

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS RADIOGRÁFICO E TOMOGRÁFICO COM  
TÉCNICAS DE CONTRASTE DE FASE E REALCE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Henrique de Souza Rocha

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA COORDENAÇÃO DOS  
PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS  
EM ENGENHARIA NUCLEAR

Aprovada por:

---

Prof. Ricardo Tadeu Lopes, D.Sc.

---

Prof. Edgar Francisco Oliveira de Jesus, D.Sc.

---

Prof. Ivan Evseev, D.Sc.

---

Prof<sup>a</sup>. Margarida Mizue Hamada, D.Sc.

---

Prof. Vitoldo Swinka Filho, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

ABRIL DE 2007

ROCHA, HENRIQUE DE SOUZA

Desenvolvimento de sistemas radiográfico e tomográfico com técnicas de contraste de fase e realce por difração de raios X [Rio de Janeiro] 2007

XVI, 165 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, D.Sc., Engenharia Nuclear, 2007)

Tese – Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE

1. Física Nuclear Aplicada
2. Instrumentação de Raios X
3. Física Médica

I. COPPE/UFRJ II. Título (série)

Aos meus pais Hermelino, Heloisa e meus irmãos Heraldo e Hedilson.

À Durvalina<sup>†</sup>, minha avó.

À Karla, minha esposa, pelo apoio e compreensão durante toda esta jornada.

## AGRADECIMENTOS

Ao final de mais esta jornada gostaria de agradecer a todos os meus amigos que estiveram ao meu lado me ajudando e apoiando nos momentos de dificuldade.

Gostaria de fazer um agradecimento especial ao Dr. Ricardo Tadeu Lopes meu orientador e amigo pelo apoio, pela total liberdade de ações que desde o mestrado auxiliaram em minha formação como pesquisador, pelas excelentes condições de trabalho (projetos, computadores e equipamentos) pela orientação nos trabalhos com os colaboradores, principalmente nos momentos difíceis em que a emoção poderia ter prejudicado o interesse maior que era a pesquisa, por tudo isso, muito obrigado.

Aos grandes amigos Gabriela e Davi que tem participado diretamente de minhas realizações e que tem me ajudado em todos os meus trabalhos. Ao Luis Fernando que tanto me ajudou desde o mestrado e que apesar de estarmos um pouco distantes continua sendo uma inspiração. A todos os amigos e amigas do LIN que de alguma forma participaram desta longa jornada. Ao Paulo César pela introdução relâmpago no software MatLab® que foi primordial para o meu desenvolvimento em programação e para o desenvolvimento de meu software de reconstrução.

Por darem início as pesquisas de contraste de fase e realce por difração, gostaria de agradecer aos professores: Cusatis, Irineu, Odair, Giles, German e Marcelo que fizeram parte do grupo inicial de pesquisas ao qual tive a felicidade em participar.

Aos amigos Irineu Mazzaro, German Tiraó, Marcelo Hönnicke e Guinther Kellerman pela inestimável ajuda nos experimentos no LNLS.

Aos amigos Edgar, Delson, Regina e Marcelino por todo o apoio.

Aos colaboradores Dra. Leila Pessoa (Instituto de Biologia – UFRJ), Dr. Sérgio Furtado dos Reis e Dra. Ana Claudia Alves (Instituto de Biologia – UNICAMP), Dr. Paulo Marcos (Departamento de Patologia – HUCFF/UFRJ) e ao Dr. Paulo Faria (INCA) pela ajuda em suas áreas de trabalho e por buscarem novas tecnologias para o desenvolvimento de nossas pesquisas.

A todos do LNLS pela excelente equipe que nos auxiliou, pelas excelentes condições de trabalho que o laboratório nos proporcionou e pelo auxílio financeiro.

Aos colegas e técnicos do LIN, Achilles, Bira, Carlos, Edilson, Érika, José Roberto, Josué, Maltar, Marques, Osmar e Sandro pela confecção de equipamentos e amostras, pelo apoio e ajuda em diversas atividades.

Ao Brig. Zotti, Cel. Alencastro, Cel. Mattos, T Cel. Sidnei, T Cel. Walcyr, Maj. Cabral, Maj. Santana, Maj. Marques e Cap. Novoa agradeço pela visão de futuro que os nortearam a me apoiar e por acreditarem em meu potencial desde o princípio de meus estudos. Espero que a atitude destas pessoas seja um exemplo para muitas outras que ainda não conseguiram transpor certas barreiras, e que isto sirva para que outros possam ser auxiliados a se desenvolver para o bem da Força Aérea e da Nação.

Ao Teixeira, L.Rodrigues\*, Marques, Barboza, Sbrano, Glyvaldo, Guimarães, Medeiros, Afonso, Christian, Jailton, Vladimir, Gilberto\*, Cross, Macias, Kistenmacker, Liesner, Pessanha, Ivan, Predes, Cunha, Eduardo, Maganha, Motta, Teles, Paiva, Vasconcelos, Cursi, Felipe, Silveira\*, Pellegrini\* e a todos os amigos do 3º/8º GAV e da BAAF por todo apoio e incentivo. Aos amigos não citados, somente por questões de espaço, considerem-se igualmente lembrados.

Ao meu padrinho Geraldo†.

Aos meus pais Hermelino e Heloisa, meus irmãos Heraldo e Hedilson, a minha avó Durvalina† e a toda minha família pelo carinho e apoio em todos os momentos de minha vida.

Finalmente e principalmente à Karla minha esposa por suportar esses dez anos de ausências, pela compreensão, apoio, força e dedicação que me fizeram chegar até aqui.

**A Deus e a todos vocês Muito Obrigado.**

Resumo da Tese apresentada à COPPE / UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS RADIOGRÁFICO E TOMOGRÁFICO COM TÉCNICAS DE CONTRASTE DE FASE E REALCE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Henrique de Souza Rocha

Abril / 2007

Orientador: Ricardo Tadeu Lopes

Programa: Engenharia Nuclear

Este trabalho teve como objetivo a construção e o desenvolvimento de sistemas radiográfico e tomográfico utilizando um novo método de obtenção de imagens através de técnicas de contraste de fase (PCI) e realce por difração (DEI). Estas técnicas consistem na obtenção de imagens através de contraste por refração, espalhamento a baixo ângulo e pela eliminação de espalhamento (extinção), diferentemente das técnicas convencionais que utilizam a atenuação de raios X para a obtenção do contraste. Os sistemas foram desenvolvidos no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN), COPPE/UFRJ e no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) em Campinas. Foram utilizados dois sistemas experimentais distintos e dois tipos de fontes de raios X. O primeiro arranjo experimental do sistema de PCI utilizou uma fonte convencional microfocada, com feixe cônico e tamanho focal mínimo da ordem de 10 micrometros. O segundo arranjo do sistema de PCI utilizou uma fonte de Luz Síncrotron com feixe monocromático de baixa divergência, expandido com um cristal assimétrico de Si 220. O sistema de DEI utilizou uma fonte síncrotron em um arranjo experimental com um cristal sulcado de Si 333 utilizado para reduzir a divergência do feixe e um segundo sulcado utilizado como analisador, instalados em um difratômetro duplo eixo de alta precisão angular. Os resultados mostraram que os sistemas construídos permitem obter imagens de alto contraste para amostras de baixa densidade e pode ser empregados em diversas áreas, principalmente em biologia, física médica e em aplicações com materiais compósitos.

Abstract of Thesis presented to COPPE / UFRJ as a partial fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

RADIOGRAPHIC AND TOMOGRAPHIC SYSTEMS DEVELOPMENT WITH X-  
RAY PHASE CONTRAST AND DIFFRACTION ENHANCED TECHNIQUES

Henrique de Souza Rocha

April / 2007

Advisor: Ricardo Tadeu Lopes

Department: Nuclear Engineering

This work developed radiographic and tomographic systems using a new image method through phase contrast (PCI) and Diffraction Enhanced Imaging (DEI). These techniques obtain images through contrast for refraction, low angle scattering and extinction contrast, differently of the conventional techniques that use the X-Ray attenuation to obtain the contrast. The systems were developed at the Nuclear Instrumentation Laboratory (LIN), COPPE/UFRJ and at National Synchrotron Laboratory (LNLS) in Campinas town. Two different experimental systems and two X-ray source types were used. The first experimental setup of PCI used a microfocused conventional source, with cone beam and 10 micrometers of minimal focal spot size. The second setup of PCI used a monochromatic synchrotron source with low divergence beam, expanded with an asymmetric crystal of Si 220. The system of DEI used a synchrotron source and experimental setup with Si 333 channel cut to reduce the divergence of the beam and a second channel cut used as analyzer mounted in a double axis diffractometer of high angular precision. The results showed that the systems built allowed to obtain images of high contrast for low density samples and it can be used in several areas, mainly in biology, medical physics and in applications with composites materials.

# Índice

<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<i>I.1 Revisão Bibliográfica</i>	<b>3</b>
<i>I.2 Estado da Arte</i>	<b>7</b>
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>11</b>
<b>II FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b> .....	<b>11</b>
<b>II.1 Produção de Raios X – Fonte Convencional</b>	<b>11</b>
II.1.1 Introdução .....	12
II.1.2 Espectros de radiação.....	14
II.1.3 Tamanho focal e desfocagem geométrica.....	17
II.1.4 Focalização .....	19
<b>II.2 Produção de Raios X – Fonte Síncrotron</b>	<b>20</b>
II.2.1 Introdução .....	20
II.2.2 Espectros de radiação.....	23
II.2.3 Divergência.....	24
II.2.4 Dispositivos de inserção .....	24
II.2.5 Linhas de luz e focalização do feixe .....	25
II.2.6 Estações experimentais .....	25
<b>II.3 Interação da Radiação com a Matéria</b>	<b>26</b>
II.3.1 Coeficiente de atenuação .....	26
II.3.2 Efeito Fotoelétrico .....	27
II.3.3 Espalhamento Compton.....	28
II.3.4 Espalhamento coerente (Rayleigh ou elástico).....	30
II.3.5 Coerência e divergência.....	31
II.3.6 Refração .....	31
II.3.7 Difração.....	33
II.3.8 Fase .....	34
<b>II.4 Princípios de aquisição e reconstrução de imagens</b>	<b>36</b>
II.4.1 Reconstrução a partir de Projeções .....	36
II.4.2 Projeções com Radiação Monocromática.....	37
II.4.3 Teorema da Fatia de Fourier.....	42
II.4.4 Reconstrução por Retroprojeção 2D .....	44
<b>II.5 Teoria de contraste de fase e realce por difração</b>	<b>51</b>
II.5.1 Método de Interferometria .....	52
II.5.2 Obtendo imagens de contraste de fase sem analisador.....	53
II.5.3 Os métodos de imagem por realce de difração .....	54
II.5.4 Geometria de cristais.....	55



II.5.5	Rocking curve .....	58
II.5.6	Radiografia por Realce de Difração.....	59
II.5.7	Tomografia por Realce de Difração.....	61
<b>CAPÍTULO III.....</b>		<b>64</b>
<b>III</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>64</b>
<b>III.1</b>	<b><i>Características Técnicas dos Equipamentos e Fontes</i></b>	<b>64</b>
III.1.1	Fonte de Raios X Microfocada .....	64
III.1.2	Fonte síncrotron .....	64
III.1.3	Estação experimental .....	66
III.1.4	Monocromador.....	67
III.1.5	Características dos detectores .....	68
III.1.6	Sistema de controle e movimentação da amostra .....	72
<b>III.2</b>	<b><i>Sistemas Experimentais</i></b>	<b>74</b>
III.2.1	Sistema de contraste de fase utilizando uma fonte microfocada .....	74
III.2.2	Sistema de contraste de fase utilizando uma fonte síncrotron .....	77
III.2.3	Sistema radiográfico de realce por difração.....	80
III.2.4	Aprimoramento do sistema radiográfico de realce por difração.....	82
III.2.5	Sistema tomográfico de realce por difração.....	84
III.2.6	Aprimoramento do sistema tomográfico de realce por difração.....	86
<b>CAPÍTULO IV.....</b>		<b>88</b>
<b>IV</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>88</b>
<b>IV.1</b>	<b><i>Parâmetros de Qualidade</i></b>	<b>88</b>
IV.1.1	Divergência do feixe síncrotron.....	88
IV.1.2	Contraste .....	91
IV.1.3	Alinhamento.....	91
IV.1.4	Filtros de reconstrução.....	93
IV.1.5	Correção da intensidade do feixe síncrotron.....	94
IV.1.6	Correção da divergência .....	95
<b>IV.2</b>	<b><i>Caracterização do sistema de radiografia por contraste de fase</i></b>	<b>96</b>
<b>IV.3</b>	<b><i>Caracterização do sistema de realce por difração – DEI</i></b>	<b>99</b>
IV.3.1	Resolução espacial do sistema montado no LNLS .....	99
IV.3.2	Contraste em função da divergência .....	100
IV.3.3	Resolução espacial em tomografia.....	105
<b>IV.4</b>	<b><i>Aplicação do Sistema em Biologia</i></b>	<b>107</b>
IV.4.1	Estudos do desenvolvimento e características morfológicas de pré-natos de morcegos e recém nascidos de marsupiais.....	107
IV.4.2	Estudos de ossificação dérmica e hiperossificação em <i>Brachycephalus</i> .....	112
IV.4.3	Estudos de características anatômicas de báculos de morcegos para caracterização de espécimes.....	116

<b><i>IV.5 Aplicação do Sistema em Botânica</i></b>	<b>116</b>
IV.5.1 Estudo preliminar para identificação de canais em plantas. ....	116
<b><i>IV.6 Aplicação do Sistema em Física Médica</i></b>	<b>118</b>
IV.6.1 Estudos de identificação de bócio multinodular de tireóide .....	118
IV.6.2 Estudos de identificação de calcificação e disfunções de mama .....	119
IV.6.3 Estudos preliminares de tecidos de Estômago e Sigmóide.....	120
<b><i>IV.7 Aplicação do Sistema de contraste de fase na Indústria e em biologia</i></b>	<b>120</b>
IV.7.1 Estudos e caracterização de compósitos utilizados na indústria aeroespacial.....	120
IV.7.2 Estudo de caracteres morfológicos de <i>Brachycephalus</i> .....	121
<b>CAPÍTULO V.....</b>	<b>122</b>
<b>V CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....</b>	<b>122</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>124</b>
<i>Apêndice.1 Lista de Trabalhos Publicados em Periódicos</i>	<i>125</i>
<i>Apêndice.2 Lista de Participação em Eventos</i>	<i>126</i>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>128</b>
<b>ANEXO</b>	
<i>Trabalhos publicados em periódicos</i>	

# Índice de Figuras

Figura II-01 – Esquema de ampola de raios X.....	13
Figura II-02 – Espectro contínuo de Röntgen. ....	15
Figura II-03 – Modelo de geração de radiação característica e diagrama de energia de raio X .....	15
Figura II-04 – Espectro de Röntgen. ....	17
Figura II-05 – Desfocagem geométrica .....	18
Figura II-06 – Fonte de raios X microfocada .....	19
Figura II-07 – Diagrama de um acelerador linear .....	20
Figura II-08 – Esquema de componentes básicos do síncrotron .....	21
Figura II-09 – Produção de luz síncrotron.....	22
Figura II-10 – Espectros de luz síncrotron em função da brilhância da fonte.....	23
Figura II-11 – Espalhamento de um fóton em um ângulo $\theta$ , por unidade de ângulo sólido ( $d\Omega$ ).....	28
Figura II-12 – Diagrama de mudança de fase.....	34
Figura II-13 – Objeto de pura fase (a), distribuição de intensidade (b) e interferograma (c).....	35
Figura II-14 – Interação da radiação com a matéria.....	37
Figura II-15 – Função projeção. ....	40
Figura II-16 – Filtros utilizados na reconstrução.....	47
Figura II-17 – Geometria de feixe divergente. ....	48
Figura II-18 – Interferômetro Bonse-Hart .....	52
Figura II-19 – Esquema experimental de contraste de fase com feixe paralelo .....	53
Figura II-20 - Esquema experimental de contraste de fase com feixe divergente.....	54
Figura II-21 – Esquema experimental de realce por difração .....	55
Figura II-22 – Célula unitária de uma rede cristalina.....	55
Figura II-23 – Orientação dos planos cristalinos.....	56
Figura II-24 – Geometria de cristais.....	57
Figura II-25 – Curva de refletividade (Rocking curve).....	58
Figura II-26 – Curva de refletividade de um analisador de cristal perfeito Si 111 .....	59
Figura III-01 – Diagrama das linhas de luz do LNLS .....	65
Figura III-02 – Diagrama da Linha de Luz D10A-XRD2.....	66
Figura III-03 – Fluxo de fótons da linha D10A-XRD2.....	67

Figura III-04 – Imagem interna de um conjunto monocromador e seus cristais.....	68
Figura III-05 – Detector CCD modelo LCX-TE. ....	68
Figura III-06 – Gráfico da Eficiência do Detector CCD. ....	70
Figura III-07 – Gráfico simulado da absorção de fótons por filme digital.....	72
Figura III-08 – Goniômetro, porta amostras e transladores .....	73
Figura III-09 – Sistemas de aquisição e controle .....	73
Figura III-10 – Módulo de filtros eletro-pneumático .....	73
Figura III-11 – Sistema radiográfico / tomográfico de “caminho livre” – LIN. ....	75
Figura III-12 – Relação entre o tamanho do pixel e a distância fonte-detector.....	76
Figura III-13 – Relação entre a energia efetiva e distância fonte-detector.....	76
Figura III-14 – 1° arranjo experimental LNLS-D10A-XRD2-1672. ....	78
Figura III-15 – 2° arranjo experimental LNLS-D10A-XRD2-1672. ....	79
Figura III-16 – Detalhes do 1° arranjo experimental e cristais. ....	79
Figura III-17 – Montagem do 2° arranjo experimental e detalhes dos transladores. ....	80
Figura III-18 – Arranjo experimental LNLS-D10A-XRD2-1323.....	81
Figura III-19 – Arranjo experimental esquematizado. ....	81
Figura III-20 – Foto do arranjo experimental #1995 de radiografia por realce de difração.....	83
Figura III-21 – Arranjo experimental #1995 para radiografia por realce de difração.....	83
Figura III-22 – Foto do arranjo experimental #2407 de tomografia por realce de difração.....	85
Figura III-23 – Arranjo experimental #2407 de tomografia por realce de difração.....	85
Figura III-24 – Arranjo experimental #3469.....	86
Figura IV-01 – Divergência horizontal do feixe na saída do monocromador da linha .....	89
Figura IV-02 – Divergência vertical do feixe na saída do monocromador da linha .....	90
Figura IV-03 – Divergência vertical do feixe incidente na amostra.....	90
Figura IV-04 – Imagens reconstruídas de um tubo padrão em diferentes pontos de alinhamento .....	92
Figura IV-05 – Gráfico do perfil de um tubo em posições diferentes de alinhamento .....	92
Figura IV-06 – Gráfico do sinograma de alinhamento.....	92
Figura IV-07 – Influência do filtro de reconstrução.....	93
Figura IV-08 – Sinograma original (A), matriz de correção (B), sinograma corrigido (C), reconstrução sem correção (D) e reconstrução com correção (E).....	94
Figura IV-09 – Reconstrução tomográfica sem (A) e com (B) correção de divergência..	96
Figura IV-10 – Radiografia convencional (A) Radiografia por contraste de fase (B) .....	96

Figura IV-11 – Perfil de um tubo plástico de uma radiografia por contraste de fase mostrando o aumento de contraste devido à refração .....	97
Figura IV-12 – Imagem radiográfica de um padrão de acrílico a 6 keV (A) e 8 keV (B), mostrando a posição dos perfis traçados .....	97
Figura IV-13 – Realce de borda em função da energia do feixe .....	98
Figura IV-14 – Realce de borda em função da distância fonte-detector .....	98
Figura IV-15 – MTF do sistema de radiografia por contraste de fase.....	99
Figura IV-15 – MTF do sistema de DEI montado no LNLS .....	99
Figura IV-16 – Corpo de provas padrão para verificação da divergência vertical.....	100
Figura IV-17 – Cortes do corpo de provas mostrando imagens em diferentes posições da “rocking curve” .....	101
Figura IV-18 – Cortes do corpo de provas com tratamento para minimizar os efeitos de intensidade.....	101
Figura IV-19 – Perfil do tubo (B) em diferentes posições da “rocking curve”. .....	102
Figura IV-20 – Radiografias realçadas por difração de um padrão de fios para observação da diferença de divergência na horizontal(H) e vertical(V). .....	103
Figura IV-21 – Perfil dos tubos (B) no topo da “rocking curve” para observação da diferença de contraste na horizontal e vertical .....	103
Figura IV-22 – Curvas simuladas para atenuação a 10 keV.....	104
Figura IV-23 – DEI no topo (a) e no flanco (b) de um fio de nylon parcialmente imerso em metanol .....	104
Figura IV-24 – Perfil de uma radiografia por DEI de um fio de nylon no topo da RC... ..	105
Figura IV-25 – Perfil de uma radiografia por DEI de um fio de nylon dentro e fora do metanol no flanco da RC .....	105
Figura IV-26 – Corpo de provas padrão para verificação da resolução espacial em tomografia com seus valores internos representados em milímetros .....	106
Figura IV-27 – Reconstrução tomográfica de contraste por extinção (A), contraste por refração (B) e por contraste por realce de difração (C) de tubos padrões. ....	106
Figura IV-28 – Microradiografia de um <i>Micoureus demerarae</i> , feita com 8 keV (a) e com 17 keV(b).....	108
Figura IV-29 – Radiografia convencional (1) e primeira imagem de contraste de fase com 14 keV de um <i>Desmodus rotundus</i> feita no LNLS.....	109
Figura IV-30 – Microradiografia convencional (A) e DER (B) de um feto de <i>Desmodus rotundus</i> (MN67918), eixo antero-posterior(z), região orbital(2) e antebraço(1)... ..	109

Figura IV-31 – Microradiografia convencional (A) e DER (B) de um feto de <i>Desmodus rotundus</i> (MN67667) em um segundo estágio de desenvolvimento .....	110
Figura IV-32 – DER (A) no topo da “rocking curve” e no flanco (B) de um pós-nato de marsupial (MN68530) .....	111
Figura IV-33 – Fotografia (a) microradiografia convencional (c , d) e DER (d) de um feto de <i>Desmodus rotundus</i> (MN67667) .....	111
Figura IV-34 – Fotografia (a,c) e DER (b,d) de um feto de <i>Desmodus rotundus</i> (MN67944) .....	112
Figura IV-35 – DER (A) no topo da “rocking curve” e no flanco (B) de um <i>Brachycephalus sp</i> .....	113
Figura IV-36 – DER (A) no topo da “rocking curve” e no flanco (B) de um <i>Brachycephalus pernix</i> .....	113
Figura IV-37 – Radiografia convencional com feixe monocromático de 10,4 keV de (A) <i>Brachycephalus ephippium</i> e (B) <i>Brachycephalus brunneus</i> .....	114
Figura IV-38 – Representação gráfica da calcificação craniana .....	114
Figura IV-39 – Marcos evolutivos .....	115
Figura IV-40 – Análise multivariável de <i>Brachycephalus</i> .....	115
Figura IV-41 – Radiografia por realce de difração no topo (A) e ligeiramente no flanco (B) da “rocking curve” .....	116
Figura IV-42 – Radiografia por realce de difração no topo da RC (extinção) .....	117
Figura IV-43 – Radiografia por realce de difração no flanco da RC .....	117
Figura IV-44 – Radiografia convencional (1) e imagem de lâmina histológica (2).....	118
Figura IV-45 – Radiografia Realçada por Difração no flanco (A) e no topo (B) da RC	118
Figura IV-46 – Radiografia Realçada por Difração no flanco [-0,25](A), no topo (B) e no outro flanco [-0,25] (C) de uma amostra de mama com músculo .....	119
Figura IV-47 – Radiografia Realçada por Difração no topo (A) e ligeiramente no flanco (B) de uma amostra de mama com calcificações .....	119
Figura IV-48 – DER de uma amostra de tecido de estômago no flanco [-0,5] (A), no topo (B) e no flanco [+0,5] (C).....	120
Figura IV-49 – DER de uma amostra de tecido de sigmóide no flanco [-0,5] (A), no topo (B) e no flanco [+0,5] (C).....	120
Figura IV-50 – RCF de uma amostra de fibra com 12x e 14x de magnificação. ....	121
Figura IV-51 – Radiografia convencional (A) e por contraste de fase (B) - LIN .....	121

## Índice de Tabelas

Tabela II-1 – Valores energéticos da radiação $K_{\alpha 1}$ e $K_{\beta 1}$ .....	16
Tabela II-2 – Classificação dos tubos de raios X. ....	18
Tabela II-3 – Filtros de reconstrução.....	46
Tabela III-1 – Características principais do anel de armazenamento.....	65
Tabela III-2 – Características principais do síncrotron injetor.....	66
Tabela III-3 – Características do detector.....	69
Tabela III-4 – Especificações técnicas do filme MX125. ....	71
Tabela IV-1 – Dimensões dos tubos.....	100
Tabela IV-2 – Identificação de estruturas.....	108

## Constantes Físicas

<i>Constante</i> *	<i>Símbolo</i>	<i>Valor</i>	<i>Inc. (ppb)</i>
Velocidade da luz	$c$	$2,997\,924\,58 \times 10^8$ m/s	exato
Constante de Planck	$h$	$6,626\,068\,76(52) \times 10^{-34}$ j.s	78
Carga do elétron	$e$	$1,602\,176\,462(63) \times 10^{-19}$ C	39,59
Massa do elétron	$m_e$	$9,109\,381\,88(72) \times 10^{-31}$ kg	40,79
Radio clássico do elétron	$\Gamma_e$	$2,817\,940\,285(31) \times 10^{-15}$ m	11
Número de Avogrado	$N_A$	$6,022\,141\,99(47) \times 10^{23}$ 1/mol	79

\* Disponível em: <http://physics.nist.gov/cuu/Constants/index.html>



# CAPÍTULO I

## Introdução

Os avanços tecnológicos em diferentes áreas do conhecimento ocorrem diretamente ligados à capacidade das técnicas de observação e investigação de objetos e estruturas que cientistas e pesquisadores têm disponíveis para seus estudos.

A capacidade de observação vem sendo aprimorada desde o início das pesquisas científicas, com o desenvolvimento de lentes e cristais em ópticas avançadas, raios X, microscopia eletrônica, fontes síncrotron, etc.

Estas novas técnicas investigativas sofrem constantes aprimoramentos para superar dificuldades principalmente em aplicações que necessitam observar detalhes e estruturas em objetos com baixo coeficiente de atenuação como fibras e tecidos biológicos. Diversas técnicas utilizando raios X têm sido empregadas para estes estudos. Estas técnicas empregam as propriedades de atenuação, refração e difração dos raios X para observar detalhes de difícil acesso com técnicas convencionais de radiografia, tomografia e microscopia, geralmente em função das pequenas diferenças entre os coeficientes de atenuação.

Estudos baseados na observação dos efeitos ocasionados no plano do detector pela mudança de fase da frente de ondas que atravessa um objeto por caminho livre (PCI) ou pela utilização de um arranjo experimental capaz de observar o feixe difratado em ângulos específicos através de um cristal analisador (DEI) estão sendo desenvolvidos.

As técnicas de contraste de fase têm sido empregadas amplamente desde a sua utilização em microscópios ópticos especiais. Estes microscópios utilizam lentes objetivas de fase, que consiste de um disco de vidro com uma escavação circular, de modo que a luz ao atravessar a escavação tenha uma diferença de fase de  $1/4$  da fase em relação à que atravessa a outra porção do vidro. Assim, os objetos analisados podem funcionar como verdadeiras redes de difração, pois os detalhes da sua estrutura resultam de pequenas diferenças nos índices de refração dos componentes celulares, e estes originam diferenças de fase nas radiações que os atravessam. Este equipamento permite a observação de microrganismos vivos, sem necessidade de coloração, através do contraste devido à diferença de fase dos raios luminosos que atravessam os

microorganismos e a fase da luz que atravessa a porção de fundo do vidro. O princípio foi descoberto por volta de 1932 pelo físico holandês Frits Zernike<sup>[1]</sup>.

A técnica de Imagem Realçada por Difração ou “Diffraction-Enhanced Imaging – DEI” utiliza o desvio angular de um feixe provocado por espalhamento. Ela foi desenvolvida em 1926<sup>[2]</sup> através da utilização de um duplo cristal em geometria não dispersiva e mais recentemente (1980 – 1995) em trabalhos aplicados para a obtenção de imagens<sup>[3, 4, 5]</sup>.

Esta técnica, que utiliza um arranjo experimental de duplo ou triplo eixo para obter imagens recebeu recentemente o nome de DEI<sup>[6]</sup> onde, na realidade, este nome é dado ao procedimento matemático de tentar extrair imagens por contraste de refração e por contraste de aparente absorção (absorção fotoelétrica + espalhamento a ultra baixo ângulo). Na prática o nome DEI tem sido empregado nos arranjos experimentais que utilizam um cristal analisador para obter imagens.

Esta Tese de Doutorado teve como objetivo a construção e o desenvolvimento de sistemas radiográfico e tomográfico utilizando técnicas de imagens por contraste de fase (PCI) e realce por difração (DEI).

Para desenvolver esta tecnologia no Brasil foi montado em meados de 2002 um grupo formado por especialistas em óptica de raios X e difração da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) / Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) e por especialistas em instrumentação nuclear e imagens do Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), além de um pesquisador do Instituto de Física (IF) da UFRJ.

Também foram engajados neste projeto dois alunos de doutorado, um da UFPR e outro da UFRJ. Estes estudos preliminares foram efetivados com a publicação de um artigo no periódico “Journal Synchrotron Radiation”<sup>[7]</sup>. Em meados de 2003 novos pesquisadores do Instituto de Biologia da UFRJ e Patologia do Hospital Universitário (HUCFF) foram incluídos no projeto para a aplicação do nosso desenvolvimento em suas áreas de conhecimento.

O esforço do grupo levou a publicação de artigos completos em congressos da área de biologia<sup>[8]</sup>, física médica<sup>[9]</sup> e ensaios não destrutivos<sup>[10]</sup>, além da publicação dos avanços em periódicos internacionais como o “Nuclear Instruments and Methods”<sup>[11, 12]</sup>, o “Review of Scientific Instruments”<sup>[13]</sup> e o X-Ray Spectrometry (in press) como está listado no apêndice 1. No período de 2004 a 2006 o projeto novamente foi

reforçado com pesquisadores ligados à área de biologia da Unicamp e Patologia do Instituto Nacional do Câncer (INCA).

Este estudo se baseou nos avanços ocorridos em outros países desde a década de 40 onde serão destacados a seguir os trabalhos mais significativos.

## ***1.1 Revisão Bibliográfica***

A técnica de contraste de fase e realce por difração tem por base as propriedades de refração e difração dos raios X para intensificar contornos e bordas de tecidos e materiais com baixo contraste de atenuação. Esta técnica permite reduzir os danos causados pelo efeito de dose em amostras biológicas<sup>[2]</sup> e possibilita ampliar a gama de aplicações em diversas outras áreas de pesquisa com técnicas de raios X<sup>[14]</sup>.

As bases da teoria de contraste de fase surgiram em 1948 com o trabalho de Garbor<sup>[15]</sup> em um artigo sobre novos princípios em microscopia. Ele demonstra que a partir de uma fonte de baixa divergência e com coerência suficiente em relação ao limite de detecção do sistema, pode obter uma imagem formada pela interferência da frente de ondas da fonte com a frente de ondas modificada pelo objeto. Anos mais tarde Cosslett e Nixon<sup>[16,17]</sup> publicaram os primeiros artigos utilizando os princípios de contraste de fase em um trabalho onde foram obtidas imagens de insetos com um fator de magnificação de 30 vezes em um microscópio que utilizava uma fonte de raios X “pontual” através da focalização dos elétrons em um alvo metálico. No mesmo período, Baez<sup>[18]</sup> sugere a construção de um microscópio holográfico de raios X.

O desenvolvimento da técnica passou a utilizar arranjos ópticos baseados em cristais para criar imagens a partir da interferência de uma frente de ondas de referência com uma frente de ondas que sofreu interação com a amostra. Esta interferência era criada em um interferômetro feito a partir de um bloco de cristal único em uma geométrica de Laue, onde a onda de referência faz um caminho diferente da onda que interage com a amostra. Ando e Hosoya<sup>[19]</sup> em 1972, utilizando um interferômetro de raios X desenvolvido por Bonse e Hart<sup>[20]</sup> em 1965, sugeriram o uso do sistema em microrradiografia ou microscopia por contraste de fase. Utilizando um tubo convencional de raios X com alvo de molibdênio a 50 kV e 2,5 mA com tempo de exposição de aproximadamente 50 horas, comparou as imagens obtidas por contraste de fase com radiografias convencionais de amostras de insetos (borboleta comum), de osso cortical e de granito.

A técnica se desenvolveu com a utilização de outras fontes como foi feito por Podurets et al<sup>[3]</sup> em 1989, os quais utilizaram cristais para fazer neutrografias por refração somada a atenuação e por pura atenuação utilizando respectivamente as geometrias dentro e fora da condição de Bragg. Mostraram que mesmo com a perda de intensidade ocasionada pelos cristais (20% a 30%) havia um ganho em contraste compensador.

A utilização de fontes convencional de raios X impõe algumas limitações em relação ao baixo fluxo obtido, principalmente se forem utilizados em experimentos com arranjos ópticos. Em função disto, fontes de luz síncrotron poderiam ser utilizadas para obter resultados com um menor tempo de exposição. Em 1991, Yun et al<sup>[21]</sup> discutiram a viabilidade de estender algumas técnicas baseadas na coerência da faixa de raios X duros e o significativo progresso que foram feitos na época com o desenvolvimento de ópticas em limites de difração. Utilizando um dispositivo de focalização por difração "zone plate" em uma geometria de Fresnel conseguiram focalizar um feixe de raios X de 8,2 keV em uma área de 2  $\mu\text{m}$ . Este arranjo experimental segundo eles poderia ser utilizado para reduzir a dose em amostras biológicas. Eles também sugeriram o uso de feixes com fluência acima de  $10^9$  fótons por segundo, como os produzidos em onduladores de síncrotrons de 3ª geração com o Advanced Photon Source (APS) - USA, European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) – França e o Spring-8 - Japão.

Com o desenvolvimento de novas ópticas e novos métodos para se medir a fase de uma onda<sup>[22]</sup>, em 1995, Davis et al.<sup>[23]</sup> descreveram um método para realçar o contraste utilizando raios X duros em amostras com pequenas diferenças no coeficiente de atenuação pela detecção da variação de fase ao longo de um feixe de raios X. Eles utilizaram um cristal de silício assimétrico para expandir um feixe de raios X de uma fonte microfocada e um analisador sulcado "channel-cut" para selecionar a fase obtendo imagens de amostras de plantas (eucalipto), de insetos (mosquito) e de fibras com cola a base de acetona. Foram obtidas imagens de contraste de fase utilizando uma fonte convencional com tempo de exposição da ordem de minutos e apesar deste intervalo de tempo ser considerado longo, se comparado a uma radiografia direta em uma amostra pequena, a dose depositada é relativamente menor.

Os arranjos ópticos com cristais estavam divididos em dois princípios básicos, os que utilizavam a geometria de Bragg comumente em arranjos com difratômetros e os que utilizavam arranjos com a geometria de Laue com interferômetros. Em 1995, Ingal e Beliaevskaya<sup>[24]</sup> propuseram um arranjo experimental misto de dois cristais (Bragg-

Laue) e três cristais (Bragg-Bragg-Laue) para obter imagens chamadas de Imagens por Dispersão de Fase (PDI – Phase Dispersion Images). Eles utilizaram um peixe de aquário para comparar imagens obtidas com seu arranjo de três cristais e radiografias convencionais e, com o uso de uma amostra de plexiglass e uma solução de Brometo de Potássio mostraram a forte dependência do contraste com a posição angular do cristal analisador.

O desenvolvimento de novos arranjos ópticos e a utilização de fontes síncrotron possibilitaram a utilização das técnicas de fase e difração em diversas aplicações. Em 1995, Momose<sup>[25]</sup>, utilizando uma fonte de luz síncrotron do “National Laboratory for High Energy Physics” – Japão, em um arranjo experimental com um interferômetro feito em um monobloco de Si (220) descreveu sua utilização em tomografia. Ele chamou sua técnica de tomografia computadorizada por contraste de fase de raios X (PCX-CT – Phase-contrast X-ray computed tomography) e apresentou um algoritmo modificado baseado na equação do padrão de interferência desenvolvido por Takeda em 1982. Momose comparou os resultados obtidos através do método da transformada de Fourier (FT – Fourier-transform) com o método de varredura de franjas (FS – Scanning Fringe). Para a reconstrução das imagens foi utilizado o algoritmo de convolução por retroprojeção<sup>[26]</sup>, mais conhecido como retroprojeção filtrada. Utilizando uma esfera de plástico em um meio aquoso obteve uma resolução menor que 40  $\mu\text{m}$ . No mesmo ano, Momose *et al.*<sup>[27]</sup> utilizaram a técnica de (PCX-CT) para observar uma amostra de cérebro de coelho com tumor. As amostras foram fixadas em formalina 10% e possuíam 330  $\mu\text{m}$  de espessura.

Os arranjos experimentais básicos haviam sido definidos, era necessário, no entanto, desenvolver novas formas de se compreender os fenômenos que estavam ocorrendo com as imagens obtidas. Em 1996, Authier *et al.*<sup>[28]</sup> descreveram como calcular a mudança de fase em função do índice de refração utilizando um interferômetro (Bonse e Hart) para se obter o índice de refração.

Os arranjos que utilizam fontes síncrotron e necessitam de um feixe com baixa divergência, utilizam diversos equipamentos e arranjos ópticos para ajustar o feixe. À medida que os sistemas ópticos ficavam mais precisos e os arranjos experimentais mais complexos, surgiram novos problemas para serem resolvidos. Em 1996, Snigirev *et al.*<sup>[29]</sup> fizeram um estudo sobre a influência dos equipamentos instalados em linhas de luz síncrotron como monocromadores, espelhos e principalmente as janelas de berílio, utilizadas para conter o vácuo nas diversas seções da linha, em relação à degradação da

divergência do feixe devido ao polimento da superfície dessas janelas. O estudo mostrou que para aplicações que exigem uma baixa divergência do feixe estes equipamentos podem vir a comprometer a coerência e a divergência do feixe. Uma rugosidade de aproximadamente  $0,1 \mu\text{m}$  na superfície da janela de berílio pode causar a perda de aproximadamente 2% de contraste a 10 keV.

Também em 1996, Raven et al<sup>[30]</sup> utilizaram um arranjo experimental de holografia em tempo real com geometria de Laue montado em uma linha de luz equipada com “Wiggler” para obter microtomografias de uma fibra com núcleo de tungstênio e vazio, a 60 keV. Para a reconstrução utilizou um algoritmo de retroprojeção filtrada com a ressalva que este não seria o ideal, contudo obteve bons resultados. Seu arranjo experimental foi montado com as amostras na horizontal para aproveitar a melhor divergência na vertical. Na mesma linha de pesquisa, Wilkins et al<sup>[31]</sup> utilizaram um arranjo experimental baseado em holografia em tempo real só que com uma fonte policromática e microfocada para obter imagens de contraste de fase. Demonstraram a dependência do tamanho focal da fonte, que naturalmente está relacionada à coerência, com o contraste de detecção das bordas de uma amostra de filme plástico.

Evitando o uso de arranjos ópticos muito complexos, Lagomarsino et al<sup>[32]</sup> em 1997 utilizaram uma fonte com um guia de ondas na linha de luz ID13 do ESRF para conseguir um feixe divergente e coerente para aplicações em microscopia. Seu experimento conseguiu mostrar defeitos em fibras de nylon de  $12 \mu\text{m}$ , obtendo uma resolução de  $0,14 \mu\text{m}$  na direção vertical. O guia de ondas era feito de um filme com materiais de baixa absorção encapsulados em placas metálicas com baixo índice de refração. Para certos ângulos de incidência, um efeito de ressonância acontece dentro do filme ressonador. O feixe é comprimido em uma direção e a onda capturada emerge no fim do guia de ondas com intensidade ampliada. Na direção de compressão do feixe, o feixe tem um comprimento de onda com tamanho vertical limitado pela espessura da camada do ressonador que pode ser menor que 130 nm. Na saída do guia de ondas, o feixe é difratado com uma divergência de pelo menos 1 mrad. Este feixe tem alta coerência.

A partir de 1999, o número de trabalhos com técnicas de contraste de fase e realce por difração cresceu bastante. Vários novos experimentos foram desenvolvidos sendo que os mais significativos para a compreensão e o desenvolvimento do sistema que está sendo desenvolvido neste trabalho serão listados a seguir. Esses trabalhos

foram divididos em técnicas de contraste de fase que basicamente são sistemas que empregam “caminho livre”, interferômetros ou que não utilizam um cristal analisador, pois estão baseadas na teoria de interferência entre uma frente de ondas de referência e a frente de ondas que interagiu com a amostra; e realce por difração (DEI) que são sistemas que utilizam um difratômetro ou seja um cristal analisador, pois estão baseadas na seleção de um dado ângulo de difração pelo cristal analisador. Existem outras vertentes que utilizam processos de difração principalmente para o estudo de materiais amorfos, mas que normalmente não utilizam um sistema óptico. Desta forma, a abordagem dos artigos será direcionada mais especificamente para as duas primeiras vertentes, ou seja, técnicas de contraste de fase com sistemas de “caminho livre” e técnicas de realce por difração com cristais analisadores.

Os principais trabalhos publicados sobre revisão dos conceitos de contraste de fase e realce por difração foram: Menk<sup>[33]</sup> (1999) sobre interferometria; Fitzgerald<sup>[34]</sup> (2000) e Siu et al<sup>[35]</sup> (2001) sobre teoria de fase; Gog<sup>[36]</sup> (1999) e Bortolani et al<sup>[37]</sup> (2003) sobre holografia; Menk et al<sup>[38]</sup> (2005) sobre teoria de realce por difração; Bravin<sup>[39]</sup> (2003) sobre o contraste por difração com um analisador; Pagot et al<sup>[40]</sup> (2003) sobre quantificação de fase com analisadores e Kohn et al<sup>[41]</sup> (2003) sobre a teoria de difração com lentes.

Também foram publicados artigos sobre os algoritmos de reconstrução para DEI por Rigon et al<sup>[42]</sup> (2003) e para reconstrução tomográfica por Pavlov (2000)<sup>[43]</sup>.

## ***1.2 Estado da Arte***

Os sistemas que utilizam técnicas de contraste de fase (CF) e realce por difração têm evoluído muito, principalmente com a utilização de novos equipamentos de detecção e novos arranjos experimentais. A seguir serão apresentados os últimos trabalhos desenvolvidos utilizando estas técnicas.

Os trabalhos mais recentes expressam o grande empenho e esforço da comunidade acadêmica em tornar os sistemas de imagem por contraste de fase e realce por difração mais eficientes e adequados para atender à necessidade dos mais diversos campos de pesquisa.

Neste esforço se destacam os trabalhos de Takeda<sup>[44]</sup> que desenvolveu um sistema de aquisição rápida de imagens de contraste de fase utilizando um interferômetro de alta sensibilidade para diferenciar tecidos moles, auxiliado com a

técnica de fluorescência para descobrir a funcionalidade de partes de amostras biológicas. O sistema de tomografia por contraste de fase (PCCT) permite a obtenção de imagens “in vivo”, pois utiliza uma energia de 35 keV o que reduz o tempo de exposição e alarga as franjas de interferência para objetos mais espessos. Também foi utilizado um sistema capaz de fazer um mapa de fase com energia de 51 keV que permite obter imagens mais nítidas contudo exige um tempo de exposição maior devido à técnica de varredura sendo utilizado somente para amostras “in situ”. As imagens “in vivo” foram adquiridas em 40 minutos sendo que a técnica de tomografia por fluorescência (FXCT) foi utilizada para adquirir informações de funcionalidade pois permitem traçar um perfil das substâncias presentes na amostra. As imagens de FXCT foram adquiridas utilizando um agente traçador metabólico de ácido graxo (BMIPP).

No mesmo sentido, Siu et al<sup>[45]</sup> desenvolveram um sistema de realce por difração (DEI) dinâmico. O trabalho foi desenvolvido para proporcionar imagens em tempo real utilizando a linha 20B2 do Spring-8, a qual possui aproximadamente 206 metros de extensão até o Laboratório do Centro de Imagens Biomédicas. As amostras foram colocadas a aproximadamente 208 metros do anel e a 250 mm do cristal analisador. O cristal analisador utilizado possuía 750  $\mu\text{m}$  de espessura e foi colocado em geometria de Bragg / Laue. O detector foi colocado a 90 mm do analisador de forma a obter duas imagens simultaneamente. O feixe incidente após passar pela amostra atravessava o cristal formando uma imagem de transmissão, simultaneamente, cerca de 50% do feixe era refratado pelo cristal para formar a imagem de reflexão. Os resultados puderam mostrar detalhes de tendões e cartilagens com seus respectivos movimentos de uma perna de rato que era movida mecanicamente em intervalos de 35 segundos, sendo que as aquisições eram feitas a cada 2,5 segundos. Diferente do que se esperava, apesar da grande distância da fonte até a amostra, devido à largura do feixe e da inclinação dos cristais do monocromador, o feixe apresentou uma uniformidade que não seria a ideal.

Com o objetivo de melhorar a estabilidade e facilitar o alinhamento que é um ponto crítico nas montagens de sistemas de realce por difração, Ibison et al<sup>[46]</sup> desenvolveram no Daresburg Synchrotron Source (SRS) – UK um sistema de alinhamento a laser. Isto além facilitar a montagem de sistemas de DEI, irá contribuir para a preparação do sistema na implantação de uma estação de alta energia. O sistema de alinhamento utiliza um laser vermelho ( $\lambda = 623 \text{ nm}$ ) que permite a visualização do alinhamento parcial sem a necessidade do feixe. Além disto foram desenvolvidos novos equipamentos mecânicos e eletrônicos para dar uma maior estabilidade. O projeto



também está desenvolvendo uma nova linha de imagens realçadas por difração utilizando um “Wiggler” a 60 keV capaz de aumentar o poder de penetração dos fótons com um reduzido efeito de dose.

Também não se pode deixar de destacar o desenvolvimento de um sistema de realce por difração no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron desenvolvido em conjunto com o autor deste trabalho para a utilização do sistema na detecção de bócio multinodular em amostras de tireóide e na identificação de etapas de desenvolvimento em fetos de morcego. Este sistema será explicado mais detalhadamente nos próximos capítulos.

Estas técnicas também estão sendo desenvolvidas com fontes de nêutrons, destacando-se o trabalho de Kardjilov et al<sup>[47]</sup> que demonstrou que nas imagens de contraste e fase com nêutrons a resolução espacial não está limitada à divergência do feixe definida pela razão do tamanho do colimador pelo tamanho do “Pinhole”, mas é definida principalmente pela largura de coerência transversal do feixe que é responsável por alargar os padrões de difração (variação de intensidade) nas bordas das amostras. Utilizando grandes distâncias entre a amostra e o detector um forte contraste de bordas combinado com a magnificação pode ser conseguido. A utilização de nêutrons térmicos em função de seu comprimento de ondas permite um incremento significativo nos efeitos de contraste de fase aumentando a intensidade e o contraste das imagens.

No desenvolvimento de equipamentos voltados para as áreas médicas, principalmente de mamografia, destaca-se o trabalho de Abrami et al<sup>[48]</sup> que utilizaram uma linha dedicada **SY**nchrotron **R**adiation for **ME**dical **P**hysics (SYRMEP) no ELLETRA - Itália para estudos “in vitro” com o intuito de implementar uma linha para aplicações médicas “in vivo”. O sistema utiliza um monocromador de Si (111) capaz de selecionar energias entre 8,5 a 35 keV em uma geometria de caminho livre onde são variadas as posições, em que as amostras são colocadas em relação à fonte. O sistema obteve imagens de transmissão e contraste de fase que serviram para auxiliar na caracterização da linha de luz. Destaca-se também o projeto de física médica no valor estimado de 1,6 milhões de Euros que se propõe a desenvolver a técnica para aplicações médicas “in vivo” e que utilizaria a infra-estrutura do ELLETRA-Itália, CCLRC-UK, ESRF-França e DESY-Alemanha<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Disponível em <http://www.elettra.trieste.it/projects/euprog/medical/medproposal.html>

Outros trabalhos voltados para a identificação de tecidos patológicos podem ser destacados, como o de Keyriläinen et al<sup>[49]</sup> que através de um sistema de realce por difração utilizando uma fonte síncrotron pode visualizar a formação de carcinoma ductal que é o ponto inicial dos tumores malignos e o trabalho de Rocha et al<sup>[50]</sup> que utilizou a técnica de DEI em conjunto com XRFCT para observar as estruturas complexas e a distribuição elementar de Fe, Cu e Zn em amostras de tecidos com câncer de mama.

Utilizando outro enfoque, Connor et al<sup>[51]</sup> tentou medir a variação da Curva de refletividade (chamada de Rocking curve - RC) em função de microfraturas em ossos corticais de bovinos. Durante dois anos foram medidos ossos com diferentes estágios de microfraturas para tentar observar diretamente uma variação na RC. As curvas obtidas nos experimentos foram corrigidas pela média quadrática entre a largura a meia altura com e sem amostra, mas os resultados não demonstraram uma variação conclusiva na comparação da RC de amostras com e sem microfraturas. A estes resultados inconclusivos foram atribuídos vários fatores que poderiam ter contribuído negativamente: a baixa resolução do detector, uma possível instabilidade no resfriamento do monocromador e uma possível perda de umidade ou deterioração da amostra. A idéia apresentada seria que as microestruturas causadas pelo aumento das microfraturas poderiam refratar os raios X pelo efeito de espalhamento a ultra baixo ângulo, causando um aumento na largura da RC.

Estes resultados mostram o grande esforço da comunidade científica para desenvolver e tornar possível a utilização desta tecnologia para uma aplicabilidade “in vivo” o mais rápido possível de forma a melhorar o diagnóstico precoce de algumas patologias, além da utilização da técnica em diversos setores da indústria.

A seguir serão apresentados os fundamentos teóricos necessários para o entendimento deste trabalho.

---

---

## CAPÍTULO II

### II Fundamentos Teóricos

Neste capítulo serão apresentadas as bases teóricas que são necessárias para se compreender os fundamentos das técnicas de raios X empregadas neste trabalho.

Serão descritos os fundamentos dos raios X, como são produzidos, e a forma como interagem com a matéria. Também serão explicadas as vantagens e desvantagens na utilização da nova técnica de contraste de fase e realce por difração em relação às técnicas convencionais de radiografia e tomografia.

#### II.1 *Produção de Raios X – Fonte Convencional*

Os raios X foram descobertos por Röntgen<sup>[52]</sup> em 1895, quando se iniciou os estudos e, após alguns anos, se deu a primeira publicação de sua descoberta descrevendo a sua observação como se segue:

*“Quando a descarga de uma grande bobina de indução atravessa um tubo de descarga a alto vácuo, coberto com papelão preto, vê-se, numa sala escurecida, a fluorescência de uma tela de papel que está pintada com cianeto de platina e bário, independente de qual lado da tela está voltada para o tubo de descarga. A fluorescência é visível a distâncias de até dois metros” Oldenberg<sup>[53]</sup>.*

Röntgen demonstrou que uma nova espécie de radiação de poder de penetração até então desconhecido, emana do vidro ou metal pesado, quando é bombardeado com raios catódicos.

Estudando este novo tipo de radiação, ele percebeu que, se materiais opacos à luz eram colocados entre o tubo e o anteparo, a intensidade da fluorescência diminuía, mas não desaparecia, mostrando que os raios X podem atravessar substâncias que são opacas à luz ordinária. Descobriu que os raios X podem escurecer qualquer placa fotográfica e produzir ionização em qualquer gás através do qual interaja; esta última propriedade é usada para medir a intensidade da radiação. Também descobriu que estes raios X se propagavam em linha reta a partir da fonte e não podiam ser desviados por campos elétricos e magnéticos, do que concluiu que eles não eram partículas carregadas. Trabalhos posteriores mostraram que os raios X podem ser refletidos, refratados e difratados, mostrando evidências convincentes de que estes raios são radiações eletromagnéticas como a luz, mas de um comprimento de onda muito menor. Esta

radiação foi chamada de raios X e, recentemente, também chamada de radiação de Röntgen em homenagem ao seu descobridor.

A natureza exata dos raios X foi estabelecida a partir de 1912, ano que foram descobertos os fenômenos de difração por cristais. Esta descoberta simultaneamente provou a natureza ondulatória dos raios X e forneceu um novo método de investigação de pequenas estruturas da matéria. Embora a radiografia seja uma ferramenta muito importante para diversas áreas de pesquisa, esta está limitada a observação e investigação de detalhes internos da ordem de  $10^{-3}$  mm. A difração por sua vez, pode indiretamente revelar detalhes das estruturas internas da ordem de  $10^{-7}$  mm<sup>[54]</sup>.

### II.1.1 Introdução

Os raios X podem ser produzidos de várias formas, as principais são pela interação de elétrons com a matéria, que é o processo utilizado nos tubos de raios X convencionais ou pela interação de feixes de elétron acelerados com campos magnéticos fortes. A este último é dado o nome de Luz Síncrotron.

No primeiro caso os raios X são produzidos quando elétrons que se movem rapidamente atingem um alvo sólido. De acordo com a eletrodinâmica clássica, Kaplan<sup>[55]</sup>, uma partícula carregada que se move emite radiação eletromagnética quando é acelerada; a parada súbita de um elétron dá origem a um impulso de radiação que toma a forma de raios X.

Podem-se gerar raios X em dispositivos como o representado esquematicamente na figura II-1, onde elétrons negativos de um emissor (catodo), que são formados a partir de uma corrente de elétrons  $I_e$ , são acelerados por uma tensão positiva (tensão de aceleração  $U_e$ ) formando um feixe colimado que se choca contra um alvo metálico (ânodo).

A energia cinética que o elétron adquire nessa oportunidade é determinada pela tensão de aceleração  $U_e$ . Esta energia cinética pode ser expressa em ELETRON-VOLT [eV], o qual corresponde à seguinte definição:

*1 elétron-volt é igual à energia adquirida por um elétron, como energia cinética, quando submetido a uma diferença de potencial de 1 volt.*

A conversão da unidade de energia elétron-volt na unidade de energia JOULE (J) ou WATT-SEGUNDO (W.s) do sistema Internacional de Unidades é efetuada com a ajuda do valor da carga do elétron, “e” em Ampère-segundo [A.s]. De acordo com a

definição do elétron-volt, a carga deve ser multiplicada pela diferença de potencial de 1 volt, sendo que, a potência elétrica é dada pelo produto da corrente (em Ampères, A) e tensão (em volts, V), na unidade watt ( $W = V.A$ ), o que resulta a seguinte fórmula de conversão:

$$1 \text{ e.V} = 1,602 \ 176 \ 5 \times 10^{-19} \text{ W.s} \quad \text{II-01}$$

ou

$$1 \text{ W.s} = 6,241 \ 509 \ 6 \times 10^{18} \text{ e.V} \quad \text{II-02}$$

Da fórmula de conversão, deduz-se que o elétron-volt representa uma quantidade de energia muito pequena.

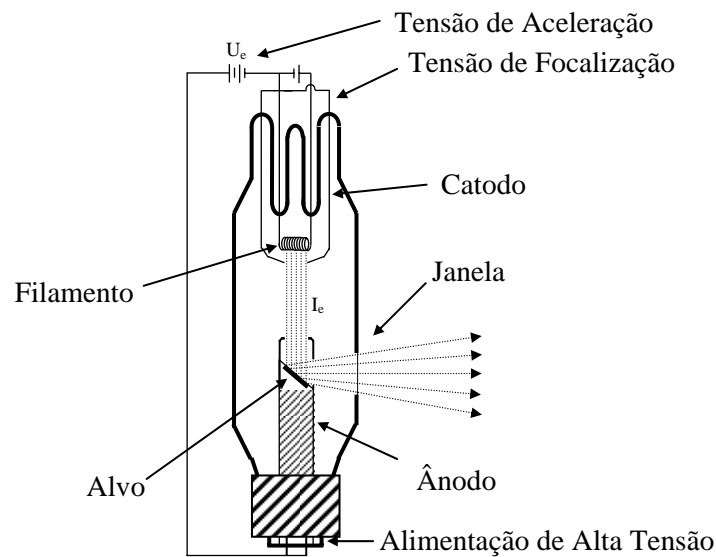


Figura II-01 – Esquema de ampola de raios X.

O valor da energia cinética do elétron, em eV, resulta diretamente da tensão de aceleração  $U_e$ , em volts [V]. Sendo  $U_e$ , por exemplo, de 50.000 V, a energia cinética  $E_{ke}$  é de 50.000 eV ou 50 keV. Os elétrons ao se chocarem contra o alvo são desacelerados e perdem sua energia cinética. De acordo com a lei de conservação de energia, esta energia cinética deve ser transformada numa outra forma de energia. Este processo de desaceleração, pelo qual são gerados os raios X, pode ser realizado de dois diferentes modos: Por desaceleração por campos elétricos e por desaceleração por processos de “choque”<sup>2</sup>.

Se um elétron que se desloca rapidamente no material da placa for desacelerado pelo campo elétrico na proximidade dos núcleos atômicos, ele pode

<sup>2</sup> Quando um quanta de energia correspondente à energia de ligação de um elétron, é cedido a um átomo, este pode absorver a energia e ser arrancado de seu nível de energia podendo abandonar ou não o átomo.

transformar uma parte da sua energia cinética ( $E_{Ke}$ ) em energia eletromagnética. Esta radiação eletromagnética foi posteriormente chamada de radiação de Röntgen. A energia de radiação pode ser calculada, de acordo com as leis da radiação eletromagnética, pela equação II-03, abaixo.

$$E = h\nu = h \frac{c}{\lambda} \quad \text{II-03}$$

A parte da energia cinética do elétron não transformada em energia de radiação eletromagnética é convertida, por processos de dispersão nos elétrons dos átomos do material, em energia térmica  $E_w$ . Conforme a lei da conservação de energia, temos:

$$E_{ke} = h \frac{c}{\lambda} + E_w \quad \text{II-04}$$

Caso a energia do elétron  $E_{Ke}$  seja totalmente transformada em energia radiante,  $E_w = 0$ , a radiação resultante será correspondente a “energia de radiação máxima”.

A transformação de toda a energia cinética em energia radiante é muito rara, pois dependendo do valor de  $E_{Ke}$  e do tipo do material da placa, a percentagem de radiação é de somente 1 a 3%, onde o restante, 97 a 99% resulta em energia térmica.

## II.1.2 Espectros de radiação

Em virtude do tipo de processo de desaceleração dos elétrons nas fontes convencionais, a energia de radiação de Röntgen pode apresentar valores entre zero e  $E_{Ke}$ . A distribuição dos quanta de radiação se dá de forma contínua entre zero e  $E_{Ke}$  como o representado esquematicamente na figura II-02 que mostra uma distribuição típica de energia deste tipo.

A intensidade relativa da radiação representada na figura II-02 como referência se faz em função da energia de radiação [keV], para uma tensão de aceleração de 50 quilovolts [kV], onde a energia máxima de radiação de Röntgen é de 50 keV.

Os termo-elétrons podem adquirir energia cinética  $E_{Ke}$  igual à energia de ligação a partir da elevação da tensão de aceleração  $U_e$ . Esta energia cinética é capaz de retirar de um átomo um elétron que esteja próximo ao seu núcleo e uma linha de radiação aparecerá sobreposta ao espectro contínuo.

A energia dessa radiação é fortemente dependente do material da placa de impacto (alvo) e por isto designada de radiação característica. Pode-se explicar a

formação da radiação característica por meio do modelo mostrado na figura II-03 que representa de maneira simplificada os elétrons nas regiões de probabilidade em um diagrama de orbitais.



Figura II-02 – Espectro contínuo de Röntgen.

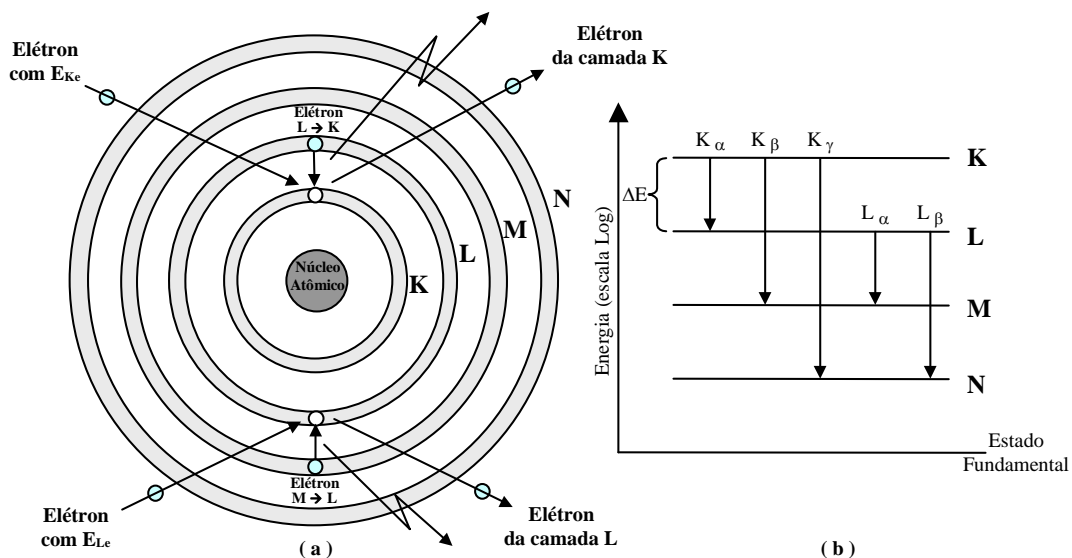


Figura II-03 – Modelo de geração de radiação característica e diagrama de energia de raio X<sup>3</sup>.

O diagrama de níveis de energia de raio X diferencia-se de um diagrama de níveis de energia normal, pois no primeiro é mostrado a energia do átomo quando falta um elétron de número quântico  $n$ ,  $l$  e  $j$ . Em outras palavras, o diagrama de energia de raio X descreve os níveis de energia do buraco, definido pelos números quânticos  $n$ ,  $l$  e

<sup>3</sup> Adaptado de Eisberg, R (pp 429, 1994).

j, e que passa de uma subcamada a outra próxima, quando o átomo emite seu espectro de raio X discreto. Como um buraco representa a ausência de um elétron de energia negativa, a energia associada a um buraco é positiva.

O elétron que se aproxima com energia  $E_{ke}$  expulsa um elétron da camada K, em consequência o átomo fica em um estado excitado de maior energia. Este estado de excitação é instável e o átomo tende a se estabilizar preenchendo a vacância formada por um elétron de outro nível de energia, por exemplo, da camada L. Na passagem da camada L para a K, a diferença de energia  $\Delta E$  é irradiada como um quantum de radiação eletromagnética. Isto pode ocorrer nas outras camadas energéticas onde o comportamento de maior probabilidade é dado na figura II-03(b). Como as diferenças entre os estados energéticos K, L, M, ... têm valores característicos para cada material, surgiu a designação de “radiação de Röntgen característica” ou fluorescência de raios X.

Com a elevação do número atômico, aumenta a energia de radiação  $K_{\alpha}$  característica, ver tabela II-1. Quando a energia cinética  $E_{ke}$  dos elétrons excede os valores  $K_{\alpha}$ , relacionados ao número atômico do elemento do alvo, há um aumento da energia de radiação  $K_{\alpha}$  característica, e as linhas de radiação se sobrepõem ao espectro contínuo de Röntgen. Os processos de choque e desaceleração por campos podem ocorrer paralelamente. A figura II-04 mostra o espectro de radiação característica sobreposto ao espectro contínuo.

Tabela II-1 – Valores energéticos da radiação  $K_{\alpha 1}$  e  $K_{\beta 1}$ <sup>4</sup>.

ELEMENTO	NÚMERO ATÔMICO	Linha $K_{\alpha}$ e $K_{\beta}$ [keV]	
Cobre (Cu)	29	8,0478	8,9053
Zircônio (Zr)	40	15,7751	17,6678
Molibdênio (Mo)	42	17,4793	19,6083
Prata (Ag)	47	22,1629	24,9424
Tungstênio (W)	74	59,3182	67,2443
Ouro (Au)	79	68,8037	77,984
Chumbo (Pb)	82	74,9694	84,936

<sup>4</sup> Adaptado de THOMPSON, A. C., et al. X-RAY DATA BOOKLET. Lawrence Berkeley National Laboratory, Universidade da Califórnia, Brekeley, 2001, páginas [1-15]-[1-27].



Os valores apresentados na tabela correspondem à energia  $K_{\alpha 1}$  e  $K_{\beta 1}$  e, portanto dependendo da sobreposição das linhas  $\alpha_{1,2,3,\dots}$ , ou  $\beta_{1,2,3,\dots}$ , etc; e da resolução em energia do detector utilizado estes valores podem parecer ligeiramente diferentes.

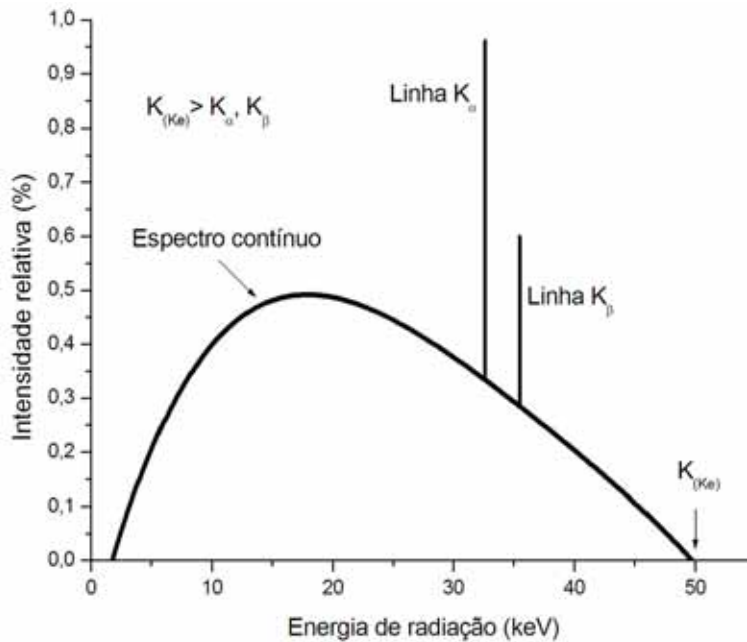


Figura II-04 – Espectro de Röntgen.

### II.1.3 Tamanho focal e desfocagem geométrica

O tamanho focal está relacionado à área do alvo (anodo) que é iluminada pelo feixe de elétrons para a produção de raios X. O tamanho focal de uma fonte de raios X é muito importante para a qualidade dos resultados. Quanto menor o tamanho focal menor será a desfocagem geométrica ( $DF_g$ ), presente em todos os sistemas de radiografia já que não existe foco pontual. A  $DF_g$  é um fator importante na composição da resolução espacial do sistema, já que a nitidez da imagem depende desse efeito.

Considerando que a radiação eletromagnética se espalhe em linha reta, pode-se aplicar as leis da ótica geométrica. O sistema é composto de fonte de radiação considerada como circular de diâmetro  $\phi$ , corpo de prova e superfície detectora (ver figura II-05).

Segundo as leis da ótica obtém-se a seguinte equação para o cálculo da desfocagem geométrica:

$$DF_g = \frac{\phi \cdot a}{F - a} = \phi \cdot \frac{a}{b}$$

II-05

onde:

- $\phi$  = diâmetro da fonte de radiação;  
 $F$  = distância fonte – detector de radiação;  
 $a$  = distância objeto – detector;  
 $b$  = distância fonte – objeto.

