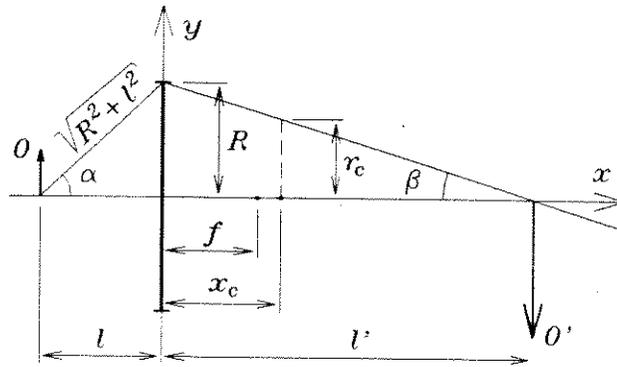


Figura III.4: Ponto objeto sobre o eixo  $x$

Das relações geométricas da Fig. III.4 obtêm-se uma expressão para  $r_c$ :

$$\tan(\beta) = \frac{R}{l'} = \frac{r_c}{l' - x_c} \Rightarrow r_c = \frac{R(l' - x_c)}{l'} \quad (III.3)$$

Usando-se a Eq. (I.2) da abertura numérica reproduzida abaixo e a relação para a localização da imagem em lentes delgadas, obtêm-se as expressões de  $R$  e  $l'$ , respectivamente:

$$AN = n \sin(\alpha) = n \frac{R}{(R^2 + l^2)^{1/2}} \Rightarrow R = \frac{ANl}{(n^2 - AN^2)^{1/2}} \quad (III.4)$$

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{l} + \frac{1}{l'} \Rightarrow l' = \frac{fl}{l - f} \quad (III.5)$$

Substituindo as expressões de  $R$  e  $l'$  na Eq. (III.3) obtém-se:

$$r_c = \frac{\left| l + x_c \left( 1 - \frac{l}{f} \right) \right|}{\left[ \left( \frac{n}{AN} \right)^2 - 1 \right]^{1/2}}, \quad \text{para } x_c > 0. \quad (III.6)$$

A Fig. III.5 apresenta o cone de luz formado por um ponto objeto emissor de luz, colocado numa posição  $(x_o, y_o, z_o)$  qualquer do espaço-objeto. Das relações geométricas da Fig. III.5 obtêm-se as expressões para  $y_c$  e  $z_c$ :

$$\tan(\gamma) = -\frac{y_o}{x_o} = -\frac{y_c}{x_c} \Rightarrow y_c = \frac{x_c y_o}{x_o} \quad (III.7)$$

e de forma similar

$$z_c = \frac{x_c z_o}{x_o} \quad (III.8)$$

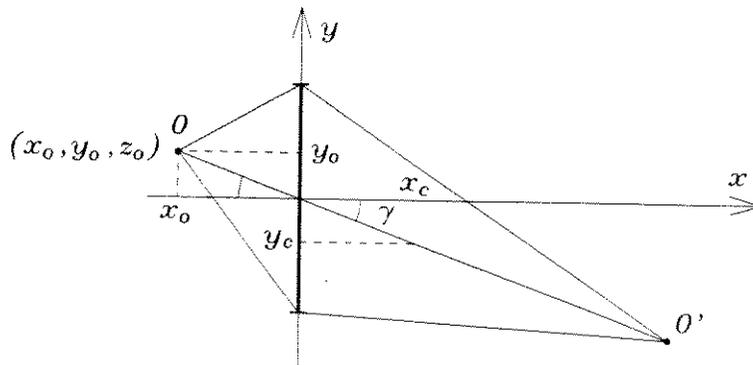


Figura III.5: Ponto objeto  $(x_o, y_o, z_o)$

Finalmente a função círculo é obtida substituindo as expressões de  $r_c$ ,  $y_c$  e  $z_c$  na Eq. (III.2):

$$CIR(x_o, y_o, z_o, x, y, z)|_{x=x_c} = \begin{cases} 1, & \text{para } \left(y - \frac{x_c y_o}{x_o}\right)^2 + \left(z - \frac{x_c z_o}{x_o}\right)^2 \leq \left(\frac{|l+x_c(1-\frac{1}{f})|}{\left[\left(\frac{n}{AN}\right)^2 - 1\right]^{1/2}}\right)^2 \\ 0, & \text{para } \left(y - \frac{x_c y_o}{x_o}\right)^2 + \left(z - \frac{x_c z_o}{x_o}\right)^2 > \left(\frac{|l+x_c(1-\frac{1}{f})|}{\left[\left(\frac{n}{AN}\right)^2 - 1\right]^{1/2}}\right)^2 \end{cases} \quad (III.9)$$

onde  $(x_o, y_o, z_o)$  é a posição do ponto objeto e  $x_c$  é a posição do plano imagem  $yz$  no eixo  $x$  ( $x_c > 0$ ). A função círculo delimita a região do plano imagem  $yz$  iluminada pelo fluxo de luz que atravessa a lente e que foi gerado por um ponto objeto emissor de luz.

A resposta impulsiva  $h$  do sistema é obtida com a determinação da expressão que representa a iluminação de um plano  $yz$  do espaço-imagem, produzida por um ponto objeto representado pelo impulso unitário definido na Eq. III.1. Uma fonte pontual de luz com potência luminosa de um candela, gera um fluxo de luz  $\phi$  no espaço-objeto de um lumen (lm). Se o fluxo  $\phi$  se propaga igualmente em todas as direções e se o ponto objeto está sobre o eixo  $x^1$ , então

<sup>1</sup>Esta aproximação é válida por causa das reduzidas dimensões dos objetos observados com o microscópio de luz, quando comparadas às dimensões do sistema.

pode-se calcular a parcela deste fluxo que atravessa a lente e gera o fluxo de luz  $\phi_l$  que ilumina o espaço-imagem. A Fig. III.6 mostra um corte no plano  $xy$  da esfera com centro  $(x_o, y_o, z_o)$  que circunscribe a lente, da qual é possível obter a seguinte expressão para  $\phi_l$ :

$$\phi_l(x_o, y_o, z_o) = \phi(x_o, y_o, z_o) \left( \frac{A_c}{A_e} \right) \quad (III.10)$$

onde  $A_e$  é a área da superfície esférica,  $A_c$  é a área da calota esférica limitada pelas bordas da lente (esta calota está no espaço-imagem), e  $\phi(x_o, y_o, z_o)$  é o fluxo luminoso gerado pelo ponto objeto impulsivo emissor de luz situado na posição  $(x_o, y_o, z_o)$ .

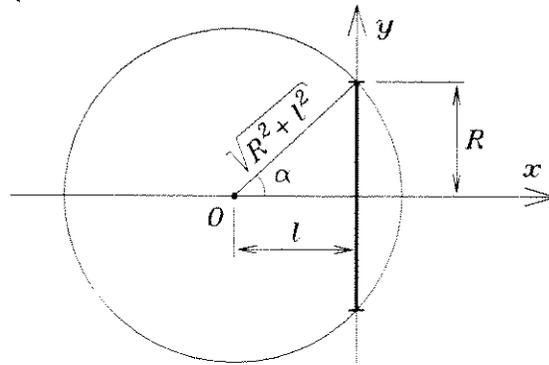


Figura III.6: Parcela do fluxo luminoso  $\phi$  que atinge a lente

A área da esfera  $A_e$  é dada pela expressão:

$$A_e = 4\pi(R^2 + l^2) \quad (III.11)$$

e a área da calota da esfera,  $A_c$ , limitada pelas bordas da lente pela expressão:

$$A_c = 2\pi(R^2 + l^2)^{1/2}[(R^2 + l^2)^{1/2} - l]. \quad (III.12)$$

Substituindo as expressões de  $A_e$  e  $A_c$  na Eq. (III.10) e se  $\phi(x_o, y_o, z_o) = 1$  lm como foi dito acima, então:

$$\phi_l(x_o, y_o, z_o) = \left( \frac{1}{2} - \frac{l}{2(R^2 + l^2)^{1/2}} \right) \quad (III.13)$$

e substituindo a expressão de  $R$  na Eq. (III.13) têm-se a expressão final para  $\phi_l$ :

$$\phi_l(x_o, y_o, z_o) = \frac{1}{2} \left( 1 - \frac{(n^2 - AN^2)^{1/2}}{n} \right). \quad (III.14)$$

Finalmente a resposta impulsiva  $h$  deste sistema, definida como a iluminância gerada em um plano imagem  $yz$  pelo fluxo de luz  $\phi_l$ , é dada pela expressão:

$$\begin{aligned}
 h(x_o, y_o, z_o, x, y, z)|_{x=x_c} &= \frac{\phi_l(x_o, y_o, z_o)}{\pi r_c^2} CIR(x_o, y_o, z_o, x, y, z)|_{x=x_c} \\
 &= \frac{\frac{n^2 - AN^2}{AN^2} \left[ 1 - \left( \frac{n^2 - AN^2}{n^2} \right)^{1/2} \right]}{2\pi \left[ l + x_c \left( 1 - \frac{1}{f} \right) \right]^2} CIR(x_o, y_o, z_o, x, y, z)|_{x=x_c}
 \end{aligned}
 \tag{III.15}$$

### III.1.1 Caracterização do microscópio composto como sistema linear variante

Um sistema linear invariante no tempo excitado por um sinal  $x(t)$  tem como resposta impulsiva um sinal  $y(t)$  como mostra a Fig. III.7. Quando se faz um deslocamento temporal na excitação deste sistema de um valor  $T$ , como mostra a Fig. III.8, a resposta impulsiva deste sistema se caracteriza por manter o mesmo formato e se deslocar na mesma quantidade da excitação. Já num sistema linear variante, um deslocamento na excitação não leva a um deslocamento igual na resposta impulsiva, um deslocamento na excitação leva a uma resposta impulsiva diferente.

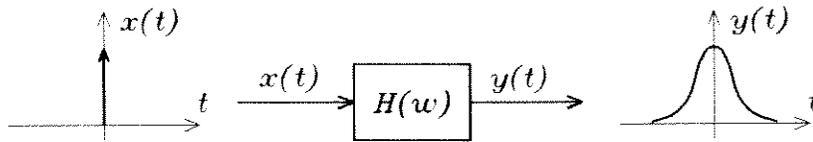


Figura III.7: Sistema linear invariante

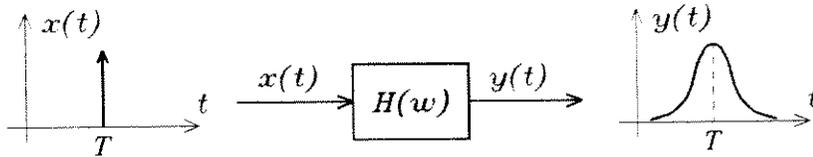


Figura III.8: Sistema linear invariante deslocado

O microscópio composto pode ser considerado como um sistema variante no espaço, porque qualquer deslocamento do ponto objeto leva a uma resposta impulsiva, como definida na Eq. (III.15), diferente. A Fig. III.9 mostra que um deslocamento do objeto na direção  $x$  da quantidade  $x_1$ , leva a um deslocamento da imagem na direção  $x$  da quantidade  $x_2$ , com  $x_1$  diferente de  $x_2$ . Além disso a imagem do objeto teve seu tamanho reduzido, ou seja, a resposta impulsiva deste sistema é variante com o deslocamento espacial.

Este comportamento variante também pode ser constatado através da expressão da resposta impulsiva, Eq. (III.15), obtida na seção anterior, onde está claro que a resposta impulsiva  $h$  depende da posição  $(x_o, y_o, z_o)$  do impulso de entrada, de uma forma que não se reduz a um simples deslocamento espacial.

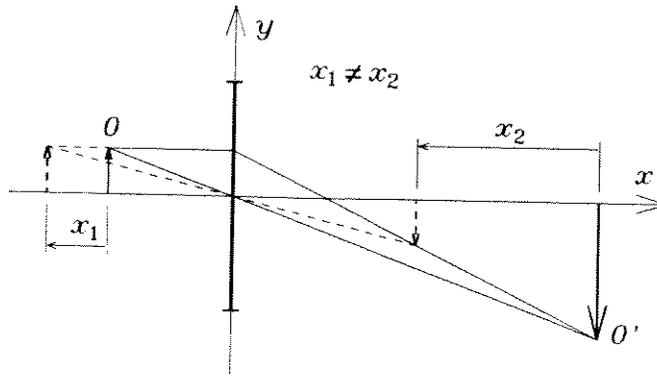


Figura III.9: Sistema linear variante

### III.2 Função de transferência

O sistema considerado na Seção III.1, para o qual obteve-se a resposta impulsiva  $h$  da Eq. (III.15), é representado pelo diagrama da Fig. III.10, onde  $f(x, y, z)$  representa a entrada,  $g(x, y, z)$  a saída, e  $H$  a função de transferência do sistema.



Figura III.10: Diagrama do sistema

A entrada  $f(x, y, z)$  pode ser escrita como:

$$\begin{aligned}
 f(x, y, z) &= f(x, y, z) * \delta(x, y, z) \\
 &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x_o, y_o, z_o) \delta(x - x_o, y - y_o, z - z_o) dx_o dy_o dz_o ,
 \end{aligned}
 \tag{III.16}$$

onde  $\delta$  é a função impulso tridimensional definida pela Eq. (III.1) e  $(x_o, y_o, z_o)$  é a posição de aplicação do impulso. Então, a saída para um sistema (variante ou não) será dada por:

$$g(x, y, z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x_o, y_o, z_o) h(x, y, z, x_o, y_o, z_o) dx_o dy_o dz_o .
 \tag{III.17}$$

Supondo que  $F(u, v, w)$  seja a transformada de Fourier de  $f(x, y, z)$ , então pode-se escrever:

$$f(x, y, z) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u, v, w) e^{jux} e^{jvy} e^{jwz} dudv dw ,
 \tag{III.18}$$

assim

$$f(x_o, y_o, z_o) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u, v, w) e^{jux_o} e^{jvy_o} e^{jwz_o} dudvdw \quad . \quad (\text{III.19})$$

Conseqüentemente a substituição de  $f(x_o, y_o, z_o)$  na Eq. (III.17) produz:

$$g(x, y, z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \left( \frac{1}{(2\pi)^3} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u, v, w) e^{jux_o} e^{jvy_o} e^{jwz_o} dudvdw \right) h(x, y, z, x_o, y_o, z_o) dx_o dy_o dz_o \quad , \quad (\text{III.20})$$

que através da mudança da ordem de integração e das seguintes mudanças de variáveis,

$$\begin{aligned} x - x_o &= a \Rightarrow dx_o = -da \\ y - y_o &= b \Rightarrow dy_o = -db \\ z - z_o &= c \Rightarrow dz_o = -dc \end{aligned} \quad (\text{III.21})$$

pode ser re-escrita como:

$$g(x, y, z) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u, v, w) e^{jux} e^{jvy} e^{jwz} \left( \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} h(x, y, z, x - a, y - b, z - c) e^{-jua} e^{-jvb} e^{-jwc} dadbdc \right) dudvdw \quad . \quad (\text{III.22})$$

Chamando a parcela entre parênteses da Eq. (III.22) de  $H(ju, jv, jw, x, y, z)$  pode-se escrever:

$$g(x, y, z) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u, v, w) H(ju, jv, jw, x, y, z) e^{jux} e^{jvy} e^{jwz} dudvdw \quad . \quad (\text{III.23})$$

$H(ju, jv, jw, x, y, z)$  é chamada de função de transferência do sistema e esta função é variante com  $(x, y, z)$ . Com a mudança de variável dada abaixo,

$$\begin{aligned} x - a &= x_o \Rightarrow da = -dx_o \\ y - b &= y_o \Rightarrow db = -dy_o \\ z - c &= z_o \Rightarrow dc = -dz_o \end{aligned} \quad (\text{III.24})$$

pode-se obter uma expressão mais adequada para  $H$ :

$$H(ju, jv, jw, x, y, z) = e^{-jux} e^{-jvy} e^{-jwz} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} h(x, y, z, x_o, y_o, z_o) e^{jux_o} e^{jvy_o} e^{jwz_o} dx_o dy_o dz_o \quad . \quad (\text{III.25})$$

Substituindo a resposta impulsiva  $h(x, y, z, x_o, y_o, z_o)$  dada pela Eq. (III.15) na expressão dada pela Eq. (III.25), é possível calcular a função de transferência  $H(ju, jv, jw, x, y, z)$  do sistema.

### III.2.1 Interpretação da função de transferência

A saída  $g(x, y, z)$  do sistema da Fig. III.10 para uma entrada  $f(x, y, z)$  é dada pela Eq. (III.17) reproduzida abaixo:

$$g(x, y, z) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x_o, y_o, z_o) h(x, y, z, x_o, y_o, z_o) dx_o dy_o dz_o \quad (III.26)$$

Para analisar a composição de freqüência da saída  $g(x, y, z)$ , emprega-se uma entrada  $f(x, y, z)$  que possui apenas uma freqüência em cada dimensão, ou seja,

$$f(x, y, z) = e^{ju_o x} e^{jv_o y} e^{jw_o z} \quad (III.27)$$

Da Eq. (III.27) obtêm-se  $f(x_o, y_o, z_o)$  para ser substituído na Eq (III.26) e lembrando ainda da relação dada pela Eq (III.25) pode-se escrever:

$$\begin{aligned} g(x, y, z) &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} e^{ju_o x_o} e^{jv_o y_o} e^{jw_o z_o} h(x, y, z, x_o, y_o, z_o) dx_o dy_o dz_o \\ &= H(ju_o, jv_o, jw_o, x, y, z) e^{ju_o x} e^{jv_o y} e^{jw_o z} \end{aligned} \quad (III.28)$$

$$H(ju_o, jv_o, jw_o, x, y, z) = \frac{g(x, y, z)}{f(x, y, z)}, \quad \text{quando } f(x, y, z) = e^{ju_o x} e^{jv_o y} e^{jw_o z} \quad (III.29)$$

Da Eq. (III.28) e da variação de  $H(ju_o, jv_o, jw_o, x, y, z)$  com  $(x, y, z)$ , pode-se concluir que  $H$  provoca algo parecido com uma “modulação” em amplitude nas componentes de freqüência  $e^{ju_o x}$ ,  $e^{jv_o y}$  e  $e^{jw_o z}$ , logo  $g(x, y, z)$  contém outras freqüências além de  $u_o$ ,  $v_o$  e  $w_o$ .

Observe que se o sistema fosse invariante com o deslocamento então:

$$h(x, y, z, x_o, y_o, z_o) = h(x - x_o, y - y_o, z - z_o) \quad (III.30)$$

e conseqüentemente da Eq. (III.25)

$$\begin{aligned}
 H(ju, jv, jw, x, y, z) &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} h(x - x_o, y - y_o, z - z_o) \\
 &\quad e^{-ju(x-x_o)} e^{jv(y-y_o)} e^{jw(z-z_o)} dx_o dy_o dz_o \\
 &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} h(x, y, z) e^{-jux} e^{jvy} e^{jwz} dx dy dz \\
 &= H(ju, jv, jw) \quad ,
 \end{aligned} \tag{III.31}$$

ou seja, a função de transferência do sistema invariante não dependeria de  $(x, y, z)$ . Assim quando  $f(x, y, z) = e^{ju_o x} e^{jv_o y} e^{jw_o z}$  ter-se-ia:

$$\begin{aligned}
 H(ju_o, jv_o, jw_o) &= \frac{g(x, y, z)}{f(x, y, z)} \Rightarrow \\
 \Rightarrow g(x, y, z) &= H(ju_o, jv_o, jw_o) e^{ju_o x} e^{jv_o y} e^{jw_o z} \\
 &= C(u_o, v_o, w_o) e^{ju_o x} e^{jv_o y} e^{jw_o z} e^{\phi(u_o, v_o, w_o)} \quad ,
 \end{aligned} \tag{III.32}$$

onde  $C(u_o, v_o, w_o)$  e  $\phi(u_o, v_o, w_o)$  corresponderiam, respectivamente, ao módulo e a fase da função  $H(ju_o, jv_o, jw_o)$ . Da Eq. (III.32) constata-se que  $g(x, y, z)$  não conteria outras freqüências além de  $u_o$ ,  $v_o$  e  $w_o$ .

As Figs. III.11 e III.12 apresentam, respectivamente, os diagramas que representam a composição espectral de  $g(x, y, z)$  no caso de sistema invariante e no caso de sistema variante, de acordo com as informações obtidas nos parágrafos anteriores. Para não carregar a figura apresenta-se a composição para apenas alguns pontos espectrais e também optou-se pela representação unidimensional do espaço de freqüência, sendo que a extensão para o caso de espaço de freqüência tridimensional é direta.

A representação da Fig. III.12 sugere uma discretização do espaço de freqüência que pode ser realizada através da decomposição dos sinais em suas séries de Fourier. A próxima seção apresenta uma solução para o problema que emprega este artifício.

### III.3 Obtenção de $f(x, y, z)$ a partir de $H(ju, jv, jw, x, y, z)$ e $g(x, y, z)$

Supondo que o sistema da Fig. III.10 represente a objetiva de um microscópio,  $f(x, y, z)$  representará a distribuição de intensidade luminosa do objeto sob visualização e  $g(x, y, z)$  a correspondente iluminação no espaço-imagem.

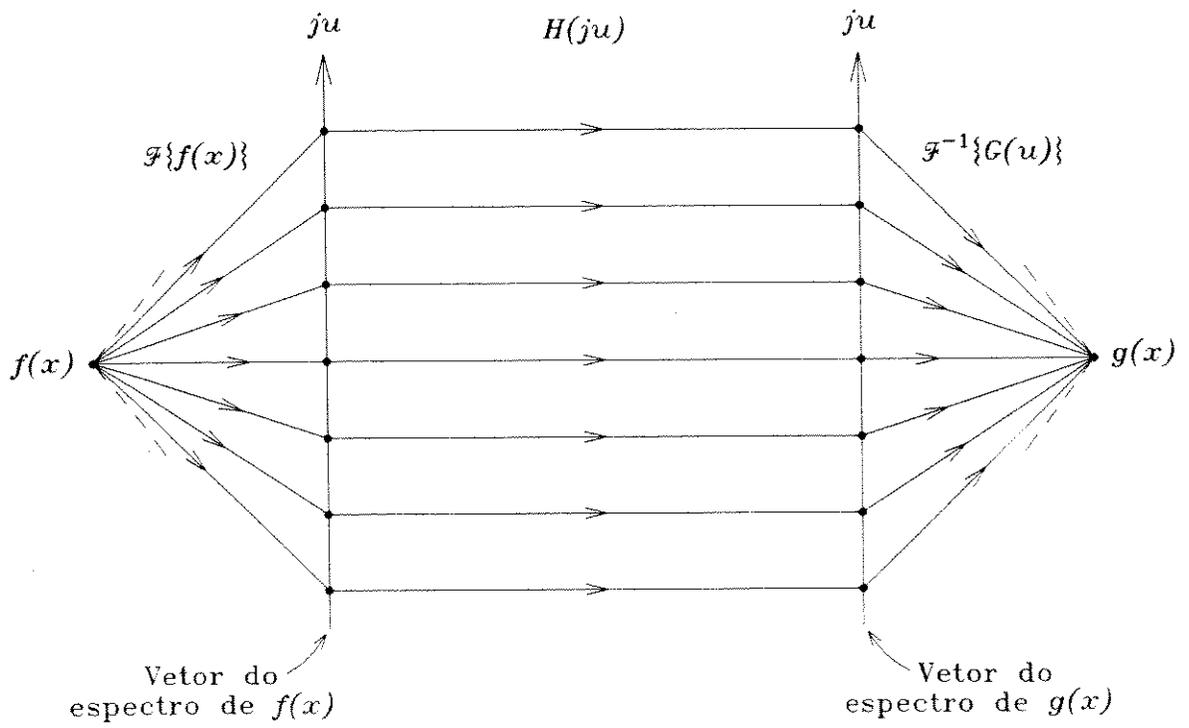


Figura III.11: Composição espectral do sistema linear invariante

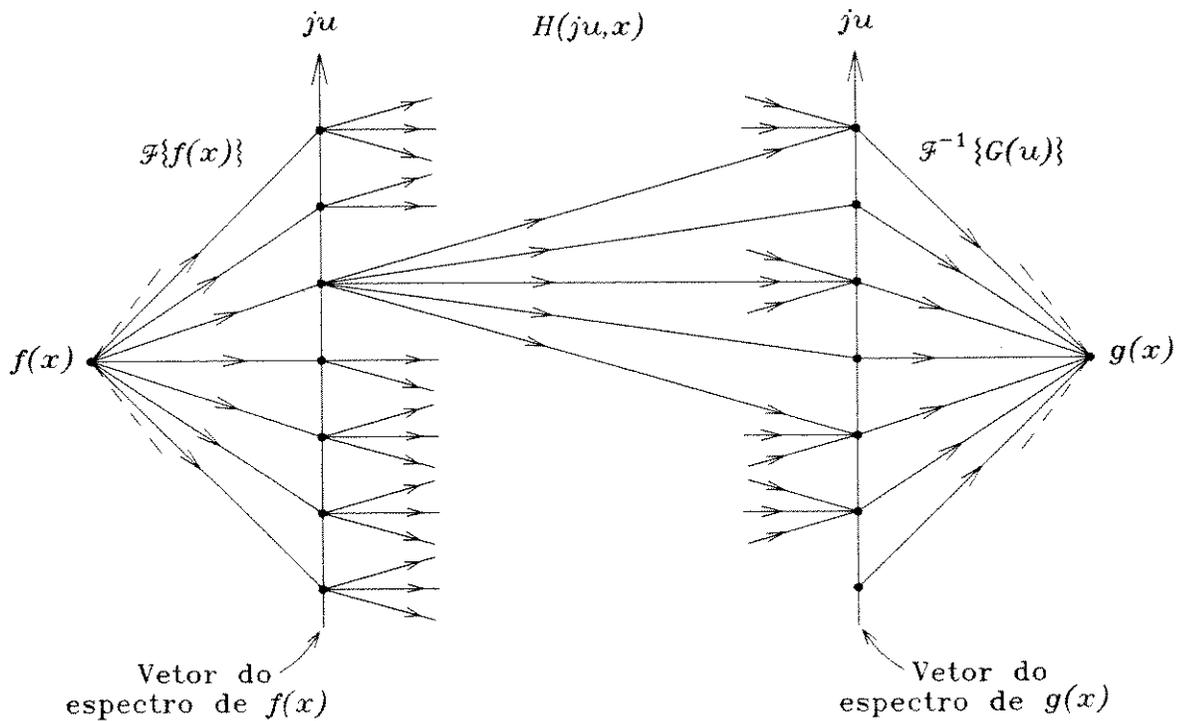


Figura III.12: Composição espectral do sistema linear variante

Será estudada aqui a possibilidade da obtenção de  $f(x, y, z)$  a partir do conhecimento de  $g(x, y, z)$  e  $H(ju, jv, jw, x, y, z)$ , o que permitiria obter todas as informações do espaço-objeto a partir das observações no espaço-imagem (o único acessível a observações). Seria então possível ultrapassar limitações que o microscópio apresenta no seu emprego tradicional, como, por exemplo, a reduzida profundidade de campo que impede a visualização simultânea de todas as partes de um espécime com espessura não desprezível.

No desenvolvimento a seguir será usada uma representação discretizada das funções  $f(x, y, z)$ ,  $g(x, y, z)$  e  $H(ju, jv, jw, x, y, z)$ , que é a forma apropriada para processamento digital.

A discretização do espaço de frequência leva a Eq. (III.18) reproduzida abaixo:

$$f(x, y, z) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u, v, w) e^{jux} e^{jvy} e^{jwz} dudvdw \quad (III.33)$$

para a seguinte forma:

$$f(x, y, z) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} \sum_{n=-\infty}^{\infty} \sum_{p=-\infty}^{\infty} a_{m,n,p} e^{jm\Delta ux} e^{jn\Delta vy} e^{jp\Delta wz} \quad (III.34)$$

com  $\Delta u$ ,  $\Delta v$  e  $\Delta w$  tendendo a 0 e

$$a_{m,n,p} = \frac{F(m\Delta u, n\Delta v, p\Delta w) \Delta u \Delta v \Delta w}{(2\pi)^3} \quad (III.35)$$

Observe que a determinação dos coeficientes  $a_{m,n,p}$  permite reconstruir a função de entrada  $f(x, y, z)$  através da Eq. (III.34) dada acima.

De forma semelhante, a saída do sistema  $g(x, y, z)$  dada pela Eq. (III.23) reproduzida abaixo:

$$g(x, y, z) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u, v, w) H(ju, jv, jw, x, y, z) e^{jux} e^{jvy} e^{jwz} dudvdw \quad (III.36)$$

permite escrever quando discretizada no espaço de frequências com as mesmas variações de frequência  $\Delta u$ ,  $\Delta v$  e  $\Delta w$  usadas na Eq. (III.34):

$$g(x, y, z) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} \sum_{n=-\infty}^{\infty} \sum_{p=-\infty}^{\infty} a_{m,n,p} H(jm\Delta u, jn\Delta v, jp\Delta w, x, y, z) e^{jm\Delta ux} e^{jn\Delta vy} e^{jp\Delta wz} \quad (III.37)$$

Como o espectro de frequência da função  $f(x, y, z)$  é infinito, os limites das somatórias da Eq. (III.34) assumem valores infinitos. Para que esta expressão possa ser processada em compu-

tador, assume-se que  $f(x, y, z)$  pode ser aproximada por uma função com espectro de frequência limitado, o que permitiria a definição de valores finitos para os limites das somatórias da Eq. (III.34). assim pode-se escrever:

$$f(x, y, z) = \sum_{m=-M}^M \sum_{n=-N}^N \sum_{p=-P}^P a_{m,n,p} e^{jm\Delta u x} e^{jn\Delta v y} e^{jp\Delta w z} \quad (III.38)$$

onde  $M, N$  e  $P$  representam valores finitos. Conseqüentemente a Eq. (III.37) é re-escrita como:

$$g(x, y, z) = \sum_{m=-M}^M \sum_{n=-N}^N \sum_{p=-P}^P a_{m,n,p} H(jm\Delta u, jn\Delta v, jp\Delta w, x, y, z) e^{jm\Delta u x} e^{jn\Delta v y} e^{jp\Delta w z} \quad (III.39)$$

Com a óptica ondulatoria explica-se o limite de resolução da objetiva do microscópio. ou seja, mostra-se que um ponto do objeto produz um padrão de difração no espaço-imagem, logo a resolução da objetiva é finita. Pela óptica geométrica um ponto do objeto produz um ponto no espaço-imagem, o que, se fosse verdade, implicaria em resolução infinita para a objetiva. Então, se a imagem produzida pela objetiva fosse um ponto, a sua função de transferência teria um espectro de frequência infinito e, conseqüentemente, uma expansão em série de Fourier<sup>2</sup> com um número infinito de coeficientes. No entanto, a imagem do ponto objeto é um padrão de difração com dimensão finita, logo o espectro de frequência da função  $H(ju, jv, jw, x, y, z)$  será limitado e a expansão em série de Fourier desta função terá um número limitado de coeficientes.

Supondo que a expansão em série de Fourier da função  $H$  seja realizada com as mesmas variações de frequência  $\Delta u, \Delta v$  e  $\Delta w$  usadas na Eq. (III.34), que o espectro de frequências de  $H$  é limitado e que os valores finitos  $M, N$  e  $P$  são suficientes para serem usados simultaneamente pela aproximação da Eq. (III.38) e pela expansão em série de Fourier da função  $H$ , então:

$$g(x, y, z) = \sum_{m=-M}^M \sum_{n=-N}^N \sum_{p=-P}^P a_{m,n,p} e^{jm\Delta u x} e^{jn\Delta v y} e^{jp\Delta w z} \left[ \sum_{q=-M}^M \sum_{r=-N}^N \sum_{s=-P}^P b_{q,r,s,m,n,p} e^{jq\Delta u x} e^{jr\Delta v y} e^{js\Delta w z} \right] \quad (III.40)$$

A expansão em série de Fourier da função  $g(x, y, z)$  da Eq. (III.40), também será realizada supondo as mesmas variações de frequência  $\Delta u, \Delta v$  e  $\Delta w$  usadas na Eq. (III.34), que o espectro de frequências de  $g(x, y, z)$  é limitado e que os valores finitos  $M, N$  e  $P$  são suficientes para serem usados simultaneamente pela aproximação da Eq. (III.38) e pela expansão em série de Fourier das funções  $H$  e  $g$ , então:

$$g(x, y, z) = \sum_{i=-M}^M \sum_{k=-N}^N \sum_{t=-P}^P c_{i,k,t} e^{ji\Delta u x} e^{jk\Delta v y} e^{jt\Delta w z} \quad (III.41)$$

---

<sup>2</sup> $H$  é função de  $(x, y, z)$  logo também pode ser expandida em série de Fourier.