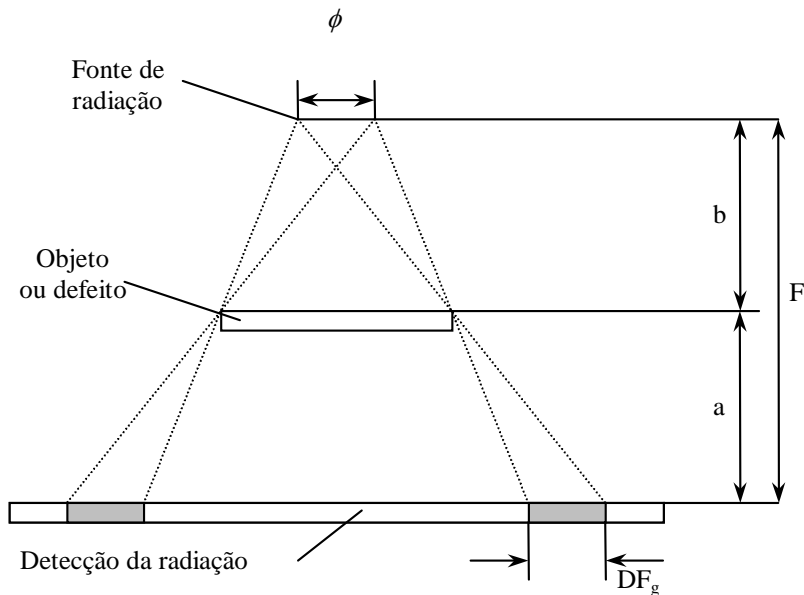


Figura II-05 – Desfocagem geométrica

Os tubos de raios X são classificados conforme a tabela II-2 em relação ao tamanho focal de cada equipamento.

Tabela II-2 – Classificação dos tubos de raios X.

TIPO DE APARELHO	TAMANHO DO FOCO
Foco Normal	1 a 4 mm
Mini-foco	0,1 a 1 mm
Micro-foco	1 a 100 $\mu\text{m}$

Os tubos podem ter os anodos fixos ou rotatórios para evitar desgastes prematuros no alvo dependendo da potência do equipamento. Estes equipamentos também precisam de sistemas de refrigeração que podem ser a água ou ar forçado.

Um dos maiores problemas na construção de tubos de alta potência é a refrigeração do alvo, pois a potência empregada depende da capacidade de refrigeração do anodo. Para contornar este problema foram criados os tubos pulsados. Esses tubos não são operados continuamente, mas em uma fração de segundo (~30 nanosegundos) onde podem ser conseguidos picos de 300 kV e 5000 A.

## II.1.4 Focalização

Os raios X microfocados são produzidos em fontes convencionais que possuem um sistema de focalização do feixe de elétrons que o faz incidir em uma área muito pequena do alvo. Como o tamanho focal está relacionado diretamente à área iluminada do alvo, o sistema pode produzir raios X com tamanho focal muito pequeno, da ordem de 0,5 a 50  $\mu\text{m}$ , o que torna o feixe altamente coerente.

O grande problema destes sistemas é o forte aquecimento a que o alvo é submetido. Algumas fontes utilizam alvos rotativos e sistemas de refrigeração mais eficientes, tudo para impedir que o alvo seja danificado.

Existem vários tipos de focalização de raios X. Uma delas é feita através de lentes eletromagnéticas como mostrado na figura II-06.

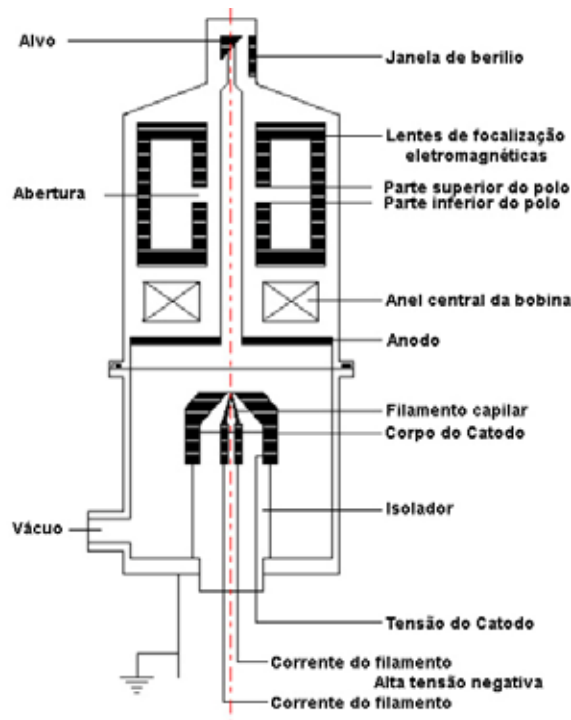


Figura II-06 – Fonte de raios X microfocada

Estas fontes geram um espectro policromático com alta coerência geométrica o que possibilita o uso com as técnicas de contraste de fase.

## II.2 Produção de Raios X – Fonte Síncrotron

### II.2.1 Introdução

A segunda forma de produção de raios X chamada de Luz de Síncrotron é gerada por cargas relativísticas que descrevem trajetórias curvadas. Elas são produzidas por feixes de elétrons / pósitrons que circulam em uma câmara de vácuo, mantidas em uma órbita fechada curvada por ímãs, focalizadas por magnetos quadripolares / sextupolares e aceleradas por campos de RF de cavidades ressonantes.

O processo de produção é iniciado por um canhão de elétrons de um acelerador linear ver figura II-07. Os aceleradores lineares ou LINAC são aceleradores de partículas carregadas, como elétrons, prótons ou íons pesados. As partículas carregadas entram em um tubo onde existem campos elétricos alternados. Estas partículas são aceleradas primeiramente por um campo elétrico e entram em um tubo de corrente ou “drift tube” onde são protegidas do campo elétrico e o atravessam com velocidade constante até a próxima abertura. Neste ponto as partículas são novamente aceleradas e a cada abertura entre os tubos “drifts” as partículas recebem mais e mais energia. Esse processo é capaz de acelerar as partículas carregadas com energias muito grandes.

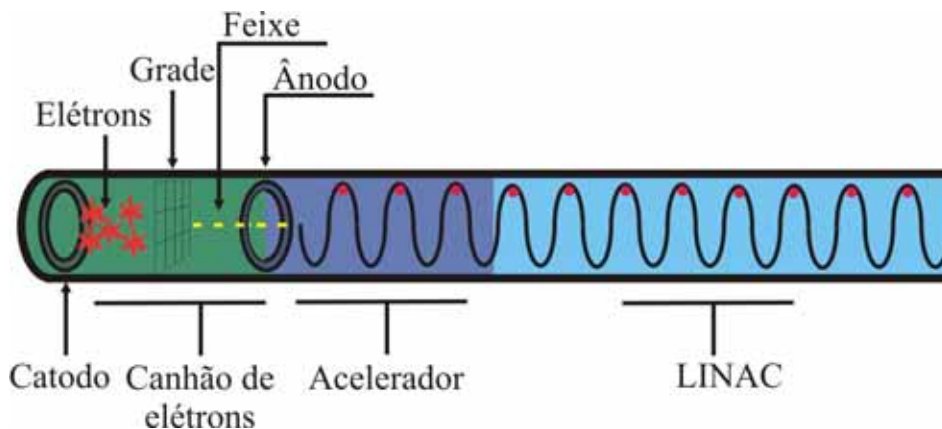


Figura II-07 – Diagrama de um acelerador linear

Os LINACs possuem um canhão de elétrons que é composto de um catodo que pode ser um prato de aluminato de bário ou outro material termiônico como o tório. O catodo é uma superfície que tem um potencial elétrico de carga negativa. Os elétrons são produzidos pelo aquecimento do catodo que possui um material termiônico, este material quando aquecido tende a deixar os elétrons livres próximo à sua superfície.

Os aceleradores lineares podem ser utilizados principalmente para a produção de elétrons de alta energia em diversas áreas de pesquisa e para a injeção de elétrons nos anéis de armazenamento de aceleradores Síncrotron.

O feixe de elétrons produzido pelo acelerador linear é injetado diretamente em um anel de armazenamento, fig. II-08, ou em um dispositivo chamado “Booster” que é um dispositivo intermediário utilizado para acelerar as partículas fornecidas pelo acelerador linear a uma energia de cerca de milhões de elétron-volt (MeV) para energias da ordem de bilhões de elétron-volt GeV.

O feixe é então injetado em um anel de armazenamento que possui três dispositivos básicos: Os dipolos magnéticos que são dispostos em um número igual a  $360/N$ , onde  $N$  é o número de ímãs dipolares, que produzem um campo magnético homogêneo no sentido vertical que são responsáveis pela deflexão do feixe e conseqüentemente a produção de luz síncrotron; os quadripolos ou sextupolos que estão situados nos trechos retos do anel e servem para focalizar os elétrons e reduzir as aberrações cromáticas; e a cavidade de rádio freqüência que está situada em um ou mais dos trechos retos e é responsável por acelerar os elétrons injetados a baixa energia até a energia final e por fornecer aos elétrons, em cada passagem pelo interior da mesma, a energia perdida em cada volta devido à radiação produzida nas partes curvas de suas trajetórias para aumentar o tempo de vida do feixe.

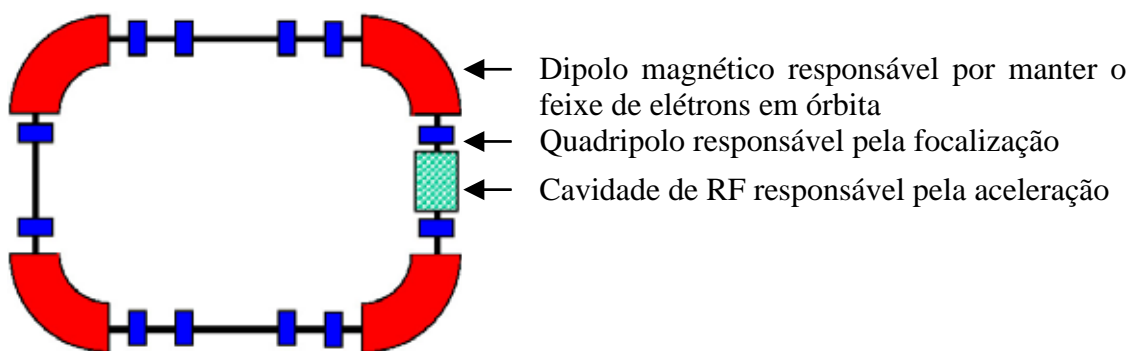


Figura II-08 – Esquema de componentes básicos do síncrotron

Quando um feixe de elétrons / pósitrons com velocidades próximas a da luz é deflexionado por um campo magnético, os elétrons emitem fótons.

A Radiação de Síncrotron é um campo de radiação eletromagnética irradiado por partículas com carga que foram aceleradas, que é isotrópica ao redor da aceleração se as partículas tiverem uma velocidade muito menor que a velocidade da luz,  $v \ll c$ . Porém se as partículas forem aceleradas com velocidades próximas a da luz,  $v \approx c$ , os

efeitos relativísticos são predominantes e o campo irradiado é um pico agudo na direção do movimento das partículas. Um diagrama mostrando a trajetória dos elétrons quando são deflexionados nos dipolos magnéticos para a produção de um feixe de luz síncrotron é mostrado na figura II-09.

A emissão de radiação se concentra dentro de um cone estreito ao redor da direção do vetor velocidade tangente a direção do movimento com uma abertura angular:

$$\alpha = 1/\gamma, \quad \text{II-6}$$

onde  $\gamma = E/m_0c^2$  e  $m_0c^2 \cong 0,511\text{MeV}$ .

O ângulo alfa é da ordem de apenas 0,5 mrad para a parte central do espectro de emissão de um elétron com energia de 1 GeV.

As energias típicas dos elétrons nas fontes de luz síncrotron atualmente em funcionamento (aproximadamente 50 no mundo) vão de 400 MeV até 7 GeV. A radiação produzida em qualquer uma dessas fontes é bastante colimada já que, de acordo à equação II-6, a divergência vertical (ângulo alfa) é menor de 1 m.rad. A 10 m da fonte a altura do feixe é de aproximadamente 10 mm para elétrons de 500 MeV e de menos de 1 mm para elétrons de 7 GeV<sup>[56]</sup>.

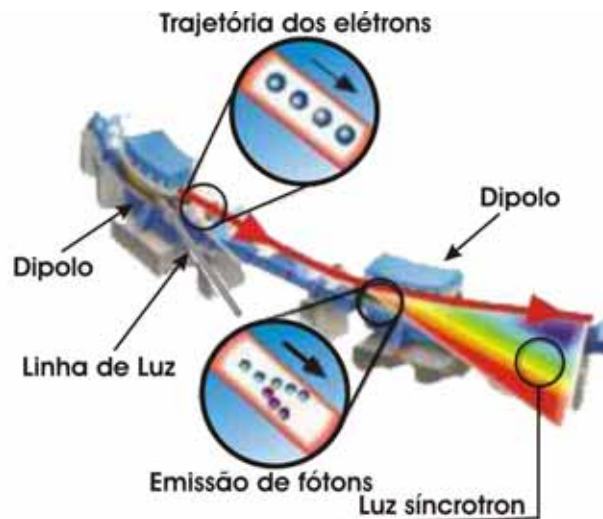


Figura II-09 – Produção de luz síncrotron

Quanto à força irradiada, ela se estende da faixa de espectro da luz visível (fótons de aproximadamente 2 eV) até os raios X duros (fóton de energia de 20.000 eV ou mais), a polarização e a colimação fazem destas fontes sem igual dentro da região do ultravioleta e regiões de raios X, onde nenhum laser está disponível.

As aplicações incluem níveis de valência espectroscópicas em átomos e moléculas (com energias acima de 20 eV), estudos estruturais (estrutura cristalina, transições de fase, natureza de compostos químico, formas de nanopartículas, etc), estudos biológicos (membranas, proteínas cristalizadas) e microfabricação<sup>[57]</sup>.

O primeiro síncrotron foi produzido em 1947 por Pollock<sup>[58]</sup> nos laboratórios da General Electric, após o desenvolvimento de um acelerador cujas pesquisas foram auxiliadas por Blewett<sup>[59]</sup>.

## II.2.2 Espectros de radiação

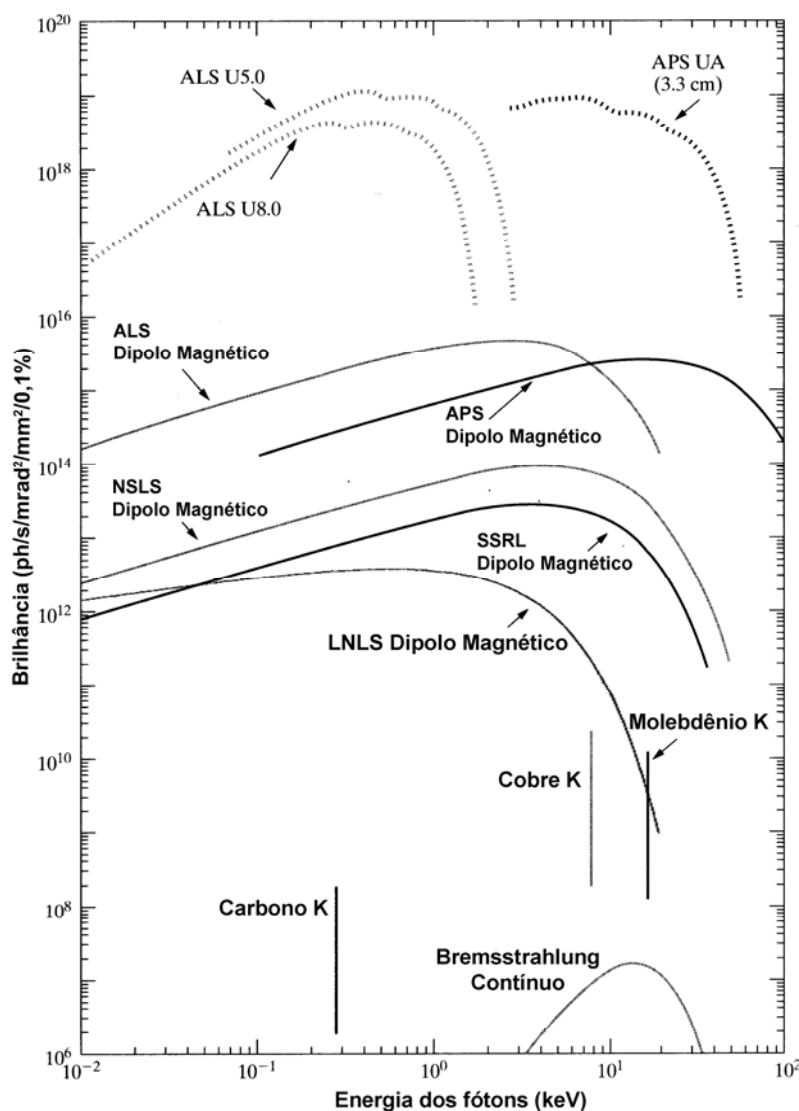


Figura II-10 – Espectros de luz síncrotron em função da brilho da fonte

O espectro de radiação de uma fonte síncrotron depende de sua energia de operação, da corrente efetiva e da divergência do feixe, levando-se em conta outros

fatores de operação que alteram os parâmetros anteriores como o tempo de vida do feixe que está relacionado ao número de pacotes de elétrons utilizados no processo de injeção.

O gráfico apresentado na figura II-10 mostra a brilhância em relação à energia. A brilhância é o fluxo de fótons dividido pela divergência do feixe. O Gráfico foi adaptado de Cullity, B. D. and Stock, S. R. <sup>[54]</sup> pg. 26, fig. 1-19 e de CRAIEVICH, Aldo <sup>[56]</sup>.

Pode-se notar que as fontes síncrotron emitem pelo menos cinco ordens de grandeza acima das fontes convencionais de raios X.

### II.2.3 Divergência

A divergência do feixe de Luz Síncrotron está relacionada à energia de operação, à geometria entre a linha de Luz e o dipolo magnético (distância, quantidade de janelas de berílio e filme de poliimida (Kapton) e qualidade do vácuo) e ao arranjo experimental do sistema utilizado.

Uma fonte síncrotron com energia de operação de 1,37 MeV possui uma divergência vertical de 0,3 mrad, dada pela eq. II-6, o que a 10 m do dipolo equivale a aproximadamente 4 mm. Com a utilização de cristais de Si (111) é possível baixar esta divergência para aproximadamente 0,1 mrad e com a utilização de um arranjo de 4 cristais (Bonse) sulcado Si (333) para valores abaixo de 10  $\mu$ rad. A divergência na horizontal limitada pelas fendas mecânicas é de aproximadamente 10 mrad.

### II.2.4 Dispositivos de inserção

Os dispositivos de inserção são instalados nas partes retilíneas (trechos retos) livres do anel, cuja função é modificar as características do espectro de emissão. As inserções mais comuns são os onduladores e os “wigglers”. Os onduladores têm como função concentrar a radiação do feixe branco em faixas de energia estreitas. Os onduladores aumentam o fluxo monocromático para alguns valores de energia que podem ser variados. Os “wigglers” têm como função incrementar o fluxo de fótons na faixa de maior energia (raios X duros). Isso se consegue mediante o uso de ímãs dipolares de alto campo (usualmente supercondutores) inseridos nos trechos retos livres. Estes ímãs atuam da mesma forma que o ímã defletor básico, mas devido ao alto valor do campo magnético (5 a 8 Teslas em lugar de aproximadamente 1,0 a 1,7 Tesla nos ímãs dipolares), eles produzem o enriquecimento da parte "dura" do espectro. Se o



wiggler tiver ímãs normais e um elevado número de pólos, obtém-se um feixe com um espectro homogeneamente incrementado (o espectro de um dipolo é multiplicado por um fator igual ao número de pólos do wiggler).

## II.2.5 Linhas de luz e focalização do feixe

São as saídas de luz (tubos tangentes à trajetória no trecho circular da órbita dos elétrons) que conduzem os feixes de fótons até as estações de trabalho ou estações experimentais. Nas linhas, os feixes, inicialmente brancos e, com apenas uma pequena divergência vertical, são "preparados" para serem utilizados nas estações experimentais. O feixe incidente é monocromatizado mediante a difração por grades no caso de luz visível ou ultravioleta ou mediante a difração de Bragg por cristais perfeitos (Si, Ge, berílio) no caso de raios X, e focalizado mediante reflexão total por espelhos ou utilizando cristais com curvatura apropriada. A focalização do feixe é utilizada para aumentar o fluxo de fótons ou para diminuir a divergência do feixe, sistema desfocalizado ou paralelo. As linhas de luz têm em geral sistemas de segurança com válvulas rápidas para evitar entradas de ar acidentais no anel, obturador primário de radiação síncrotron e barreira de raios gama para impedir a saída desta radiação gerada pelo freamento dos elétrons devido ao espalhamento gerado nas moléculas do gás residual durante a injeção.

## II.2.6 Estações experimentais

Estão constituídas pelo conjunto de equipamentos e instrumentação necessários para realizar as pesquisas utilizando a luz síncrotron, incluindo sistema porta- amostra, aparelho goniométrico para a orientação da mesma com respeito ao feixe, detetores de feixes de fótons espalhados ou transmitidos, de elétrons e de íons. Em certos casos, em particular quando se trabalha com luz ultravioleta ou raios X moles (ou em geral em física e química de superfícies), a amostra deve ser situada numa câmara com alto ou ultra-alto vácuo. Nas linhas de luz UV e de raios X moles os feixes de fótons podem chegar até a amostra sem atravessar nenhuma janela, ou seja, a estação experimental está diretamente conectada com o anel e em condições de alto vácuo. Nas estações experimentais que os pesquisadores têm a possibilidade de montar seus equipamentos para o emprego das mais variadas técnicas. Elas possuem além de blindagem apropriada um sistema de segurança para impedir exposições acidentais.

### II.3 Interação da Radiação com a Matéria

Quando medimos a radiação eletromagnética ao atravessar um material absorvedor, observamos que o número de fótons incidentes em relação ao número de fótons emergentes é sempre menor. Isto ocorre devido aos vários fenômenos de atenuação e espalhamento que ocorrem dentro do material. A interação pode ocorrer de várias formas:

- Efeito fotoelétrico e absorção fotoelétrica;

Quando a energia do fóton incidente é absorvida por um elétron ligado, podendo gerar um fotoelétron.

- Espalhamento Incoerente (Compton);

Quando a radiação incidente interage com o material absorvedor, modificando sua energia e momento linear, e

- Espalhamento Coerente (Rayleigh)

Quando a radiação incidente interage com o material absorvedor pela troca de momento, permanecendo com a mesma energia.

A maneira como o feixe irá interagir com o meio dependerá da energia desta radiação, assim como das características do meio, uma vez que o processo de interação é um fenômeno probabilístico.

#### II.3.1 Coeficiente de atenuação

O coeficiente de atenuação é a grandeza física relacionada à quantidade de radiação que é absorvida ou espalhada por uma amostra. O coeficiente de atenuação ou absorção é representado pela letra grega “ $\mu$ ”.

O coeficiente de atenuação linear ( $\mu_L$ ): define a densidade de probabilidade de interação do feixe por unidade de comprimento do material e tem como unidade  $\text{cm}^{-1}$ . Este coeficiente varia com o material absorvedor e com a energia da radiação.

O coeficiente de atenuação de massa ( $\mu_m$ ): é definido como sendo o coeficiente de atenuação linear dividido pela densidade volumétrica do material  $\rho$ , que tem como unidade  $\text{cm}^2/\text{g}$ . O coeficiente de atenuação de massa independe da densidade do material.

$$\mu_m = \frac{\mu_L}{\rho}$$

O coeficiente de atenuação total será a soma dos coeficientes de atenuação devido a cada tipo de interação como pode ser apresentado na equação II-08<sup>5</sup>:

$$\mu_T = \mu_{fe} + \mu_R + \mu_C + \mu_{pp} \quad \text{II-08}$$

onde:

$\mu_{fe}$  = coeficiente de atenuação fotoelétrico;

$\mu_R$  = coeficiente de atenuação Rayleigh;

$\mu_C$  = coeficiente de atenuação de espalhamento Compton;

$\mu_{pp}$  = coeficiente de atenuação de produção de pares.

Para energias menores que 50 keV o efeito fotoelétrico é predominante, sendo que a produção de pares é igual a zero.

### II.3.2 Efeito Fotoelétrico

O efeito fotoelétrico é a emissão de um elétron ligado, devido à incidência de radiação eletromagnética. Quando um fóton interage com um átomo do material absorvedor, o fóton pode ser completamente absorvido, dando origem a um fotoelétron de uma camada do material absorvedor, a este fenômeno dá-se o nome de absorção fotoelétrica.

Quando um feixe de fótons de baixa energia atinge um material, há uma probabilidade de que os fótons do feixe interajam com os elétrons mais externos do átomo cedendo-lhes energia para que eles sejam retirados. A probabilidade de interação é dada pela seção de choque fotoelétrica ( $\sigma_{fe}$ ), que apresenta um valor considerável para energias abaixo de 100 keV e varia de material para material.

No processo de interação fotoelétrico, o fóton incidente é absorvido pelo material e um elétron é ejetado. Se a energia do fóton incidente for igual a  $h\nu$ , onde  $\nu$  é a frequência da onda eletromagnética incidente e  $h$  a constante de Plank, a energia do elétron arrancado (K), será dada pela equação II-09:

$$K = h\nu - \omega_0 \quad \text{II-09}$$

onde  $\omega_0$  é a energia mínima necessária para um elétron atravessar a superfície do material e escapar às forças atrativas que o ligam ao material (função trabalho), sendo que esta energia depende do material.

---

<sup>5</sup> Foram desconsiderados os coeficientes de atenuação de espalhamento Rayleigh ( $\mu_R$ ) e de produção de pares ( $\mu_p$ ) devido à faixa de energia que o sistema pode trabalhar, de 8 a 100 keV.

### II.3.3 Espalhamento Compton

O espalhamento Compton é um caso particular de espalhamento de fótons pela coroa de elétrons, onde a interação é feita pelos elétrons mais externos, no qual o fóton incidente é absorvido, arrancando um elétron do átomo e gerando a emissão de um outro fóton. A energia do fóton emitido é menor que a energia do fóton incidente, com exceção do fóton emitido a zero grau, que terá a mesma energia <sup>[60,61]</sup>.

A energia do fóton espalhado dependerá somente do ângulo de espalhamento e não do material do alvo, que influenciará apenas na intensidade do feixe espalhado. A equação II-10 representa a energia dos fótons espalhados em função do ângulo de espalhamento.

$$E_e = \frac{E_i}{1 + \alpha(1 - \cos \theta)} \quad \text{II-10}$$

onde :

$$\alpha = \frac{E_i}{m_0 c^2} ;$$

$m_0$  = massa de repouso do elétron;

$c$  = velocidade da luz;

$E_i$  = energia do fóton incidente;

$E_e$  = energia do fóton espalhado;

$\theta$  = ângulo de espalhamento.

A figura II-11 representa o modelo fenomenológico da interação de um fóton com um elétron estacionário <sup>[62]</sup>.

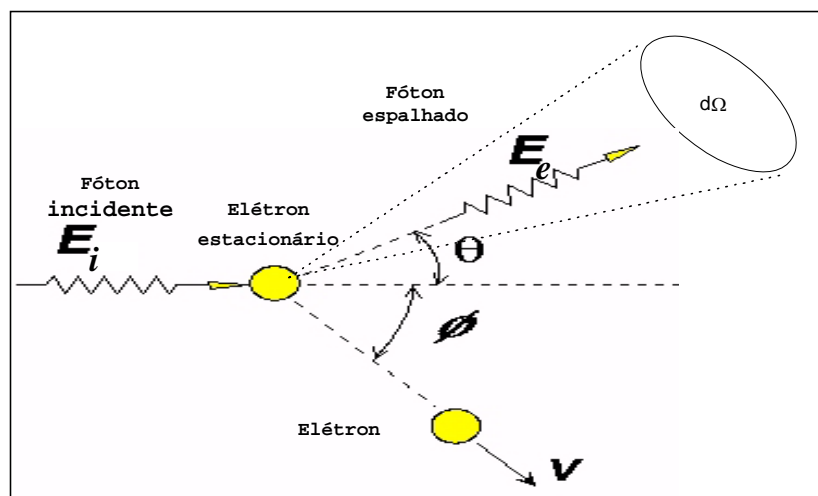


Figura II-11 – Espalhamento de um fóton em um ângulo  $\theta$ , por unidade de ângulo sólido ( $d\Omega$ )

A seção de choque para o espalhamento Compton é descrita pela equação II-11 de Klein e Nishina<sup>[63]</sup>:

$$\frac{d\sigma_e}{d\Omega}(E_i, \theta) = \left(\frac{\Gamma_e^2}{2}\right) \times \left(\frac{E_i}{[1 + \alpha(1 - \cos \theta)]^2} \times \left(1 + \cos \theta + \frac{\alpha^2(1 - \cos \theta)}{1 + \alpha(1 - \cos \theta)}\right)\right) \quad \text{II-11}$$

onde:

$$\begin{aligned} \frac{d\sigma_e}{d\Omega} &= \text{Seção de choque diferencial de espalhamento Compton para um} \\ &\quad \text{elétron livre e estacionário;} \\ \Gamma_e &= \text{Raio clássico do elétron.} \end{aligned}$$

Esta relação, que representa a probabilidade de espalhamento em um ângulo  $\theta$ , por unidade de ângulo sólido ( $d\Omega$ ), de um fóton por um elétron livre e estacionário, permite obter a densidade eletrônica e conseqüentemente a densidade do material na região de inspeção. A probabilidade total de espalhamento Compton, por unidade de ângulo sólido, será a soma das probabilidades de espalhamento devido a cada elétron isoladamente.

Na realidade, os elétrons de um determinado material não são livres nem estacionários. O movimento dos elétrons introduz um deslocamento na energia do fóton espalhado, gerando assim, uma faixa de energia ao invés de uma única energia de espalhamento. A energia de ligação dos elétrons resulta em uma seção de choque menor que a calculada pela equação II-12. Este efeito torna-se significativo para elementos de número atômico pesado e fótons de baixa energia. Nas estimativas teóricas das seções de choque incoerentes, o efeito da energia de ligação é levado em conta através da função de espalhamento incoerente  $S(X,Z)$ , que representa a probabilidade de um átomo ser levado a um estado excitado ou ionizado por receber um momento de  $2hX$ , sendo  $h$  a constante de Plank, e  $X$  dado por:

$$X = \left(\frac{1}{\lambda}\right) \text{sen}\left(\frac{\theta}{2}\right), \quad \text{II-12}$$

sendo  $\lambda$ , o comprimento de onda do fóton incidente e expresso em unidades de Ångström.  $S(X,Z)$  cresce rapidamente, especialmente para elementos leves e baixos valores de  $X$ .

A seção de choque corrigida ficará então com a seguinte forma:

$$\frac{d\sigma_e}{d\Omega}(E_i, \Omega) = \left(\frac{\Gamma_e^2}{2}\right) \times \left(\frac{1}{[1 + \alpha(1 - \cos \theta)]^2}\right) \times \left(1 + \cos^2 \theta + \frac{\alpha^2(1 - \cos \theta)^2}{1 + \alpha(1 - \cos \theta)}\right) \times S(X, Z) \quad \text{II-13}$$

A seção de choque macroscópica Compton total,  $\sigma_c$ , será obtida somando-se as seções de choque relativas a cada elétron e integrando-se dentro dos limites de ângulo sólido estabelecido pelo campo de visão do sistema de detecção em relação ao volume de interesse ter-se-á então:

$$d\sigma_c = n_e \times \frac{d\sigma_e}{d\Omega} \longrightarrow \quad \text{II-14}$$

$$d\sigma_c = \int_{vol} \rho_e \times \frac{d\sigma_e}{d\Omega} dv \longrightarrow \quad \text{II-15}$$

$$\sigma_c = \int_{\Omega} d\sigma_c \times d\Omega = \rho_e \times \int_{\Omega} \int_{vol} \frac{d\sigma_e}{d\Omega} dv d\Omega \quad \text{II-16}$$

onde  $\rho_e$  é a densidade eletrônica do material e  $n_e$  o número total de elétrons dentro do volume de inspeção (vol).

### II.3.4 Espalhamento coerente (Rayleigh ou elástico)

No espalhamento elástico dos fótons, dois efeitos podem ser considerados, o espalhamento Rayleigh que é o espalhamento elástico dos fótons pelos elétrons ligados de um átomo livre, e o efeito de Bragg que é o espalhamento que acontece em diferentes átomos formando os efeitos de interferência.

O espalhamento Rayleigh pode ser discutido em termos da diferencial da amplitude  $A$  do espalhamento e uma diferencial da seção de choque de espalhamento  $(d\sigma/d\Omega)^{[86]}$ .

A amplitude do espalhamento Rayleigh pode ser obtida pela multiplicação da amplitude de Thomson  $A_{th}$  pelo fator de forma  $F(x)$ , que é a transformada de Fourier da distribuição de carga atômica  $\rho(r)$ , onde

$$\left( \frac{d\sigma}{d\Omega} \right)_{elástico} = |A|^2 = A_{th} F^2(x) \quad , \text{ onde} \quad \text{II-17}$$

$$A_{th} = r_0^2 (1 + \cos^2 \theta) \quad \text{II-18}$$

$$F(x) = \int_{\text{volume atômico}} \rho(r) e^{ikr} d^3r \quad \text{II-19}$$

$x = \sin(\theta/2)\lambda$  é a variável relacionada ao momento transferido  $k$  do elétron atômico pelo fóton espalhado;

$\theta$  é o ângulo de espalhamento e

$\lambda$  é o comprimento de onda do fóton incidente.

### II.3.5 Coerência e divergência

A coerência é a propriedade apresentada por duas ou mais ondas eletromagnéticas monocromáticas que têm o mesmo comprimento de onda e o mesmo plano de vibração, apresentam diferenças de fase constantes e passam em um mesmo intervalo de tempo, por uma mesma região de espaço.

As técnicas de contraste de fase e realce por difração necessitam de fontes com alto grau de coerência geométrica (ondas planas ou esféricas). Na prática as ondas planas tem sempre uma certa divergência angular. Para as aplicações de contraste de fase uma fonte síncrotron, por exemplo, pode fornecer um feixe de alta coerência (ondas planas), mas a divergência deve ser da ordem de  $10^{-6}$  radianos, para que o sistema de detecção possa distinguir através do cristal analisador o feixe que interagiu com a amostra e foi desviado por efeitos de espalhamento e refração.

A divergência em fontes síncrotrons é definida intrinsecamente pelas propriedades da fonte e pela óptica utilizada. Cristais são empregados para obter divergências da ordem de  $10^{-6}$  radianos. Este valor de divergência não é limítrofe, sendo que a difração e refração sempre ocorrem, contudo se o valor da divergência for alto o sistema de detecção não será capaz de registrar os efeitos de difração/refração.

Quando uma onda de alta coerência esférica é utilizada, (normalmente em fontes microfocadas), uma frente de ondas de referência proveniente exclusivamente da fonte interage com a frente de ondas que passou pela amostra formando interferências construtivas e destrutivas. O resultado é um aumento na intensidade em pontos específicos da imagem relacionados à mudança de fase da onda que interagiu com a amostra.

### II.3.6 Refração

Na faixa de energia dos raios X o índice de refração é muito próximo à unidade, da ordem de  $10^{-6}$ , sendo fortemente dominado pela densidade de elétrons em um material, esse efeito não é tão dependente da barreira eletrônica de energia.

Em geral o índice é composto de uma parte real e uma imaginária. A parte real é fortemente responsável pela refração e a parte imaginária pela absorção<sup>[64]</sup>. O índice de refração pode ser escrito pela equação II-20.

$$\mathbf{n} = 1 + \alpha + i\beta \quad \text{II-20}$$

onde:  $\alpha$  é o índice de refração real desviado da unidade;  
 $\beta$  é o termo referente à absorção.

Como a faixa de energia dos fótons de raios X tende a ser muito abaixo, se não todo, da barreira eletrônica de energia, a correção do índice é negativa. O elemento  $\alpha$  pode ser expressado para um elemento como na equação II-21.

$$\alpha_i = -\rho_i \frac{\Gamma_e \lambda^2}{\pi} \left( \frac{\mathbf{Z}}{\mathbf{A}} \right)_i \quad \text{II-21}$$

onde:  $i$  é o índice de referência do elemento;

$\Gamma_e$  é o raio clássico do elétron;

$\lambda$  é o comprimento de onda;

$\rho$  é a densidade do material; e

$\left( \frac{\mathbf{Z}}{\mathbf{A}} \right)_i$  é o número atômico  $\mathbf{Z}$  dividido pelo massa atômica  $\mathbf{A}$  do

elemento.

No caso onde o material é mais complexo ou é composto de múltiplos elementos ou materiais, pode ser encontrada a seguinte relação mostrada na equação II-22:

$$\alpha_c = \rho_c \sum \left( \frac{\alpha}{\rho} \right)_i f_i \quad \text{II-22}$$

onde  $\left( \frac{\alpha}{\rho} \right)_i$  é dado pela equação II-23 e  $f_i$  é a fração de massa do  $i$ -ésimo

componente do composto.

$$\left( \frac{\alpha}{\rho} \right)_i = \frac{-\Gamma_e \lambda^2}{\pi} \left( \frac{\mathbf{Z}}{\mathbf{A}} \right)_i \quad \text{II-23}$$

O ângulo de refração  $\delta$  surgindo de um material de dois componentes é representado na equação II-24;

$$\delta = (\alpha_2 - \alpha_1) \frac{dt}{dz} \quad \text{II-24}$$



onde:  $\frac{dt}{dz}$  é o gradiente de espessura de um material perpendicular à direção do feixe e permanece em um plano de difração; e  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  são as correções do índice de refração para dois materiais.

Como no caso do contraste de absorção, o ângulo de refração é um parâmetro adimensional e depende da diferença entre o índice de refração de dois materiais e o gradiente em espessura em uma direção perpendicular ao feixe e um plano de difração entre o monocromador e o cristal analisador.

### II.3.7 Difração

Em 1917 o físico alemão Max von Laue, estimulado por uma discussão com P.P. Ewald que fazia o seu doutoramento em espalhamento de ondas eletromagnéticas por um grupo de osciladores harmônicos, argumentou que *se os cristais são compostos de espaços atômicos regulares que poderiam agir como centros espalhadores para os raios X, e se os raios X são ondas eletromagnéticas de comprimento de onda quase iguais à distância interatômica nos cristais, então seria possível difratar os raios X por meio dos cristais*. Nesta direção, Friedrich e Knipping conduziram experimentos para testar as hipóteses. Os experimentos que foram feitos em seguida provaram a hipótese e ao mesmo tempo a natureza ondulatória dos raios X e a periodicidade do arranjo atômico dentro do cristal.

Os resultados despertaram o interesse do físico inglês W.H. Bragg e de seu filho W.L.Bragg. Eles analisaram os experimentos de Laue e o expressaram em uma função matemática que representava as condições necessárias para ocorrer a difração.

Esta formulação matemática ficou conhecida como a **lei de Bragg**, que é mostrada na equação II-25.

$$n\lambda = 2d' \sin \theta \quad \text{II-25}$$

onde  $n$  é o número de ordem de reflexão;

$\lambda$  é o comprimento de onda da radiação incidente;

$d'$  é o espaço interplanar do cristal, e

$\theta$  é o ângulo de incidência do feixe.

### II.3.8 Fase

As ondas segundo Nugent et al<sup>[65]</sup> possuem uma íntima relação em medir transformações. O conhecimento apropriado (independente do tempo) da equação de onda, junto com sua intensidade e sua fase em cima de uma superfície, permite conhecer tipicamente a onda em todos os lugares. Como a intensidade correspondente pode ser medida diretamente, pode-se obter a intensidade de luz ou a distribuição de probabilidade de uma onda mecânica quântica em qualquer lugar.

O conceito de fase é usualmente introduzido como uma propriedade de um campo de onda coerente.

Como os campos de onda são descritos por uma função complexa:

$$\psi(\mathbf{r}) = \sqrt{I(\mathbf{r})} [i\phi(\mathbf{r})] \quad \text{II-26}$$

onde:  $\mathbf{r}$  é a posição espacial,

$I(\mathbf{r})$  é a intensidade (ou a probabilidade de intensidade) de onda,

$\phi(\mathbf{r})$  é a fase.

A superfície da constante  $\phi(\mathbf{r})$  pode ser identificada como uma frente de onda. Em espaços livres,  $\nabla\phi(\mathbf{r})$  descreve a direção local de propagação, como é mostrado na figura II-12.

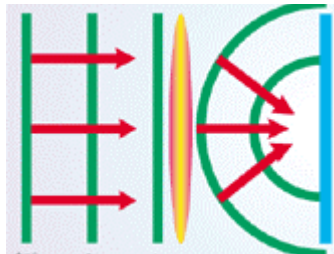


Figura II-12 – Diagrama de mudança de fase

A fase de uma onda eletromagnética é inevitavelmente mudada quando passa através de um objeto, embora nossos olhos sejam capazes de observar somente a mudança de intensidade. Alguns materiais afetam a fase de uma onda com somente mínimos efeitos na intensidade. Um exemplo seria uma janela limpa e de boa qualidade que pode introduzir mudanças mínimas de intensidade, com mudanças de fase espacial uniforme.

As lentes por outro lado, também não mudam a intensidade, mas induzem uma mudança de fase na onda não uniforme. Em propagação por uma distância apropriada, estas mudanças de fase invisíveis são transformadas em uma variação de intensidade

visível. Pode-se concluir que o gradiente de fase pode ser visualizado pela observação da propagação de intensidade. Por exemplo, quando um objeto que somente afete a fase (figura II-13a), é iluminado por onda plana uniforme, uma distribuição de intensidade como aquela mostrada na fig II-13b é criada a uma pequena distância à frente.

Muitos cientistas automaticamente conectaram a medida de fase a técnicas de interferometria. A chave da interferometria é a sobreposição de uma onda coerente sobre outra e o uso das franjas de interferências resultantes para deduzir a fase relativa de duas ondas. A figura II-13c mostra um interferograma de uma distribuição de fase na figura II-13a. A interferometria pode ser executada rotineiramente com uma radiação coerente, que pode ser o som, elétrons, raios X, nêutrons ou átomos.

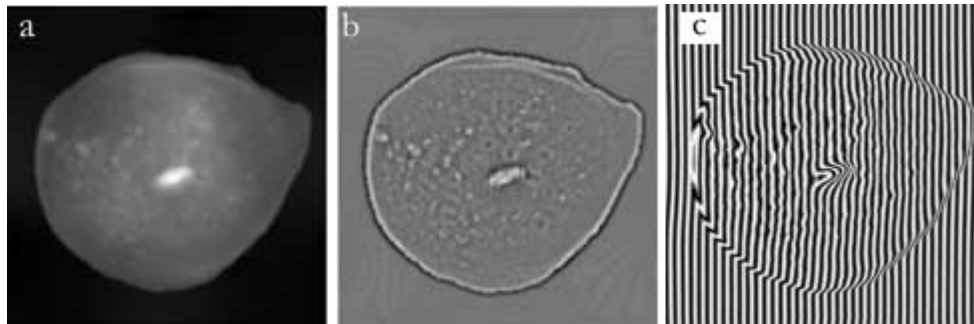


Figura II-13 – Objeto de pura fase (a), distribuição de intensidade (b) e interferograma (c)

As técnicas de interferometria não são muito adequadas para imagens diretas, contudo para ótimas resoluções um microscópio óptico requer uma radiação parcialmente coerente, que é insuficiente para interferometria. Então, para ver fase, microscopistas ópticos têm por um longo tempo, utilizado um sistema de leve desfocalização, uma forma de propagação que induz o contraste de fase. Um trabalho de Frits Zernike, publicado em 1942<sup>6</sup> e para o qual ele foi premiado em 1953 com o Prêmio Nobel de Física, por ter sido o primeiro em combinar uma imagem focalizada com visualização de fase e alta resolução<sup>[66]</sup>.

Imagens desfocalizadas são também usadas em microscopia eletrônica. Muitas das amostras de interesse no campo da microscopia eletrônica produzem somente informação de fase.

<sup>6</sup> Apresentado em “Handelingen van het XXIVe Nederlandsch natuur- en geneeskundig Congres 24 (1933) 100-102” e “Zeitschrift für technische Physik 16 (1935) 454-457”

Para elétrons rápidos passando através de cristais suficientemente finos, a informação de desfocalização produz a projeção do Laplaciano do potencial de um cristal. Conseqüentemente, a fase pode ser estimada quantitativamente usando uma série de imagens desfocalizadas, com a aplicação de técnicas numéricas para encontrar uma distribuição de fase consistente com toda a entrada de dados.

Considerado como uma boa aproximação, a imagem e o padrão de difração de campo próximo (Fraunhofer) são usados como uma entrada para algoritmos iterativos de recuperação de dados. Este método foi proposto primeiramente por Gerchberg e Saxton<sup>[67]</sup>. A essência deste algoritmo é assumir que a intensidade de onda e o padrão de difração de campo próximo são conhecidos, mas não a fase. Uma suposição inicial é que a fase de onda é construída com o conhecimento da intensidade. A transformada de Fourier é utilizada para obter o padrão de difração de campo próximo. Em geral, o padrão calculado pode estar incorreto, mas quando a medida de intensidade do padrão de difração é substituída pela intensidade calculada, mantendo a fase calculada de campo próximo a mesma, uma transformada inversa produz uma estimativa refinada da fase da onda.

Esta fase estimada é então utilizada com a intensidade, medida para a próxima interação. Dadas certas limitações, a distribuição de fase converge para um valor correto com uma repetição de interações.

## ***II.4 Princípios de aquisição e reconstrução de imagens***

### **II.4.1 Reconstrução a partir de Projeções**

Em tomografia com radiações ionizantes, as projeções consistem em integrais de linha dos coeficientes de atenuação. Neste contexto, é importante avaliar a natureza deste parâmetro. Considerando que se tem um feixe de fótons propagando-se através de uma lâmina de material homogêneo, da interação da radiação com a matéria, pode-se esperar três tipos de eventos: efeito fotoelétrico, espalhamento Compton e produção de pares, todos contribuindo para a atenuação do feixe incidente.

Todos estes efeitos são dependentes da energia. Isto significa que a probabilidade do fóton ser absorvido por efeito fotoelétrico ou espalhado por efeito Compton ou ainda ocasionar a produção de pares é função da energia do fóton incidente. Considerando o espectro de energia entre 5 e 150 keV (de raios X), como

sendo o comumente utilizado em microtomografia, os mecanismos mais prováveis de atenuação do feixe serão o efeito fotoelétrico e o espalhamento Compton.

## II.4.2 Projeções com Radiação Monocromática

Uma fonte monocromática produz um feixe de radiação em uma energia bem definida. Supondo que este feixe de intensidade  $I$  atravesse uma lâmina de material heterogêneo de espessura  $\Delta x$ , o feixe resultante após a lâmina será  $I - \Delta I$ , onde esta variação  $\Delta I$  é resultante da interação da radiação incidente com o material da lâmina. Assumindo que todos os fótons possuem a “mesma” energia e que as seções de choque para efeito fotoelétrico e Compton são respectivamente  $\tau(\mathbf{x})$  e  $\sigma(\mathbf{x})$  no ponto  $\mathbf{x}$ , pode-se expressar matematicamente a variação da intensidade do feixe por unidade de comprimento como <sup>[68]</sup>:

$$-\frac{\Delta I}{I} \cdot \frac{1}{\Delta x} = \tau(x) + \sigma(x). \quad \text{II-27}$$

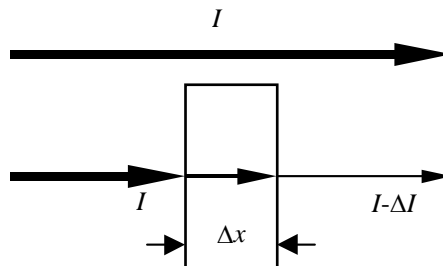


Figura II-14 – Interação da radiação com a matéria.

Com o propósito de simplificar o problema de determinação das seções de choque, assume-se a determinação de um único parâmetro  $\mu$  que representa a combinação dos dois efeitos e indicará a atenuação média por comprimento devido aos mesmos efeitos. Assim sendo, a equação torna-se:

$$-\frac{\Delta I}{I} \cdot \frac{1}{\Delta x} = \mu(x). \quad \text{II-28}$$

No limite, a variação infinitesimal de intensidade do feixe por comprimento será:

$$\frac{dI}{I} = -\mu(x)dx. \quad \text{II-29}$$

Considerando que a lâmina possui espessura total  $x$  e que o feixe (inicialmente com intensidade  $I_0$ ) emerge com intensidade  $I$ , podem-se integrar ambos os lados:

$$\int_{I_0}^I \frac{1}{I} dI = -\int_0^x \mu(x)dx, \quad \text{II-30}$$

que resulta em

$$\ln \frac{I}{I_0} = -\int_0^x \mu(x)dx, \quad \text{II-31}$$

ou ainda,

$$I = I_0 \exp\left(-\int_0^x \mu(x) dx\right). \quad \text{II-32}$$

Na prática, os raios são emitidos pela fonte e detectados no instrumento de medida. Assim, o comprimento total  $[0,x]$  não é conhecido “a priori”, mas a expressão acima continua válida substituindo-se a integral definida por uma integral de linha como segue:

$$I = I_0 \exp\left(-\oint_{\text{raio}} \mu(x) ds\right). \quad \text{II-33}$$

O termo entre parênteses, coeficiente da exponencial, é chamado de integral do raio, ou simplesmente raio-soma, por corresponder à soma de todos os coeficientes de atenuação ao longo de todo o trajeto da radiação, desde a fonte até o detector. Assim, o raio-soma pode ser determinado matematicamente por:

$$\oint_{\text{raio}} \mu(x) ds = \ln \frac{I_0}{I} \quad \text{II-34}$$

O valor do raio-soma pode ser determinado experimentalmente tomando-se a intensidade da radiação na fonte e a medida no detector, após o objeto.

O objetivo é determinar os coeficientes de atenuação de todo o objeto, isto é, em sua natureza tridimensional. Desta forma, o parâmetro  $\mu$  será função não mais de  $\mathbf{x}$ , mas de  $\mathbf{x}$ ,  $\mathbf{y}$ , ou ainda  $\mathbf{x}$ ,  $\mathbf{y}$  e  $\mathbf{z}$ , e a integral do raio será:

$$\oint_{\text{raio}} \mu(x, y) ds = \ln \frac{I_0}{I} \quad \text{ou} \quad \oint_{\text{raio}} \mu(x, y, z) ds = \ln \frac{I_0}{I} \quad \text{II-35}$$

Descreve-se a seguir o problema da determinação dos coeficientes de atenuação ao longo do objeto sob uma perspectiva puramente matemática. Assumindo, inicialmente, um caso bidimensional, seja  $\mathbf{f}(\mathbf{x}, \mathbf{y})$  uma função bidimensional, onde as linhas que cortam esta função (em qualquer direção) são chamadas de raios e a integral de linha ao longo destes raios são as integrais de raio ou raios-soma (as mesmas designações assumidas no problema inicial), ou seja, um conjunto de raios-soma, paralelos ou divergentes, formam uma projeção  $\mathbf{P}(\mathbf{t})$ . No caso de raios paralelos, um raio-soma contido em uma projeção pode ser descrito matematicamente por:

$$P_{\theta}(t) = \int_{AB} f(x, y) ds \quad \text{II-36}$$

onde  $\overline{AB}$  define a linha ao longo do qual a integral será calculada,  $\mathbf{t}$  é a posição do raio-soma dentro da projeção,  $d\mathbf{s}$  é o passo infinitesimal ao longo do raio e  $\theta$  é a inclinação da linha  $\overline{AB}$  em relação ao sistema de coordenadas  $\mathbf{XY}$ , a partir do eixo  $\mathbf{y}$  (ver figura II -14).

O raio  $\overline{AB}$  é expresso algebricamente pela equação

$$x \cos \theta + y \sin \theta = t \quad \text{II-37}$$

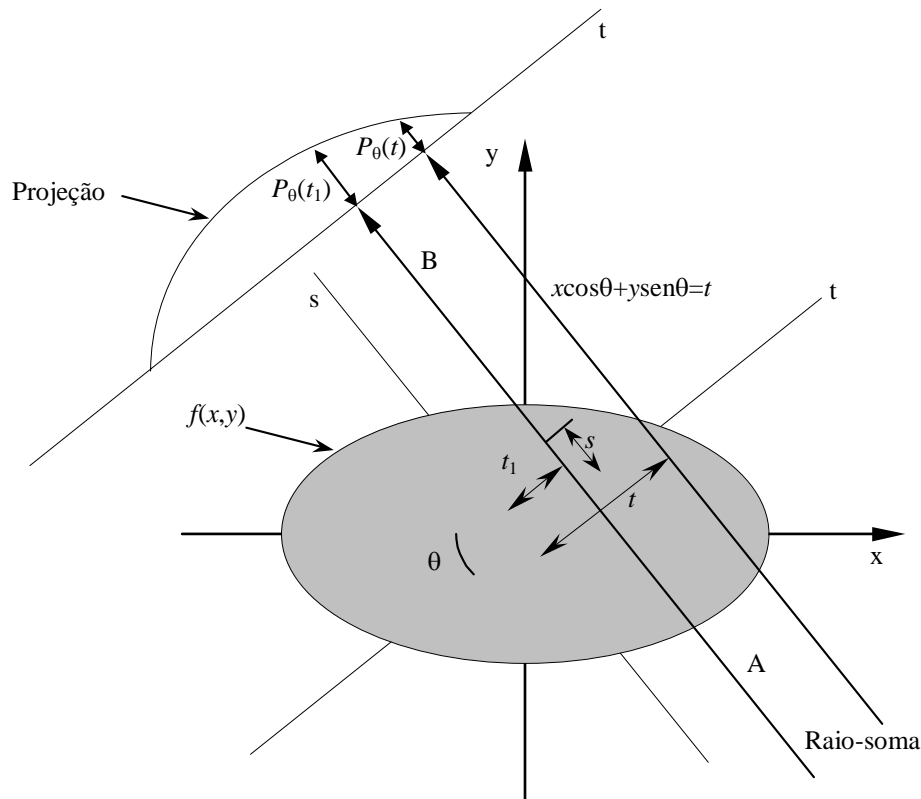


Figura II-15 – Função projeção.

Assim, para um dado ângulo  $\theta$ , somente as coordenadas  $x$  e  $y$  que satisfizerem a equação acima é que estarão sobre a linha  $\overline{AB}$ , e mais, somente os pontos  $f(x,y)$  com tais coordenadas irão contribuir com a integral de linha  $P_0(t)$ . Todo o restante da função  $f(x,y)$  fora da linha  $\overline{AB}$  não entrará no cálculo da integral para a posição  $t$  na projeção. Um artifício útil na matemática para “materializar” esta situação é o uso da “função” delta de Krönecker  $\delta(u)$ . Esta pseudofunção possui valor definido igual a 1 (um) quando seu argumento é zero, e é zero no restante de seu domínio.

$$\delta(u) = \begin{cases} 1, & u = 0 \\ 0, & u \neq 0 \end{cases} \quad \text{II-38}$$

Desta forma, para separar os pontos de  $f(x,y)$  que estão sobre a linha  $\overline{AB}$  sabendo que somente as coordenadas  $x$  e  $y$  que satisfazem a equação  $x \cos \theta + y \sin \theta - t = 0$  são válidas, pode-se substituir a integral de linha pela integral dupla como segue



$$P_{\theta}(t) = \oint_{AB} f(x, y) ds = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) \delta(x \cos \theta + y \sin \theta - t) dx dy, \quad \text{II-39}$$

se  $x$  e  $y$  estão sobre  $\overline{AB} \Rightarrow x \cos \theta + y \sin \theta - t = 0 \Rightarrow \delta(x \cos \theta + y \sin \theta - t) = \delta(0) = 1$ , por substituição, a eq. II-39 torna-se

$$\int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) \delta(x \cos \theta + y \sin \theta - t) dx dy = \iint f(x, y) dx dy = P_{\theta}(t) \quad \text{II-40}$$

A função  $P_{\theta}(t)$  define a projeção paralela de  $f(x, y)$  para um ângulo  $\theta$ . A função bidimensional  $P_{\theta}(t)$  (com  $t$  e  $\theta$  variando) é chamada de Transformada de Radon de  $f(x, y)$ .

Raios-soma divergentes também podem ser tomados para formar uma projeção. Tais projeções são chamadas de projeções de feixe em leque, uma vez que os raios-soma são divergentes, e neste caso, cada raio-soma contido na projeção em leque, corresponderá a um ângulo  $\theta$  diferente, isto é, cada raio-soma terá uma inclinação em relação ao eixo  $y$ .

Retornando ao exemplo prático, tem-se que cada raio-soma era resultado da integral dos coeficientes de atenuação ao longo de um raio.

$$\int_{\text{raio}} \mu(x, y) ds = \ln \frac{I_0}{I} \quad \text{II-41}$$

Torna-se bastante familiar que se  $\mu(x, y)$  é uma função bidimensional tal como  $f(x, y)$  no modelo matemático, então a integral de linha acima corresponde a um raio-soma  $P_{\theta}(t)$ . Caso o objeto seja transladado ao longo de uma trajetória perpendicular ao feixe de radiação e, a intervalos regulares deste deslocamento, levanta-se os valores de  $I(t)$ , então se pode calcular os raios-soma correspondentes a cada intervalo e formar uma projeção paralela. Se o instrumento de medida for extenso e constituído de vários elementos detectores independentes pode-se, assim como antes, levantar os valores de  $I$  e gerar uma projeção em leque. Estas projeções, paralelas e em leque, serão utilizadas para calcular os coeficientes de atenuação (ou os parâmetros desejados) do objeto através do teorema da fatia de Fourier cujo resultado é equivalente a uma “transformada inversa” de Radon.

### II.4.3 Teorema da Fatia de Fourier

Inicia-se o teorema formulando a transformada de Fourier da função bidimensional  $f(x,y)$  e da projeção  $P_\theta(t)$ .

$$F(u, v) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) e^{-j2\pi(ux+vy)} dx dy \quad \text{II-42}$$

$$S_\theta(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} P_\theta(t) e^{-j2\pi\omega t} dt \quad \text{II-43}$$

Fazendo-se a variável  $v$  da transformada  $F(u,v)$  igual a zero, nota-se que a expressão final resume-se na transformada da projeção inicial ( $\theta = 0$ ) como mostrado adiante:

$$\begin{aligned} F(u, 0) &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) e^{-j2\pi ux} dx dy \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} \left[ \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) dy \right] e^{-j2\pi ux} dx \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} P_0(t) e^{-j2\pi\omega t} dt = S_0(\omega) \end{aligned} \quad \text{II-44}$$

As variáveis  $(u,v)$  e  $(\omega,\theta)$  estão relacionadas entre si através de simples funções trigonométricas:

$$\begin{aligned} u &= \omega \cos \theta \\ v &= \omega \sin \theta \end{aligned} \quad \text{II-45}$$

Assim, representar a transformada de  $f(x,y)$  por  $F(u,v)$  ou por  $F(\omega,\theta)$  tem o mesmo efeito, e mais,  $F(u,0) = F(\omega,0) = S_0(\omega)$ . Resta mostrar que o resultado anterior é válido para qualquer  $\theta \neq 0$ . Para isso, substitui-se as variáveis  $x$  e  $y$  por duas outras “ $t$ ” e “ $s$ ” que são variáveis de um sistema de coordenadas cartesianas rotacionado de um ângulo  $\theta$  que coincide com o sistema de coordenadas das projeções. Na figura II-15 da

seção anterior, onde foi apresentado pictoricamente uma projeção paralela, pode ser visto que a coordenada “ s ” coincide com a direção do raio-soma e que a coordenada “ t ” corresponde ao eixo perpendicular aos mesmos raios-soma e que é paralela à direção da projeção. Desta forma, (t,s) e (x,y) estão ligadas através de uma matriz de rotação:

$$\begin{bmatrix} t \\ s \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos \theta & \text{sen} \theta \\ -\text{sen} \theta & \cos \theta \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} \quad \text{II-46}$$

ou seja, qualquer ponto (x,y) de f(x,y) possui coordenadas (t,s) calculadas por meio da matriz de rotação acima. Reescrevendo a equação do raio-soma em função das novas variáveis “ t ” e “ s ” tem-se,

$$P_{\theta}(t) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t, s) ds \quad \text{II-47}$$

$$S_{\theta}(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} P_{\theta}(t) e^{-j2\pi\omega t} dt = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(t, s) ds e^{-j2\pi\omega t} dt \quad \text{II-48}$$

Retornando para o sistema de coordenadas de x e y e substituindo t por  $x \cos \theta + y \text{sen} \theta$ , conclui-se que:

$$\begin{aligned} S_{\theta}(\omega) &= \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) e^{-j2\pi\omega(x \cos \theta + y \text{sen} \theta)} dx dy \\ &= F(u, v) \text{ para } u = \omega \cos \theta, v = \omega \text{sen} \theta \\ &= F(\omega, \theta) \end{aligned} \quad \text{II-49}$$

Por fim, de posse das informações de cada projeção  $P_{\theta}(t)$ , sua transformada  $S_{\theta}(\omega)$  pode ser calculada como deduzido acima, o que equivale à transformada  $F(\omega, \theta)$ . Como  $F(\omega, \theta)$  e  $F(u, v)$  são equivalentes, pode-se calcular a função  $f(x, y)$  original através de uma simples transformação inversa.

$$f(x, y) = \int_{-\infty-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} F(u, v) e^{j2\pi(ux+vy)} dudv \quad \text{II-50}$$

No exemplo prático, se, além de transladar os objetos, eles forem girados de um passo angular  $\Delta\theta$  ao final de cada uma das translações, tem-se as projeções  $P_i\Delta\theta(t)$  necessárias para reconstruir a informação original do objeto.

## II.4.4 Reconstrução por Retroprojeção 2D

### a) Fundamentos para reconstrução 2D com projeções de feixe paralelo<sup>[69]</sup>

Um fato interessante deve ser notado ao reconstruir uma função  $f(x,y)$  com os raios-soma de cada projeção sendo o feixe de raios paralelos. Ao comparar as projeções de um ângulo  $\theta$  e  $\theta+180^\circ$  nota-se que para as técnicas convencionais estas projeções possuem os mesmos valores, porém em ordem inversa. Isto significa que não há necessidade da utilização todas as projeções ao longo dos  $360^\circ$  em torno do objeto, mas somente metade delas. Isso pode ser visto nas equações abaixo.

$$\begin{aligned} f(x, y) &= \int_0^{2\pi} \int_0^\infty F(\omega, \theta) e^{j2\pi\omega(x \cos \theta + y \sin \theta)} \omega d\omega d\theta \\ &= \int_0^\pi \int_0^\infty F(\omega, \theta) e^{j2\pi\omega(x \cos \theta + y \sin \theta)} \omega d\omega d\theta \quad , \\ &\quad + \int_0^\pi \int_0^\infty F(\omega, \theta + \pi) e^{j2\pi\omega(x \cos(\theta+\pi) + y \sin(\theta+\pi))} \omega d\omega d\theta \end{aligned} \quad \text{II-51}$$

onde,

$$F(\omega, \theta + \pi) = F(-\omega, \theta) \quad \text{II-52}$$

que pode eliminar o ultimo termo da equação II-40.

Uma vez estabelecida a necessidade da utilização de somente as projeções contidas entre  $0$  e  $\pi$ , pode-se partir para a equação de reconstrução propriamente dita. Uma vez que  $F(\omega, \theta)$  é igual a  $S_\theta(\omega)$ . Substitui-se a primeira pela segunda na equação da transformada inversa (equação II-51).

$$\begin{aligned}
 f(x, y) &= \int_0^\pi \int_{-\infty}^\infty F(\omega, \theta) |\omega| e^{j2\pi\omega(x \cos \theta + y \sin \theta)} d\omega d\theta \\
 &= \int_0^\pi \left[ \int_{-\infty}^\infty S_\theta(\omega) |\omega| e^{j2\pi\omega(x \cos \theta + y \sin \theta)} d\omega \right] d\theta
 \end{aligned}
 \tag{II-53}$$

O “filtro”  $|\omega|$  surgiu devido à mudança do sistema de coordenadas (de coordenadas retangulares para polares).

O termo entre colchetes na equação II-53 representa a transformada inversa de Fourier do produto de dois espectros de frequência:  $S_\theta(\omega)$  que é a transformada de Fourier da projeção  $P_\theta(t)$ , e o “filtro”  $|\omega|$ . O inverso do produto de dois espectros é igual à convolução entre as respectivas inversas. Esta propriedade será usada na implementação do algoritmo de reconstrução 2D para feixe paralelo.

Desta forma, nomeando-se de  $Q_\theta(t)$  como a inversa do produto dos espectros chega-se à equação de reconstrução  $f(x, y)$ .

$$f(x, y) = \int_0^\pi Q_\theta(x \cos \theta + y \sin \theta) d\theta \tag{II-54}$$

$$\text{onde: } t = x \cos \theta + y \sin \theta \quad \text{e} \tag{II-55}$$

$$Q_\theta(t) = \int_{-\infty}^\infty S_\theta(\omega) |\omega| e^{j2\pi\omega t} d\omega \tag{II-56}$$

Esta forma de representação possui uma vantagem, pois indica quais passos e em que ordem elas devem ser realizadas para que a implementação do processo de reconstrução seja factível.

Por fim, como os computadores trabalham com funções e representações discretas, é necessário substituir as integrais por somatórios, limitar os espectros em frequência e interpolar valores, e tudo isso irá introduzir erros na reconstrução da função  $f(x, y)$ .

Lembrando-se que o filtro  $|\omega|$  surgiu dentro das equações de retroprojeção devido a uma mudança do sistema de coordenadas, tem-se que este “filtro” possui um comportamento que enfatiza as altas frequências presentes nas projeções adquiridas no sistema tomográfico. Sendo  $\omega(\xi)$  uma função janela de limitação de banda que é escolhida para dar uma resposta em alta frequência, mais moderada, para alcançar o

melhor compromisso entre a largura de banda do filtro e a supressão de ruído, podem ser acoplados outros filtros dentro das equações de retroprojeção onde se encontrava somente o filtro rampa  $|\omega|$ , de forma a minimizar o efeito de ênfase das altas frequências. Existem quatro filtros comumente utilizados para esta suavização (ver tabela II-3).

Tabela II-3 – Filtros de reconstrução.

Filtro	Resposta em Frequência
Ram-Lak	$ \xi  \text{rect}(\xi d)$
Shepp-Logan	$ \xi  \text{sinc}(\xi d) \text{rect}(\xi d)$
Coseno Passa-Baixa	$ \xi  \cos(\pi \xi d) \text{rect}(\xi d)$
Generalizado de Hamming	$ \xi  [\alpha + (1 - \alpha) \cos 2\pi \xi d] \cdot \text{rect}(\xi d), 0 \leq \alpha \leq 1$

Nota-se que existe um termo nos filtros de suavização apresentados que é justamente o filtro Ram-Lak, definido pela equação II-57, e da composição deles tem-se uma redução ou ênfase dos defeitos e detalhes do objeto a ser reconstruído.

$$\omega(\xi) = |\xi| \text{rect}(\xi d) \quad \text{II-57}$$

Os gráficos de resposta em frequência e resposta impulsiva dos filtros descritos acima são mostrados na figura II-16.

### b) Reconstrução 2D com projeções de feixe em leque (detector: arranjo linear)

Na situação onde o feixe de radiação é divergente (fonte pontual) e o detector é um arranjo linear (detector linear), as equações de reconstrução bidimensional são adaptadas por relações trigonométricas.

A configuração geométrica que representa a situação do feixe divergente pode ser vista na figura II-17:

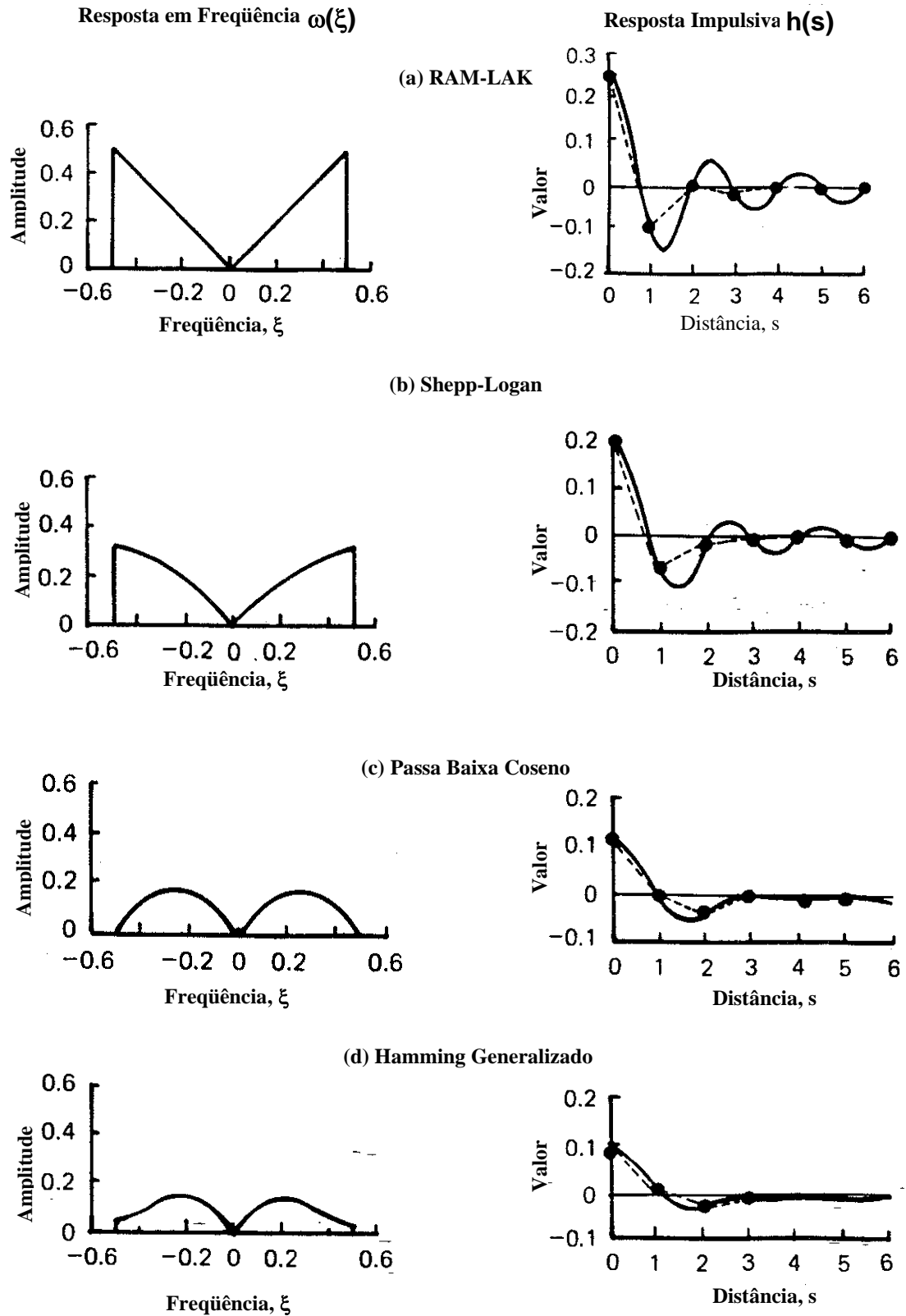


Figura II-16 – Filtros utilizados na reconstrução.

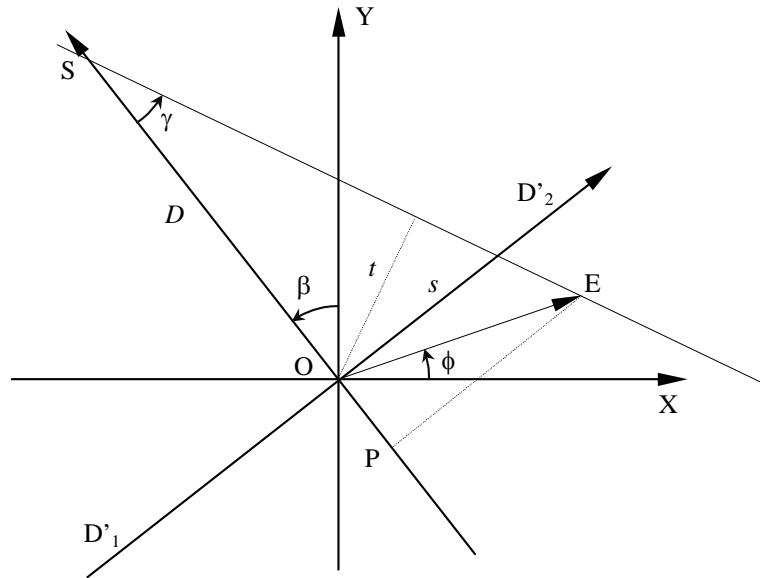


Figura II-17 – Geometria de feixe divergente.

onde a origem do sistema de coordenadas é o ponto **O**, e **S** é a fonte de radiação (a uma distância **D** da origem do sistema). O objeto está posicionado sobre a origem do sistema de coordenadas. O sistema de coordenadas da fonte está deslocado de um ângulo  $\beta$  do sistema **XY**. O raio-soma que está a uma distância  $t$  (perpendicular a origem **O**) faz um ângulo  $\gamma$  com o feixe central que passa pela origem **O**. Para efeito do desenvolvimento das equações de reconstrução, o ponto a ser reconstruído está localizado no ponto **E** que faz um ângulo  $\phi$  com o semi-eixo **X**. Seja  $s$  a distância entre o raio-soma que passa pelo ponto **E** e a origem **O** medida sobre a reta suporte  $\overline{D'_1 D'_2}$ .

As equações abaixo relacionam as distâncias com os ângulos.

$$t = s \cos \gamma \quad \theta = \beta + \gamma$$

$$t = \frac{sD}{\sqrt{D^2 + s^2}} \quad \theta = \beta + \tan^{-1} \frac{s}{D}$$

$$dt = \frac{D^3}{(D^2 + s^2)^{3/2}} ds \quad d\theta = d\beta$$

II-58

Seja  $f(r, \phi)$  o valor a ser reconstruído (localizado no ponto **E**). A equação que reconstrói este valor no ponto  $(r, \phi)$  é dada a seguir:



$$f(r, \phi) = \frac{1}{2} \int_0^{2\pi} \int_{-t_m}^{t_m} P_\theta(t) h(r \cos(\theta - \phi) - t) dt d\theta. \quad \text{II-59}$$

Substituindo a variável  $\mathbf{t}$ , as variáveis de integração  $d\mathbf{t}$  e  $d\theta$  e a equação da reta  $r \cdot \cos(\theta - \phi) - t$  da equação acima, obtém-se o seguinte:

$$f(r, \phi) = \frac{1}{2} \int_{-\gamma}^{2\pi-\gamma} \int_{-s_m}^{s_m} P_{\beta+\gamma} \left( \frac{sD}{\sqrt{D^2 + s^2}} \right) \cdot h \left( r \cos \left( \beta + \tan^{-1} \frac{s}{D} - \phi \right) - \frac{sD}{\sqrt{D^2 + s^2}} \right) \frac{D^3}{(D^2 + s^2)^{3/2}} ds d\beta. \quad \text{II-60}$$

A equação de reconstrução está agora em função das variáveis  $s$ ,  $\mathbf{D}$ ,  $\phi$ ,  $\mathbf{ds}$  e  $d\beta$ . A projeção  $\mathbf{P}_{\beta+\gamma}(\mathbf{t})$  pode ser representada por  $\mathbf{R}_\beta(s)$

$$P_{\beta+\gamma} \left( \frac{sD}{\sqrt{D^2 + s^2}} \right) = R_\beta(s) \quad \text{II-61}$$

Assim, a equação de reconstrução será:

$$f(r, \phi) = \frac{1}{2} \int_0^{2\pi} \int_{-s_m}^{s_m} R_\beta(s) h \left( r \cos \left( \beta + \tan^{-1} \frac{s}{D} - \phi \right) - \frac{sD}{\sqrt{D^2 + s^2}} \right) \frac{D^3}{(D^2 + s^2)^{3/2}} ds d\beta \quad \text{II-62}$$

Através de relações trigonométricas, o argumento do filtro  $h(\cdot)$  pode ser rescrito como:

$$\begin{aligned} r \cos \left( \beta + \tan^{-1} \frac{s}{D} - \phi \right) - \frac{sD}{\sqrt{D^2 + s^2}} &= \\ &= r \cos(\beta - \phi) \frac{D}{\sqrt{D^2 + s^2}} - (D + r \sin(\beta - \phi)) \frac{s}{\sqrt{D^2 + s^2}} \end{aligned} \quad \text{II-63}$$

Novamente, usando diversas relações trigonométricas, a equação de reconstrução pode ser rescrita como:

$$U(r, \phi, \beta) = \frac{\overline{SO} + \overline{OP}}{D} = \frac{D + r \operatorname{sen}(\beta - \phi)}{D} \quad \text{II-64}$$

$$\frac{s'}{\overline{SO}} = \frac{\overline{EP}}{\overline{SP}} \Rightarrow s' = \frac{Dr \cos(\beta - \phi)}{D + r \operatorname{sen}(\beta - \phi)} \quad \text{II-65}$$

$$r \cos(\beta - \phi) \frac{D}{\sqrt{D^2 + s^2}} - (D + r \operatorname{sen}(\beta - \phi)) \frac{s}{\sqrt{D^2 + s^2}} = \frac{s'UD}{\sqrt{D^2 + s^2}} - \frac{sUD}{\sqrt{D^2 + s^2}} \quad \text{II-66}$$

$$f(r, \phi) = \frac{1}{2} \int_0^{s_m} \int_{-s_m}^{s_m} R_\beta(s) h\left((s' - s) \frac{UD}{\sqrt{D^2 + s^2}}\right) \frac{D^3}{(D^2 + s^2)^{3/2}} ds d\beta \quad \text{II-67}$$

onde  $h(\cdot)$  é:

$$h(t) = \int_{-\infty}^{\infty} |\omega| e^{j2\pi t \omega} d\omega \quad \text{II-68}$$

Logo,

$$h\left((s' - s) \frac{UD}{\sqrt{D^2 + s^2}}\right) = \int_{-\infty}^{\infty} |\omega| e^{j2\pi \omega (s' - s) UD / \sqrt{D^2 + s^2}} d\omega \quad \text{II-69}$$

$$\omega' = \omega \frac{UD}{\sqrt{D^2 + s^2}} \quad \text{II-70}$$

$$h\left((s' - s) \frac{UD}{\sqrt{D^2 + s^2}}\right) = \frac{D^2 + s^2}{U^2 D^2} \int_{-\infty}^{\infty} |\omega| e^{j2\pi (s' - s) \omega'} d\omega = \frac{D^2 + s^2}{U^2 D^2} h(s' - s) \quad \text{II-71}$$

$$f(r, \phi) = \frac{1}{2} \int_0^{s_m} \frac{1}{U^2} \int_{-\infty}^{\infty} R_\beta(s) h(s' - s) \frac{D}{\sqrt{D^2 + s^2}} ds d\beta \quad \text{II-72}$$

que é a equação final utilizada na reconstrução da função  $f(\cdot, \cdot)$ . O algoritmo pode ser estabelecido como se segue:

$$f(r, \phi) = \int_0^{2\pi} \frac{1}{U^2} Q_{\beta}(s') d\beta \quad \text{II-73}$$

$$Q_{\beta}(s) = R'_{\beta}(s) * \frac{1}{2} h(s) \therefore R'_{\beta}(s) = R_{\beta}(s) \frac{D}{\sqrt{D^2 + s^2}} \quad \text{II-74}$$

### c) Algoritmo de reconstrução

A implantação do algoritmo seguem os três processos descritos abaixo<sup>[69]</sup>.

1º processo: reescalonamento.

$$R'_{\beta_i}(na) = R_{\beta_i}(na) \frac{D}{\sqrt{D^2 + (na)^2}} \quad \text{II-75}$$

2º processo: filtragem.

$$Q_{\beta_i}(na) = R'_{\beta_i}(na) * \frac{1}{2} h(na) \quad \text{II-76}$$

onde

$$h(na) = \begin{cases} 1/4a^2, & n = 0 \\ 0, & n \text{ par} \\ -1/n^2 \pi^2 a^2, & n \text{ ímpar} \end{cases} \quad \text{II-77}$$

ou

$$Q_{\beta_i}(na) = R'_{\beta_i}(na) * \left( \frac{1}{2} h(na) * k(na) \right) \therefore k(na) = \text{Janela de Suavização}; \quad \text{II-78}$$

caso uma janela de suavização seja utilizada.

3º processo: retroprojeção.

$$f(x, y) = \Delta\beta \sum_{i=1}^M \frac{1}{U^2(x, y, \beta_i)} Q_{\beta_i}(s'), \quad \text{II-79}$$

onde f(x,y) equivale à reconstrução da seção transversal do objeto.

## II.5 Teoria de contraste de fase e realce por difração

A necessidade de fazer estudos em materiais e tecidos com pequenos detalhes e que possuem coeficientes de atenuação quase idênticos como fibras industriais,

utilizadas principalmente na indústria aeronáutica e automobilística, ou em materiais com coeficiente de atenuação próximos ao da água como vasos sanguíneos, nódulos linfáticos, tecidos mamários e outros que são difíceis ou absolutamente inacessíveis pelos métodos de absorção convencionais tem levado ao desenvolvimento de técnicas de análise que utilizam os efeitos de refração e difração de raios X.

Sistemas experimentais baseados em técnicas de contraste de fase e realce por difração de raios X estão apresentando excelentes resultados. Estas técnicas principalmente a última que é o objeto deste estudo serão abordadas mais detalhadamente a seguir. Dentre as técnicas de contraste de fase podemos destacar os métodos de interferometria e de livre caminho que utilizam um arranjo experimental sem um cristal analisador.

### II.5.1 Método de Interferometria

O método é baseado no uso de interferômetros de raios X monobloco Bonse-Hart<sup>[20]</sup> preparado a partir de cortes em um único cristal volumoso (fig. II-18). Um feixe de raios X incidente é separado em dois feixes que experimentam múltiplas reflexões de Laue e então são reunidos novamente. Um objeto é colocado entre um dos suportes do interferômetro<sup>[70]</sup> entre o espelho e o analisador. A interação entre o padrão da onda de referência e o padrão de onda que passou pela amostra e sofreu uma mudança de fase chega até o detector que registra o padrão de interferência. Dado que a mudança de fase de  $2\pi$  ocorre com um tamanho  $l \sim 100 \mu\text{m}$ , a interpretação de uma imagem é possível somente para objetos bastante finos.

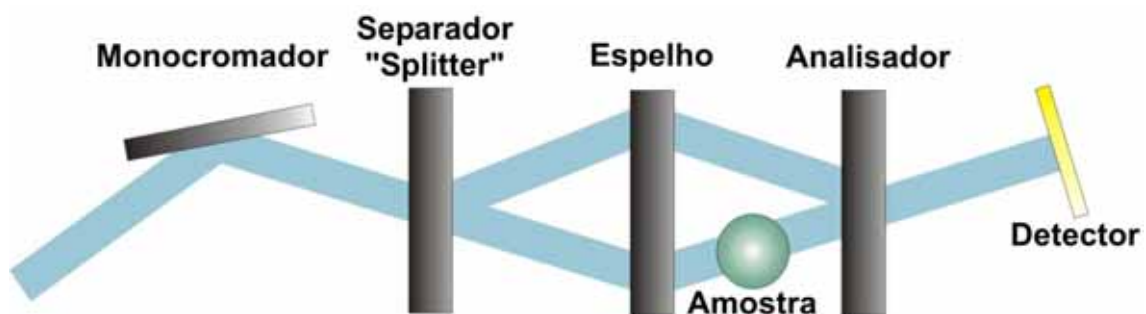


Figura II-18 – Interferômetro Bonse-Hart

## II.5.2 Obtendo imagens de contraste de fase sem analisador.

Se a coerência espacial de um feixe de raios X é alta, pode-se obter imagens de um objeto por contraste de fase utilizando um filme de alta resolução atrás do objeto.

Na fase de registro da imagem primária, este método fica próximo da holografia axial (transmissão) de Gabor na qual a radiação espalhada por um objeto interfere com o feixe incidente (referência) a uma certa distância  $L$  do objeto. A distorção da frente de onda é causada por ambos os efeitos de refração, em ambas as interfaces do objeto e do meio ambiente e, difração das ondas por um objeto de dimensões finitas. Se, por exemplo, a dimensão transversal do objeto for de  $R \sim 10 \mu\text{m}$ , então  $L \approx (0,01 \rightarrow 1)\text{cm}$  e  $LR^2 / \lambda \approx (1 \rightarrow 100)\text{cm}$ . Este método é muito conveniente para estudar objetos muito pequenos  $\approx (0,1 \rightarrow 50,0)\mu\text{m}$ .

Estes efeitos se baseiam no fato que junto aos efeitos de atenuação ocorrem os fenômenos de refração<sup>[71]</sup>, caracterizados pelo índice de refração  $n = 1 - \delta$ . Para os raios X com comprimento de onda  $\lambda \approx 1 \text{ \AA}$  e um meio consistindo de compostos carbônicos, o valor de  $\delta$  é da ordem de  $10^{-6}$ . A fase da onda passando através de um objeto muda em função de:

$$\varphi = \frac{2 \pi \delta L}{\lambda}, \quad \text{II-80}$$

determinado pela radiação ao longo do caminho  $L$  na amostra e o decremento relativo na refração  $\delta$ , fig.II-19.

Também foi mostrado por Wilkins et al<sup>[31]</sup> o uso de um tubo de raios X microfocado ( $\approx 20 \mu\text{m}$ ) que permitiu registrar os limites de absorção de alguns objetos a distâncias bastante grandes ( $\approx 1\text{m}$ ) até mesmo contra o background do bremsstrahlung de um tubo de raios X policromático, fig. II-20.

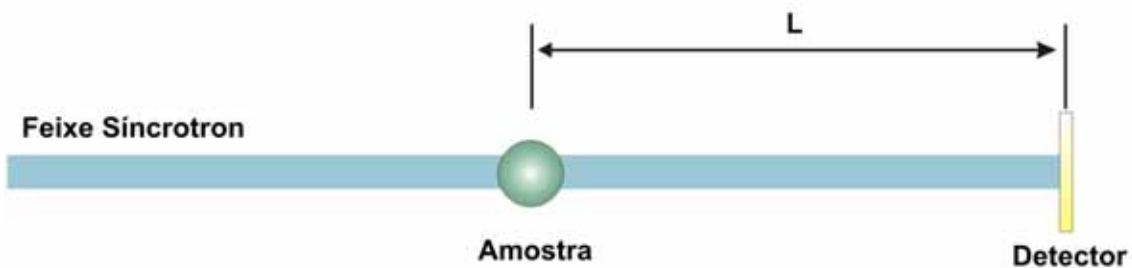


Figura II-19 – Esquema experimental de contraste de fase com feixe paralelo

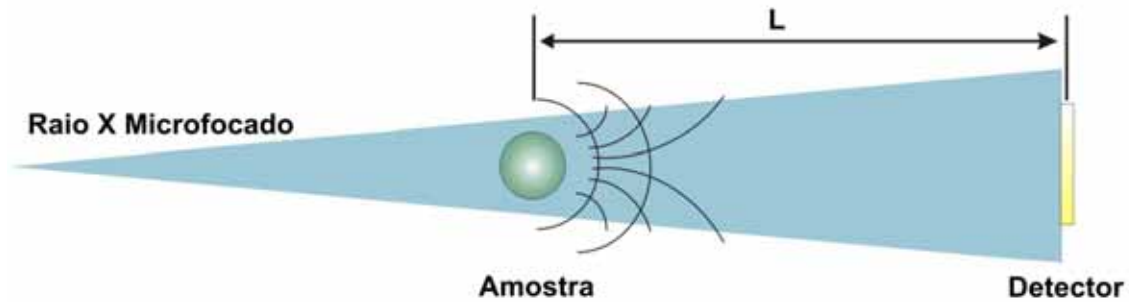


Figura II-20 - Esquema experimental de contraste de fase com feixe divergente

### II.5.3 Os métodos de imagem por realce de difração

Apesar de severas diferenças entre os métodos de obtenção de imagens usados por vários autores e diferentes nomes dados a esses métodos, todos eles são baseados no registro da não homogeneidade espacial da distribuição angular da radiação de raios X transmitidos por um objeto que usa a reflexão da difração por um cristal analisador (CA), fig. II-21. A mudança de fase da frente de onda da onda transmitida muda a direção de propagação de onda, isto é, projeta sua refração. Em virtude do fato do ângulo de refração ser muito pequeno (da ordem de  $\delta$ ) e não exceder muito a um segundo de arco ou eventualmente frações de segundo de arco, o cristal analisador transforma estas pequenas perturbações na frente de onda em taxas consideráveis de variação de intensidade refletida.

A alta sensibilidade da estrutura interna de um objeto é atingida devido ao registro das interfaces, entre o meio contendo diferentes índices de refração porque, na vizinhança das interfaces o gradiente de fase na direção transversal é bastante alto. Para formar um feixe de raios X primário quase paralelo, nós usamos uma ou várias reflexões de Bragg um cristal monocromador perfeito.

O cristal analisador pode ser colocado em ambas as geometrias de Bragg<sup>[6]</sup> e Laue<sup>[72,73]</sup>. É claro que a largura da curva de difração-reflexão do cristal analisador e a escolha do ponto de trabalho desta curva são os fatores decisivos que aumentam a sensibilidade do método, o contraste da imagem formada, sua adequação com o objeto real, e a taxa de sua aquisição. Em virtude da natureza dinâmica da difração de reflexão do cristal analisador, a resolução espacial da imagem por contraste fase é da ordem do comprimento de extinção, isto é, de uma faixa de alguns micrometros a algumas dezenas de micrometros.

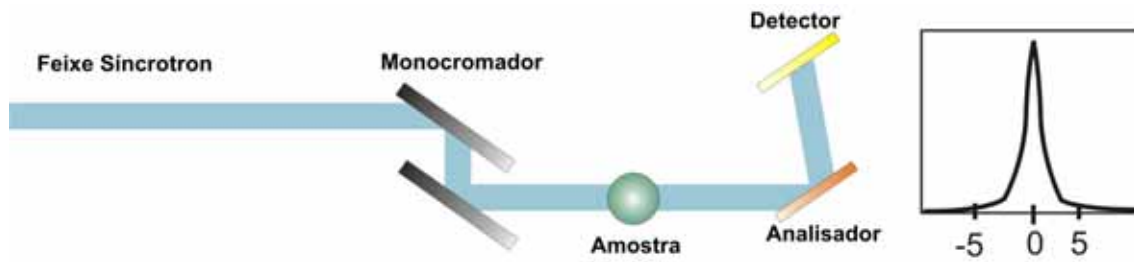


Figura II-21 – Esquema experimental de realce por difração

## II.5.4 Geometria de cristais

Os cristais podem ser definidos como sólidos compostos de átomos, íons ou moléculas organizados em padrões periódicos em três dimensões. A repetição de átomos, íons ou moléculas não é suficiente para se definir um cristal, é essencial que exista uma simetria relacionada ao arranjo cristalino. Os cristais são representados como uma rede, que é um arranjo tridimensional de pontos (redes Bravais). Na rede cristalina pode ser definida uma célula unitária que irá representar a menor parte do arranjo que se repete periodicamente. Esta célula representada na fig. II-22 pode ser orientada segundo os índices de Miller.

Da equação II-25 adotando-se  $d'/n$  sendo igual ao  $d$ , a equação de Bragg fica igual a:

$$\lambda = 2d \sin \theta \quad \text{II-81}$$

A partir desta equação II-81, pode-se calcular ângulo  $\theta$ , sabendo-se o arranjo cristalino (índices de Miller), pelas equações do espaçamento interplanar.



Figura II-22 – Célula unitária de uma rede cristalina

Os cristais são orientados conforme o plano cristalino. Observa-se na fig. II-23 uma representação dos planos cristalinos e como os cristais podem ser orientados segundo os índices de Miller.

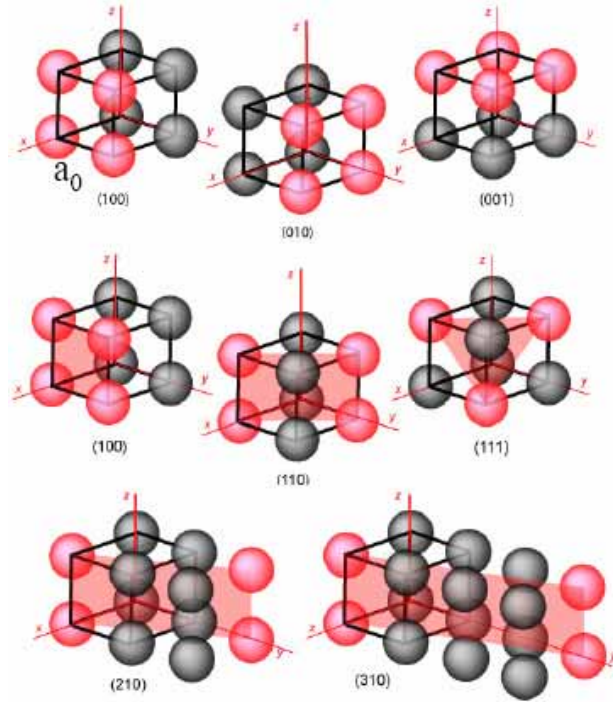


Figura II-23 – Orientação dos planos cristalinos

Os valores dos espaços interplanares “d” mais utilizados podem ser obtidos a partir das equações II-82 a II-88 com o conhecimento dos índices de Miller ( $h k l$ ).

$$\text{Cúbico: } \frac{1}{d^2} = \frac{h^2 + k^2 + l^2}{a^2} \quad \text{II-82}$$

$$\text{Tetragonal: } \frac{1}{d^2} = \frac{h^2 + k^2}{a^2} + \frac{l^2}{c^2} \quad \text{II-83}$$

$$\text{Hexagonal: } \frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \left( \frac{h^2 + hk^2 + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2} \quad \text{II-84}$$

$$\text{Romboédrico: } \frac{1}{d^2} = \frac{h^2 + k^2 + l^2 \sin^2 \alpha + 2(hk + kl + hl) \cos^2 \alpha - \cos \alpha}{a^2(1 - 3 \cos^2 \alpha + 2 \cos^3 \alpha)} \quad \text{II-85}$$

$$\text{Ortorrômbico: } \frac{1}{d^2} = \frac{h^2}{a^2} + \frac{k^2}{b^2} + \frac{l^2}{c^2} \quad \text{II-86}$$

$$\text{Monoclínico: } \frac{1}{d^2} = \frac{h^2}{a^2} + \frac{k^2 \sin^2 \beta}{b^2} + \frac{l^2}{c^2} - \frac{2hl \cos \beta}{ac} \quad \text{II-87}$$

$$\text{Triclínico: } \frac{1}{d^2} = \frac{1}{V^2} (S_{11}h^2 + S_{22}k^2 + S_{33}l^2 + S_{12}hk + S_{23}kl + S_{13}hl) \quad \text{II-88}$$

Os arranjos experimentais para contraste de fase e realce por difração exceto o de livre caminho com fonte divergente necessitam de feixes com baixa divergência angular. A baixa divergência é obtida com arranjos experimentais que utilizam cristais



monocromadores e analisadores em ópticas de raios X apropriadas para cada experimento. Os cristais podem ser utilizados em arranjos de múltiplos eixos. Observando a fig. II-24, “S” é a direção do feixe de raios X, “N” a direção normal ao cristal e A o eixo de rotação. O diagrama (A) mostra um arranjo de duplo eixo no modo não dispersivo ou (+,-). Este tipo de arranjo permite a seleção de uma banda passante de energia em função do tipo de cristal e do plano de difração utilizado. Este tipo de arranjo também faz com que a divergência espacial do feixe caia para valores da ordem de  $10^{-6}$  radianos para cristais perfeitos de Si.

Na difratometria de duplo eixo em modo dispersivo ou (+,+) fig. II-24(B) o que significa sem resolução em energia. A fig. II-24(C) mostra uma geometria de triplo eixo onde o cristal analisador é usado para separar contribuições de tensões e desorientações dos picos de difração. O último diagrama fig. II-24(D) mostra um arranjo em geometria de transmissão (Analisador em geometria de Laue).

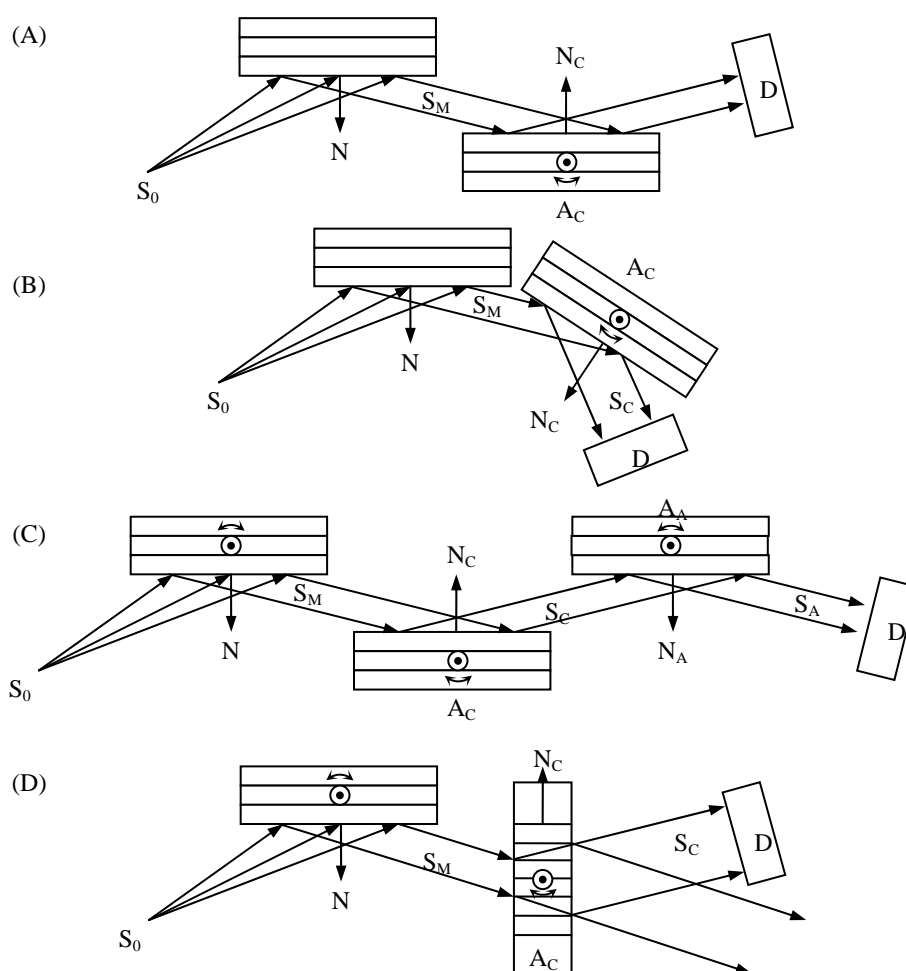


Figura II-24 – Geometria de cristais

### II.5.5 Rocking curve

A “Rocking curve” é a curva de refletividade de um material cristalino que é obtida da seguinte forma: Coloca-se um detector para medir a contagem de fótons emergentes de um cristal a um ângulo de Bragg conhecido  $2\theta$ . Fazendo-se uma varredura (Rocking) deste cristal em torno do ângulo  $\theta$  (condição de Bragg), obtém-se a curva de refletividade do cristal, a esta curva dá-se o nome de “Rocking curve” (RC), ver diagrama na figura II-25.

A largura a meia altura (FWHM) desta curva representa uma medida direta da faixa de orientação presente na área irradiada do cristal. Utilizando-se este procedimento no arranjo experimental para analisar o feixe proveniente de um monocromador, pode-se medir diretamente a divergência do feixe em questão.

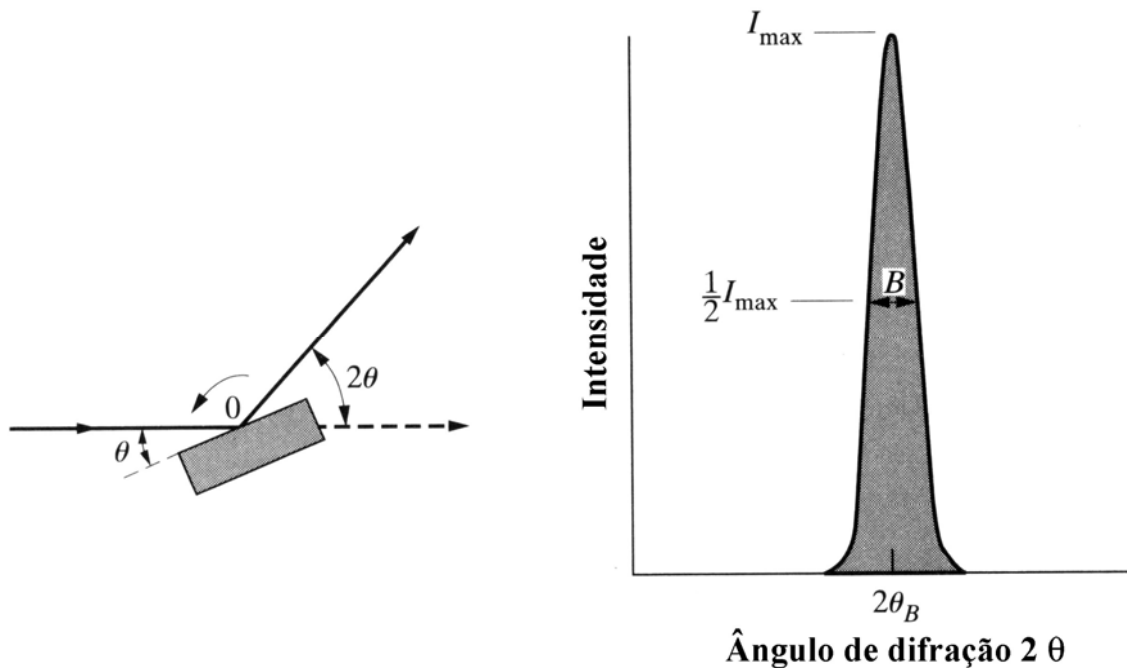


Figura II-25 – Curva de refletividade (Rocking curve)

Quando o cristal analisador é ajustado em relação à curva de refletividade do monocromador somente os raios X que estiverem dentro da aceitação angular do cristal analisador serão refletidos sobre o detector de imagens. Observar o gráfico da figura II-26 tomada no topo da curva de refletividade para uma radiação síncrotron de 17 keV em um sistema PHASY com uma FWHM característica de aproximadamente 10  $\mu\text{rad}$  ou 2 arcseg (adaptada de Menk, 2007<sup>[74]</sup>). Deste modo algumas imagens, livre de

espalhamento, são obtidas mostrando uma qualidade superior em comparação as imagens obtidas com sistemas de tecnologias padrões.

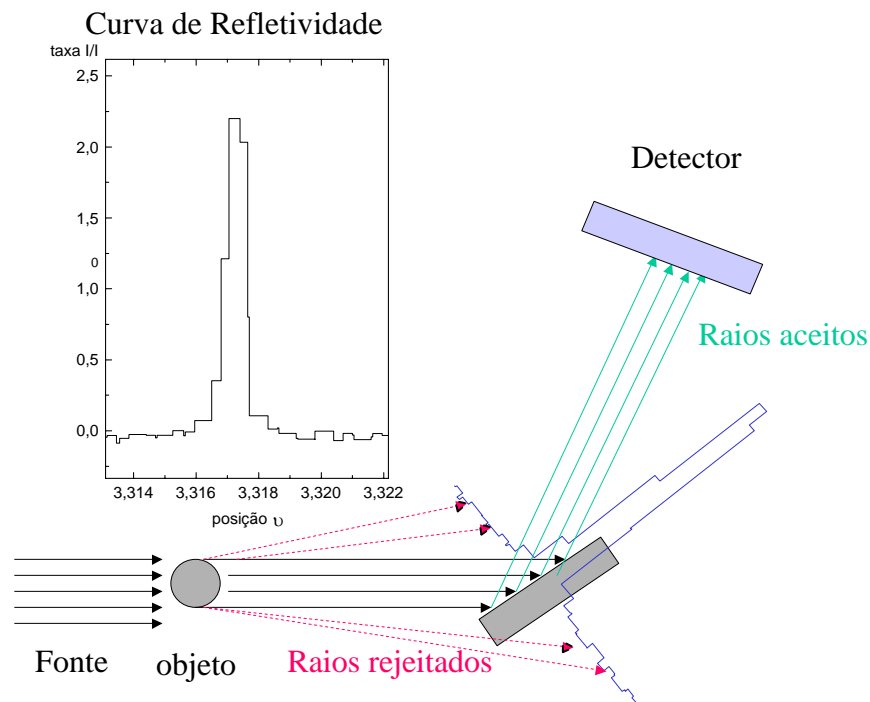


Figura II-26 – Curva de refletividade de um analisador de cristal perfeito Si 111

Nas técnicas de realce por difração pode-se utilizar esta curva de refletividade para selecionar, através do posicionamento do cristal analisador, qual é o ângulo de espalhamento que o sistema de detecção irá capturar. Assim podem ser obtidas imagens em função da posição na curva de refletividade ou “Rocking curve”. Como mostrado anteriormente se o sistema é posicionado no ponto de máxima intensidade, a imagem obtida será de pura absorção ou também chamada de imagem por extinção, isto é, os fótons espalhados não chegarão ao detector, se por outro lado colocarmos o cristal analisador em uma posição de flanco na RC, a imagem obtida será composta dos feixes espalhados naquele ângulo selecionado. Isto pode ser útil para se obter realces em objetos que apesar de terem normalmente baixa atenuação para os feixes transmitidos, podem ter alto espalhamento em algumas posições como, por exemplo, interfaces ou bordas.

## II.5.6 Radiografia por Realce de Difração

Um novo tipo de radiografia baseada nas propriedades de atenuação, no gradiente de refração e no espalhamento a ultra baixo ângulo (extinção)<sup>[64]</sup> pode ser

utilizada para investigar amostras com baixo contraste de atenuação entre tecidos adjacentes ou interfaces como é o caso de tecidos moles em geral.

O procedimento matemático para se obter imagens por contraste de refração e imagens por contraste de aparente absorção é a verdadeira origem do nome da técnica, contudo na literatura os arranjos experimentais que utilizam cristais analisadores pra se obter imagens são comumente chamados de Imagens realçadas por difração (ou “Diffraction Enhanced Imaging - DEI”). Este procedimento matemático é feito a partir da aquisição de imagens em flancos opostos da curva de refletividade<sup>[6]</sup>.

A técnica de DEI utiliza um cristal analisador para selecionar o feixe de raios X refratado após interagir com a amostra. Para diferentes posições angulares do cristal analisador, os fótons desviados podem ser detectados separadamente daqueles que foram simplesmente transmitidos pela amostra.

Os cristais analisadores colocados após a transmissão do feixe através da amostra em geometria de Bragg podem ser usados para duas finalidades: magnificação da imagem ou detecção de pequenos desvios angulares. Quando um cristal analisador é utilizado para revelar pequenos desvios angulares, no caso que pequenas divergências do feixe de raios X incidente terem de ser detectadas através de mudanças abruptas de fase é necessário adotar uma geometria de feixe rasante, ou até mesmo uma geometria assimétrica com feixe incidente a alto ângulo em relação ao feixe difratado. Esta é a base da técnica de imagem por realce de difração<sup>[4, 5, 6, 75, 76]</sup>.

A faixa de aceitação angular do analisador é determinada pela largura da curva de refletividade (RC), i.e. a curva de intensidade que é obtida fazendo-se uma varredura do cristal analisador ao redor do ângulo de Bragg sem a presença da amostra. A largura a meia altura (FWHM) é da ordem de 1 a 100  $\mu\text{rad}$  (0,2 a 20 arcseg), e assim comparável com os baixíssimos desvios produzidos na amostra<sup>[33]</sup>.

As técnicas de DEI resultam em três imagens do objeto que descrevem separadamente os efeitos de refração, atenuação e espalhamento a ultra baixo ângulo (extinção)<sup>[77, 78]</sup>.

A imagem de refração pode ser obtida aplicando a equação II-89 pixel a pixel assumindo-se que não há nenhum efeito significativo de espalhamento a baixo ângulo. A intensidade dos raios X transmitidos pela amostra e então difratados pelo analisador é medida com o analisador ajustado em lados opostos da curva de refletividade para se obter imagens de baixo ( $\theta_L$ ) e alto ( $\theta_H$ ) ângulo<sup>[79]</sup>. Aplicando equação II-89 e II-90

ponto a ponto (pixel a pixel) nas imagens de baixo e alto ângulo [6, 42, 80], é possível obter as imagens de refração ( $\Delta\theta_z$ ) e imagens de aparente absorção ( $I_R$ ).

Outra imagem pode ser obtida para se observar os efeitos de espalhamento a baixo ângulo ou extinção fixando o analisador ao topo da curva de refletividade (posição de topo). Embora esta imagem de Topo ainda possuir algum efeito relacionado ao índice refração e atenuação, ela tem uma vantagem importante em relação à imagem de aparente absorção, pois não sofre o acréscimo de ruído ocasionado devido aos procedimentos de soma e subtração das imagens.

$$\Delta\theta_z = \frac{I_H R(\theta_L) - I_L R(\theta_H)}{I_L \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_H) - I_H \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_L)} \quad \text{II-89}$$

$$I_R = \frac{I_L \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_H) - I_H \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_L)}{R(\theta_L) \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_H) - R(\theta_H) \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_L)} \quad \text{II-90}$$

Onde  $I_L$  e  $I_H$  representa a intensidade dos pontos da imagem de baixo (Low) e alto (High) ângulo em pontos simétricos da curva de refletividade.  $R(\theta_L)$  e  $R(\theta_H)$  são as intensidades na posição de baixo e alto ângulo e  $dR/d\theta$  é a derivada no perfil de difração nas posições de baixo ( $\theta_L$ ) e alto ( $\theta_H$ ) ângulo.

As imagens de topo, refração e aparente absorção permitem uma melhor visualização das interfaces de baixa atenuação de amostras de tecidos de mama podendo melhorar os estudos biomédicos em diagnósticos de câncer de mama.

Dando continuidade as pesquisas biomédicas em tecidos humanos, mais estudos podem ser feitos de forma a concluir que esta técnica pode vir a melhorar os métodos de diagnósticos.

### II.5.7 Tomografia por Realce de Difração

O processo tomográfico utilizado neste trabalho para a reconstrução de imagens de DEI foi baseado na retroprojeção filtrada conforme descrito anteriormente.

O algoritmo de reconstrução foi escrito no software MatLab® com as ferramentas (“toolbox”) de processamento de imagens.

Os principais passos contemplados no programa de reconstrução foram:

1. Leitura dos arquivos de imagens em ambos os lados da curva de refletividade. Aqui observando que as aquisições foram feitas em 360 graus;
2. Escolha de uma faixa de reconstrução (ROI);
3. Escolha de um filtro de reconstrução e frequência de corte;
4. Organização dos dados de forma a criar uma matriz tridimensional que pudesse ser transformada facilmente em uma matriz de sinogramas pela manipulação do cubo de dados;
5. Correção da variação da intensidade do feixe;
6. Alinhamento matemático do centro de rotação da imagem para corrigir erros de alinhamento e evitar artefatos de reconstrução (efeito de arrasto);
7. Processamento matemático para se obter os dados de realce por refração ou por realce de aparente absorção;
8. Processamento matemático para corrigir os dados devido à divergência do feixe e a aquisição em 360 graus;
9. Reconstrução dos planos e salvamento das imagens.

Os arquivos em formato ASCII “txt” são gerados a partir do software de aquisição de imagens do detector (WinSpec32). Cada arquivo que corresponde à aquisição de uma projeção são lidos e organizados em uma matriz cúbica (linha  $\times$  coluna  $\times$  projeção). A matriz é manipulada para obterem-se os sinogramas, que são matrizes bidimensionais (coluna  $\times$  projeção) em uma dada altura da amostra (linha). A seguir é selecionada no sinograma uma faixa fora da amostra, onde o vetor da média dessa faixa é utilizado para a correção da variação de intensidade do feixe ao longo do processo de aquisição. Este método é particularmente eficiente em detrimento ao uso dos dados da câmara de ionização ou do cintilador, pois leva em consideração a atenuação ao longo do feixe, a difração nos cristais e principalmente a eficiência do detector, já que os dados para a correção são colhidos na própria imagem.

Outra fonte de artefatos importante, que deve ser corrigida, é o desalinhamento do eixo de rotação da amostra em relação ao pixel central do detector. No processo de reconstrução esse tipo de desalinhamento gera artefatos em forma de arrasto.

As reconstruções de contraste por refração e contraste por aparente absorção são feitas separadamente após o processamento adequado dos dados com a equação apropriada. Antes de iniciar a reconstrução propriamente dita, as projeções cônicas adquiridas em 360 graus são corrigidas em função da divergência do feixe, sendo transformadas em projeções paralelas. As projeções são então reconstruídas pelo algoritmo de retroprojeção filtrada, onde o filtro de reconstrução pode ser escolhido previamente. A tomada de dados é feita em 360 graus devido ao ângulo preferencial que o feixe de raios X é desviado.

Cada reconstrução é então reescalada para ser salva em formato “bmp” ou “jpg” em tons de cinza.

---

---

## CAPÍTULO III

### III Materiais e Métodos

Neste capítulo serão descritas as características técnicas dos equipamentos e dos experimentos que fizeram parte do desenvolvimento de um sistema radiográfico e tomográfico com técnicas de contraste de fase e realce por difração de raios X.

#### *III.1 Características Técnicas dos Equipamentos e Fontes*

##### III.1.1 Fonte de Raios X Microfocada

A fonte de raios X utilizada no Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN) é da marca Fein Focus modelo FXS-100.10 com capacidade máxima de operação contínua de 30 Watts de potência e com até 100 kV de tensão e 1 mA de corrente. Ela é capaz de fornecer um feixe divergente de alta coerência geométrica com tamanho focal mínimo de 10  $\mu\text{m}$ .

A tensão de operação utilizada no experimento foi de 20 a 40 kV de tensão e de 50 a 400  $\mu\text{A}$  de corrente de forma a conseguir a melhor relação de energia e corrente para se obter o menor tamanho focal possível.

##### III.1.2 Fonte síncrotron

Os experimentos utilizaram a fonte de luz síncrotron do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), localizado na cidade de Campinas – SP.

O LNLS possui atualmente 16 linhas de pesquisa em funcionamento sendo doze operando com raios X e quatro operando com luz ultra violeta e raios X moles. No último ano foi colocado em operação um dispositivo chamado Wiggler que permite a realização de pesquisas em uma faixa de energia maior e será utilizado inicialmente para cristalografia de proteínas. Foi iniciada a construção das linhas de luz do ondulator que é o próximo dispositivo de inserção a ser instalado no anel, na última seção reta disponível.

A disposição das linhas de luz pode ser vista na figura III-01 onde também está destacado o síncrotron injetor chamado “Booster” que permitiu aumentar em duas vezes



a corrente do sistema. Os parâmetros principais da fonte síncrotron (anel) e do síncrotron injetor (Booster) podem ser vistos respectivamente nas tabelas III-1 e III-2.

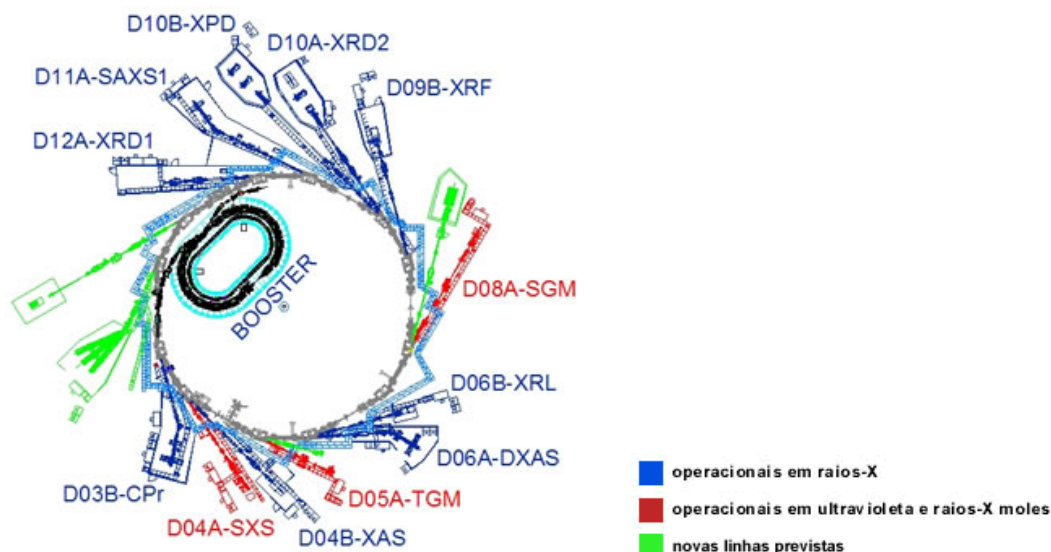


Figura III-01 – Diagrama das linhas de luz do LNL

Tabela III-1 – Características principais do anel de armazenamento

PARÂMETRO	VALOR
Energia Nominal de Operação	1.37 GeV
Energia de injeção	500 MeV
Corrente do Feixe de elétrons (máximo)	250 mA
Circunferência	93.2 m
Diâmetro médio	29.7 m
Frequência de revolução	3.2 MHz
Frequência de RF	476 MHz
Emitância natural	100 nm.rad
Frequência síncrotron (para tensão de 400 kV)	24 KHz
Cromaticidade natural horizontal	-7.8
Cromaticidade natural vertical	-9.5
Dispersão natural de energia	0.07%
Raio de curvatura dos dipolos	2.735 m
Campo magnético defletor	1.67 T
Número de dipolos	12
Número de trechos retos para dispositivos de inserção	4
Comprimento livre para dispositivos de inserção	2.95 m
Perda de energia por volta nos dipolos	114 keV
Potência total irradiada nos dipolos (para I=100 mA)	11.4 kW
Energia crítica dos fótons emitidos nos dipolos	2.08 keV
Tempo de vida do feixe	15 h

Tabela III-2 – Características principais do síncrotron injetor

PARÂMETRO	VALOR
Energia de operação (máxima)	500 MeV
Energia de injeção	120 MeV
Perímetro	34,0 m
Eixo maior	12,3 m
Eixo menor	7,9 m
Frequência de revolução	8,82 MHz
Período de revolução	113,43 ns
Número harmônico	54
Frequência de RF	476,066 MHz
Cromaticidade natural horizontal	-2,1
Cromaticidade natural vertical	-2,5
Número de dipolos	12
Raio de curvatura	1,026 m
Campo magnético	1,63 T
Número de quadrupolos	18
Número de sextupolos	8
Número de corretoras horizontais	10
Número de corretoras verticais	6
Números de monitores de posição	12
Emitância natural (@ 500 MeV)	284 nm.rad

### III.1.3 Estação experimental

Em cada dipolo magnético são montadas saídas para o feixe de raios X, onde são colocados os equipamentos de controle, ótica e detectores. A estas estações experimentais é dado o nome de linha de luz.

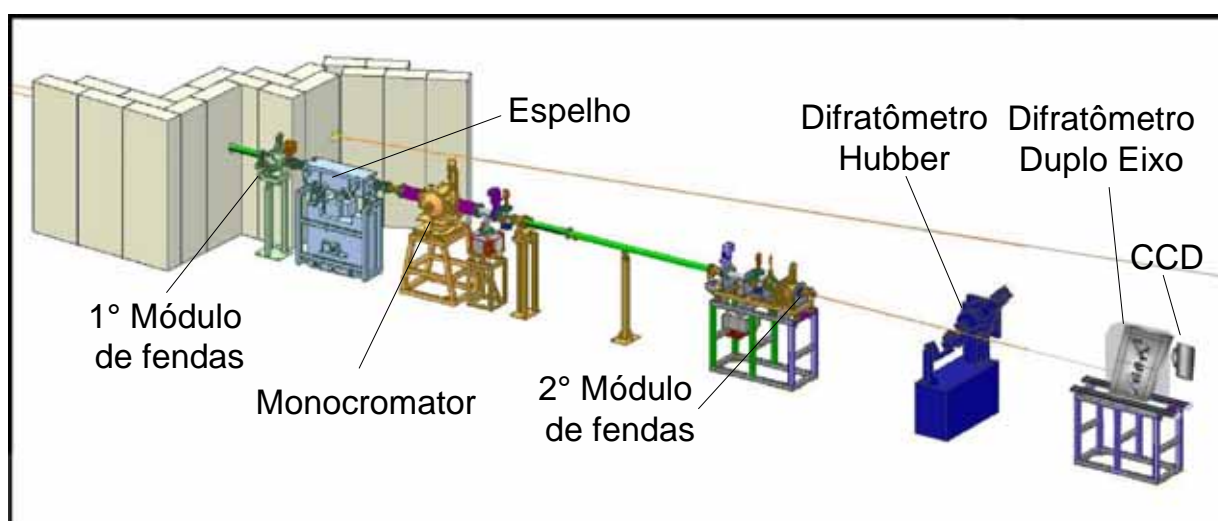


Figura III-02 – Diagrama da Linha de Luz D10A-XRD2

Cada linha de luz é equipada para um tipo de técnica. A linha utilizada nos experimentos foi a D10A-XRD2, que é uma linha voltada para difração de raios X e está localizada no 10° dipolo magnético<sup>[81]</sup>. Uma visão geral da linha pode ser vista na figura III-02, adaptada de Giles, et al<sup>[82]</sup>, e na figura III-03 que mostra o fluxo da linha XRD2 comparado com outras fontes. As características específicas de cada experimento serão abordadas mais adiante.

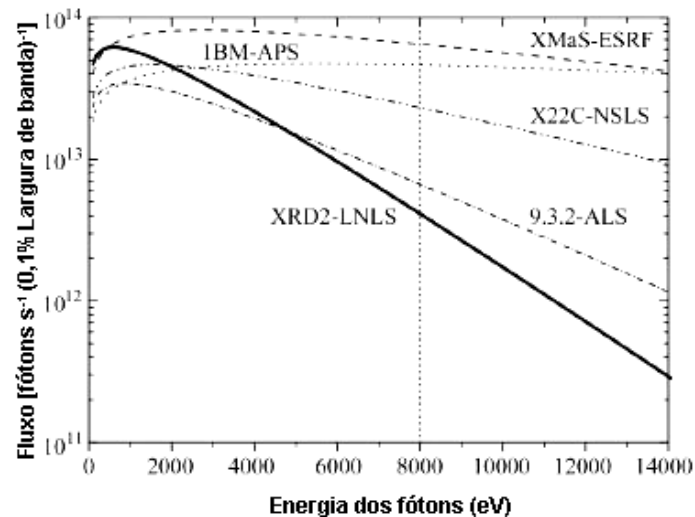


Figura III-03 – Fluxo de fótons da linha D10A-XRD2

### III.1.4 Monocromador

O monocromador é um arranjo óptico que utiliza cristais para monocromatizar um feixe branco (policromático). O feixe proveniente de uma fonte incide em um primeiro cristal que reflete este feixe segundo as leis de Bragg. Quando o segundo cristal é colocado em uma geometria não dispersiva em relação ao primeiro, uma única faixa de energia emerge do segundo cristal, chamado de analisador. A largura desta faixa de energia esta relacionada à resolução em energia do monocromador ou cromaticidade ( $\Delta\lambda/\lambda$ ).

Na figura III-04 é mostrado um monocromador onde o sistema de refrigeração do primeiro cristal está destacado. Este sistema é necessário para manter a estabilidade do conjunto óptico já que o primeiro cristal sofre aquecimento devido à incidência direta do feixe branco proveniente do anel síncrotron. Acima do primeiro cristal, pode ser visto o cristal sagital que é um analisador. Este cristal é construído com uma série de cortes para permitir que ele seja curvado para ajustar a geometria do feixe. Estes cortes

fazem com que o cristal seja curvado em uma única direção transversal à direção dos cortes.

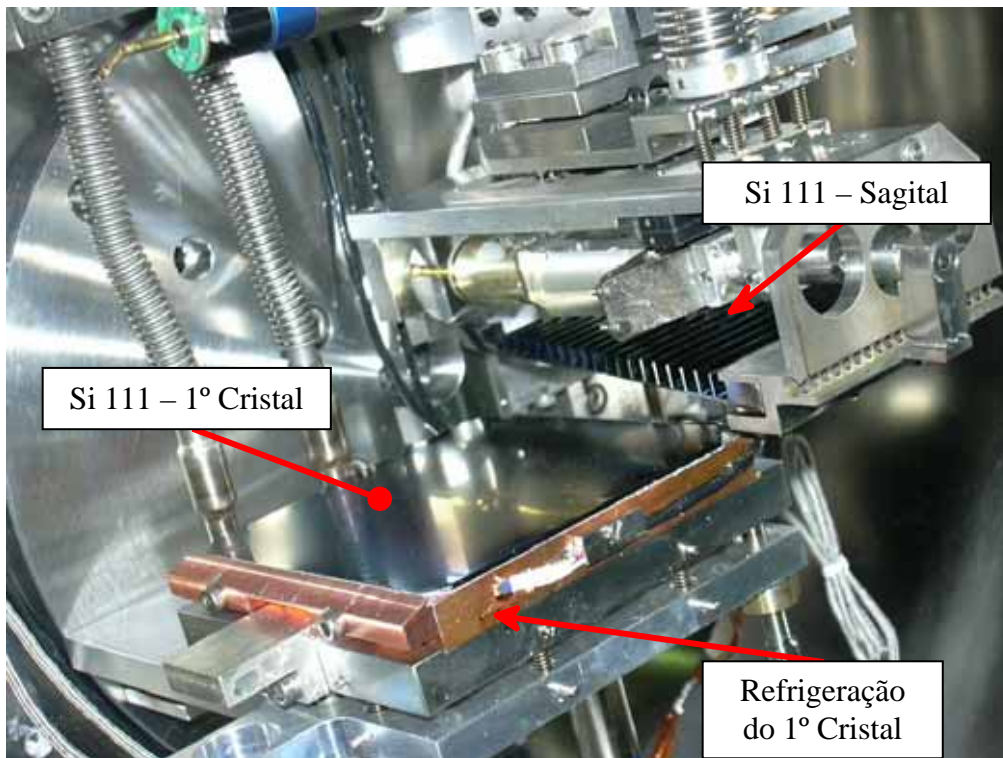


Figura III-04 – Imagem interna de um conjunto monocromador e seus cristais

### III.1.5 Características dos detectores

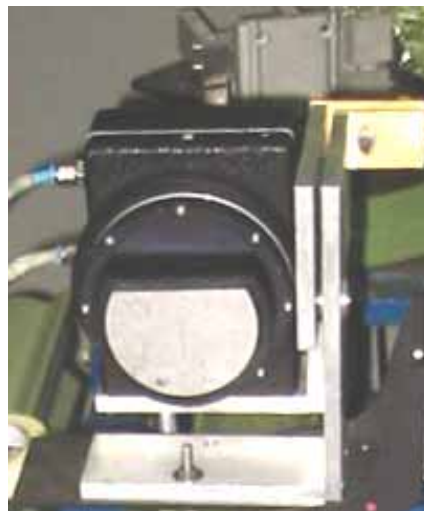


Figura III-05 – Detector CCD modelo LCX-TE.

Um Charge Coupled Device (CCD) da Princeton Instruments, modelo LCX-TE/CCD - 1242- EHR/1, ver figura III-05, com  $1152 \times 1242$  células de  $22,5 \times 22,5 \mu\text{m}^2$

e  $25,9 \times 27,5 \text{ mm}^2$  de área sensível (esta área pode ser menor dependendo da máscara de proteção) foi utilizado em todos os experimentos exceto no executado no LIN, onde foram utilizados um filme convencional de alta resolução para raios X da Kodak, modelo MX125, e duas placas de fósforo, uma do tipo SR da Perkin Elmer de alta resolução e outra do modelo IPC2 da GE.

### *a) Características principais*

O detector tem sua capacidade máxima de aquisição, sem um anteparo de proteção, de aproximadamente 225 fótons/pixel a 8 keV. Possui um ruído de leitura pico a pico menor que um fóton a cada 3 keV de raios X. O dispositivo é construído com silício especial que permite uma alta eficiência para raios X.

Uma vantagem especial deste tipo de detector é por ser de conversão direta o que possibilita uma resolução espacial bem maior em relação aos que utilizam conversores de fósforo.

As características principais de detector CCD são apresentadas na tabela III-3.

Tabela III-3 – Características do detector.

CARACTERÍSTICAS	VALOR
Tamanho de pixel ( $\mu\text{m}$ )	22,5 x 22,5
Número de pixels	1152 x 1242
Área fotossensível (mm)	25,9 x 27,5
Temperatura de refrigeração ( $^{\circ}\text{C}$ )	-60 / -45
Capacidade Max. de Detecção a 8 keV	225 fótons/pixel
Saturação	$2^{16}$ bits (65536)

### *b) Eficiência*

A eficiência do detector está relacionada com o número de fótons que é capaz de detectar em relação ao número de fótons que incide no detector.

Observa-se na figura III-06 que a faixa de maior eficiência se encontra entre 4 e 10 keV. Esta faixa de energia dificulta um pouco o uso deste detector para amostras com um maior coeficiente de atenuação, como foi o caso de amostras de tecidos mais

espessas. A curva de eficiência para detecção direta inclui a absorção na janela de berílio.

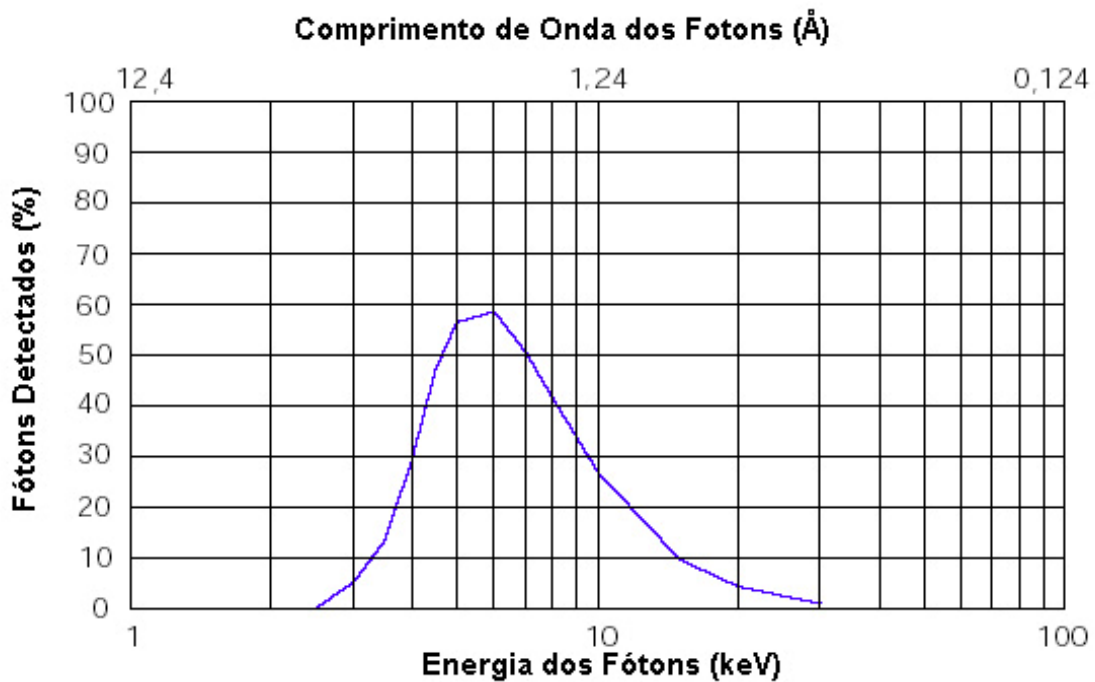


Figura III-06 – Gráfico da Eficiência do Detector CCD.

### *c) Refrigeração*

Este modelo de câmera CCD utiliza uma refrigeração termoelétrica (efeito Peltier), e pode usar água ou ar forçado para dissipar o calor da junção Peltier (lado quente). A refrigeração reduz o ruído térmico induzido pelo aquecimento dos equipamentos elétricos e da própria temperatura ambiente.

Para a refrigeração do Peltier foi utilizado um compressor com fluido refrigerante que atinge uma temperatura de operação de  $-50^{\circ}\text{C}$ . Isto reduz consideravelmente o ruído térmico permitindo longas exposições e a utilização de várias acumulações.

### *d) Características do filme radiográfico convencional*

O filme convencional modelo MX 125 empregado nos primeiros experimentos com corpo de prova de tubo padrão, possui um tamanho de grão muito fino o que permite obter radiografias de alta resolução. Suas características principais são apresentadas na tabela III-4.

Tabela III-4 – Especificações técnicas do filme MX125.

Tipo	Especificação
Velocidade	Média
Contraste	Muito alto
Tamanho de grão	Muito fino
Emulsão	25 $\mu\text{m}$ (12,5 $\mu\text{m}$ de cada lado)
Aplicação	Radiografias críticas, especialmente com alta voltagem de raios X
Particularidade	Pode ser utilizado com raio X direto ou intensificador de chumbo

#### *e) Características das placas de fósforo*

Os “image plates” utilizados foram o Super Resolution da Perkin Elmer empregado nos ensaios com contraste de fase de fibras e anfíbios e o de modelo IPC2 da GE empregado nos ensaios finais de análise do sistema. Estes detectores são basicamente feitos de uma camada de fósforo e um material protetor flexível. O fósforo absorve os fótons de raios X retendo a energia até que um sistema de leitura faça a varredura com luz vermelha ou próxima ao infravermelho, fazendo com que o filme libere sua energia armazenada sob forma de luz visível. Esse fenômeno é conhecido como fotoluminescência estimulada, cuja intensidade, assim como nas telas intensificadoras convencionais, é diretamente proporcional ao número de fótons de raios X absorvidos pelo fósforo de armazenamento. A luz emitida é capturada por um sistema de leitura que converte a informação em imagem digital. O fósforo dos filmes são compostos basicamente de  $\text{BaFBr:Eu}^{2+}$ (SR) e ou de:  $\text{BaSrFBrI:Eu}^{2+}$ (IPC2) dependendo do fabricante, em proporções aproximadas de Ba(39%), F(28%), Br(27%) e I, Sr e Eu(4%). Esses elementos têm a finalidade de reter os fótons para que não sejam emitidos instantaneamente. A versatilidade do filme digital está na eliminação dos processos de revelação e escaniamento dos filmes convencionais, na linearidade da intensidade em relação à dose e na excelente eficiência a baixa energia, como mostrado na figura III-07.

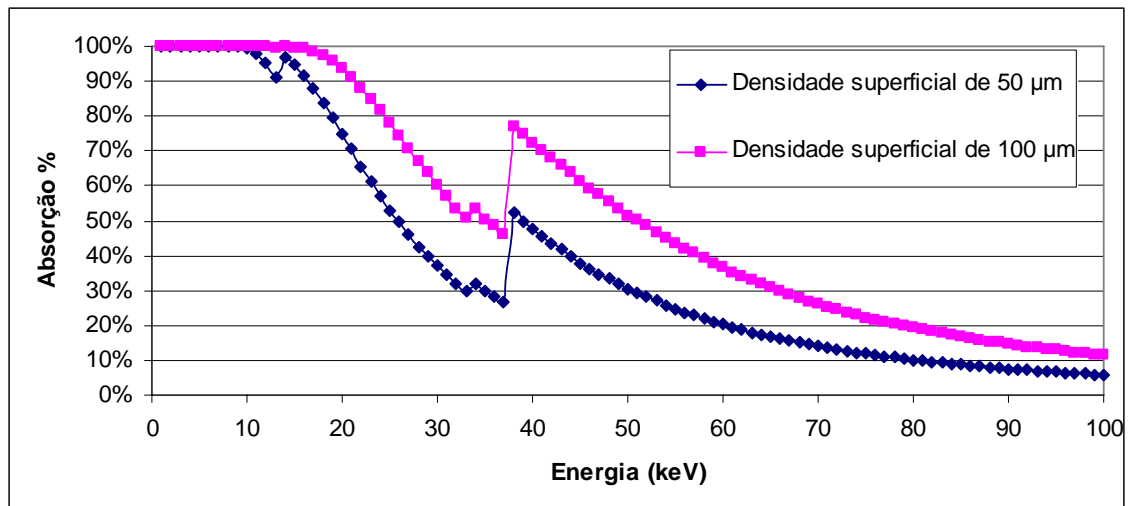


Figura III-07 – Gráfico simulado da absorção de fótons por filme digital

### III.1.6 Sistema de controle e movimentação da amostra

As amostras foram posicionadas em um goniômetro com passo mínimo angular de um centésimo de grau. O goniômetro foi instalado em um sistema de translação mostrado na figura III-08 e movimentado por um controlador marca "Klinger" com passo mínimo de translação de 1 micron (fig. III-09). As amostras podiam ser colocadas em vários porta-amostra que eram encaixados no centro do disco do goniômetro (fig. III-08).