Para reconstruir a função  $f(x, y, z)$  é necessário calcular os coeficientes  $a_{m,n,p}$ . Para facilitar a demonstração do cálculo destes coeficientes a análise é realizada sobre as Eqs. (III.40) e (III.41) para o caso unidimensional e no final se faz a extensão para o caso tridimensional. A redução destas equações para o caso unidimensional produz:

$$g(x) = \sum_{i=-M}^M c_i e^{ji\Delta ux} = \sum_{m=-M}^M a_m e^{jm\Delta ux} \left[ \sum_{q=-M}^M b_{q,m} e^{jq\Delta ux} \right], \quad (\text{III.42})$$

a qual pode ser representada de forma matricial desde que seja assumida a seguinte notação:

$$\mathbf{C} = \left[ c_{-M} \quad \cdots \quad c_{-2} \quad c_{-1} \quad c_0 \quad c_1 \quad c_2 \quad \cdots \quad c_M \right] \quad (\text{III.43})$$

$$\mathbf{E} = \begin{bmatrix} e^{-jM\Delta ux} \\ \vdots \\ e^{-j2\Delta ux} \\ e^{-j\Delta ux} \\ 1 \\ e^{j\Delta ux} \\ e^{j2\Delta ux} \\ \vdots \\ e^{jM\Delta ux} \end{bmatrix} \quad (\text{III.44})$$

$$\mathbf{A} = \left[ a_{-M} \quad \cdots \quad a_{-2} \quad a_{-1} \quad a_0 \quad a_1 \quad a_2 \quad \cdots \quad a_M \right] \quad (\text{III.45})$$

$$\mathbf{B} = \begin{bmatrix} b_{-M,-M} & b_{-M+1,-M} & b_{-M+2,-M} & \cdots & b_{M,-M} \\ b_{-M,-M+1} & b_{-M+1,-M+1} & b_{-M+2,-M+1} & \cdots & b_{M,-M+1} \\ b_{-M,-M+2} & b_{-M+1,-M+2} & b_{-M+2,-M+2} & \cdots & b_{M,-M+2} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ b_{-M,M} & b_{-M+1,M} & b_{-M+2,M} & \cdots & b_{M,M} \end{bmatrix} \quad (\text{III.46})$$

Então a Eq. (III.42) pode ser escrita como:

$$\mathbf{C} \cdot \mathbf{E} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{E} \cdot \mathbf{B} \cdot \mathbf{E} \quad (\text{III.47})$$

e através de manipulações matriciais se chega a:

$$\mathbf{C} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{E} \cdot \mathbf{B} \quad (\text{III.48})$$

$$\mathbf{A} \cdot \mathbf{E} = \mathbf{C} \cdot \mathbf{B}^{-1} \quad (\text{III.49})$$

A versão unidimensional de  $f(x, y, z)$  obtida da Eq. (III.38) é dada por:

$$f(x) = \sum_{m=-M}^M a_m e^{jm\Delta ux} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{E} , \quad (\text{III.50})$$

conseqüentemente a solução do problema é dada pela expressão:

$$f(x) = \mathbf{C} \cdot \mathbf{B}^{-1} \quad (\text{III.51})$$

onde  $\mathbf{C}$  é o vetor dos coeficientes da expansão em série de Fourier da função conhecida  $g(x)$  e  $\mathbf{B}^{-1}$  é a matriz inversa dos coeficientes da expansão em série de Fourier da função de transferência  $H(ju, x)$  do sistema variante que também é conhecida.

Na extensão para o caso tridimensional o vetor  $\mathbf{C}$  se torna uma matriz com três dimensões, que carrega os coeficientes da expansão em série de Fourier da imagem de saída do sistema  $g(x, y, z)$ . A matriz  $\mathbf{B}$  passa de duas dimensões para seis dimensões, contendo os coeficientes da expansão em série de Fourier da função de transferência  $H(ju, jv, jw, x, y, z)$  do sistema variante. E a Eq. (III.51) se torna

$$f(x, y, z) = \mathbf{C}_{(2M+1) \times (2N+1) \times (2P+1)} \cdot \mathbf{B}_{(2M+1) \times (2N+1) \times (2P+1) \times (2M+1) \times (2N+1) \times (2P+1)}^{-1} \quad (\text{III.52})$$

O número de coeficientes da expansão em série de Fourier da função  $g(x, y, z)$  guarda uma relação com a resolução fornecida pela objetiva, ou seja, com o número máximo de linhas que a objetiva é capaz de exibir<sup>3</sup>. Então, o número de coeficientes pode ser estimado como sendo da ordem da metade do número de linhas elevado ao cubo. Desta forma, conclui-se que as matrizes  $\mathbf{C}$  e  $\mathbf{B}$  possuem um número grande de termos o que torna o cálculo de  $f(x, y, z)$  através da Eq. (III.52), considerando os computadores atuais, muito oneroso do ponto de vista computacional.

Na reconstrução do espaço-objeto desaparece, evidentemente, a limitação da profundidade de campo do microscópio óptico. No entanto, a implementação prática da reconstrução não é uma tarefa simples como comprova o desenvolvimento acima.

Então, a partir deste ponto, decidiu-se explorar métodos que fazem uma abordagem mais heurística do problema, o que leva ao desenvolvimento de métodos mais simples do ponto de vista computacional e que podem ser implementados em tempo hábil nos computadores disponíveis. O Cap. V apresenta os métodos heurísticos desenvolvidos para a remoção da limitação da profundidade de campo, com os quais se obteve resultados práticos muito interessantes.

---

<sup>3</sup>A resolução fornecida pela objetiva é discutida na Seção IV.7.1.

# Capítulo IV

## Sistema de Aquisição de Imagens

### IV.1 Histórico

No início da parte experimental deste trabalho, em 1992, o Laboratório de Processamento de Sinais (LPS) não dispunha de equipamento para amostrar e digitalizar sinais de vídeo. Tal equipamento era imprescindível para o prosseguimento do trabalho na área de processamento digital de imagens, desde que seria responsável pela geração das imagens digitais necessárias para a aplicação das técnicas de processamento propostas.

A falta de um equipamento para realizar a aquisição de imagens se tornou um problema importante em 1992, desde que isso poderia prejudicar o bom andamento do trabalho e o cumprimento dos prazos estabelecidos<sup>1</sup>. Naquela época, foram consideradas três opções para amostrar e digitalizar sinais de vídeo:

1. Comprar uma placa de microcomputador específica para amostrar e digitalizar sinais de vídeo. Esta opção, no melhor dos casos, envolveria tempo e trabalho para conseguir recursos para importar uma placa e também incerteza quanto ao prazo de entrega da placa.
2. Localizar na UNICAMP algum equipamento que realizasse a função. Esta opção criaria uma dependência de um equipamento externo ao LPS.
3. Construir um sistema completo para amostrar e digitalizar sinais de vídeo.

Nenhuma das opções acima se mostrou viável para ser implementada na época, dado os problemas decorrentes para a execução de qualquer uma delas e também por causa do curto espaço

---

<sup>1</sup>O início de 1995 foi estipulado como prazo máximo para terminar o trabalho.

de tempo disponível para realizar o trabalho. A procura por novas opções levou à formulação de uma quarta opção, que se mostrou viável para ser implementada no tempo disponível. Esta quarta opção surgiu quando se verificou a possibilidade de adaptar um equipamento existente, projetado e construído no LPS, para realizar a amostragem e digitalização do sinal de vídeo. Este equipamento é chamado de *sistema de aquisição de dados* (SAD) e faz amostragem e digitalização de sinais de áudio a uma taxa de até 100 kHz gerando palavras de 12 bits. Aparentemente, este equipamento não se presta para digitalizar sinais com faixa maior do que 50 kHz, como é o caso do sinal de vídeo gerado pela câmara que possui uma faixa de aproximadamente 5,4 MHz. Mas o uso do SAD se tornou viável através da implementação de um *esquema especial de amostragem* que aproveita a característica estática das imagens geradas no conjunto microscópio-câmara de vídeo.

Este esquema especial de amostragem é implementado pelo *sistema externo de controle do SAD* (SECSAD), que trabalha acoplado ao SAD controlando a sua amostragem. O projeto e implementação do SECSAD foram desenvolvidos durante os anos de 1992 e 1993, em paralelo com outras atividades ligadas aos métodos de processamento a serem implementados. No final de 1993 o sistema estava operacional e foi usado para digitalizar as imagens fornecidas pela câmara de vídeo. Estas imagens foram essenciais para o desenvolvimento e testes dos métodos de processamento propostos.

Em 1993 também surgiu a oportunidade de importar uma placa para amostrar e digitalizar sinais de vídeo, com recursos provenientes de um projeto temático da Fapesp do qual faz parte o LPS. No entanto, esta placa só chegou no segundo semestre de 1994 e se tornou operacional a partir de outubro de 1994. Esta placa é chamada de Super VideoWindows Multimedia (SVW) e é um produto da New Media Graphics.

## IV.2 Introdução

A aplicação de técnicas de processamento digital de sinais nas imagens fornecidas pelo microscópio óptico, exige equipamentos adequados para realizar a aquisição destas imagens. Estes equipamentos são chamados genericamente de *sistemas de aquisição de imagens*.

Um sistema de aquisição de imagens é formado basicamente por dois elementos: a câmara de vídeo e o sistema para amostrar e digitalizar sinais elétricos. A câmara de vídeo fornece um sinal elétrico de vídeo para o sistema digitalizador que o transforma numa imagem digital, ou seja, o sinal contínuo é transformado em um sinal digital apropriado para ser tratado e processado por computador.

Como este trabalho está voltado para o processamento digital de imagens fornecidas

pelo microscópio óptico, foi necessário desenvolver um sistema de aquisição de imagens apropriado para a aplicação. Assim, o sistema é formado por um microscópio óptico, uma câmera de vídeo e um sistema para digitalizar sinais elétricos. A câmera de vídeo é utilizada sem a sua objetiva (com o CCD exposto) e o microscópio sem a sua ocular. Um acoplamento mecânico adequado entre a câmera e o microscópio permite que a objetiva do microscópio atue como objetiva da câmera, ou seja, a luz proveniente da objetiva do microscópio é projetada diretamente sobre o CCD da câmera de vídeo e a aquisição da imagem se resume em digitalizar o sinal de vídeo fornecido pela câmera.

A digitalização do sinal da câmera é realizada pelo SAD do LPS sob controle do SECSAD. Este capítulo trata do desenvolvimento do SECSAD e do seu acoplamento com o SAD para a aquisição de imagens estáticas.

As Figs. IV.1 e IV.2 apresentam, respectivamente, os diagramas de blocos simplificados do sistema de aquisição de imagens que utiliza o SECSAD e do sistema de aquisição de imagens que utiliza a placa de aquisição Super Video Windows.

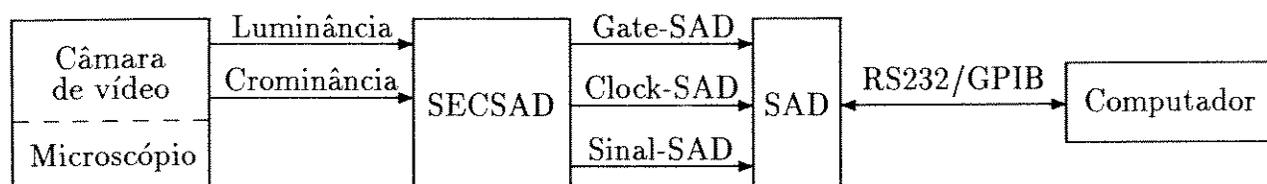


Figura IV.1: Diagrama do sistema de aquisição com o SECSAD

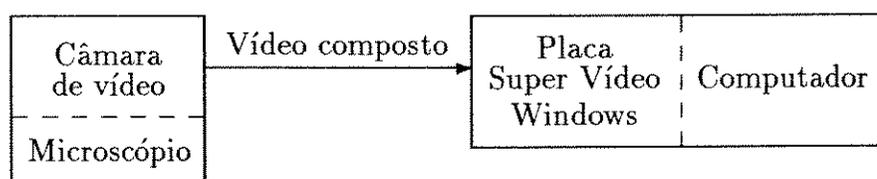


Figura IV.2: Diagrama do sistema de aquisição com a placa SVW

### IV.3 A câmera de vídeo

A câmera de vídeo utilizada é o modelo LX-1 da Canon com padrão Hi-8 mm. Esta câmera apresenta uma ótima qualidade de imagem com uma resolução horizontal de aproximadamente 570 linhas. Também permite os mais variados ajustes como, por exemplo, o ajuste que faz a correção da cor branca, que é utilizado antes de realizar qualquer aquisição para dar uma maior

fidelidade às cores das imagens. Uma característica importante desta câmara, que já foi inclusive citada anteriormente, é a possibilidade de retirar a objetiva da câmara para acessar diretamente o seu CCD, que apresenta uma dimensão na diagonal de 8 mm. Esta característica é importante desde que permite um acoplamento mecânico simples entre a câmara e o microscópio. O acoplamento mecânico foi efetivado por um suporte em L construído segundo o desenho mecânico da Fig. IV.3, auxiliado por um adaptador padrão de rosca 42 x 1 mm para o encaixe do suporte da ocular do microscópio.

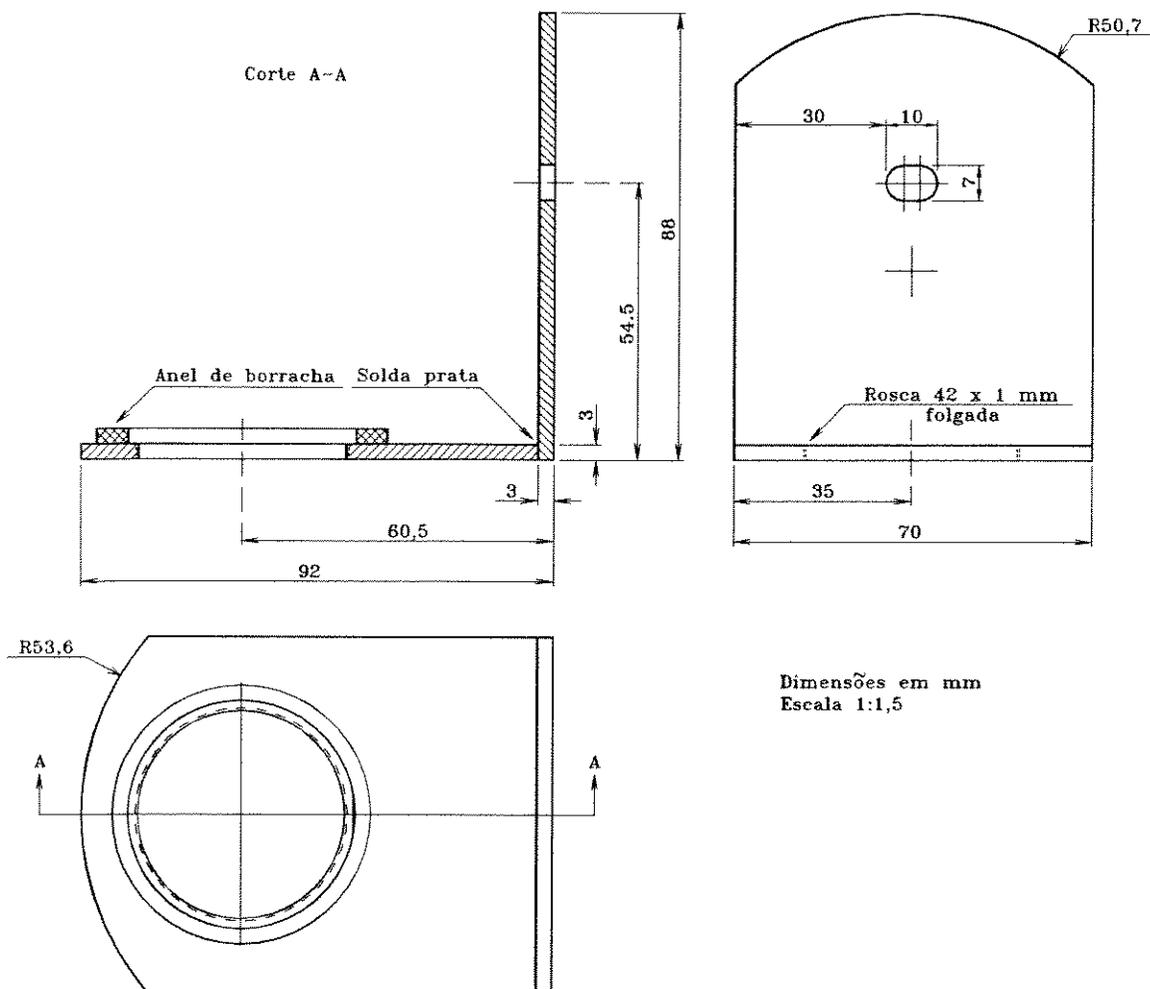


Figura IV.3: Desenho mecânico do suporte em L

A câmara apresenta saídas para os sinais de vídeo composto, de luminância e de crominância. Estes sinais permitem a formulação de três caminhos distintos para a obtenção de imagens digitais:

1. O primeiro consiste em digitalizar o sinal de vídeo composto, aplicar um processamento digital nas amostras geradas para obter a decomposição, por meios digitais, do sinal de vídeo

composto em suas componentes RGB e conseqüentemente uma imagem digital colorida. Este processo é razoavelmente trabalhoso porque envolve o uso de um algoritmo de processamento digital complicado.

2. Digitalizar o sinal de luminância diretamente para obter imagens monocromáticas sem a necessidade de qualquer pré-processamento. Neste caso também se pode obter imagens coloridas desde que se faça três amostragem de cada imagem, usando-se em cada uma os respectivos filtros vermelho, verde e azul no caminho da luz que atinge o CCD, então cada imagem monocromática gerada com os filtros corresponderá a uma das componentes RGB.
3. Digitalizar os sinais de luminância e crominância separadamente e a partir deles realizar um processamento digital para gerar as componentes RGB da imagem digital colorida.

O desenvolvimento do sistema de aquisição de imagens tem como objetivo principal a obtenção de imagens digitais para dar prosseguimento a este trabalho. Como para esta finalidade tanto faz se as imagens são coloridas ou não, optou-se, para simplificar, por digitalizar o sinal de luminância com conseqüente obtenção de imagens monocromáticas, as quais são suficientes para aplicar os processamentos desejados e deles obter resultados.

## **IV.4 Particularidades do sistema de aquisição de dados (SAD)**

Como o SAD faz parte do sistema de aquisição de imagens desenvolvido, esta seção apresenta de forma bastante resumida as suas principais características, enfatizando as que são importantes para o desenvolvimento do SECSAD e para o perfeito acoplamento entre o SECSAD e o SAD.

O SAD foi desenvolvido para prover o LPS de uma base mínima para realização de trabalhos e pesquisas em processamento digital de sinais e suas principais características são:

1. Faixa de freqüência do sinal de entrada: CC a 50 kHz.
2. Freqüência de amostragem: variável de 0 a 100 kHz.
3. Acoplamento: CC ou CA.
4. Número de bits das palavras de conversão: 12 bits (quantização uniforme), ou 8 bits (lei A de compressão).

5. Sensibilidade selecionável entre:  $\pm 1$  V,  $\pm 320$  mV,  $\pm 100$  mV,  $\pm 32$  mV,  $\pm 10$  mV,  $\pm 3,2$  mV,  $\pm 1$  mV e  $\pm 320$   $\mu$ V.
6. Filtros passa-baixas selecionáveis na entrada e na saída: CC a  $\infty$  (faixa plana), CC a 16 kHz, CC a 8 kHz e CC a 3,4 kHz.
7. Compensação do efeito  $\sin(x)/x$  do D/A para freqüências de amostragem de 8 kHz, 20 kHz e 40 kHz.
8. Configuração das funções: pelo teclado, por programa, ou pela interface GPIB ou RS-232.
9. Microprocessador: 8088
10. Memória: ROM de 16 kbytes, RAM para programa de 8 kbytes e RAM para dados de 2 Mbytes.
11. Interfaces de comunicação: GPIB e RS-232.
12. Canal de transferência de dados à memória: DMA.

Só foi possível usar o SAD neste sistema de aquisição de imagens, porque os sinais gerados internamente pelo SAD para controlar a sua amostragem estavam acessíveis, o que permitiu a colocação de uma chave para selecionar entre os sinais gerados internamente e os sinais gerados pelo SECSAD.

O SAD atua como digitalizador do sistema de aquisição de imagens e para executar esta função é configurado para usar o filtro passa-baixas de entrada de faixa plana, acoplamento CC, palavras de 12 bits, sensibilidade de  $\pm 1$  V e para usar os sinais externos de freqüência de amostragem e de habilitação da amostragem.

Quando o processo de amostragem é disparado pelo SECSAD o SAD começa a digitalizar o sinal de entrada armazenando as amostras na sua memória RAM. Terminado o processo de amostragem o SAD pode transferir as amostras digitalizadas da sua memória para um arquivo na memória do microcomputador via a interface GPIB ou RS-232. Na verdade, o processo de operação normal do SAD só é perturbado por influência dos sinais externos de controle da amostragem.

O SAD ao amostrar e digitalizar um sinal aplicado à sua entrada através do seu conversor A/D, gera uma palavra de 12 bits para cada uma das amostras do sinal de entrada.

O SAD também possui um esquema especial para armazenar na sua memória RAM de dados, formada por palavras de 8 bits, as amostras digitalizadas em palavras de 12 bits do

sinal de entrada. Este esquema especial de armazenagem visa otimizar o uso da sua memória RAM de dados e consiste em armazenar cada duas palavras de 12 bits consecutivas em três bytes consecutivos da memória do SAD com o seguinte formato: o 1º byte contém os 8 bits menos significativos da primeira palavra; o 2º byte contém em seus 4 bits mais significativos os 4 bits mais significativos da primeira amostra e em seus 4 bits menos significativos os 4 bits mais significativos da segunda amostra; e o 3º byte contém os 8 bits menos significativos da segunda amostra. A Fig. IV.4 ilustra este esquema especial de armazenagem.

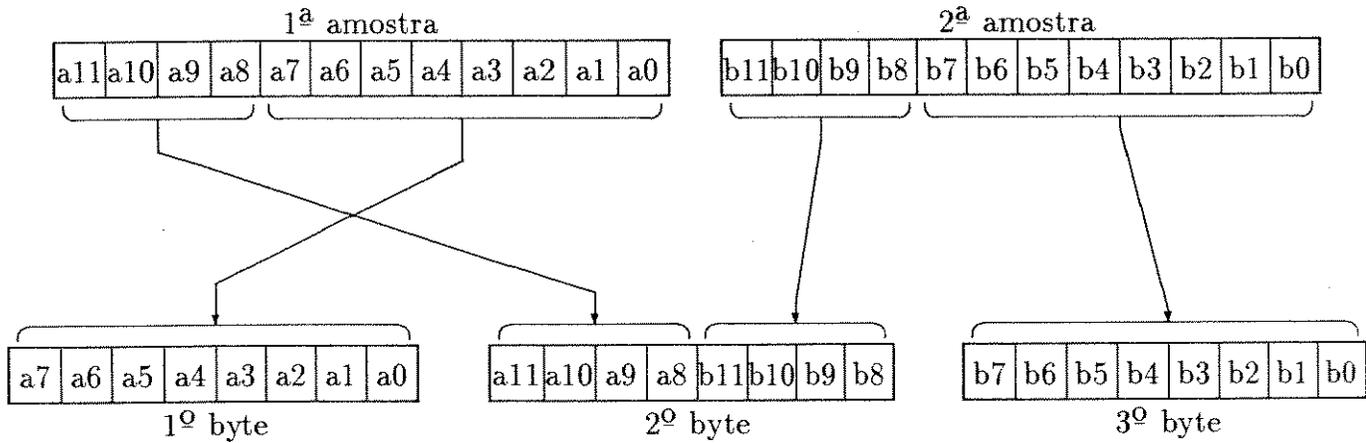


Figura IV.4: Esquema de armazenagem das amostras na memória RAM do SAD

## IV.5 Sistema externo de controle do SAD (SECSAD)

O SECSAD foi desenvolvido para operar em conjunto com o SAD, de forma a estender sua aplicação para a aquisição de sinais de vídeo de imagens estáticas. Neste ponto surge a pergunta: “Como o SAD, um equipamento projetado para realizar a aquisição de sinais com faixa de até 50 kHz, passa, com o auxílio de um outro sistema, o SECSAD, a realizar aquisição de sinais de vídeo com faixa de 5,4 MHz ?”

A resposta está no esquema especial de amostragem implementado pelo SECSAD, quando opera em conjunto com o SAD na amostragem de sinais de vídeo de imagens estáticas. Este esquema é implementado através da geração externa, pelo SECSAD, dos sinais que controlam a aquisição dos dados realizada pelo SAD, os quais substituem os correspondentes sinais gerados internamente pelo SAD. Os sinais em questão são: o sinal que habilita a aquisição de dados chamado de “Gate-SAD”; e o sinal que fornece a frequência de amostragem chamado de “Clock-SAD”.

A amostragem normal de um sinal de vídeo é realizada linha a linha, o que exige uma taxa de amostragem de pelo menos duas vezes a faixa do sinal para satisfazer o critério de Nyquist. Ou seja, uma taxa maior ou igual a 10,8 MA/s (milhões de amostras por segundo). A amostragem de uma imagem estática pode ser realizada da maneira considerada normal linha a linha, ou pode ser realizada de uma maneira alternativa coluna a coluna, desde que o sinal de vídeo de uma imagem estática tem a particularidade de se repetir durante os quadros de imagem subseqüentes.

No esquema de amostragem coluna por coluna a primeira amostra é retirada do começo da primeira linha, a segunda amostra do começo da segunda linha, embaixo da primeira amostra, e assim por diante até a última linha. Então, passado um quadro de imagem, conclui-se a amostragem de uma coluna da imagem total. Acabada a primeira coluna passa-se para a segunda coluna, de forma que a segunda amostra sobre a primeira linha, seja retirada de uma distância da primeira menor do que o inverso de duas vezes a faixa do sinal de vídeo para satisfazer o critério de Nyquist da amostragem. Esta distância é mantida entre todas as amostras adjacentes sobre uma linha. No final do segundo quadro de imagem conclui-se a amostragem da segunda coluna da imagem total, logo a cada quadro de imagem uma coluna da imagem total é amostrada.

Observa-se que neste esquema de amostragem o SAD opera com uma taxa de amostragem igual a freqüência horizontal do sinal de vídeo, da ordem de 15,75 kHz, a qual está dentro da faixa de trabalho do SAD. Neste caso a taxa de amostragem de uma imagem estática é aparentemente de 15,75 kHz, mas se for verificada a distância entre duas amostras vizinhas sobre uma mesma linha, constata-se que a freqüência de amostragem efetiva é maior do que duas vezes a faixa do sinal de vídeo.

### IV.5.1 Descrição de operação

Para descrever o funcionamento do SECSAD emprega-se o diagrama de blocos funcionais simplificado da Fig. IV.5. Através deste diagrama pode-se verificar que o SECSAD conta apenas com os sinais de luminância e cromaância, fornecidos pela câmara de vídeo, para gerar os seguintes três sinais empregados no controle da operação do SAD:

**Gate-SAD** Este sinal leva para o SAD informação temporal sobre o início e o final de um processo de amostragem e digitalização de uma imagem.

**Clock-SAD** Indica para o SAD o momento exato de realizar a aquisição de cada amostra.

**Sinal-SAD** É o sinal de entrada do SAD que será amostrado e digitalizado. Neste caso é o sinal fornecido pela câmara de vídeo que passa por um tratamento no SECSAD para atender as

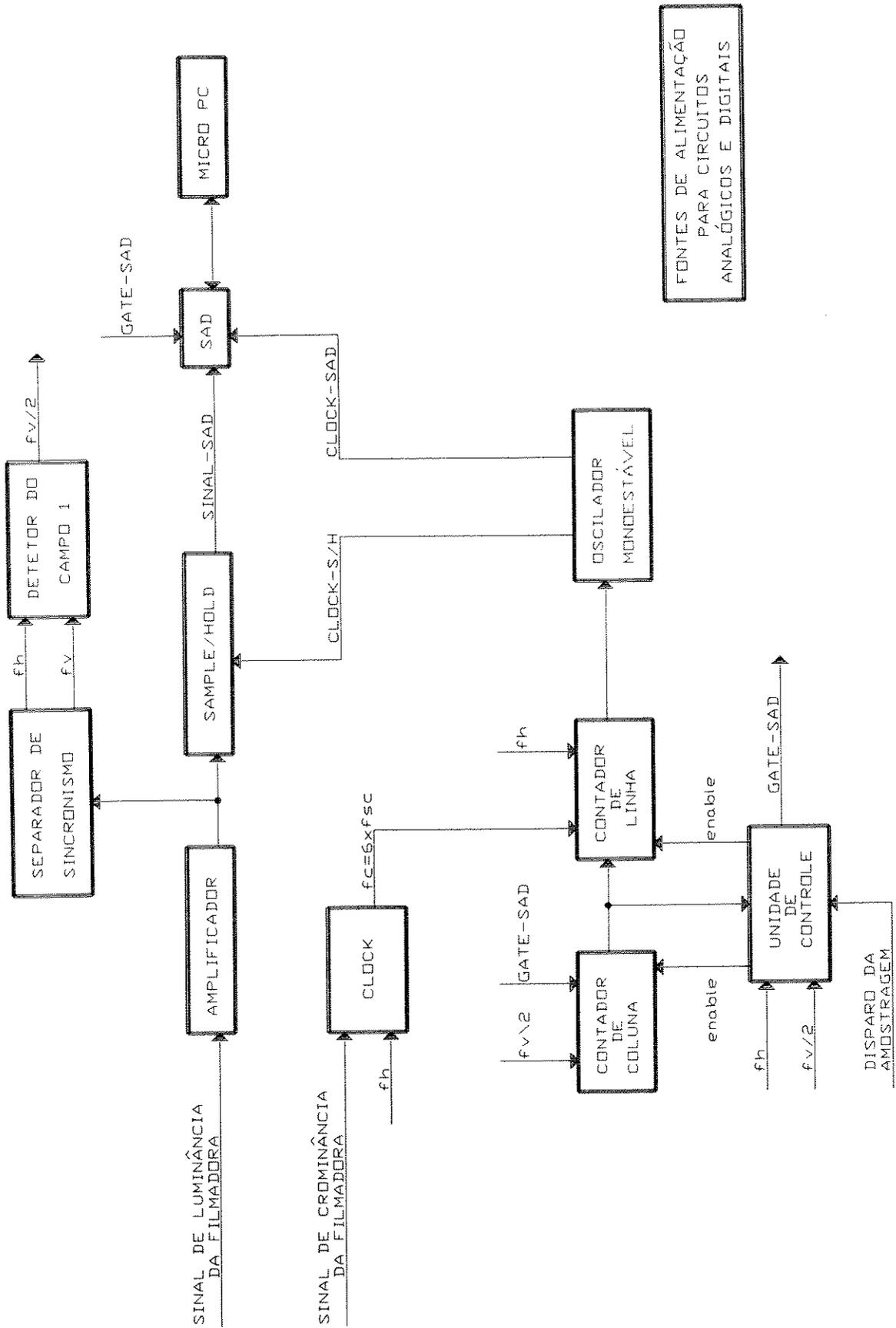


Figura IV.5: Diagrama de blocos funcionais simplificado

especificações de entrada do SAD.

Para implementar o processo de amostragem coluna a coluna descrito anteriormente, o SECSAD conta com uma unidade de controle responsável por toda a temporização do sistema. Esta unidade gera diretamente o sinal Gate-SAD quando atuada externamente pelo sinal de disparo da amostragem.

Na entrada do sinal de luminância existe um amplificador para isolar a câmara de vídeo do SECSAD e para alimentar o separador de sincronismo e o sample-hold. O separador de sincronismo junto com o detector do campo 1 geram os sinais que levam informação da frequência horizontal,  $f_h$ , da frequência vertical,  $f_v$ , e da frequência de quadros,  $f_v/2$ . Estes sinais são usados em vários circuitos do sistema. Já o sample-hold gera o Sinal-SAD com características apropriadas para ser amostrado pelo SAD, cujo conversor A/D apresenta um tempo de amostragem da ordem de  $10 \mu s$ , exigindo desta forma um sinal de entrada estável em amplitude durante este período de tempo.

O sinal de crominância fornecido pela câmara de vídeo é usado basicamente para gerar o sinal  $f_c$ , cuja frequência é igual a seis vezes a frequência da subportadora de cor,  $f_{sc}$  ( $f_c = 6f_{sc}$  e  $f_{sc} = 3,5794767 \text{ MHz} \Rightarrow f_c$  é da ordem de  $21,48 \text{ MHz}$ ).

Como a amostragem é realizada por coluna, existe a necessidade de um contador de coluna para que o sistema saiba qual coluna está sendo amostrada, este contador tem como "clock" o sinal  $f_{v/2}$ . Também existe a necessidade de um contador de linha, para que a posição da amostra sobre cada linha seja determinada com base na informação de qual coluna está sendo amostrada, o clock deste contador é o sinal  $f_c$ .

Quando o contador de linha determina a posição em que deve ser realizada uma amostragem sobre a linha, um sinal é enviado para o oscilador monoestável que gera os sinais de clock para o sample-hold e para o SAD realizarem a amostragem.

Para uma explicação mais detalhada da operação do SECSAD observe a Fig. IV.6, que apresenta o diagrama de blocos funcionais detalhado do sistema.

O entendimento do sistema se resume, basicamente, em entender o processo de determinação da posição das amostras a serem adquiridas. Este processo inicia-se com o usuário determinando o momento do início da amostragem de uma imagem, através do sinal de disparo da amostragem. Este sinal atua sobre a unidade de controle liberando-a para iniciar a amostragem no momento adequado, ou seja, no início do campo 1 do quadro de imagem.

Após a liberação da amostragem os contadores são habilitados e o contador "up" é carregado, pelo sinal Gate-SAD, com o número da primeira coluna a ser amostrada e que foi



definida previamente pelo usuário. Em seguida, o contador “down” é carregado pelo sinal  $\bar{f}_h$  com o valor desta coluna. Se, por exemplo, o valor da coluna for 10, então após 10 pulsos do sinal  $f_c^*$  o contador down dispara o oscilador monoestável, gerando um pulso nas linhas de clock do samplehold e do SAD, que desta forma adquirem uma amostra na primeira linha do campo 1, localizada 10 períodos do sinal  $f_c^*$  á frente do pulso de sincronismo horizontal da linha. Com o próximo pulso do sinal  $\bar{f}_h$ , o contador down é carregado novamente com o valor 10 e será adquirida uma segunda amostra na segunda linha do campo 1, exatamente abaixo da primeira amostra adquirida. Este processo se repete por todo o campo 1 e vai até a última linha do campo 2 do quadro de imagem. momento em que se tem uma coluna inteira já amostrada, neste instante um pulso do sinal  $f_v/2$  incrementa o contador up para 11 e a próxima amostra a ser adquirida se localizará na primeira linha do campo 1, à direita da primeira amostra da coluna 10 e espaçada desta de um período da frequência do sinal  $f_c^*$ , isto se repete para todas as outras amostras da coluna 11. Este processo de amostragem se repete até que a última coluna da imagem seja amostrada, sendo este momento determinado pelo comparador que fica monitorando o número da coluna que está sendo amostrada e o compara com um valor definido pelo usuário.

Observando o processo de aquisição de imagens estáticas descrito acima, verifica-se que o SAD adquire uma amostra por linha de imagem, então sua taxa de amostragem é igual à frequência horizontal, da ordem de 15,75 kA/s (quilo-amostras por segundo). Mas também observa-se que a taxa efetiva da amostragem realizada sobre o sinal de vídeo da imagem, é igual ao inverso do espaçamento entre as amostras adjacentes adquiridas sobre a mesma linha, ou seja, é igual à frequência do sinal  $f_c^*$ , o que dá uma taxa da ordem de 21,48 MA/s, mais que suficiente para amostrar o sinal da câmara de vídeo usada, o qual possui uma faixa da ordem de 5,4 MHz.

## IV.5.2 Descrição dos circuitos

Os circuitos eletrônicos desenvolvidos para o diagrama de blocos da Fig. IV.6 são apresentados pelas Figs. IV.7, IV.9, IV.10 e IV.11. Os circuitos são apresentados seguindo esta seqüência de figuras, ou seja, começando com a parte do circuito que trata o sinal de luminância de entrada.

### Atenuador de entrada

O sinal de luminância passa por um atenuador de entrada simples (R1 e P1), ver Fig. IV.7, cuja função é promover o casamento de impedância entre o SECSAD e a saída de luminância da câmara. Além disso, o atenuador controla a amplitude do sinal de saída IN-AADC

que alimenta o sample-hold, a qual deve ser de 2 Vpp (volts pico a pico) com 1 V de nível CC para se atingir um bom desempenho.

### **Amplificador e isolador de entrada**

O sinal de luminância atenuado passa por um amplificador de ganho igual a três (Q1) e em seguida por um “buffer” isolador (Q2). Este conjunto tem por funções: (1) amplificar o sinal de luminância até atingir uma excursão de 2 Vpp<sup>2</sup>; (2) isolar adequadamente o SECSAD da saída de luminância da câmara; e (3) fornecer corrente suficiente para os circuitos seguintes.

### **Conversor de nível para o sample-hold**

O sinal de luminância fornecido pelo isolador alimenta um circuito conversor de nível (Q4), cuja principal função é introduzir um nível CC de 1 V no sinal de luminância de 2 Vpp. Com esta excursão o sinal de luminância, agora chamado de IN-AADC, ocupa toda a faixa dinâmica da entrada do sample-hold, o que é recomendado para se obter uma imagem digital com ampla faixa dinâmica nas suas amostras. O resistor R13 tem por função limitar a corrente de entrada do conversor A/D do sample-hold, constituindo assim uma proteção. Seu valor é o maior possível desde que não prejudique as componentes de alta frequência do sinal IN-AADC.

### **Separador de sincronismo**

O sinal de luminância fornecido pelo isolador também alimenta o circuito separador de sincronismo (C2, Q3, R7, R8 e R9), cuja função é separar e amplificar os pulsos de sincronismo do sinal de luminância. Este sinal de luminância com polaridade positiva<sup>3</sup> atravessa um circuito “grampeador” formado por C2, R8 e a junção base-emissor de Q3 que se comporta como um diodo com catodo no terra.

Se não existissem o diodo base-emissor de Q3 e R7, o capacitor C2 funcionaria como um elemento de bloqueio da componente contínua do sinal presente no emissor de Q2, dando passagem apenas à componente alternada, ou seja, no terminal negativo de C2 haveria apenas o sinal de luminância (alternado) com nível médio igual a zero. Na presença do diodo base-emissor de Q3 este nível médio do sinal alternado é deslocado, uma vez que este diodo influencia no processo de carga e descarga do capacitor C2. Durante a parte positiva do sinal alternado o diodo de Q3 é polarizado diretamente e o capacitor C2 se carrega com este sinal. Quando ocorre a inversão de

---

<sup>2</sup>Esta amplitude é controlada pelo atenuador de entrada.

<sup>3</sup>É um sinal de luminância com os pulsos de sincronismo na parte superior da forma de onda.

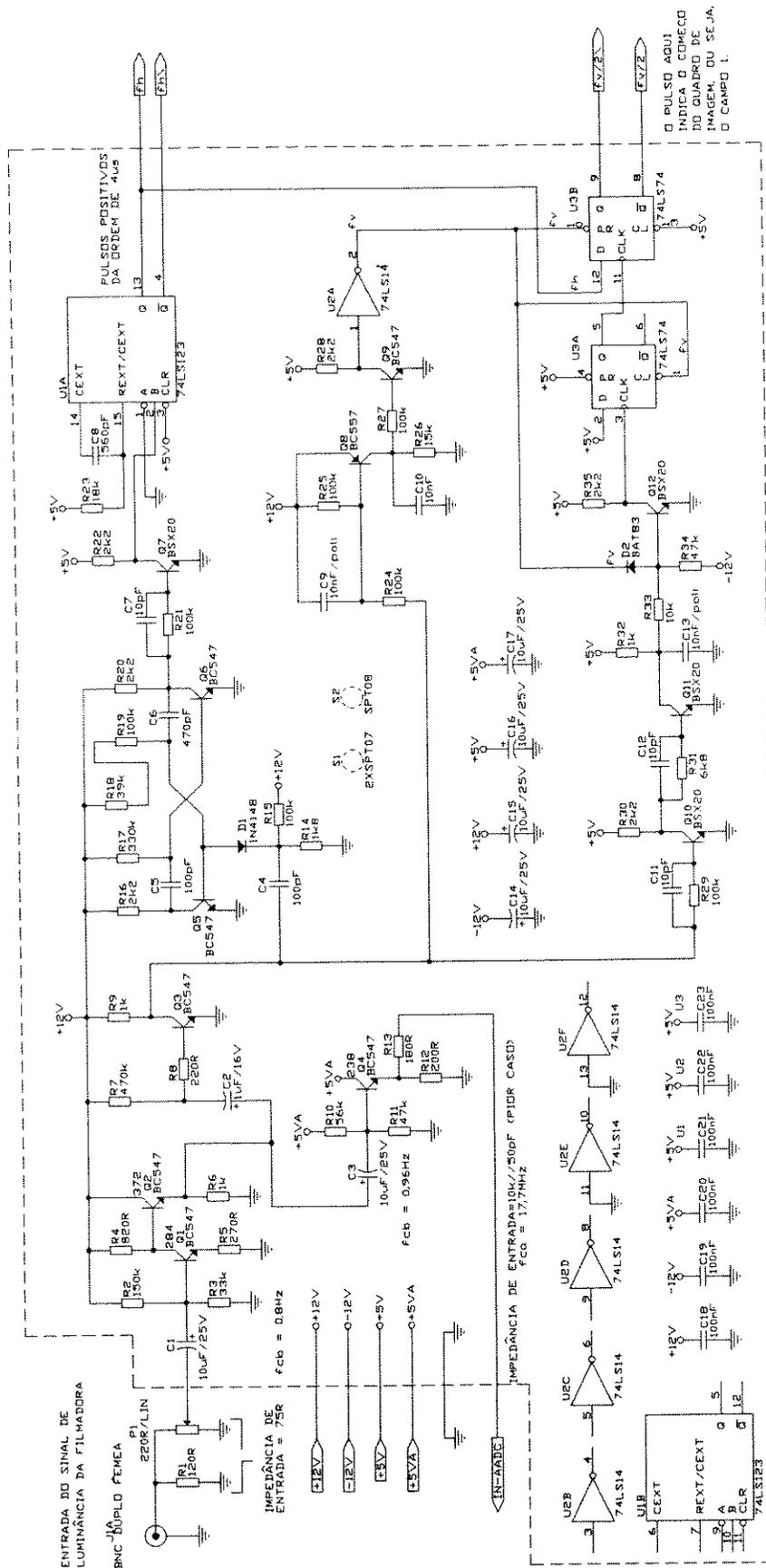


Figura IV.7: Separador de sincronismo e sinal para o sample/hold

polaridade do sinal alternado, o diodo de Q3 é polarizado inversamente e se comporta como um circuito aberto impedindo a descarga do capacitor. Nesta situação a carga armazenada por C2 é somada ao sinal levando o seu nível médio para um valor negativo. Conseqüentemente, na base de Q3 a parte de vídeo ativo do sinal de luminância tem tensão negativa e mantém o transistor no corte. Já os pulsos de sincronismo do sinal de luminância atingem valores positivos suficientes para saturarem o transistor Q3. Resumindo, o transistor Q3 conduz somente na presença dos pulsos de sincronismo bloqueando a parte de vídeo ativo do sinal de luminância.

O resistor R7 fornece para a base de Q3 uma pequena corrente de polarização direta visando facilitar a condução do transistor. E o resistor R8 funciona basicamente como um resistor limitador de corrente para proteger a base de Q3 contra picos de corrente provenientes de Q2. Finalmente o sinal com os pulsos de sincronismo é retirado do coletor de Q3 já devidamente amplificado e invertido.

### Oscilador horizontal

O oscilador horizontal é constituído por um multivibrador astável (Q5 e Q6), sincronizado pelos pulsos do sincronismo horizontal provenientes do sinal do coletor de Q3. Os capacitores C5 e C6 juntamente com os resistores R17, R18 e R19 constituem as constantes de tempo do multivibrador e são dimensionadas para gerar no coletor de Q6 um sinal com período ligeiramente superior ao período do sincronismo horizontal. Os pulsos de sincronismo são aplicados em um circuito diferenciador (C4, R14 e R15) e os pulsos negativos gerados pelas bordas do sinal de sincronismo são aplicados na base de Q5 pelo diodo D1, o que provoca a sincronização do oscilador com a freqüência horizontal do sinal de luminância.

O multivibrador astável não gera os pulsos do sincronismo horizontal com a largura correta e tampouco em níveis TTL para serem usados pelo restante dos circuitos. Desta forma, é seguido por um oscilador monoestável (U1A) que gera os pulsos do sincronismo horizontal ( $f_h$ ) com a largura apropriada de 4  $\mu$ s. Para disparar o oscilador monoestável foi necessário intercalar entre o multivibrador astável e o oscilador monoestável um conversor para níveis TTL.

### Conversor para níveis TTL

Muitos dos circuitos do SECSAD trabalham com níveis TTL, logo existe a necessidade de converter para níveis TTL alguns dos sinais analógicos utilizados pelos circuitos digitais do sistema, como por exemplo os sinais gerados pelo oscilador horizontal e pelo integrador vertical. Estes conversores para níveis TTL são implementados por transistores na configuração emissor

comum (Q7, Q9 ou Q13), que trabalham ou no corte ou na saturação.

### Integrador vertical

O separador de sincronismo também alimenta o integrador vertical (R24, R25, C9 e Q8) que gera o sinal  $f_v$  da frequência vertical. A rede integradora formada por C9 e R24 filtra os pulsos de sincronismo horizontal de frequência mais alta, permitindo que somente os pulsos de sincronismo vertical atinjam amplitude suficiente para polarizar diretamente a base do transistor Q8. O resistor R25 determina uma polarização nula na junção base-emissor de Q8, condição necessária para o funcionamento do circuito.

Para obter um sinal de sincronismo vertical  $f_v$  com pulsos positivos e níveis TTL, é necessário empregar um conversor para níveis TTL (Q9) e um inversor TTL (U2A), desde que os pulsos de entrada do integrador são negativos, sofrem uma inversão no integrador, uma nova inversão no conversor para TTL e uma última inversão no inversor TTL, ficando assim com polaridade positiva.

### Detector do campo 1

O sinal do separador de sincronismo mais os sinais  $f_v$  e  $f_h$  são usados no circuito do detector do campo 1 do quadro de imagem (Q10, Q11, Q12 e U3), para gerar o sinal  $f_v/2$  que leva informação do início do campo 1. A Fig. IV.8 apresenta um diagrama temporal dos sinais do detector do campo 1.

O sinal do separador de sincronismo controla o chaveamento do transistor Q11 e, conseqüentemente, o processo de carga e descarga do capacitor C13, gerando no coletor de Q11 o sinal mostrado na Fig. IV.8. Além disso, a aplicação do sinal  $f_v$  na base de Q12 através do diodo Schottky D2, faz o nível de tensão na base de Q12 ficar abaixo da tensão de  $V_{BE}$  durante a maior parte do tempo. Assim, o sinal do coletor de Q11 só consegue chavear o transistor Q12 durante o período em que o sinal  $f_v$  está em nível alto, gerando apenas alguns pulsos no coletor de Q12 como mostra a Fig. IV.8. Estes pulsos são gerados pelos pulsos equalizadores do sincronismo vertical do sinal de vídeo.

A primeira borda de subida do sinal no coletor de Q12 atua no flip-flop tipo *D*, U3A, gerando uma mudança para nível alto na sua saída *Q*, que retorna para nível baixo com a descida do sinal  $f_v$ . A borda de subida deste pulso vai atuar no segundo flip-flop, U3B, causando uma mudança de estado de acordo com a sua entrada *D*. O sinal  $f_h$  alimenta a entrada *D* de U3B e como

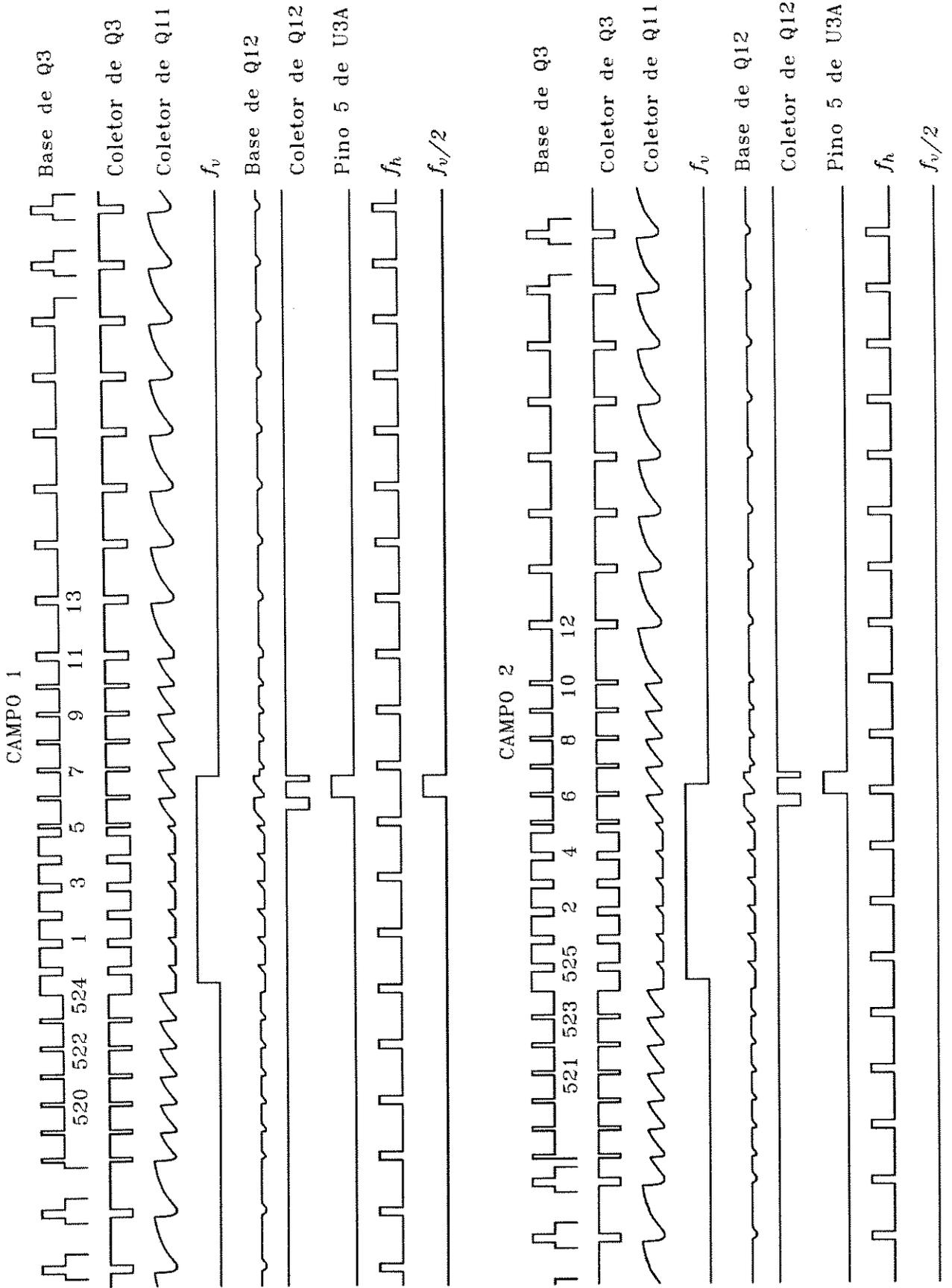


Figura IV.8: Sinais do detector do campo 1

a borda de subida da entrada de clock deste flip-flop é gerada a partir dos pulsos equalizadores<sup>4</sup>. constata-se a existência de níveis diferentes na entrada  $D$  de U3B, no momento da subida do pulso de clock, quando se considera o campo 1 ou o campo 2. No campo 1 a entrada  $D$  apresenta nível baixo e no campo 2 nível alto. Desta forma o sinal da saída  $\bar{Q}$  de U3B é chamado de  $f_v/2$  e contém um pulso alto apenas no campo 1 do quadro de imagem, sendo que a amostragem inicia-se pela linha 7 do campo 1.

### Recuperador da subportadora de cor

O sinal de crominância leva em sua salva (“burst”) da subportadora de cor informação suficiente para a geração de um sinal em fase e com a mesma frequência da subportadora de cor,  $f_{sc}$ , ou seja, é possível recuperar o sinal da subportadora de cor através do sinal de crominância.

Para implementar esta função utiliza-se o circuito integrado TBA540 (U7) bastante comum e conhecido no mercado (ver Fig. IV.9). Este circuito integrado, mais alguns circuitos periféricos implementam um PLL (“phase lock loop”), que utiliza como referência de fase a salva da subportadora de cor do sinal de crominância. Esta salva possui apenas uns 10 ciclos de senóide com a frequência da subportadora de cor e como só se repete a cada período da frequência horizontal, fica evidente que existe um período de tempo longo entre duas salvas consecutivas do sinal de crominância. Como o PLL tem que funcionar apenas com estas salvas como referência de fase, é evidente que o VCO (oscilador controlado por tensão) do PLL deve ter uma estabilidade de frequência muito boa, de forma que a frequência de saída do PLL não varie excessivamente durante o espaço de tempo existente entre duas salvas consecutivas. É por este motivo que o PLL emprega um VCO controlado a cristal.

Para extrair a salva da subportadora de cor do sinal de crominância, emprega-se uma chave MOS (U4) controlada por um sinal gerado a partir do sinal  $f_h$ . O sinal de crominância é aplicado na entrada da chave MOS e esta chave só se abre para a passagem dos trechos do sinal de crominância que contêm a salva da subportadora de cor. Como a salva se situa logo após o pulso de sincronismo horizontal do sinal de luminância, emprega-se o sinal  $f_h$  para se obter o sinal de controle da chave através de um circuito diferenciador (C25 e R38), o qual aproveita o transiente gerado pelo diferenciador na borda de descida do pulso positivo de  $f_h$ , para gerar através do conversor de nível (Q13) um pulso positivo com nível TTL na entrada de controle da chave. Este pulso positivo se situa exatamente sobre a região em que se encontra a salva no sinal de crominância. O diferenciador e o conversor de nível implementam na verdade um atrasador

---

<sup>4</sup>Durante o sincronismo vertical os pulsos equalizadores estão igualmente espaçados, e existem dois pulsos equalizadores para cada período horizontal.

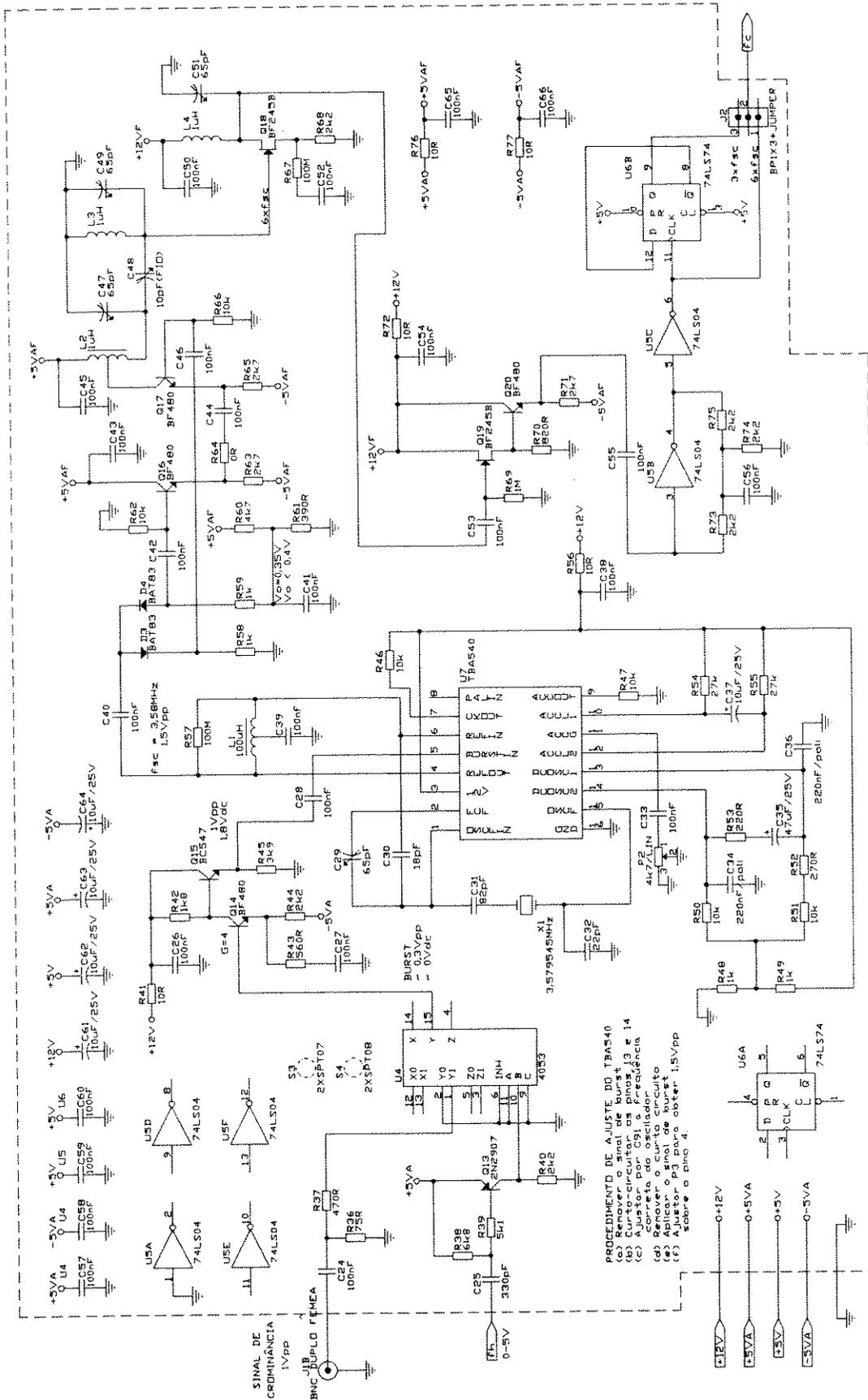


Figura IV.9: Gerador da frequência de amostragem

para o sinal  $f_h$ .

Quando saem da chave MOS as salvas da subportadora de cor têm amplitude de aproximadamente  $0,3 V_{pp}$ , mas o PLL exige que as salvas tenham amplitude da ordem de  $1 V_{pp}$  para poderem ser utilizadas como sua referência de fase. Para satisfazer esta condição as salvas passam por um amplificador (Q14) com ganho de aproximadamente quatro vezes e por um buffer (Q15) que evita que o amplificador tenha a sua saída carregada pelo PLL.

Finalmente o sinal que leva a freqüência da subportadora de cor,  $f_{sc}$ , pode ser retirado no pino 4 de U7 com uma amplitude aproximada de  $1,5 V_{pp}$  ( $f_{sc} \simeq 3,58 \text{ MHz}$ ). Este sinal é utilizado para gerar o sinal  $f_c^*$  usado pelo contador de linha.

### Multiplicador de freqüência – 6 vezes

O sinal da subportadora de cor é utilizado como entrada deste módulo, logo o sinal de saída,  $f_c$ , tem uma freqüência igual a seis vezes a freqüência  $f_{sc}$ . A multiplicação de freqüência é realizada em dois estágios. No primeiro estágio o sinal  $f_{sc}$  é retificado por D3 e D4, o que gera um sinal com o dobro da freqüência  $f_{sc}$ . No segundo estágio multiplica-se a freqüência do sinal retificado por três, através do emprego de um amplificador diferencial (Q16 e Q17) sintonizado na terceira harmônica do sinal retificado. Desta forma a multiplicação total de freqüência é igual a seis.

Junto ao circuito tanque (L2 e C47) do amplificador diferencial se coloca um outro circuito tanque (L3 e C49) acoplado fracamente (C48) ao primeiro circuito tanque. O sinal com a freqüência multiplicada por seis é retirado do segundo tanque. Se o segundo tanque não existisse a amplitude da senóide obtida no primeiro tanque apresentaria um amortecimento exponencial mais acentuado do que com o uso e retirada do sinal no segundo tanque. Este acoplamento fraco entre os dois tanques permite diminuir o amortecimento exponencial da amplitude da senóide gerada.

O sinal obtido no segundo tanque do amplificador diferencial tem amplitude baixa. logo deve ser amplificado e convertido para níveis TTL antes de poder ser usado pelos circuitos digitais do restante do sistema. A amplificação é implementada por um amplificador sintonizado na freqüência do sinal (Q18, L4 e C51), que usa um transistor FET com alta impedância de entrada para não carregar o segundo tanque do amplificador diferencial. O sinal ainda passa por dois buffers (Q19 e Q20) para isolar a parte analógica da parte digital, impedindo “retornos” de sinais digitais para a parte analógica que trabalha com pequenas amplitudes. Também fornecem um sinal forte para alimentar o amplificador construído com um inversor TTL (U5B), cuja função é fazer a conversão para níveis TTL.

### Sincronizador

A Fig. IV.10 apresenta o esquemático da parte digital do sistema. O sincronizador (U19D, U20A e U21B) gera um sinal,  $f_c^*$ , que está em sincronismo com a frequência horizontal  $f_h$ . Este sinal é usado como clock do contador down e determina portanto as posições a serem amostradas sobre as linhas da imagem. As amostras da imagem têm de estar alinhadas na vertical e é por isso que existe a necessidade do sincronismo entre estes dois sinais.

### Contador up

Este contador (U10, U11, U12 e U13) armazena o número da coluna que está sendo amostrada e portanto é incrementado pelo sinal  $f_v/2$  que leva informação sobre o início de cada quadro de imagem<sup>5</sup>. Este contador é programável para permitir que o usuário selecione (SW1 e SW2) o número da coluna da imagem pela qual a amostragem deve começar. O carregamento da coluna inicial pelo contador acontece apenas uma vez no início do processo de amostragem e é efetivado pelo sinal Gate-SAD.

O número mínimo de bits dos contadores é determinado pela quantidade máxima de amostras  $N$  que podem ser realizadas sobre uma linha de imagem, ou seja, pela relação entre a frequência de amostragem e a frequência horizontal,  $N = f_c/f_h \simeq 1360$  amostras, logo são necessários pelo menos 11 bits nos contadores.

### Contador down

A saída do contador up, o número da coluna que está sendo amostrada, é carregada pelo contador down programável (U14, U15, U16 e U17) por um pulso de  $\bar{f}_h$ . Em seguida o sinal de clock deste contador é aplicado e vai decrementando o valor do contador. Quando o contador zera é gerado um pulso no pino 7 de U17. Este pulso indica a posição da amostra sobre a linha de imagem considerada, exatamente na coluna que está sendo amostrada. Este processo se repete a cada pulso de  $\bar{f}_h$ .

### Oscilador monoestável

A borda de subida do pulso gerado no pino 7 de U17 dispara o oscilador monoestável (U18A), o qual é responsável pela geração dos sinais Clock-SAD e Clock-S/H. Estes sinais estão

---

<sup>5</sup>A cada quadro de imagem uma coluna da imagem é amostrada.