A partir do terceiro projeto o sistema foi totalmente automatizado. Foram utilizados um micro computador dedicado a aquisição de dados e outro para a sincronização do detector e sistemas de controle (transladores, goniômetro e obturador).

O detector foi sincronizado com os sistemas de translação, de aquisição de dados e um obturador (shutter). Como o obturador da linha, por questões de segurança não pode ser utilizado em modo automático, foi instalado um módulo de filtros eletropneumático como o mostrado na figura III-10 onde foi inserindo um filtro de chumbo para barrar o feixe e evitar artefatos de sobre-exposição entre a aquisição e a transferência dos dados para o micro computador. O módulo também foi utilizado com mais três filtros de alumínio que podiam ser combinados para controlar a intensidade do feixe no detector.



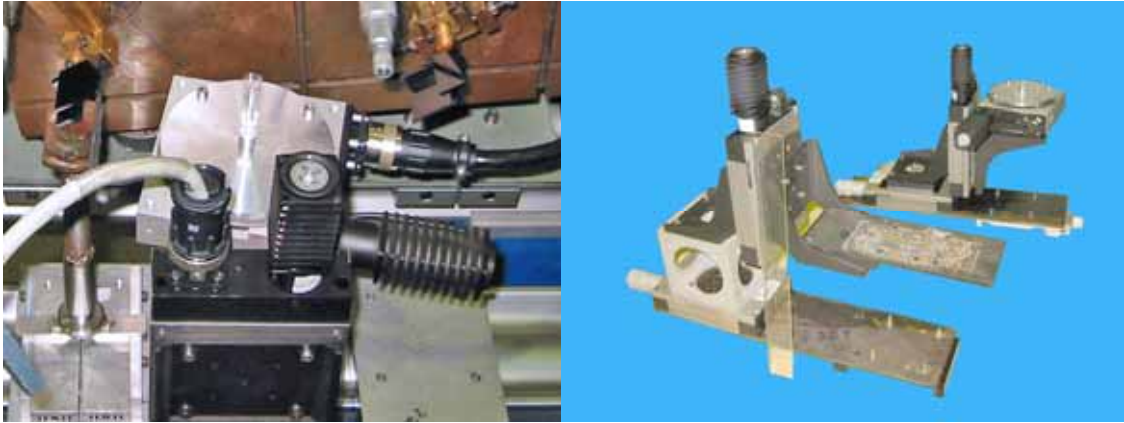


Figura III-08 – Goniômetro, porta amostras e transladores



Figura III-09 – Sistemas de aquisição e controle



Figura III-10 – Módulo de filtros eletro-pneumático

## ***III.2 Sistemas Experimentais***

Foram realizados cinco experimentos no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron em Campinas, na linha de difração de raios X (D10A-XRD2) e um experimento no Laboratório de Instrumentação Nuclear na COPPE / UFRJ.

Estes experimentos contaram com a colaboração de vários pesquisadores da área de Biologia (Instituto de Biologia – UFRJ e Instituto de Biologia da UNICAMP), Patologia (Hospital Universitário – HUCFF e Instituto Nacional do Câncer – INCA) e Botânica (Instituto de Biologia - UFRJ).

A seguir serão descritos cada experimento e suas características específicas.

### **III.2.1 Sistema de contraste de fase utilizando uma fonte microfocada**

Este sistema foi construído no Laboratório de Instrumentação Nuclear com o intuito de desenvolver estudos preliminares da técnica de caminho livre que seria empregada no projeto LNLS - D10A - XRD2#1672/02 utilizando uma fonte síncrotron com cristais assimétricos para simular um feixe plano. Posteriormente este sistema sofreria modificações para que pudessem ser desenvolvidos projetos de radiografia e tomografia utilizando uma fonte microfocada de alta coerência espacial para estudos de amostras biológicas e de materiais de baixa atenuação.

#### ***a) Características do arranjo experimental***

O arranjo experimental foi feito retirando-se o sistema óptico e de detecção de um equipamento de raios X microfocado marca FeinFocus, onde foi instalado um tubo de vácuo que pode variar de 0,5 a 5 metros de comprimento. Foram utilizados, como detector, filmes convencionais e “image plates” de alta resolução. O arranjo experimental pode ser visto na figura III-11, utilizado estaticamente para aquisição de radiografias e futuramente com mesas goniométricas de posicionamento das amostras para aquisições tomográficas.

A fonte possui 30 W de potência máxima contínua<sup>7</sup>, tensão de 9 a 100 kV e correntes de 0 a 1,0 mA. Seu tamanho focal pode variar de 10 a 200  $\mu\text{m}$ .

---

<sup>7</sup> Manual do equipamento XS-10010\_104E1

O tubo de vácuo é composto de cinco seções de tubos de PCV conectados por flanges que podem ser combinados para se obter valores de 0,5 a 5 metros de comprimento. O vácuo é feito com uma bomba mecânica e pode atingir até  $10^{-3}$  mbar.

As duas extremidades do tubo são fechadas com uma janela de Kapton de 0,5 mm.

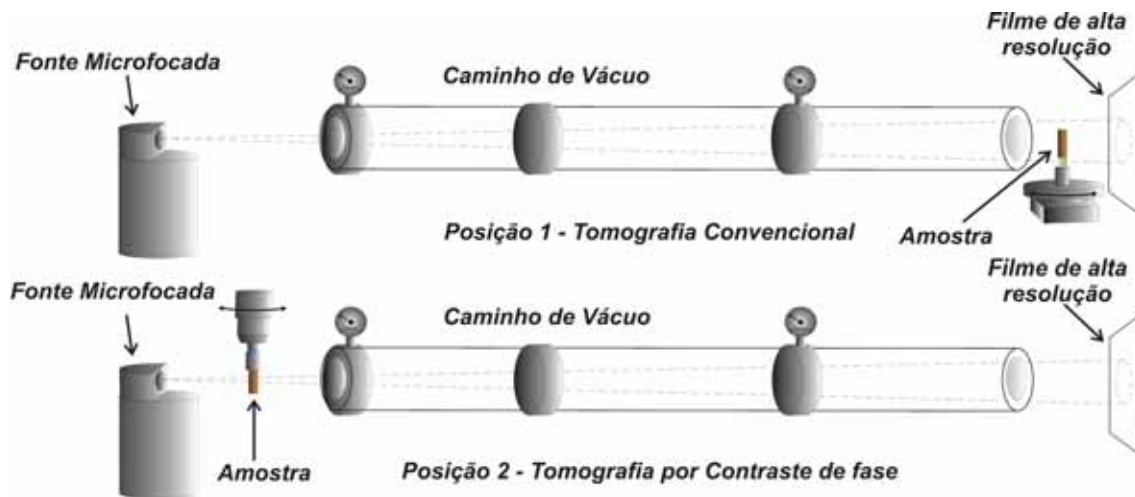


Figura III-11 – Sistema radiográfico / tomográfico de “caminho livre” – LIN.

O sistema de livre caminho necessita de um sistema de detecção capaz de observar os aumentos de intensidade no plano do detector ocasionados pela interação entre a frente de ondas que interagiu com a amostra e a frente de ondas que passou fora da amostra como mostrado no capítulo II.5.2.

Para observar a capacidade necessária de resolução do sistema de detecção foi montado o gráfico da figura III-12 que representa a distância mínima que o sistema deve ser colocado em função da resolução do detector para uma fonte com 10 keV de energia efetiva e com um tamanho focal de 10 e 30 micrometros. Para observar a distância mínima necessária para que o sistema de detecção teoricamente possua a capacidade de observar os aumentos de intensidade devido ao contraste de fase foi montado o gráfico da figura III-13. Este gráfico mostra a relação entre a distância fonte-detector e a energia dos fótons de raios X para vários valores de tamanho focal. Quanto menor o tamanho focal maior será a coerência da fonte o que resultará na necessidade de uma distância menor para se observar os efeitos de contraste de fase.

A distância fonte-detector ( $\ell$ ) foi calculada pela eq. III-01, onde para fontes convencionais o valor da energia efetiva foi considerado como  $\frac{1/2+1/3}{2}$  da energia máxima (ou a tensão aplicada).

$$\ell = \frac{d_{\perp} \times \sigma}{\lambda}$$

III-01

Onde  $\lambda[m] = \frac{h[eV.s] \times c[m/s]}{E_{ef}[eV]}$  é o comprimento de onda;

$h$  é a constante de Plank;

$c$  é a velocidade da luz no vácuo;

$d_{\perp}$  é o tamanho focal da fonte e

$\sigma$  é o tamanho do pixel do detector.

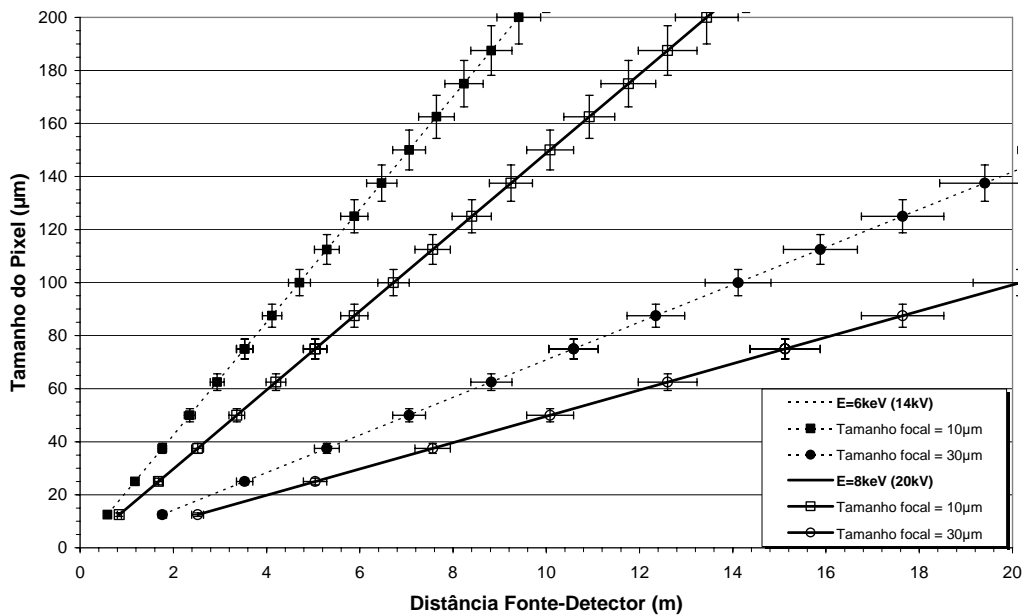


Figura III-12 – Relação entre o tamanho do pixel e a distância fonte-detector.

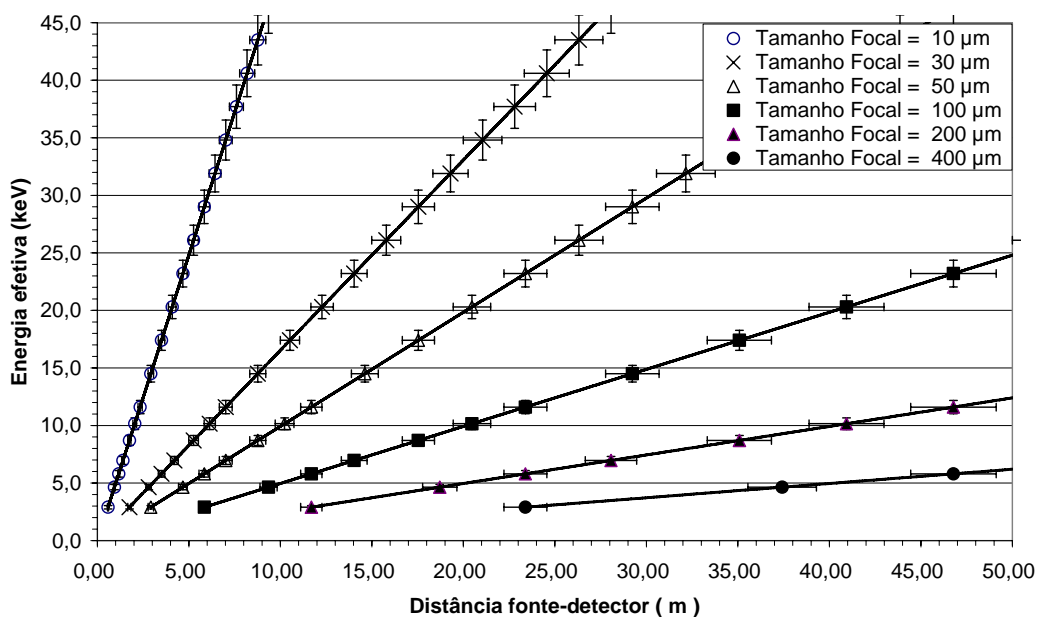


Figura III-13 – Relação entre a energia efetiva e distância fonte-detector.

### ***b) Amostras utilizadas***

Foram utilizadas amostras padrões e amostras de anfíbios do gênero *Brachycephalus*.

## **III.2.2 Sistema de contraste de fase utilizando uma fonte síncrotron**

Este sistema foi o segundo experimento feito no LNLS e o primeiro realizado para estudo de imagens por contraste de fase. Este experimento recebeu o nome de “RCF: Técnica pontual e aplicações em amostras biológicas” (LNLS - D10A - XRD2#1672/02).

O sistema tinha como característica principal a tentativa de simulação de uma fonte com foco quase no infinito, através da utilização de cristais para reduzir a divergência do feixe em ambas às dimensões, vertical e horizontal de forma a obter um feixe de onda plana. Este arranjo baseado na técnica de caminho livre deveria ser capaz de verificar o comportamento da imagem com uma fonte altamente coerente, variando-se o posicionamento das amostras para perto e longe do detector. A formação da imagem do detector é dada pela interferência da frente de ondas que interagiu com a amostra e da frente de ondas que passou fora ou pelas bordas da amostra formando uma onda de referência.

### ***a) Características do arranjo experimental***

Como o arranjo tinha por objetivo simular uma fonte com foco quase no infinito, o monocromador da linha foi utilizado para selecionar uma energia de 14 keV, com a melhor divergência possível na vertical dada pelos cristais Si (111) do monocromador da linha. Um cristal de Si assimétrico com plano de difração 220 foi colocado no primeiro eixo do difratômetro para melhorar a divergência do feixe na horizontal, fazendo com que o feixe tivesse a melhor divergência possível em ambas às direções. Um segundo cristal de Si com plano de difração 880 em geometria dispersiva (+,+) foi colocado no segundo eixo do difratômetro para desviar o feixe para a amostra e para o detector em função da limitação de espaço da cabana experimental, como pode ser visto na figura III-14.

Em função de problemas técnicos, havia sido adotado pelo LNLS um feixe de divergência maior de forma a aumentar o tempo de vida entre as injeções. Como o arranjo experimental dependia da qualidade da divergência no sentido vertical, que é uma característica dependente da fonte, foi necessário ajustes na forma de injeção do feixe para reduzir a divergência com a utilização de um maior número de pacotes de elétrons no anel de armazenamento. Com isso foi obtida uma melhora na focalização de 9 vezes o que representa uma melhora na divergência de um fator 3 ( $\sqrt{\text{Focalização}}$ ). Mesmo assim a menor divergência conseguida na vertical com o espelho e o monocromador da linha Si 111 foi de  $10^{-4}$  arcseg. Na horizontal com os cristais de Si 220 e Si 880 foi conseguido uma divergência de  $10^{-6}$  arcseg como esperado.

Os arranjos experimentais consistiam em obter um feixe de alta coerência em ambos os sentidos e testar os efeitos de detecção de fase em relação à atenuação. Este experimento iria testar a teoria de obtenção de imagens por contraste de fase em detrimento ao contraste por atenuação. Segundo Fitzgerald<sup>[34]</sup>, os efeitos relativos ao contraste de fase podem ser observados mesmo quando os efeitos de absorção não possam ser mais detectados. No primeiro arranjo experimental deste projeto seriam observadas imagens de contraste de fase associadas ao contraste por atenuação (figura III-14) e no arranjo experimental (figura III-15) era esperado que as imagens fossem observadas com um contraste de fase mais acentuado devido à maior distância que o objeto foi colocado em relação ao detector.

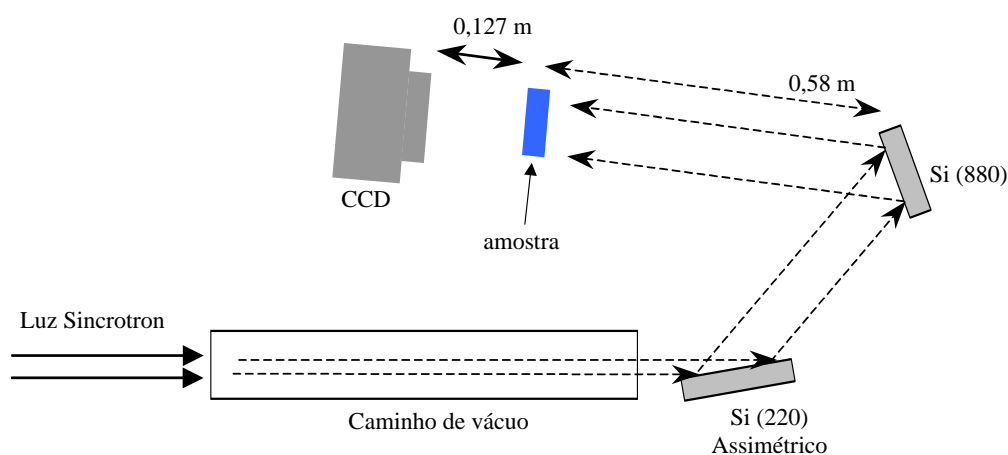


Figura III-14 – 1º arranjo experimental LNLS-D10A-XRD2-1672.

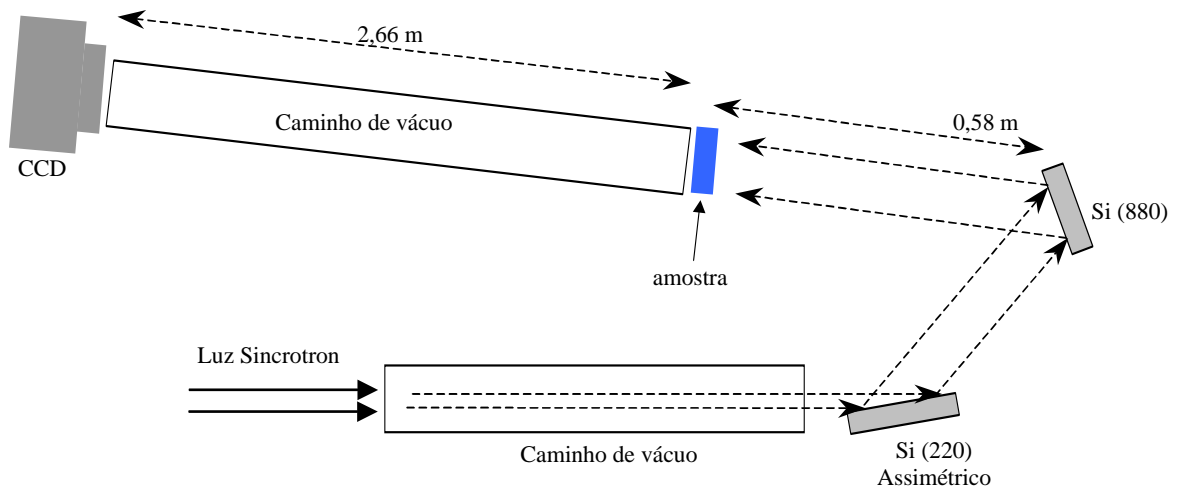


Figura III-15 – 2º arranjo experimental LMLS-D10A-XRD2-1672.

O difratômetro foi colocado com os eixos alinhados com o eixo de rotação na vertical de forma que o cristal Si 220 reduzisse a divergência na horizontal. Os caminhos de vácuo foram inseridos para minimizar os efeitos de atenuação do feixe no ar ao longo do caminho percorrido até as amostras e o detector, como pode ser visto nas fotos das figuras III-16 e III-17 e nos esquemas da figura II-14 e III-15.

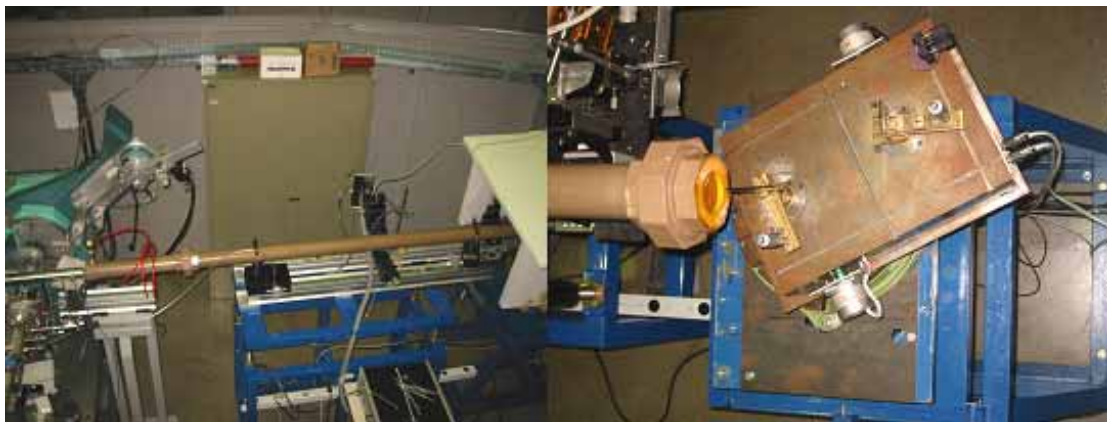


Figura III-16 – Detalhes do 1º arranjo experimental e cristais.

Como este arranjo experimental não utilizou um cristal assimétrico para expandir o feixe na vertical, foi necessário fazer com que o detector CCD e a amostra fossem varridos por um feixe de aproximadamente 3,5 x 16,4 mm, definido pelas fendas e cristais do sistema, de forma que este iluminasse a maior área possível do detector e da amostra. O detector e o suporte da amostra foram então colocados sobre dois transladores para serem movimentados simultaneamente com está destacado na figura III-17.

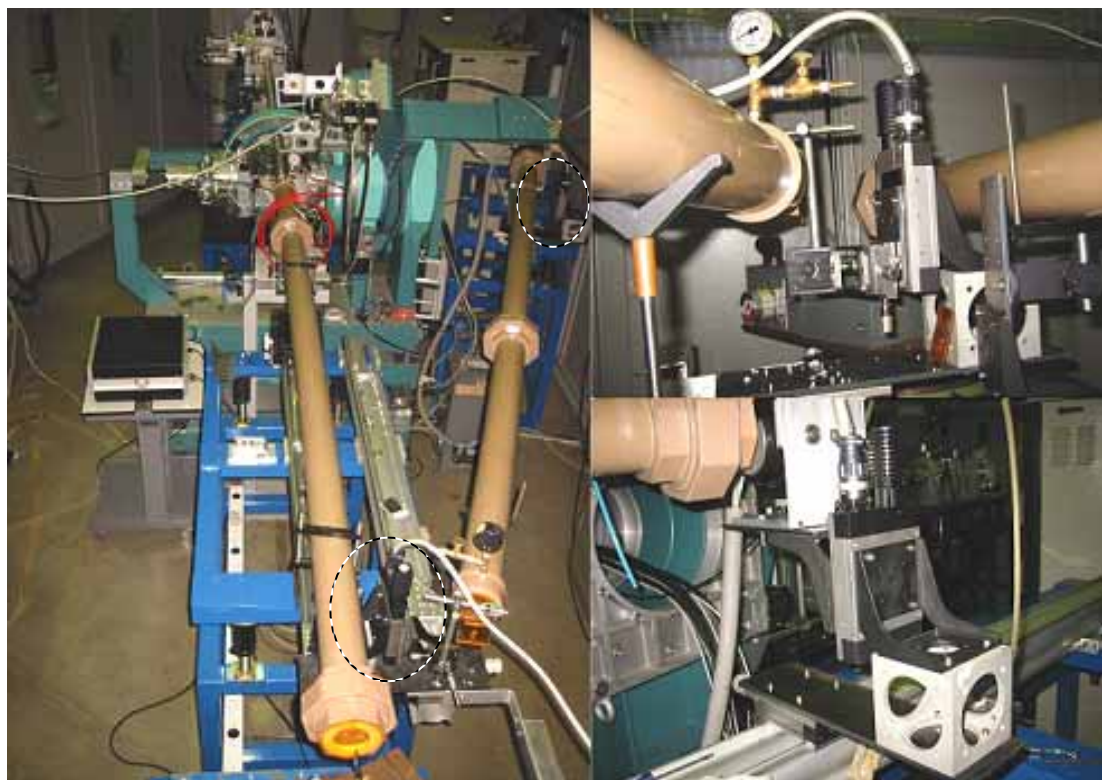


Figura III-17 – Montagem do 2º arranjo experimental e detalhes dos transladores.

### ***b) Amostras utilizadas***

Foram utilizadas amostras biológicas diversas. Dentre as amostras biológicas destacam-se as de fetos de morcegos conseguidas em colaboração com o instituto de biologia e amostras de tecidos fixadas em parafina conseguidas em colaboração como o Departamento de Patologia do HUCFF e sem parafina levadas por um dos pesquisadores do Instituto de Física. Outras amostras de teste também foram estudadas como plantas e insetos.

### **III.2.3 Sistema radiográfico de realce por difração**

Este sistema foi o primeiro experimento montado no LNLS para estudo de imagens de realce por difração utilizando um cristal analisador. O projeto recebeu o nome de “Levantamento de possibilidades de RCF com luz síncrotron” sob o número de projeto LNLS-D10A-XRD2-1323/01. Este experimento teve por objetivo estudar os princípios básicos da técnica de realce por difração e obter informações sobre as possibilidades destes estudos no LNLS<sup>[7]</sup>.



### a) Características do arranjo experimental

O experimento foi realizado utilizando uma energia monocromática de 8 keV selecionada pelo monocromatizador de Si (1 1 1) da estação experimental.

Foram utilizados dois cristais de silício montados em um difratômetro duplo eixo de alta resolução colocado na posição vertical em relação aos dois eixos. No primeiro eixo do difratômetro foi colocado um cristal de Si assimétrico em geometria não dispersiva, com plano de difração 333 que tinha por objetivo alargar o feixe verticalmente em 10 vezes. O feixe foi ajustado com dimensões de aproximadamente 1 mm de altura por 20 mm de largura na saída das fendas mecânicas. Após o feixe passar pelo cristal assimétrico este ficou com 20 mm de altura por 20 mm de largura.

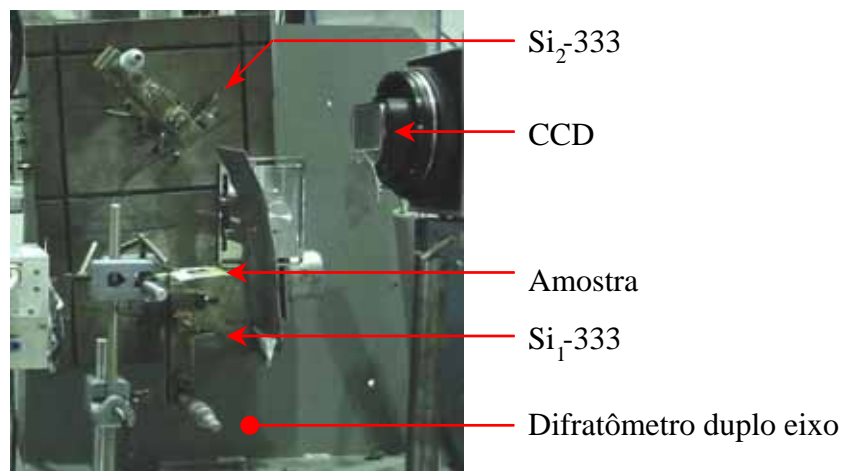


Figura III-18 – Arranjo experimental LMLS-D10A-XRD2-1323.

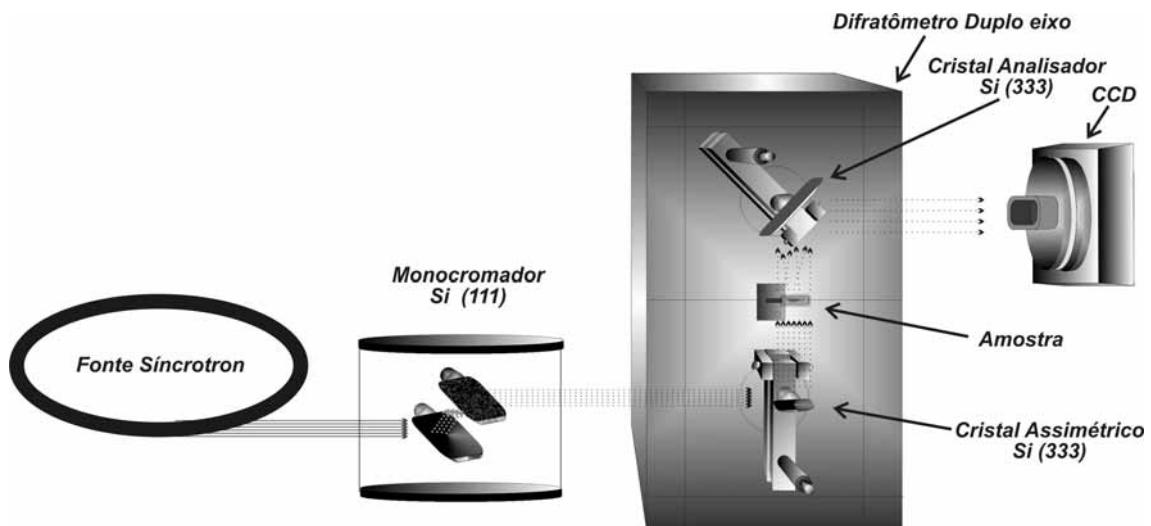


Figura III-19 – Arranjo experimental esquematizado.

Um segundo cristal de silício com plano em 333, simétrico, foi montado no segundo braço do difratômetro. Este cristal foi colocado em geometria de Bragg com a

finalidade de analisar o feixe proveniente da amostra, deixando passar somente os fótons que estivessem de acordo com a condição de Bragg do arranjo experimental. As amostras foram posicionadas em um suporte entre os dois cristais do difratômetro. O arranjo experimental e seus detalhes podem ser vistos na foto da figura III-18 e no esquema da figura III-19.

### ***b) Amostras utilizadas***

Foram utilizadas amostras biológicas fixadas em parafina e em formol, amostras de insetos e de folhas de plantas. Dentre as amostras biológicas destacam-se as de útero e pulmão. Estas amostras foram utilizadas por estarem sendo estudadas por técnicas varredura de perfis<sup>[83,84]</sup> e atualmente por tomografia utilizando perfis de difração<sup>[85,86,87]</sup>.

## **III.2.4 Aprimoramento do sistema radiográfico de realce por difração**

Este sistema foi um aprimoramento do projeto de realce por difração visando à utilização em estudos radiográficos. O projeto recebeu o número D10A - XRD2#1995/02 e se caracterizou principal pelo estudo e preparação do sistema para a automação dos equipamentos instalados na linha XRD2 do LNLS.

Para se obter uma imagem eram necessárias no mínimo três pessoas para disparar todos os sistemas (Obturador (Shutter) da linha, transladores e detector). Estes ciclos de disparos eram feitos a cada três minutos aproximadamente o que tornava o sistema muito trabalhoso e inviabilizava a aquisições futuras de tomografias. Mesmo assim foram adquiridas mais de oitocentas imagens.

### ***a) Características do arranjo experimental***

O arranjo experimental foi feito conforme pode ser visto na figura III-20, onde foi construído um suporte em forma de “U” fixado em um dos transladores para que se encaixassem com rapidez e facilidade os porta amostras. Estes foram desenvolvidos para que os espécimes e amostras biológicas não sofressem desidratação devido ao tempo de exposição e a baixa umidade relativa do ar no interior da linha.

Desta vez foram utilizados dois cristais “channel cut” de Si com plano de difração 333 ao invés dos cristais simples. Isto foi feito para melhorar a divergência do

feixe. Os cristais sulcados “channel cut” são cristais duplos, confeccionados em um mesmo bloco de silício. Este corte é feito para garantir que os dois planos cristalinos sejam completamente paralelos, pois pertencem à mesma matriz cristalina.

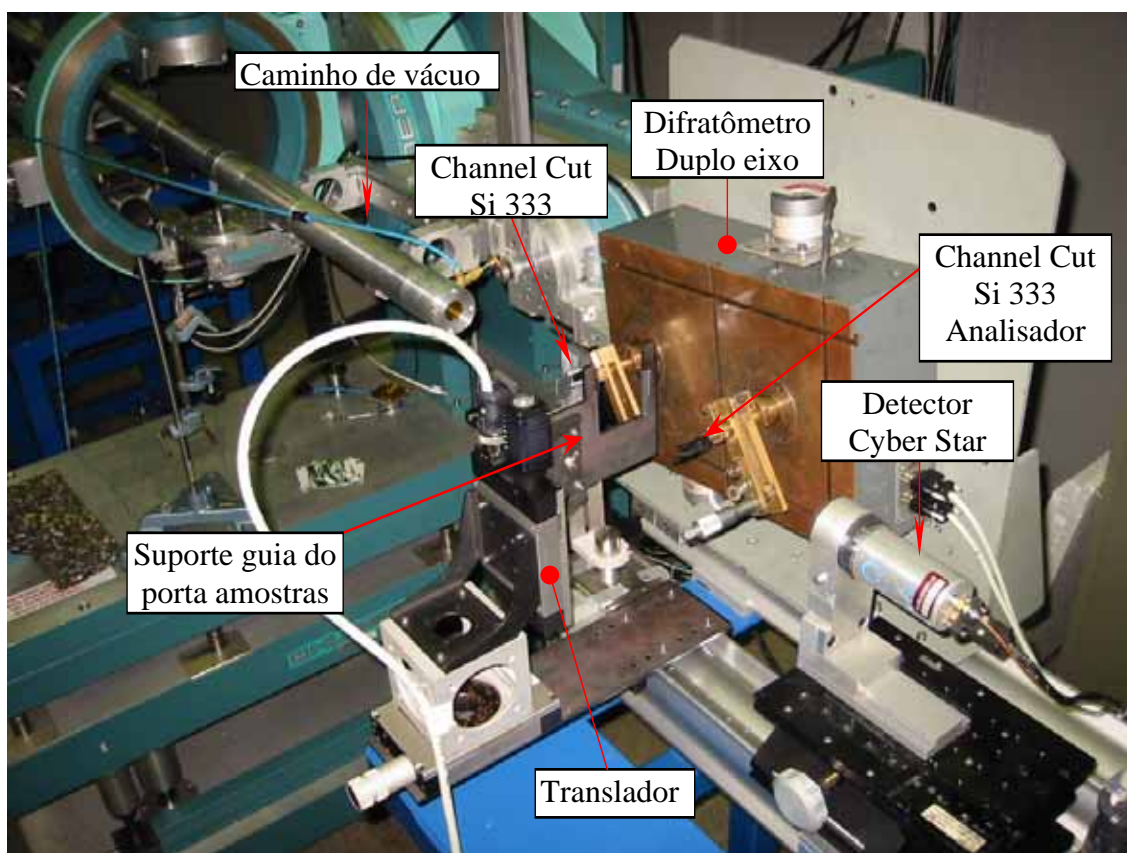


Figura III-20 – Foto do arranjo experimental #1995 de radiografia por realce de difração.

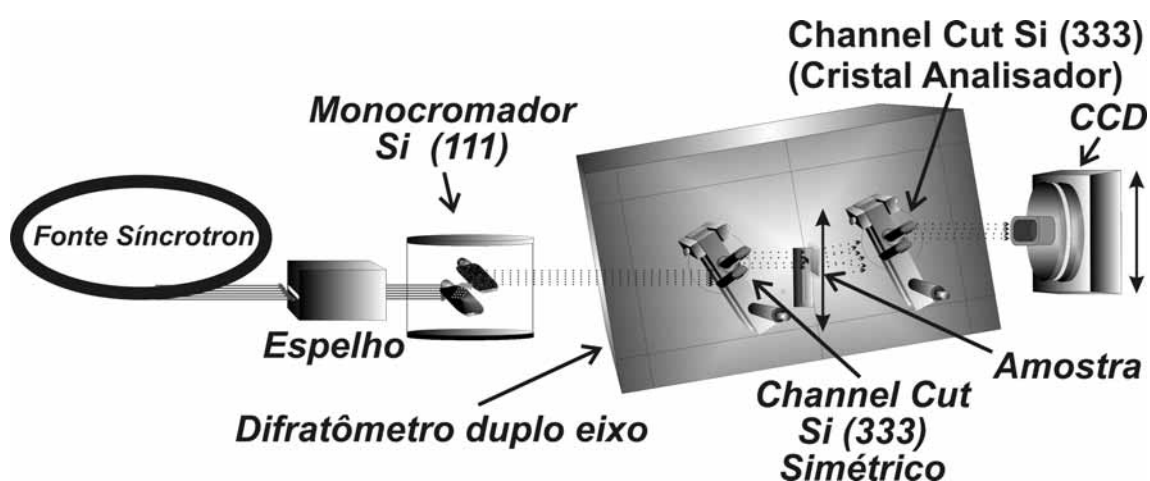


Figura III-21 – Arranjo experimental #1995 para radiografia por realce de difração.

Também se pode notar um detector cintilador CyberStar, colocado no lugar do CCD com a finalidade de se obter a “Roking curve” do arranjo experimental e assim

posicionar o cristal analisador em uma posição específica da curva. Este posicionamento permitia a obtenção de imagens com diferentes informações de contraste por espalhamento e extinção.

Na figura III-21 pode ser visto um esquema completo do arranjo experimental, destacando-se o uso do espelho utilizado de forma desfocalizada para que o feixe branco fosse o mais homogêneo possível e para que o feixe na saída do monocromador tivesse a menor divergência.

### ***b) Amostras utilizadas***

Foram utilizadas amostras de corpos de prova padrão, amostras de plantas para verificar a possibilidade de estudos de verrugas suberosas, amostras de feto de morcego e amostras biológicas de Pulmão, tireóide e bócio cedidas em colaboração com o departamento de patologia do HUCFF.

## **III.2.5 Sistema tomográfico de realce por difração**

Este sistema foi um aprimoramento do projeto de radiografia realçada por difração visando a utilização em estudos tomográficos. O projeto recebeu o nome de “Estudo de sistemas DEI em aplicações biológicas” (D10A - XRD2#2407/04) se caracterizou principalmente pela completa automação do sistema e pelo uso de um arranjo experimental direcionado à aquisição de tomografias computadorizadas.

Uma única pessoa era capaz de ajustar e disparar o sistema para que ele adquirisse uma seqüência de 360 imagens de um objeto sem a necessidade de interferência externa. Além disso, foram colocados monitores para se obter um controle total de todas as etapas da aquisição.

### ***a) Características do arranjo experimental***

O arranjo experimental sofreu várias modificações para que fosse adaptado à aquisição tomográfica. Dentre as principais modificações como pode ser visto na foto da figura III-22 e esquema da figura III-23, destaca-se a instalação de uma mesa goniométrica para que a amostra pudesse ser rotacionada para as aquisições tomográficas. Esta mesa motorizada era ligada a um controlador de marca Klingner capaz de movimentá-la em passos de até um centésimo de grau.

O sistema podia ser completamente monitorado através de uma câmara de ionização que tinham a finalidade de dar informações sobre o feixe após o monocromador e por um detector cintilador colocado de forma a captar o feixe retro espalhado na janela de berílio da câmara CCD, com isso tornava-se possível a monitoração do feixe emergente do analisador. Este monitoramento permitia que se fizesse uma varredura no analisador para posicioná-lo sobre um ponto da RC sem remover a amostra do suporte do goniômetro.

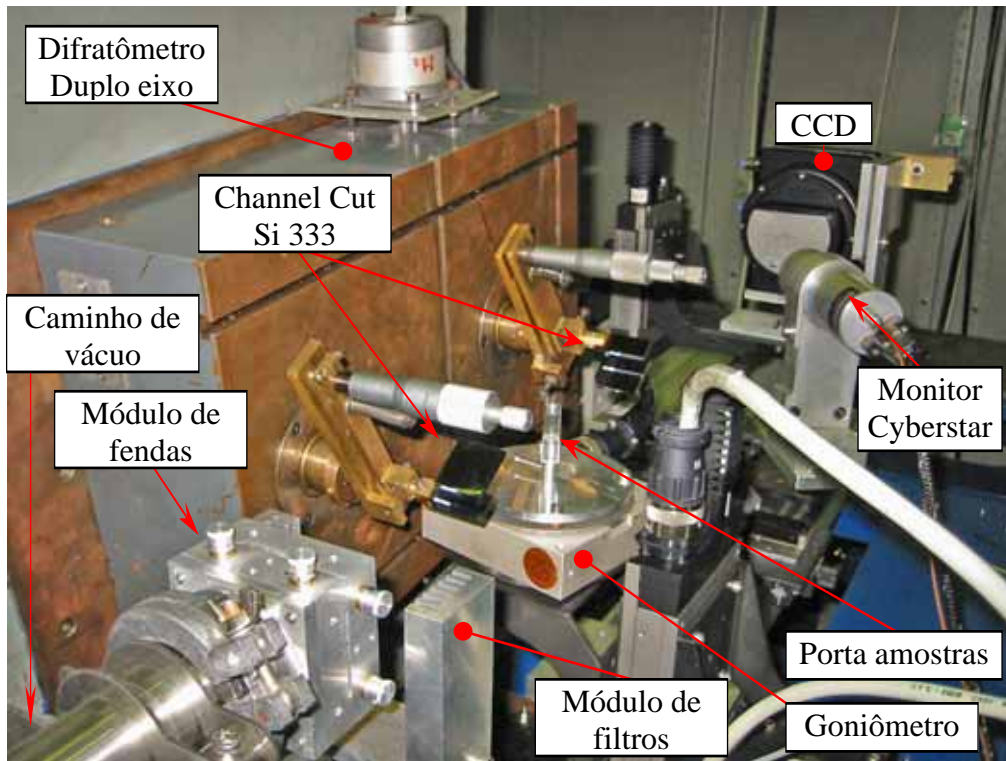


Figura III-22 – Foto do arranjo experimental #2407 de tomografia por realce de difração

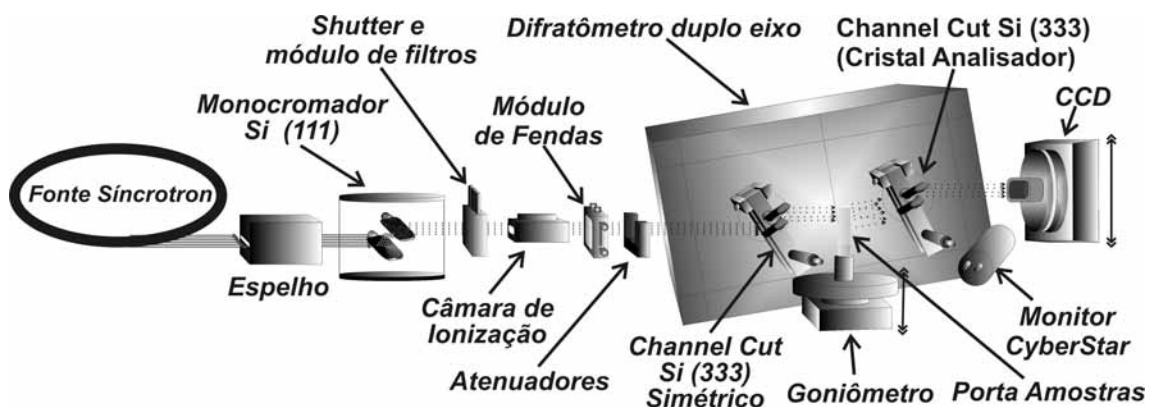


Figura III-23 – Arranjo experimental #2407 de tomografia por realce de difração.

Também foi necessário fazer um novo projeto de porta amostras que se adaptasse à nova finalidade do sistema. Como pode ser visto na figura III-22 os porta

amostras foram construídos com uma base e uma tampa de acrílico (6 mm de diâmetro) e de alumínio (10 e 16 mm de diâmetro) onde foram colocadas folhas de Mylar de 6,4  $\mu\text{m}$ . Este porta amostras foi utilizado para impedir a desidratação das amostras no decorrer do processo de aquisição o que provocaria artefatos na imagem.

### *b) Amostras utilizadas*

Foram utilizadas amostras de corpos de prova padrão, amostras de feto de morcego, amostras de insetos, amostra de lagartixa “in vivo” e amostras biológicas.

## III.2.6 Aprimoramento do sistema tomográfico de realce por difração

Este projeto (D10A - XRD2#3469/04) foi mais um aprimoramento e utilizou basicamente o mesmo arranjo experimental anterior, mas ajustado para a utilização de somente um motor translador, fig. III-24. Este translador foi acoplado simultaneamente ao suporte da amostra e detector em virtude de problemas com o segundo translador. Esta adaptação tornou o sistema bastante estável. Neste experimento também foram feitas aquisições de radiografias e tomografias por atenuação, retirando-se o cristal analisador.

### *a) Características do arranjo experimental*

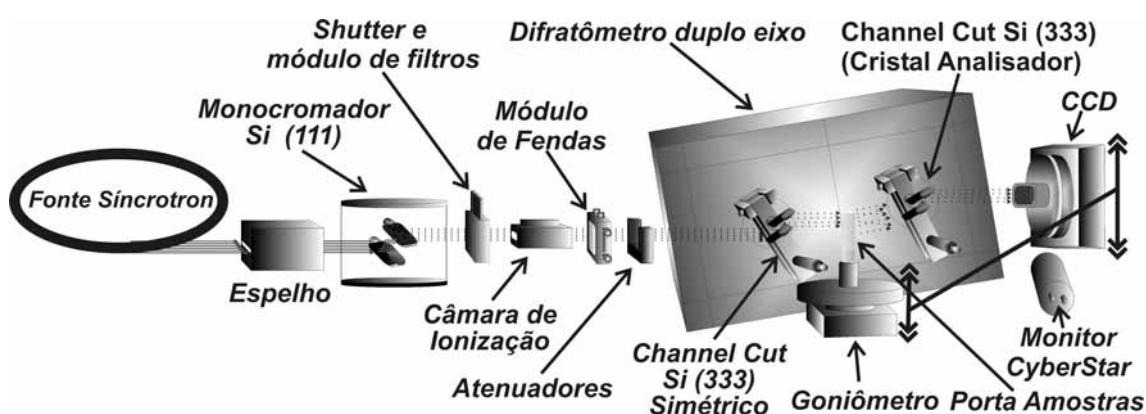


Figura III-24 – Arranjo experimental #3469.

### *b) Amostras utilizadas*

Foram utilizadas amostras biológicas com diversas patologias cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer – INCA, amostras de mama que estão sendo estudadas com técnicas de fluorescência, amostras de anfíbios para observação de diferentes ocorrências de calcificações entre espécies e de báculos de morcegos do gênero *Myotis* para identificação de espécies.

---

---

## CAPÍTULO IV

### IV Resultados

O desenvolvimento de um sistema de microrradiografia e microtomografia por contraste de fase e por realce de difração tem despertado o interesse de vários grupos no mundo por ser uma técnica bastante promissora em diversas áreas de aplicação.

A seguir serão mostrados os resultados referentes aos padrões de qualidade referentes aos sistemas estudados e os resultados mais relevantes nas áreas de biologia, botânica, física médica e em uma possível aplicação em compósitos utilizados na indústria aeroespacial.

#### *IV.1 Parâmetros de Qualidade*

Nos sistemas de contraste de fase é necessário que o feixe tenha uma baixa divergência no caso de fontes síncrotron e um alto grau de coerência espacial no caso de fontes microfocadas.

Serão apresentados a seguir os procedimentos adotados para a obtenção da divergência angular do sistema desenvolvido no LNLS.

Os parâmetros de qualidade do sistema do LIN ainda estão em estudo, contudo foi possível observar que no sistema de “caminho livre” pode-se observar um aumento no contraste de bordas.

##### IV.1.1 Divergência do feixe síncrotron

A linha XRD2 é equipada com um espelho capaz de focalizar o feixe branco no 1° cristal do monocromador. O espelho pode ser utilizado em uma condição desfocalizada, o que torna o feixe o mais paralelo possível. Na saída do espelho existe um monocromador com dois cristais de Si com plano de difração em 111 sendo que o primeiro cristal é refrigerado em função do aquecimento gerado pelo feixe direto e o segundo cristal chamado sagital. Todos os movimentos do sistema de espelho e monocromatização são controlados por computador (sistema Spec).

Para verificar as condições de divergência do feixe foi montado no goniômetro de um difratômetro Hubber um cristal de Si 333 e no braço 2 *Theta* foi colocado um detector cintilador CyberStar (experimento 2407). Fazendo-se a varredura do braço



2 theta, foi possível obter a curva de refletividade “Rocking curve” de saída do monocromador da linha. Como o cristal estava em uma geometria não dispersiva a largura a meia altura da curva representa a divergência do feixe de saída do monocromador.

A divergência obtida para o feixe na horizontal definida pelo ajuste das fendas foi de 650  $\mu\text{rad}$  (135 arcseg) com o sistema a 17,5 metros do dipolo. A divergência vertical obtida com o espelho totalmente desfocalizado e com o monocromador (Si 111) ajustado para a energia de 10,4 keV foi de 113  $\mu\text{rad}$  (23 arcseg). As curvas de refletividade representativas da divergência horizontal e vertical de saída do monocromador podem ser vistas na figura IV-01 e IV-02.

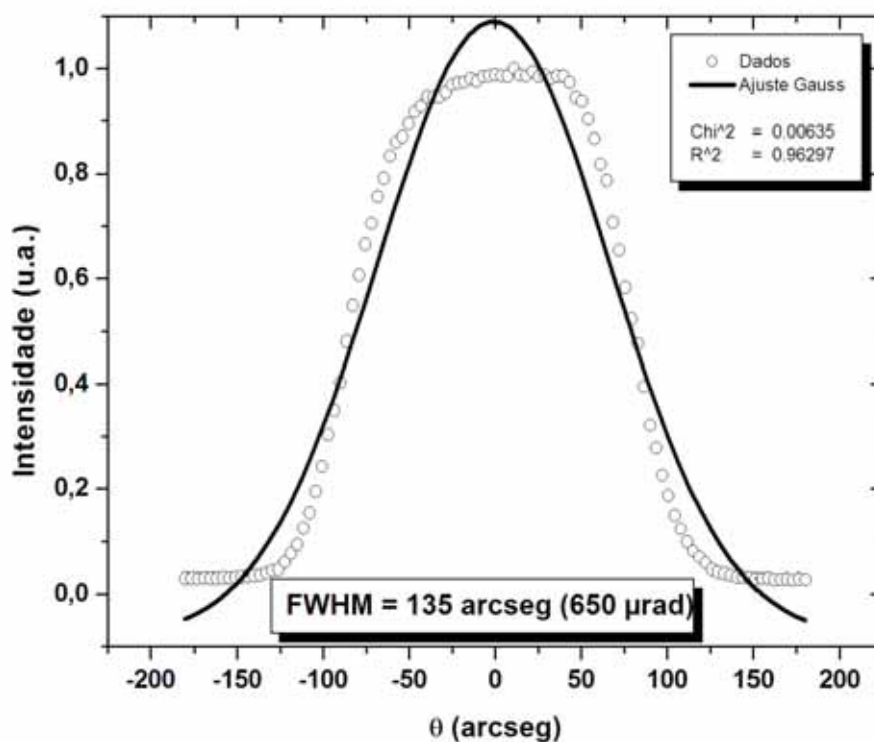


Figura IV-01 – Divergência horizontal do feixe na saída do monocromador da linha

Depois da instalação do primeiro sulcado no 1° eixo do difratômetro DE, foi colocado um cristal de Si 333 no 2° eixo para se obter a “Rocking curve” do feixe incidente na amostra após passar pelo 1° sulcado. A divergência encontrada foi de 7 micro radianos (1,4 arcseg) como o esperado, fig. IV-03.

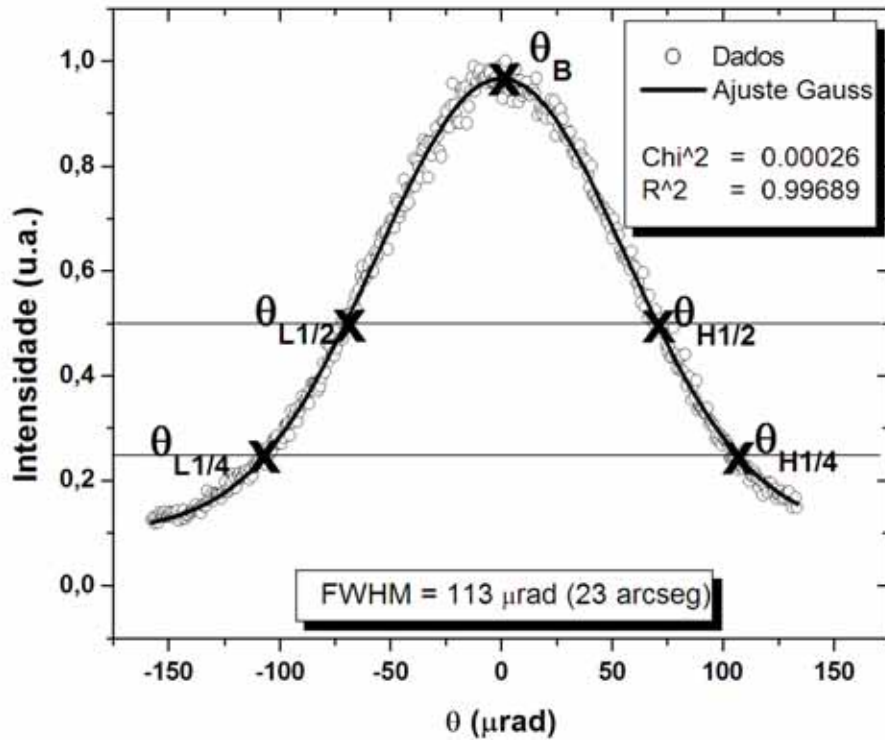


Figura IV-02 – Divergência vertical do feixe na saída do monocromador da linha

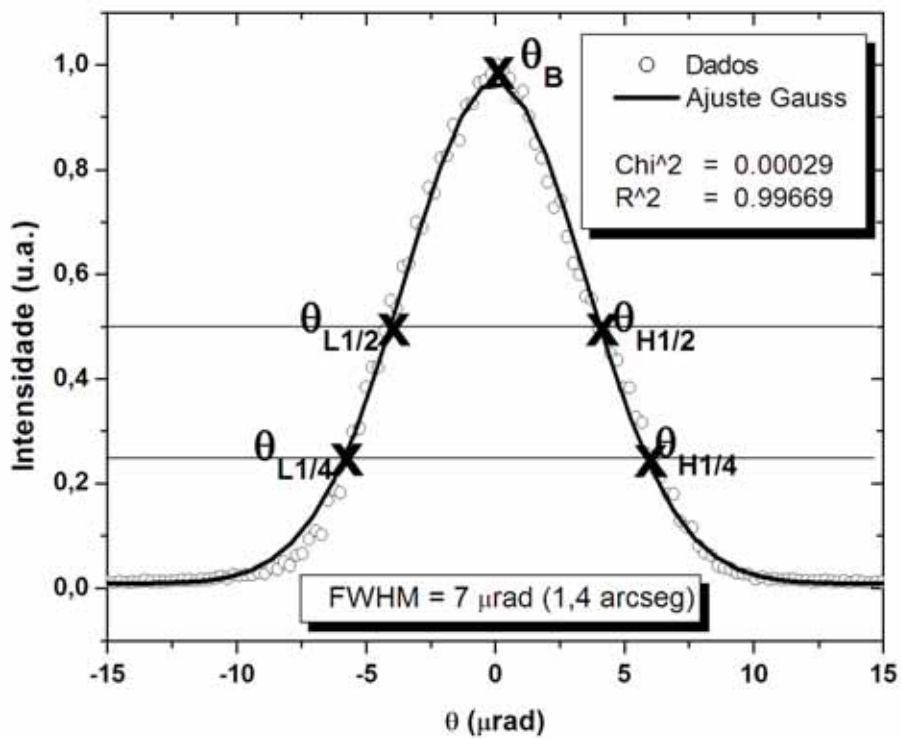


Figura IV-03 – Divergência vertical do feixe incidente na amostra

### IV.1.2 Contraste

A capacidade de detecção de bordas e de objetos de baixo contraste por atenuação é uma das qualidades mais importantes das técnicas de contraste de fase. Foi utilizado um grupo de tubos plásticos padronizados para observar a capacidade dos sistemas em identificar bordas em comparação com resultados obtidos por radiografias convencionais. Também foi construído um corpo de provas de baixo contraste de atenuação composto de um fio de nylon imerso em metanol para verificar a propriedade de detecção do sistema de realce por difração.

### IV.1.3 Alinhamento

O processo de reconstrução de imagens em tomografia necessita que o centro de rotação da mesa goniométrica, onde é colocada a amostra, esteja perfeitamente alinhada com o eixo central que liga o centro do feixe ao centro do detector. Problemas mecânico e de ajustes no arranjo experimental podem fazer com que este centro de rotação fique desalinhado. Este problema faz com que apareçam efeitos de arrasto nas imagens reconstruídas, fig. IV-04. Efeitos desta natureza não são causados por um desalinhamento da amostra e sim da mesa goniométrica. O desalinhamento da amostra pode causar a perda de dados se durante o processo de aquisição a amostra projetada no detector sair de sua área útil. Este problema é facilmente corrigido observando-se a imagem projetada no detector girando-se a amostra em passos de 45° antes de iniciar a aquisição completa.

A correção de alinhamento da mesa goniométrica pode ser feita durante o processo de reconstrução, deslocando-se a posição do detector matematicamente. Para demonstrar o efeito de arrasto foi traçado um perfil sobre um cilindro padrão contendo um furo interno de 0,508 mm. O perfil de três posições de deslocamento é mostrado na figura IV-05.

O tamanho da correção necessária para a reconstrução das imagens pode ser obtido traçando-se um gráfico do sinograma de diversas posições de alinhamento. O gráfico da figura IV-06 mostra uma seqüência vinte perfis obtidos deslocando-se o detector pixel a pixel a partir de uma posição inicial. O ponto de mínimo da seqüência de sinogramas mostra com boa precisão o ponto de alinhamento ideal que neste exemplo ficou em torno de dez pixels do ponto de referência.

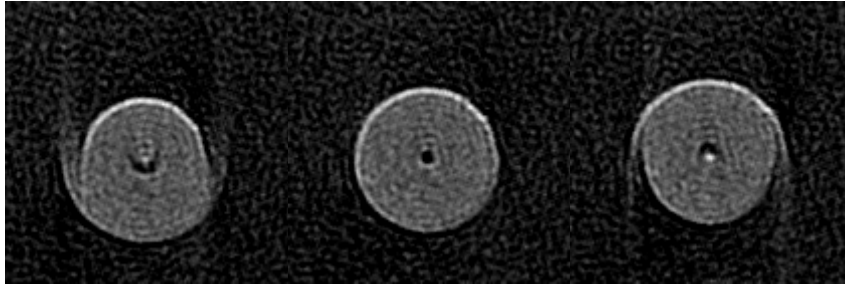


Figura IV-04 – Imagens reconstruídas de um tubo padrão em diferentes pontos de alinhamento

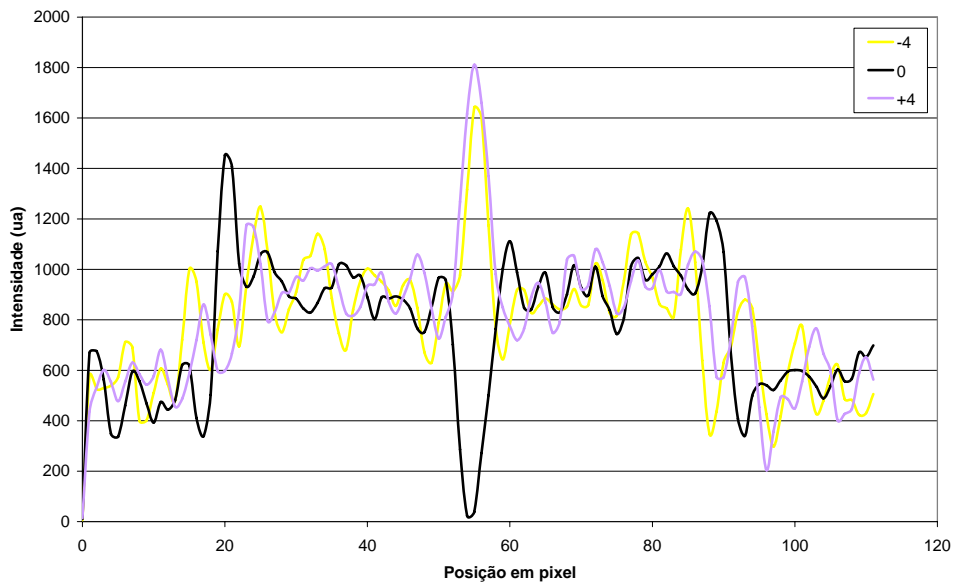


Figura IV-05 – Gráfico do perfil de um tubo em posições diferentes de alinhamento

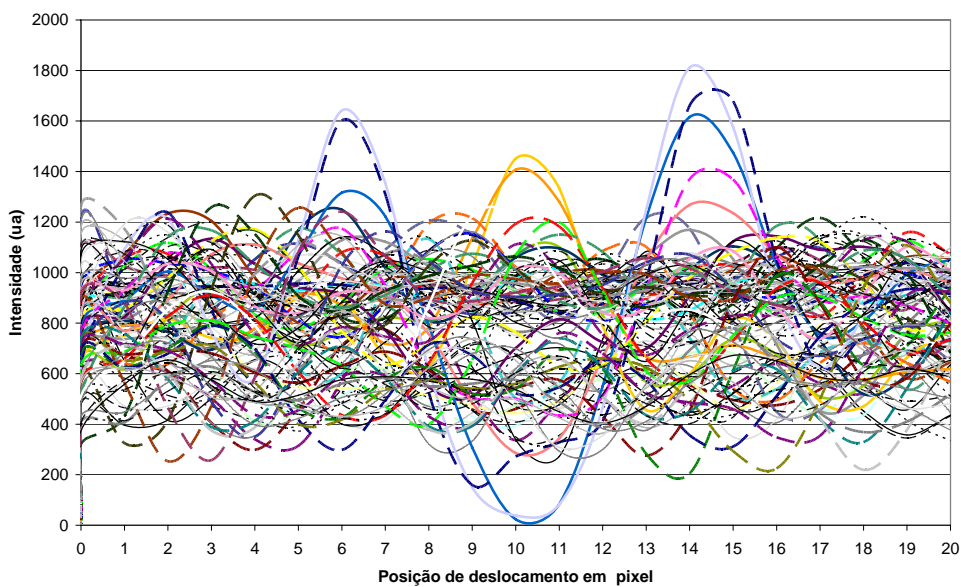


Figura IV-06 – Gráfico do sinograma de alinhamento

#### IV.1.4 Filtros de reconstrução

Os filtros de reconstrução explicados no capítulo II exercem uma forte influência no resultado final da reconstrução. Tomando-se como base a imagem reconstruída da seção transversal de um único tubo padrão, tubo (B) e traçando um perfil nestas imagens, pode ser levantada a influência do filtro de reconstrução em relação à intensidade de bordas e do ruído de fundo.

O filtro de reconstrução mais adequado é aquele capaz de dar uma resposta em alta frequência mais moderada para conseguir o melhor compromisso entre a largura de banda do filtro e a supressão de ruído de fundo. Pode ser visto na figura IV-07 a influência desses filtros na reconstrução de um plano transversal de um tubo padrão de 0,5080 mm de diâmetro interno e 1,5748 mm de diâmetro externo.

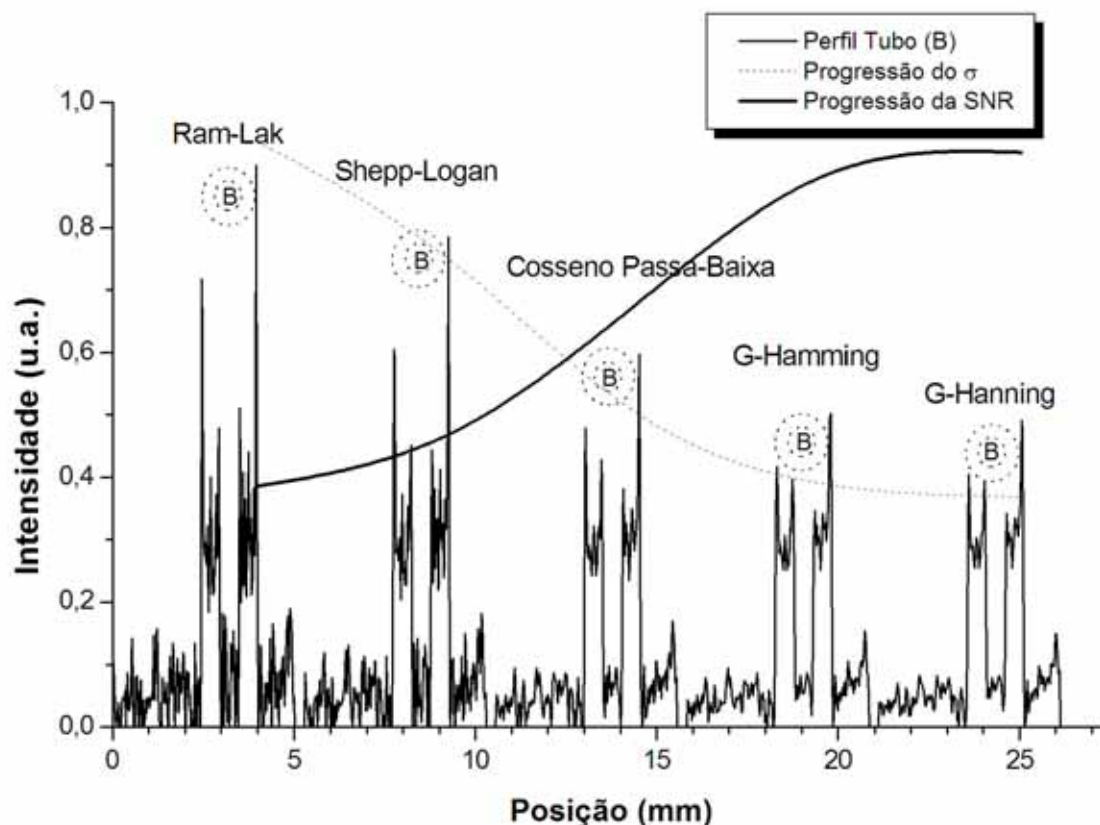


Figura IV-07 – Influência do filtro de reconstrução

Observa-se que apesar da redução de intensidade de alguns picos mais intensos, existe uma redução do ruído de fundo.

#### IV.1.5 Correção da intensidade do feixe síncrotron

A estabilidade de uma fonte síncrotron está relacionada a diversos fatores que podem influenciar no tempo de vida e na qualidade do feixe. O tempo de vida do feixe pode variar dependendo da forma e do número de pacotes de elétrons que são injetados no anel de armazenamento. A qualidade do feixe está diretamente ligada ao vácuo do anel e das linhas, a amplitude e periodicidade das correções do feixe, além da óptica da linha e do experimento e de fatores como temperatura e vibrações principalmente nos sistemas ópticos.