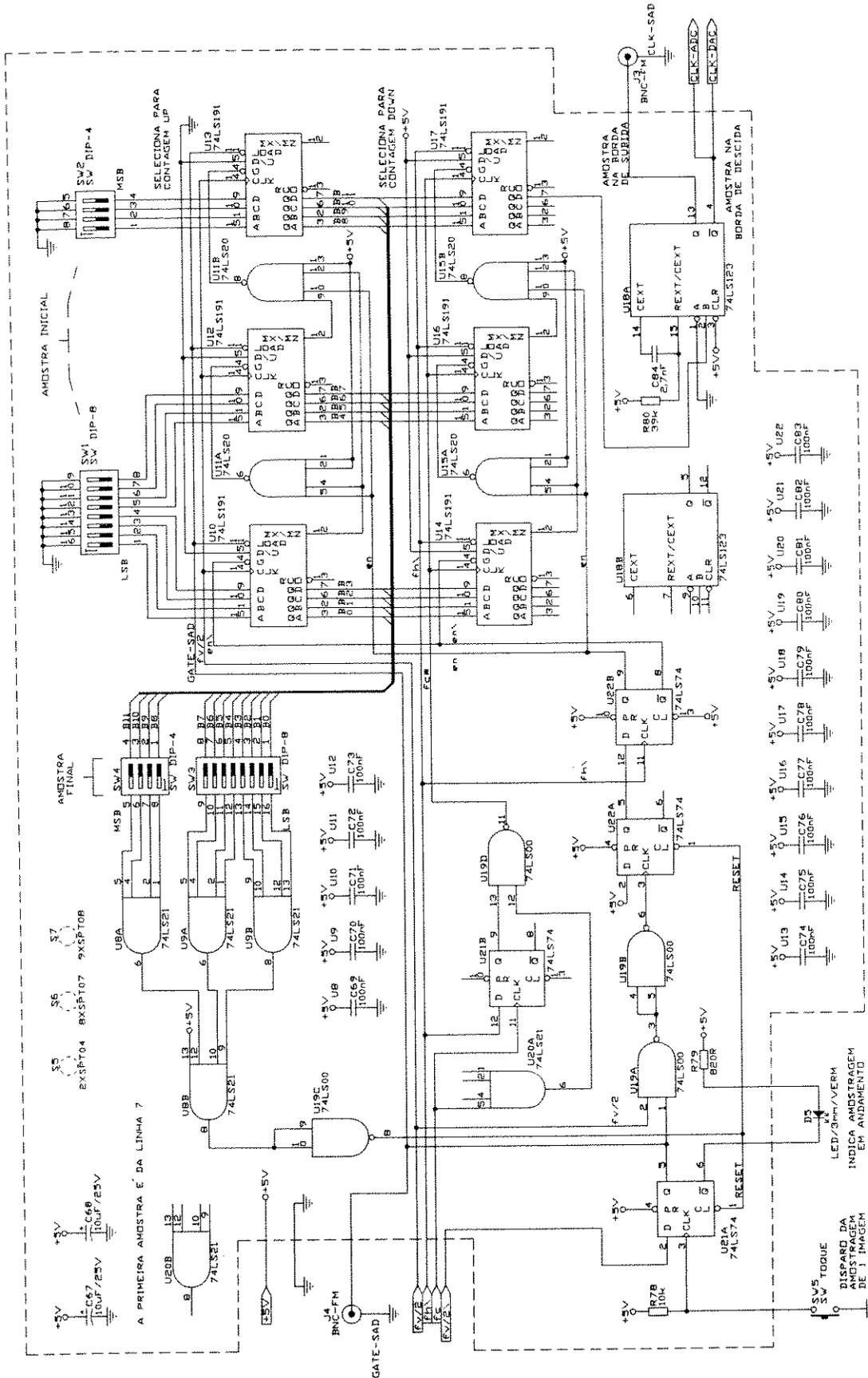


Figura IV.10: Circuitos contadores e de partida

defasados de 180° para evitar que o processo de amostragem do sample-hold interfira no processo de digitalização do SAD.

### Comparador

O comparador (U8 e U9) é responsável pela determinação do final do processo de amostragem de uma imagem, através da geração de um pulso de “reset” para o circuito de controle. Isto é feito pela comparação do número da coluna final a ser amostrada, fornecida pelo usuário através das chaves SW3 e SW4, com o número da coluna que está sendo amostrada e que está armazenada no contador up.

### Unidade de controle

A unidade de controle (U21A, U19A, U19B e U22) é responsável pela geração do sinal Gate-SAD e pela habilitação dos contadores no momento adequado. Também deve interromper o processo de amostragem sob ação do sinal de reset gerado pelo comparador.

### Sample-hold

A Fig. IV.11 apresenta o circuito do sample-hold formado basicamente pelo circuito integrado UVC3120 (U27), o qual possui um conversor A/D de 8 bits do tipo “flash” com tempo de conversão da ordem de 30 ns e um conversor D/A de 12 bits. Neste circuito o A/D realiza a função de sample-hold com saída digital e o D/A tem a função de converter a saída digital do A/D para uma saída analógica necessária para ser amostrada e digitalizada pelo SAD. Note que o conversor A/D só pode funcionar como sample-hold por causa do tempo de amostragem reduzido que apresenta.

A referência de tensão de 2 V do conversor A/D é implementada por um regulador de tensão formado pelo circuito integrado LM723 (U26) numa configuração padrão.

Para proteger e não carregar a saída do conversor D/A utiliza-se um buffer isolador (Q21) entre esta saída e a entrada do SAD. O Sinal-SAD é retirado do emissor de Q21 e esta saída é casada com uma carga de 50 Ohms.

## IV.5.3 Programas para gerar o arquivo imagem no padrão TIFF

A amostragem e digitalização do sinal de uma imagem da câmara de vídeo pelo sistema SECSAD-SAD, resulta na criação de um conjunto de dados na memória do SAD com um padrão

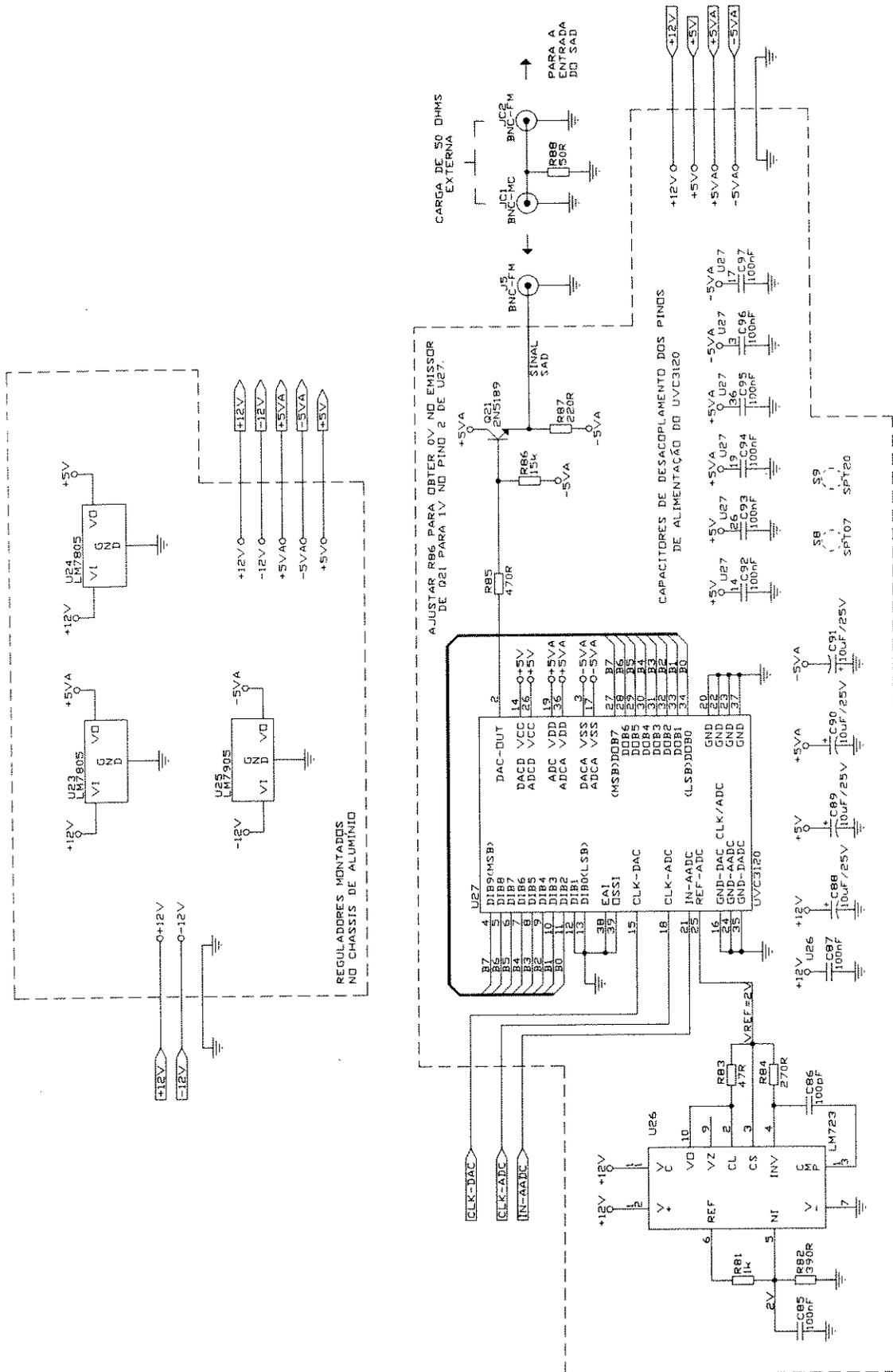


Figura IV.11: Circuitos fonte e sample/hold

conhecido, mas que não está num formato apropriado para ser usado por nenhum programa que manipula imagens e que pode exibir esta imagem no monitor de vídeo do computador. As etapas que devem ser executadas para converter os dados que estão na memória do SAD para um arquivo imagem que segue um padrão aceito por muitos programas comerciais, no caso o padrão TIFF, são os seguintes:

### **1ª Etapa**

O conjunto de dados tem de ser transferido da memória do SAD para um arquivo no microcomputador, via interface serial ou GPIB. O programa de operação do SAD possui comandos específicos para efetuar esta transferência.

### **2ª Etapa**

O arquivo gerado no microcomputador com os dados transferidos do SAD, apresenta o mesmo esquema especial de armazenagem apresentado pela Fig. IV.4. Além disso, é importante observar que o sinal analógico da entrada do SAD (Sinal-SAD) é gerado no SECSAD através de um sample-hold construído com um conversor A/D de 8 bits acoplado a um conversor D/A de 12 bits onde os 4 bits menos significativos estão inativos. Desta última observação conclui-se que os quatro bits menos significativos adicionados pelo SAD nas amostras não são significativos e devem ser removidos. Um programa de computador foi desenvolvido para converter o arquivo com amostras de 12 bits e formato especial fornecido pelo SAD, em um arquivo de amostras de 8 bits com formato padrão binário.

### **3ª Etapa**

As amostras do arquivo de 8 bits estão entrelaçadas entre si, da mesma forma que os campos 1 e 2 de um quadro de imagem de vídeo. Isto ocorre por causa do esquema de amostragem coluna a coluna adotado, onde amostra-se primeiro o campo 1 (linhas ímpares) e em seguida o campo 2 (linhas pares). Além disso, as amostras estão agrupadas coluna a coluna, enquanto que num arquivo de imagem normalmente se usa um agrupamento linha a linha, ou seja, o arquivo começa com as amostras da primeira linha de vídeo depois vêm as amostras da segunda linha e assim até a última linha do quadro de imagem. Neste caso também se desenvolveu um programa de computador que toma o arquivo de 8 bits gerado anteriormente e re-arranja as suas amostras de forma a gerar um arquivo de amostras da imagem com um agrupamento normal das amostras, ou seja, um agrupamento linha a linha.

#### 4ª Etapa

Para poder visualizar num monitor de computador as imagens que foram adquiridas, emprega-se o programa *Aldus PhotoStyler*, que aceita vários padrões de formatação dos arquivos das imagens, tais como os formatos TIFF, GIF, BMP, TARGA, etc. Um programa de computador foi desenvolvido para converter o arquivo de amostras da imagem num arquivo imagem formatado no padrão TIFF.

**Observação 1:** Os programas para executar as funções descritas nos itens acima foram desenvolvidos e implementados em FORTRAN.

**Observação 2:** O padrão de formatação de imagens TIFF empregado nas imagens digitais geradas, é apresentado no Apêndice A com comentários a respeito do seu cabeçalho.

## IV.6 Aquisição das imagens

O aumento da profundidade de campo da imagem de um determinado espécime obtida através do microscópio óptico, só é possível através da aplicação de um processamento adequado das diversas imagens obtidas do mesmo espécime.

Para cada processamento são necessárias duas ou mais imagens do mesmo objeto com ajustes diferentes de focalização. Desta forma, obtém-se imagens que apresentam regiões nítidas (regiões em foco) em posições distintas do objeto. Para que a imagem processada resultante apresente o objeto inteiramente nítido ainda é necessário que seja possível identificar nas imagens individuais adquiridas (chamadas a partir deste ponto de *imagens parciais*) as regiões do objeto que estão completamente em foco.

Com o sistema de aquisição de imagens SECSAD-SAD operando, realizou-se primeiramente a aquisição de imagens macroscópicas, isto é, sem o uso do microscópio, de forma a satisfazer as características especificadas acima para as imagens parciais. Estas primeiras imagens foram muito úteis para o desenvolvimento dos métodos de processamento desenvolvidos no Cap. V e para o desenvolvimento dos programas que implementam estes métodos.

Assim que os métodos e os programas atingiram um bom desempenho com estas primeiras imagens, começou-se a realizar a aquisição de imagens através do microscópio para serem usadas no teste final destes programas. Em contatos com professores do Instituto de Biologia da UNICAMP, conseguiram-se vários espécimes adequados para o trabalho com microscópio óptico. Os espécimes que foram escolhidos para realizar a aquisição das imagens, são espécimes para os quais o microscópio gera imagens em que fica evidente a limitação da profundidade de campo das

objetivas, ou seja, as imagens geradas não apresentam o espécime totalmente nítido no campo visual

O sistema de aquisição de imagens SECSAD-SAD foi utilizado para a aquisição dos dois primeiros grupos de imagens descritos abaixo. Nos demais grupos passou-se a usar o sistema de aquisição de imagens da New Media Graphics, porque este sistema apresenta uma operação mais simples e rápida, aumentando a produtividade do trabalho.

Os dois primeiros grupos de imagens adquiridos com o sistema SECSAD-SAD contém apenas imagens monocromáticas, desde que este sistema de aquisição só estava preparado para realizar a aquisição deste tipo de imagens<sup>6</sup>. O terceiro grupo de imagens, apesar de ter sido adquirido com o sistema da New Media Graphics, é ainda monocromático porque neste ponto do trabalho ainda não se estava considerando o processamento de imagens coloridas. Só a partir do quarto grupo de imagens passou-se a empregar imagens coloridas nos processamentos.

#### **IV.6.1 Grupos de imagens macroscópicas obtidas com a objetiva normal da câmara**

Estes grupos de imagens foram obtidos principalmente para serem usados no desenvolvimento e nos testes dos métodos e dos programas implementados. Foram adquiridos dois grupos de imagens de dois objetos simples e com poucos detalhes. Estas características aliadas a um posicionamento adequado dos objetos, permitem que se possa ter uma idéia da posição aproximada das fronteiras de nitidez, facilitando muito a avaliação do desempenho dos métodos.

Constatou-se inicialmente que as imagens não estavam em registro<sup>7</sup> perfeito e que também não estavam na mesma escala. Isto pode ser explicado pelo movimento das lentes internas da objetiva da câmara, o qual é necessário para focalizar as várias partes desejadas dos objetos que também apresentavam dimensões macroscópicas. A solução foi considerar uma das imagens parciais como referência e então proceder nas outras imagens as correções necessárias. Com este objetivo foi desenvolvido um programa para acertar o fator de escala das imagens. Na verdade implementou-se uma técnica de restauração de imagens baseada numa transformação espacial (Seção II.3.7), seguida de uma interpolação espacial de ordem-zero (Seção II.2.8). Os movimentos de translação e/ou rotação puderam ser corrigidos com as ferramentas do programa Photostyler

---

<sup>6</sup>O sistema SECSAD-SAD poderia realizar aquisições de imagens coloridas mediante o uso de filtros apropriados, no entanto o LPS não dispõe de tais filtros.

<sup>7</sup>Estar em registro significa que qualquer ponto que possa ser identificado em mais de uma imagem parcial deve apresentar as mesmas coordenadas espaciais, ou seja, duas imagens estão em registro quando se sobrepõem ponto-a-ponto.

utilizado na visualização das imagens.

### Texto

Este grupo de imagens é formado por duas imagens parciais de um texto impresso. As imagens foram adquiridas com a folha posicionada de forma a ficar inclinada em relação ao plano focal da câmara. O texto, devido à inclinação, não aparece totalmente nítido em nenhuma das duas imagens. A primeira imagem parcial (Fig. V.3) focaliza a metade superior e, portanto, a nitidez do texto é máxima nesta região diminuindo gradualmente à medida que se caminha para a parte inferior da folha. A segunda imagem parcial (Fig. V.4) tem seu foco sobre a metade inferior da folha de forma que a nitidez do texto é máxima nesta região, diminuindo à medida que se caminha em direção à parte superior.

Estas imagens foram adquiridas com  $1118 \times 484$  pixels e após as correções de registro ficaram com  $1101 \times 476$  pixels.

### Parafuso allen

Este grupo de imagens é formado por três imagens parciais de um parafuso allen com uma porca parcialmente atarrachada. O parafuso também foi posicionado de forma a ficar inclinado em relação ao plano focal da câmara. Foi realizada a aquisição das três imagens parciais, cada uma com a sua nitidez máxima em uma determinada região do parafuso. A primeira imagem tem a nitidez máxima na cabeça do parafuso, a segunda na região central do parafuso e a terceira na ponta do parafuso. A Fig. V.9 exibe como ilustração a primeira imagem parcial adquirida.

Estas imagens foram adquiridas com  $1118 \times 484$  pixels e após as correções de registro ficaram com  $1101 \times 481$  pixels.

## IV.6.2 Grupos de imagens obtidas com o microscópio

Estes grupos foram adquiridos com o objetivo básico de comprovar o bom funcionamento dos métodos de processamento desenvolvidos e também para se adquirir uma sensibilidade a respeito do alcance do trabalho.

Nestes casos não foram constatados problemas de registro entre as imagens parciais e tampouco problemas de fator de escala. Isto pode ser explicado pelo pequeno deslocamento realizado pela objetiva entre as diversas imagens do objeto, o qual apresenta dimensões muito pequenas. Desta forma, todas as imagens adquiridas a partir deste ponto têm a mesma quantidade de pixels:  $624 \times 472$  pixels.

### Agulha de toca-disco de 78 rpm

Este grupo é formado por sete imagens parciais de uma agulha de toca-disco, que foi posicionada de forma a ficar relativamente inclinada em relação ao plano focal da objetiva do microscópio, permitindo uma observação em perspectiva da agulha. Na primeira imagem parcial o plano focal está sobre a ponta da agulha. Este plano focal vai descendo nas imagens sub-seqüentes até atingir a base da agulha na sétima imagem. A Fig. V.12 exhibe esta sétima imagem parcial. O espaçamento entre as posições do plano focal foi estabelecido de acordo com a profundidade de campo fornecida pela objetiva e também para que houvesse uma pequena sobreposição das regiões nítidas de uma imagem, com as regiões nítidas das imagens adjacentes<sup>8</sup>. Para satisfazer esta condição, o passo entre as imagens deste grupo é de 0,1 mm. Estas distâncias são medidas ao longo do eixo do microscópio. A objetiva utilizada tem potência de ampliação de 5X e abertura numérica igual a 0,1, o que resulta em imagens no monitor com ampliação de aproximadamente 100X.

### Aranha

O espécime utilizado para este grupo de imagens é uma aranha de aproximadamente 4 mm de comprimento. Com o espécime posicionado e iluminado adequadamente realizou-se a aquisição de nove imagens coloridas, com espaçamento entre imagens de 0,1 mm. Usou-se a mesma objetiva de 5X, resultando numa ampliação de aproximadamente 100X para a imagem visualizada no monitor. A Fig. V.14 exhibe como ilustração a quarta imagem parcial adquirida.

### Estigma da flor da *Petúnia Exserta*

Foram adquiridas sete imagens do estigma com espaçamento de 0,1 mm usando a objetiva de 5X. A ampliação obtida foi de aproximadamente 100X para a imagem visualizada no monitor. A Fig. V.16 exhibe a quinta imagem parcial adquirida.

### Estigma da flor da *Petúnia Axillaris*

Para o estigma da flor da *Petúnia Axillaris* foram adquiridas onze imagens com espaçamento de 0,1 mm usando a objetiva de 5X. A ampliação obtida foi de aproximadamente 100X para a imagem visualizada no monitor. A Fig. V.18 exhibe a nona imagem parcial adquirida.

---

<sup>8</sup>As imagens adjacentes a uma imagem do conjunto, correspondem às imagens localizadas na posição espacial imediatamente anterior e imediatamente posterior à imagem considerada.

### Semente da *Petúnia Axillaris*

Para a semente da planta *Petúnia Axillaris* foram adquiridas dez imagens com um passo de  $30 \mu\text{m}$ . Usando a objetiva de 5X e um tubo extensor no acoplamento mecânico da câmara com o microscópio, conseguiu-se uma ampliação maior do que 100X para a imagem visualizada no monitor do computador. O tubo extensor foi necessário para obter uma ampliação intermediária entre as ampliações obtidas com as objetivas disponíveis de 5X e 10X, desta forma conseguiu-se que a semente ocupasse boa parte do campo visual. A Fig. V.20 exhibe a quarta imagem parcial adquirida.

### Detalhe da semente da *Petúnia Axillaris*

Usando uma objetiva com potência de ampliação de 20X e abertura numérica de 0,4, obtiveram-se 44 imagens de uma pequena região da superfície desta semente. O espaçamento entre as imagens é de  $5 \mu\text{m}$  e a ampliação obtida foi de aproximadamente 400X para a imagem na tela do monitor. A grande quantidade de imagens necessárias é explicada pela pequena profundidade de campo apresentada pela objetiva de 20X e pelo relevo da região da superfície da semente que está sendo observada. A Fig. V.22 exhibe a trigésima imagem parcial adquirida.

## IV.7 Resultados

As imagens obtidas com o sistema de aquisição de imagens estáticas desenvolvido neste capítulo (o sistema SECSAD-SAD), foram apresentadas na Seção IV.6.1 e foram utilizadas nos processamentos indicados no Cap. V. Durante a fase de testes do sistema também foram digitalizados sinais de um gerador de padrões de vídeo e muitas outras imagens da câmara.

A Fig. IV.12 apresenta uma fotografia da implementação física do sistema SECSAD e a Fig. IV.13 apresenta uma fotografia do sistema SECSAD acoplado ao SAD e ao conjunto câmara de vídeo/microscópio.

A seguir apresenta-se algumas observações a respeito do funcionamento do sistema de aquisição de imagens SECSAD-SAD:

- A câmara de vídeo no modo de foco automático apresenta uma leve “vibração” na focalização da imagem. Esta vibração é introduzida pelo algoritmo interno de focalização da câmara, como meio de detectar se a imagem está em foco ou não. Logo este modo de focalização deve ser evitado durante o processo de aquisição de imagens com o sistema. Este efeito desaparece quando é removida a objetiva da câmara.

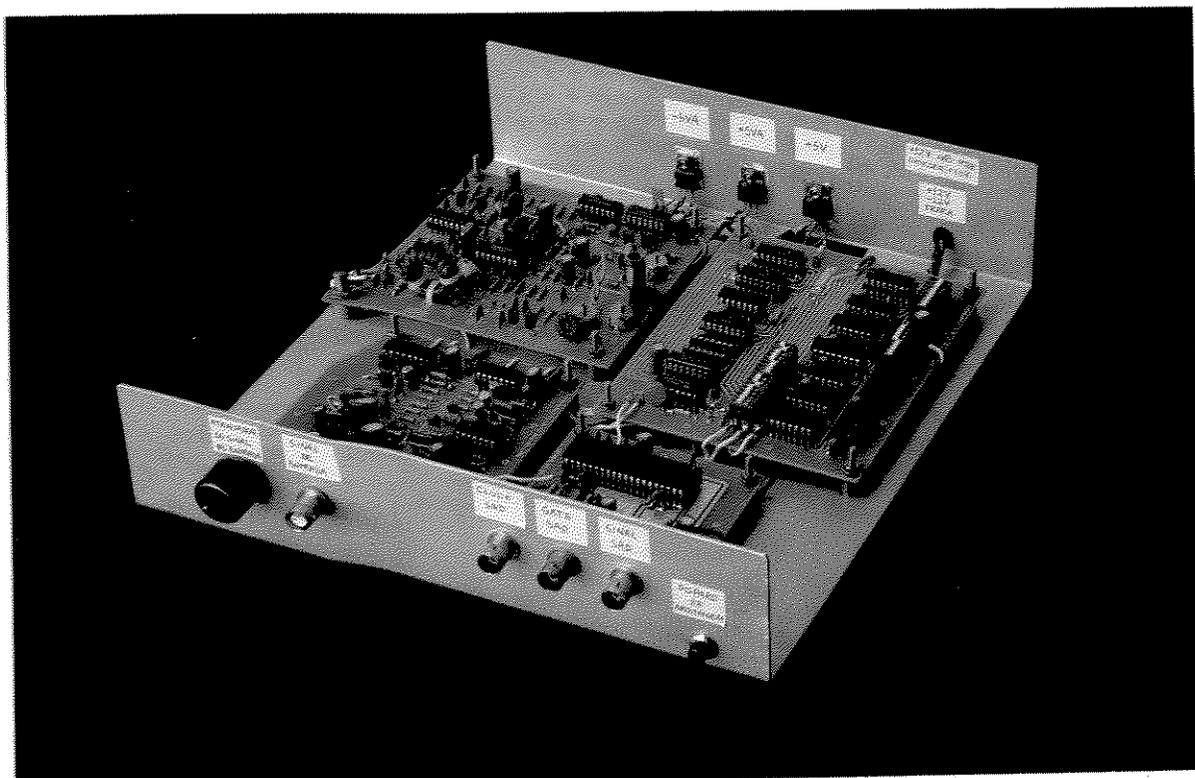


Figura IV.12: O sistema SECSAD

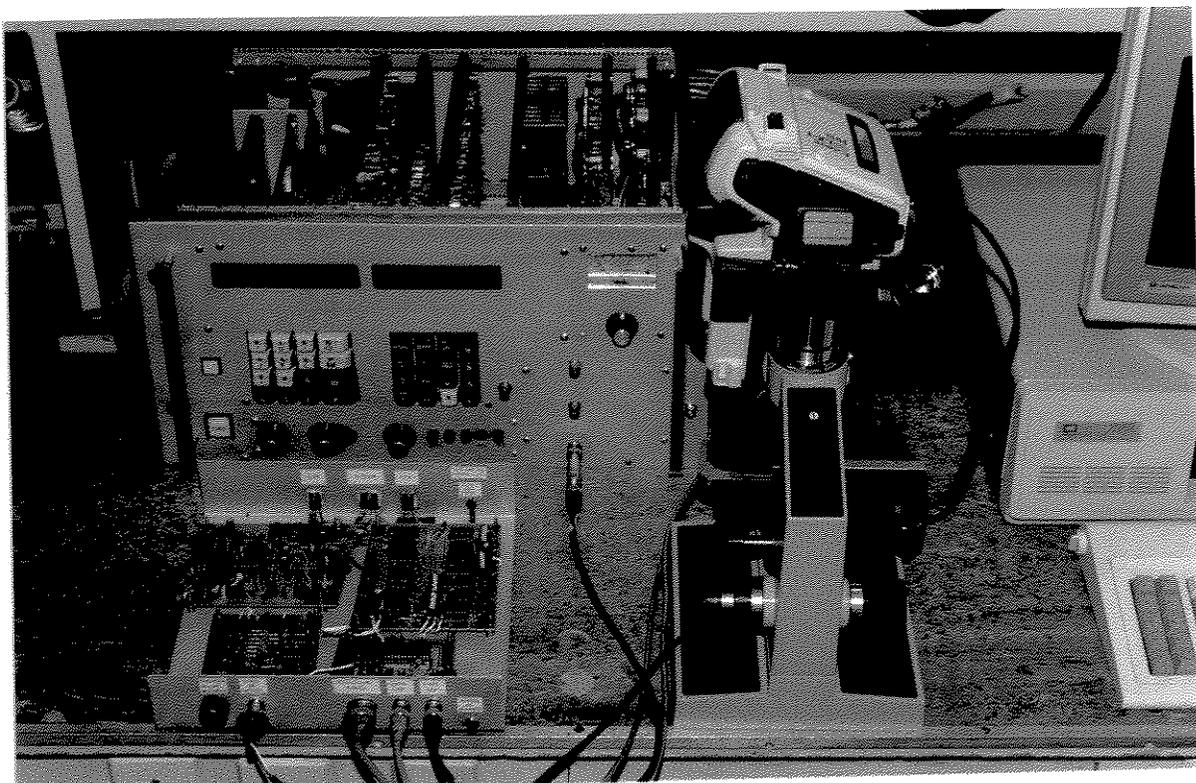


Figura IV.13: Montagem do sistema de aquisição de imagens com o SECSAD

- Também constatou-se que a câmara de vídeo no modo de imagem congelada exhibe apenas um dos campos do quadro de imagem, ou seja, tanto o campo 1 como o campo 2 são iguais. Talvez esta característica seja empregada como forma de economizar memória rápida. (necessária para que a câmara realize a amostragem da imagem a ser congelada) e com conseqüente economia da corrente da bateria. Também deve-se evitar este modo de operação durante a aquisição de imagens com o sistema.
- As imagens obtidas com este sistema foram consideradas de boa qualidade e suficientes para o prosseguimento do trabalho.

### IV.7.1 Discussão dos limites de resolução do sistema

Esta seção realiza uma discussão em cima de aspectos da resolução, procurando determinar se existe algum componente do sistema de aquisição de imagens que limita a resolução oferecida pela objetiva do microscópio.

#### Resolução do sinal de vídeo

É comum em televisão especificar a resolução alcançada em termos da capacidade de exibição de linhas, tanto na horizontal como na vertical. Se o tubo da televisão consegue exibir em alguma direção, por exemplo, 160 linhas brancas alternadas com 160 linhas pretas, então se diz que o tubo tem uma resolução nesta direção de 320 linhas.

Em televisão o número de linhas distintas,  $N$ , que se consegue exibir na direção horizontal está diretamente relacionado com a faixa do sinal de vídeo,  $B$ , de acordo com a expressão abaixo:

$$B = \frac{N}{107 \times 10^{-6}} \quad (IV.1)$$

O número de linhas da resolução horizontal do sinal de vídeo da câmara foi medido experimentalmente com um osciloscópio e obteve-se  $N \simeq 570$  linhas. Logo a faixa do sinal de vídeo calculada pela expressão acima é aproximadamente de 5,4 MHz.

Na direção vertical existe um número discreto de posições de linhas que podem ser exibidas, diferentemente do que ocorre na direção horizontal onde não existem posições definidas para se exibir uma linha, o sinal é contínuo sobre uma linha. Então o número de linhas que se pode exibir na direção vertical está relacionado com o número de linhas do padrão de vídeo empregado e com o diâmetro do feixe de elétrons do tubo. A exibição de um padrão de barras

como o da Fig. IV.14, pode não ser perfeita em televisão se a largura das barras forem da mesma ordem de grandeza do feixe de elétrons. Nesta situação pode ocorrer que as barras que devam ser exibidas caíam exatamente entre duas linhas de varredura e desta forma o padrão de barras não seria exibido. É óbvio que esta situação ocorre dependendo da posição relativa do padrão de barras.

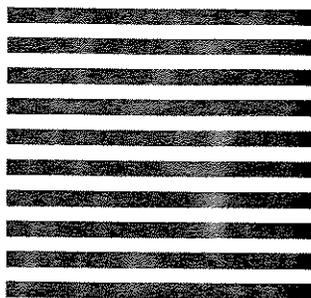


Figura IV.14: Padrão de barras

Com base neste problema a literatura estabelece um fator experimental, chamado de *fator experimental de Kell*, para se determinar o número de linhas efetivas que um tubo de televisão é capaz de exibir sem apresentar o problema descrito no parágrafo anterior. Este número de linhas efetivas é uma parcela do número de linhas de varredura do padrão de vídeo empregado.

Então supondo que a câmara produza um sinal de vídeo com 494 linhas ativas, calcula-se a sua resolução efetiva na direção vertical multiplicando-se este número pelo fator de Kell que é igual a 0,7. Então o sinal de vídeo fornecido pela câmara tem uma resolução de 570 linhas horizontais por 346 linhas verticais.

### Resolução do CCD

O CCD da câmara de vídeo satisfaz a relação de aspecto da televisão de 4/3 e tem uma dimensão física de 1/2 polegada na diagonal, no entanto, a parte útil do CCD que contém os pixels ativos (são 380.000 pixels) tem as dimensões e disposição de pixels exibida na Fig. IV.15.

Mesmo possuindo  $768 \times 494$  pixels o CCD não consegue, pelos mesmos motivos apresentados no caso da resolução vertical do sinal de vídeo, atingir uma resolução de  $768 \times 494$  linhas. Como o CCD é discreto nas duas dimensões, a sua resolução efetiva é calculada aplicando-se o fator experimental de Kell no número de pixels das duas dimensões. Assim a resolução do CCD é de  $538 \times 346$  linhas.

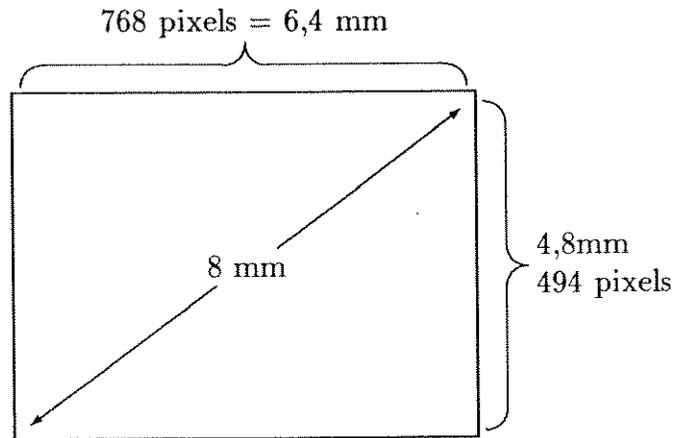


Figura IV.15: Dimensões e número de pixels da parte útil do CCD

### Resolução das objetivas

A Eq. (I.6) reproduzida abaixo é utilizada para calcular a resolução oferecida pelas objetivas do microscópio. O resultado deste cálculo considerando o comprimento de onda da luz verde, ou seja,  $\lambda = 0,55 \mu\text{m}$ , é apresentado na Tab. IV.1 junto com outras características destas objetivas.

$$d_{\min} = \frac{0,61\lambda}{AN}, \quad (\text{IV.2})$$

Tabela IV.1: Características das objetivas

Ampliação	AN	Distância focal [mm]	$d_{\min}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$d'_{\min}$ [ $\mu\text{m}$ ]
5X	0,1	34,0	3,36	16,78
10X	0,2	17,0	1,68	16,78
20X	0,4	8,5	0,84	16,78
40X	0,65	4,3	0,52	20,65
100X	1,3	1,7	0,26	25,81

Supondo que o CCD da câmara de vídeo ocupa exatamente a posição do plano focal da ocular, então a grandeza  $d_{\min}$  medida no espaço-objeto tem uma grandeza correspondente no espaço-imagem chamada de  $d'_{\min}$  e que é medida sobre o plano focal da ocular, sobre o CCD.

As dimensões físicas do CCD definem o campo visual observado nas imagens e como o CCD está sobre o plano focal da ocular, pode-se calcular as dimensões correspondentes do campo

visual no espaço-objeto levando-se em conta a ampliação da objetiva. Com estas dimensões, considerando que a resolução dada pelas objetivas definem duas linhas de resolução e observando que a objetiva é um dispositivo analógico<sup>9</sup>, então pode-se calcular a resolução fornecida pelas objetivas para o campo visual definido pelo CCD. Os valores calculados estão na Tab. IV.2.

Tabela IV.2: Resolução fornecida pelas objetivas para o campo visual definido pelo CCD

Ampliação	Campo visual no espaço-objeto definido pelas dimensões do CCD de $6,4 \times 4,8$ mm [ $\mu\text{m}$ ]	Resolução fornecida pela objetiva em número de linhas
5X	$1280 \times 960$	$763 \times 572$
10X	$640 \times 480$	$763 \times 572$
20X	$320 \times 240$	$763 \times 572$
40X	$160 \times 120$	$620 \times 465$
100X	$64 \times 48$	$496 \times 372$

### Resolução das placas digitalizadoras

A resolução apresentada nas imagens geradas pelos digitalizadores é facilmente calculada aplicando-se o fator de Kell sobre o número de pixels destas imagens. O sistema digitalizador SECSAD-SAD gera imagens com até 1149 pixels na direção horizontal<sup>10</sup>, logo sua resolução será de  $804 \times 346$  linhas<sup>11</sup>. E a placa digitalizadora da New Media Graphics gera imagens com 624 pixels na direção horizontal, logo sua resolução será de  $436 \times 346$  linhas.

### IV.7.2 Conclusões

A Tab. IV.3 apresenta as perdas de resolução para as várias etapas dos sistemas de aquisição de imagens considerados. As perdas estão em porcentagem da resolução inicialmente fornecida pelas objetivas.

Os sistemas de aquisição de imagens geram imagens com perdas da resolução fornecida pelas objetivas de até 40 %. As maiores perdas ocorrem na direção vertical por causa do limite

<sup>9</sup>Isto indica que não é necessário aplicar o fator de Kell sobre o número de linhas calculadas

<sup>10</sup>Este número de pixels é dado pela divisão do período de tempo da linha ativa pelo período da frequência de amostragem  $f_c$ .

<sup>11</sup>A resolução vertical é a mesma do sinal de vídeo já calculada anteriormente.

Tabela IV.3: Perdas da resolução fornecida pelas objetivas

Objetiva considerada	Para o CCD da câmara de vídeo	Para a placa digitalizadora	
		SECSAD-SAD	New Media Graphics
5X	29,5 × 39,5 %	29,5 × 39,5 %	42,9 × 39,5 %
10X	29,5 × 39,5 %	29,5 × 39,5 %	42,9 × 39,5 %
20X	29,5 × 39,5 %	29,5 × 39,5 %	42,9 × 39,5 %
40X	13,2 × 25,6 %	13,2 × 25,6 %	29,7 × 25,6 %
100X	0 × 7 %	0 × 7 %	12,1 × 7 %

de linhas do padrão de vídeo que está sendo utilizado. No entanto é possível reduzir ou até mesmo eliminar estas perdas de resolução, apenas afastando o CCD do plano focal da ocular. Esta operação torna a potência de ampliação fornecida pela objetiva maior do que o valor gravado no seu corpo e, conseqüentemente, diminui o campo visual observado no espaço-objeto, ou seja, haverá um número menor de linhas no campo visual observado, desde que a resolução fornecida pela objetiva continua a mesma. Se a redução de linhas obtidas com o afastamento do CCD do plano focal da ocular for suficiente, pode-se obter um sistema de aquisição de imagens que não introduz perdas de resolução.

Também se observa que o limite da faixa de freqüência do sinal de vídeo gerado pela câmara não diminui a resolução apresentada pelo CCD da câmara.

A resolução das objetivas obtidas com a Eq. (IV.2) é o limite teórico. Na prática, a resolução é sempre menor. Desta forma, a perda da resolução fornecida pelas objetivas pode ser considerada um pouco menor do que foi calculado, o que leva a conclusão de que as imagens obtidas são boas com uma perda de resolução que não compromete a qualidade das imagens obtidas.

# Capítulo V

## Processamento das Imagens do Microscópio

### V.1 Introdução

Uma das principais limitações dos microscópios ópticos é a geração de imagens com uma profundidade de campo muito pequena. Esta limitação torna a observação de espécimes volumosos muito cansativa para o microscopista e dificulta, ou impede em muitos casos, a realização de gravações fotográficas da região de interesse do espécime. Por causa desta limitação, muitas vezes o microscopista é obrigado a usar, quando possível e disponível, uma técnica mais cara como a microscopia eletrônica de varredura, mas que atinge uma profundidade de campo maior.

A técnica de processamento digital de imagens proposta neste capítulo, foi desenvolvida para diminuir ou eliminar o problema da pequena profundidade de campo obtida com o microscópio óptico. Além disso, o microscopista tem condições para selecionar a profundidade de campo desejada para a imagem de saída, sendo possível obter imagens com o espécime totalmente em foco.

Sem dúvida esta técnica pode ampliar a faixa de aplicações do microscópio óptico, trazendo inclusive algumas vantagens importantes para o microscopista, como a obtenção de imagens coloridas com profundidade de campo grande, custo menor e outras.

### V.2 Concepção da técnica

A pequena profundidade de campo da imagem fornecida pelo microscópio óptico, impede em muitos casos a observação do espécime todo em foco. Esta limitação obriga o micros-

copista a implementar um processo de “subir e descer” a objetiva (conseqüentemente o plano focal), para poder observar a região de interesse do espécime. Este processo fornece uma grande quantidade de informação visual ao microscopista, permitindo-lhe elaborar uma imagem mental do espécime. No entanto, esta imagem não existe fisicamente e não pode ser gravada por meios técnicos, o máximo que se consegue é tentar desenhá-la, sendo que o resultado depende muito da capacidade de percepção e da habilidade artística do microscopista.

O processo de concepção mental da imagem realizada pelo microscopista motivou o desenvolvimento de uma técnica para realizar este trabalho rotineiramente e com mais confiabilidade, de forma a poupar o observador para tarefas mais importantes como a análise das imagens geradas.

Toda imagem gerada pelo microscópio óptico possui uma profundidade de campo (ainda que pequena), ou seja, haverá sempre uma pequena “fatia” do espécime que aparece nítida na imagem. Esta característica é a base da técnica concebida como será visto a seguir.

Parte-se da aquisição de um conjunto de imagens de um espécime, de forma que cada imagem deste conjunto corresponda a uma posição diferente do plano focal da objetiva, ou seja, cada imagem contém uma região diferente do espécime que aparece nítida. E além disso, supõe-se que as regiões que aparecem nítidas em cada imagem deste conjunto, tocam as regiões nítidas das suas imagens adjacentes. Então, pode-se gerar uma imagem do espécime com uma profundidade de campo maior do que a fornecida pela objetiva, através de um processo que “recorta” as regiões nítidas de cada imagem do conjunto de imagens definido acima e as agrupa para formar uma nova imagem do espécime. A posição espacial que cada região nítida ocupava na sua imagem original é mantida na imagem gerada.

Assim a imagem gerada poderá ter uma profundidade de campo igual a  $N$  vezes a profundidade de campo da objetiva, onde  $N$  é o número de imagens do conjunto definido acima.

### **V.3 Procedimento para aplicar a técnica proposta**

A aplicação da técnica proposta envolve algumas operações preliminares, comuns para um microscopista, como a preparação do espécime, o seu posicionamento adequado no microscópio, o fornecimento de iluminação adequada e a determinação do poder de ampliação da objetiva a ser usada. Na aplicação da técnica propriamente dita devem ser realizadas as seguintes operações adicionais:

1. Determinar a região do espécime que será observada e então verificar qual a profundidade de campo necessária para que esta região apareça totalmente nítida na imagem. Na verdade

precisa-se determinar a posição da imagem inferior e da imagem superior do conjunto de imagens a ser adquirido. Um registro numérico da posição destas imagens é obtido através da graduação existente no mecanismo micrométrico.

2. Conhecendo a distância entre a imagem inferior e a imagem superior, determinar o número de imagens igualmente espaçadas que será necessário adquirir neste intervalo, ou seja, deve-se determinar o passo (a distância entre imagens adjacentes) que será utilizado no mecanismo micrométrico para obter as imagens que serão adquiridas. Para determinar este passo existem dois caminhos que podem ser seguidos.

O primeiro caminho consiste em adotar um passo e observar as imagens que seriam geradas por este passo. A inspeção visual de imagens adjacentes, permite constatar se as regiões nítidas em uma imagem estão se sobrepondo às regiões que são consideradas nítidas nas imagens adjacentes. Se houver uma pequena sobreposição, este passo é realmente adotado para a aquisição das imagens. Se a sobreposição for muito grande o passo pode ser aumentado para diminuir o número de imagens a serem adquiridas e processadas. E se não houver sobreposição, então é necessário diminuir o passo.

No segundo caminho, o passo é feito igual à profundidade de campo  $D$  dada pela Eq. (I.9) reproduzida abaixo,

$$D = \frac{0,61\lambda(n^2 - AN^2)^{1/2}}{AN^2}. \quad (V.1)$$

Como foi visto na Seção I.8, a profundidade de campo dada por esta equação usa um critério de focalização bastante rigoroso, assim esta relação pode produzir um passo menor do que o necessário e aumentar demasiadamente o número de imagens a serem adquiridas e processadas.

Na aquisição dos grupos de imagens descritos na Seção IV.6.2, empregou-se a inspeção visual para determinar o passo adequado entre as imagens. Assim, com a objetiva de 5 aumentos ( $AN = 0,1$ ) adotou-se um passo de  $100 \mu\text{m}$  e com a objetiva de 20 aumentos ( $AN = 0,4$ ) adotou-se um passo de  $5 \mu\text{m}$ . Observe que para  $\lambda = 0,550 \mu\text{m}$  (luz verde), a profundidade de campo calculada para cada uma destas objetivas através da Eq. (V.1) é:

$D = 33 \mu\text{m}$  para a objetiva de 5 aumentos e

$D = 1,9 \mu\text{m}$  para a objetiva de 20 aumentos.

Assim, determinou-se uma relação empírica entre o passo utilizado por inspeção visual e o sugerido pela resolução teórica:

$$Passo = k \cdot D, \quad (V.2)$$

onde  $k \simeq 2,5$ . O número de imagens  $N$  que precisam ser adquiridas é dado pela relação:

$$N = L/Passo, \quad (V.3)$$

onde  $L$  é a distância entre a imagem inferior e a imagem superior.

3. Usando um sistema de aquisição de imagens proceder a digitalização de cada uma das imagens do conjunto de imagens definido anteriormente. Este procedimento foi apresentado no Cap. IV.
4. Finalmente aplicar sobre o conjunto de imagens adquiridas, um dos dois métodos de processamento de imagens propostos para esta técnica. Esta etapa gera uma imagem de saída com a profundidade de campo ampliada, em relação à profundidade de campo fornecida pela objetiva e esta imagem está pronta para ser visualizada no monitor do computador.

## V.4 Métodos propostos

Para a técnica de processamento digital de imagens apresentada acima, foram propostos, desenvolvidos e avaliados dois métodos de processamento digital de imagens. Estes métodos trabalham com mais de uma imagem de entrada, gerando, a partir destas, uma imagem processada (ou de saída), que deve reunir todas as partes nítidas das imagens parciais.

Analisando uma imagem como um sinal bidimensional, sabe-se que as regiões que apresentam bordas, contornos e partes nítidas são ricas em componentes de alta frequência. Este é o conhecimento básico utilizado no desenvolvimento dos métodos propostos.

Observação: Os projetos dos filtros digitais citados nas próximas seções podem ser encontrados no Apêndice B.

### V.4.1 Método 1: derivado do mascaramento não-nítido

O método 1 tem alguma semelhança com o método de mascaramento não-nítido já discutido na Pág. 54. Como foi visto, este método é aplicado sobre uma única imagem, com o

objetivo de destacar bordas e/ou formas contidas nesta imagem. Um diagrama de blocos que representa o mascaramento não-nítido foi apresentado na Fig. II.2.

No mascaramento não-nítido gera-se a partir da imagem original uma imagem embaçada. A imagem processada é obtida pela subtração de uma fração da imagem embaçada da imagem original. Como foi visto, este processo enfatiza relativamente as componentes de alta-freqüência, já que atenua as componentes de baixa-freqüência.

Como as regiões nítidas de uma imagem são ricas em componentes de alta freqüência, e como deseja-se obter um método que seja capaz de juntar as regiões nítidas de duas imagens diferentes, então formula-se um método baseado na seguinte idéia: como as regiões nítidas das imagens de entrada situam-se em posições diferentes, a imagem a ser gerada será formada pela soma das componentes de alta freqüência das duas imagens de entrada e pela média aritmética das componentes de baixa freqüência das imagens de entrada.

Para separar as componentes de alta e baixa freqüência das imagens de entrada, utiliza-se a idéia apresentada pelo mascaramento não-nítido. Esta idéia tem a vantagem de usar apenas um filtro passa-baixas, logo o custo computacional será pequeno. Para o caso de duas imagens de entrada o processamento é realizado de acordo com o diagrama de blocos da Fig. V.1.

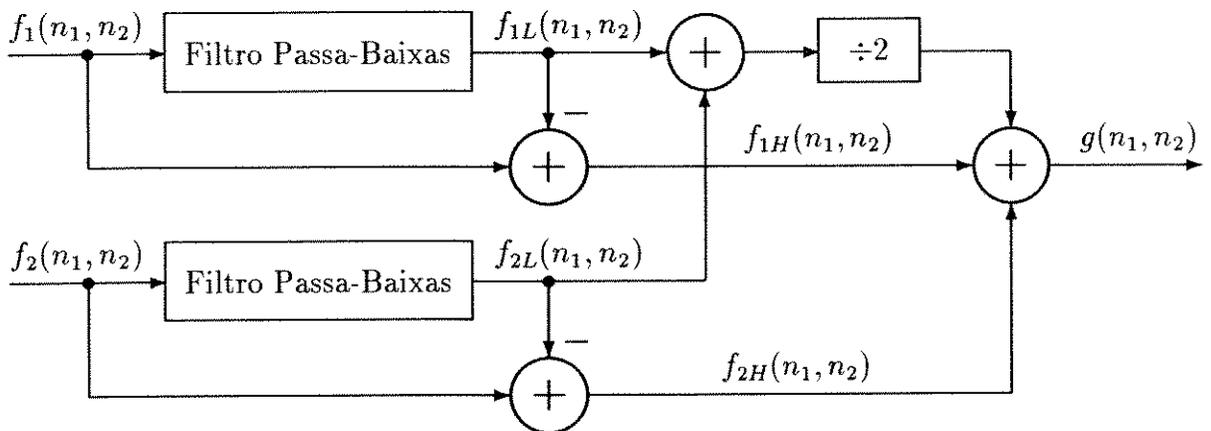


Figura V.1: Diagrama de blocos do método 1: derivado do mascaramento não-nítido

Neste caso, a imagem processada é formada pela soma da metade das componentes de baixa freqüência de cada uma das imagens de entrada, mais as componentes de alta freqüência de cada uma das imagens de entrada. A escolha adequada da freqüência de corte do filtro passa-baixas é responsável pela separação adequada das componentes de alta freqüência das componentes de baixa freqüência. Como as regiões nítidas das imagens contêm a maior parte das componentes de alta freqüência, este método de processamento tende a juntar na imagem de saída as regiões

nítidas das duas imagens de entrada.

A imagem de saída pode ser formada por até três tipos de regiões, segundo a sua composição espectral. O primeiro tipo de região ocorre nas áreas onde existe sobreposição das regiões nítidas das duas imagens de entrada. Estas áreas são formadas pela soma das componentes de alta frequência das áreas correspondentes nas duas imagens de entrada, mais a média aritmética das componentes de baixa frequência das mesmas áreas destas imagens.

O segundo tipo de região ocorre nas áreas da imagem de saída, onde apenas uma das imagens de entrada está nítida. Estas áreas são formadas basicamente pelas componentes de alta frequência da imagem de entrada que possui regiões nítidas, desde que as componentes de alta frequência da outra imagem de entrada que não está nítida são mais fracas, somadas à média aritmética das componentes de baixa frequência das mesmas áreas destas imagens.

O terceiro tipo de região ocorre nas áreas da imagem de saída, em que as duas imagens de entrada estão embaçadas. Estas áreas são formadas basicamente pela média aritmética das componentes de baixa frequência das áreas correspondentes nas duas imagens de entrada.

#### V.4.2 Método 2: baseado nas curvas de nitidez

Neste método, obtém-se para cada imagem parcial uma curva tridimensional, chamada de *curva de nitidez da imagem*, onde a amplitude da curva de nitidez, para uma dada coordenada  $(n_1, n_2)$ , é um parâmetro indicativo do grau de nitidez da imagem para esta coordenada. A imagem processada,  $g(n_1, n_2)$ , é obtida através de um processamento pixel a pixel, onde, por comparação das amplitudes das curvas de nitidez na coordenada do pixel que está sendo processado, determina-se qual imagem parcial vai contribuir para a geração deste pixel na imagem processada. Este procedimento, na realidade, é equivalente ao recorte das partes nítidas das imagens parciais, para serem coladas sobre a imagem processada.

As curvas de nitidez são obtidas, como indica a Fig. V.2, através de um processamento que compreende: uma filtragem passa-altas, uma operação de retificação e, por fim, uma filtragem passa-baixas. Como as regiões nítidas de uma imagem são ricas em componentes de alta frequência, o processamento indicado para obter as curvas de nitidez, mediante o ajuste apropriado das frequência de corte do filtro passa-altas, destaca as regiões ricas em componentes de alta frequência, ou seja, as regiões mais nítidas da imagem. O retificador toma o valor absoluto na saída do filtro passa-altas e o filtro passa-baixas é necessário para suavizar o sinal da saída. Para se obter curvas de nitidez suaves, de forma que seja possível realizar comparações entre as diversas curvas, é necessário, além do correto ajuste da frequência de corte do filtro passa-altas, usar uma frequência

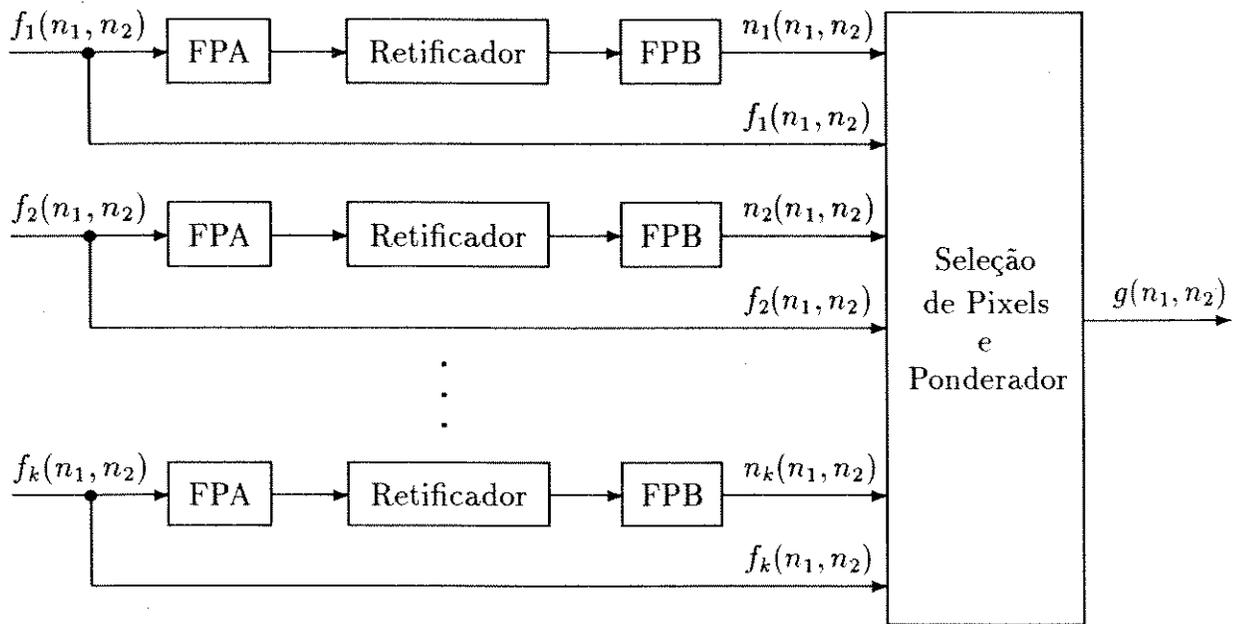


Figura V.2: Diagrama de blocos do método 2: baseado nas curvas de nitidez

de corte suficientemente baixa para o filtro passa-baixas.

O ponderador indicado na Fig. V.2 executa duas importantes operações:

1. Compara o valor das curvas de nitidez  $n_i(n_1, n_2)$ ,  $i = 1, \dots, k$ , para uma coordenada específica  $(n_1, n_2)$ , determinando qual das imagens de entrada tem o maior valor de nitidez para esta dada coordenada  $(n_1, n_2)$ . O valor do pixel desta imagem de entrada é copiado para a mesma posição  $(n_1, n_2)$  da imagem de saída. Este procedimento é repetido para todas as coordenadas  $(n_1, n_2)$  das imagens. Observe que, na verdade, este procedimento implementa um processo de “recorte” das regiões nítidas das imagens de entrada e um processo de “colagem” destas regiões recortadas sobre a imagem de saída.
2. Implementa uma ponderação em torno das *linhas de recorte*<sup>1</sup> da imagem de saída. Esta ponderação é necessária para atenuar, ou eliminar a visibilidade de linhas de recorte na imagem de saída, provenientes, por exemplo, de pequenas diferenças existentes na cor de fundo das imagens de entrada.

A ponderação é realizada numa pequena faixa em torno das linhas de recorte, que é definida por uma diferença percentual entre a curva de nitidez de valor mais alto e as outras curvas. Assim, se for definido um valor percentual de 10 %, a faixa a ser ponderada

<sup>1</sup>As linhas de recorte são geradas pelo processo de “recorte” e “colagem” citado acima e são definidas pelas fronteiras entre quaisquer duas regiões da imagem de saída, recortadas de imagens de entrada diferentes.

é definida pelas regiões onde a diferença de amplitude entre a curva de nitidez com maior amplitude e as outras curvas for menor ou igual a 10 % da amplitude da curva de maior amplitude. Geralmente as curvas de nitidez só atingem valores tão próximos, quando se observam as regiões em torno das linhas de recorte. Foram implementados três tipos de ponderações: (1) média aritmética, (2) média geométrica e (3) diferença entre as curvas. Os dois primeiros tipos de ponderações são bastante conhecidos e não precisam de mais explicações, já o terceiro tipo atribui um peso ao pixel de cada imagem que está dentro da faixa a ser ponderada da seguinte forma: o pixel da imagem de maior nitidez recebe peso 1 e os pixels das outras imagens peso igual ao inverso da porcentagem mais 1 da diferença entre a curva de nitidez do pixel e a curva de maior valor. O valor do pixel que vai para a imagem de saída é ponderado segundo estes coeficientes.

## V.5 Programas implementados

No decorrer deste trabalho foram desenvolvidas várias versões dos programas que implementam os métodos apresentados acima, pois houve um processo iterativo entre o desenvolvimento dos métodos e os resultados obtidos com os programas. Este processo convergiu para os diagramas de blocos das Figs. V.1 e V.2.

### V.5.1 Método 1

O programa que implementa o método 1 da Fig. V.1 utiliza filtros passa-baixas idênticos, que foram implementados como filtros IIR de duas dimensões separáveis, visando simplicidade de implementação e tempos de processamento menores. Neste caso, experimentou-se com filtros de 1ª e de 2ª ordem. Uma observação importante neste caso, é que o método foi implementado para apenas duas imagens de entrada, exatamente como mostra a Fig. V.1.

O programa pede como dado de entrada a frequência de corte dos filtros passa-baixas tanto na direção  $n_1$ , como na direção  $n_2$ .

### V.5.2 Método 2

O programa que implementa o método 2 é mais sofisticado que o do método 1, porque pode trabalhar com qualquer quantidade de imagens de entrada<sup>2</sup> e também porque implementa

---

<sup>2</sup>O número de imagens de entrada para este método, é limitado pela capacidade de memória de armazenagem do microcomputador utilizado.

um algoritmo mais complicado. Como no método anterior, optou-se pela implementação de filtros IIR de duas dimensões separáveis, porque a quantidade de dados a serem processados por este método pode ser bem maior que no método anterior.

O filtro passa-altas utilizado é de 2ª ordem e foi projetado por transformação de um filtro passa-baixas protótipo, com frequência de corte  $\omega_p$ . O filtro passa-baixas é de 4ª ordem, obtido ao processar a imagem por duas vezes com um filtro passa-baixas de 2ª ordem. O filtro passa-baixas de 2ª ordem foi projetado por transformação bilinear de um filtro Butterworth de 2ª ordem e este filtro foi usado como filtro passa-baixas protótipo no projeto do filtro passa-altas. Como a frequência de corte do filtro passa-baixas é muito baixa, o atraso de grupo passa a ser importante no processamento. Uma maneira para compensar o atraso de grupo foi adotar uma filtragem passa-baixas dupla, como citado acima. Primeiro filtra-se a imagem numa direção de processamento e em seguida filtra-se a imagem na direção de processamento oposta. Desta forma, o atraso de grupo da segunda filtragem passa-baixas compensa o da primeira filtragem, justificando assim o procedimento de filtragem passa-baixas adotado.

O retificador é uma operação não-linear, facilmente implementada no computador através de uma função módulo.

Este programa permite entrar manualmente com as frequências de corte dos filtros passa-altas e passa-baixas, e um ganho que é usado para ajustar a excursão da amplitude das curvas de nitidez, que só pode assumir valores entre 0 e 255. Por causa deste pequeno número de níveis de amplitude, recomenda-se, para um bom desempenho, que o ganho seja ajustado de forma que a amplitude destas curvas utilizem a maior parte da faixa dinâmica.

## V.6 Resultados dos processamentos

Esta seção apresenta os resultados dos processamentos realizados sobre os grupos de imagens adquiridas de vários espécimes. Algumas das imagens adquiridas e suas respectivas imagens processadas são exibidas nas próximas páginas através de fotografias coloridas, obtidas diretamente da tela do monitor de vídeo.

As imagens foram corrigidas em brilho e contraste, e algumas em nitidez, antes de serem fotografadas. Este processamento adicional tem por objetivo aumentar a faixa dinâmica das imagens para obter uma visualização mais agradável, sem prejudicar a interpretação dos resultados obtidos com a técnica proposta.

## V.6.1 Texto

### Método 1

As imagens das Figs. V.3 e V.4 foram processadas segundo o método 1, empregando um filtro passa-baixas de 1<sup>a</sup> ordem e frequências de corte nas direções horizontal e vertical iguais a  $0,196\pi$  rad/m. O tempo de processamento destas imagens em um microcomputador PC AT 486 DX 50 MHz com barramento VESA foi de 52 segundos. O número de operações matemáticas realizadas nas duas imagens foi superior a 5,8 milhões de somas e 2,6 milhões de multiplicações.

O resultado do processamento é dado pela fotografia da Fig. V.5, onde se pode observar uma boa melhora em relação às imagens originais. No entanto, as partes nítidas das imagens parciais não são simplesmente copiadas para a imagem resultante como ocorre no método 2, este método acaba fazendo uma mistura espectral das duas imagens de entrada, ou seja, a região nítida de uma das imagens é combinada com a respectiva região (não-nítida) da outra imagem para gerar a imagem processada.

### Método 2

As imagens das Figs. V.3 e V.4 foram processadas segundo o método 2. As curvas de nitidez geradas estão nas imagens das Figs. V.6 e V.7, respectivamente. As partes mais claras destas curvas indicam as regiões de maior nitidez das imagens de entrada.