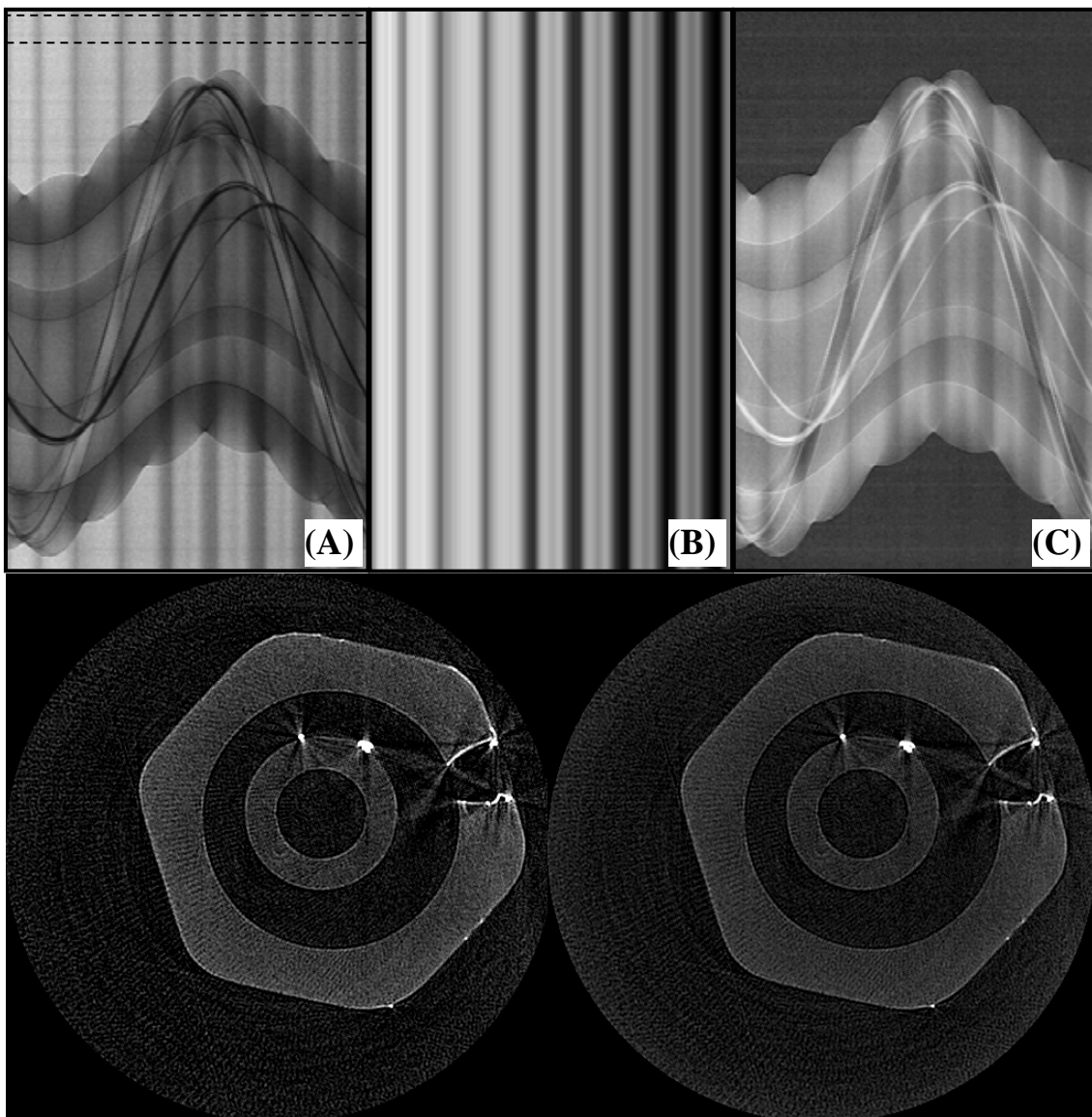


Figura IV-08 – Sinograma original (A), matriz de correção (B), sinograma corrigido (C), reconstrução sem correção (D) e reconstrução com correção (E).

O feixe ao longo de seu tempo de vida tem um comportamento exponencial decrescente, contudo verificando o feixe em intervalos da ordem de segundos, são observadas grandes variações principalmente se a óptica adotada for muito sensível. Estas variações como pode ser visto na fig. IV-08(a) interferem na intensidade da imagem obtida. As variações durante a aquisição em modo de varredura são minimizadas pela aquisição de várias imagens que são acumuladas para se obter uma única imagem representativa do ângulo de projeção.

Observando o sinograma (Projeção x Coluna) que é a imagem obtida da montagem seqüencial feita em 360 graus de uma única linha de todas as imagens, notasse que, mesmo em modo de acumulação a intensidade do feixe varia consideravelmente. A correção de intensidade de cada projeção é feita subtraindo-se o ruído médio de fundo de cada imagem. Esse ruído é obtido a partir de uma faixa da imagem fora da amostra, destaque fig. IV-08(A), que transformada em uma matriz de correção é subtraída de todas as imagens. Esse procedimento tem vantagens em relação a correções a partir de contagens da câmara de ionização ou do cintilador de monitoramento do feixe por considerar perdas de intensidade devido à óptica e a eficiência do detector. Uma análise estatística da relação sinal ruído das imagens reconstruídas com filtro Sheep-Logan em uma radiografia de topo mostrou um ganho de aproximadamente  $(20,7 \pm 0,4)\%$  em relação a imagem reconstruída sem a correção de intensidade. As tomografias foram feitas em intervalos de tempo de 1 a 6 horas a partir de aquisições feitas em 360 graus com cerca de 2 a 6 acumulações de 1 a 20 segundos cada.

#### IV.1.6 Correção da divergência

As imagens foram obtidas em 360 graus considerando que informações adicionais pudessem ser obtidas devido a ângulos preferenciais de refração e difração. O software de reconstrução portanto permite a correção das projeções de feixe divergente para feixe paralelo, considerando a divergência do sistema. Como mostrado na figura IV-09, visualmente não se pode observar ganhos consideráveis na imagem, sendo que uma análise estatística revela que a correção gerou um aumento da relação sinal ruído de somente  $(5,1 \pm 0,5)\%$  em relação às imagens reconstruídas com e sem correção. Esta pequena diferença pode ter ocorrido devido ao acréscimo de ruído inerente do

processamento matemático de correção ou realmente devido à baixa divergência ( $10^{-6}$ ) que torna o feixe quase paralelo.

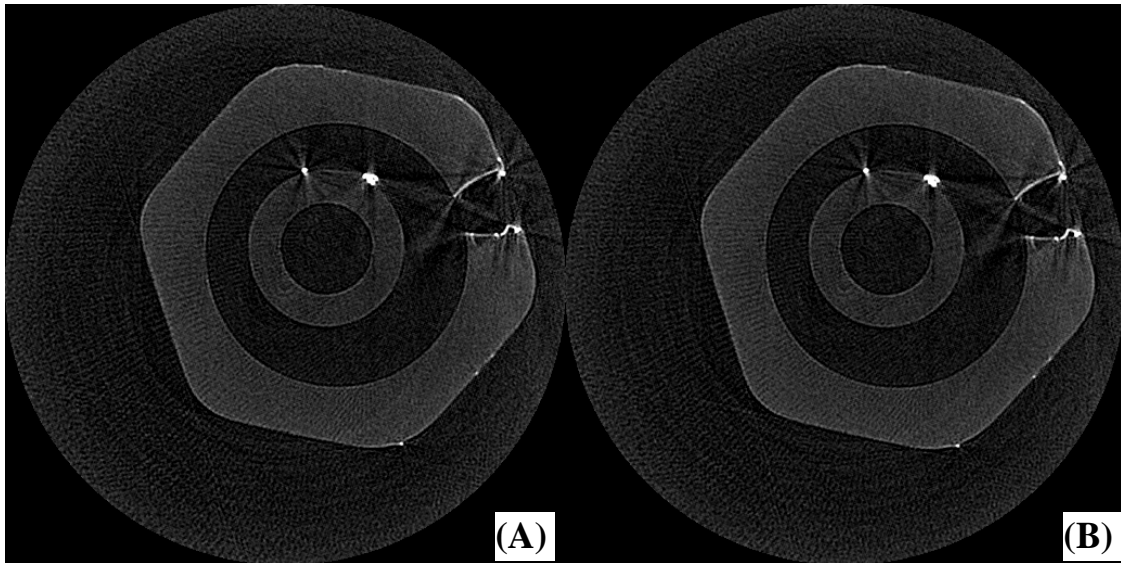


Figura IV-09 – Reconstrução tomográfica sem (A) e com (B) correção de divergência

## ***IV.2 Caracterização do sistema de radiografia por contraste de fase***

A seguir é mostrada a capacidade de detecção de bordas da radiografia por contraste de fase feita no Laboratório de Instrumentação Nuclear com o sistema de “caminho livre”.

Na figura IV-10 são mostradas as radiografias feitas respectivamente a 30 mm e 2500 mm de distância entre o objeto e o detector, onde foram traçados perfis que são mostrados na figura IV-11 para demonstrar o aumento de intensidade em função do realce por refração.

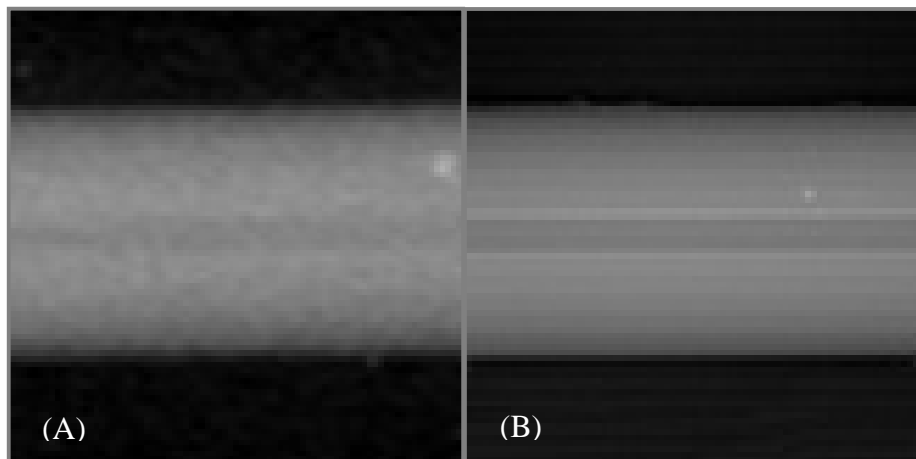


Figura IV-10 – Radiografia convencional (A) Radiografia por contraste de fase (B)



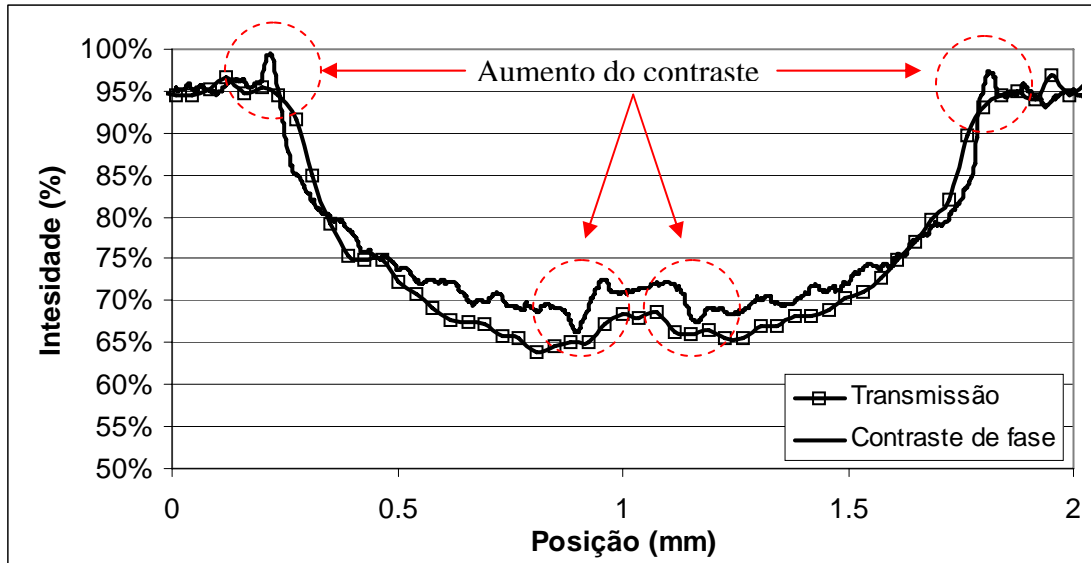


Figura IV-11 – Perfil de um tubo plástico de uma radiografia por contraste de fase mostrando o aumento de contraste devido à refração

Também foi utilizado um corpo de provas de acrílico em forma de degrau com 2 mm de acréscimo de espessura entre cada interface, fig. IV-12. Este corpo de provas foi utilizado para observar o contraste de bordas em função da energia do feixe incidente para uma mesma distância, fig. IV-13 e em função da distância fonte-objeto para uma energia efetiva fixa de 6 keV (14 kV), fig. IV-14, de forma a demonstrar um aumento do contraste em função do aumento do comprimento de onda do raio X incidente e da distância entre a fonte e o detector.

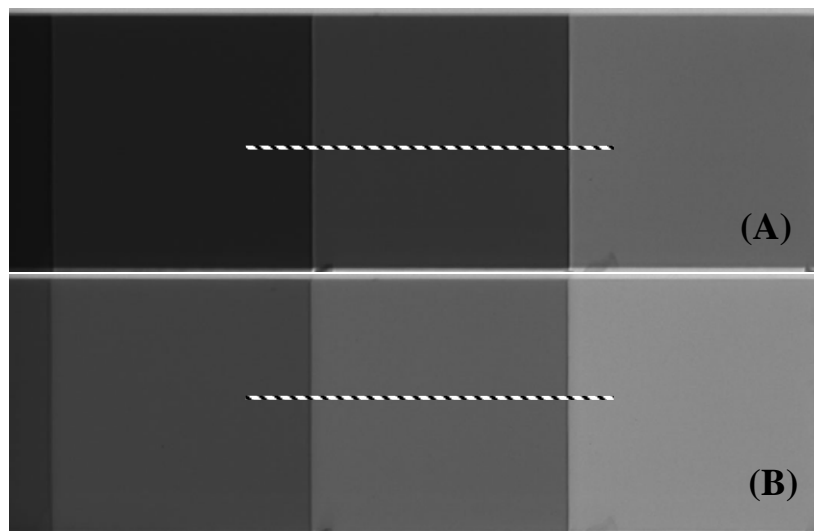


Figura IV-12 – Imagem radiográfica de um padrão de acrílico a 6 keV (A) e 8 keV (B), mostrando a posição dos perfis traçados

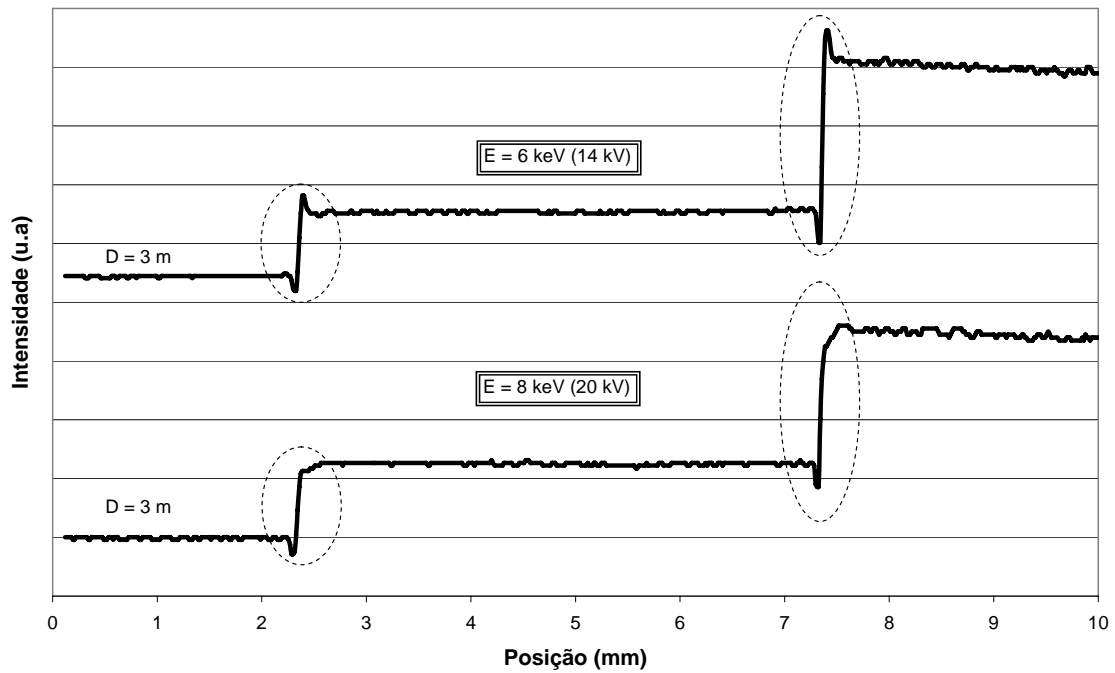


Figura IV-13 – Realce de borda em função da energia do feixe

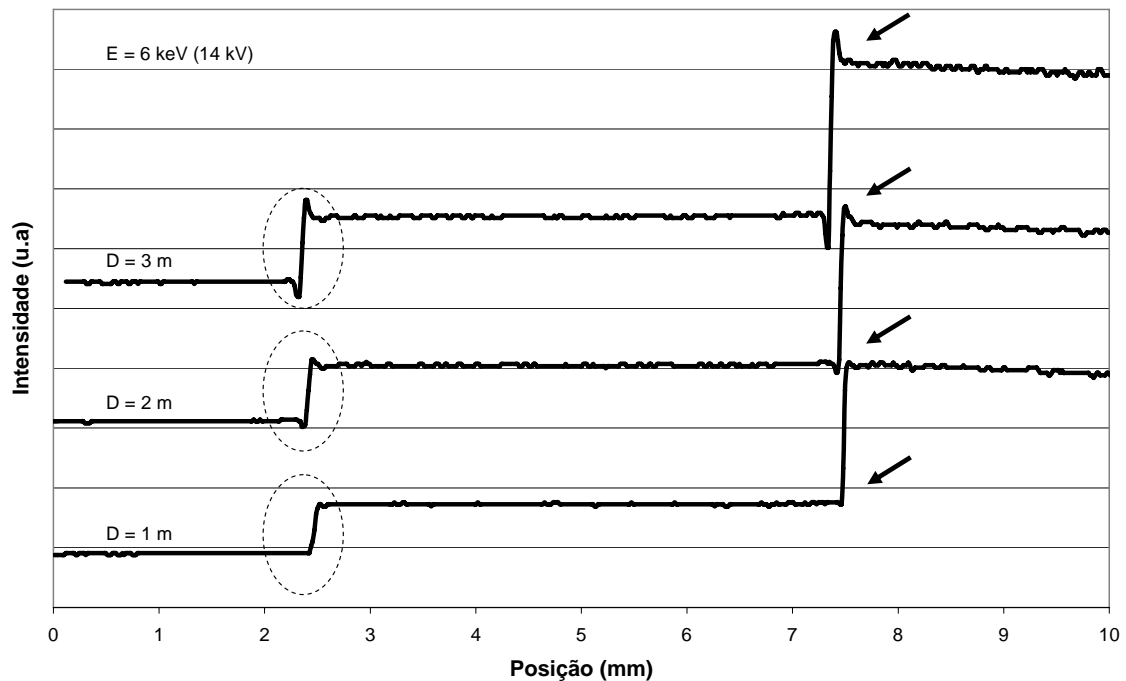


Figura IV-14 – Realce de borda em função da distância fonte-detector

A  $MTF_{20\%}$  (Função de transferência de Modulação) do sistema foi calculada através do software ISee(Demo) pela transformada de Fourier da LSF (Line Spread Function) que é obtida a partir derivada de um perfil traçado na imagem ou ESF (Edge Spread Function). O resultado obtido foi de 14 pares de linha por milímetro o que

equivale a uma resolução de 36 micrometros para um ensaio com 6 keV de energia e um filme de alta resolução. Estes valores foram obtidos com um fator de magnificação de 10 vezes e uma distância de 1 metro.

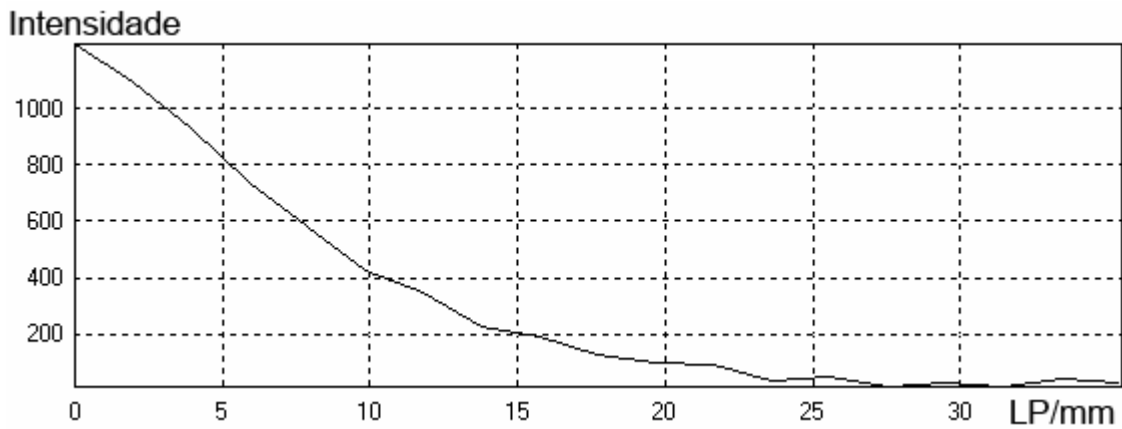


Figura IV-15 – MTF do sistema de radiografia por contraste de fase

Utilizando a técnica de fios duplos não foi possível obter um valor razoável, pois o padrão de fios disponível tinha valores muito grandes para o sistema.

### ***IV.3 Caracterização do sistema de realce por difração – DEI***

Uma das principais características de um sistema de detecção é a capacidade de observação de detalhes do objeto a ser estudado ou inspecionado. A esta propriedade de distinção é dado o nome de resolução espacial.

A seguir serão mostrados os corpos de prova utilizados para se obter a resolução espacial nos sistemas de radiografia e tomografia por realce de difração.

#### **IV.3.1 Resolução espacial do sistema montado no LNLS**

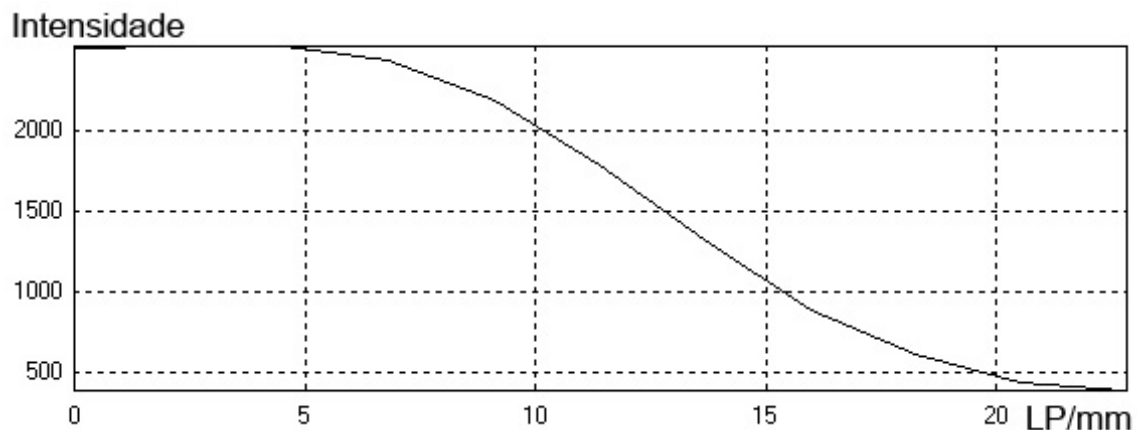


Figura IV-15 – MTF do sistema de DEI montado no LNLS

Para a caracterização preliminar da resolução espacial do sistema de DEI, foi calculada a  $MTF_{20\%}$  (Função de transferência de Modulação) obtida pela LSF e ESF de uma imagem adquirida no sistema de DEI. O resultado obtido foi de 20 pares de linha por milímetro o que equivale a uma resolução de 25 micrometros para um ensaio com 10 keV de energia e um detector CCD de tamanho de pixel igual a 22,5 micrometros.

### IV.3.2 Contraste em função da divergência

Foi utilizado para a caracterização do contraste um corpo de prova constituído de 6 tubos de dimensões padronizadas, dispostos como mostrado na figura IV-16, onde os valores padrões de cada tubo são mostrados na tabela IV-1. Este corpo de prova foi submetido a uma série de ensaios onde foi avaliada a capacidade do sistema em distinguir diferentes diâmetros de furos. De posse dos resultados foi possível avaliar a resolução espacial do sistema.

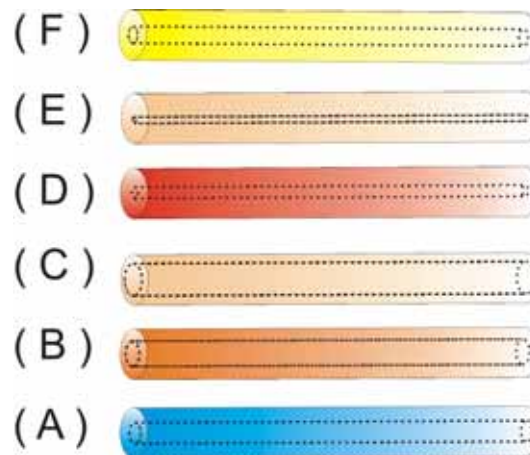


Figura IV-16 – Corpo de provas padrão para verificação da divergência vertical

Tabela IV-1 – Dimensões dos tubos.

Tubos		Dimensão (mm)		
Cor		Diam. Interno	x	Diam. Externo
Azul	(A)	0,2540	x	1,5748
Laranja	(B)	0,5080	x	1,5748
Nat 1	(C)	1,0160	x	1,5748
Vermelho	(D)	0,1270	x	1,5748
Nat 2	(E)	0,0635	x	1,5748
Amarelo	(F)	0,1778	x	1,5748

Um segundo ponto importante em sistemas baseados em técnicas de realce por difração é como o sistema se comporta em relação à posição angular do cristal analisador ou, o que acontece com a imagem detectada dependendo da posição em que o cristal analisador foi colocado em relação à curva de refletividade (“rocking curve”).

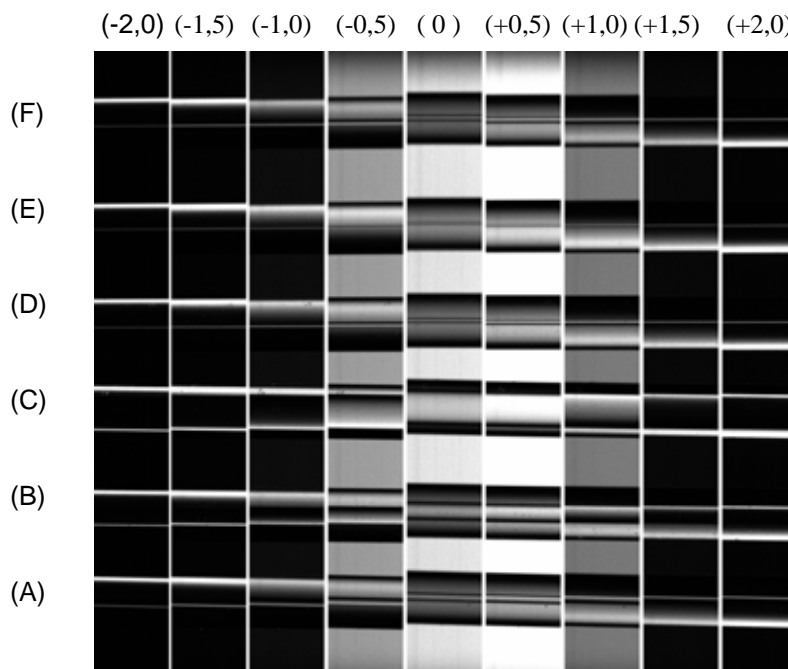


Figura IV-17 – Cortes do corpo de provas mostrando imagens em diferentes posições da “rocking curve”

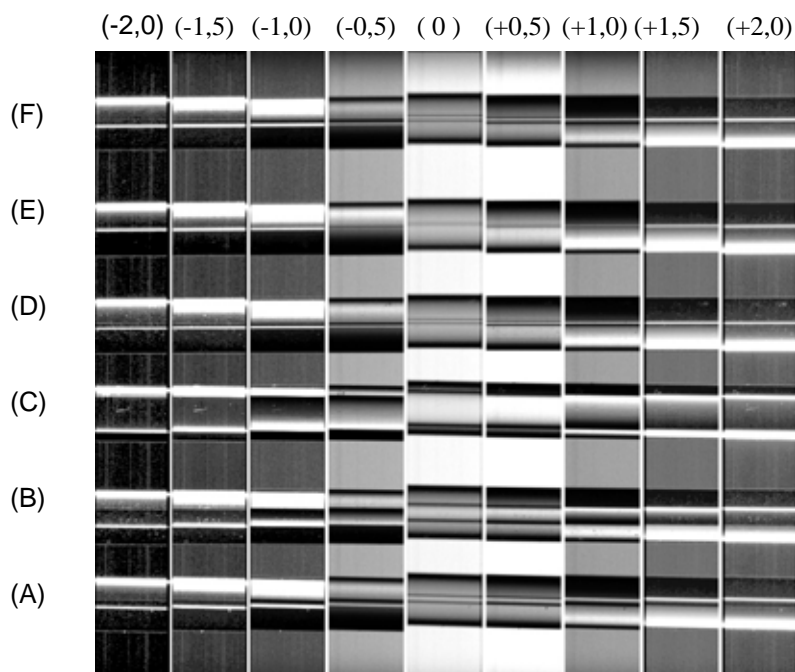


Figura IV-18 – Cortes do corpo de provas com tratamento para minimizar os efeitos de intensidade

A figura IV-17 e IV-18 mostram o realce de bordas que o sistema realçado por difração é capaz de proporcionar. Apesar do número de fótons diminuir com o distanciamento angular do cristal analisador em relação ao zero, podemos notar que o contraste do objeto em relação às bordas aumenta bruscamente até um ponto de saturação local do detector.

O gráfico da figura IV-19 é um perfil dos pontos  $-1,0$  arcseg, topo (zero) e  $+1,5$  arcseg. Neste gráfico pode-se notar um aumento do contraste de bordas em todos os tubos. O aumento de contraste está relacionado ao desvio angular (ultra baixo ângulo) que o feixe sofre ao passar por uma superfície de borda acentuada. Os feixes desviados são selecionados pelo cristal analisador e realçam o contraste dessas bordas.

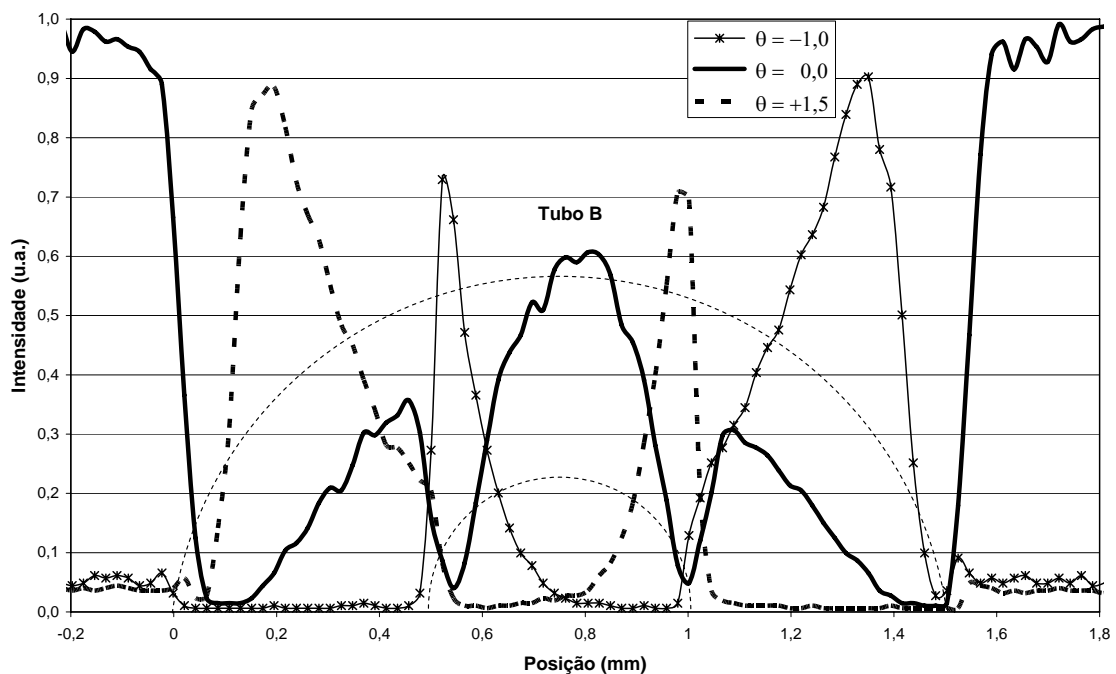


Figura IV-19 – Perfil do tubo (B) em diferentes posições da “rocking curve”.

O feixe síncrotron possui uma divergência natural na horizontal que é igual a aproximadamente  $10^{-3}$  radianos. Na vertical após passar pelo monocromador da linha e pelos cristais do difratômetro duplo eixo, a divergência ficou em aproximadamente igual a  $10^{-6}$  radianos. Como o sistema de realce por difração é totalmente dependente da divergência do feixe, esta diferença ocasiona uma capacidade de observação diferente na horizontal e vertical. Observando a figura IV-20 e o gráfico da figura IV-21 notamos que o sistema é capaz de distinguir melhor os detalhes na vertical em função da melhor

divergência na vertical obtida pelos cristais sulcados (channel cut) instalados no difratômetro duplo eixo.

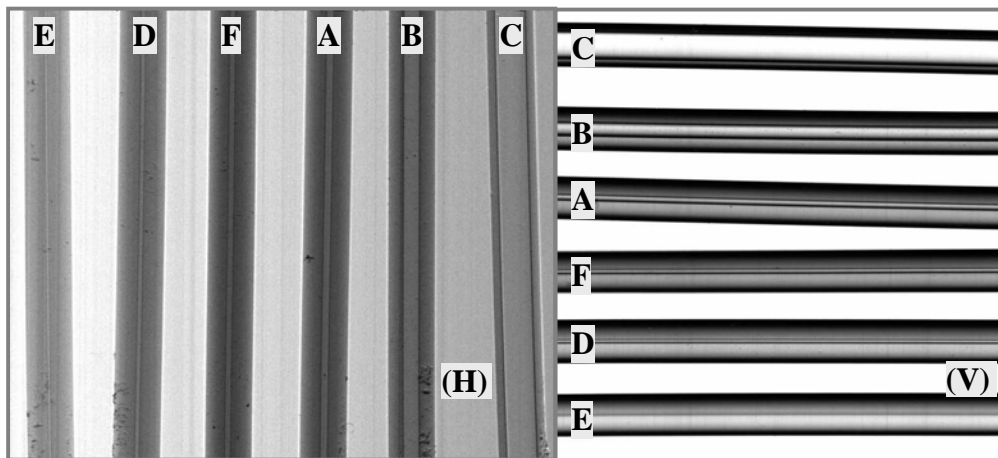


Figura IV-20 – Radiografias realizadas por difração de um padrão de fios para observação da diferença de divergência na horizontal(H) e vertical(V).

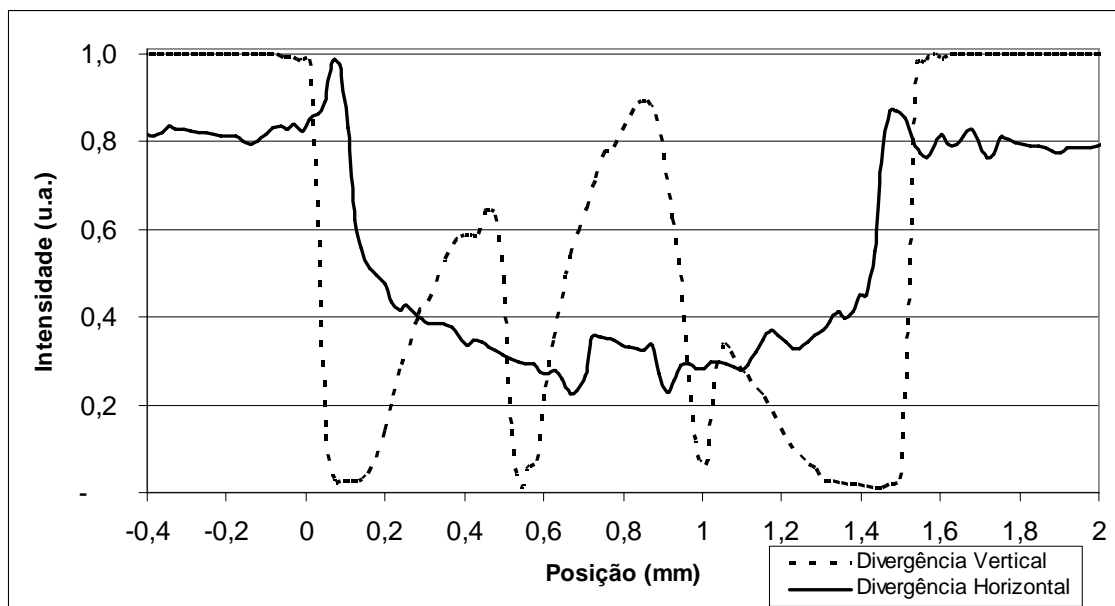


Figura IV-21 – Perfil dos tubos (B) no topo da “rocking curve” para observação da diferença de contraste na horizontal e vertical

Um dos fatores mais importantes atribuídos a sistemas baseados em técnicas de contraste de fase e realce por difração é a capacidade em distinguir objetos com coeficientes muito próximos ou praticamente idênticos. Para testar esta capacidade foi feito um estudo com simulações no software XCOM<sup>8</sup> conforme gráfico da figura IV-22 onde se procurava obter materiais cujos coeficientes de atenuação fossem muito

próximos. Foi então construído um corpo de provas de nylon imerso em metanol o qual foi submetido a radiografias de topo e de flanco da RC.

Os resultados são mostrados na figura IV-23. Note que é possível observar o fio de nylon mesmo no interior do metanol.

Um perfil do fio de nylon foi traçado dentro (interno) e fora (externo) do metanol. Estes perfis são mostrados na figura IV-24 para a posição de topo da RC e na figura IV-25 no flanco da RC.

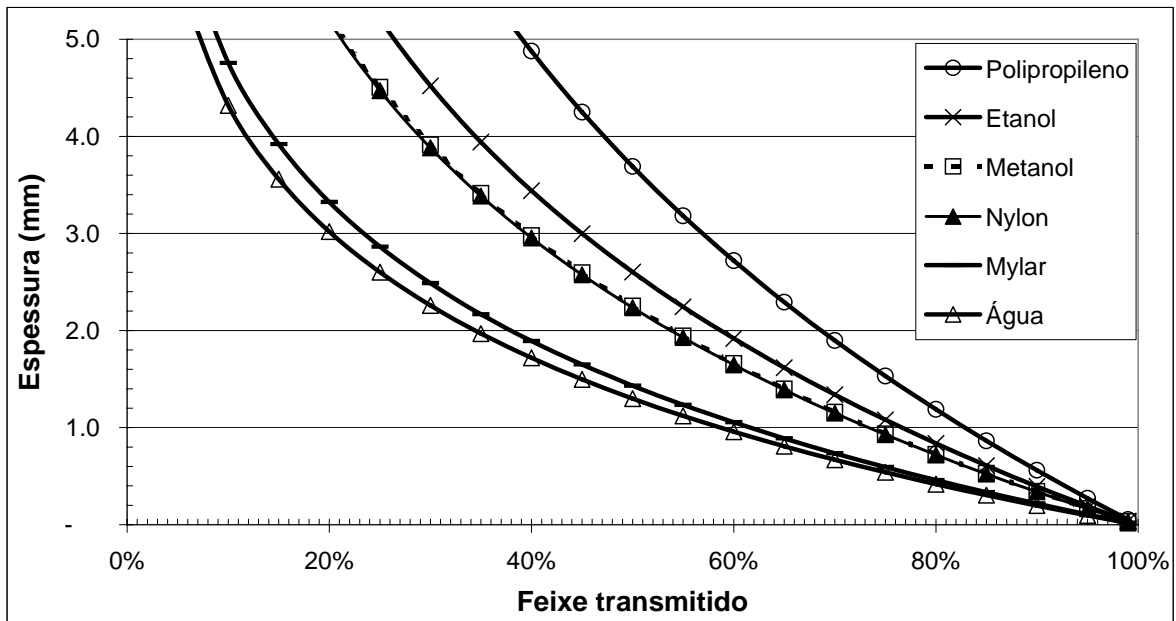


Figura IV-22 – Curvas simuladas para atenuação a 10 keV

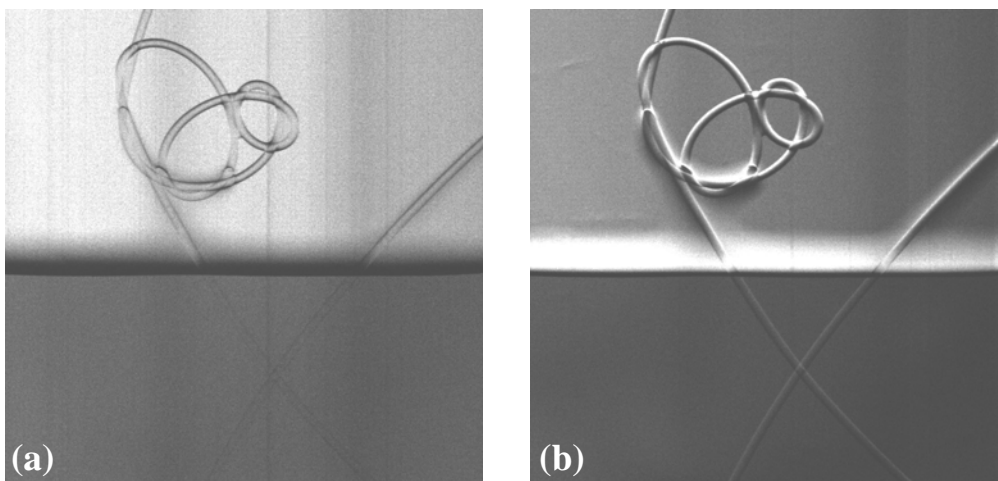


Figura IV-23 – DEI no topo (a) e no flanco (b) de um fio de nylon parcialmente imerso em metanol

<sup>8</sup> Disponível em <http://physics.nist.gov/PhysRefData/Xcom/Text/XCOM.html>. Acesso em 16/05/2007.



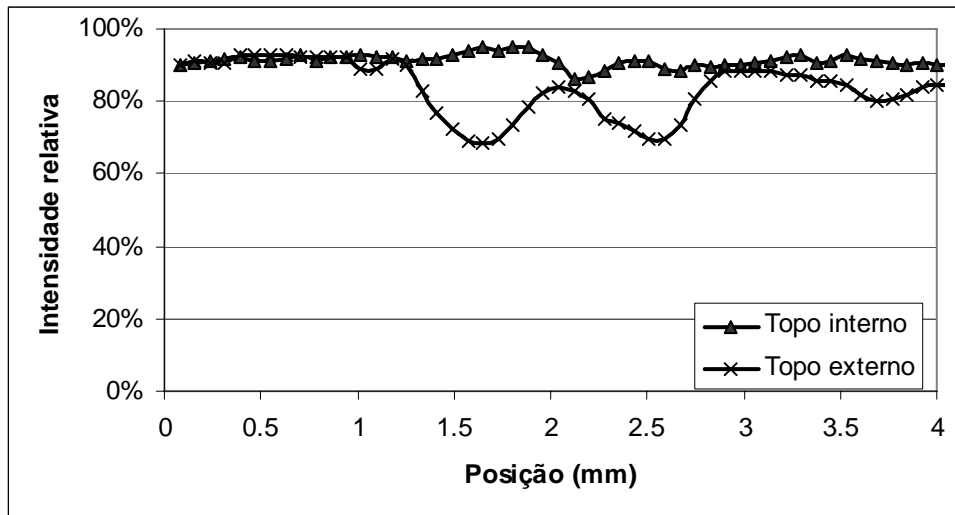


Figura IV-24 – Perfil de uma radiografia por DEI de um fio de nylon no topo da RC

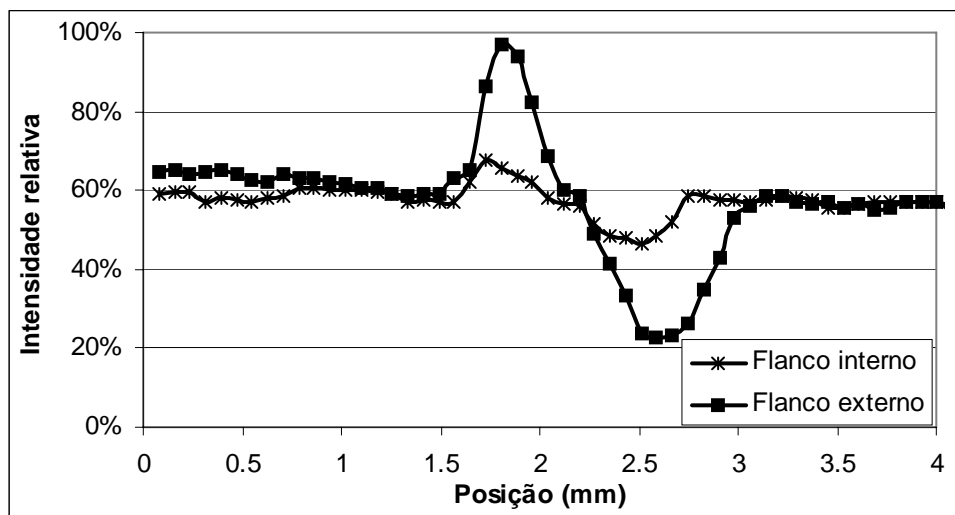


Figura IV-25 – Perfil de uma radiografia por DEI de um fio de nylon dentro e fora do metanol no flanco da RC

### IV.3.3 Resolução espacial em tomografia

Um conjunto de tubos padronizados iguais aos utilizados para caracterizar o sistema radiográfico foi utilizado como o disposto na figura IV-26 para observar a resolução do sistema tomográfico. Como o sistema de realce por difração é pouco sensível a atenuação, os processos convencionais não são adequados para se obter a resolução espacial, pois o sistema fica sempre limitado a resolução do detector, que neste caso é de 22,5 micrometros. Nota-se, portanto, nos planos reconstruídos pelos métodos de extinção, contraste por refração e contraste por difração que todos os furos foram visualizados.

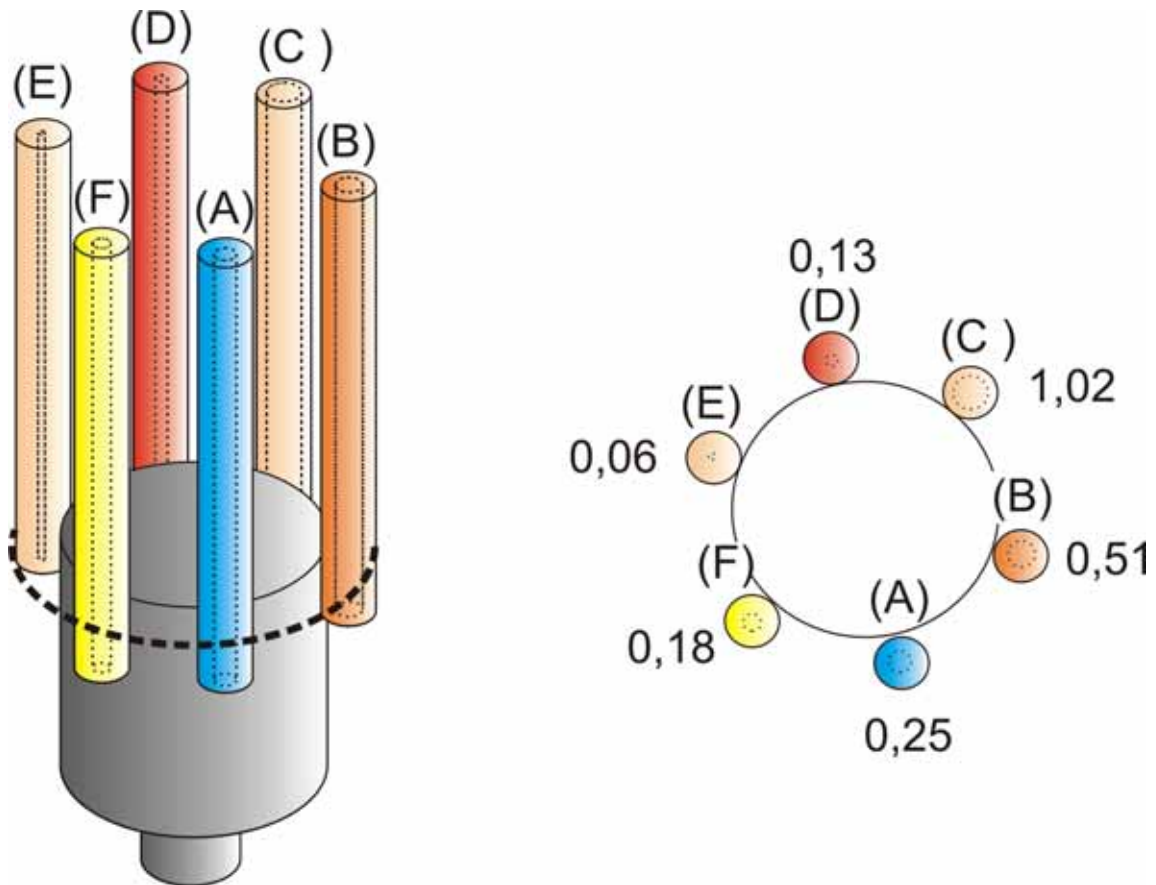


Figura IV-26 – Corpo de provas padrão para verificação da resolução espacial em tomografia com seus valores internos representados em milímetros

Na figura IV-27 são mostradas as reconstruções tomográficas, do corpo de provas padrão, por extinção (analisador colocado no topo da curva de refletividade) (A) e pelos processos matemáticos, descritos no cap. II.5.6, e realizados nos dados de cada projeção das imagens adquiridas em ambos os lados da curva de refletividade para se obter o contraste por refração (B) e por difração (C). Esses dados corrigidos foram então utilizados para a reconstrução de uma seção do objeto.

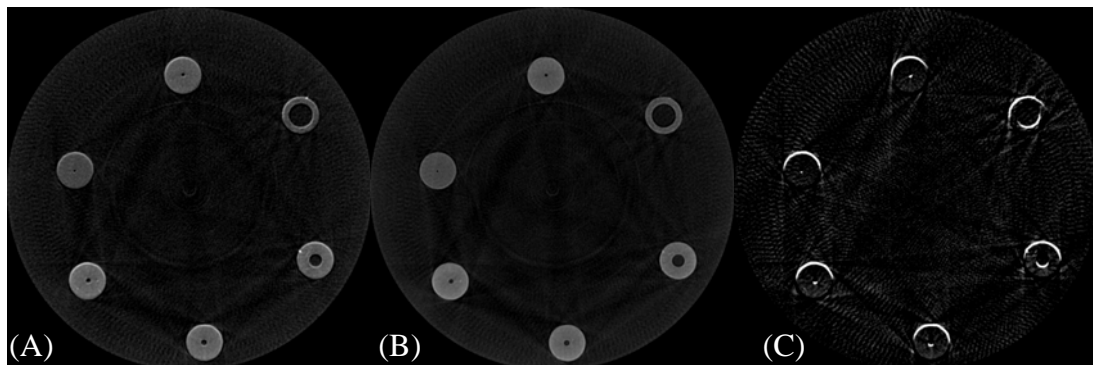


Figura IV-27 – Reconstrução tomográfica de contraste por extinção (A), contraste por refração (B) e por contraste por realce de difração (C) de tubos padrões.

## ***IV.4 Aplicação do Sistema em Biologia***

### **IV.4.1 Estudos do desenvolvimento e características morfológicas de pré-natos de morcegos e recém nascidos de marsupiais.**

Neste estudo<sup>[8]</sup> foram examinados os padrões de desenvolvimento da formação craniana de morcegos em indivíduos pré-natos e em marsupiais recém nascidos através de microrradiografia convencional e realçada por difração.

A chave para o entendimento dos caracteres evolutivos está na elucidação dos mecanismos evolutivos que estão por detrás dos padrões observados. O desenvolvimento comparativo pode ser usado para se ter acesso às variações e derivações de forma (variações de tamanho e formato de estruturas) e para comparar a homologia em relação à convergência dos caracteres evolutivos.

Os dados ontogenéticos tem sido usados para o estudo da homologia pela análise comparativa das seqüências ontogenéticas e pela análise dos padrões de variabilidade entre grupos taxonômicos.

A homologia filogenética refere-se ao estudo das estruturas que vieram de uma certa característica em ancestrais comuns e são compartilhadas por dois ou mais grupos taxonômicos. A homologia biológica refere-se à característica que são compartilhadas em um grupo específico de desenvolvimento restrito. O entendimento filogenético e biológico é necessário para entender as origens evolucionárias das espécies.

Este estudo utilizou o arranjo experimental com fonte de luz síncrotron desenvolvido no experimento #1672.

O trabalho possibilitou a observação de estruturas, principalmente da morfologia craniana, que até então eram impossíveis de serem vistas nesses estágios de desenvolvimento com as técnicas convencionais.

As técnicas tradicionalmente usadas como a diafanização não permitem a observação destas estruturas na escala observada, além de serem técnicas destrutivas.

Alguns caracteres cranianos têm sido descritos na literatura para indivíduos adultos, mas a descrição detalhada da seqüência de aparecimento desses caracteres para morcegos pré-natos e marsupiais recém nascidos é ainda desconhecida.

A microrradiografia convencional e a realçada por difração podem incrementar qualitativamente os detalhes morfológicos analisados, permitindo uma identificação mais precisa dos marcos evolutivos que são comumente utilizados nos estudos comparativos e que são ainda desconhecidos para estas amostras de morcegos e marsupiais.

Neste trabalho foi possível observar os caracteres evolutivos da morfologia craniana de ambas as espécies, utilizando principalmente a técnica de microrradiografia convencional e microrradiografia realçada por difração.

Na figura IV-28 são mostradas as microrradiografias de um *Micoureus demerarae* em 8 e 17 keV respectivamente. As estruturas identificadas nas figuras são descritas na tabela IV-2.

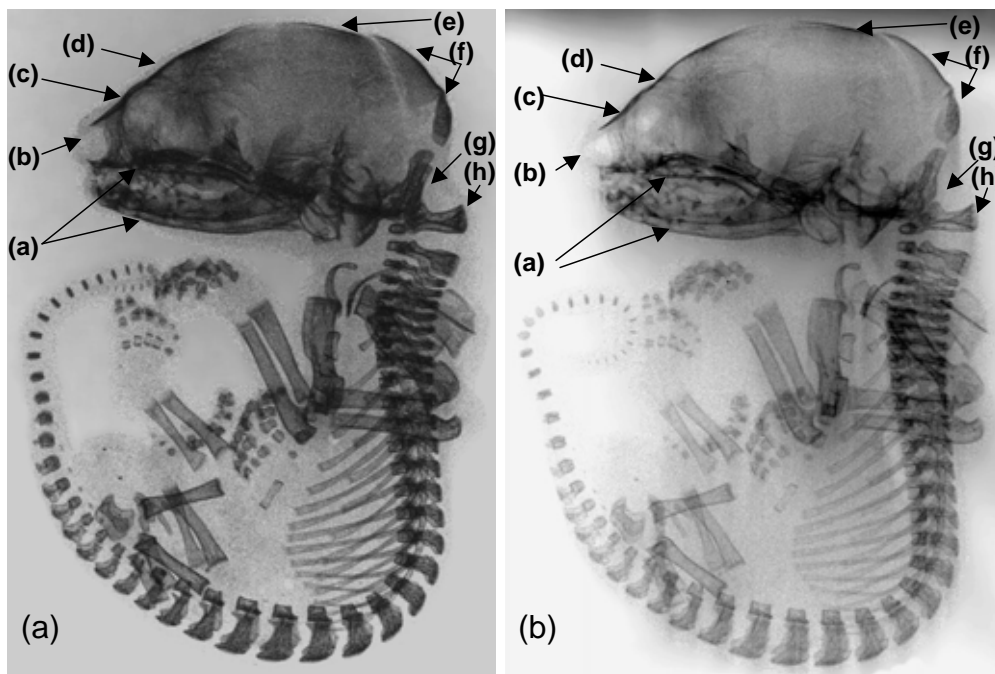


Figura IV-28 – Microrradiografia de um *Micoureus demerarae*, feita com 8 keV (a) e com 17 keV(b)

Tabela IV-2 – Identificação de estruturas

POSIÇÃO	DESCRIÇÃO
(a)	Mandíbula
(b)	Nasal
(c)	Orbital
(d)	Frontal
(e)	Região parietal

(f)	Região occipital
(g)	Foramen magnum
(h)	Atlas

A primeira radiografia por contraste de fase feita no LNLS pode ser vista na figura IV-29 onde osso palatal (a) e a região orbital (b) puderam ser detectadas.

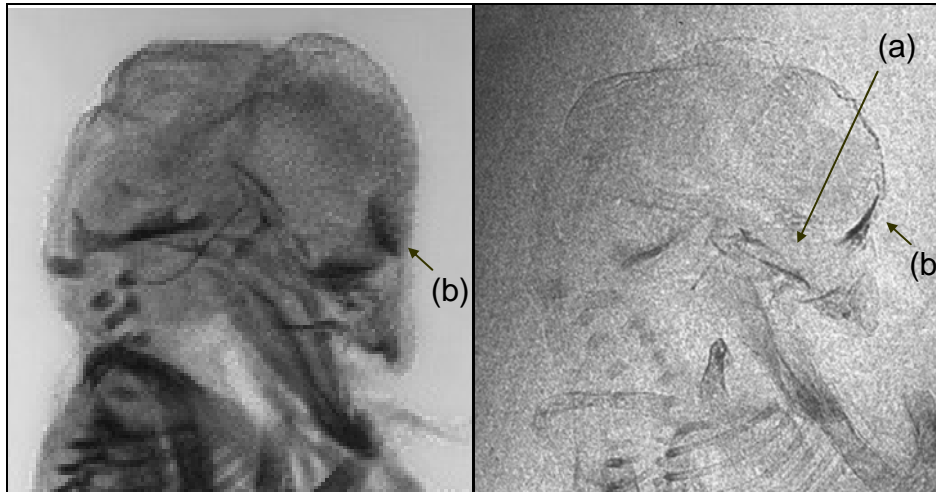


Figura IV-29 – Radiografia convencional (1) e primeira imagem de contraste de fase com 14 keV de um *Desmodus rotundus* feita no LNLS

Os estudos voltados para a área biológica foram aprimorados no 4º e 5º experimentos (1995-2407) onde foi possível observar com maiores detalhes um feto de *Desmodus rotundus* em seus primeiros estágios de desenvolvimento além de obter imagens mais aprimoradas dos demais espécimes já estudadas<sup>[11]</sup>.

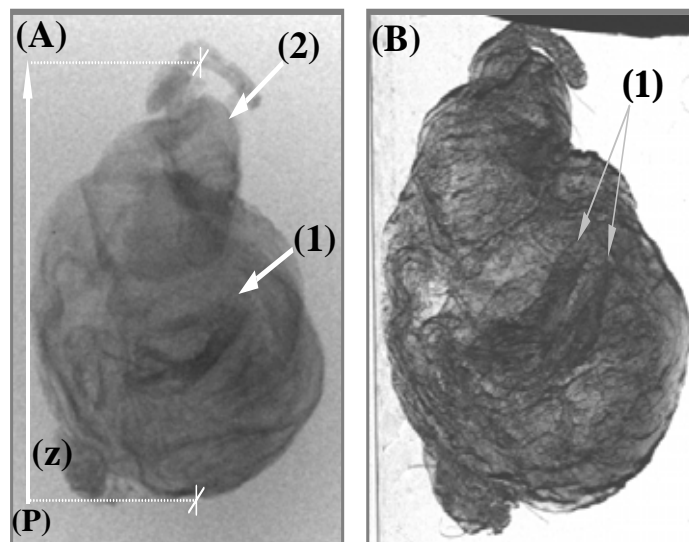


Figura IV-30 – Microradiografia convencional (A) e DER (B) de um feto de *Desmodus rotundus* (MN67918), eixo antero-posterior(z), região orbital(2) e antebraço(1)

Na figura VI-30 pode ser visto uma imagem microrradiográfica comparada com uma DER do feto de morcego em seus primeiros estágios de desenvolvimento. Está destacado nesta imagem a região orbital e os antebraços (1) que pode ser visto com maiores detalhes, na imagem realçada por difração (B). A presença de um do segundo antebraço serviu para provar que o espécime inicia o desenvolvimento dos braços nos primeiros estágios de desenvolvimento.

Na imagem IV-31 foi realizada ligeiramente deslocada do topo da RC, por esse motivo percebesse detalhes das estruturas mais superficiais do animal.

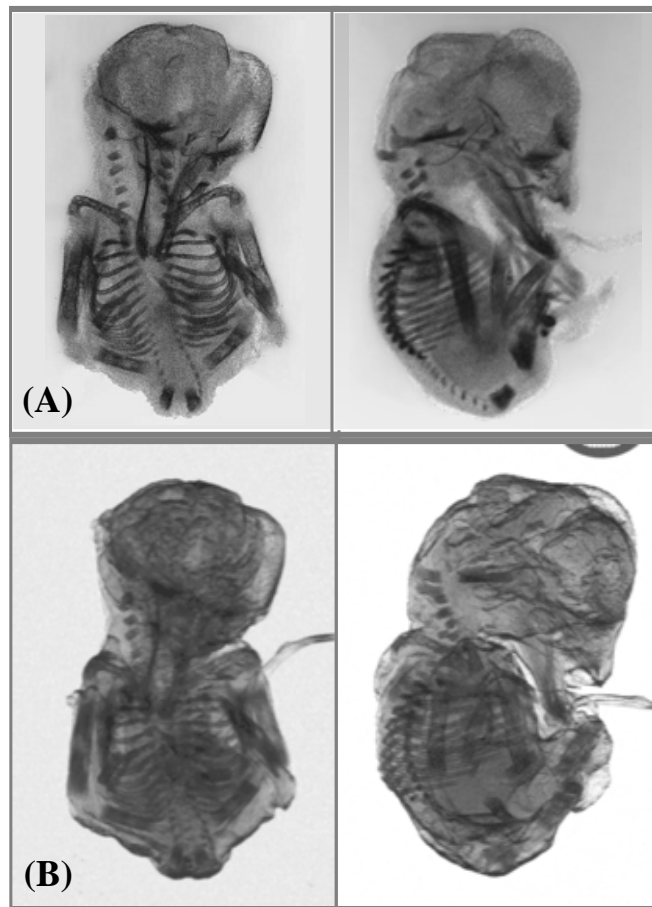


Figura IV-31 – Microrradiografia convencional (A) e DER (B) de um feto de *Desmodus rotundus* (MN67667) em um segundo estágio de desenvolvimento

Na realização de aquisições com o cristal na posição de maior intensidade (topo) pode-se observar detalhes mais internos da amostra, principalmente de tecidos leves como cartilagens e ossos, levando o cristal para posições mais afastadas do topo da RC pode-se observar detalhes até mesmo da textura da pele e de pêlos como pode ser visto na figura VI-32.

Na figura IV-33 (d) na imagem realçada por difração o osso palatal pode ser observado a partir de uma radiografia realçada por difração o que não podia ser feito na radiografia convencional.

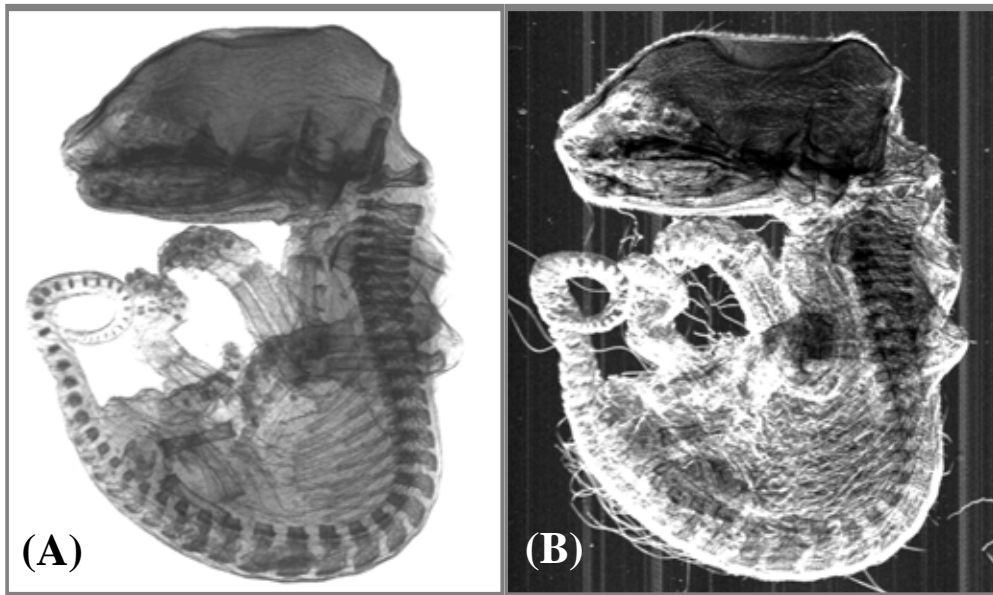


Figura IV-32 – DER (A) no topo da “rocking curve” e no flanco (B) de um pós-nato de marsupial (MN68530)

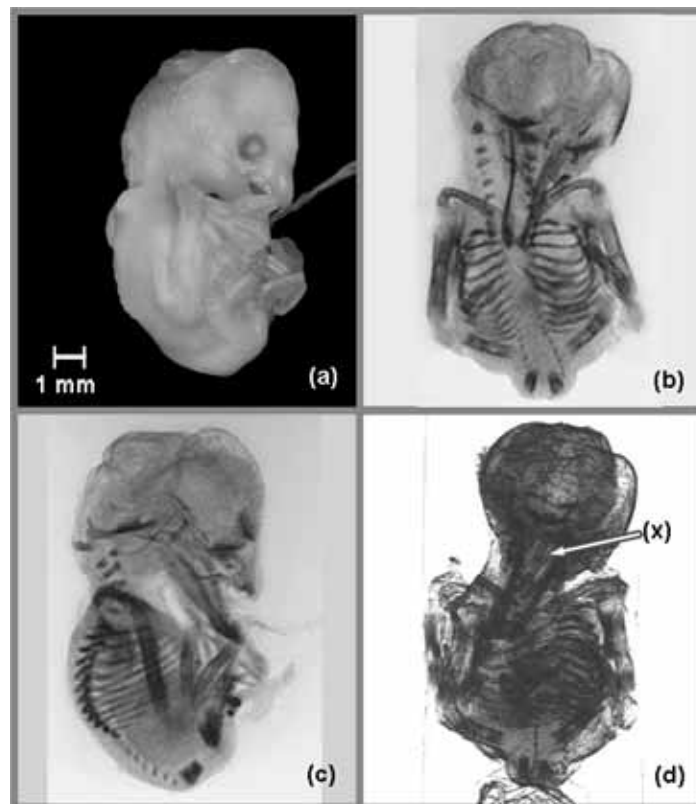


Figura IV-33 – Fotografia (a) microradiografia convencional (c , d) e DER (d) de um feto de *Desmodus rotundus* (MN67667)

Na figura IV-34 são mostradas as imagens de realce por difração de um *Desmodus rotundus* em seu terceiro estágio de desenvolvimento. As radiografias foram feitas no topo da RC onde podemos notar diversos detalhes internos do animal com a região occipital (1), a região nasal (2), a região mandibular (3), as mãos (4) e pés (5).