Neste processamento empregou-se um filtro passa-altas de 2<sup>a</sup> ordem com frequência de corte na direção horizontal igual a  $0,15\pi$  rad/m e na direção vertical igual a  $0,26\pi$  rad/m. O filtro passa-baixas empregado era de 4<sup>a</sup> ordem com frequência de corte horizontal igual a  $0,015\pi$  rad/m e vertical igual a  $0,026\pi$  rad/m. A diferença existente entre as frequências de corte horizontal e vertical se deve ao fato da imagem estar superamostrada na direção horizontal. O sistema SECSAD-SAD amostra o sinal de vídeo com aproximadamente o dobro da frequência de Nyquist, assim o espectro na direção horizontal se situa entre  $-\pi/2$  e  $\pi/2$  rad/m e na direção vertical entre  $-0,89\pi$  e  $0,89\pi$  rad/m. O ponderador utiliza o método de junção das imagens de entrada ponderado pela diferença entre as curvas de nitidez. Este processamento realizado sobre as duas imagens de entrada equivale a mais de 25,2 milhões de somas, 48,2 milhões de multiplicações e 2,1 milhões de comparações.

O resultado do processamento pode ser observado na fotografia da Fig. V.8, onde constata-se que o método 2 realmente junta as partes nítidas de cada uma das imagens de entrada.

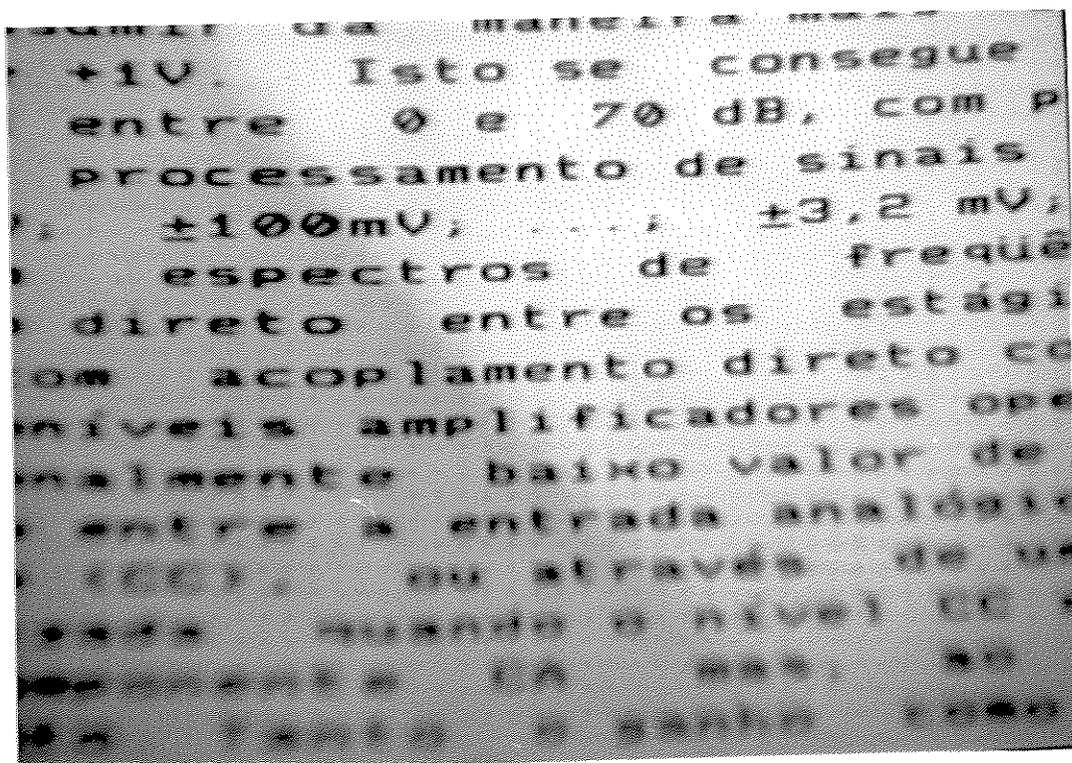


Figura V.3: Texto com a parte superior nítida

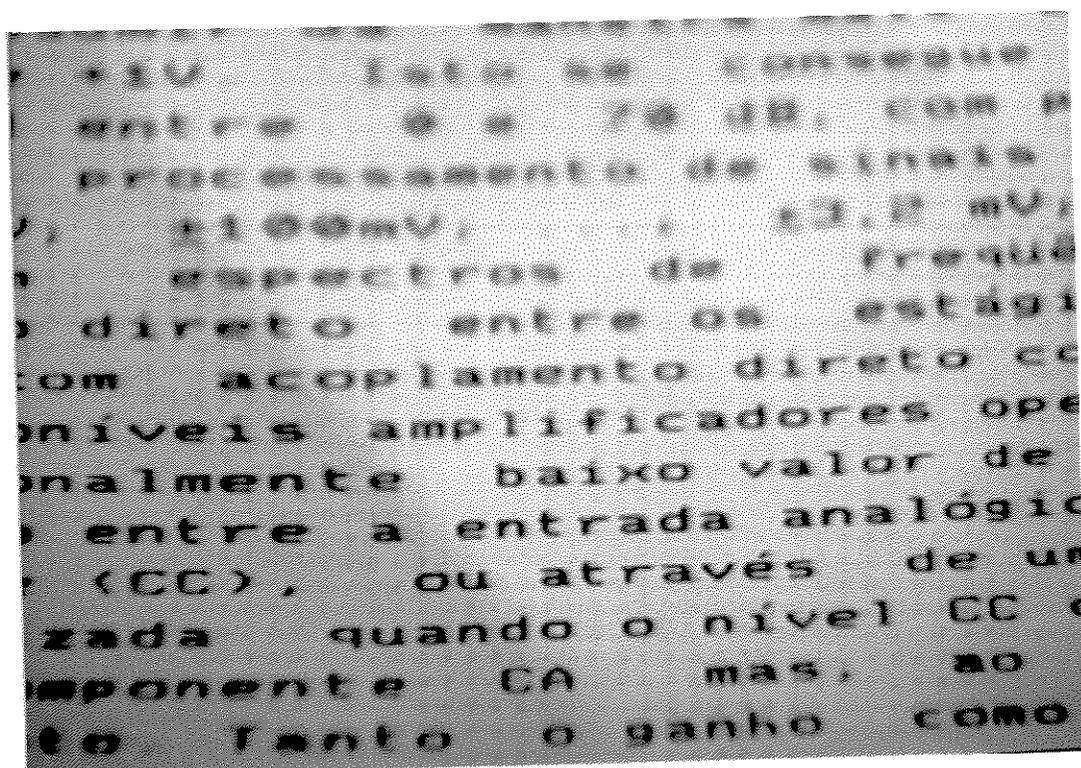


Figura V.4: Texto com a parte inferior nítida

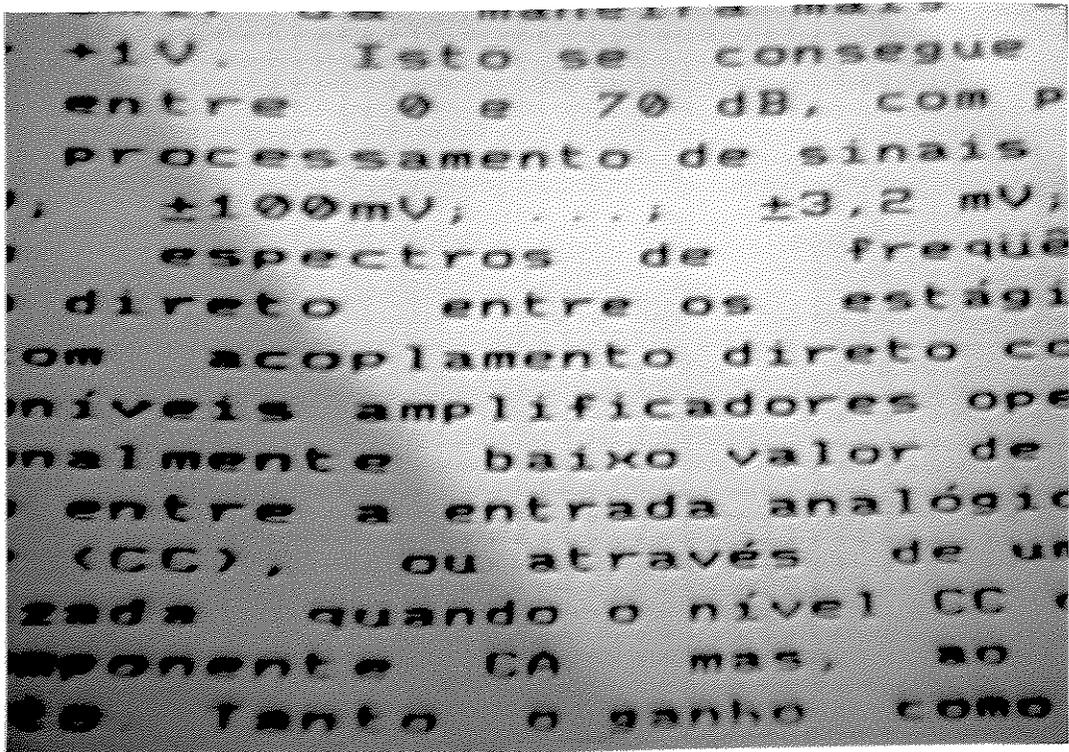


Figura V.5: Texto processado segundo o método 1

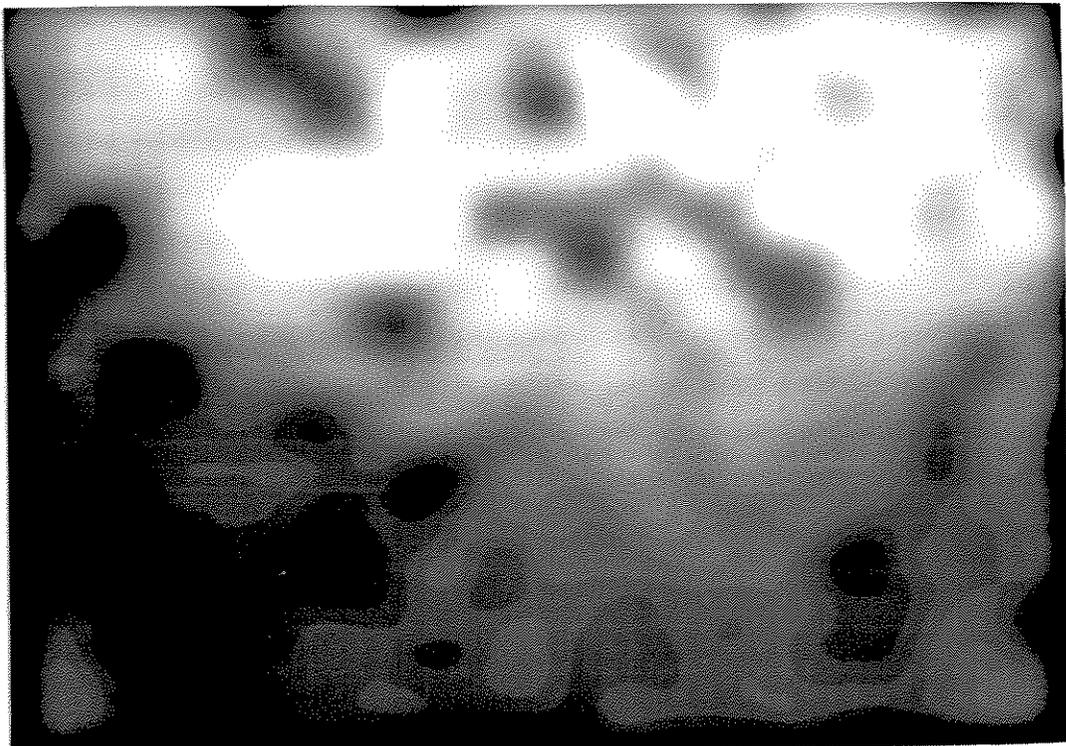


Figura V.6: Curva de nitidez da imagem texto da Fig. V.3

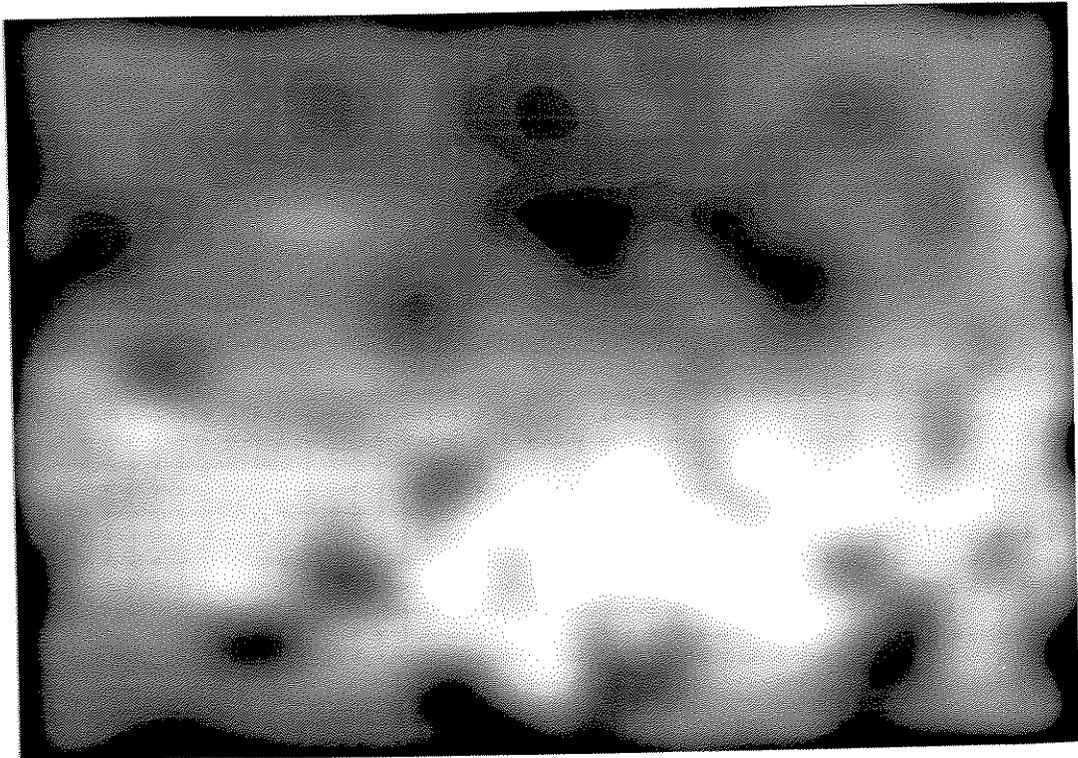


Figura V.7: Curva de nitidez da imagem texto da Fig. V.4

+1V. Isto se consegue  
entre 0 e 70 dB, com p  
processamento de sinais  
,  $\pm 100\text{mV}$ ; ...;  $\pm 3,2\text{mV}$ ;  
espectros de frequê  
direto entre os estági  
com acoplamento direto co  
níveis amplificadores ope  
nalmente baixo valor de  
entre a entrada analógic  
(CC), ou através de um  
zada quando o nível CC e  
oponente CA mas, ao  
to Tanto o ganho como

Figura V.8: Texto processado segundo o método 2

### V.6.2 Parafuso allen

Sobre as três imagens adquiridas do parafuso allen aplica-se o método 2 com frequência de corte do filtro passa-altas na direção horizontal igual a  $0,04\pi$  rad/m e na direção vertical igual a  $0,07\pi$  rad/m. O filtro passa-baixas tem frequência de corte horizontal igual a  $0,015\pi$  rad/m e vertical igual a  $0,026\pi$  rad/m.

A Fig. V.9 mostra a primeira imagem adquirida e a Fig. V.10 o resultado do processamento quando não se emprega nenhuma regra de ponderação na junção das imagens. Observa-se na ponta do parafuso, logo após a porca, e na parte posterior da cabeça do parafuso, o aparecimento de linhas de recorte entre as regiões da imagem recortadas de imagens parciais diferentes.

A Fig. V.11 mostra o resultado do processamento das mesmas imagens do parafuso usando o ponderador com a regra de ponderação pela diferença entre as curvas de nitidez. Pode-se ver por esta fotografia que as linhas de recorte desapareceram.

### V.6.3 Agulha de toca-discos de 78 rpm

A partir deste ponto as imagens parciais passaram a ser adquiridas através do microscópio, usando a placa digitalizadora da New Media Graphics. A Fig. V.12 mostra a sétima imagem parcial adquirida com o foco na base da agulha. Nota-se como a profundidade de campo reduzida da objetiva limita as regiões nítidas de espécimes volumosos como este.

O sistema da New Media Graphics produz imagens digitais com espectro de frequência que se estende na direção horizontal entre  $-0,92\pi$  e  $0,92\pi$  rad/m e na direção vertical entre  $-0,89\pi$  e  $0,89\pi$  rad/m. Conseqüentemente, o processamento das imagens parciais segundo o método 2 emprega filtros com frequências de corte muito próximas nas duas direções. Assim, o filtro passa-altas usa frequência de corte de  $0,15\pi$  rad/m e o passa-baixas de  $0,015\pi$  rad/m. Na junção, as imagens foram ponderadas pela regra da diferença entre as curvas de nitidez dentro de uma faixa de 6 % de diferença. O resultado do processamento está na fotografia da Fig. V.13, onde se pode observar claramente a agulha toda em foco.

### V.6.4 Aranha

A Fig. V.14 mostra uma das nove imagens parciais deste espécime. Nesta imagem não é possível observar toda a aranha em foco, mas apenas as regiões que estão próximas do plano focal.

A Fig. V.15 exhibe o resultado do processamento deste grupo de imagens, empregando os mesmos parâmetros do processamento realizado na Seção V.6.3.

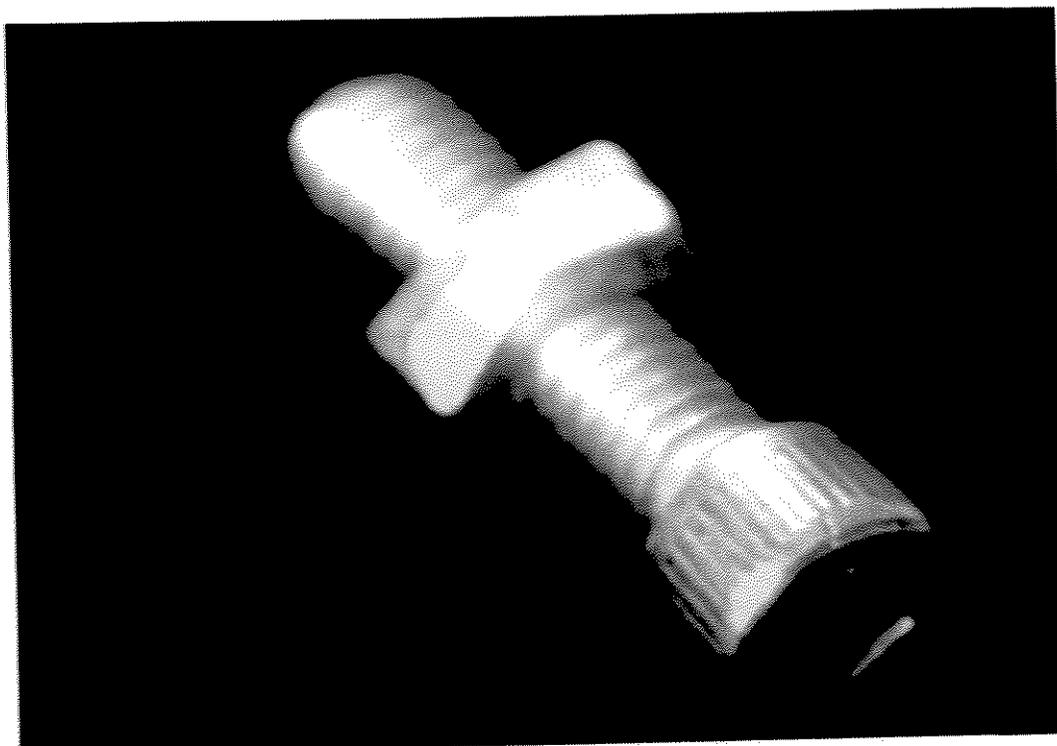


Figura V.9: Primeira imagem parcial do parafuso allen

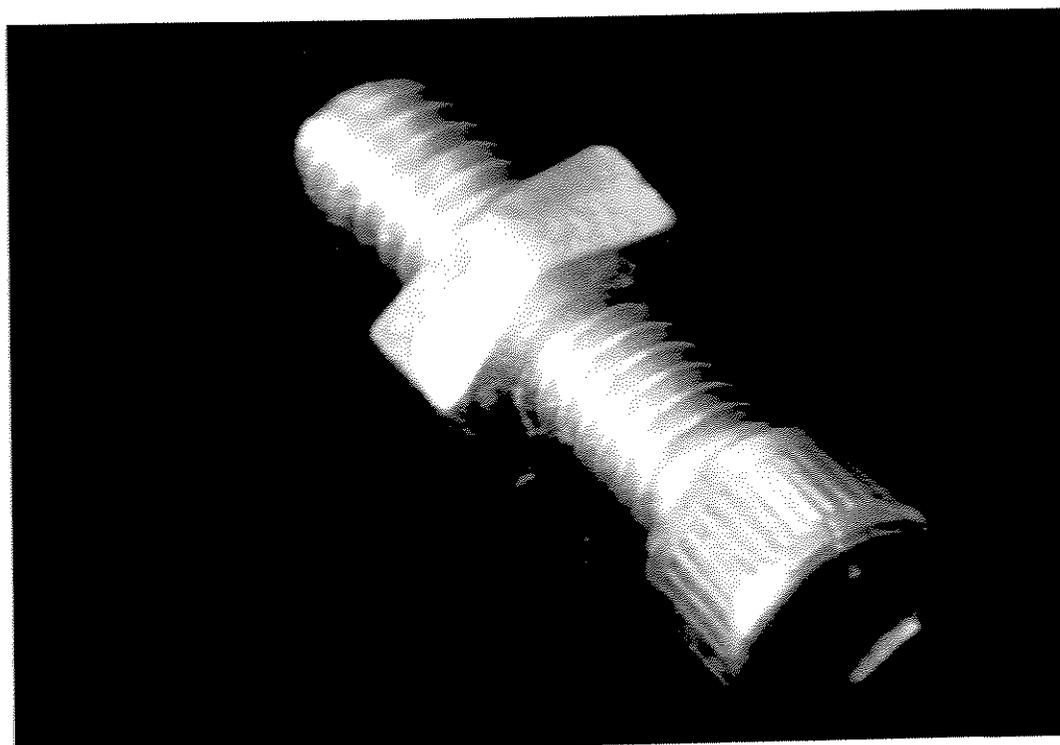


Figura V.10: Parafuso allen processado com junção pela maior nitidez

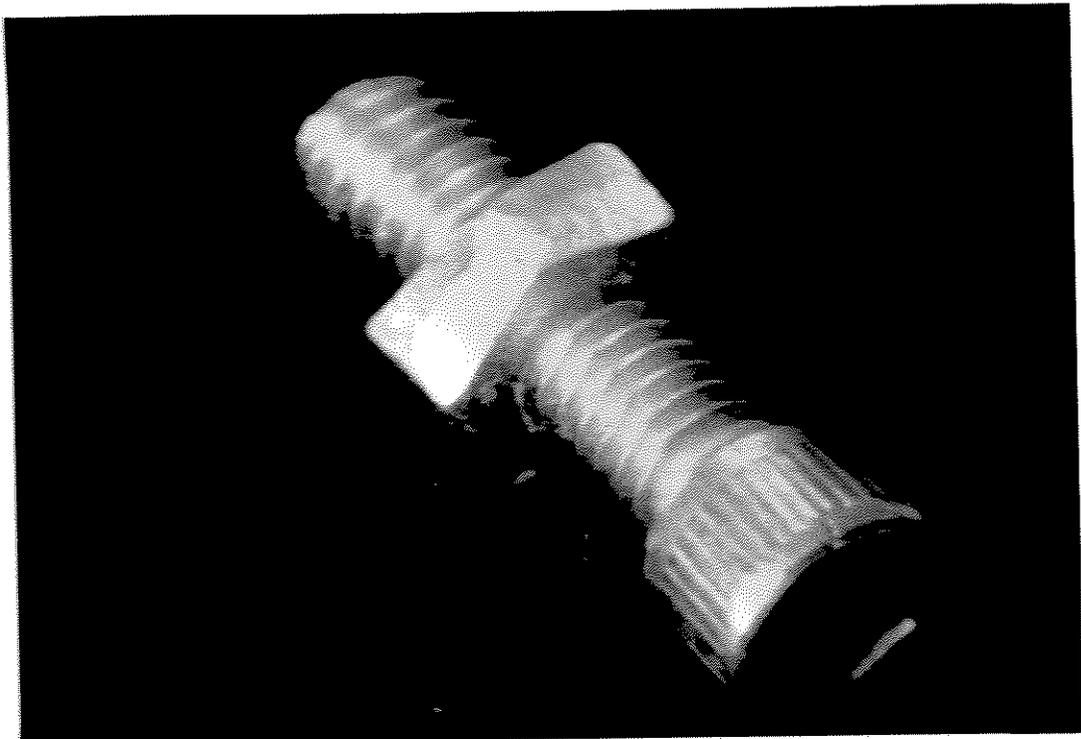


Figura V.11: Parafuso allen processado com junção ponderada

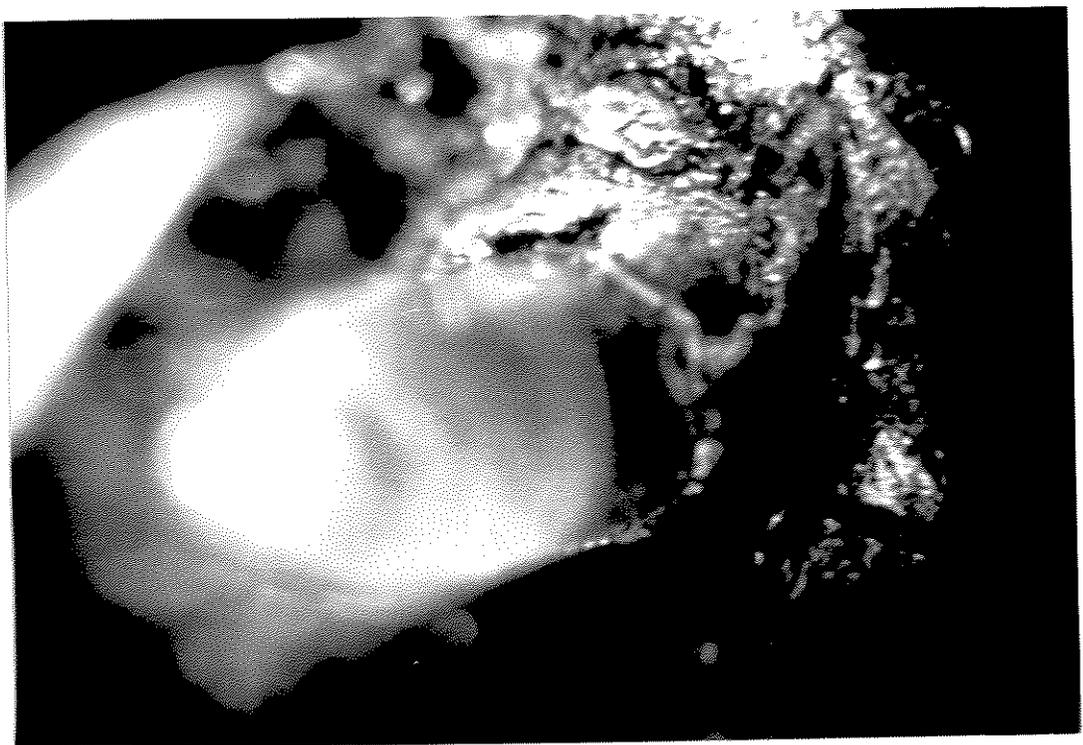


Figura V.12: Base da agulha do toca-discos

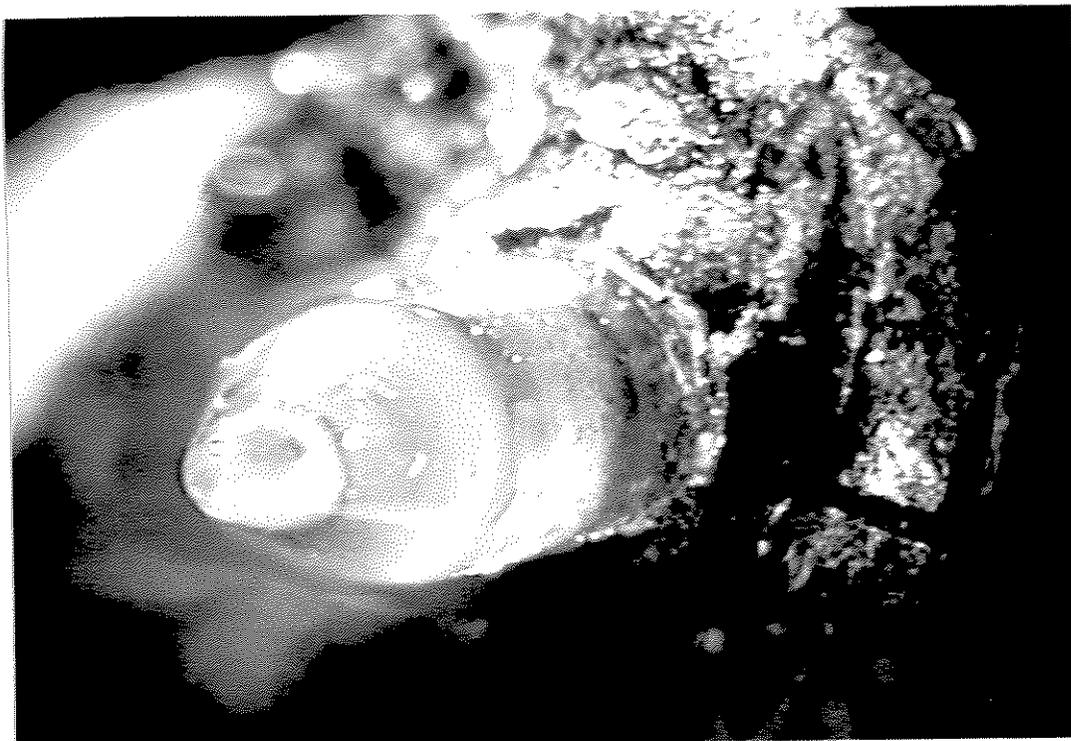


Figura V.13: Agulha do toca-discos processada



Figura V.14: Quarta imagem parcial da aranha

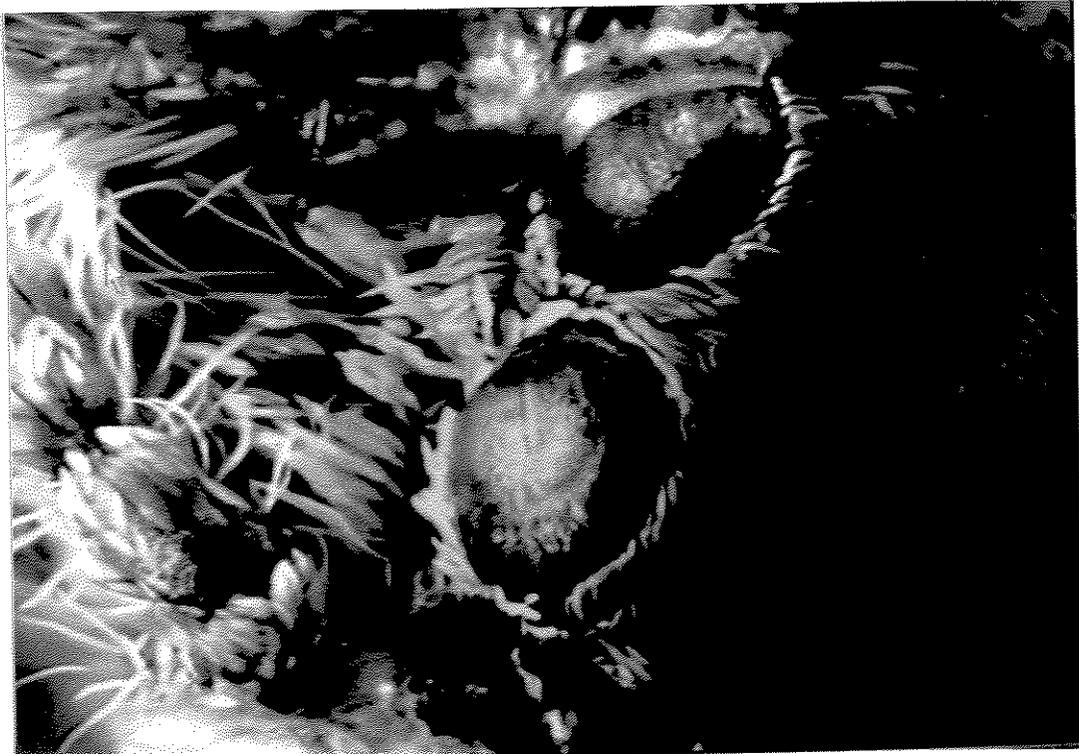


Figura V.15: Aranha processada

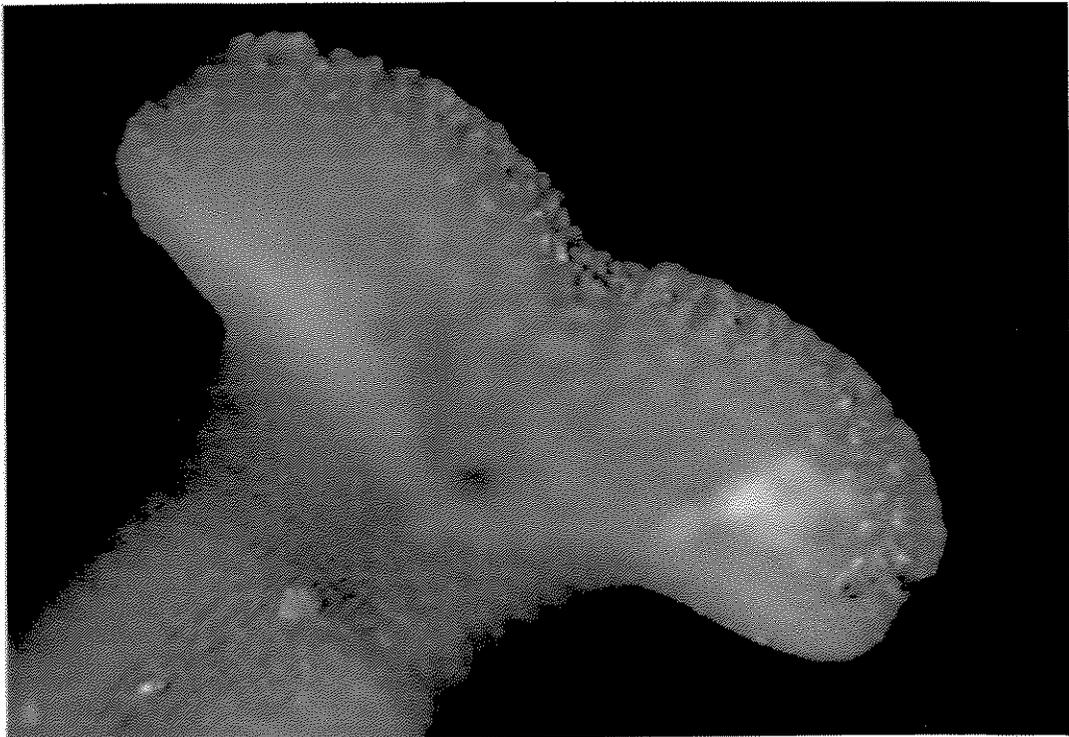


Figura V.16: Quinta imagem parcial do estigma da flor da Petúnia Exserta

A partir deste espécime as imagens adquiridas são coloridas e o processamento a ser aplicado sobre este tipo de imagens pode seguir por dois caminhos:

- Uma primeira opção é decompor todas as imagens parciais coloridas em suas componentes RGB, agrupar as imagens parciais monocromáticas e aplicar o processamento sobre cada um destes grupos. Neste caso serão geradas curvas de nitidez específicas para cada uma das componentes das imagens parciais. No final, a imagem processada será formada pela composição das imagens resultantes do processamento de cada componente de cor.
- A segunda opção também decompõe as imagens parciais coloridas em suas componentes RGB. Em seguida escolhe-se um dos grupos de cor, por exemplo o da componente G, para aplicar o processamento<sup>3</sup> gerando as curvas de nitidez e a imagem processada desta cor. No processamento dos outros dois grupos de cores serão utilizadas as curvas de nitidez geradas pelo primeiro grupo de cor. No final, a imagem processada também será formada naturalmente pela composição das imagens resultantes do processamento de cada componente de cor.

As duas maneiras de processar um grupo de imagens parciais citadas acima chegam a resultados tão parecidos que não se consegue observar diferenças visualmente. Como o segundo caminho apresenta vantagens do ponto de vista computacional, desde que necessita de um número menor de curvas de nitidez, será adotado nos processamentos seguintes.

O resultado do processamento das imagens da aranha, apresentado na Fig. V.15, foi obtido através do processamento individual de cada componente de cor, com a geração de todas as curvas de nitidez. Os processamentos dos espécimes apresentados nas próximas seções foram realizados utilizando as curvas de nitidez da cor G.

### V.6.5 Estigma da flor da *Petúnia Exserta*

Sete imagens parciais deste espécime foram processadas usando os parâmetros da Seção V.6.3. A quinta imagem parcial está na Fig. V.16 e o resultado dos processamentos podem ser observados na Fig. V.17.

---

<sup>3</sup>Uma boa opção é escolher o grupo de imagens parciais da cor verde para gerar as curvas de nitidez, pois é para esta cor que o olho humano é mais sensível. No entanto, deve-se escolher outro grupo de cor se a componente de luz verde do espécime for fraca.

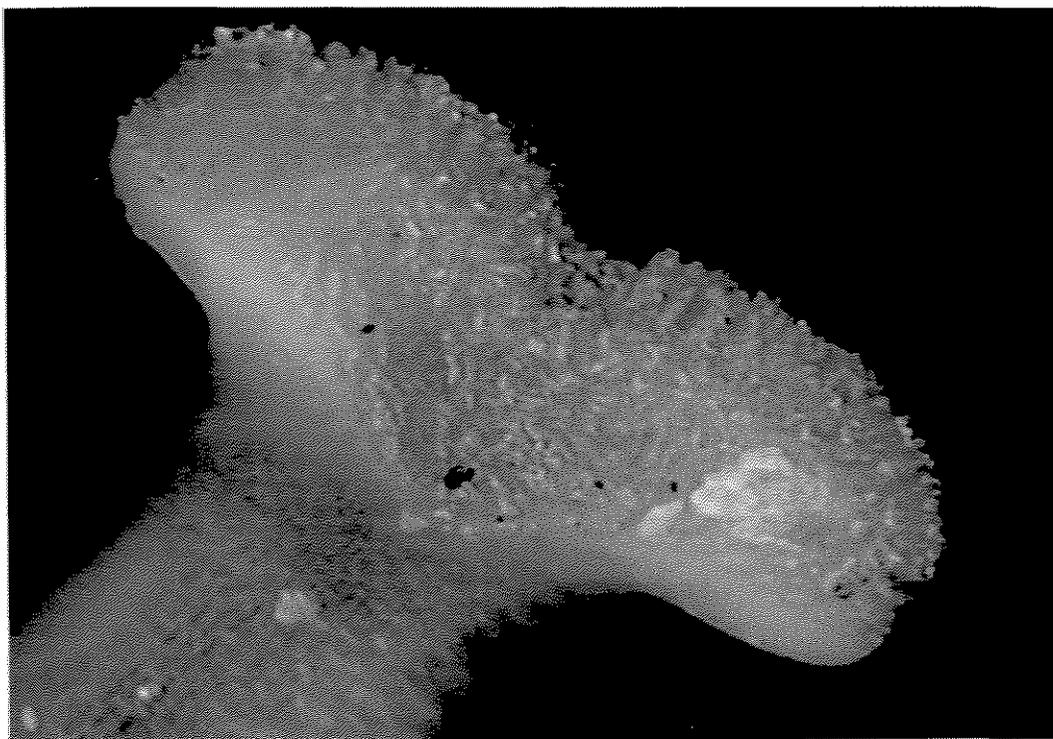


Figura V.17: Estigma da flor da *Petúnia Exserta* processado

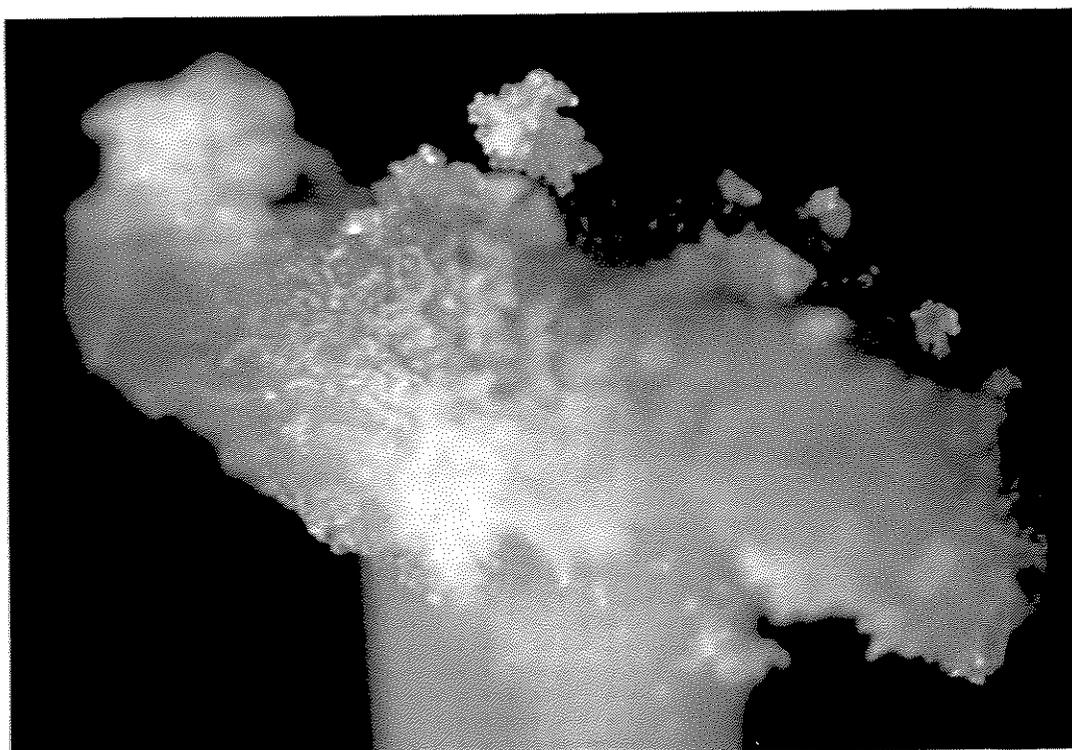


Figura V.18: Nona imagem parcial do estigma da flor da *Petúnia Axillaris*

### **V.6.6 Estigma da flor da *Petúnia Axillaris***

Onze imagens parciais deste espécime foram processadas usando os parâmetros da Seção V.6.3. A nona imagem parcial está na Fig. V.18 e o resultado dos processamentos podem ser observados na Fig. V.19. As formações irregulares sobre o estigma são grãos de pólen.

### **V.6.7 Semente da *Petúnia Axillaris***

Dez imagens parciais deste espécime foram processadas usando os parâmetros da Seção V.6.3. A quarta imagem parcial está na Fig. V.20 e o resultado do processamento podem ser observados na Fig. V.21.

### **V.6.8 Detalhe da semente da *Petúnia Axillaris***

Quarenta e quatro imagens parciais adquiridas para este espécime foram processadas usando os parâmetros da Seção V.6.3. A trigésima imagem parcial da Fig. V.22, revela como uma profundidade de campo reduzida se torna uma limitação muito séria na microscopia óptica. O resultado do processamento deste conjunto de imagens, visto na Fig. V.23, foi um dos mais interessantes, pois revela toda a potencialidade da técnica desenvolvida.

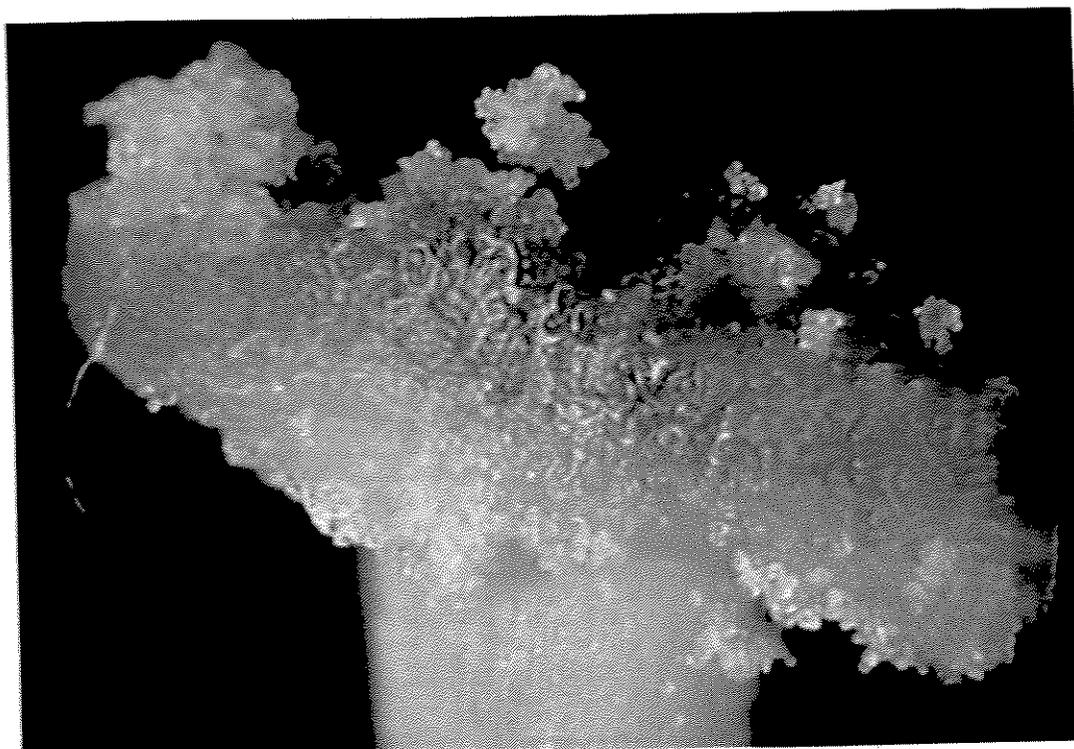


Figura V.19: Estigma da flor da *Petúnia Axillaris* processado

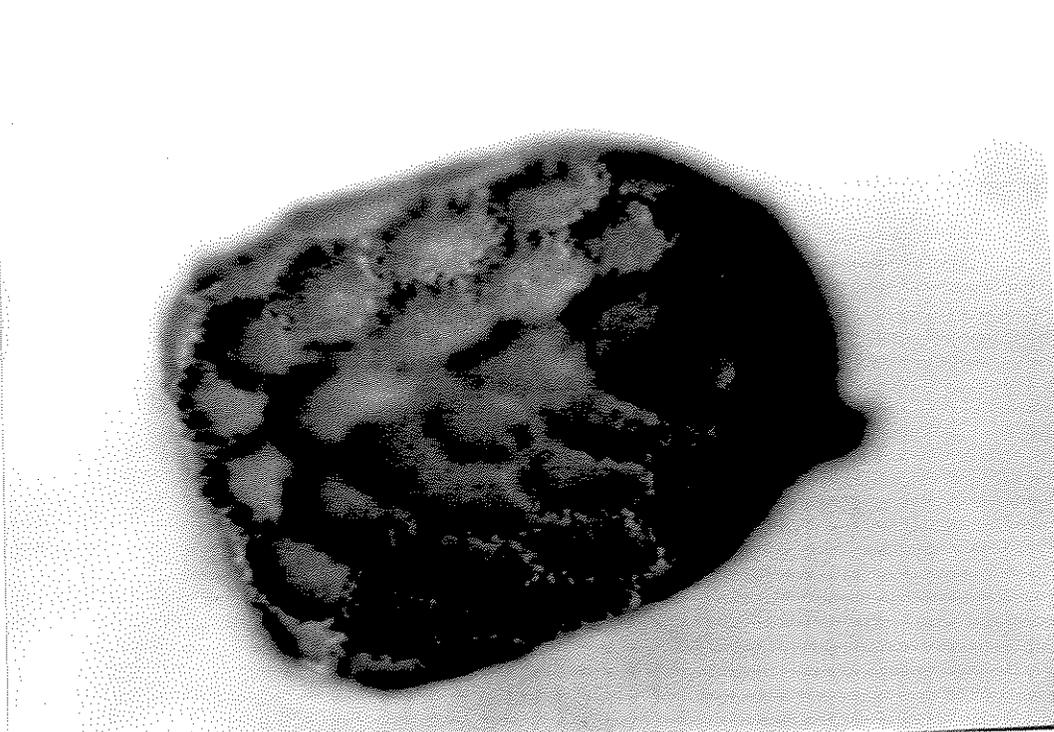


Figura V.20: Quarta imagem parcial da semente da *Petúnia Axillaris*

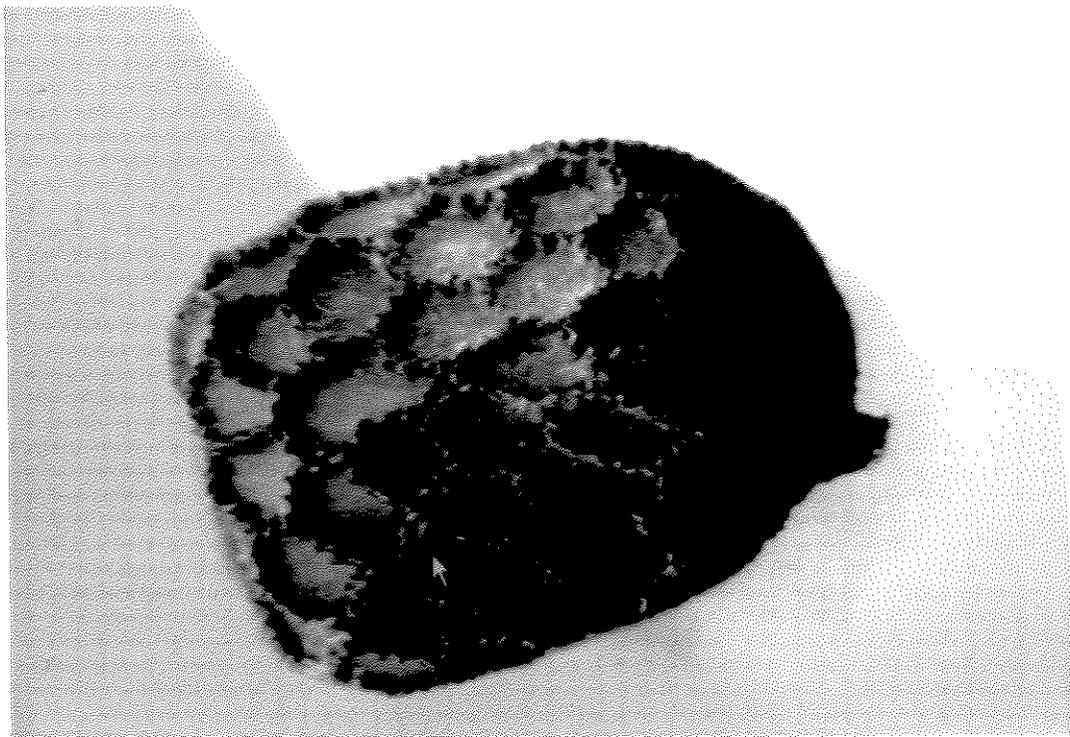


Figura V.21: Semente da Petúnia Axillaris processada

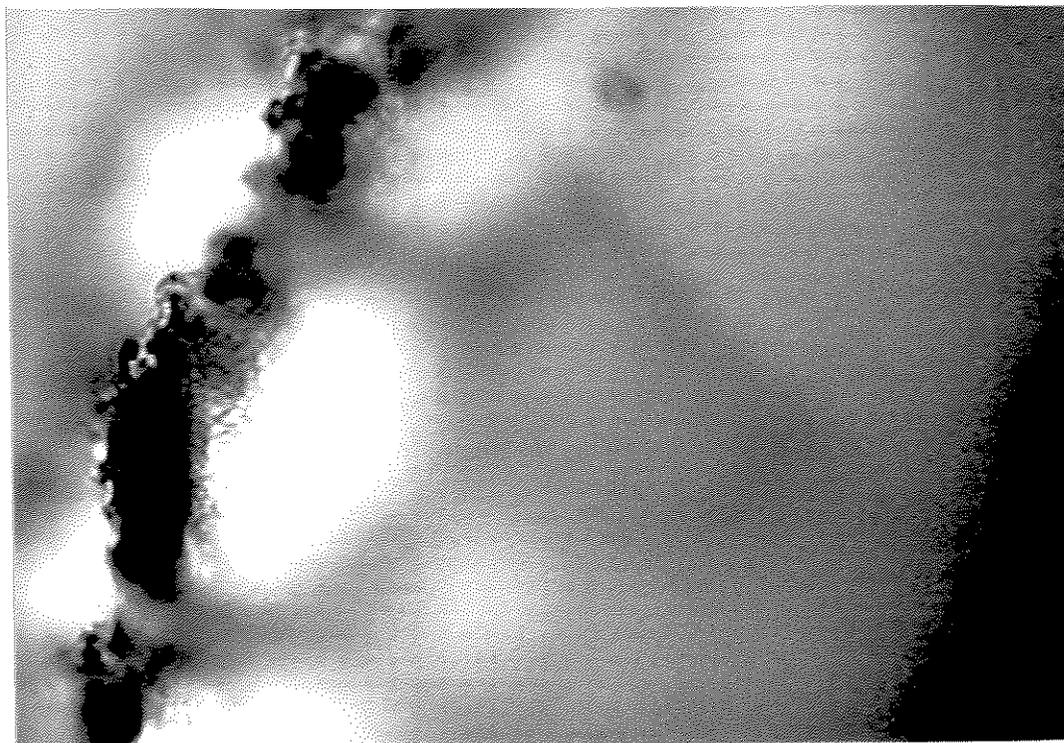


Figura V.22: Trigésima imagem parcial do detalhe da semente da Petúnia Axillaris

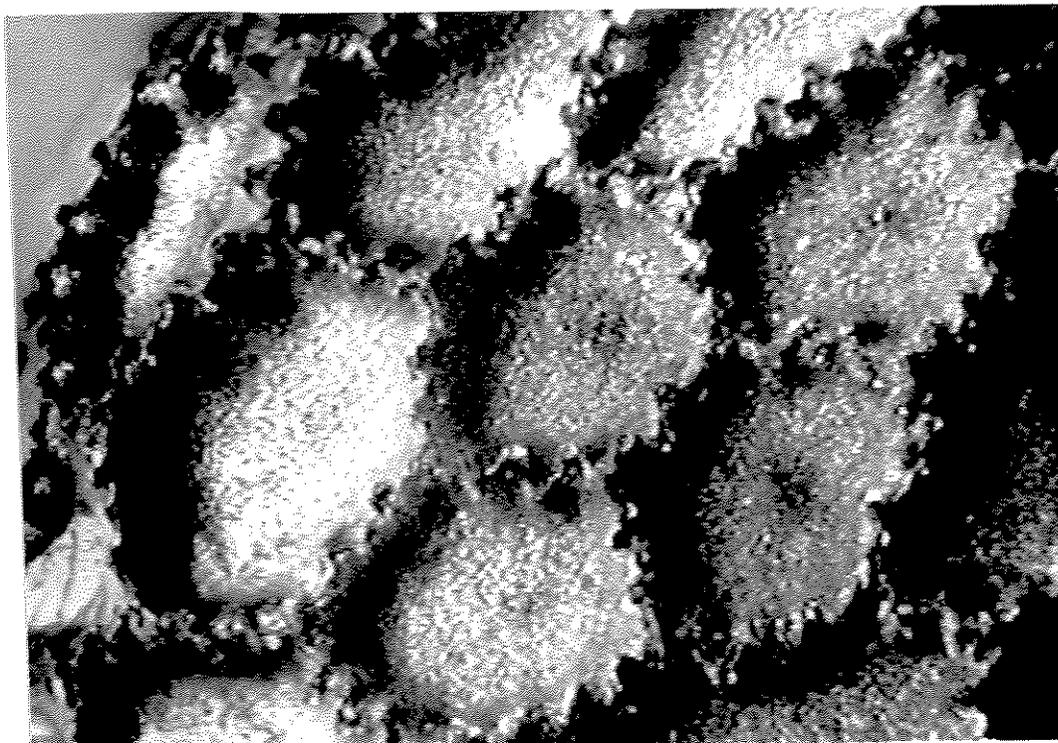


Figura V.23: Detalhe da semente da *Petúnia Axillaris* processado

# Capítulo VI

## Conclusões

Os resultados mais importantes deste trabalho foram os métodos de processamento digital desenvolvidos e aplicados especificamente sobre as imagens adquiridas através do microscópio óptico. Estes métodos, principalmente o número 2, atingiram resultados muito bons, permitindo ampliar consideravelmente a profundidade de campo do microscópio. As imagens processadas apresentam uma melhora impressionante quando são comparadas com as imagens obtidas diretamente do microscópio. Além disso, estes métodos são implementados através de processamento digital de imagens, logo não envolvem o projeto de novas objetivas, ou o projeto de novos aparatos para o microscópio composto. Na verdade, os métodos ampliam consideravelmente o desempenho do microscópio composto a um custo relativamente baixo.

Estes métodos atingem bons resultados quando são aplicados sobre grupos de imagens adquiridos de espécimes opacos ou não-transparentes. No caso de espécimes translúcidos os resultados não foram muito satisfatórios. Este fato pode ser compreendido através da análise das imagens parciais geradas pelos espécimes opacos e pelos espécimes transparentes. Para qualquer espécime considerado, o grupo de imagens parciais gerado pode conter duas ou mais imagens parciais que apresentam sobreposição de regiões nítidas. No caso do espécime ser opaco, as regiões que ocupam a mesma posição espacial da imagem e que estão nítidas em imagens parciais diferentes, apresentam as mesmas micro-estruturas do espécime. Já no caso do espécime ser transparente, estas regiões podem conter micro-estruturas diferentes do espécime, por exemplo, uma célula pode ter uma organela nítida em uma imagem parcial e numa outra imagem parcial, mais abaixo ou mais acima, pode ter uma outra organela nítida na mesma posição espacial da imagem parcial anterior. Esta característica apresentada pelos espécimes transparentes não se adapta bem aos métodos de processamento desenvolvidos, podendo gerar resultados confusos.

Com base na experiência adquirida, acredita-se no sucesso do processamento de ima-

gens de espécimes translúcidos, desde que sejam implementadas modificações no método desenvolvido, de forma a levar em conta as características particulares das imagens destes espécimes.

Os métodos se mostraram bastante robustos com relação à variação dos parâmetros, tais como: frequência de corte dos filtros, ordem dos filtros e ganho do sistema. Por exemplo, o uso de filtros de ordem mais alta não traz melhoras significativas para a qualidade das imagens. Logo, pode-se trabalhar com filtros de ordens mais baixas que têm vantagens significativas do ponto de vista computacional, já que exigem menos operações aritméticas. Esta característica é muito importante do ponto de vista prático, porque viabiliza uma possível automatização da técnica.

Um fato interessante e que deve ser destacado, surge quando observa-se que as profundidades de campo obtidas nas imagens processadas com os métodos desenvolvidos, são comparáveis às obtidas pela microscopia eletrônica de varredura, desde que sejam comparadas na faixa de ampliação comum a ambas as técnicas microscópicas. Dentro deste ponto de vista, o método desenvolvido neste trabalho pode ser considerado concorrente da microscopia eletrônica de varredura, apresentando as seguintes vantagens:

1. Fornece imagens coloridas.
2. A técnica permite obter imagens de espécimes vivos, desde que não há a necessidade de deposição de película de ouro sobre o espécime e nem necessidade de trabalhar sob baixas pressões atmosféricas.
3. A preparação do espécime tende a ser mais simples e rápida.
4. O custo para a obtenção das imagens é bem menor, pois se reduz ao tempo gasto na aquisição das imagens e ao tempo de processamento destas imagens. Enquanto a obtenção de uma imagem através do microscópio eletrônico de varredura custa entre US\$100,00 e US\$150,00.
5. O custo dos equipamentos necessários para implementar o método desenvolvido, é bem menor do que o custo de um equipamento completo de microscopia eletrônica de varredura, como será visto nos próximos parágrafos.

Na avaliação de uma possível implementação comercial do método desenvolvido, chegou-se às seguintes conclusões, considerando critérios de baixo custo, simplicidade de implementação e facilidade de operação:

1. Para uma implementação simples seriam necessários: um microscópio composto, uma câmara de vídeo, uma placa de aquisição de imagens, um computador, um sistema de servomecanismo para controlar os mecanismos macro- e micrométricos do microscópio e um programa para controlar os servomecanismos, a aquisição e o processamento das imagens adquiridas.
2. A operação do equipamento pelo microscopista deve se reduzir às tarefas de preparar adequadamente o espécime, providenciar iluminação adequada, posicionar a objetiva na região de interesse do espécime, decidir qual potência de ampliação deve ser usada e, por último, indicar quais os planos-imagem limítrofes da região do espécime que deve aparecer nítida na imagem final.
3. Quando o microscopista termina a preparação inicial, o equipamento é liberado para realizar as operações de aquisição e processamento das imagens automaticamente. Esta operação automática consiste dos seguintes passos: cálculo do número de planos-imagem que devem ser adquiridos entre os planos limítrofes da região de interesse escolhida pelo microscopista, posicionamento e aquisição das imagens do espécime nas posições calculadas, determinação do ganho e das frequências de corte dos filtros digitais, e processamento das imagens adquiridas.
4. Para um equipamento deste tipo se tornar realidade está claro que ainda falta muito trabalho, principalmente na parte de programação, mas da experiência e da sensibilidade adquiridas, acredita-se que a sua implementação é totalmente viável.
5. Estima-se que um equipamento deste tipo poderia ser vendido por um preço da ordem de US\$20.000, o que não é um exagero considerando que um microscópio eletrônico de varredura custa da ordem de US\$135.000 (US\$120.000 do microscópio e US\$15.000 do metalizador).

Um outro resultado bastante interessante e que deve ser considerado, é o desenvolvimento do processo matemático para a reconstrução do espaço-objeto a partir do conhecimento do espaço-imagem e da função de transferência óptica do microscópio. Apesar de não se chegar a uma implementação prática, este desenvolvimento é importante porque abre um outro caminho para a eliminação da limitação da profundidade de campo do microscópio. Acredita-se que a continuação do desenvolvimento deste método pode levar a uma possível implementação prática.

Este trabalho também resultou no desenvolvimento e implementação de um sistema de aquisição de imagens estáticas, o sistema SECSAD-SAD, que foi muito importante para a obtenção das imagens que foram usadas no desenvolvimento dos métodos e programas implementados, além de ter sido uma boa experiência na implementação de circuitos eletrônicos.

# Apêndice A

## Arquivo de Imagem no Formato TIFF

Imagens que são usadas por computadores podem ser armazenadas em muitos formatos diferentes. De acordo com as quantidades de cores, cada formato de arquivo tem uma referência para o número de bits por pixels que é capaz de suportar:

1 bit por pixel para uma imagem com 2 cores,

4 bits por pixel para uma imagem com 16 cores,

8 bits por pixel para uma imagem com 256 cores, ou

24 bits por pixel para uma imagem com 16.777.216 cores.

O formato TIFF foi desenvolvido para se tornar um formato padrão. Conseqüentemente seu desenvolvimento visou atingir a máxima flexibilidade na maneira em que uma imagem é armazenada. Esta característica levou a uma infinidade de possibilidades de armazenamento de uma imagem.

O formato TIFF classifica as imagens em três categorias: branco e preto, níveis de cinza e colorida. Além disso, o formato pode usar uma de seis rotinas de codificação: não-comprimida, Pack bits, LZW, Huffman, CITT3 e CITT4.

O formato TIFF empregado nos arquivos imagens manipulados pelos programas desenvolvidos trabalha com imagens sem compressão, em níveis de cinza e com 8 bits por pixel.