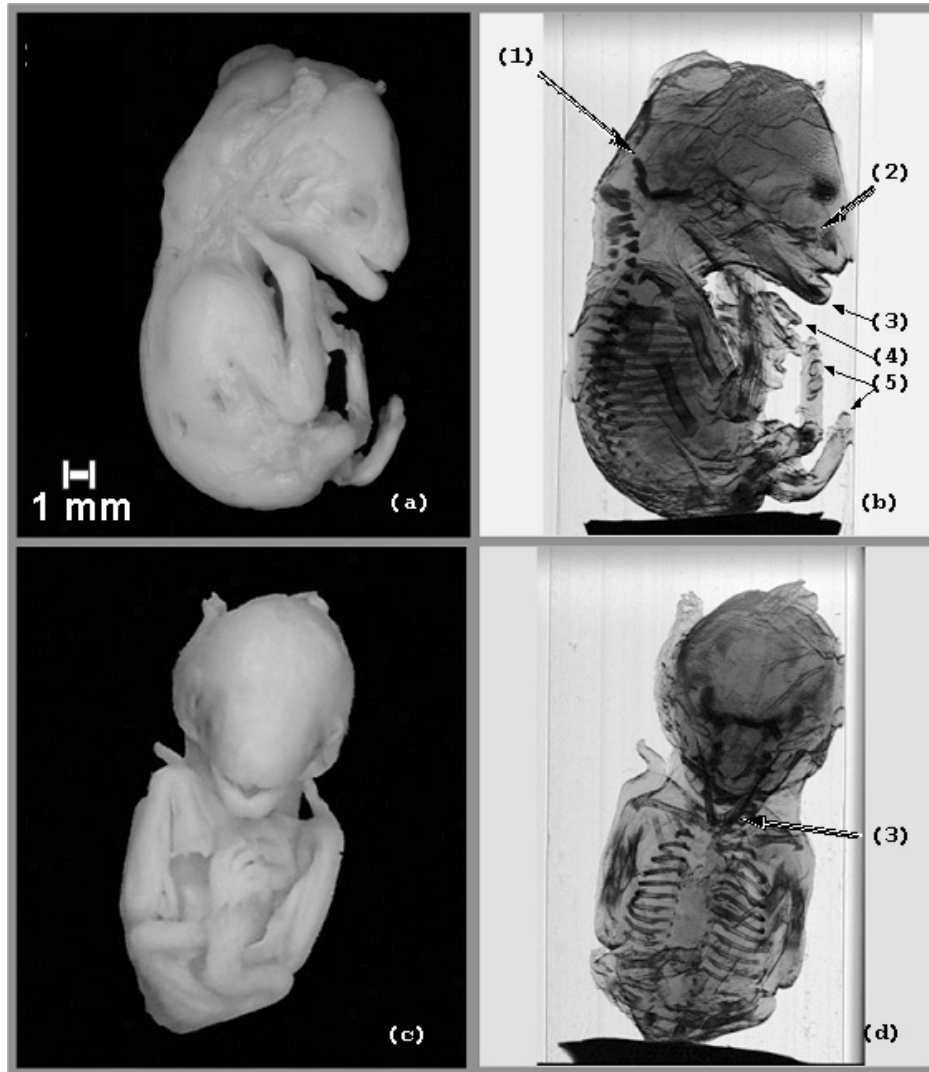


Figura IV-34 – Fotografia (a,c) e DER (b,d) de um feto de *Desmodus rotundus* (MN67944)

#### IV.4.2 Estudos de ossificação dérmica e hiperossificação em *Brachycephalus*

Este estudo está em fase de desenvolvimento onde seus primeiros resultados foram obtidos no projeto 3469. Nele pretende-se observar detalhes de desenvolvimento em *Brachycephalus* de várias espécies através de DER e determinar zonas de maior e



menor calcificação no crânio destes animais através de microradiografias com fonte monocromática. Os primeiros resultados podem ser observados nas figuras IV-35 e IV-36.

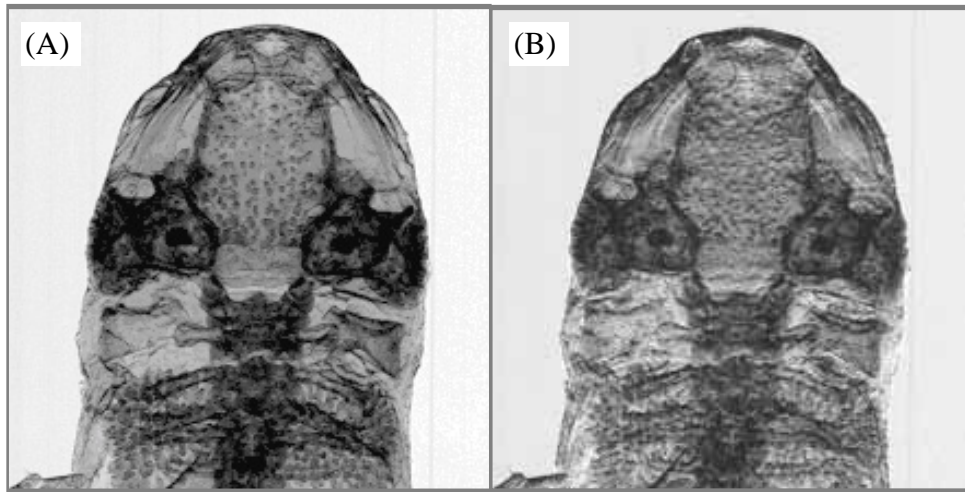


Figura IV-35 – DER (A) no topo da “rocking curve” e no flanco (B) de um *Brachycephalus sp*

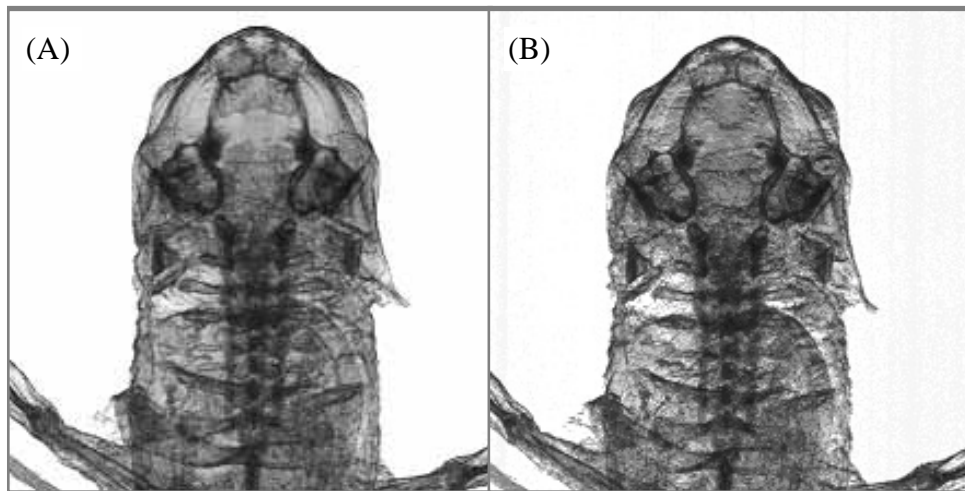


Figura IV-36 – DER (A) no topo da “rocking curve” e no flanco (B) de um *Brachycephalus pernix*

Fazendo-se uma comparação da calcificação entre as duas espécies pela média global de uma área selecionada, mostrada na figura IV-37, observou-se que a espécie *Brachycephalus sp* tem uma calcificação 8% maior que a *Brachycephalus pernix*. Comparando os valores máximos de cada área selecionada foi obtida uma diferença de aproximadamente 34%. Observando os resultados pelo gráfico da figura IV-38, podemos notar que a calcificação em certos pontos é nitidamente acentuada na espécie *Brachycephalus sp*.

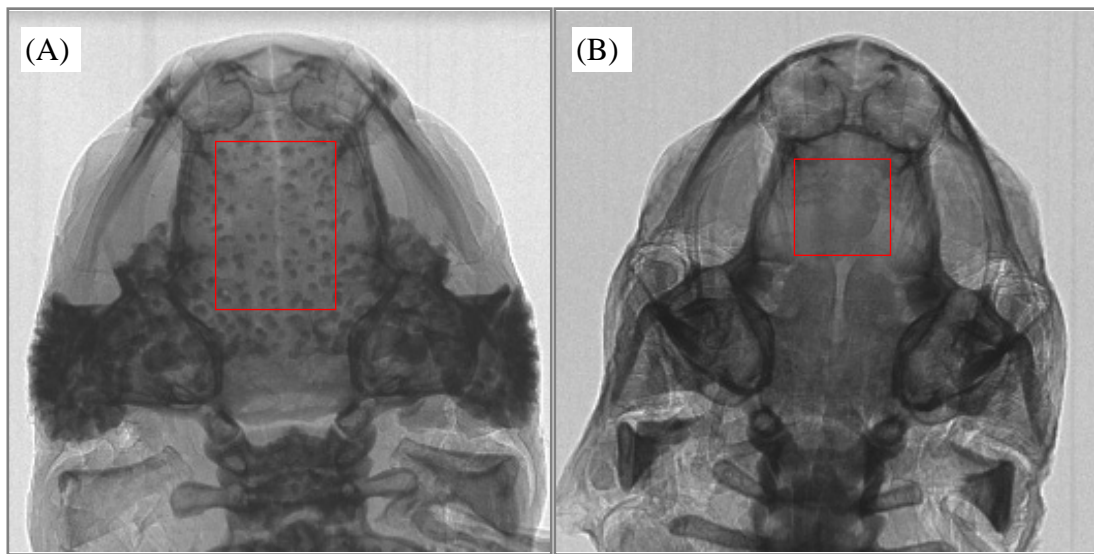


Figura IV-37 – Radiografia convencional com feixe monocromático de 10,4 keV de (A) *Brachycephalus ehippium* e (B) *Brachycephalus brunneus*

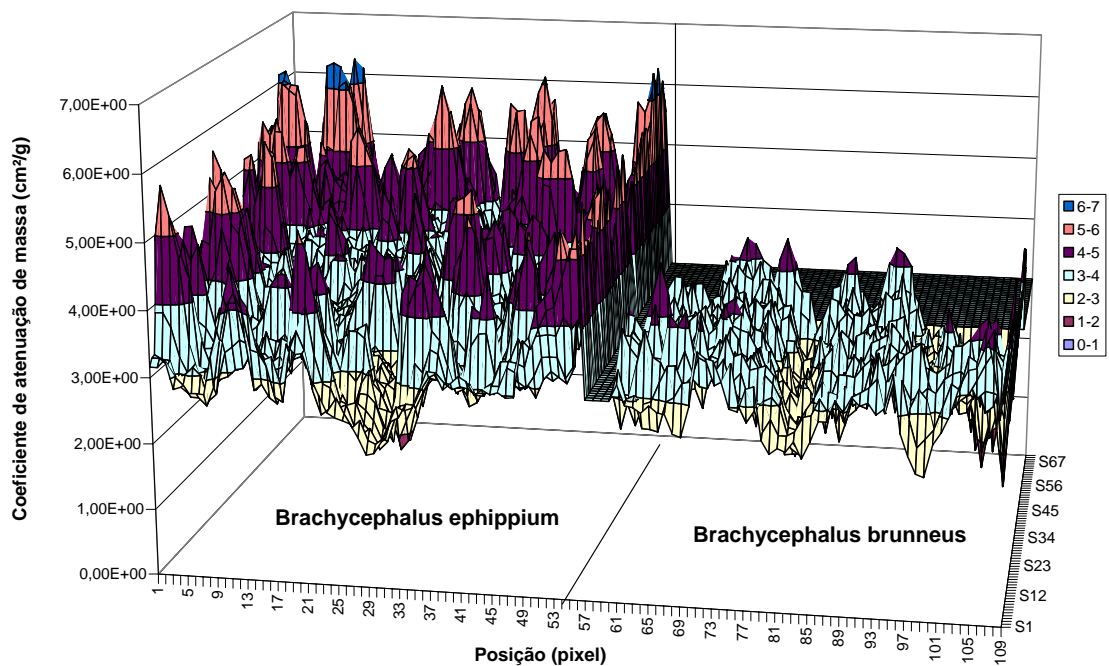


Figura IV-38 – Representação gráfica da calcificação craniana

A seguir foram feitos estudos para tentar observar como as espécies estudadas evoluíram de seus ancestrais. Este estudo foi feito a partir de uma análise multivariável para verificar se os marcos anatômicos convergiram para pontos comuns entre as espécies. Os pontos marcados na figura IV-39 são os marcos anatômicos. Esses marcos são utilizados como referência para observar como o crânio no animal foi modificado com o processo evolutivo.

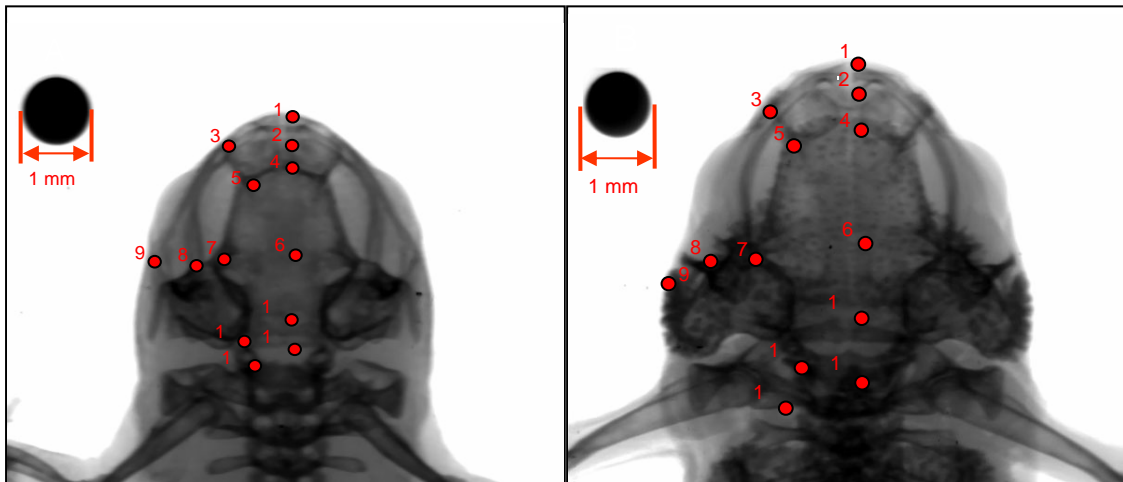


Figura IV-39 – Marcos evolutivos

Observando a distribuição desses pontos através de uma análise multivariável é possível comparar se as amostras estudadas pertencem ao mesmo ancestral comum.

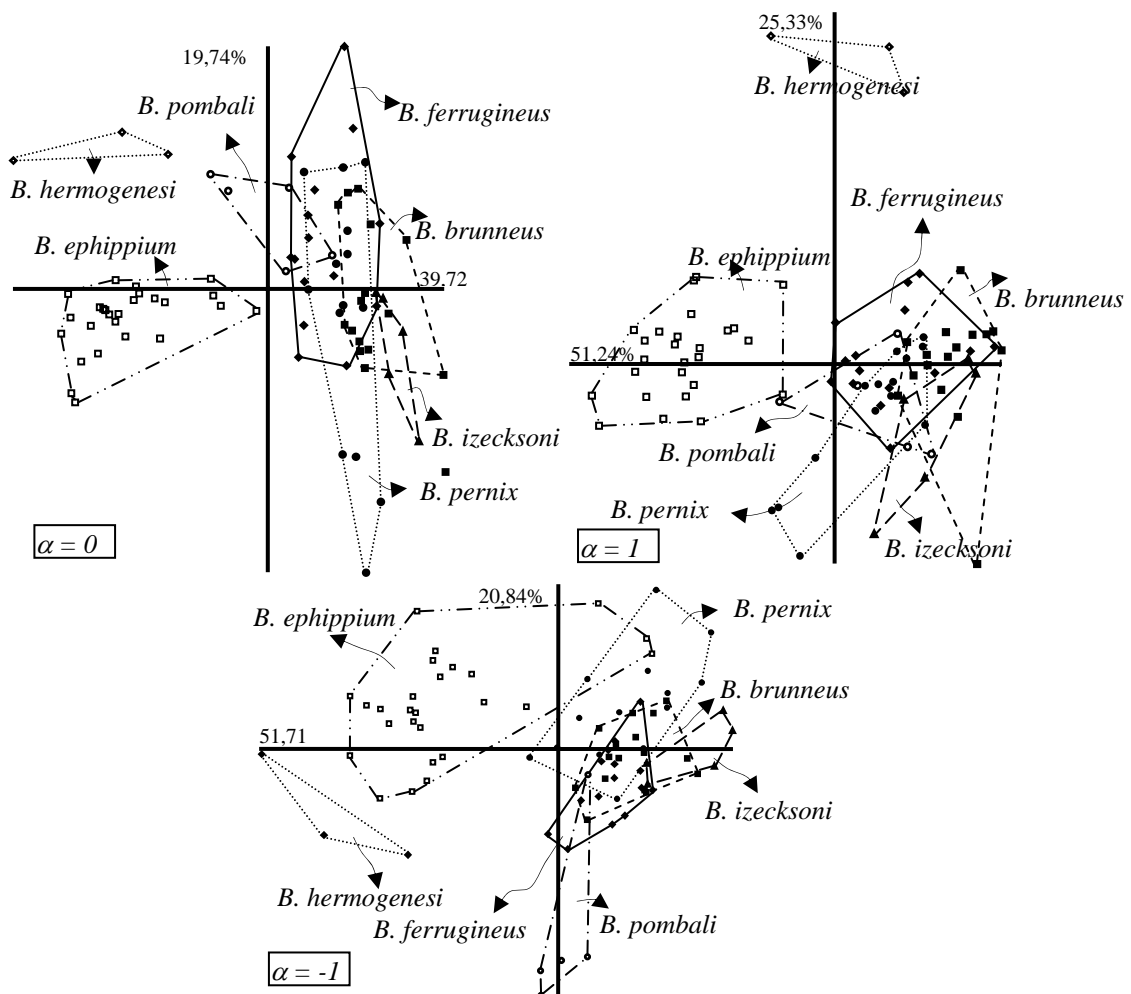


Figura IV-40 – Análise multivariável de *Brachycephalus*

Quando esses pontos são colocados em um espaço multidimensional, ao projetarmos sua distribuição em um plano bidimensional, pode-se verificar se uma espécie evoluiu da mesma forma que as outras. A análise independe do tamanho do animal, da sua idade ou sexo. Se um animal pertence à mesma espécie que outro, os marcos estarão distribuídos de forma proporcional. Ao projetar os pontos em planos ditos  $\alpha = 0$ ,  $\alpha = 1$  e  $\alpha = -1$ , fig. IV-40, pode-se dizer se uma espécie pertence ao mesmo grupo de outra ou se ele pode pertencer a outro grupo ou outra subespécie.

#### IV.4.3 Estudos de características anatômicas de báculos de morcegos para caracterização de espécimes.

Este estudo é preliminar e tem por objetivo dar suporte à identificação de espécimes diferentes que possuem caracteres físicos idênticos e que não puderam ser identificados pelos métodos convencionais. O uso do báculo é uma ferramenta valiosa como forma de eliminar dúvidas a respeito da identificação de uma espécie.

Os resultados preliminares a respeito do uso de radiografia por realce de difração são mostrados nas figuras IV-41(A) e (B).

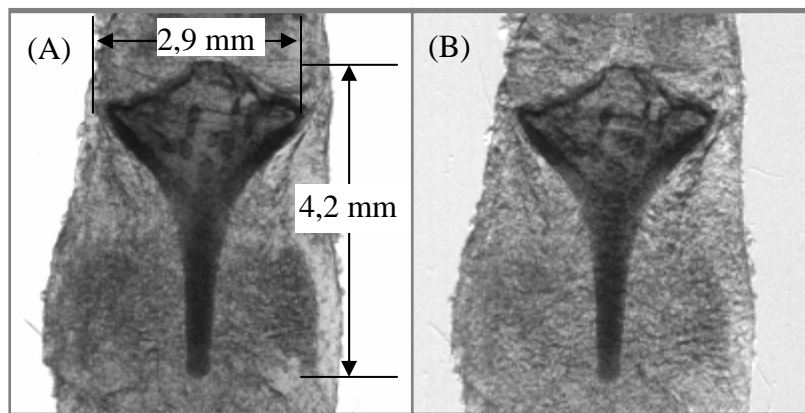


Figura IV-41 – Radiografia por realce de difração no topo (A) e ligeiramente no flanco (B) da “rocking curve”

### IV.5 Aplicação do Sistema em Botânica

#### IV.5.1 Estudo preliminar para identificação de canais em plantas.

Este estudo preliminar foi feito para avaliar se o sistema poderia ser utilizado para identificar canais de ar no interior das nervuras de plantas do tipo *Philodendron crassineuim*. Os resultados são mostrados na figura IV-42 e IV-43.

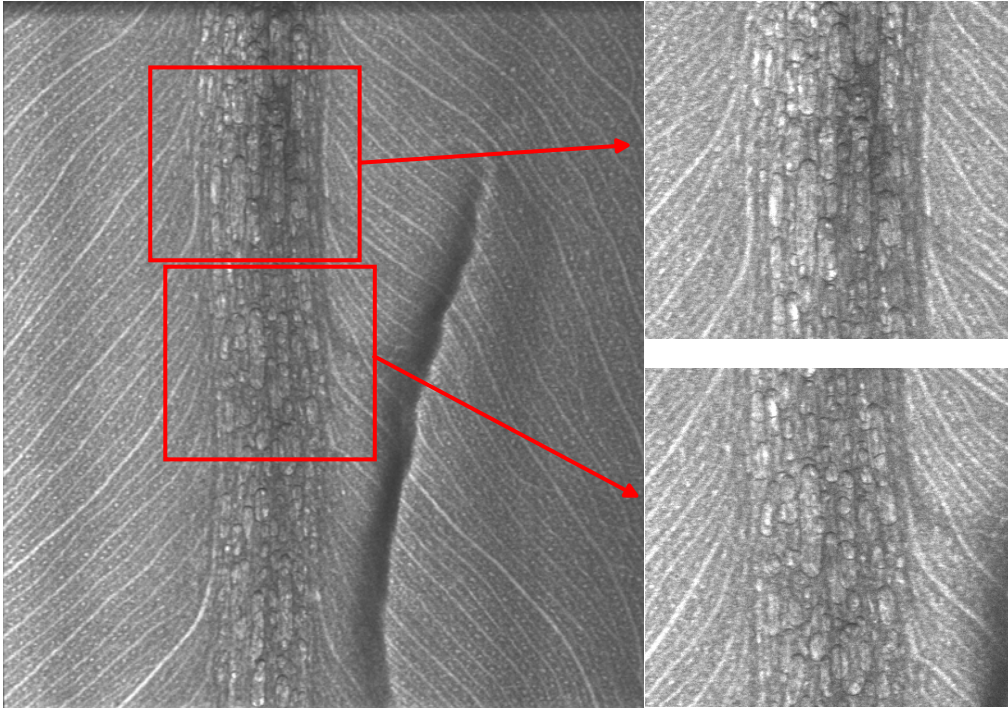


Figura IV-42 – Radiografia por realce de difração no topo da RC (extinção)

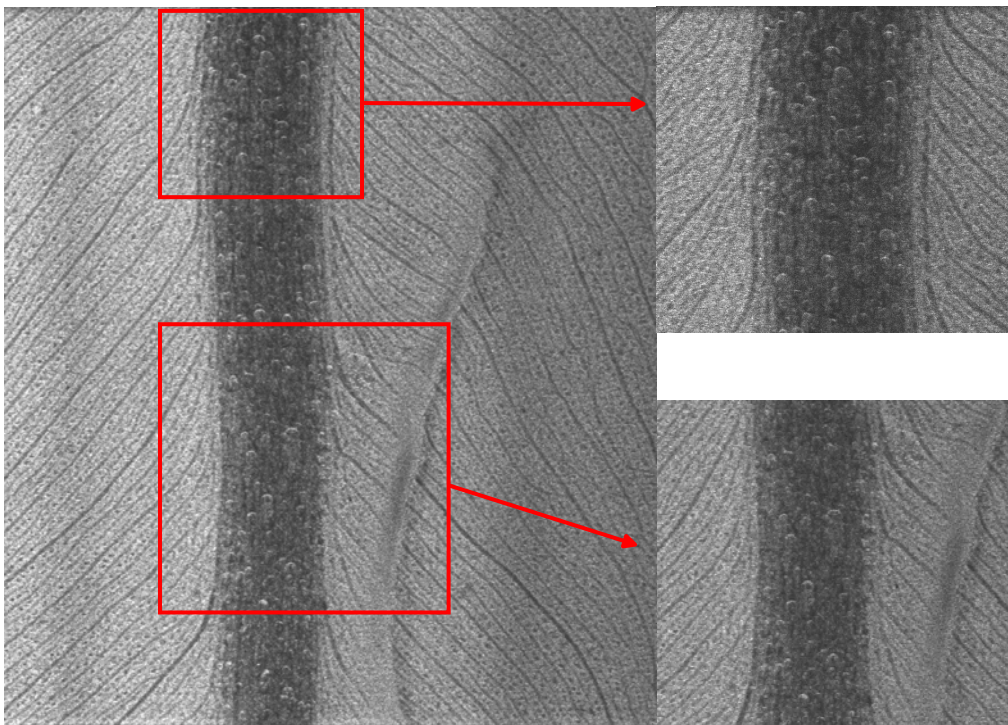


Figura IV-43 – Radiografia por realce de difração no flanco da RC

## IV.6 Aplicação do Sistema em Física Médica

### IV.6.1 Estudos de identificação de bócio multinodular de tireóide

Na área de física médica foi desenvolvido um trabalho de identificação de tecidos normais e patológicos de tireóide.

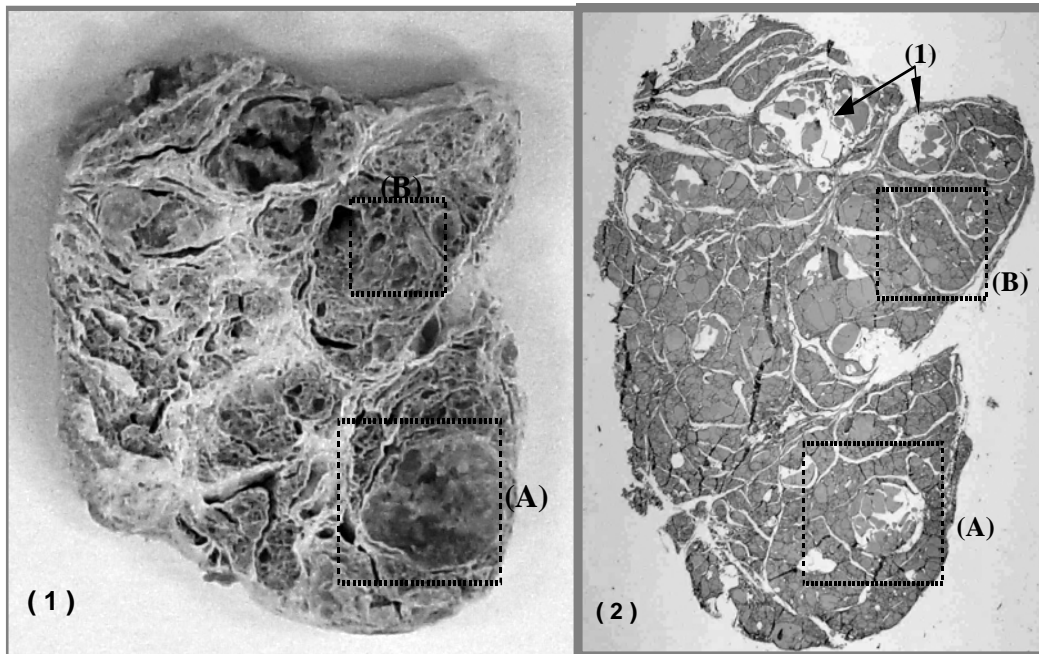


Figura IV-44 – Radiografia convencional (1) e imagem de lâmina histológica (2)

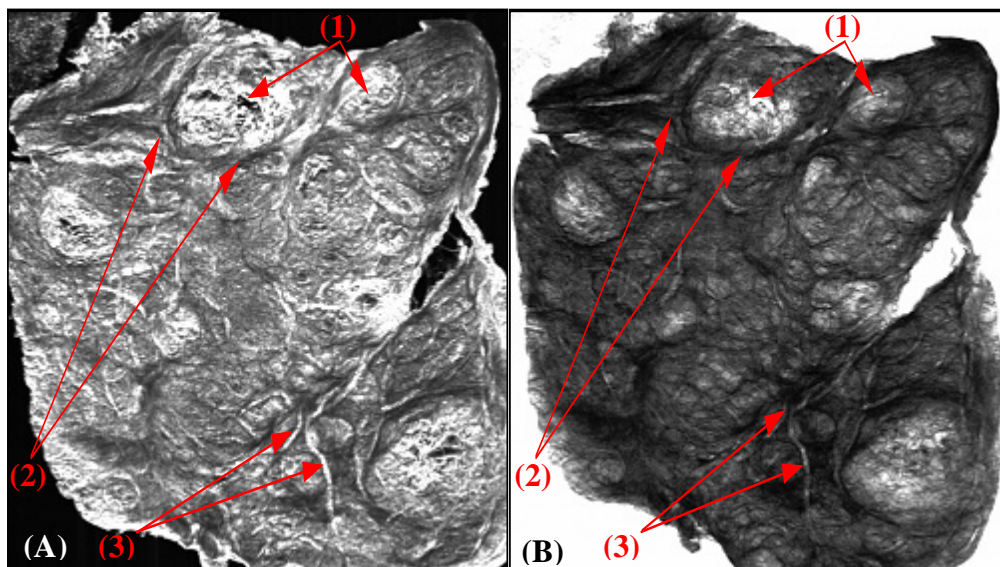


Figura IV-45 – Radiografia Realçada por Difração no flanco (A) e no topo (B) da RC

Foram feitos estudos comparativos com técnicas de radiográficas convencionais e com cortes histológicos para verificar se a técnica de DEI seria capaz de identificar áreas com desenvolvimento de bócio multinodular. O estudo mostrou que

com a técnica de realce por difração podem ser vistas áreas de desenvolvimento destas patologias e também observar as alterações nos tecidos vizinhos, como aumento da irrigação sanguínea pela observação dos vasos e pela o aparecimento de tecidos fibrosos<sup>[12]</sup> como pode ser visto nas figuras IV-44 e IV-45.

#### IV.6.2 Estudos de identificação de calcificação e disfunções de mama

Este estudo está em fase de desenvolvimento e tem a finalidade de avaliar a técnica para aplicações mamográficas. Os estudos mostraram que a radiografia por realce de difração permite identificar as interfaces dos tecidos e poderia ser empregada para a identificação de anomalias de mama.

Os primeiros resultados são mostrados nas figuras IV-46 e IV-47.

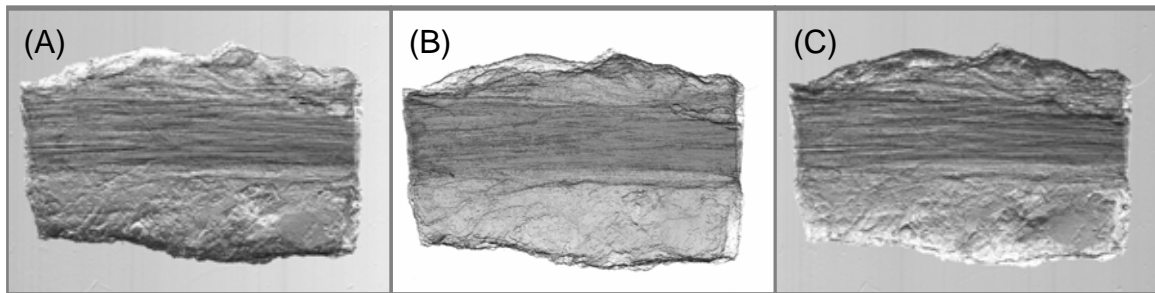


Figura IV-46 – Radiografia Realçada por Difração no flanco [-0,25](A), no topo (B) e no outro flanco [-0,25] (C) de uma amostra de mama com músculo

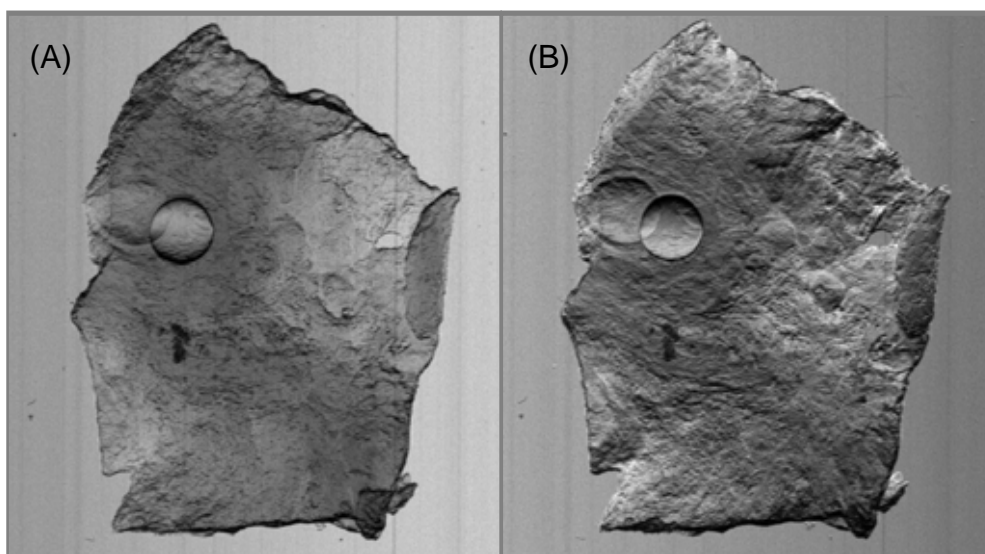


Figura IV-47 – Radiografia Realçada por Difração no topo (A) e ligeiramente no flanco (B) de uma amostra de mama com calcificações

### IV.6.3 Estudos preliminares de tecidos de Estômago e Sigmóide.

Este estudo ainda está em fase preliminar e terá como objetivo avaliar o emprego da técnica para identificação de tecidos patológicos nessas amostras. Os primeiros resultados foram obtidos no 6º experimento onde podemos observar nas figuras IV-48 e IV-49 que as interfaces das camadas podem ser observadas pela técnica de realce por difração.

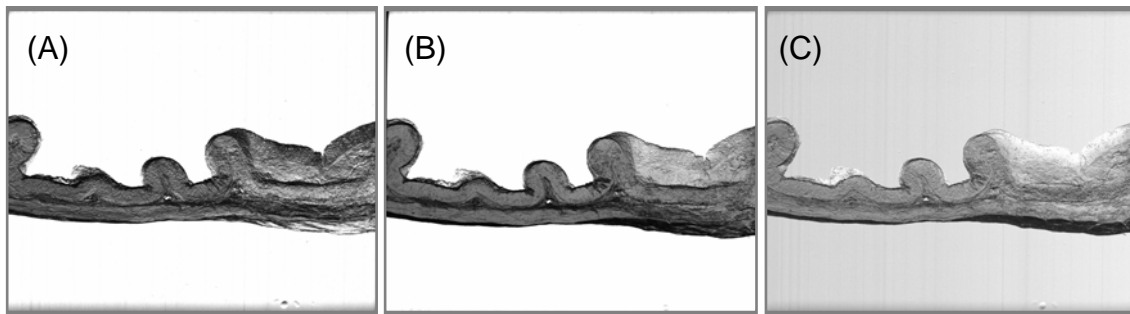


Figura IV-48 – DER de uma amostra de tecido de estômago no flanco [-0,5] (A), no topo (B) e no flanco [+0,5] (C).

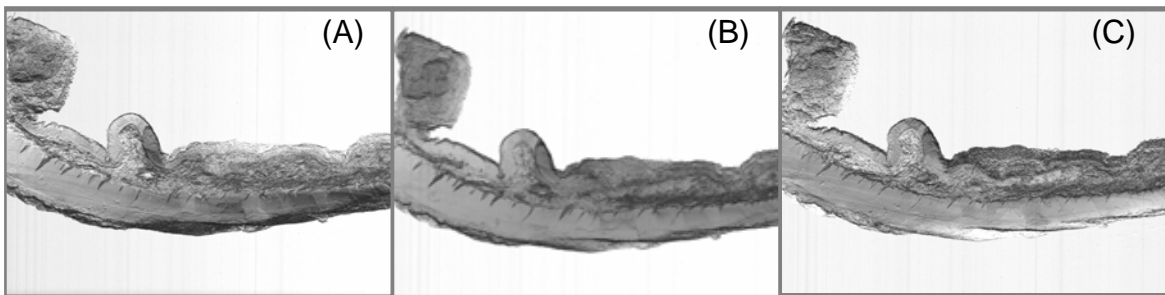


Figura IV-49 – DER de uma amostra de tecido de sigmóide no flanco [-0,5] (A), no topo (B) e no flanco [+0,5] (C).

## ***IV.7 Aplicação do Sistema de contraste de fase na Indústria e em biologia***

### **IV.7.1 Estudos e caracterização de compósitos utilizados na indústria aeroespacial.**

Esta aplicação ainda está em fase inicial, sendo que somente alguns resultados foram obtidos com o sistema do LIN. Alguns testes preliminares foram feitos no LNLS, mas devido à baixa energia (10 keV) nada pode ser observado. Os resultados preliminares feitos com o sistema de livre caminho com uma energia efetiva de ~14 keV (29 kV) somente a direção das fibras pode ser observada, fig. IV-50.



A figura IV-50(a) foi adquirida com uma distância fonte-objeto de 2,4 m e com um fator de magnificação de 12 vezes, a radiografia IV-50(b) foi obtida com uma distância fonte-objeto de 5,4 m e com um fator de magnificação de 14 vezes. Nota-se que é possível observar mais detalhes na radiografia (b), principalmente nas fibras verticais.

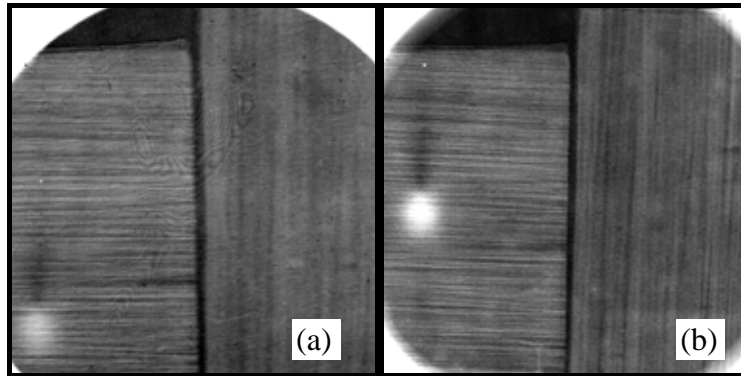


Figura IV-50 – RCF de uma amostra de fibra com 12x e 14x de magnificação.

#### IV.7.2 Estudo de caracteres morfológicos de *Brachycephalus*

Também foram feitos estudos de amostras de *Brachycephalus* para tentar observar os caracteres morfológicos e marcos anatômicos do crânio através de radiografia por contraste de fase. Os primeiros resultados são apresentados nas figuras IV-51(A) e (B). Na figura (A) é apresentada uma radiografia convencional feita com uma energia efetiva de ~14 keV e, na segunda imagem é apresentada a primeira radiografia de contraste de fase feita no LIN. Esta radiografia foi feita a aproximadamente 2,5 metros da fonte com um tempo de exposição de cerca de 2 horas com “image plate”. Nela pode ser visto alguns detalhes da estrutura dos ossos do crânio mais nitidamente que na radiografia convencional.

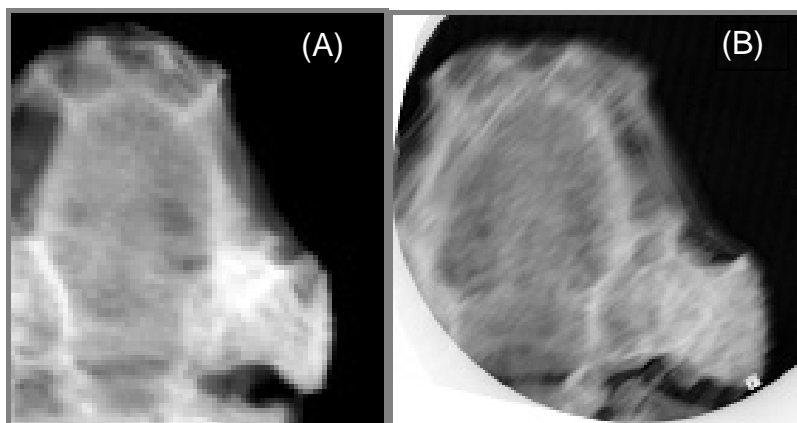


Figura IV-51 – Radiografia convencional (A) e por contraste de fase (B) - LIN

---

---

## CAPÍTULO V

### V Conclusões e Sugestões

Os objetivos da Tese foram alcançados com o desenvolvimento de um sistema de imagem por contraste de fase (PCI) realizado no Laboratório de Instrumentação Nuclear da COPPE / UFRJ e com o desenvolvimento de um sistema radiográfico e tomográfico de realce por difração de raios X (DEI) realizado no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron em Campinas / SP. O desenvolvimento desses sistemas permitiu ampliar as possibilidades de aplicação de técnicas radiográficas e tomográficas para amostras de baixa atenuação como fibras, tecidos moles, insetos e pequenos animais. O baixo contraste por atenuação desses tipos de amostra é compensado pelas propriedades de refração, difração e espalhamento a baixo ângulo, explorados pelas técnicas aqui apresentadas.

A seguir serão descritos os problemas e soluções encontrados nos arranjos experimentais em relação ao sistema de detecção, posicionamento e reconstrução.

Um dos principais problemas encontrados foi em relação à necessidade do sistema de detecção ter grande eficiência e alta resolução espacial para a faixa de energia utilizada (6 a 12 keV). As conclusões relevantes em relação à implementação do sistema radiográfico de contraste de fase utilizando luz síncrotron é que o sistema só é viável com um detector do tipo CCD de alta eficiência para baixas energias (5 a 20 keV) e com resolução abaixo de 25 microns. Para sistemas que utilizam fontes microfocadas a restrição de resolução de um detector CCD é mantida, mas há a possibilidade do uso de detectores do tipo image plate (filmes digitais) que possuam alta eficiência para baixas energias (5 a 20 keV), alta sensibilidade e resolução espacial da ordem de 100 microns o que torna possível sua utilização em distâncias acima de dois metros, com fator de magnificação acima de dez. A restrição de resolução para as câmeras CCD em sistemas de contraste de fase está no fato desse tipo de equipamento possuir normalmente uma área útil muito restrita, impossibilitando o uso de um fator de magnificação que reduza a importância do tamanho do pixel e permita a visualização de fase.

Para sistemas tomográficos existe certa dificuldade na utilização de filmes digitais devido à necessidade do sistema de detecção estar em uma posição fixa em relação à amostra o que é bem difícil de ser feito com equipamentos removíveis.

O sistema de realce por difração foi caracterizado e utilizado em diversas aplicações, ver apêndice 1, principalmente na área médica e biológica.

A automação do sistema tomográfico de realce por difração no LNLS foi completada, mostrando-se bastante eficiente, pois tornou possível o monitoramento completo via microcomputador de todas as etapas de aquisição além de permitir ajustes do feixe e da amostra, inserção de filtros e bloqueio do feixe, ajustes nos cristais e realização de varreduras. No futuro alguns transladores devem ser substituídos devido a desgastes e para aumentar a capacidade de peso e de distância de traslado e um novo detector com melhor resolução e maior eficiência deverá ser adquirido para que se possa continuar as pesquisas em aplicações biomédicas.

A não estabilidade do feixe durante o processo de aquisição e o desalinhamento mecânico do centro de rotação do goniômetro em relação ao pixel central do detector foram satisfatoriamente corrigidos via software, o qual ainda pode ser melhorado pela utilização de alguns filtros diretamente na matriz sinograma.

Como trabalhos futuros, podem ser citados os seguintes projetos:

Novos experimentos com um fluxo mais elevado em energias da ordem de 12 a 20 keV poderão ser implementados com a recente instalação do Wiggler no LNLS ou submissão de projetos em outras fontes síncrotron;

Melhorias no software de reconstrução com novos filtros e melhorias nos procedimentos de aquisição para permitir um BG com menor ruído;

Automação do sistema de tomografia parcialmente montado para o sistema de contraste de fase com fonte microfocada, e

Procura de novos colaboradores além dos atuais para ampliar a gama de utilização das técnicas de fase e realce por difração.

## **APÊNDICES**

---

---

**Apêndice.1      *Lista de Trabalhos Publicados em Periódicos***

1. Giles, C.; Hönnicke, M. G.; Lopes, R. T.; Rocha, H. S.; Gonçalves, O. D.; Mazzaro, I.; Cusatis, C. “First experiments on diffraction-enhanced imaging at LNLS”, *J. Synchrotron Radiat*, Chester, v. 10, n. 6, p. 421-423, 2003.
2. Rocha, H. S.; Lopes, R. T.; Valiante, P. M.; Tirao, G.; Mazzaro, I.; Hönnicke, M. G.; Cusatis, C.; Giles, C. “Diagnosis of thyroid multinodular goiter using diffraction-enhanced imaging”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 548, n. 1-2, p. 175-180, 2005.
3. Rocha, H. S.; Lopes, R. T.; Pessoa, L. M.; Hönnicke, M. G.; Tirao, G.; Cusatis, C.; Mazzaro, I.; Giles, C. “Diffraction-Enhanced Imaging for studying pattern recognition in cranial ontogeny of bats and marsupials”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 548, n. 1-2, p. 228-233, 2005.
4. Hönnicke, M. G.; Kellermann, G.; Rocha, H. S.; Giles, C.; Tirao, G.; Mazzaro, I.; Lopes, R. T.; Cusatis, C. “Enhanced contrast radiography with channel-cut crystals at the LNLS”, *Review of Scientific Instruments*, v. 76, n. 9, p. 1-6, 2005.
5. Rocha, H. S.; Pereira, G.R.; Anjos, M.J.; Faria, P.; Kellermann, G.; Pérez, C.A.; Tirao, G.; Mazzaro, I.; Giles, C.; Lopes, R. T. “Diffraction enhanced imaging and x-ray fluorescence microtomography for analyzing biological samples”, *X-Ray Spectrometry*, 2007, **in press**.

---

---

## ***Apêndice.2      Lista de Participação em Eventos***

### **a) Publicação de trabalhos completos**

1. Rocha, H. S.; Lopes, R. T.; Valiante, P. M.; Tirao, G.; Mazzaro, I.; Hönnicke, M. G.; Cusatis, C.; Giles, C. Diagnóstico de Bócio Multinodular da Tireóide Através de Imagens Realçadas por Difração. In: IV BIOMAT, Rio de Janeiro. Anais em CD-ROM, v. TUP. 8, 2004.
2. Rocha, H. S.; Pessoa, L. M.; Hönnicke, M. G.; Tirao, G.; Cusatis, C.; Mazzaro, I.; Escarlata-Tavares, F.; Giles, C.; Lopes, R. T. Pattern recognition in cranial ontogeny of bats and marsupials with X-ray microradiography and phase contrast imaging. In: III BIOMAT, Rio de Janeiro. Proceedings of the Third Brazilian Symposium on Mathematical and Computational Biology. Rio de Janeiro: e-papers, v. 1, p. 116-129, 2004.
3. Rocha, H. S.; Lopes, R. T.; Tirao, G.; Hönnicke, M. G.; Mazzaro, I.; Cusatis, C.; Giles, C. Radiografia por Contraste de Fase. In: XXII CONAEND, 2004, São Paulo. Anais do XXII CONAEND. São Paulo: 2004.
4. Rocha, H. S.; Pereira, G. R.; Anjos, M. J.; Faria, Paulo; Kellermann, G.; Pérez, C. A.; Mazzaro, I.; Giles, C.; Lopes, R. T. Diffraction enhanced imaging and x-ray fluorescence microtomography to analyze biological samples. In: EXRS 2006, 2006, Paris. 2006.

### **b) Publicação de resumos**

1. Giles, C.; Hönnicke, M. G.; Lopes, R. T.; Rocha, H. S.; Conclaves, O. D.; Mazzaro, I.; Cusatis, C. "First experiments of diffraction-enhanced imaging at LNLS". Activity Report / Brazilian Synchrotron Light Laboratory, Campinas, SP: ABTLus / LNLS, 2002.
2. Hönnicke, M. G.; Giles, C.; Lopes, R. T.; Rocha, H. S.; Gonçalves, O. D.; Mazzaro, I.; Cusatis, C. "High Resolution Radiography at the LNLS". News Letter at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory, Brazil, p. 10-12, 2003.

3. Hönnicke, M. G.; Mazzaro, I.; Giles, C.; Rocha, H. S.; Lopes, R. T.; Gonçalves, O. D.; Cusatis, C. “First results of diffraction enhanced imaging (DEI) at LNLS”. In: XIII RAU, Campinas. Livro de Resumos, p. 178, 2003.
4. Rocha, H. S.; Giles, C.; Cusatis, C.; Hönnicke, M. G.; Mazzaro, I.; Tirao, G.; Pessoa, L. M.; LOPES, R. T. “Refraction contrast imaging at LNLS”. In: XIV RAU, Campinas. Livro de Resumos. p. 175, 2004.
5. Pessoa, L. M.; Rocha, H. S.; Escarlata-Tavares, F.; Giles, C.; Cusatis, C.; Hönnicke, M. G.; Tirao, G.; Mazzaro, I.; Lopes, R. T. “Pattern recognition in cranial ontogeny of the common vampire bat, *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy, 1810), and lesser bulldog bat, *Noctilio albiventris* (Demarest, 1818), by X-ray microradiography and phase contrast imaging”. In: 13TH INTERNATIONAL BAT RESEARCH CONFERENCE, Mikolajki. Abstracts, p. 99, 2004.
6. Hönnicke, M. G.; Mazzaro, I.; Cusatis, C.; Kellermann, G.; Rocha, H. S.; Lopes, R. T.; Tirao, G.; Giles, C. “An enhanced contrast radiography setup based on channel-cut crystals at the LNLS. In: XVIII ENCONTRO NACIONAL DE FÍSICA DA MATÉRIA CONDENSADA, Santos - SP. Livro de Resumos, p. 230, 2005.
7. Rocha, H. S.; Tirao, G.; Mazzaro, I.; Giles, C.; Pessoa, L. M.; Lopes, R. T. “Biological Samples Analysis Using Diffraction-Enhanced Tomography”. In: XV RAU, 2005, Campinas. Livro de resumos, p. II-12, 2005.
8. Rocha, H. S. “Diffraction Enhanced Tomography at Brazilian Synchrotron – LNLS”. In: MIC, Porto Rico, 2005. (Outubro)
9. Rocha, H. S.; Lopes, R. T.; Pereira, G. R.; Mazzaro, I.; Kellermann, G.; Oliveira, L. F. Diffraction-enhanced tomography with biological samples. In: 16ª Reunião anual de usuários do LNLS, 2006, Campinas. Livro de Resumos. 2006. p. 149.

## Referências Bibliográficas

- [1] GOLDSTEIN, D. J. *Understanding the Light Microscope*. New York: Academic Press, 160p. 1999. Disponível em: <http://books.google.com/books?vid=ISBN0122886607>. Acesso em 30/mar/2007.
- [2] DAVIS, T. J.; GAO, D.; GUREYEV, T. E.; STEVENSON, A. W.; WILKINS, S. W. "Phase-contrast imaging of weakly absorbing materials using hard X-rays", *Nature*, v. 373, pp. 595-598, 1995.
- [3] PODURETS, K., M.; SOMENKOV, V. A.; SHIL'SHTEIN, S. SH. "Refraction-contrast radiography" *Soviet Physics - Technical Physics*, v. 34, n. 6, pp. 654-657, 1989.
- [4] INGAL, V. N. and BELIAEVSKAYA, E. A. "X-ray plane-wave topography observation of the phase contrast from a non-crystalline object", *Journal of Physics D: Applied Physics*, n.28, pp. 2314-2317, 1995.
- [5] DAVIS, T. J; GAO, D.; GUREYEV, T. E.; STEVENSON, A. W. and WILKINS, S. W. "Phase-contrast imaging of weakly absorbing materials using hard X-rays", *Nature*. v. 373, pp. 595-598, 1995.
- [6] CHAPMAN, D; THOMLINSON, W.; JOHNSTON, R. E; WASHBURN, D.; GMÜR, N.; ZHONG, Z.; MENK, R.; ARFELLI, F. and SAYERS, D. "Diffraction enhanced a-ray imaging", *Physics in Medicine and Biology*, n.42, pp. 2015-2025, 1997.
- [7] GILES, C.; HÖNNICKE, M. G.; LOPES, R. T.; ROCHA, H. S.; GONÇALVES, O. D.; MAZZARO, I. and CUSATIS, C. "First experiments on diffraction-enhanced imaging at LNLS", *Journal Synchrotron Radiation.*, n. 10, pp.421-423, 2003.
- [8] ROCHA, H. S.; PESSÔA, L. M.; HÖNNICKE, M. G.; TIRAO, G.; CUSATIS, C.; MAZZARO, I.; TAVARES, F. E.; GILES, C.; LOPES, R. T. "Pattern recognition in cranial ontogeny of bats and marsupials with X-ray microradiography and phase contrast imaging". In: *Proceedings of the Third Brazilian Symposium on Mathematical and Computational Biology*. Rio de Janeiro: *e-papers*, v. 1, pp. 116-129, 2004.



- 
- [9] ROCHA, H. S.; LOPES, R. T.; VALIANTE, P. M.; TIRAO, G.; MAZZARO, I.; HÖNNICKE, M. G.; CUSATIS, C.; GILES, C. “Diagnóstico de Bócio Multinodular da Tireóide Através de Imagens Realçadas por Difração”, In: *Anais do IX Brazilian Congress of Medical Physics and III Iberian Latin American & Caribbean Congress of Medical Physics*, 2004, Rio de Janeiro, [CD-Rom] v. TUP, n.2, 2004.
- [10] ROCHA, H. S.; LOPES, R. T.; TIRAO, G.; HÖNNICKE, M. G.; MAZZARO, I.; CUSATIS, C.; GILES, C. “Radiografia por Contraste de Fase”. In: *Anais do XXII Congresso Nacional de Ensaaios Não Destrutivos*, São Paulo, 2004.
- [11] ROCHA, H.S.; LOPES, R.T.; PESSÔA, L.M.; HÖNNICKE, M.G.; TIRAO, G.; CUSATIS, C. ; MAZZARO, I. and GILES, C. “Diffraction-Enhanced Imaging for studying pattern recognition in cranial ontogeny of bats and marsupials” *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A*, v. 548, n° 1-2, pp. 228-233, 2005.
- [12] ROCHA, H.S.; LOPES, R.T.; VALIANTE, P.M. TIRAO, G.; MAZZARO, I.; HÖNNICKE, M.G.; CUSATIS, C. and GILES, C. “Diagnosis of thyroid multinodular goiter using diffraction-enhanced imaging”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A*, v. 548, n. 1-2, pp. 175-180, 2005.
- [13] HÖNNICKE, M. G.; KELLERMANN, G.; ROCHA, H. S.; GILES, C.; TIRAO, G.; MAZZARO, I.; LOPES, R. T.; CUSATIS, C. “Enhanced contrast radiography with channel-cut crystals at the LNLS”, *Review of Scientific Instruments*, v. 76, n. 9, pp. 1-6, 2005.
- [14] ARFELLI, F. “Synchrotron light and imaging systems for medical radiology”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 454, pp. 11-25, 2000.
- [15] GABOR, D. “A new microscopic principle”, *Nature*, v. 161, pp. 777-778, Londres, 1948.
- [16] COSSLETT, V. E. and NIXON, W. C. “X-Ray Shadow Microscope”, *Nature*, v. 168, pp. 24-25, Londres, 1951
- [17] COSSLETT, V. E. and NIXON, W. C. “The X-Ray Shadow Microscope”, *Journal of Applied Physics*, v. 24, n. 5, pp. 616-623, 1953.

- 
- [18] BAEZ, A. V. "A study in diffraction microscopy with special reference to x-rays", *Journal of the Optical Society of America*, v. 42, pp. 756-762, 1952.
- [19] ANDO, M. and HOSOYA, S. "An attempt at x-ray phase-contrast microscopy", In: *Proc. 6th Intern. Conf. On Xray Optics and Microanalysis*, G. Shinoda, K. Kohra and T. Ichinokawa Eds. pp. 63-68, Univ. of Tokyo Press, Tokyo, 1972.
- [20] BONSE, U. and HART, M. "An x-ray interferometer", *Applied Physics Letters*, v. 6, n. 8, pp. 155-157, 1965.
- [21] YUN, W. B.; VICCARO, P. J.; LAI, B. AND CHRZAS, J. "Coherent hard x-ray focusing optics and applications" *Review of Scientific Instruments*, n° 83, n° 1, pp. 582-585, 1992.
- [22] CUSATIS, C. and HART, M. "Dispersion Correction Measurements by X-ray Interferometry". In: *Inter-Congress Conference, 1975, Madrid. Anomalous Scattering*. Copenhagen: International Union of Crystallography, pp. 57-68, 1974.
- [23] DAVIS, T. J.; GAO, D., GUREYEV, T. E.; STEVENSON, A. W.; WILKINS, S. W. "Phase-contrast imaging of weakly absorbing materials using hard X-rays", *Nature*, v. 373, pp. 595-598, 1995.
- [24] INGAL, V. N and BELIAEVSKAYA, E. A. "X-ray plane-wave topography observation of the phase contrast from a non-crystalline object", *Journal of Physics D: Applied Physics*, v.28, pp. 2314-2317, 1995.
- [25] MOMOSE, A. "Demonstration of phase-contrast X-ray computed tomography using an X-ray interferometer", *Nuclear Instruments in Physics Research A*, v. 352, pp. 622-628, 1995.
- [26] RAMACHANDRAN, G. N. and LAKSHMINARAYANAN, A. V. In: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* v. 68 pp. 2236, 1971, Citado por: Momose, A. , *Nuclear Instruments in Physics Research A*, v. 352, pp. 622-628, 1995.
- [27] MOMOSE, A.; TAKEDA, T. and Ltai, Y. "Phase-contrast x-ray computed tomography for observing biological specimens and organic materials", *Review of Scientific Instruments*, v. 66, n°2, pp. 1434-1436, 1995.
- [28] AUTHIER, A.; LAGOMARSINO, S. and TANNER, B. K. *X-rays and Neutrons Dynamical Diffraction, Theory and Applications*. New York, Plenum, Cap. 5.2 pp. 391, 1996.

- 
- [29] SNIGIREV, A.; SNIGIREVA, I.; KOHN, V. G. and KUZNETSOV, S. M. "On the requirements to the instrumentation for the new generation of the synchrotron radiation sources. Beryllium windows", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 370, pp. 634-640, 1996.
- [30] RAVEN, C.; SNIGIREV, A.; SNIGIREVA, I.; SPANNE, P.; SOUVOROV, A. and KOHN, V. "Phase-contrast microtomography with coherent high-energy synchrotron x rays", *Applied Physics Letters*, v. 69 n. 13, pp. 1826-1828, 1996.
- [31] WILKINS, S. W.; GUREYEV, T. E.; GAO, D. POGANY, A. and STEVENSON, A. W. "Phase-contrast imaging using polychromatic hard x-rays," *Nature*, v. 384, pp. 335-338, 1996.
- [32] LAGOMARSINO, S.; CEDOLA, A.; CLOETENS, P.; DI FONZO, S.; JARK, W.; SOULIÉ, G. and RIEKEL, C. "Phase contrast hard x-ray microscopy with submicron resolution", *Appl. Phys.*, v. 18 , pp. 2557-2559, 1997.
- [33] MENK, R. "Interference imaging and it's application to material and medic imaging", *Nuclear Physics B*, v. 78, pp. 604-609, 1999.
- [34] FITZGERALD, R. "Phase-Sensitive X-Ray Imaging", *Physics Today*, v. 53, n. 7, 2000.
- [35] SIU, K; NIKULIN, A.Y; TAMASAKU, K. and ISHIKAWA, T. "An application of phase retrieval x-ray diffractometry to refraction/small-angle scattering data", *Journal of Physics D: Applied Physics*, v. 34 pp. 2912-2917, 2001.
- [36] GOG. T. "Multiple-energy x-ray holography with atomic resolution" *Japanese Journal of Applied Physics*, v. 38, pp. 620-624, 1999.
- [37] BORTOLANI, V.; CELLI, V.; MARVIN, A. M. "Multiple-energy x-ray holography: Polarization effect", *Physical Review B*, v. 67, n. 024102, pp.1-7, 2003.
- [38] MENK, R.H.; RIGON, L.; ARFELLI, F. "Diffraction-enhanced X-ray medical imaging at the ELETTRA synchrotron light source", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 548, pp. 213-220, 2005.
- [39] BRAVIN, A. "Exploiting the x-ray refraction contrast with an analyser: the state of the art", *Journal of Physics D: Applied Physics*, v. 36, pp. A24-A29, 2003.

- 
- [40] PAGOT, E.; CLOETENS, P.; FIEDLER, S.; BRAVIN, A.; COAN, P.; BARUCHEL, J.; HÄRTWIG, J. and THOMLINSON, W. “A method to extract quantitative information in analyzer-based x-ray phase contrast imaging”, *Applied Physics Letters*, v. 82, n. 20, pp. 3421-3423, 2003.
- [41] KOHN, V.; SNIGIREVA, I, SNIGIREV, A. “Diffraction theory of imaging with X-ray compound refractive lens”, *Optics Communications*, v.216, pp. 247-260, 2003.
- [42] RIGON, L.; BESCH, H.; ARFELLI, F.; MENK, R.; HEITNER, G. and PLOTHOW-BESCH, H. “A new DEI algorithm capable of investigating sub-pixel structures”, *Journal of Physics D: Applied Physics*, v. 36 pp. A107-A112, 2003.
- [43] PAVLOV, K.M.; KEWISH, C.M.; DAVIS, J.R. and MORGAN, M.J. “A new theoretical approach to x-ray diffraction tomography”, *Journal of Physics D: Applied Physics*, v. 33, pp. 1596-1605, 2000.
- [44] TAKEDA, T. “Phase-contrast and fluorescent X-ray imaging for biomedical researches”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 548 pp. 38-46, 2005.
- [45] SIU, K.K.W.; KITCHEN, M.J.; PAVLOV, K.M.; GILLAM, J.E.; LEWIS, R.A.; UESUGI, K.; YAGI, N. “An improvement to the diffraction-enhanced imaging method that permits imaging of dynamic systems”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v.548, pp. 169-174, 2005.
- [46] IBISON, M.; CHEUNG, K.C.; SIU, K.; HALL, C.J.; LEWIS, R.A.; HUFTON, A.; WILKINSON, S.J.; ROGERS, K.D.; ROUND, A. “Diffraction-enhanced imaging at the UK synchrotron radiation source”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v.548, pp. 181-186, 2005.
- [47] KARDJILOV, N.; LEE, S.W.; LEHMANN, E.; LIM, I.C.; SIM, C.M.; VONTOBEL, P. “Improving the image contrast and resolution in the phase-contrast neutron radiography”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 542 pp. 100-105, 2005.
- [48] ABRAMI, A. ; ARFELLI, F. ; BARROSO, R.C. ; BERGAMASCHI, et al. “Medical applications of synchrotron radiation at the SYRMEP beamline

- of ELETTRA”, *Nuclear Instruments And Methods in Physics Research A*, v. 548, n. 1-2, pp. 221-227, 2005.
- [49] KEYRILÄINEN, J.; FERNÁNDEZ, M.; FIEDLER, S.; BRAVIN, A.; KARJALAINEN-LINDSBERG, M.; VIRKKUNEN, P.; ELO, E.; TENHUNEN, M.; SUORTTI, P.; THOMLINSON, W. “Visualisation of calcifications and thin collagen strands in human breast tumour specimens by the diffraction-enhanced imaging technique: a comparison with conventional mammography and histology”, *European Journal of Radiology*, v. 53, pp. 226-237, 2005.
- [50] ROCHA, H. S.; PEREIRA, G.R.; ANJOS, M.J.; FARIA, P.; KELLERMANN, G.; PÉREZ, C.A.; TIRAO, G.; MAZZARO, I.; GILES, C.; LOPES, R. T. “Diffraction enhanced imaging and x-ray fluorescence microtomography for analyzing biological samples”, *X-Ray Spectrometry*, in press, 2007.
- [51] CONNOR, D.M.; SAYERS, D.; SUMNER, D.R.; ZHONG, Z. “Identification of fatigue damage in cortical bone by diffraction enhanced imaging”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v.548, pp. 234-239, 2005.
- [52] RÖNTGEN, W. C. “On a new kind of rays”, *Nature*, v. 53, pp. 274–276, 1896. Disponível em: <http://deutsche.nature.com/physics/>. Acesso em 25/fev/2007.
- [53] OLDENBERG, Otto e HOLLADAY, Wendell G. *Introdução a Física Atômica e Nuclear*, São Paulo, Edgar Blücher, cap. 13, pp. 149, 1971.
- [54] CULLITY, B. D. and STOCK, S. R. *Elements of x-ray diffraction*. Third edition, New Jersey, Prentice Hall, Inc. U. S. A. 2001.
- [55] KAPLAN, Irving. *Nuclear Physics*. Addison-Wesley Publishing Company, Inc. U. S. A. 1962.
- [56] CRAIEVICH, Aldo. “Aplicações da luz síncrotron na ciência dos materiais”, *Matéria*, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, pp.1-6, jul. 1996. Disponível em: <http://www.materia.coppe.ufrj.br/>. Acesso em: 19 fev. 2007.
- [57] CASTRO, A. R. B. “Synchrotron Light and its Applications” *Revista Physicae*, n° 2, 2001.
- [58] BALDWIN, G. C.; KERST, D. W. “Origin of Synchrotron Radiation”, *Physics Today*, v. 28-1, pp. 9, 1975.

- 
- [59] BALDWIN, G. C. “Blewett had help with GE Synchrotron”, *Physics Today*, v. 54-8, pp. 76, 2001.
- [60] KNOLL, G. F. *Radiation Detection and Measurement*. New York, John Wiley and Sons, Inc, 1980.
- [61] EISBERG, R. E RESNICK, R. *Física Quântica*. Rio de Janeiro, Ed. Campus Ltda, 1994.
- [62] GOUVEIA, M. A. G. *Sistema de Caracterização de Materiais em Dutos por Espalhamento de Radiação*. Tese de M. Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2000.
- [63] SILVA, I. L. M. *Sistema de Identificação de Defeitos no Processo de Fundição de Ligas em Alumínio*. Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2000.
- [64] HASNAH, M.; OLTULU, O.; ZHONG, Z. and CHAPMAN, D. “Application of absorption and refraction matching techniques for diffraction enhanced imaging”, *Review of Scientific Instruments*, v. 73, n. 3, pp. 1657-1659, 2002.
- [65] NUGENT, K. A.; PAGANIN, D. AND GUREYEV, T. E. “A Phase Odyssey” *Physics Today*, v. 54, n. 8, pp. 27. 2001. Disponível em: <http://www.physicstoday.org/pt/vol-54/iss-8/p27.html>. Acesso em 25 fev 2007.
- [66] ZERNIKE, Frits. *Biografisch Woordenboek van Nederland*. Disponível em: <http://www.inghist.nl/Onderzoek/Projecten/BWN/lemmata/bwn1/zernike>. Acesso em: 25 fev. 2007.
- [67] GERCHBERG, R. W. AND SAXTON, W. O. “A practical algorithm for the determination of phase from image and diffraction plane pictures” *Optik*, v. 35, pp. 237-246, 1972, citado por HAWKES, P. “Recent advances in electron optics and electron microscopy” In: *Annales de la Fondation Louis de Broglie*, v. 29, s. 1, 2004.
- [68] ROSENFELD, AZRIEL. *Digital Picture Processing*. Academic Press, Inc. U. S. A. 1982.
- [69] OLIVEIRA, L. F.; LOPES, R. T.; JESUS, E. F. O.; BRAZ, D. “Radiografia em Tempo Real Gerando Tomografia Tridimensional” In: *Anais do XIX*

- Congresso Nacional de Ensaio Não Destrutivos*, São Paulo, pp. 146-152, 2000.
- [70] HART, M. “Review Lecture - Ten years of X-ray interferometry” *Proceedings of the Royal Society of London A*, v. 346, pp. 1 - 22, 1975.
- [71] BUSHUEV, V. A.; INGAL, V. N. and BELIAEVSKAYA, E. A. “Wave Theory of X-ray Phase-Contrast Radiography”, *Crystallography Reports*, v. 43 n. 4, pp. 538-547, 1998.
- [72] GOG. T. “Multiple-energy x-ray holography with atomic resolution” *Japanese Journal of Applied Physics*, v. 38, pp. 620-624, 1999.
- [73] TEGZE, M.; FAIGEL, G.; MARCHESINI, S.; BELAKHOVSKY, M. and ULRICH, O. “Imaging light atoms by X-ray holography” *NATURE*, v. 407, 2000.
- [74] MENK, R. H. (Org.). *Medical proposal: Phase Analyzer System for Novel imaging Modalities (PHASY)*. Disponível em: <http://www.elettra.trieste.it/projects/euprog/medical/>. Acesso em: 18 fev. 2007.
- [75] CHAPMAN, D.; THOMLINSON, W.; ARFELLI, F. et al. “Mammography imaging studies using a Laue analyzer crystal”, *Review of Scientific Instruments*, [CD-Rom], v.67, pp.3360-3365, 1996.
- [76] LAGOMARSINO, S.; CEDOLA, A. X-ray microscopy and nanodiffraction, In: *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, Ed. L. Nalwa, v. 10, pp.681-710, 2004.
- [77] KHELASHVILI, G.; BRANKOV, J. G.; CHAPMAN, D.; ANASTASIO, M. A.; YANG, Y.; ZHONG, O. Z.; WERNICK, M. N. “A physical model of multiple image radiography,” *Physics in Medicine and Biology*, vol. 51, pp. 221-236, 2006.
- [78] WERNICK, M. N.; WIRJADI, O.; CHAPMAN, D.; ZHONG, O. Z.; GALATSANOS, N.; YANG, Y.; BRANKOV, J. G.; OLTULU, O.; ANASTASIO, M. A.; MUEHLEMAN, C. “Multiple-image radiography”, *Physics in Medicine and Biology*, v. 48, pp. 3875-3895, 2003.
- [79] DILMANIAN, F.; ZHONG, Z.; REN, B.; WU, X.; CHAPMAN, L.; ORION, I. AND THOMLINSON, W. “Computed tomography of x-ray index of

- refraction using the diffraction enhanced imaging method”, *Physics in Medicine and Biology*, v. 45, pp. 933-946, 2000.
- [80] ZHONG, Z.; THOMLINSON, W.; CHAPMAN, D.; SAYERS, D. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 450, pp. 556-567, 2000.
- [81] CRAIEVICH, ALDO F. and RODRIGUES, A. RICARDO. “LNLS Synchrotron Source and Beamlines: Status, First Experiments and User Access”, *Brazilian Journal of Physics*, v. 27, n. 4, pp. 417-424, 1997.
- [82] GILES, C.; YOKAICHIYA, F.; KYCIA, S.W.; SAMPAIO, L.C.; ARDILES-SARAVIA, D.C.; FRANCO, M.K.K. and NEUENSCHWANDER, R.T. “High-resolution X-ray diffraction beamline at the LNLS for the study of charge, orbital and magnetic structures”, *Journal of Synchrotron Radiation*, n. 10, pp. 430-434, 2003.
- [83] BARROSO, R.C.; LOPES, R.T.; GONÇALVES, O.D.; and JESUS, E.F.O. “Angle-dispersive diffraction with synchrotron radiation at Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (Brazil): potential for use in biomedical imaging”, *Applied Radiation and Isotopes*, v. 53, pp. 717-724, 2000.
- [84] CASTRO, C.R.F.; BARROSO, R.C.; ANJOS, M.J.; LOPES, R.T.; BRAZ, D. “Coherent scattering characteristics of normal and pathological breast human tissues”, *Radiation Physics and Chemistry*, v. 71, pp. 649-651, 2004.
- [85] BARROSO, R.C.; LOPES, R.T.; GONÇALVES, O.D. and ASSIS, J.T. “X-ray diffraction tomography using interference effects”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 418, pp. 458-464, 1998.
- [86] BARROSO, R.C.; LOPES, R.T.; GONÇALVES, O.D. and ASSIS, J.T. “Image reconstruction algorithm to X-ray diffraction tomography”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 422, pp. 718-723, 1999.
- [87] BARROSO, R.C.; LOPES, R.T.; JESUS, E.F.O. and OLIVEIRA, L.F. “X-ray diffraction microtomography using synchrotron radiation”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 471, pp. 75-79, 2001.



## **ANEXO**

*Trabalhos publicados em periódicos*

## First experiments on diffraction-enhanced imaging at LNLS

C. Giles,<sup>a,b\*</sup> M. G. Hönnicke,<sup>c</sup> R. T. Lopes,<sup>d</sup> H. S. Rocha,<sup>d</sup> O. D. Gonçalves,<sup>e</sup> I. Mazzaro<sup>c</sup> and C. Cusatis<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Física, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brazil, <sup>b</sup>Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, Campinas, SP, Brazil, <sup>c</sup>Departamento de Física, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil, <sup>d</sup>COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, and <sup>e</sup>Instituto de Física, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. E-mail: giles@ifi.unicamp.br

Diffraction-enhanced images have been obtained using two silicon crystals in a non-dispersive set-up at the XRD2 beamline at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS). A first asymmetrically cut silicon crystal using the (333) reflection vertically expanded the monochromated beam from 1 mm to 20 mm allowing the imaging of the whole sample without movements. A symmetrically cut Si(333) second crystal was used as a Bragg analyzer. Images of biological samples including human tissue were recorded using a direct-conversion CCD detector resulting in enhancement of the contrast compared with absorption-contrast images.

**Keywords:** X-ray imaging; phase-contrast imaging; diffraction-enhanced imaging; X-ray optics.

### 1. Introduction

Traditional X-ray imaging is based on the absorption contrast of different parts of an object. Progress in this field has been made on the improvement of detectors such as image plates, flat-panel detectors, CCD cameras *etc.*, and developments on source and optical elements. Enhanced imaging quality has been recently achieved by exploring the real component  $\delta$  of the refractive index ( $n = 1 - \delta - i\beta$ ) instead of the imaginary component  $i\beta$  that is responsible for absorption (Ingal & Beliaevskaya, 1995; Snigirev *et al.*, 1995; Wilkins *et al.*, 1996). Different optical arrangements and techniques, generally termed as phase-contrast radiography (PCR) or diffraction-enhanced imaging (DEI) (Chapman *et al.*, 1997), are being used to increase the density of information carried by the X-ray beam that passes through the object and reaches the detector. For PCR, as in the case when an X-ray interferometer is used, beam coherence is the fundamental factor (Ando *et al.*, 2001). However, angular rejection of photons scattered at small angles or deviated by refraction (Ando *et al.*, 2001), which are described by the real component of the refractive index, can be used by optical methods to increase the contrast. Projection radiography simply using a point source (Wilkins *et al.*, 1996), X-ray holography using a coherent or partially coherent source (Tegze *et al.*, 2000) and non-dispersive double-crystal radiography (Davis *et al.*, 1995; Förster *et al.*, 1980), together with X-ray interferometry (Ando & Hosoya, 1972), are some of the techniques used to obtain contrast originating from the real component of the refractive index. Applications of this technique are spreading as the experiments are being intensively developed (Stevenson *et al.*, 2003).

First experiments on DEI have begun at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS) and are reported here. The experimental set-up will be described in detail; DEI obtained with synchrotron

radiation will be shown and compared with absorption radiography of the same samples. Conclusions and perspectives will be drawn.

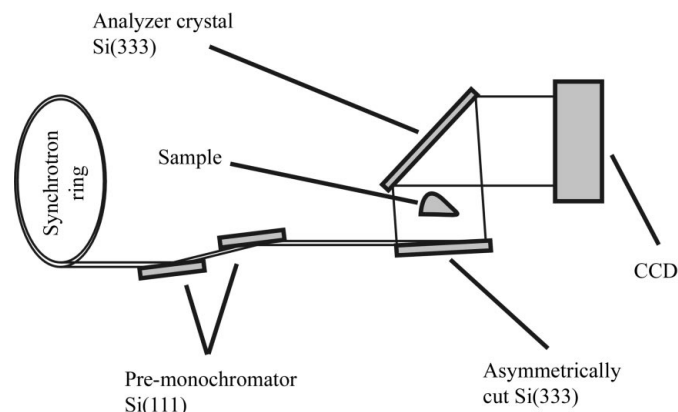
### 2. Experiment

Synchrotron light properties are very suitable for obtaining enhanced radiographic imaging (Snigirev *et al.*, 1995; Zhong *et al.*, 2000; Westneat *et al.*, 2003; Stevenson *et al.*, 2003). First experiments of DEI have been optimized at the XRD2 high-resolution X-ray diffraction beamline (Giles *et al.*, 2003). A double-crystal Si(111) pre-mono-chromator, upstream of the beamline, was used to select a small energy bandwidth ( $\Delta\lambda/\lambda = 3 \times 10^{-4}$ ) at 8 keV. A non-dispersive set-up (Ingal & Beliaevskaya, 1995) was used with an asymmetrically cut ( $b = -0.05$ ) Si(333) first crystal to expand the beam and a symmetrically cut Si(333) second crystal as a Bragg analyzer (Fig. 1). The two-crystal set-up had mechanical and thermal stability assured by the use of a robust double-axis diffractometer made of one solid piece of melted iron and positioned in the vertical scattering geometry. The distance between the two axes, 200 mm, allowed convenient sample positioning. A direct-conversion water-cooled CCD camera of 1242 pixels  $\times$  1152 pixels, each 25  $\mu\text{m} \times 25 \mu\text{m}$ , positioned at 200 mm from the analyzer crystal, was used as a two-dimensional detector. With this set-up it was possible to obtain bright and dark field images by changing the angular position of the Bragg analyzer crystal by some tens of  $\mu\text{rad}$  around the maximum of the rocking curve. The acquisition time varied with the transmitted signal through the sample and with the angular position of the Bragg analyzer crystal, from a few seconds to several minutes per image. Images obtained with this set-up were compared with conventional absorption radiographs taken using the same samples with a conventional laboratory source.

The phase contrast becomes very useful at higher energies and very suitable for enhanced imaging of low-density objects.

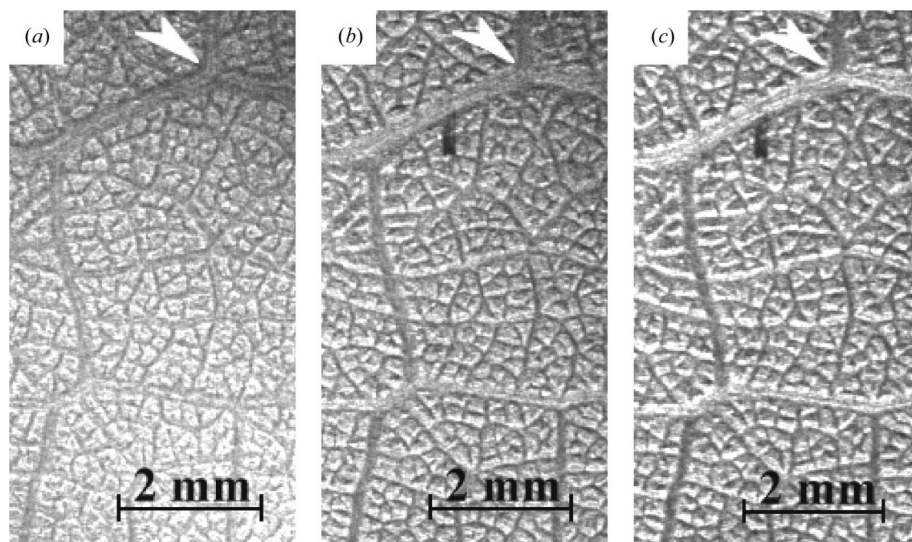
### 3. Results

To demonstrate DEI effects, images were taken of a tree leaf at different angular positions of the Bragg analyzer crystal. Fig. 2(a) was recorded with the analyzer near the peak position showing dark contrast at the stem, indicated by the arrow. Images of the tree leaf

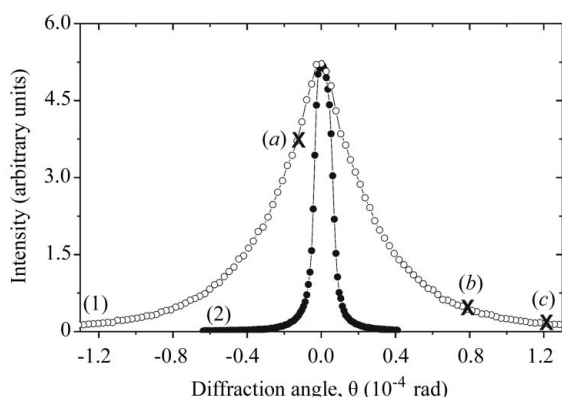


**Figure 1**

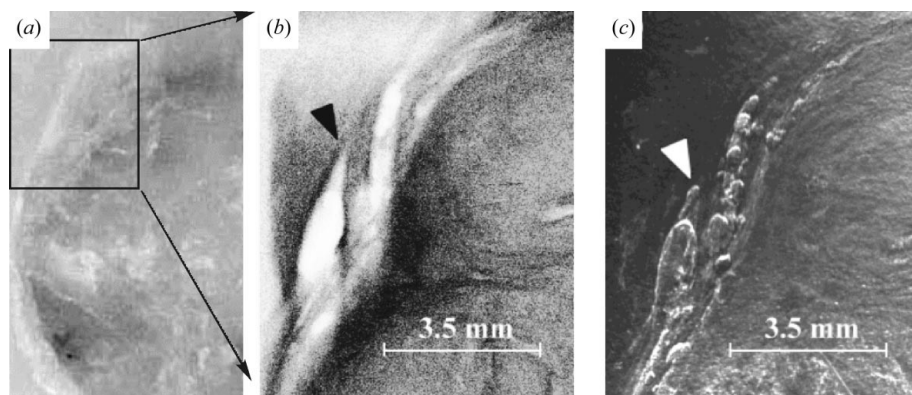
DEI set-up at the XRD2 beamline. A non-dispersive set-up prepares the X-ray beam to obtain enhanced quality transmission images of different specimens. The first crystal is asymmetrically cut ( $b = -0.05$ ) to expand the beam. At different angular positions of the Bragg analyzer (by varying the diffraction angle) it is possible to obtain dark and bright field contrast recorded by a CCD detector.



**Figure 2**  
DEI of a tree leaf at different angular positions of the analyzer crystal. (a) Near to the analyzer peak position. (b) and (c) At different angular positions further away from the peak positions (see Fig. 3). Contrast inversion (dark to bright) at some features of the leaf stem (indicated by the arrow), only possible with phase-contrast techniques, is demonstrated. Exposure times: (a) 2 min; (b) and (c) 6 min.



**Figure 3**  
(1): Rocking curve of the crystal analyzer Si(333) after transmission through the tree leaf. Crosses indicate the angular positions of the analyzer crystal for the images of Fig. 2 (a)–2(c). (2): Rocking curve of the crystal analyzer without a sample. The rocking-curve width is enlarged by the transmission of the beam through the specimen positioned between this non-dispersive crystal set-up.



**Figure 4**  
(a) Image of a sectional *in vitro* human uterus specimen with visible light. The region selected was observed using (b) absorption radiography and (c) DEI. Note that the features in (c) shown by arrows correspond to details related to tumorous tissue presenting resolution and contrast details not seen in the absorption radiograph. Exposure times: (b) 1 min and (c) 15 min.

with increasing angular distance from the peak position creates an inversion of the DEI contrast from dark to bright in the entire image and in particular at the stem indicated by the arrow (Figs. 2a–2c). A schematic rocking curve of the Si(333) analyzer crystal with the beam passing through the sample is shown in Fig. 3. The angular positions where the tree-leaf images of Fig. 2 were taken are indicated by crosses. Images far from the peak position required more integration time to account for the intensity decrease out of the analyzer peak position. The demonstrated tunability from dark to bright contrast is not possible in absorption-contrast imaging and is characteristic of the phase-contrast techniques.

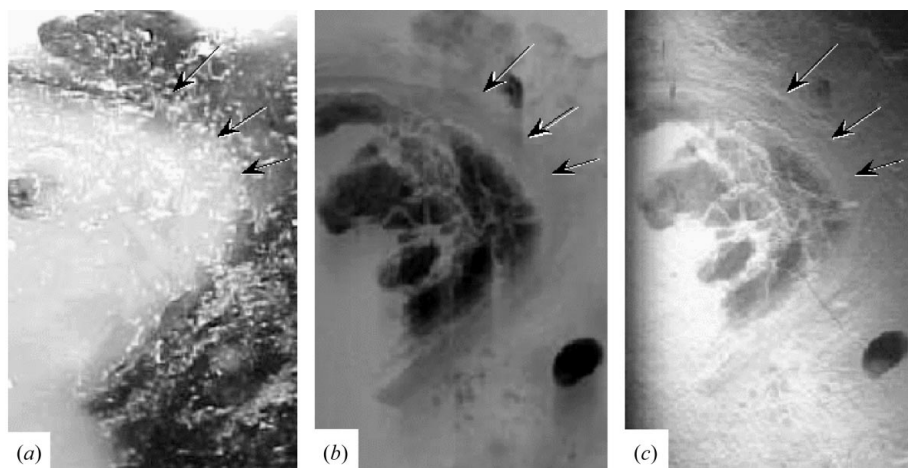
DEI is also being used to improve the distinction between normal and abnormal human tissue. This may be useful in the case of the identification of microcalcifications (Arfelli *et al.*, 2000) and surface spiculations that could be correlated with histopathologic information to detect early stages of

tumor tissue and its extension into the surrounding tissue. Figs. 4 and 5 show examples of DEI with *in vitro* tumorous tissue. A sectional image of a formalin-fixed human uterus cancer specimen is shown in Fig. 4(a). An absorption-contrast image (Fig. 4b) and diffraction-enhanced image (Fig. 4c) of a small region containing tumorous tissue indicated by the arrow are shown for comparison. Increased contrast details present in the diffraction-enhanced image are indications of the potential application of this technique for detection of lesion details for early diagnosis and characterization of histopathologic tissue. A lung specimen with tubercular regions is shown in Fig. 5. A sectional image with arrows indicating the internal structure of a tuberculoma is shown in Fig. 5(a) and is compared with the absorption-contrast (Fig. 5b) and DEI (Fig. 5c) images. The tubercular structures are clearly visible in the DEI image compared with the absorption-contrast image.

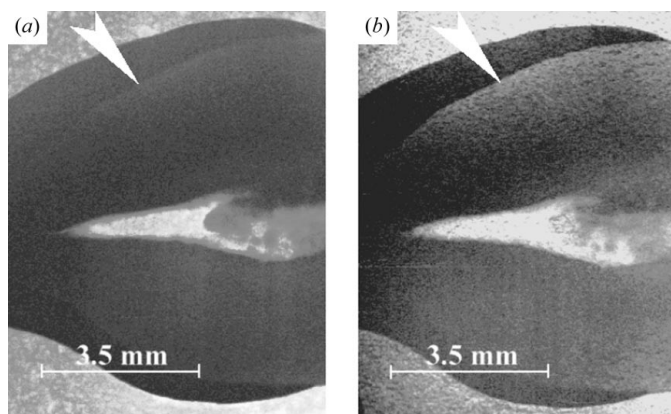
Another example is shown in Fig. 6, in a study of tooth radiography. A 0.5 mm-thick canine sectional specimen was used for absorption-contrast imaging (Fig. 6a) and DEI (Fig. 6b). The enamel and dentine interface is clearly visible in the DEI image.

#### 4. Conclusions and perspectives

A DEI set-up has been implemented at the high-resolution X-ray diffraction beamline XRD2 at the LNLS. First experiments using an asymmetrically cut Si(333) and a symmetrically cut Si(333) crystal as a Bragg analyzer allowed DEI of biological specimens. Bright and dark field enhanced contrast of boundaries between media of different density was shown. One possible application of DEI radiography is the advanced observation of microcalcifications in mammographic images which can be one of the first signs of breast cancer and is not straightforwardly detected by conventional X-ray imaging.



**Figure 5**  
 (a) Image of a sectional *in vitro* human lung specimen. Features indicated by arrows are structures of tubercular tissue. (b) Absorption-contrast image and (c) diffraction-enhanced image of the same region. The DEI image improved the visualization of the pathological structures in this specimen. Exposure times: (b) 1 min and (c) 5 min.



**Figure 6**  
 Images of a 0.5 mm-thick *in vitro* canine human tooth sectional specimen obtained by (a) absorption-contrast imaging and (b) DEI. The boundary between the enamel and dentine (indicated by the arrow) is clearly enhanced using the DEI technique. Exposure times: (a) 3 min and (b) 10 min.

This work is part of a recently created collaborative network between our research institutions (UFRJ, UNICAMP, LNS and UFPR). Further experiments using synchrotron radiation at higher

energies as well as alternative set-ups for DEI using synchrotron radiation and conventional sources will be performed in the near future.

This work was partially supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP contract 96/05586-6) and Programa de Apoio à Núcleos de Excelência (PRONEX).

**References**

Ando, M. & Hosoya, S. (1972). *Proceedings of the 6th International Conference on X-ray Optics and Microanalysis*, edited by G. Shinoda *et al.*, p. 63. Tokyo: University of Tokyo.

Ando, M., Sugiyama, H., Zhang, X., Hyodo, K., Maksimenko, A. & Pattanasiriwisawa, W. (2001). *Jpn. J. Appl. Phys.* **40**, L298–L301.

Arfelli, F., Bonvicini, V., Bravin, A., Cantatore, G., Castelli, E., Palma, L. D., Di Michiel, M., Fabrizioli, M., Longo, R., Menk, R. H., Olivo, A., Pani, S., Pontoni, D., Poropat, P., Prest, M., Rashevsky, A., Ratti, M., Rigon, L., Tromba, G., Vacchi, A., Vallazza, E. & Zanconati, F. (2000). *Radiology*, **215**, 286–293.

Chapman, D., Thomlinson, W., Johnston, R. E., Washburn, D., Pisano, E., Gmür, N., Zhong, Z., Menk, R., Arfelli, F. & Sayers, D. (1997). *Phys. Med. Biol.* **42**, 2015–2025.

Davis, T. J., Gao, D., Guruyev, T. E., Stevenson, A. W. & Wilkins, S. W. (1995). *Nature (London)*, **373**, 595–598.

Förster, E., Goetz, K. & Zaumell, P. (1980). *Kryst. Tech.* **15**, 937–945.

Giles, C., Yokaichiya, F., Kycia, S. W., Sampaio, L. C., Ardiles-Saravia, D. C., Franco, M. K. K. & Neuenschwander, R. T. (2003). To be published.

Ingal, V. N. & Beliaevskaya, E. A. (1995). *J. Phys. D*, **28**, 2314–2317.

Snigirev, A., Snigireva, I., Kohn, V., Kuznetsov, S. & Schelokov, I. (1995). *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 5486–5492.

Stevenson, A. W., Gureyev, T. E., Paganin, D., Wilkins, S. W., Weitkamp, T., Snigirev, A., Rau, C., Snigireva, I., Youn, H. S., Dolbnya, I. P., Yun, W., Lai, B., Garrett, R. F., Cookson, D. J., Hyodo, K. & Ando, M. (2003). *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, **199**, 427–435.

Tegze, M., Faigel, G., Marchesini, S., Belakhovsky, M. & Ulrich, O. (2000). *Nature (London)*, **407**, 38.

Westneat, M. W., Betz, O., Blob, R. W., Fezzaa, K., Cooper, W. J. & Lee, W. K. (2003). *Science*, **299**, 558–560.

Wilkins, S. W., Gureyev, T. E., Gao, D., Pogany, A. & Stevenson, A. W. (1996). *Nature (London)*, **384**, 335–338.

Zhong, Z., Thomlinson, W., Chapman, D. & Sayers, D. (2000). *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A*, **450**, 556–567.

## Enhanced contrast radiography with channel-cut crystals at the LNLS

M. G. Hönnicke<sup>a)</sup>

LORXI, Departamento de Física, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19091, 81531-990 Curitiba-PR, Brazil

G. Kellerman

Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Caixa Postal 6192, 13084-971 Campinas-SP, Brazil

H. S. Rocha

LIN, COPPE—Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68509, 21945-970 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

C. Giles

Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Caixa Postal 6192, 13084-971 Campinas-SP and Instituto de Física Gleb Wataghin, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6165, 13083-970 Campinas-SP, Brazil

G. Tirao

LORXI, Departamento de Física, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19091, 81531-990 Curitiba-PR, Brazil and FaMAF, Universidade Nacional de Córdoba, 5000 Córdoba, Argentina

I. Mazzaro

LORXI, Departamento de Física, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19091, 81531-990 Curitiba-PR, Brazil

R. T. Lopes

LIN, COPPE—Universidade Federal do Rio de Janeiro, Caixa Postal 68509, 21945-970 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

C. Cusatis

LORXI, Departamento de Física, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19091, 81531-990 Curitiba-PR, Brazil

(Received 3 December 2004; accepted 12 July 2005; published online 23 August 2005)

An analyzer-based x-ray phase contrast imaging (PCI) setup based on channel-cut crystals at the Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS—Brazilian Synchrotron) is presented. The contrast, visibility, signal-to-noise ratio and spatial resolution of the acquired images were characterized. The potential of PCI for enhancing details of different features with the same x-ray attenuation coefficient is exploited together with cross section simulations of the PCIs acquired at different angular positions on the rocking curve (RC). The present results show that this setup can be used as a standard PCI setup at the LNLS. © 2005 American Institute of Physics.

[DOI: [10.1063/1.2018456](https://doi.org/10.1063/1.2018456)]

### I. INTRODUCTION

Conventional radiography relies on attenuation contrast of different parts of an object (sample). Low contrast images are obtained when the sample has low attenuation contrast for the x-ray energy used. Enhanced contrast imaging can be achieved by using attenuation contrast agents. Alternatively, it can be achieved by exploiting the real part of the refraction index, which is responsible for the phase shifts, in addition to the imaginary part, which is responsible for the absorption. Three techniques of this type are reported in the literature for hard x rays: interferometry,<sup>1</sup> propagation,<sup>2,3</sup> and analyzer-based x-ray phase contrast imaging (PCI).<sup>4–8</sup> Quantitative studies on PCI were done by Keyriläinen<sup>9</sup> using a conventional source and by Protopopov<sup>10</sup> with multilayer mirrors

with resonant absorption and conventional sources. Three main sources of contrast can be enhanced in PCI: ultrasmall angle x-ray scattering (extinction contrast), refraction contrast, and pure absorption contrast. The superposition of the details arising from those three main sources of contrast can result in ambiguous interpretation of the image.<sup>11</sup> Mathematical image processing such as diffraction enhanced images (DEI)<sup>8,12</sup> has been widely used to solve this problem. Applications where the DEI can be useful were reported by Pisano,<sup>13</sup> Li,<sup>14</sup> and Lewis.<sup>15</sup> Dilmanian<sup>16</sup> developed the DEI computed tomography process. Improvements in the original DEI algorithm, which considers the intensity variation on the analyzer rocking curve (RC) to be linear with the angular deflections of the beam by the sample, have been made by Pagot,<sup>11</sup> Rigon,<sup>17</sup> Oltulu,<sup>18</sup> and Wernick.<sup>19</sup> This improved technique considers the intensity variation of the RC to be nonlinear with the angular deflection of the beam by the sample (Gaussian shaped RC) and can be used to obtain

<sup>a)</sup> Author to whom correspondence should be addressed; electronic mail: marcelo@fisica.ufpr.br

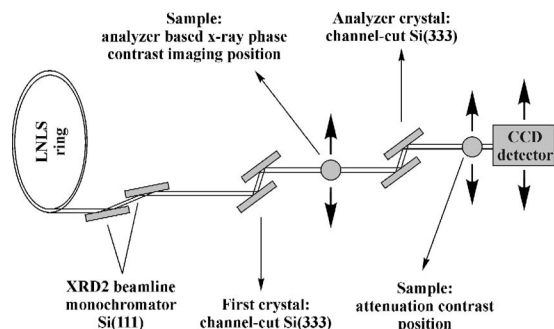


FIG. 1. PCI setup at the XRD2 beamline at the LNLS (10 keV).

three types of contrast images: pure absorption contrast, refraction angle, and extinction contrast images. The original DEI algorithm can be used only to obtain two types of contrast images: apparent absorption contrast (pure absorption and extinction contrast) and refraction angle images.

Coan<sup>20</sup> and Pavlov,<sup>21</sup> using high brilliance synchrotron sources, have recently shown a unification between analyzer-based and propagation-based x-ray phase contrast imaging.

Recently studies on PCI were done at the XRD2 beamline at the Laboratorio Nacional de Luz Sincrotron (LNLS—Brazilian Synchrotron)<sup>22,23</sup> with an asymmetrical crystal setup. The low photon flux at higher energies of the LNLS source limits the useful energy at about 10 keV. Also, images obtained by the propagation method (in-line beam holography and edge detection images) are difficult to obtain because of the small vertical and horizontal transverse coherence length (3 and 1  $\mu\text{m}$ , respectively, at 10 keV) due to the large vertical and horizontal source size (450 and 850  $\mu\text{m}$ , respectively) and small source-to-sample distance (20 m). Other reasons why it is almost impossible to obtain those kinds of images, even using high resolution films, are the untreated beryllium windows, the mirrors, and the sagittal focusing monochromator upstream of the experimental hutch that degrades the beam coherency.

In this investigation a PCI setup using symmetrical channel-cut crystals with coupled translators, for sample and detector, will be described. For characterizing this setup, conventional attenuation radiography (CAR), conventional synchrotron radiography (CSR), PCIs, and DEIs will be compared. The statistics of the images acquired (contrast, signal to noise ratio, and visibility of the object edges) for each technique will be discussed.

This article continues with a description of the experiment, followed by the experimental and theoretical results and the conclusions.

## II. EXPERIMENT

The experiment was done in the XRD2 beamline of LNLS. The setup is shown schematically in the Fig. 1. A double crystal Si(111) monochromator upstream of the experimental hutch was used to select the energy at 10 keV. A nondispersive 4-crystal<sup>24</sup> PCI setup, with a symmetrical channel-cut Si(333) first crystal and a symmetrical channel-cut Si(333) second crystal as a Bragg analyzer, was used. They were mounted on a double axis diffractometer (inde-

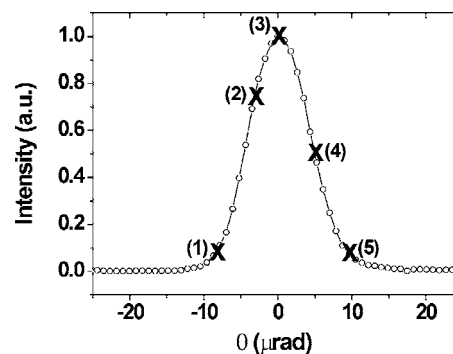


FIG. 2. Analyzer Si(333) rocking curve (RC) (10 keV) and the angular positions where the images were acquired.

pendent of the beamline monochromator), similar to the one built by Hart,<sup>25</sup> with 0.3  $\mu\text{rad}/\text{step}$  and good thermomechanical stability. The measured RC (Fig. 2) width [full width at half maximum (FWHM)] was 7  $\mu\text{rad}$ . The mirrors and the sagittal focusing monochromator were used to achieve, as much as possible, a parallel beam in the vertical and horizontal scattering planes, i.e., the curvature of both devices was selected to aim a parallel beam. The measured divergences of the beam on the sample were 40  $\mu\text{rad}$  in the vertical scattering plane and 600  $\mu\text{rad}$  in the horizontal scattering plane for a beamsize of  $0.7 \times 20 \text{ mm}^2$ .

For obtaining the PCIs the samples were located between the two channel-cut crystals. The images were acquired at different angular positions on the RC (Fig. 2). Coupled vertical translators for sample and detector were used with total translation of 25 mm. This setup can also be used for acquiring CSRs where the samples are set just after the crystals, in contact with the charge coupled device (CCD) detector window.

The main advantages in using symmetrical channel-cut crystals with translations in a PCI setup is the reduction of the RC tails due to the double diffraction in the analyzer crystal.<sup>26</sup> The present setup avoids the use of large strain-free crystals and retains the coherence of the beam.<sup>27,28</sup> Also this setup allows an easy mounting of the sample with a vertical axis of rotation (in the case of tomography). Furthermore, the beam leaves the analyzer crystal in the same direction as the incident beam, which does not occur when using a single analyzer crystal, so that in the present setup, the CCD detector is positioned vertically.

All the images were acquired using a direct conversion  $1242 \times 1152$  pixel CCD detector with pixel size of  $22.5 \times 22.5 \mu\text{m}^2$ .

## III. RESULTS

For characterizing the present PCI setup, CSR was quantitatively compared with CAR. Also, to verify if the PCI setup was useful for identifying different objects with the same attenuation coefficient within a single sample,<sup>29</sup> a qualitative study was conducted. Quantitative studies on PCI were carried out for the images acquired at different angular positions on the RC. Refraction angle and apparent absorption contrast images were also obtained with DEI mathematical processing. The CSR, CAR, PCI, and DEI were also

compared with each other by measuring the area contrast ( $C$ ), the signal-to-noise ratio in the area case ( $\text{SNR}_{\text{area}}$ ) the visibility of the object edges ( $V$ ), and the signal-to-noise ratio for the edge case ( $\text{SNR}_{\text{edge}}$ ). These quantities are defined according to Pagot<sup>30</sup> and references therein in the following way:

$$C = \frac{\langle I_{\text{obj}} \rangle - \langle I_{\text{backg}} \rangle}{\langle I_{\text{backg}} \rangle}, \quad (1)$$

$$\text{SNR}_{\text{area}} = \frac{\langle I_{\text{obj}} \rangle - \langle I_{\text{backg}} \rangle}{\sqrt{\sigma_{\text{obj}}^2 + \sigma_{\text{backg}}^2}}, \quad (2)$$

$$V = \frac{I_{\text{max}} - I_{\text{min}}}{I_{\text{max}} + I_{\text{min}}}, \quad (3)$$

$$\text{SNR}_{\text{edge}} = \frac{I_{\text{max}} - I_{\text{min}}}{\sqrt{2} \cdot \sigma_{\text{backg}}}, \quad (4)$$

where  $\langle I_{\text{obj}} \rangle$  and  $\langle I_{\text{backg}} \rangle$  are the mean intensity values of a given area in the object and in the background, respectively;  $\sigma_{\text{obj}}$  and  $\sigma_{\text{backg}}$  are the standard deviations of the distributions of  $I_{\text{obj}}$  and  $I_{\text{backg}}$ ; and finally,  $I_{\text{max}}$  and  $I_{\text{min}}$  are the maximum and minimum of the mean intensity profile across the edge.

### A. Attenuation radiography

A polypropylene tube, with an external diameter of 6 mm and internal diameter of 3.8 mm (tube wall 1.1 mm thick) was used as a sample for the conventional radiography and PCI studies. This tube was glued on a paper sheet (about 50  $\mu\text{m}$  thick). The polypropylene tube combines refraction and absorption effects while the paper exhibits mainly extinction effects.<sup>18</sup> Another sample used was a set of polypropylene disks (3 mm thick) embedded in paraffin wax. These materials have matched attenuation coefficients for the x-ray energy used, which was 10 keV.

The CAR with a conventional x-ray tube (Cu target—10 kV  $\times$  2.5 mA) of the polypropylene tube is shown in the Fig. 3(a). This radiograph was obtained with a point focus (0.4  $\times$  1.2 mm<sup>2</sup>) with the sample in contact with the CCD detector, both 1 m distance from the source.

The CSR, shown in Fig. 3(b), was acquired with the polypropylene tube in the horizontal position (taking advantage of the small vertical dimensions of the synchrotron source) after the crystals, as shown in Fig. 1.

CAR and CSR were acquired with the same mean intensity. Also the exposure times of the object and of the background were the same.

The measured and simulated cross section profiles of the attenuation radiographs are shown in the Figs. 3(c) and 3(d), respectively. The simulated profiles in Figs. 3(c) and 3(d) were calculated assuming an incoming monochromatic (10 keV) plane wave x-ray beam being attenuated by the sample. The contrast ( $C$ ),  $\text{SNR}_{\text{area}}$ ,  $V$ , and  $\text{SNR}_{\text{edge}}$  obtained with CAR are larger than those obtained with CSR (Table I). This was expected because of the beam chromaticity of the conventional source. Also, the experimental profile [Fig. 3(c)] is slightly different from the calculated one due to the same reason (beam chromaticity), i.e., the low energies (be-

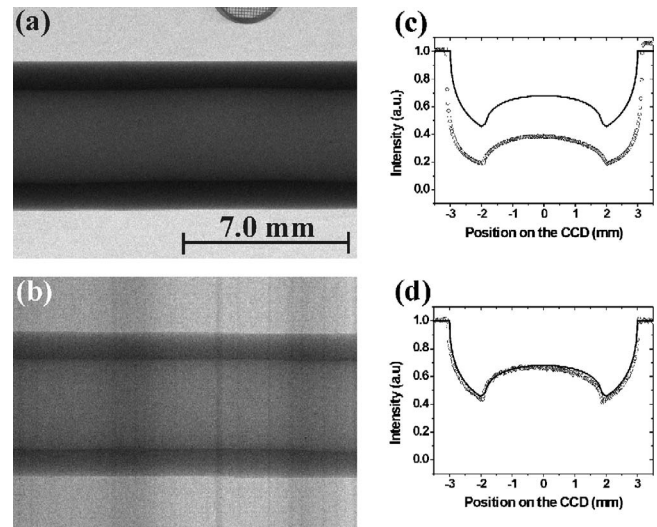


FIG. 3. (a) Conventional attenuation radiograph (CAR) (Cu target at 10 kV  $\times$  2.5 mA) and (b) conventional synchrotron radiography (CSR) (10 keV) of the polypropylene tube. (c) and (d) are the measured ( $\circ$ ) and simulated ( $-$ ) cross section profiles of the images (a) and (b).

low 10 keV) also contribute to the image profile. A disagreement in Fig. 3(c) also occurs for the position on the CCD due to the high divergence of the beam.

Otherwise, the simulated cross section profile of the CSR [Fig. 3(d)] agrees well with the experimental profile because, in this case, the vertical divergence ( $\Delta\theta$ ) and chromaticity ( $\Delta\lambda/\lambda$ ) of the beam, at the sample, were 40  $\mu\text{rad}$  and  $7 \cdot 10^{-5}$ , respectively. This means that the incident x-ray beam can be assumed to be a monochromatic plane wave. For these reasons the conventional synchrotron radiography and conventional synchrotron computed tomography are better tools than conventional attenuation radiography and conventional attenuation tomography.

### B. Qualitative studies

Qualitative studies with the present PCI setup were conducted with the image of an attenuation-matched sample (polypropylene disks, 3 mm thick, embedded in paraffin wax) shown in Fig. 4. The potential of PCI for revealing distinguishing details with similar x-ray attenuation coefficients is clearly seen in Fig. 4(b). The CAR (10 kV  $\times$  2.5 mA and Cu target) of the same sample is shown in Fig. 4(a). The edges of the polypropylene disks cannot be identified in the CAR. They are clearly seen, however, in the PCI acquired at the maximum slope angular position on the RC (position 4 in Fig. 2).

TABLE I. Contrast ( $C$ ), signal-to-noise ratio in the area case ( $\text{SNR}_{\text{area}}$ ), visibility of the object edges ( $V$ ), and signal-to-noise ratio for the edge case ( $\text{SNR}_{\text{edge}}$ ) for conventional attenuation radiography (CAR) and conventional synchrotron radiography (CSR). The visibility and  $\text{SNR}_{\text{edge}}$  values were obtained at the top edge of the tube.

Technique	Contrast ( $C$ )	$\text{SNR}_{\text{area}}$	Visibility ( $V$ )	$\text{SNR}_{\text{edge}}$
CAR	-0.73	-7.9	0.28	5.90
CSR	-0.40	-2.4	0.10	1.22

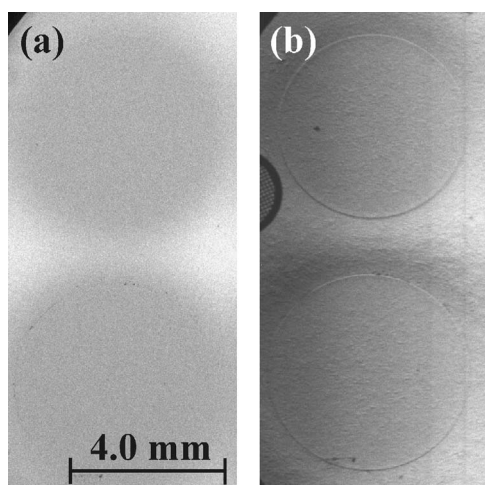


FIG. 4. Image of the polypropylene disks embedded in paraffin wax (attenuation matched materials): (a) CAR (Cu target at 10 kV  $\times$  2.5 mA) and (b) PCI at the maximum slope angular position on the RC (position 4 in Fig. 2) where the edges of the polypropylene disks are well defined.

### C. Quantitative studies

Quantitative studies on PCI and DEI were done with the same sample (tube) used for the attenuation radiographs (Fig. 3). PCIs were acquired at different angular positions of the RC for the tube set in the horizontal position (sensitive to PCI) and in the vertical position (insensitive to PCI). Figures 5(a) and 5(b) show PCIs acquired at the top and on the tail of the RC (positions 3 and 5 in Fig. 2, respectively). The tube edges and the structure of the clusters of the paper fibers are enhanced in the PCIs when compared with CAR and CSR of Fig. 3. The clusters of the paper fibers are not individually seen because they are smaller than the spatial resolution of the CCD detector. These clusters can be seen with a high-resolution area detector.<sup>31</sup>

A PCI acquired at the top angular position on the RC shows contrast arising from ultrasmall angle x-ray scattering (extinction), refraction, and pure absorption. The superposition of such effects can result in ambiguous interpretation that can be resolved using appropriate mathematical processing, such as DEI. PCIs acquired on the slopes of the RC (on

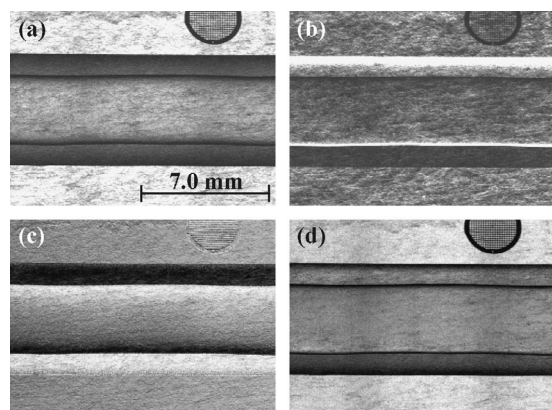


FIG. 5. PCIs and DEIs of the polypropylene tube. (a) and (b) PCIs acquired at the top and on the tail of the RC (positions 3 and 5, respectively, in Fig. 2). (c) Refraction angle and (d) apparent absorption contrast images obtained with the DEI algorithm.

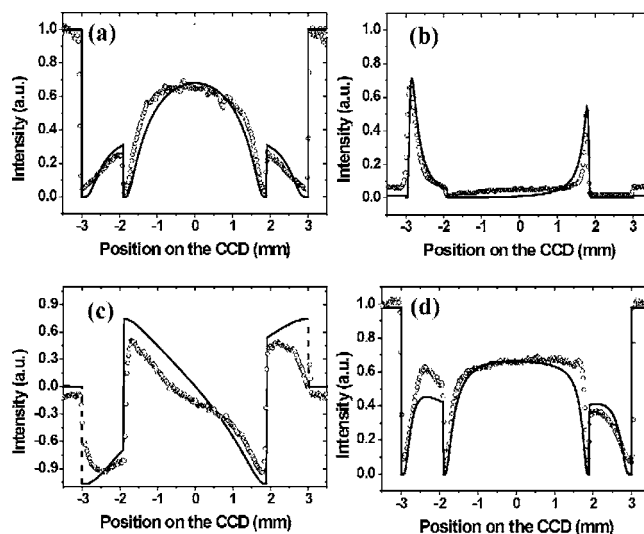


FIG. 6. Measured ( $\circ$ ) and simulated ( $-$ ) cross section profiles of the images of Fig. 5. (a) and (b) cross section profiles of the PCIs acquired at the top and on the tail of the RC, respectively (positions 3 and 5, respectively, in Fig. 2). (c) and (d) cross section profiles of the refraction angle and apparent absorption contrast images obtained with the DEI algorithm. Profiles (a) and (b) were normalized accordingly with the background intensity outside the sample, i.e., accordingly with the intensity for their angular position on the RC.

each side of the RC) have been used, in conjunction with DEI mathematical processing to obtain refraction angle images and apparent absorption contrast images [Figs. 5(c) and 5(d), respectively]. Refraction angle images represent the spatial gradient of the refraction index.<sup>15</sup> This explains why the structure of the clusters of paper fibers, which shows mainly extinction contrast, almost disappeared in Fig. 5(c). Only the tube and the Cu mesh that also show refraction contrast appear in Fig. 5(c).

The apparent absorption contrast images are scatter free and only absorption and extinction produce the contrast, i.e., Fig. 5(d) should exhibit only the attenuation profile of the tube and the structure of the clusters of the paper fibers. This is not entirely true because near the edges of the tube walls the angular deflections of the beam, due to refraction, achieve their largest values (tens of microradians) so that refraction contrast also appears in the apparent absorption image profile. This occurs because in DEI the intensity variation on the RC is supposed to be linear with the angular deflections of the beam by the sample. Hence this linear behavior occurs only in a narrow range (about tenths of microradians), near the maximum slope angular positions, where the Gaussian profile is linear. So, the apparent absorption image looks like the one acquired at the top angular position on the RC. Moreover it appeared slightly asymmetric because one of the slope images was not acquired at the maximum slope angular position on the RC (positions 2 and 4 in Fig. 2, respectively).

The measured and simulated cross section profiles of the images in Fig. 5 are shown in Fig. 6. These profiles show good agreement with the measured cross section profiles, showing that the present PCI setup is reliable and can be widely used to acquire analyzer-based x-ray phase contrast images. These simulations were done considering an incom-



TABLE II. Contrast ( $C$ ), signal-to-noise ratio in the area case ( $\text{SNR}_{\text{area}}$ ), visibility of the object edges ( $V$ ), and signal to noise ratio for the edge case ( $\text{SNR}_{\text{edge}}$ ) for PCIs and DEIs. The visibility ( $V$ ) and  $\text{SNR}_{\text{edge}}$  values were obtained at the top edge of the tube. AACI and RAI are apparent absorption contrast image and refraction angle image, respectively.

Technique	Contrast ( $C$ )	$\text{SNR}_{\text{area}}$	Visibility ( $V$ )	$\text{SNR}_{\text{edge}}$
PCI—top	-0.54	-1.70	0.92	7.20
PCI—flank	-0.39	-0.89	0.81	5.50
PCI—tail	4.72	0.49	0.83	140
DEI AACI	-0.48	-1.90	0.87	5.73
RAI	0.71	-0.15	0.89	-2.69

ing monochromatic plane-wave beam being refracted and attenuated by the sample. To simulate the images at different angular positions on the RC its profile was considered to be Gaussian with FWHM of  $7 \mu\text{rad}$  and a theoretical pixel size of  $25 \times 25 \mu\text{m}^2$ . The procedure used to simulate these profiles is similar to that used by Protopopov.<sup>32</sup>

The contrast ( $C$ ),  $\text{SNR}_{\text{area}}$ , visibility of the object edges ( $V$ ), and  $\text{SNR}_{\text{edge}}$  of the acquired PCIs and DEIs are shown in Table II. In general, the different PCIs were acquired with different mean intensities, depending on the angular position on the RC, but the exposure time for the object and for the background were the same. It is worth noting that the visibility of the object edges ( $V$ ) for the PCIs and DEIs is much greater than the values obtained with CAR and CSR as can also be seen in Figs. 5 and 6. Note especially that the contrast ( $C$ ) and  $\text{SNR}_{\text{area}}$  of the PCI acquired on the tail on the RC are positive because the mean intensity of the object is higher than the background. Also the  $\text{SNR}_{\text{edge}}$  for this image is higher than the  $\text{SNR}_{\text{edge}}$  of the other images (Tables I and II) because in the former the exposure time of the object is higher than the exposure time of the background. Then the  $\sigma_{\text{backg}}$  is much better than the other values found for all the other images in the present work.

To show that the PCI setup is only sensitive in the vertical scattering plane, images with the polypropylene tube set in the vertical position (to deviate the beam in the horizontal scattering plane), were acquired at different angular positions on the RC. The image is similar for any angular position on the RC, i.e., PCI is not sensitive in the horizontal scattering plane. Otherwise the image [Fig. 7(a)] has more details than the conventional synchrotron radiograph because the analyzer crystal eliminates the diffuse scattering. The structure of the clusters of the paper fibers can also be seen. Interesting features, indicated by arrows, were found in the cross section profile of the image [Fig. 7(b)]. These features are probably edge enhancements corresponding to the combination of simple propagation and analyzer-based imaging.<sup>20</sup> They were not expected in the calculated conventional synchrotron radiograph cross section profile. They occur due to the great distance from the source to sample (20 m), the small horizontal source size ( $850 \mu\text{m}$ ), and the average distance from the sample to the CCD detector (300 mm). These effects are associated with a jump of the phase and only require a very moderate partial coherence of the beam, i.e., the low transverse coherence length in the horizontal scattering plane of  $1 \mu\text{m}$  at 10 keV is enough to observe such an effect.<sup>2</sup>

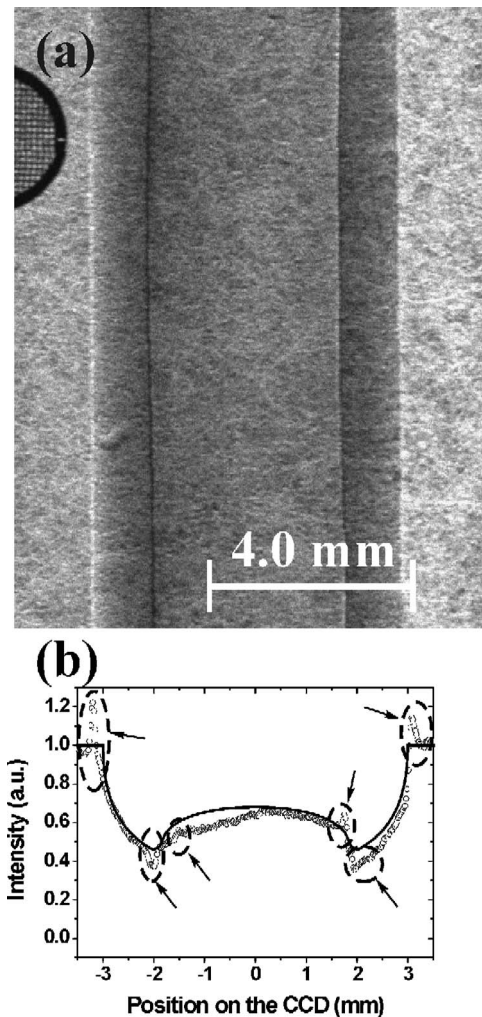


FIG. 7. (a) PCI of the polypropylene tube in the vertical position. The PCI is not sensitive in the horizontal scattering plane, but edge enhancements can be seen as indicated by arrows in the cross section profile of the image (b).

The Cu 300 mesh shown in almost all the images was used to check the spatial resolution of the PCI setup. This was done by counting the number of pixels between two adjacent bright and dark details in the images. A spatial resolution of  $22.5 \times 22.5 \mu\text{m}^2$  was found. This was limited mainly by the spatial resolution of the direct conversion CCD detector.

#### IV. CONCLUSIONS

An analyzer-based x-ray PCI setup based on channel-cut crystals at the LNLS was developed and characterized. This PCI setup displayed significant usefulness for conventional attenuation radiography and PCI. Good agreement between the simulated and measured cross section profiles of the images of a polypropylene tube on a paper sheet was achieved. As expected, the PCIs showed much higher visibility of the object edges ( $V$ ) and better signal-to-noise ratio for the edge case ( $\text{SNR}_{\text{edge}}$ ) than the CSR. Otherwise the area contrast ( $C$ ) and the signal-to-noise ratio in the area case ( $\text{SNR}_{\text{area}}$ ) had almost the same values as the values found for the CSR and for the DEIs. This shows the potential of the PCI for enhanc-

ing the edges of the objects as also shown with a PCI of an attenuation matched sample (different features with the same x-ray attenuation coefficient). The sensitivity of PCI only in the vertical scattering plane was confirmed. Also, phase effects in the horizontal scattering plane were detected.

Finally, the present setup displayed usefulness for acquiring PCIs, conventional attenuation radiographs, for obtaining DEIs, and it can be used as a standard PCI setup at the LNLS.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to PRONEX/CNPq and LNLS/MCT (Grant No. D10A-XRD2-1692/2003) for financial support. M.G.H. is grateful to CNPq/GD for the scholarship and for financial support. G.T. is grateful to CLAF/CNPq for the postdoctoral fellowship. The authors also acknowledge Wilson de Carvalho Junior, Rubens C. da Silva, Douglas S.D. da Silva, and Hilton C. Guimaraes for their technical assistance.

- <sup>1</sup>M. Ando and S. Hosoya, *Proceedings of the 6th International Conference on X-ray Optics and Microanalysis*, edited by G. Shinoda *et al.* (University of Tokyo Press, Tokyo, 1972), p. 63.
- <sup>2</sup>S. W. Wilkins, T. E. Gureyev, D. Gao, A. Pogany, and A. W. Stevenson, *Nature (London)* **384**, 335 (1996).
- <sup>3</sup>P. Cloetens, M. Pateyron-Salomé, J. Y. Buffière, G. Peix, J. Baruchel, F. Peyrin, and M. Schlenker, *J. Appl. Phys.* **81**, 5878 (1997).
- <sup>4</sup>E. Förster, K. Goetz, and P. Zaumseil, *Krist. Tech.* **15**, 937 (1980).
- <sup>5</sup>K. M. Podurets, V. A. Somenkov, and S. Sh. Shil'shtein, *Sov. Phys. Tech. Phys.* **34**, 654 (1989).
- <sup>6</sup>V. N. Ingal and E. A. Beliaevskaya, *J. Phys. D* **28**, 2314 (1995).
- <sup>7</sup>T. J. Davis, D. Gao, T. E. Gureyev, A. W. Stevenson, and S. W. Wilkins, *Nature (London)* **373**, 595 (1995).
- <sup>8</sup>D. Chapman *et al.*, *Phys. Med. Biol.* **42**, 2015 (1997).
- <sup>9</sup>J. Keyriläinen, M. Fernández, and P. Suortti, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A* **488**, 419 (2002).
- <sup>10</sup>V. V. Protopopov and V. A. Kalnov, *Opt. Commun.* **184**, 1 (2000).

- <sup>11</sup>E. Pagot, P. Cloetens, S. Fiedler, A. Bravin, P. Coan, J. Baruchel, J. Härtwig, and W. Thomlinson, *Appl. Phys. Lett.* **82**, 3421 (2003).
- <sup>12</sup>Z. Zhong, W. Thomlinson, D. Chapman, and D. Sayers, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A* **450**, 556 (2000).
- <sup>13</sup>E. E. Pisano *et al.*, *Radiology* **214**, 895 (2000).
- <sup>14</sup>J. Li, Z. Zhong, R. Lidke, K. E. Kuettner, C. Peterfy, E. Aliyeva, and C. Muehleman, *J. Anat.* **202**, 463 (2003).
- <sup>15</sup>R. A. Lewis *et al.*, *Br. J. Radiol.* **76**, 301 (2003).
- <sup>16</sup>F. A. Dilmanian, Z. Zhong, B. Ren, X. Y. Wu, L. D. Chapman, I. Orion, and W. C. Thomlinson, *Phys. Med. Biol.* **45**, 933 (2000).
- <sup>17</sup>L. Rigon, H-J. Besch, F. Arfelli, R-H. Menk, G. Heitner, and H. Plathow-Besch, *J. Phys. D* **36**, A107 (2003).
- <sup>18</sup>O. Oltulu, Z. Zhong, M. Hasnah, M. N. Wernick, and D. Chapman, *J. Phys. D* **36**, 2152 (2003).
- <sup>19</sup>M. N. Wernick *et al.*, *Phys. Med. Biol.* **48**, 3875 (2003).
- <sup>20</sup>P. Coan, E. Pagot, S. Fiedler, P. Cloetens, J. Baruchel, and A. Bravin, *J. Synchrotron Radiat.* **12**, 241 (2005).
- <sup>21</sup>K. M. Pavlov *et al.*, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A* **548**, 163 (2005).
- <sup>22</sup>C. Giles, M. G. Hönnicke, R. T. Lopes, H. S. Rocha, O. D. Gonçalves, I. Mazzaro, and C. Cusatis, *J. Synchrotron Radiat.* **10**, 421 (2003).
- <sup>23</sup>A. Antunes, M. G. Hönnicke, C. Cusatis, and S. L. Morelhão, *J. Phys. D* **38**, A85 (2005).
- <sup>24</sup>U. Bonse and M. Hart, *Z. Phys.* **189**, 151 (1966).
- <sup>25</sup>M. Hart, *Characterization of Crystal Growth Defects by X-Ray Methods*, NATO Advanced Study Institutes Series, Series B: Physics, edited by B. K. Tanner and D. K. Bowen (Plenum, New York, 1980), p. 484.
- <sup>26</sup>J. W. M. Dumond, *Phys. Rev.* **52**, 872 (1937).
- <sup>27</sup>A. Souvorov, M. Drakopoulos, I. Snigireva, and A. Snigirev, *J. Phys. D* **32**, A184 (1999).
- <sup>28</sup>J. I. Espeso, P. Cloetens, J. Baruchel, J. Härtwig, T. Mairs, J. C. Biasci, G. Marot, M. Salomé-Pateyron, and M. Schlenker, *J. Synchrotron Radiat.* **5**, 1243 (1998).
- <sup>29</sup>M. Hasnah, O. Oltulu, Z. Zhong, and D. Chapman, *Rev. Sci. Instrum.* **73**, 1657 (2002).
- <sup>30</sup>E. Pagot, S. Fiedler, P. Cloetens, A. Bravin, P. Coan, K. Fezzaa, J. Baruchel, and J. Härtwig, *Phys. Med. Biol.* **50**, 709 (2005).
- <sup>31</sup>M. G. Hönnicke, L. Rigon, R-H. Menk, and C. Cusatis, *J. Synchrotron Radiat.* (to be published).
- <sup>32</sup>V. V. Protopopov and J. Sobota, *Opt. Commun.* **213**, 267 (2002).



ELSEVIER

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A 548 (2005) 228–233

NUCLEAR  
INSTRUMENTS  
& METHODS  
IN PHYSICS  
RESEARCH  
Section A

[www.elsevier.com/locate/nima](http://www.elsevier.com/locate/nima)

## Diffraction-Enhanced Imaging for studying pattern recognition in cranial ontogeny of bats and marsupials

H.S. Rocha<sup>a</sup>, R.T. Lopes<sup>a,\*</sup>, L.M. Pessôa<sup>b</sup>, M.G. Hönnicke<sup>c</sup>, G. Tirao<sup>c,d</sup>,  
C. Cusatis<sup>c</sup>, I. Mazzaro<sup>c</sup>, C. Giles<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN), COPPE, UFRJ, Brazil

<sup>b</sup>Laboratório de Mastozoologia, Departamento Zoologia, Instituto de Biologia, UFRJ, Brazil

<sup>c</sup>Laboratório de Óptica de Raios X e Instrumentação (LORXI), Departamento de Física, UFPR, Brazil

<sup>d</sup>Facultad de Mat. Astronomía y Física (FAMAF), UNC, Córdoba, Argentina

<sup>e</sup>Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS)/Laboratório de Cristalografia Aplicada e Raios X,  
Instituto de Física Gleb Wataghin, UNICAMP, Brazil

Available online 8 April 2005

---

### Abstract

The key to understanding evolution lies in the elucidation of mechanisms responsible for the observed underlying patterns and in the observation of sequences that emerge from those evolutionary landmarks. The comparative development can be used to access the derivation of form and the homology versus the convergence of evolution features. Phylogenetic and biological homologies are necessary to discern the evolutionary origins of these features. This work examined the patterns of cranial formation in pre-born bat specimens as well as post-born opossum by means of microradiography and Diffraction-Enhanced Radiography (DER) techniques. A direct conversion CCD camera was used to provide micrometer spatial resolution in order to acquire highly detailed density images. This technique allows the observation of structures, in early stages of development, which were impossible to be observed with traditional techniques, such as clearing and staining. Some cranial features have been described for adults in the literature, but the detailed description of the appearance sequence of those features in these species is still unknown and obscure. Microradiography and diffraction-enhanced imaging can improve quality of morphological detail analysis and permit the identification of anatomical landmarks that are useful in comparative studies and are still unknown in both species. In this study, we access evolution features in cranial morphology of bats and marsupials using both X-ray techniques.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

PACS: 07.85.Qe; 07.85.y; 87.59.Bh; 87.59.Hp

Keywords: Pattern; Microradiography; X-ray Images; Phase-contrast; Chiroptera; Marsupial

---

\*Corresponding author. Tel.: +55 21 2562 7308; fax: +55 21 2562 8444.

E-mail address: [ricardo@lin.ufrj.br](mailto:ricardo@lin.ufrj.br) (R.T. Lopes).

## 1. Introduction

Comparative development can be used to access the derivation of form (size and shape). It also permits the distinction between homology and convergence in evolution of features. Ontogenetic data has been used to formulate hypothesis of homology through comparative studies of ontogenetic sequence and the analysis of interspecific patterns of variability. Phylogenetic homology refers to structure derivatives from the same feature in a common ancestor and shared by two or more *taxa*. Biological homology refers to features that share a set of specific developmental constraints. Understanding phylogenetic and biological homologies is necessary for discerning the evolutionary origins of features. In this study, we examine pattern of cranial ontogeny in pre-born individuals of bats and postnatal marsupials. The cranial morphology in adult bats and marsupials is unique in form and function, predominantly due to a set of features derived for feeding habitats. These features have been described in the literature, but a detailed description of the appearance sequence of these characters in pre-born bats and post-born marsupials is still obscure.

### 1.1. Microradiography

X-ray images can access details of an object having different absorption contrast. This Non-Destructive Testing (NDT) technique has been used since 1895. Since then new technologies of X-ray sources and detectors have been used to obtain images with ever-greater resolution.

When the resolution of radiographs is of the order of tens of microns the technique is described as microradiography. Microradiography has been widely used in industrial NDT [1–3] and in the biomedical area [4]. About 40% of the investigations are related to the biomedical area and 29% of them are linked to studies of bone and tooth. A quick search on specialized web sites shows that microradiography is used in several fields. However, not many applications are found in the biological field.

The first publications using microradiography for the study of materials and tissues were carried out in the decade of 1950 [5–7].

About 260 papers using microradiography in biology were found in the Web of Science till 2003, 44% of them concerned studies of rats and none of them mentioned bats.

### 1.2. Diffraction-enhanced imaging (DEI)

The basic principles of DEI appeared in 1948 with a report about microscopy [8]. This imaging technique has been developed using different instruments such as interferometers [9–11], diffractometers [12,13] and high polychromatic sources with coherence spatial geometry [14,15]. Many researchers sought the development of biological [16–19], clinical and medical applications [20–22].

In the phase-contrast techniques different kinds of probes can be used such as neutrons and photons (with different wavelength). The type of probe used depends on the application wanted. Synchrotron light sources are used because of the high flux of photons, low divergence and the possibility of obtaining a monochromatic beam. On the other hand, a polychromatic source (microfocused) can be used because of the ease of use and high spatial coherence.

The DEI technique uses an analyzer crystal to select the phase shift of the X-ray beam after interaction with the sample. For different angular positions of the analyzer crystal, deviated photons can be detected separately from those that were simply transmitted by the sample. This methodology is more appropriate than the conventional X-ray microradiography for samples with small variations in the attenuation coefficient; in addition, DEI techniques allows significant enhancement of surfaces or interfaces with small curvature radius [23].

## 2. Experiment

Our experiments have been performed using a conventional X-ray source and a synchrotron source, with a combined total of three different setups. The first setup used an X-ray tube with a copper (Cu) target and a nickel (Ni) filter, while the second one employed a molybdenum (Mo) target and niobium (Nb) and aluminum (Al) filters [24] as shown in Fig. 1.

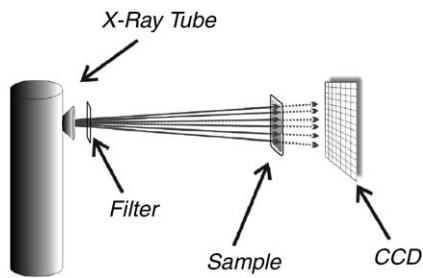


Fig. 1. Conventional microradiography setup using a conventional X-ray source and a CCD camera.

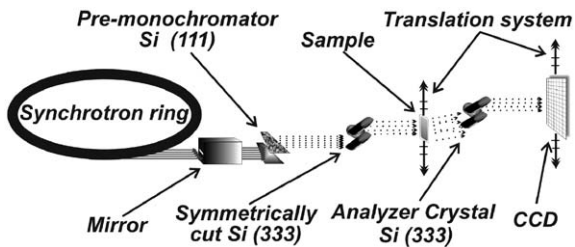


Fig. 2. Diffraction-Enhanced Radiography setup mounted at LNLS.

The conventional source was adjusted initially for 10 kV of voltage and 10 mA of current to excite the Cu  $K_{\alpha}$  characteristic line in order to obtain a quasi-monochromatic beam of 8 keV. In the second case the source was adjusted to 25 kV and 2 mA to excite the Mo  $K_{\alpha}$  characteristic line in order to obtain a quasi-monochromatic beam of 17 keV. The samples were positioned as near as possible to the detector to minimize geometric unsharpness effects [25,26]

The last one used facilities of the D10A-XRD2 beamline of Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS) with a special setup using two channels cut Si (333) crystals, as shown in Fig. 2. The pre-monochromator was adjusted to 10 keV and the beamline X-ray mirror was set with the lowest possible vertical divergence.

A first channel cut Si (333) set in a Bragg condition to reduce the vertical divergence of the beam to a value near  $58 \mu\text{rad}$  (12 arcsec). The second channel cut can be rotated to select scattering beams with an angular width of  $7 \mu\text{rad}$  (1.5 arcsec), which allows distinguishing the refraction and transmission

Table 1  
Sample description

Sample	Specimen	Locality
MN67918	<i>Desmodus rotundus</i>	Chapada Diamantina, BA
MN67667	<i>Desmodus rotundus</i>	Chapada Diamantina, BA
MN64633	<i>Noctilio albiventris</i>	North of Pantanal, MT
MN68530	<i>Micoreus demerarae</i>	Angra dos Reis, RJ

regime of the beams after interaction with the sample. Setting the angular position of this channel cut, it is possible to observe enhanced details such as superficial structures in low and high angle (refraction regime) or internal details in the top of the rocking curve profile (transmission regime).

A direct conversion water-cooled CCD camera of  $1242 \times 1152$  pixels of  $22.5 \times 22.5 \mu\text{m}^2$  each was positioned at 65 cm from the target in the conventional source setup and after the second channel cut in Diffraction-Enhanced Radiography (DER) setup. It was used as a two-dimensional detector.

The samples were closed in capsules containing 70% alcohol, sealed by a Mylar foil of  $5 \mu\text{m}$  and are described in Table 1. This procedure avoids the loss of fluid in the samples keeping their form unchanged during the exposure time. The Mylar foil presents low absorption for this energy range and does not significantly affect the images.

### 3. Results

Recently, a new imaging technique (DER) based on phase-contrast instead of the absorption contrast has been improved [27–29]. The technique allows the observation of low-density materials with small absorption contrast and when compared with the microradiography and applied to a certain region of the same sample, the results reveal new details of the bat morphology. Microradiographies and DER for two species of bat and one species of marsupial were acquired in order to test the technique for the recognition of ontogenetic patterns in early development stages.

The axis specification of the head is early defined in the ontogeny of mammals [30,31]. During

development, the anterior portion of the embryo rotates in relation to cervical axis. Simultaneously, the facial components of the skull also rotate about the braincase defining the rostral and brain case on the skull [32].

Microradiography and DER can be used to recognize these rotations. The post-anterior axis can be found if the rotation is identified in the image.

In this experiment, microradiography of *Desmodus rotundus* was obtained for the first time. These images show the early development of *D. rotundus* where it is shown the formation of the forearm (1) and the orbital region (2) evidencing the post-anterior axis (Fig. 3,  $\overline{AP}(z)$ ).

The axis orientation can be defined by the location of the orbital region in the skull (anterior portion) and the forearm in the posterior region.