### A.1 Exemplo de arquivo TIFF

Como forma de ilustrar o formato adotado, apresenta-se a seguir um exemplo de arquivo TIFF. Este arquivo é formado pelo cabeçalho utilizado nos arquivos e pelos dados de uma imagem bastante simples (uma imagem branca de  $3 \times 3$  pixels). O primeiro byte do arquivo é a referência para os deslocamentos (offset) e é chamado de byte zero. Os bytes dos arquivos são representados

por números hexadecimais.

**49 49** → São os dois primeiros bytes do arquivo imagem e especificam a ordem dos bytes em uma palavra. 49 49 = II em ASCII ⇒ o primeiro byte da palavra é o menos significativo e o último byte da palavra é o mais significativo. Se este campo fosse preenchido com 4D 4D = MM em ASCII ⇒ o primeiro byte da palavra seria o mais significativo e o último byte da palavra, o menos significativo.

**2A 00** → Número da versão do formato TIFF (2A = versão 42).

**08 00 00 00** → Deslocamento do primeiro diretório do arquivo imagem. O deslocamento 8 é o próximo byte.

**0D 00** → Aqui começa o primeiro diretório do arquivo imagem e este campo fornece o número de campos do diretório do arquivo imagem (0D = 13 campos), sendo que cada campo é formado por doze bytes.

**00 01 - 04 00 - 01 00 00 00 - 03 00 00 00** → Primeiro campo do arquivo imagem. 01 00 indica que este campo fornece a largura da imagem. 00 04 indica que o dado é formado por palavras de 4 bytes. 00 00 00 01 indica que o dado é formado por uma palavra. 00 00 00 03 é o dado, ou seja, a imagem tem largura de 3 pixels.

**01 01 - 04 00 - 01 00 00 00 - 03 00 00 00** → Segundo campo do arquivo imagem. 01 01 indica que este campo fornece o comprimento da imagem. 00 04 indica que o dado é formado por palavras de 4 bytes. 00 00 00 01 indica que o dado é formado por uma palavra. 00 00 00 03 é o dado, ou seja, o comprimento da imagem é de 3 pixels.

**02 01 - 03 00 - 01 00 00 00 - 08 00 00 00** → 01 02 indica que este campo fornece o número de bits por pixel. 00 03 indica que o dado é formado por palavras de 2 bytes. Neste caso a imagem tem 8 bits por pixel.

**03 01 - 03 00 - 01 00 00 00 - 01 00 00 00** → 01 03 indica que este campo fornece a compressão utilizada nos dados. O dado 00 01 indica que não é usada nenhuma compressão nos dados desta imagem.

**06 01 - 03 00 - 01 00 00 00 - 01 00 00 00** → 01 06 indica que este campo fornece a interpretação fotométrica dos valores dos pixels. 00 01 indica na escala de níveis de cinza que o menor valor dos pixels corresponde ao preto e o maior valor ao branco.

- 11 01 - 04 00 - 01 00 00 00 - AA 00 00 00** → 01 11 indica que este campo fornece o deslocamento para o qual se inicia a faixa de dados. No caso AA indica o deslocamento 170.
- 15 01 - 03 00 - 01 00 00 00 - 01 00 00 00** → 01 15 indica que este campo fornece o número de amostras por pixel. No caso a imagem tem uma amostra por pixel.
- 16 01 - 04 00 - 01 00 00 00 - 03 00 00 00** → 01 16 indica que este campo fornece o número de linhas por faixa de imagem e neste caso são três linhas por faixa de imagem.
- 17 01 - 04 00 - 01 00 00 00 - 09 00 00 00** → 01 17 indica que este campo fornece o número de bytes da faixa de imagem. Como a imagem tem  $3 \times 3$  pixels o dado deste campo é igual a 9.
- 1A 01 - 05 00 - 01 00 00 00 - B3 00 00 00** → 01 1A indica que este campo fornece a resolução da imagem na direção x. 00 05 indica que o dado é racional. 00 00 00 01 indica que o dado tem comprimento 1 e 00 00 00 B3 = 179 dá o deslocamento de onde se encontra este dado.
- 1B 01 - 05 00 - 01 00 00 00 - BB 00 00 00** → 01 1B indica que este campo fornece a resolução da imagem na direção y e 00 00 00 BB = 187 dá o deslocamento de onde se encontra este dado racional.
- 1C 01 - 03 00 - 01 00 00 00 - 01 00 00 00** → 01 1C indica que este campo fornece a configuração planar da imagem. E neste caso o valor 1 do dado indica que os valores dos pixels estão estocados continuamente de forma a existir uma única imagem plana.
- 28 01 - 03 00 - 01 00 00 00 - 02 00 00 00** → 01 28 indica que este campo fornece a unidade de resolução da imagem. O valor 2 do dado indica que a unidade de resolução é polegada.
- 00 00 00 00** → este campo indica o deslocamento do próximo diretório do arquivo imagem. Se seu valor for zero ⇒ que não há outro diretório.
- FF FF FF FF FF FF FF FF** → estes são os valores dos pixels da imagem e estão colocados a partir do deslocamento 170. FF corresponde ao nível de cinza do branco.
- 03 00 00 00 - 01 00 00 00** → 3 é o numerador e 1 o denominador do dado racional do campo da resolução na direção x, colocado a partir do deslocamento 179. Indica que são três pixels por polegada.

**03 00 00 00 - 01 00 00 00** → 3 é o numerador e 1 o denominador do dado racional do campo da resolução na direção y, colocado a partir do deslocamento 187. Indica que são três pixels por polegada.

O formato TIFF possui outros campos que especificam outras características das imagens e não cabe comentá-los aqui. O exemplo acima é bastante simples e mostra como é o cabeçalho dos arquivos imagens gerados neste trabalho. Informações mais detalhadas a respeito deste formato de arquivos imagens podem ser obtidas nos endereços abaixo:

Aldus Corporation  
411 First Ave. South  
Suite 200  
Seattle, WA 98104

Windows Marketing Group  
Microsoft Corporation  
16011 NE 36th Way  
Box 97017  
Redmond, WA 98073-9717

# Apêndice B

## Projeto dos Filtros Digitais

Os dois métodos desenvolvidos para implementar a técnica proposta utilizam-se de filtros digitais. O método 1 usa um filtro passa-baixas de 1<sup>a</sup> e de 2<sup>a</sup> ordens. O método 2 usa um filtro passa-altas de 2<sup>a</sup> ordem e um passa-baixas de 4<sup>a</sup> ordem.

Todos os filtros projetados são filtros digitais separáveis de duas dimensões com resposta impulsiva de duração infinita (IIR). Os filtros IIR foram adotados porque precisam de um número menor de coeficientes, quando comparados com filtros FIR, para satisfazer uma dada especificação. Esta característica proporciona um tempo de processamento menor, o que é importante, dada a quantidade de pixels de cada imagem e a quantidade de imagens que serão processadas.

Os filtros passa-baixas de 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> ordens foram projetados a partir de filtros de Butterworth por transformação bilinear. O filtro passa-baixas de 4<sup>a</sup> ordem foi implementado através de dois filtros passa-baixas de 2<sup>a</sup> ordem em cascata e com a mesma frequência de corte. Os filtros utilizados são iguais ao projetado para o método 1. O filtro passa-altas de 2<sup>a</sup> ordem foi projetado por transformação do filtro passa-baixas de 2<sup>a</sup> ordem projetado para o método 1.

O projeto de todos os filtros digitais citados acima se reduz ao projeto de um filtro passa-baixas de 1<sup>a</sup> ordem, de um filtro passa-baixas de 2<sup>a</sup> ordem e de um filtro passa-altas de 2<sup>a</sup> ordem. Além disso, como os filtros de duas dimensões são separáveis, os filtros acima são projetados inicialmente em uma dimensão e depois combina-se o mesmo filtro nas duas dimensões para se obter o filtro em duas dimensões. As próximas seções apresentam o projeto dos filtros citados acima.

### B.1 Projeto do FPB-1D de 1<sup>a</sup> ordem

Expressão do filtro de Butterworth de 1<sup>a</sup> ordem:

$$|H_a(j\Omega)|^2 = \left[ 1 + \left( \frac{j\Omega}{j\Omega_c} \right)^2 \right]^{-1} \rightarrow |H_a(s)|^2 = \left[ 1 - \frac{s^2}{\Omega_c^2} \right]^{-1} \quad (\text{B.1})$$

Da Eq. (B.1) obtém-se:

$$H_a(s) = \frac{\Omega_c}{s - s_{p0}} = \frac{\Omega_c}{s + \Omega_c}, \quad (\text{B.2})$$

e sobre esta expressão aplica-se a transformação bilinear dada pela seguinte substituição:

$$s = \frac{2}{T} \cdot \frac{1 - z^{-1}}{1 + z^{-1}}, \quad (\text{B.3})$$

para obter:

$$H_a(z) = \frac{\frac{T}{2}\Omega_c(1 + z^{-1})}{(1 + \frac{T}{2}\Omega_c) + (-1 + \frac{T}{2}\Omega_c)z^{-1}} \quad (\text{B.4})$$

Substituindo  $\frac{T}{2}\Omega_c$  conforme a expressão abaixo,

$$\frac{T}{2}\Omega_c = \tan\left(\frac{\omega_c}{2}\right) \quad (\text{B.5})$$

obtém-se:

$$H_a(z) = \frac{a(1 + z^{-1})}{1 - bz^{-1}}, \quad (\text{B.6})$$

onde:

$$a = \frac{\tan\left(\frac{\omega_c}{2}\right)}{1 + \tan\left(\frac{\omega_c}{2}\right)} \quad \text{e} \quad b = \frac{1 - \tan\left(\frac{\omega_c}{2}\right)}{1 + \tan\left(\frac{\omega_c}{2}\right)} \quad (\text{B.7})$$

Para que a excursão do sinal de saída seja igual à excursão do sinal de entrada, multiplica-se a função do filtro pelo inverso do seu ganho. O ganho do filtro é calculado por:  $H_a(z)|_{z=1} = \frac{2a}{1-b}$ , assim:

$$H'_a(z) = \frac{1-b}{2} \cdot \frac{1 + z^{-1}}{1 - bz^{-1}}, \quad \text{onde} \quad b = \frac{1 - \tan\left(\frac{\omega_c}{2}\right)}{1 + \tan\left(\frac{\omega_c}{2}\right)} \quad (\text{B.8})$$

A expressão do filtro passa-baixas de 1ª ordem e de uma dimensão é dada pela Eq. (B.8) e seu programa computacional por:

$$H'_a(z) = \frac{Y(z)}{X(z)} \Rightarrow \tag{B.9}$$

$$\Rightarrow (1 - bz^{-1}) \cdot Y(z) = \frac{1-b}{2} \cdot (1 + z^{-1}) \cdot X(z) \rightarrow \tag{B.10}$$

$$\rightarrow y(n) = \frac{1-b}{2} \cdot [x(n) + x(n-1)] + by(n-1) , \tag{B.11}$$

cujo diagrama de blocos é dado pela Fig.B.1.

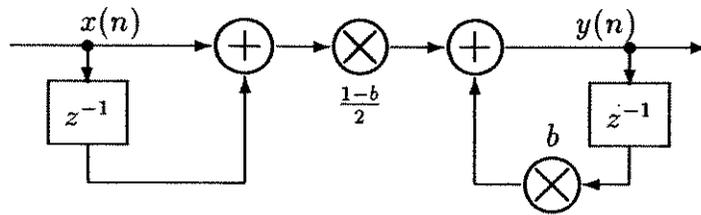


Figura B.1: Diagrama de blocos do FPB-1D de 1ª ordem

## B.2 Projeto do FPB-1D de 2ª ordem

Expressão do filtro de Butterworth de 2ª ordem:

$$|H_a(j\Omega)|^2 = \left[ 1 + \left( \frac{j\Omega}{j\Omega_c} \right)^4 \right]^{-1} \rightarrow |H_a(s)|^2 = \left[ 1 + \frac{s^4}{\Omega_c^4} \right]^{-1} . \tag{B.12}$$

Da Eq. (B.12) obtém-se:

$$H_a(s) = \frac{\Omega_c^2}{(s - s_{p0})(s - s_{p1})} = \frac{\Omega_c^2}{s^2 + 2^{1/2}\Omega_c s + \Omega_c^2} , \tag{B.13}$$

e sobre esta expressão aplica-se a transformação bilinear dada pela Eq. (B.3) e a substituição da Eq. (B.5) para obter:

$$H_a(z) = \frac{a(1 + 2z^{-1} + z^{-2})}{1 + bz^{-1} + cz^{-2}} , \tag{B.14}$$

onde:

$$a = \frac{\tan^2\left(\frac{\omega_c}{2}\right)}{1 + 2^{1/2} \tan\left(\frac{\omega_c}{2}\right) + \tan^2\left(\frac{\omega_c}{2}\right)} ,$$

$$b = \frac{2 \left[ \tan^2 \left( \frac{\omega_c}{2} \right) - 1 \right]}{1 + 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_c}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_c}{2} \right)} \quad \text{e} \quad c = \frac{1 - 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_c}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_c}{2} \right)}{1 + 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_c}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_c}{2} \right)} \quad (\text{B.15})$$

Para que a excursão do sinal de saída seja igual à excursão do sinal de entrada, multiplica-se a função do filtro pelo inverso do seu ganho. O ganho do filtro é calculado por:  $H_a(z)|_{z=1} = \frac{4a}{1+b+c}$ , assim:

$$H'_a(z) = \frac{1+b+c}{4} \cdot \frac{1+2z^{-1}+z^{-2}}{1+bz^{-1}+cz^{-2}} \quad (\text{B.16})$$

onde  $b$  e  $c$  são dados pela Eq. (B.15). A expressão do filtro passa-baixas de 2ª ordem e de uma dimensão é dada pela Eq. (B.16) e seu programa computacional por:

$$y(n) = \frac{1+b+c}{4} \cdot [x(n) + 2x(n-1) + x(n-2)] - by(n-1) - cy(n-2) \quad (\text{B.17})$$

cujo diagrama de blocos é dado pela Fig.B.2.

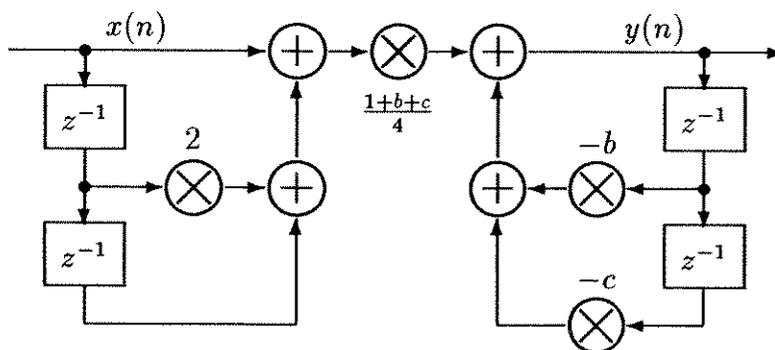


Figura B.2: Diagrama de blocos do FFB-1D de 2ª ordem

### B.3 Projeto do FPA-1D de 2ª ordem

O filtro passa-altas de 2ª ordem e uma dimensão é projetado por transformação de um filtro passa-baixas protótipo com frequência de corte do FPA-1D igual a  $\omega_p$ . Como filtro passa-baixas protótipo será usado aquele projetado na Seção B.2, representado pelas Eqs. (B.16) e (B.15) reproduzidas abaixo:

$$H'_a(z) = \frac{1+b+c}{4} \cdot \frac{1+2z^{-1}+z^{-2}}{1+bz^{-1}+cz^{-2}} \quad (\text{B.18})$$

$$b = \frac{2 \left[ \tan^2 \left( \frac{\omega_c}{2} \right) - 1 \right]}{1 + 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_c}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_c}{2} \right)} \quad e \quad c = \frac{1 - 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_c}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_c}{2} \right)}{1 + 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_c}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_c}{2} \right)} . \quad (B.19)$$

O FPB-1D protótipo é transformado num FPA-1D através da transformação dada pelas expressões abaixo:

$$z^{-1} = -\frac{\dot{z}^{-1} + \alpha}{1 + \alpha \dot{z}^{-1}} \quad e \quad \alpha = -\frac{\cos \left( \frac{\omega_p + \omega_c}{2} \right)}{\cos \left( \frac{\omega_p - \omega_c}{2} \right)} . \quad (B.20)$$

Escolhendo  $\omega_c = \pi/4 \Rightarrow b = -0,9428$  ,  $c = 1/3$  e  $G = 0,09763$ . Então aplicando-se a transformação dada pela Eq. (B.20) na Eq. (B.18) do FPB-1D, obtém-se a expressão do FPA-1D de 2ª ordem:

$$H(z) = \frac{A - 2Az^{-1} + Az^{-2}}{B + Cz^{-1} + Dz^{-2}} , \quad \text{onde:} \quad (B.21)$$

$$\alpha = -\frac{\cos \left( \frac{\omega_p}{2} + \frac{\pi}{8} \right)}{\cos \left( \frac{\omega_p}{2} - \frac{\pi}{8} \right)} \quad (B.22)$$

$$A = 0,09763(1 - 2\alpha + \alpha^2) \quad (B.23)$$

$$B = 1 + 0,9428\alpha + 1/3\alpha^2 \quad (B.24)$$

$$C = 2,667\alpha + 0,9428(1 + \alpha^2) \quad (B.25)$$

$$D = 1/3 + 0,9428\alpha + \alpha^2 \quad (B.26)$$

O programa computacional do FPA-1D está na Eq. (B.27) e o seu diagrama de blocos na Fig. B.3.

$$y(n) = \frac{A}{B} \cdot x(n) - \frac{2A}{B} \cdot x(n-1) + \frac{A}{B} \cdot x(n-2) - \frac{C}{B} \cdot y(n-1) - \frac{D}{B} \cdot y(n-2) \quad (B.27)$$

## B.4 Obtenção do FPB-2D de 1ª ordem

Como o filtro é separável pode-se escrever:

$$H(z_1, z_2) = H_1(z_1) \cdot H_2(z_2) , \quad (B.28)$$

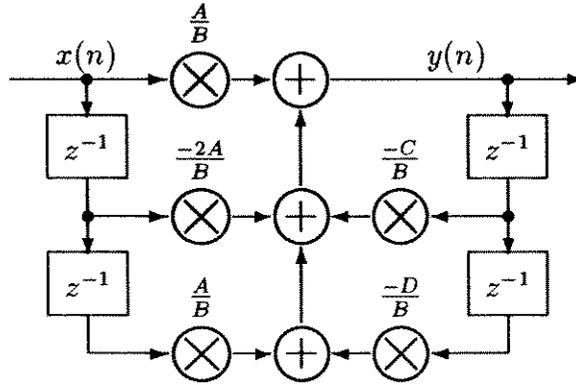


Figura B.3: Diagrama de blocos do FPA-1D de 2ª ordem

e usando a expressão do FPB-1D da Eq. (B.8) para  $H_1$  e  $H_2$  obtém-se:

$$H(z_1, z_2) = \left( \frac{1 - b_1}{2} \cdot \frac{1 + z_1^{-1}}{1 - b_1 z_1^{-1}} \right) \cdot \left( \frac{1 - b_2}{2} \cdot \frac{1 + z_2^{-1}}{1 - b_2 z_2^{-1}} \right) , \quad \text{onde:} \quad (B.29)$$

$$b_1 = \frac{1 - \tan \frac{\omega_{c1}}{2}}{1 + \tan \frac{\omega_{c1}}{2}} \quad \text{e} \quad b_2 = \frac{1 - \tan \frac{\omega_{c2}}{2}}{1 + \tan \frac{\omega_{c2}}{2}} . \quad (B.30)$$

O procedimento computacional para implementar este filtro segue as seguintes etapas:

1. As frequências de corte do filtro para cada direção,  $\omega_{c1}$  e  $\omega_{c2}$ , são fornecidas.
2. Calcula-se os parâmetros do filtro:  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_1 b_2$  e  $G = \frac{(1-b_1)(1-b_2)}{4}$ .
3. Os valores de cada pixel são calculados pela expressão:

$$y(n_1, n_2) = G[x(n_1, n_2) + x(n_1 - 1, n_2) + x(n_1, n_2 - 1) + x(n_1 - 1, n_2 - 1)] + b_1 y(n_1 - 1, n_2) + b_2 y(n_1, n_2 - 1) - b_1 b_2 y(n_1 - 1, n_2 - 1) \quad (B.31)$$

## B.5 Obtenção do FPB-2D de 2ª ordem

Como o filtro é separável pode-se escrever:

$$H(z_1, z_2) = H_1(z_1) \cdot H_2(z_2) , \quad (B.32)$$

e usando a expressão do FPB-1D da Eq. (B.16) para  $H_1$  e  $H_2$  obtém-se:

$$H(z_1, z_2) = \left( \frac{1 + b_1 + c_1}{4} \cdot \frac{1 + 2z_1^{-1} + z_1^{-2}}{1 + b_1 z_1^{-1} + c_1 z_1^{-2}} \right) \cdot \left( \frac{1 + b_2 + c_2}{4} \cdot \frac{1 + 2z_2^{-1} + z_2^{-2}}{1 + b_2 z_2^{-1} + c_2 z_2^{-2}} \right) , \quad (B.33)$$

onde:

$$b_1 = \frac{2 \left[ \tan^2 \left( \frac{\omega_{c1}}{2} \right) - 1 \right]}{1 + 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_{c1}}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_{c1}}{2} \right)}, \quad c_1 = \frac{1 - 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_{c1}}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_{c1}}{2} \right)}{1 + 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_{c1}}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_{c1}}{2} \right)}, \quad (\text{B.34})$$

$$b_2 = \frac{2 \left[ \tan^2 \left( \frac{\omega_{c2}}{2} \right) - 1 \right]}{1 + 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_{c2}}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_{c2}}{2} \right)} \quad \text{e} \quad c_2 = \frac{1 - 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_{c2}}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_{c2}}{2} \right)}{1 + 2^{1/2} \tan \left( \frac{\omega_{c2}}{2} \right) + \tan^2 \left( \frac{\omega_{c2}}{2} \right)}. \quad (\text{B.35})$$

O procedimento computacional para implementar este filtro segue as seguintes etapas:

1. As frequências de corte do filtro para cada direção,  $\omega_{c1}$  e  $\omega_{c2}$ , são fornecidas.
2. Calcula-se os parâmetros do filtro:  $b_1$ ,  $c_1$ ,  $b_2$ ,  $c_2$ ,  $b_1b_2$ ,  $c_1b_2$ ,  $b_1c_2$ ,  $c_1c_2$ , e  $G = \frac{(1+b_1+c_1)(1+b_2+c_2)}{16}$ .
3. Os valores de cada pixel são calculados pela expressão:

$$\begin{aligned} y(n_1, n_2) = & G \cdot [x(n_1, n_2) + 2x(n_1 - 1, n_2) + x(n_1 - 2, n_2) + 2x(n_1, n_2 - 1) \\ & + 4x(n_1 - 1, n_2 - 1) + 2x(n_1 - 2, n_2 - 1) + x(n_1, n_2 - 2) \\ & + 2x(n_1 - 1, n_2 - 2) + x(n_1 - 2, n_2 - 2)] - b_1y(n_1 - 1, n_2) \\ & - c_1y(n_1 - 2, n_2) - b_2y(n_1, n_2 - 1) - b_1b_2y(n_1 - 1, n_2 - 1) \\ & - c_1b_2y(n_1 - 2, n_2 - 1) - c_2y(n_1, n_2 - 2) - b_1c_2y(n_1 - 1, n_2 - 2) \\ & - c_1c_2y(n_1 - 2, n_2 - 2) \end{aligned} \quad (\text{B.36})$$

## B.6 Obtenção do FPA-2D de 2ª ordem

Como o filtro é separável pode-se escrever:

$$H(z_1, z_2) = H_1(z_1) \cdot H_2(z_2), \quad (\text{B.37})$$

e usando a expressão do FPA-1D da Eq. (B.21) para  $H_1$  e  $H_2$  obtém-se:

$$H(z_1, z_2) = \left( \frac{A_1 - 2A_1z_1^{-1} + A_1z_1^{-2}}{B_1 + C_1z_1^{-1} + D_1z_1^{-2}} \right) \cdot \left( \frac{A_2 - 2A_2z_2^{-1} + A_2z_2^{-2}}{B_2 + C_2z_2^{-1} + D_2z_2^{-2}} \right), \quad (\text{B.38})$$

onde:

$$\alpha_1 = -\frac{\cos\left(\frac{\omega_{p1}}{2} + \frac{\pi}{8}\right)}{\cos\left(\frac{\omega_{p1}}{2} - \frac{\pi}{8}\right)} \quad (\text{B.39})$$

$$A_1 = 0,09763(1 - 2\alpha_1 + \alpha_1^2) \quad (\text{B.40})$$

$$B_1 = 1 + 0,9428\alpha_1 + 1/3\alpha_1^2 \quad (\text{B.41})$$

$$C_1 = 2,667\alpha_1 + 0,9428(1 + \alpha_1^2) \quad (\text{B.42})$$

$$D_1 = 1/3 + 0,9428\alpha_1 + \alpha_1^2 \quad (\text{B.43})$$

$$\alpha_2 = -\frac{\cos\left(\frac{\omega_{p2}}{2} + \frac{\pi}{8}\right)}{\cos\left(\frac{\omega_{p2}}{2} - \frac{\pi}{8}\right)} \quad (\text{B.44})$$

$$A_2 = 0,09763(1 - 2\alpha_2 + \alpha_2^2) \quad (\text{B.45})$$

$$B_2 = 1 + 0,9428\alpha_2 + 1/3\alpha_2^2 \quad (\text{B.46})$$

$$C_2 = 2,667\alpha_2 + 0,9428(1 + \alpha_2^2) \quad (\text{B.47})$$

$$D_2 = 1/3 + 0,9428\alpha_2 + \alpha_2^2 \quad (\text{B.48})$$

O procedimento computacional para implementar este filtro segue as seguintes etapas:

1. As frequências de corte do filtro para cada direção,  $\omega_{c1}$  e  $\omega_{c2}$ , são fornecidas.
2. Calcula-se os parâmetros do filtro:

$$\begin{aligned} A &= \frac{A_1 A_2}{B_1 B_2} & B &= \frac{-2A_1 A_2}{B_1 B_2} & C &= \frac{4A_1 A_2}{B_1 B_2} & D &= \frac{-C_1}{B_1} \\ E &= \frac{-D_1}{B_1} & F &= \frac{-C_2}{B_2} & G &= \frac{-C_1 C_2}{B_1 B_2} & H &= \frac{-D_1 C_2}{B_1 B_2} \\ I &= \frac{-D_2}{B_2} & J &= \frac{-C_1 D_2}{B_1 B_2} & K &= \frac{-D_1 D_2}{B_1 B_2} \end{aligned} \quad (\text{B.49})$$

3. Os valores de cada pixel são calculados pela expressão:

$$\begin{aligned} y(n_1, n_2) &= Ax(n_1, n_2) + Bx(n_1 - 1, n_2) + Ax(n_1 - 2, n_2) + Bx(n_1, n_2 - 1) \\ &+ Cx(n_1 - 1, n_2 - 1) + Bx(n_1 - 2, n_2 - 1) + Ax(n_1, n_2 - 2) \\ &+ Bx(n_1 - 1, n_2 - 2) + Ax(n_1 - 2, n_2 - 2) + Dy(n_1 - 1, n_2) \\ &+ Ey(n_1 - 2, n_2) + Fy(n_1, n_2 - 1) + Gy(n_1 - 1, n_2 - 1) \\ &+ Hy(n_1 - 2, n_2 - 1) + Iy(n_1, n_2 - 2) + Jy(n_1 - 1, n_2 - 2) \\ &+ Ky(n_1 - 2, n_2 - 2) \end{aligned} \quad (\text{B.50})$$

# Bibliografia

- [1] Horridge, G. Adrian *The Compound Eye of Insects*. Scientific American, julho de 1977.
- [2] *Photography Through the Microscope*. Kodak Publication N<sup>o</sup> P-2, Eastman Kodak Company, 1980.
- [3] *Close-Up Photography and Photomacrography — Vol. II: Photomacrography*. Kodak Publication N<sup>o</sup> N-12B, Eastman Kodak Company, 1974.
- [4] Slayter, Elizabeth M. *Optical Methods in Biology*. Wiley-Interscience, 1970.
- [5] Françon, M. *Progress in Microscopy*. Row, Peterson and Company, 1961.
- [6] Walker, M. I. *Fotomicrografia Amateur*. Ediciones Omega S/A, Barcelona, 1973.
- [7] Bücherl, Wolfgang *Técnica Microscópica - Compêndio para pesquisadores, estudantes e amadores*. Editora Polígono, São Paulo, 3<sup>a</sup> edição revista e ampliada, 1965.
- [8] Loveland, Roger P. *Photomicrography - A Comprehensive Treatise — Vol.I: Photographic Science and Technology and the Graphic Arts Series*. John Wiley & Sons, Inc, 1970.
- [9] Bozzola, John J.; Russell, Lonnie D. *Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists*. Jones and Bartlett Publishers, Inc., Boston, 1992.
- [10] Goodhew, P. J.; Humphreys, F. J. *Electron Microscopy and Analysis*. Taylor and Francis, Inc., London, 1988.
- [11] Cox, Arthur *Optica Fotográfica – Un Enfoque Moderno de la Técnica de la Definición*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, 1979.
- [12] Clerc, L. P. *Fotografía Teoría y Práctica*. Ediciones Omega S.A., Barcelona, 1975.

- [13] Arnold, C. R.; Rolls, P. J.; Stewart, J. C. J. *Fotografía Aplicada*. Ediciones Omega S.A., Barcelona, 1974.
- [14] Folmer-Johnson, Eng<sup>o</sup> Tore Nils Olof *Elementos de Óptica*. Livraria Nobel S/A, São Paulo, 1958.
- [15] Driscoll, Walter G.; Vaughan, William *Handbook of Optics*. MacGraw-Hill Book Company, 1978.
- [16] Born, Max; Woff, Emil *Principles of Optics - Electromagnetic Theory of Propagation Interference and Diffraction of Light*. Pergamon Press, 6<sup>a</sup> Edition with corrections, 1980.
- [17] Lim, Jae S. *Two-Dimensional Signal and Image Processing*. Prentice-Hall International, Inc., 1990.
- [18] Gonzalez, Rafael C. *Digital Image Processing*. Addison-Wesley Publishing Company, Second Edition, 1987.
- [19] Wahl, Friedrich M. *Digital Image Signal Processing*. Artech House, Inc., 1987.
- [20] Oppenheim, Alan V., Editor *Applications of Digital Signal Processing*. Prentice-Hall International, Inc., 1978.
- [21] Rabiner, Lawrence R.; Gold, Bernard *Theory and Application of Digital Signal Processing*. Prentice-Hall International, Inc., 1975.
- [22] Dudgeon, D.A.; Mersereau, R.M. *Multidimensional Digital Signal Processing*. Prentice Hall International, Inc., 1984.
- [23] Oppenheim, Alan V.; Schaffer, Ronald W. *Digital Signal Processing*. Prentice Hall International, Inc., New Jersey, 1975.
- [24] Haykin, Simon *Adaptive Filter Theory*. Prentice Hall, 1986.
- [25] Bellanger, Maurice G. *Adaptive Digital Filters and Signal Analysis*. Marcel Dekker, Inc., 1987.
- [26] Papoulis, A. *Probability, Random Variables, and Stochastic Processes*. McGraw-Hill, Inc., Second Edition, 1984.

- [27] Risnik, Eng<sup>o</sup> David Marco *Transcodificador de Croma NTSC/PAL-M*. Ristron Editora, 1989.
- [28] Senatori, Nelson Orlando *Introdução à TV a Cores e ao Sistema PAL-M*. LITEC - Livraria Editora Técnica Ltda, Vol. I - Princípios, 2<sup>a</sup> Edição, 1971.
- [29] *Relatório Técnico RT-80*. CPqD Telebrás.
- [30] Gregene, Alan B. *Bipolar and MOS Analog Integrated Circuit Design*. John Wiley & Sons, 1984.
- [31] Gray, P.R.; Meyer, R.G. *Analysis and Design of Analog Integrated Circuits*. John Wiley & Sons, 1984.
- [32] *Analog-Digital Conversion Handbook*. Analog Devices, 1986.