In a subsequent stage of development, several cranial structures can be diagnosed. In the posterior region of brain case (Fig. 4a and b) we can see the foramen magnum region (1) the occipital region (2) and the squamosal bone (3). In the anterior portion (*rostrum*) it is possible to identify the frontal bone (4), the orbital region (5) and the nasal bone (6). Note the advanced stage of the mandible in this period of development (7). These features, defined very early, can be observed in adult individuals of *D. rotundus*.

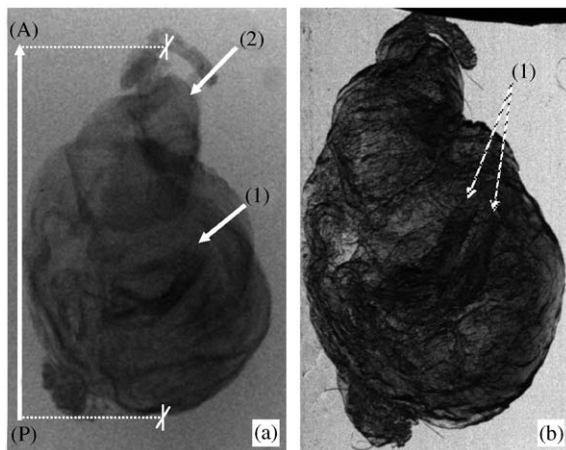


Fig. 3. Conventional microradiography (a) and DER (b) of *Desmodus rotundus* (MN67918).

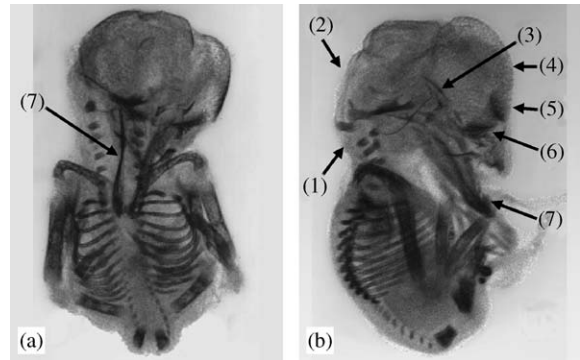


Fig. 4. Conventional microradiography of *Desmodus rotundus* (MN67667) in second stage.

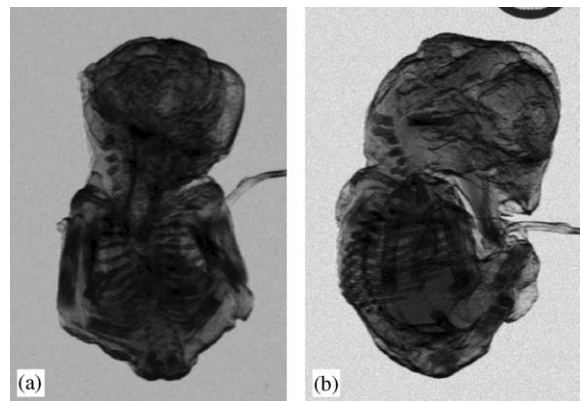


Fig. 5. DER of *Desmodus rotundus* in second stage.

Bilateral symmetry and preminent development of the mandible can be observed in the stage shown in Figs. 4a and 5a.

The microradiography of the other species, *Noctilio albiventris*, can also define the formation of braincase and rostrum. In the rostral region, the nasal bone (6) and mandible (7) can be observed in Fig. 6. In the braincase region the development of the orbital region (5) can be observed.

When this technique is applied to the post born marsupial *Micoureus demerarae* (Fig. 7), we can observe a cranial structure better defined than those for the two species of bats at an early stage of development (Figs. 3–6). The presence of hard palate is observable (Fig. 7a).

In the case of a post-born individual, where the structures are well-defined better images are

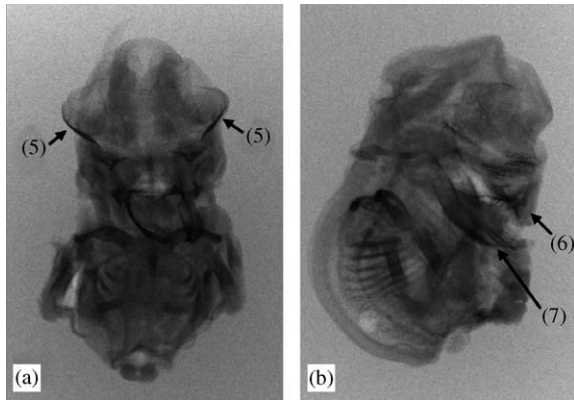


Fig. 6. Conventional microradiography of *Noctilio albiventris* (MN64633).

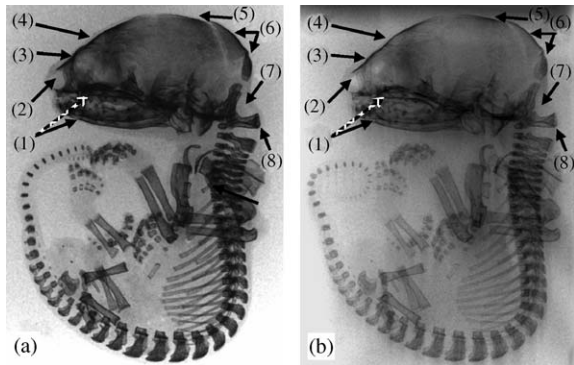


Fig. 7. Conventional microradiography of *Micoureus demerarae* (MN68530) at 8 keV (a) and at 17 keV (b) photons energy.

obtained with higher X-ray energies (17 keV), which have a higher penetration depth. Indeed, with this energy range the details of the structures are better observed, as is the case of mandibular ramus (Fig. 7b). Details from the cranial structures in this species are described in Table 2.

The Bragg condition in the analyzer crystal (top rocking curve) can be evidenced in Fig. 8a. It reveals more details about the specimen, principally cartilage regions and light tissue.

In Fig. 8b we show the image obtained at a high angle setting of the analyzer. This setup is more appropriate for analyzing details in superficial tissue. It is possible to see clearly the details and skin textures.

Table 2  
Structures descriptions of *Micoureus demerarae*

Position	Description
(1)	Mandible
(2)	Nasal
(3)	Orbital
(4)	Frontal
(5)	Parietal region
(6)	Occipital region
(7)	Foramen magnum
(8)	Atlas

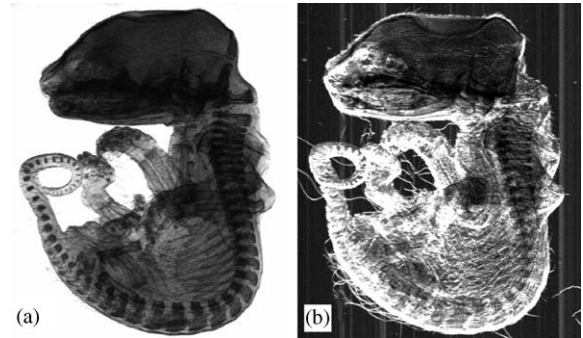


Fig. 8. DER of *Micoureus demerarae* in top (a) and high angle position (b) of rocking curve.

#### 4. Discussion and conclusion

X-ray microradiography was used to study cranial ontogeny of marsupials and bats: *D. rotundus*, *N. albiventris* and *M. demerarae*. This technique revealed the potential ability to recognize patterns in cranial ontogeny. An important result was to establish that general features appear earlier in ontogeny than the special features. This finding corroborated the expected pattern results for mammals described in the literature of other orders within the class Mammalia.

It is expected that X-ray microradiography and phase-contrast imaging can allow the recognition of the order of appearance in cranial structures during ontogeny. These techniques applied to subsequent stages of development could reveal a more complete chronogram during ontogeny series.

This can be useful for studying rare collection specimens and ontogenetic pattern recognition,

which is more difficult by conventional techniques such as clearing and staining.

The advantage of the X-ray microradiography and phase-contrast imaging is the possibility of studying ontogeny (for hard and soft tissue, respectively) without damage to the collected specimen.

### Acknowledgments

This research was partially supported by the LNLS—National Synchrotron Light Laboratory, Brazil, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP contract 96/05586-6) and Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX).

### References

- [1] S.I. Rokhlin, J.-Y. Kim, H. Nagy, B. Zoofan, *Eng. Fract. Mech.* 62 (4–5) (1999) 425.
- [2] A.R. Lang, A.P.W. Makepeace, P.M. Martineau, M.A. Cooper, *Diamond and Related Mater.* 6 (9) (1997) 1226.
- [3] J.E. Benci, D.P. Pope, *NDT & E International* 25 (4–5) (1992) 235.
- [4] J. Schortinghuis, J.L. Ruben, H.J.A. Meijer, A.L.J. Bronckers, G.M. Raghoobar, B. Stegenga, *Arch. Oral Biol.* 48 (2) (2003) 155.
- [5] S.-O. Brattgård, O. Hallén, *Biochim. Biophys. Acta* 9 (1952) 488.
- [6] B. Combée, A. Engström, *Biochim. Biophys. Acta* 14 (1954) 432.
- [7] V.M. Mosley, D.B. Scott, R.W.G. Wyckoff, *Biochim. Biophys. Acta* 24 (1957) 235.
- [8] D. Gabor, *Nature* No. 4098, May, 1948.
- [9] A. Momose, T. Takeda, et al., *Synchrotron Radiat News* 11 (5) (1998) 27.
- [10] T. Takeda, A. Momose, et al., *J. Synchrotron Radiat.* 7 (2000) 280.
- [11] U. Bonse, F.J. Beckemann, *Synchrotron Radiat.* 8 (2001) 1.
- [12] Z. Zhong, W. Thomlinson, et al., *Nucl. Instr. and Meth. A* 450 (2000) 556.
- [13] K. Kobayashi, K. Izumi, et al., *Appl. Phys. Letters.* 78 (2001) L1 132.
- [14] S.W. Wilkins, T.E. Gureyev, et al., *Nature* 384 (1996) 335.
- [15] T.E. Gureyev, S. Mayo, et al., *Phys. Rev. Lett.* 86 (2001) 5827.
- [16] V.N. Ingal, E.A. Beliaevskaya, *Nuovo Cimento* 19D (1997) 553.
- [17] V.A. Bushuev, A.A. Sergeev, *Tech. Phys. Lett.* 24 (1998) 851.
- [18] N. Yagi, et al., *Méd. Phys.* 26 (1999).
- [19] J. Li, et al., *J. Anat.* 202 (2003) 463.
- [20] T. Takeda, Y. Itai, et al., *J. Synchrotron Radiat.* 5 (1998) 326.
- [21] K. Mori, K. Hyodo, et al., *J. Appl. Phys.* 38 (11B) (1999) L1339.
- [22] C.J. Kotre, I.P. Birch, *Phy. Med. Biol.* 44 (1999) 2853.
- [23] M. Hasnah, et al., *Rev. Sci. Instrum.* 73 (2002) 1657.
- [24] B.D. Cullity, *Elements of X-ray Diffraction*, Addison-Wesley Publishing Company, Inc., England, 1959.
- [25] H.C. Andrews, B.R. Hunt, *Digital Image Restoration*, Prentice-Hall, INC., New Jersey, 1977.
- [26] British Standards Institution. Technical Committee GME/23, *Non-destructive testing*, London, 1987.
- [27] E. Förster, K. Goetz, P. Zaumsell, *Kryst. Tech.* 15 (1980) 937.
- [28] D. Chapman, W. Thomlinson, R.E. Jonston, D. Washburn, E. Pisano, N. Gmür, Z. Zhong, R. Menk, F. Arfelli, D. Sayers, *Phys. Med. Biol.* 42 (1997) 2015.
- [29] C. Giles, M.G. Hönnicke, R.T. Lopes, H.S. Rocha, O.D. Gonçalves, I. Mazzaro, C. Cusatis, *J. Synchrotron Radiat.* 10 (2003) 421.
- [30] R.A. Raff, T.C. Kaufman, *Embryos, Genes, and Evolution: The Developmental-Genetic Basis of Evolutionary Change*, Macmillan Publishing Co, Inc., New York, 1983, 387pp.
- [31] S. Oyama, second ed, *The Ontogeny of Information: Development Systems and Evolution*, Duke University Press, India, 2000, 273pp.
- [32] R.A. Adams, C. Scott, Pedersen *Ontogeny, Functional Ecology, and Evolution of Bats*, Cambridge University Press, Cambridge, 2000, 398pp.





ELSEVIER

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A 548 (2005) 175–180

NUCLEAR  
INSTRUMENTS  
& METHODS  
IN PHYSICS  
RESEARCH  
Section A

[www.elsevier.com/locate/nima](http://www.elsevier.com/locate/nima)

## Diagnosis of thyroid multinodular goiter using diffraction-enhanced imaging

H.S. Rocha<sup>a</sup>, R.T. Lopes<sup>a,\*</sup>, P.M. Valiante<sup>b</sup>, G. Tirao<sup>c,d</sup>, I. Mazzaro<sup>d</sup>,  
M.G. Hönnicke<sup>d</sup>, C. Cusatis<sup>d</sup>, C. Giles<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Instrumentação Nuclear (LIN), COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>b</sup>Departamento de Patologia, HUCFF/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

<sup>c</sup>Facultad de Mat. Astronomía y Física (FAMAF), UNC, Córdoba, Argentina

<sup>d</sup>Laboratório de Óptica de Raios X e Instrumentação (LORXI), Departamento de Física, UFPR, Brazil

<sup>e</sup>Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS)/Laboratório de Cristalografia Aplicada e Raios X, Instituto de Física Gleb Wataghin, UNICAMP, Brazil

Available online 8 April 2005

### Abstract

Diffraction-enhanced images (DEI) have been obtained using two silicon crystals. A first channel-cut silicon crystal using the Si(3 3 3) reflection is employed to reduce the divergence of the pre-monochromated Si(1 1 1) beam of the light line to 60 microradian (12 arcsec). A second channel-cut Si(3 3 3) crystal was used as a Bragg analyzer to obtain bright and dark field images by changing its angular position. This technique is ideally suited for soft-tissue imaging or objects with the same absorption coefficient interfaces. DEI was developed at the XRD-2 beamline at the Brazilian Synchrotron (LNLS) in Campinas—Brazil. Feasibility tests on acquired images, which allow the diagnosis of thyroid nodular goiter, were performed. This disease is ordinary. The tissue developed on the cervical area causes compression of the nearby structures and undesirable aesthetic deformities with worldwide distribution. DEI of the tissues were taken to observe their morphology and to compare with the microscopic analysis (histopathological). This technique allows cutting sections a hundred times thicker than conventional histological techniques allowing a complete vision of the disease morphology. DEI show details not clearly seen with conventional techniques.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

PACS: 07.85.Qe; 07.85.y; 87.59.–e

Keywords: DEI; X-ray optics; Multinodular goiter; Microradiography; Phase-contrast imaging

### 1. Introduction

The increase in thyroid gland volume (so-called goiter) occurs either as a diffuse or nodular process

\*Corresponding author. Tel.: +55 21 2562 7308;  
fax: +55 21 2562 8444.

E-mail address: [ricardo@lin.ufrj.br](mailto:ricardo@lin.ufrj.br) (R.T. Lopes).

and corresponds to a diminished production of thyroid hormone (TH) [1]. Once this process develops in the form of multiple nodules, it is called multinodular goiter.

Deficiencies in TH synthesis may be caused by low iodine dietary intake (endemic goiter), ingestion of substances that disturb the normal synthesis of TH or an inherited disturbance of enzymes that are responsible for thyroid metabolism (sporadic goiter).

Multinodular goiter is responsible for the greatest thyroid enlargements and is frequently mistaken for a thyroid neoplasm.

Low TH serum levels induce an overproduction of thyroid-stimulating hormone (TSH) by the pituitary gland [2]. TSH acts on thyroid follicular cells, causing an increase in the number of follicular cells (hyperplasia) as well as in their volume (hypertrophy) in recurrent episodes.

The longstanding disease evolution leads to formation of multiple foci of cellular proliferation in the form of nodules, which in turn markedly alters and distorts thyroid gland morphology.

Since different zones within the thyroid have different growth rates, the thyroid gland total enlargement is asymmetrical and may cause compression of neck structures (esophagus and trachea). Sectioning reveals nodules containing variable amounts of gelatinous brownish colloid. Tissue alterations such as areas of cystic degeneration, hemorrhage, fibrosis, calcification and vascular proliferation frequently involve the nodules, reflecting foci of involution of the process.

Microscopically, the lesion is composed of variable-sized follicles, consisting of colloid lakes lined by flat cells, alternating with hypertrophic and hyperplastic cell follicles.

Despite its benign character, the mass effect caused by thyroid gland enlargement may compress other neck structures (trachea, esophagus, and blood vessels), not to mention the obvious aesthetical problems caused. Treatment varies from clinical observation in the mildest cases to complete surgical removal of the gland in the most striking ones.

With the development of a new line of research in diffraction-enhanced imaging (DEI) at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory—LNLS,

studies were performed searching for new alternative exams of pathologies tied to the goiter. With this research, we hope to improve the quality of diagnoses and to complement the morphologic studies of this disease. For this work, comparative exams were made by means of histological slides, conventional X-ray radiography and diffraction-enhanced radiography (DER).

The basic principles of DEI appeared in 1948 with a report about microscopy [3]. This imaging technique has been developed using different instruments such as interferometers [4], diffractometers [5,6] and high polychromatic sources with coherence spatial geometry [6,7]. Many researchers sought the development of biological [8,9], clinical and medical applications [10–13].

In the phase-contrast techniques, different kinds of probes can be used such as neutron and photons (with different wavelengths). The type of probe used depends on the application wanted. Synchrotron light sources are used because of the high flux of photons, low divergence and the possibility of obtaining a monochromatic beam. On the other hand, a polychromatic source (microfocused) can be used because of the ease of use and high spatial coherence.

The DEI technique uses an analyzer crystal to select the phase shift of the X-ray beam after interaction with the sample. For different angular positions of the analyzer crystal, deviated photons can be detected separately from those that were simply transmitted by the sample. This methodology is more appropriate than the conventional X-ray microradiography for samples with small variations in the attenuation coefficient; in addition, DEI techniques allows significant enhancement of surfaces or interfaces with small curvature radius [14].

## 2. Experiment

Three analysis techniques were used comparatively on the pathological tissue specimens: histological slides, conventional X-ray radiography and DER.

The specimens consisted of human thyroid gland pieces, formalin-fixed and previously

sectioned. Tissues were prepared for histopathological analysis as usual, dehydrated in alcohol, cleared in xylol, radiographed, paraffin-embedded and cut into microtome form to prepare glass slides. The slides were colored using the hematoxylin–eosin method and observed under a light microscope.

The conventional X-ray source used an X-ray tube with a copper (Cu) target and a nickel (Ni) filter and was adjusted for 20 kV of voltage and 10 mA of current to excite the Cu  $K\alpha$  characteristic line in order to obtain a quasi-monochromatic beam of 8 keV. The samples were positioned as near as possible to the detector to minimize geometric unsharpness effects. The image was collected to a high-resolution radiographic film to obtain an attenuation-coefficient map.

The DEI technique used the facilities of beam line D10A-XRD-2 at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS) with a special setup using two channel-cut Si(333) crystals, as shown in Fig. 1. The pre-monochromator was adjusted to 10 keV with the lowest divergence possible.

A First channel-cut Si(333) crystal set in a Bragg condition to reduce the divergence of the beam to  $58 \mu\text{rad}$  (12 arcsec). The second channel cut can be rotated to set a by-pass refraction or diffraction angle. When the second crystal is scanned, a rocking curve profile can be constructed, where the point of maximum counting is the highest part of the curve.

Setting this crystal, it is possible to observe details such as superficial structures (in low and

high angle) or internal details with setting the top of the curve.

A direct conversion water-cooled CCD camera of  $1242 \times 1152$  pixels of  $22.5 \times 22.5 \mu\text{m}^2$  each was positioned at a distance of 65 cm from the target in the conventional source setup and after the second channel cut in DER setup. It was used as a two-dimensional detector.

### 3. Results

The analysis of images obtained by conventional radiography (Fig. 2) shows architectural alterations of the thyroid gland, with nodules of different sizes separated by bands of retracted tissue.

The DER images (Figs. 3 and 4) neatly show the anatomical deformities due to the disease, especially the nodularity and fibrosis.

When we compare images obtained by DER with the ones from the histological slide set, the outstanding A and B areas in Figs. 5 and 6

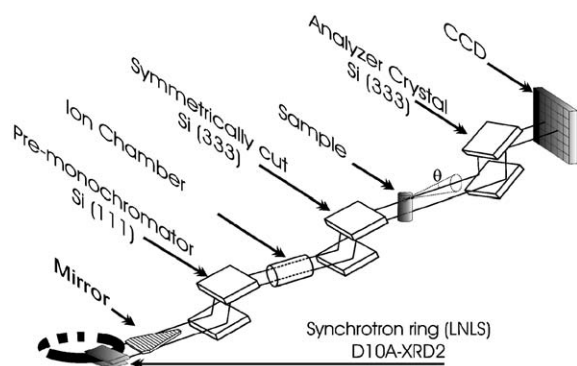


Fig. 1. Diffractive-enhanced radiography setup mounted at LNLS.

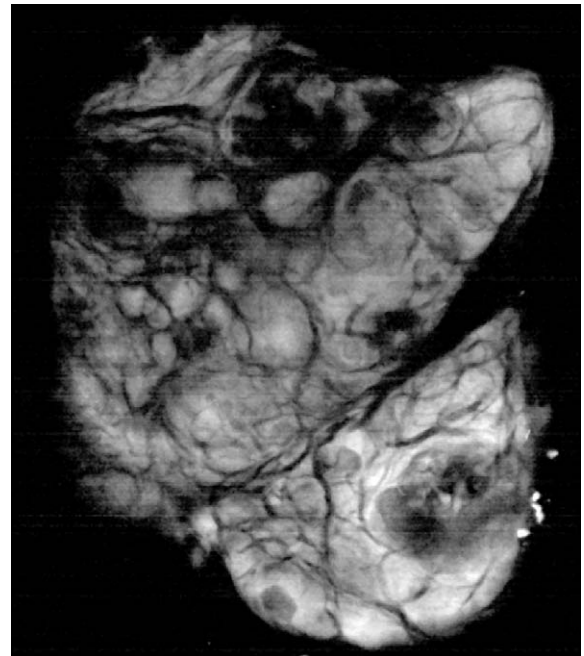


Fig. 2. Conventional microradiography of multinodular goiter.

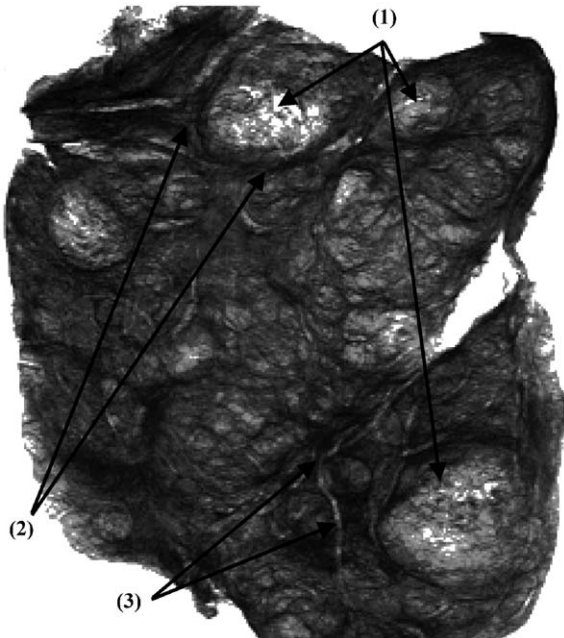


Fig. 3. Diffraction-enhanced radiography performed at the maximum intensity point of the analyzer crystal.

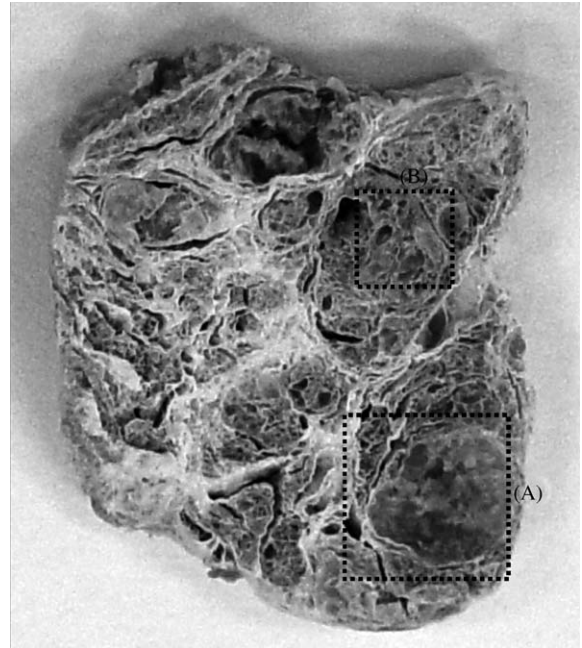


Fig. 5. Conventional photograph of multinodular goiter sample.

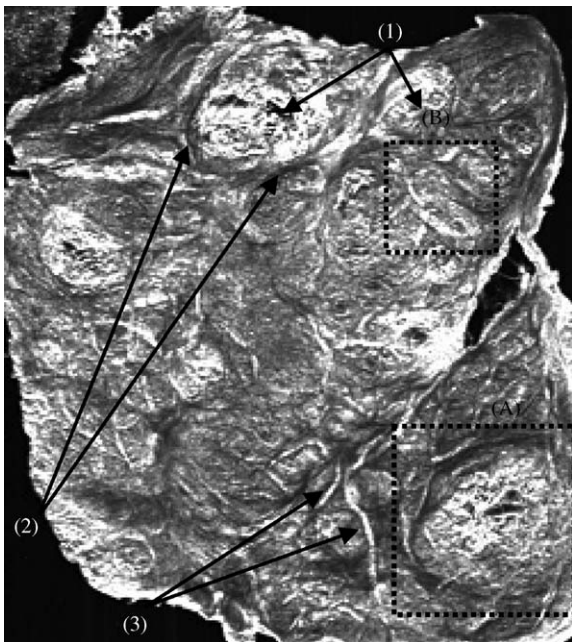


Fig. 4. Diffraction-enhanced radiography performed on the flank of the maximum intensity point of the analyzer crystal.

correspond to a colloid nodule (Fig. 7) and hyperplastic follicular nodule (Fig. 8) confirmed by microscopic analysis.

Figs. 3 and 4 show a DER of a thyroid gland in a case of multinodular goiter, obtained with different angular positions of the analyzing crystal, in which one may emphasize the formation of nodules (1) surrounded by fibrous-vascular tissue (2 and 3).

The microscopic analysis of the sample shows the participation of the fibrous-vascular component in the morphological picture of the disease (Fig. 9).

#### 4. Discussion

The images obtained by DEI from the thyroid gland piece show the morphological alterations induced by the disease more clearly than conventional radiography. They show especially the formation of different-sized nodules separated by fibrous bands, characteristics that points toward

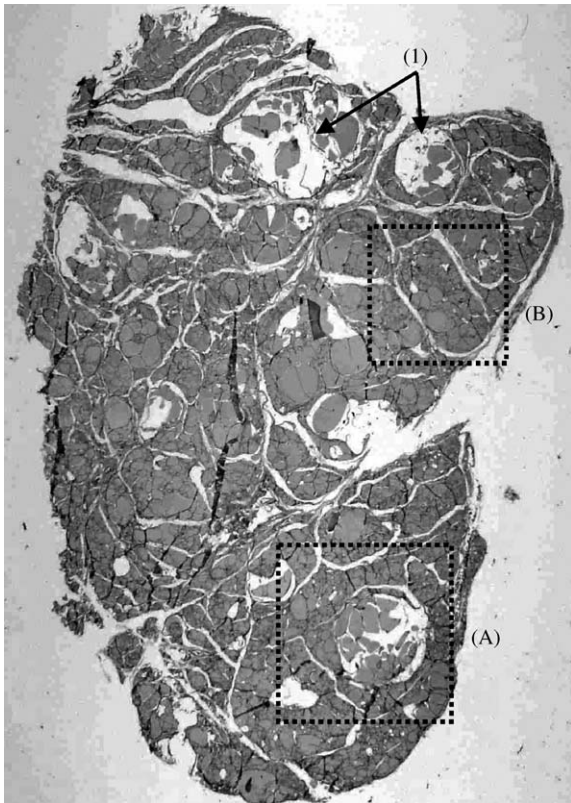


Fig. 6. Multinodular goiter of the histological slide under low magnification.

the diagnosis of multinodular goiter and help in the differential diagnosis among other nosological entities that may cause an increase in the gland's volume, such as diffuse goiter and some malignant neoplasms.

## 5. Conclusion

The DEI technique allows obtaining images from tissue pieces 1–4 mm thick, with 10 keV monochromatic energy, which means that specimens thicker than the customary histologic techniques may be analyzed.

Specimens even thicker could be studied using microfocused X-rays sources or higher-energy synchrotron beam lines. Such images make it possible to develop a more detailed morphological

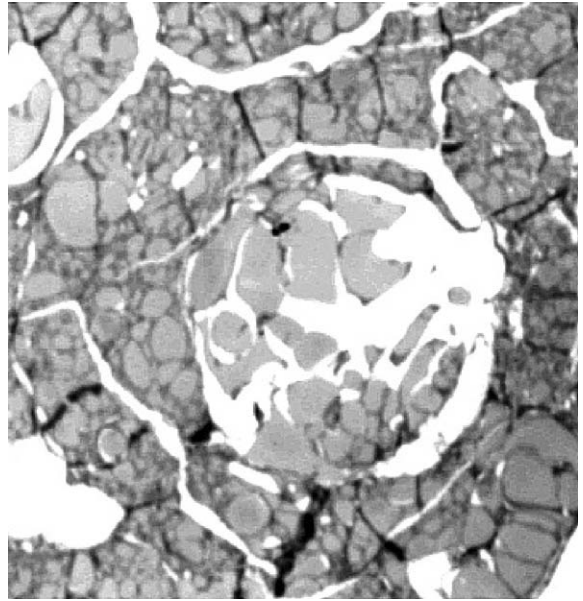


Fig. 7. Colloid nodule (A) of the histological slide under low magnification.

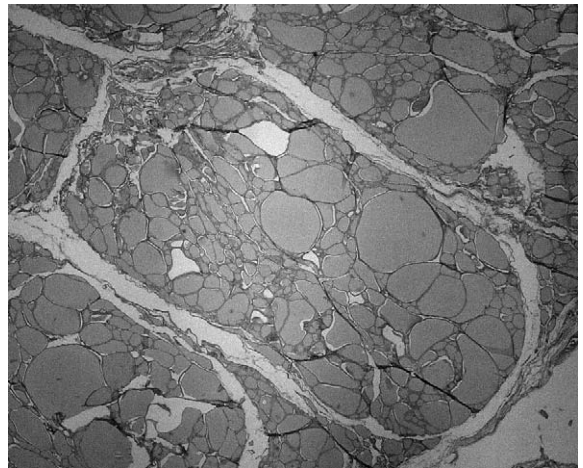


Fig. 8. Nodule (B) of the histological slide under magnification (H&E 10 ×).

study, allowing better analysis of pathologies and a more complete study of disturbances caused in peripheral tissues.

The method has proven useful for the thyroid gland morphology evaluation in cases of multinodular goiter, and its development may bring

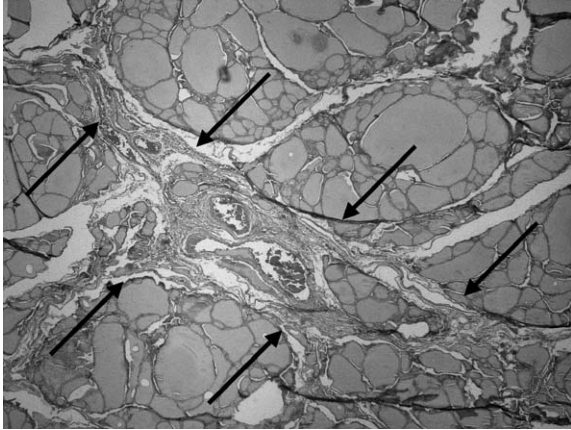


Fig. 9. Fibrous-vascular tissue involving nodules of hyperplastic and hypertrophic thyroid follicles (H&E 40 ×).

new insights and tools for the diagnosis of thyroid gland disease.

#### Acknowledgments

This research was partially supported by the LNLS—National Synchrotron Light Laboratory, Brazil, Conselho Nacional de Desenvolvimento

Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP contract 96/05586-6) and Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX).

#### References

- [1] F. Ramelli, et al., *Am. J. Pathol.* 109 (1982) 215.
- [2] R.S. Cotran, et al., *Robbins Pathologic Basis of Disease*, W.B. Saunders Company, Boston, 1999, p. 1138.
- [3] T.E. Gureyev, S. Mayo, et al., *Phys. Rev. Lett.* 86 (2001) 5827.
- [4] A. Momose, T. Takeda, et al., *Synchrotron Radiat. News* 11 (5) (1998) 27.
- [5] Z. Zhong, W. Thomlinson, et al., *Nucl. Instr. and Meth. A* 450 (2000) 556.
- [6] C. Giles, M.G. Hönnicke, et al., *J. Synchrotron Radiat.* 10 (2003) 421.
- [7] S.W. Wilkins, T.E. Gureyev, et al., *Nature* 384 (1996) 335.
- [8] T.E. Gureyev, S. Mayo, et al., *Phys. Rev. Lett.* 86 (2001) 5827.
- [9] V.N. Ingal, E.A. Beliaevskaya, *Nuovo Cimento* 19D (1997) 553.
- [10] J. Li, et al., *J. Anat.* 202 (2003) 463.
- [11] T. Takeda, Y. Itai, et al., *J. Synchrotron Radiat.* 5 (1998) 326.
- [12] K. Mori, K. Hyodo, et al., *J. Appl. Phys.* 38 (11B) (1999) L1339.
- [13] C.J. Kotre, I.P. Birch, *Phys. Med. Biol.* 44 (1999) 2853.
- [14] M. Hasnah, et al., *Rev. Sci. Instrum.* 73 (2002) 1657.

# Diffraction enhanced imaging and x-ray fluorescence microtomography for analyzing biological samples<sup>†</sup>

H. S. Rocha,<sup>1</sup> G. R. Pereira,<sup>1</sup> M. J. Anjos,<sup>2</sup> P. Faria,<sup>3</sup> G. Kellermann,<sup>4</sup> C. A. Pérez,<sup>4</sup> G. Tirao,<sup>5</sup> I. Mazzaro,<sup>6</sup> C. Giles<sup>7</sup> and R. T. Lopes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Instrumentação Nuclear – COPPE/UFRJ – RJ – Brazil

<sup>2</sup> Instituto de Física – UERJ – RJ – Brazil

<sup>3</sup> Instituto Nacional do Câncer – INCa – RJ – Brazil

<sup>4</sup> Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – Campinas – SP – Brazil

<sup>5</sup> Facultad de Mat. Astronomía y Física (FAMAF), UNC. Córdoba, Argentina

<sup>6</sup> Laboratório de Óptica de Raios X e Instrumentação – UFPR – Curitiba – PR – Brazil

<sup>7</sup> Laboratório de Cristalografia Aplicada e Raios X – UNICAMP – Campinas – SP – Brazil

Received 3 July 2006; Revised 14 February 2007; Accepted 19 February 2007

**In this work, breast tissue samples were investigated in order to verify the distribution of certain elements by x-ray fluorescence computed tomography (XRFCT) correlated with the characteristics and pathology of each tissue observed by diffraction enhanced imaging (DEI).**

The DEI system can show details in low attenuation tissues. It is based on the contrast imaging obtained by extinction, diffraction and refraction characteristics and can improve reduction in false positive and false negative diagnoses. XRFCT allows mapping of all elements within the sample, since even a minute fluorescence signal can be detected. DEI imaging techniques revealed the complex structure of the disease, confirmed by the histological section, and showed microstructures in all planes of the sample. The XRFCT showed the distribution of Zn, Cu and Fe at higher concentration. Copyright © 2007 John Wiley & Sons, Ltd.

## GENERAL INTRODUCTION

The increasing number of breast cancer cases<sup>1</sup> has led researchers to develop new diagnosis techniques. One of the problems faced by pathologists is false positive and false negative diagnoses.<sup>2</sup>

The increase of the mortality rate in Brazil due to breast cancer was a decisive factor in the choice of the investigated samples. The choice also reflects the tendency world over to find diagnostic techniques for cancer and other diseases.

The late diagnosis can make the treatment of cancer difficult or delay it, reducing the possibilities of cure. The difficulties encountered in the analysis of breast samples are due to imperfections in the process of development of histological sections that can hide the pathology in the primary development stage and the low attenuation of the tissues, which make the process difficult, limiting the diagnosis in non-initial pathology development.

New types of radiographies based on attenuation, refraction and scattering properties were developed to investigate samples with low attenuation contrast between adjacent tissues or interfaces. These samples are difficult to investigate or can not be investigated with conventional radiography techniques.<sup>3</sup> There are two basic ways of

describing setups, which use phase contrast (PHC) and refraction of x-ray beyond attenuation contrast. Setups based on interferometers or free propagation techniques (PHC) and techniques based on analyzer crystals, e.g. diffraction enhanced imaging–(DEI) can be used. The first setup observes phase shift map of the sample and the last one observes the refraction gradient and ultrasmall angle scatter properties (extinction) beyond attenuation.

The PHC can use an interferometer or free propagation method to observe properties of the wave's phase as a consequence of interaction with the sample. When an interferometer is used, one path of x-ray beam interact with the sample while the other path supplies the reference wave. The interference between both waves gives rise to contrast phase in the detector. In the other case, the PHC observes the phase change of the high coherence x-ray plane wave or high coherence x-ray fan beam, after interacting with the sample.

The amount of the phase shift is determined by the refractive index of the sample. The refractive index  $n$  for x-rays is complex and is given by the equation  $n = 1 - \delta + i\beta$ , where  $\delta$ , the refractive index decrement is responsible for the x-ray phase shift, and  $\beta$  is the imaginary part of  $n$  which is related to the x-ray absorption. The  $\delta$  is given by  $\delta \cong \lambda^2 N_e r_e / (2\pi)$ , Where  $N_e$  is the electron density and  $r_e$  is the classic radius and  $\beta = \mu\lambda/4\pi$ . For x-rays with wavelength  $\lambda \approx 1 \text{ \AA}$  in structures consisting of carbonic compounds, the value of  $\delta$  is on the order of  $10^{-6}$ .<sup>4</sup> The amount of x-ray phase shift can be calculated from the

\*Correspondence to: R. T. Lopes, Laboratório de Instrumentação Nuclear–COPPE/UFRJ, P.O Box: 21941-972, zip code:68.509 Riode Janeiro-RJ, Brazil. E-mail: rlopes@con.ufrj.br

<sup>†</sup>Paper presented as part of a special issue of papers from the 2006 European X-ray Spectrometry Conference, Paris, France, 19–23 June. Part 2.

equation:  $\varphi = -2\pi \int \frac{\delta(l)dl}{\lambda}$ , where the integral is over the ray path ( $l$ ).<sup>5-6</sup> Given that the samples have different electron density, different tissues generate different x-ray phase changes. The refraction contrast can be 1000 times greater than the attenuation contrast for the infiltrating ductal carcinoma (IDC) in the breast.<sup>7</sup>

The real and imaginary parts have very different dependences on photon energy; in the regime where the photoelectric effect dominates and is far from absorption edges,  $\beta \propto E^{-4}$  while  $\delta \propto E^{-2}$ . As a consequence, the values of  $\delta$  can be three orders of magnitude larger than  $\beta$ . X-rays passing through regions with different  $\delta$  values are subjected to phase shifts that correspond to being refracted. These changes, which can originate from the purely geometrical effect of the shape of the object or, for instance, from the local homogeneity defects of the object, cannot often be visualized using absorption imaging techniques.<sup>8</sup>

DEI techniques use an analyzer crystal to select refraction and diffraction contrasts of x-rays beyond attenuation contrast. This technique was first developed by Chapman and coworkers<sup>9-10</sup> and has been used in our work to observe small details in breast tissue samples. These images were compared with histological sections and the specific location was analyzed by fluorescence methods.

The excellent properties of synchrotron radiation sources, such as the possibility of setting a specific energy (monochromatic beam); high coherency beam; high photon flux; broad energy spectrum and natural collimation allow the use of x-ray fluorescence computed tomography (XRFCT) techniques. In many studies, it is necessary to analyze the elemental distribution in biological tissue in a detailed manner.

The fluorescence mapping of iron, copper and zinc can be very important in diagnosis, because the biochemistry of these elements suggests that these metals may play an important role in carcinogenesis.<sup>11</sup>

However, until now, the evidence for linking iron, copper and zinc to cancer is far from being conclusive<sup>12</sup> and further research is needed. Using x-ray fluorescence tomography, the elemental map can be obtained without sample preparation.

This research uses DEI characteristics to analyze two breast tissue samples and XRFCT to analyze the samples distribution map of iron, copper and zinc in specific areas of the samples.

## DIFFRACTION ENHANCED IMAGING

### Introduction

A new type of radiography based on attenuation, refraction gradient and ultrasmall angle scatter properties (extinction)<sup>13</sup> can be used to investigate samples with low attenuation contrast between adjacent tissues or interfaces.

The DEI technique uses an analyzer crystal to select the refracted x-ray beam after it has interacted with the sample. For different angular positions of the analyzer crystal, deviated photons can be detected separately from those which were simply transmitted by the sample.

Analyzer crystals in Bragg diffraction after transmission of the beam through the specimen can be used for two

purposes: magnification of the image or detection of small angular deviations. When using the analyzer for detecting small angular deviations, in the case when small deviations of the incoming x-ray beam have to be detected owing to sharp variations of phase, it is necessary to adopt geometry with a less grazing incident beam, or even an asymmetrical geometry with the incoming beam at a larger angle with the diffracted beam. As a consequence, the acceptance is much narrower and at a certain Bragg angle, the deviated beams are not diffracted at all, while for a slightly different angular position, only the deviated beams are visible. This is the basis of the DEI.<sup>9-10,14-16</sup>

The angular acceptance band of the analyzer is determined by the width of the rocking curve (RC), i.e. the intensity curve that is obtained by rocking the analyzer crystal around the Bragg angle with no sample in the beam. The rocking curve full width at half-maximum (FWHM) is typically on the order of 1–100  $\mu$ rad, and thus comparable with the tiny deviation produced in the sample.<sup>17</sup>

DEI techniques yield three images depicting separately the effects of refraction, ultrasmall angle scatter, and attenuation by the object.<sup>18-19</sup> With two images acquired, one on each side of the rocking curve of the analyzer, an appropriate algorithm permits the calculation of two new images: the apparent absorption ( $I_R$ ) and the refraction maps of the object ( $\Delta\theta_Z$ ).

Another image can be obtained to observe the extinction effects by setting the analyzer at the sharp peak of the rocking curve (at the top position). Although this 'Top' image includes some refractive index and attenuation effect, it has an important advantage over the apparent absorption image in that it does not suffer from the additional image noise caused by image addition and subtraction procedures.

The refraction image can be obtained by applying Eqn 1 pixel-by-pixel, assuming there is no significant effect from small angle scattering. Intensity of the x-rays, transmitted through the sample and then diffracted by analyzer, is measured with the analyzer tuned to opposite sides of the rocking curve to take images of low ( $\theta_L$ ) and high angle ( $\theta_H$ ).<sup>20</sup> Applying Eqn 1 and 2 pixel-by-pixel to the low and high angle images,<sup>10,21-22</sup> it is possible to obtain the refraction images ( $\Delta\theta_Z$ ) and apparent absorption images ( $I_R$ )

$$\Delta\theta_Z = \frac{I_H R(\theta_L) - I_L R(\theta_H)}{I_L \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_H) - I_H \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_L)} \quad (1)$$

$$I_R = \frac{I_L \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_H) - I_H \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_L)}{R(\theta_L) \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_H) - R(\theta_H) \left(\frac{dR}{d\theta}\right)(\theta_L)} \quad (2)$$

The Top, apparent absorption and refraction images allow a better visualization of the low attenuation interface of the breast tissue sample and this new type of visualization can improve the biomedical researches on breast cancer diagnosis.

Towards continuing this biomedical research with human tissue, more studies must be carried out so that this technique can lead to an improved method of better diagnosis.



**Methods**

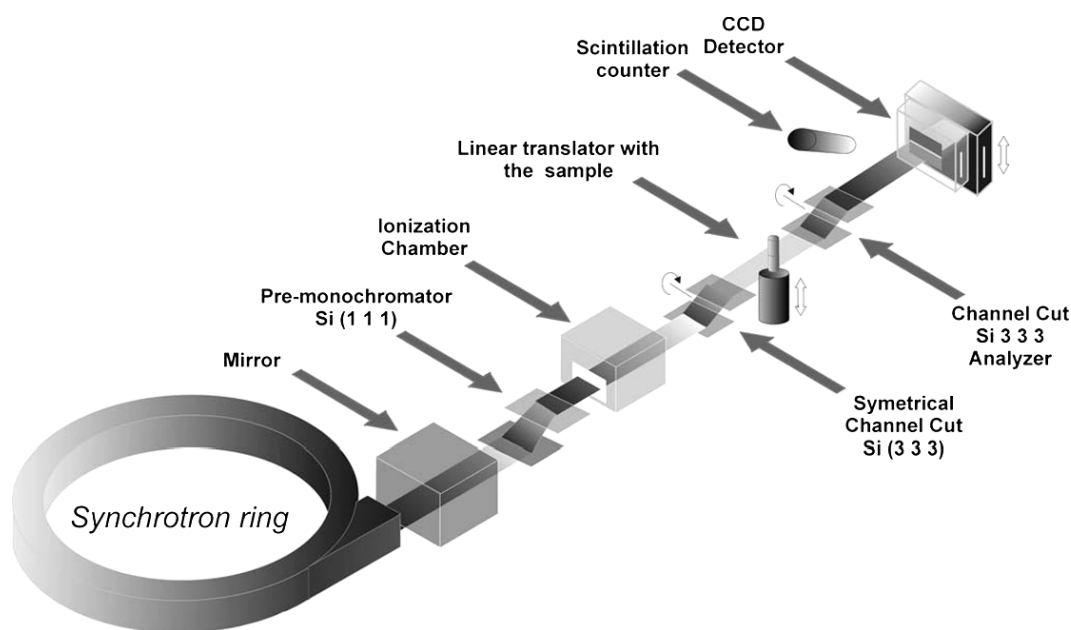
The system was set up in a high-resolution diffraction beam line (D10A-XRD2) at the Brazilian Synchrotron Light Source (LNLS) with a setup using a Si(111) monochromator and two channel cut Si(333) crystals,<sup>23–26</sup> as shown in Fig. 1. The monochromator was adjusted to 10.7 keV and the beamline x-ray mirror was set in an unfocused position with the lowest possible vertical divergence. The first channel cut Si(333) set in a Bragg condition was used to reduce the vertical divergence of the beam. The second channel cut was used as the analyzer. The measured RC width (FWHM) of the incident beam on the sample was about 113  $\mu$ rad and the rocking curve of the analyzer was about 6  $\mu$ rad in the vertical plane. The RC of the whole system is the convolution of the analyzer reflectivity with the light leaving the monochromator<sup>27</sup> and the first channel cut. A direct conversion water-cooled CCD camera of 1242  $\times$  1152 pixel<sup>2</sup> of 22.5  $\times$  22.5  $\mu$ m<sup>2</sup> each was positioned in front of the incident

beam after the analyzer crystal. The sample and the detector were positioned in a high-precision linear translator with a resolution of 1  $\mu$ m. The incident beam of the sample had a width of 25 mm and a height of 2 mm. Images were taken in scan mode. All the samples were positioned in a closed Mylar cylinder to keep the samples fresh. The samples had approximately 2 mm thickness, 15 mm height and 20 mm width.

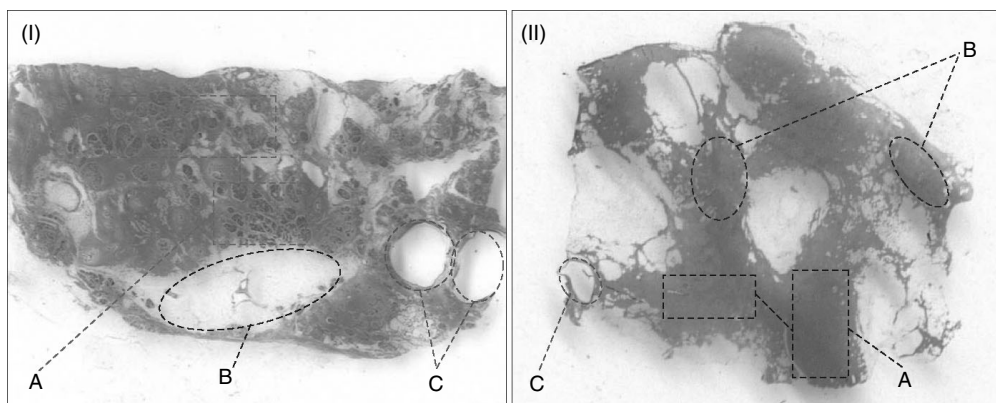
Three images were taken, one at the Top and two on opposite sides of the rocking curve at the same angle. The two last images are used to obtain the refraction and apparent absorption images through mathematical processing using Eqn 1 and 2 implemented in MatLab Software® script with the image processing toolbox.

**Results and discussions**

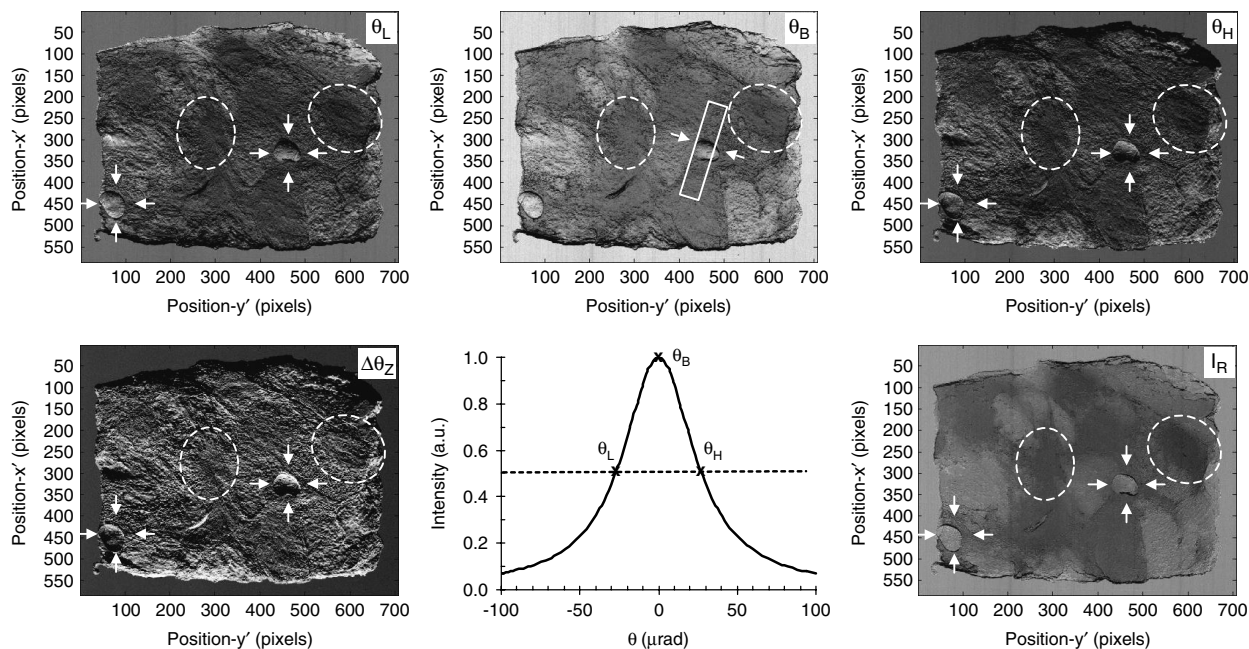
Two breast tissue samples were examined to observe details of ductal carcinoma structures. Figure 2 shows images of



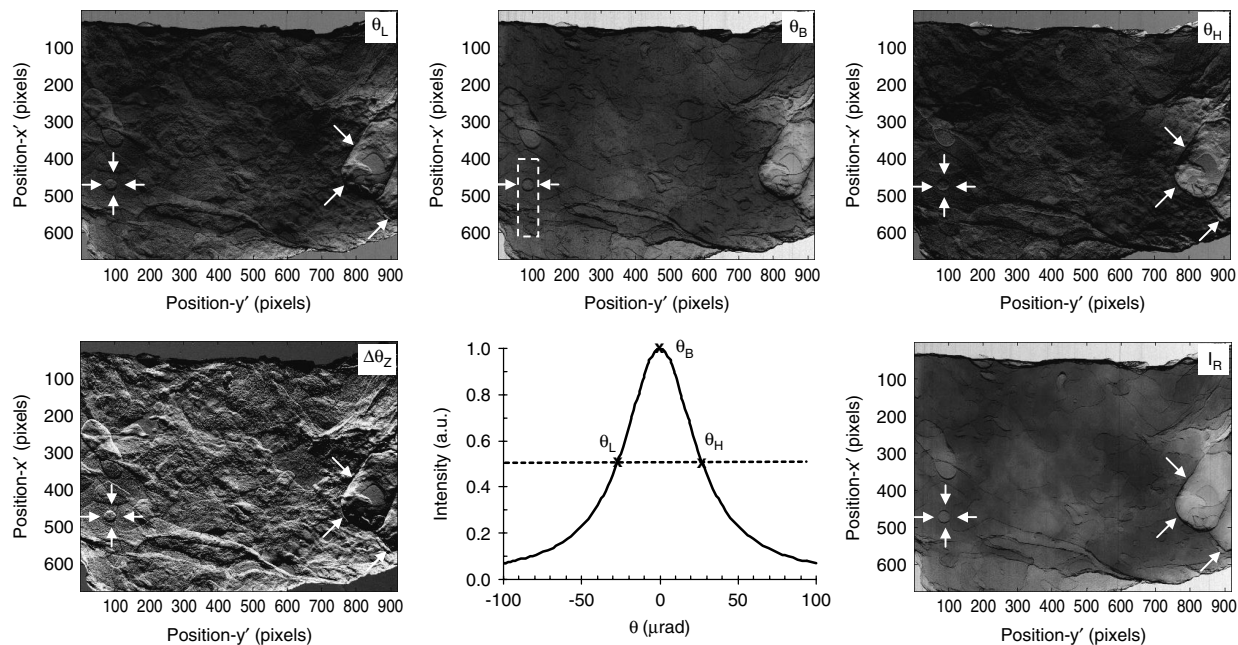
**Figure 1.** The experimental arrangement for an x-ray diffraction enhanced microtomography measurement using a monochromatic beam.



**Figure 2.** Images of histological section (Hematoxylin-eosin stain) of (I) breast cancer (8613) where (A) is the normal lobular breast parenchyma (dark rose), (B) is the adipose tissue and (C) are cysts. In Fig. (II) breast cancer (8283) after chemotherapy reduction where (A) is the atrophic breast parenchyma without tumor, (B) is the microscopic residual tumor within dense connective tissue and (C) is a cyst.



**Figure 3.** DEI images of another breast tissue (8613) at low ( $\theta_L$ ), high ( $\theta_H$ ) and Top ( $\theta_B$ ) acquisition of the RC and images of refraction contrast ( $\Delta\theta_Z$ ) and apparent absorption contrast ( $I_R$ ) obtained with the DEI mathematical processing. The cysts are marked with arrows. XRFCT slice position was marked with arrows and the fragment sample is marked with dot line rectangle in  $\theta_B$  position image.

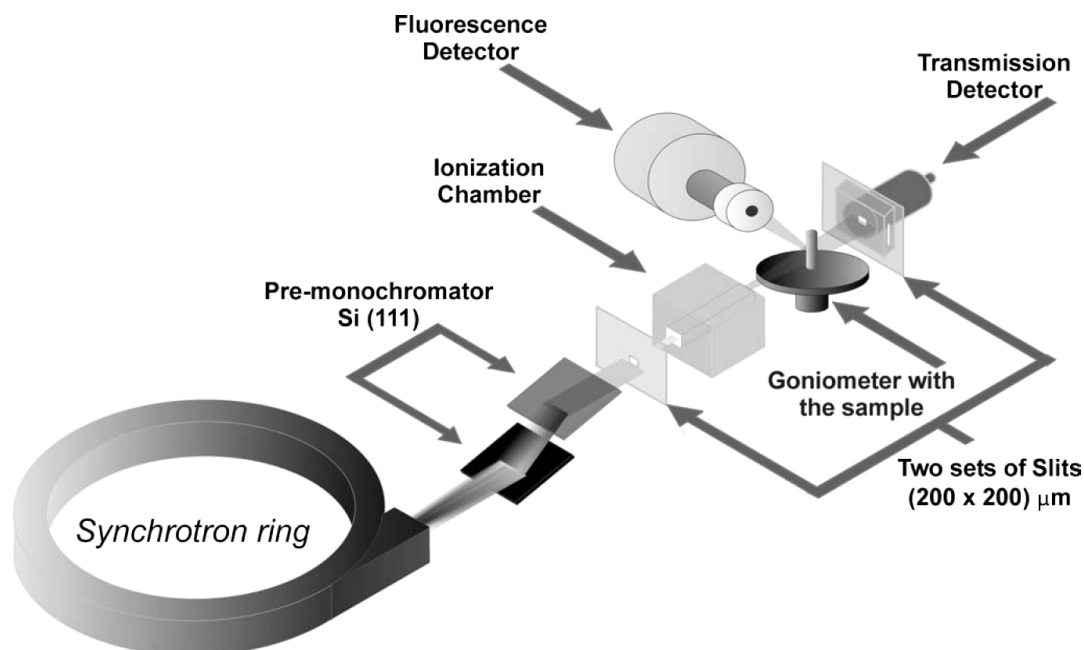


**Figure 4.** DEI images of breast tissue (8283) at low ( $\theta_L$ ), high ( $\theta_H$ ) and Top ( $\theta_B$ ) acquisition of the RC and images of refraction contrast ( $\Delta\theta_Z$ ) and apparent absorption contrast ( $I_R$ ) obtained with the DEI mathematical processing. XRFCT slice position was marked with arrows and the fragment sample was marked with line in  $\theta_B$  position image.

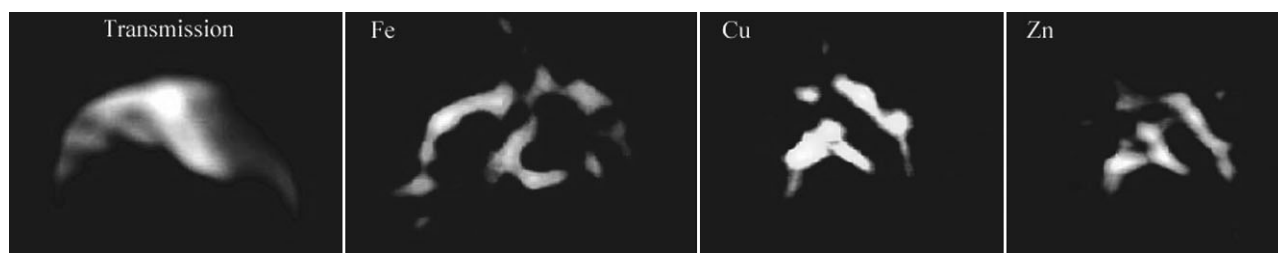
a histological section of breast cancer (8613) and breast cancer after chemotherapy reduction (8283). In Fig. 2(I) of the histological section, it was possible to identify the normal lobular breast parenchyma (A), adipose tissue (B) and cysts (C). In Fig. 2(II) of the histological section, it was possible to identify the dense, fibrous, connective tissue with atrophic breast parenchyma without tumor (A), the microscopic residual tumor within dense connective tissue (B) and cyst (C).

Figures 3 and 4 show DEI images of breast tissue (8613) at low ( $\theta_L$ ), high ( $\theta_H$ ) and top ( $\theta_B$ ) acquisition of the RC and images of refraction contrast ( $\Delta\theta_Z$ ) and apparent absorption contrast ( $I_R$ ) obtained with DEI mathematical processing.

In Figs 3( $\theta_B$ ) and 4( $\theta_B$ ) the location of the removed tissue fragment was marked (dotted line rectangle) to obtain the XRFCT in order to observe the elemental distribution map. DEI images allow the observation of some structures in thick samples. It was possible to observe cysts, which was



**Figure 5.** The experimental arrangement for an x-ray fluorescence microtomography measurement using a monochromatic beam.



**Figure 6.** Images of transmission and XRFCT of Fe, Cu and Zn (8283).

confirmed by observation in the histological section (right side Fig. 2(I)) and the initial cyst was of approximately  $790\ \mu\text{m}$  (left side). The initial cyst cannot be seen in the plane of the histological section.

In Fig. 3 it was possible to observe (dotted line ellipse) the microscopic residual tumor within dense connective tissue and the cyst, which can not be seen in the plane of the histological section in Fig. 2(II).

The diffraction, refraction and apparent absorption images allow a better visualization of low attenuation interface of the thick breast tissue sample and can be opened to new approach in biomedical research.

Towards continuing this biomedical research with human tissue, more studies must be carried out done in order to conclude that this technique can lead to a improved method for better diagnosis that are more precise, especially in initial stages.

## X-RAY FLUORESCENCE MICROTOMOGRAPHY

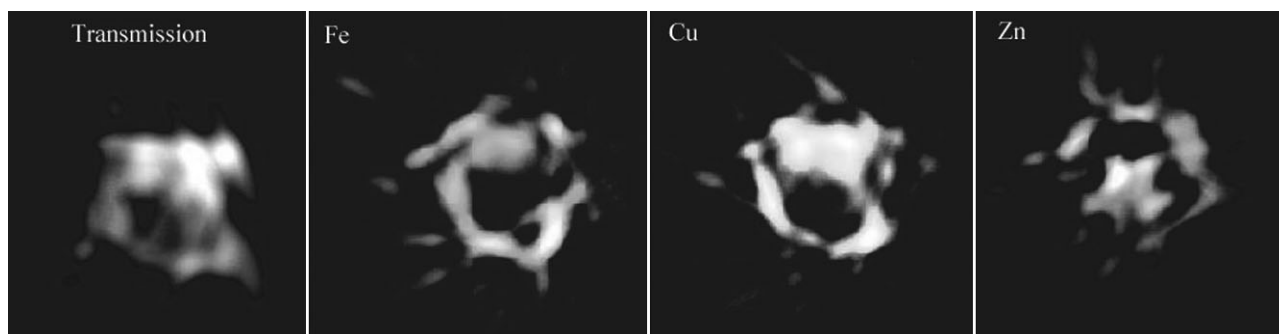
### Introduction

One of the most sensitive methods for detecting trace elements in breast tissue samples is the x-ray fluorescence (XRF) technique.<sup>28</sup> This technique requires sample preparation such as planar mode. The preparation is not limited to cutting the sample. The samples need to be prepared to be cut. The

micro XRF requires ultrafine and accurate slices (approximately 15 microns) and without sample preparation, this cut cannot be done. Typically, the samples are embedded or fixed in paraffin. The most suitable samples for topographic and quantitative elemental analysis with the use of  $\mu$ -SRXRF technique seem to be fresh tissue samples, cut using cryomicrotome and then freeze-dried.<sup>29</sup> The XRFCT does not require this kind of sample preparation; it is not necessary to cut the sample to analyze the tomographic plane.

Another technique that can give diagnostic information on breast tissue samples is transmission tomography. This technique has been used in nondestructive testing for investigating the internal structure of samples.<sup>30</sup> With the advent of intense synchrotron radiation sources, the resolution of the tomography was improved into the micrometer regime.<sup>31</sup> Although transmission tomography provides information about the distribution of attenuation coefficients, the technique cannot give any information about the distribution of trace elements.

The XRF associated with tomographic techniques can supply important information about a sample's chemical properties and produce high contrast. Transmission tomography is not able to give this information. XRF tomography is based on detection of photons from fluorescent emission from the elements in the sample. These photons are acquired by an energy dispersive detector, placed at  $90^\circ$  to the incident



**Figure 7.** Images of transmission and XRFCT of Fe, Cu and Zn (8613).

beam direction, and as additional information, a transmission tomography is used for sample characterization.<sup>32</sup> If the attenuation within the sample is small, then the fluorescence intensity of a certain atomic level is proportional to the concentration of the element  $\rho_i(x, y)$  and the usual algorithms of transmission microtomography can be used to recover  $\rho_i(x, y)$ . In Eqn 3,  $\lambda_F$  is the experimental projection,  $I_0$  is the intensity of the incident beam and  $I_{iv}$  is the intensity of the fluorescence from the  $\nu$ -line of element  $i$ .

$$\lambda_F = \frac{I_{iv}}{I_0} \propto \iint dx dy \rho_{iv}(x, y) \quad (3)$$

## Methods

This work presents the development of a system to study fluorescence microtomography at the x-ray fluorescence facility (D09B-XRF) at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS), Campinas, Brazil. A monochromatic beam (9.8 keV) collimated to a  $200 \times 200 \mu\text{m}^2$  area with a set of slits was used for excitation of the elements within samples. The intensity of the incident beam was monitored with an ionization chamber placed in front of it, before the sample. A schematic presentation of the experimental setup for an XRF microtomography using a monochromatic beam is shown in Fig. 5.

The sample was placed on a high-precision goniometer and on translation stages, in order to allow rotating as well as translating it perpendicularly to the beam. The fluorescence photons were collected with an energy dispersive HPGe detector (CANBERRA Industries inc.) placed at  $90^\circ$  to the incident beam, while transmitted photons were detected with a fast NaI (Tl) scintillation counter (CYBERSTAR-Oxford anfyisik) placed behind the sample along the beam direction. This detector geometry allows reducing elastic and Compton x-ray scattering from the sample because of the high linear polarization of the incoming beam in the plane of the storage ring, thus improving the signal-to-background ratio for the detection of trace elements.<sup>33</sup>

The quality of the reconstruction is a compromise between the measuring time required for an acceptable counting statistic of the XRF peaks and the step size necessary to linearly move and rotate the samples. In one projection, samples were positioned in steps of  $200 \mu\text{m}$  (actual beam size) perpendicular to the beam direction, covering the entire cross section of the sample. Each single value in a projection is obtained by measuring the fluorescence radiation emitted by all the pixels along the beam.<sup>34</sup> The object is then rotated, and another projection is measured. Projections are obtained

in steps of  $3^\circ$  until the object has completed  $180^\circ$ . The selected measuring time was two seconds for each scanned point.

The XRF microtomographies were performed on one sample of each type of human breast tissue (breast cancer and breast cancer after chemotherapy reduction). The condition of the tissues (breast cancer and breast cancer after chemotherapy reduction) was identified by the pathologist who made the samples available. The tissues for XRFCT were cut in cylindrical form with 1.5–2 mm thickness by 4–5 mm of height and were stored in 10% formaldehyde before being analyzed.

All tomographies were reconstructed using an in-house program with the back projection algorithm and a Ram-Lak filter. The reconstruction program was developed in C and does not use standard libraries.

## Results and discussions

All the transmission and fluorescence computed tomographies were reconstructed using a filtered back projection algorithm. Despite the self-absorption inside the samples, we have obtained good results. The fluorescence tomography images are qualitative in character because of this self-absorption.

The results of the transmission and fluorescence CT in the two diseased human breast tissue samples are shown in Figs 6 and 7. The position of the analysis is as marked in the Figs 3( $\theta_B$ ) and 4( $\theta_B$ ) with a dotted line rectangle.

The image on the left side of Figs 6 and 7 shows the transmission microtomography and the others show the reconstructed XRF microtomographies of Fe, Cu and Zn. The radial streak effects in Fig. 6 and 7 are because of the low counting statistic in each projection. The images were not processed.

In Fig. 6, Cu and Zn seem to generate similar distributions, but in Fig. 7, Fe and Cu show similar behavior. Probably the difference between the distribution is due to the presence of an initial cyst in the sample in Fig. 7. The tomographic projection shown in Fig. 7 reveals the presence of Zn only in the inner initial cyst.

## CONCLUSION

DEI imaging techniques allow revealing the complex structure of the disease, confirmed by the histological section, and can show microstructures in all planes of the sample. The Top and refraction images are especially appropriate

for showing, with high contrast, structures in thick samples. The refraction, apparent absorption and Top imaging (extinction contrast) can improve information for pathologists to reduce false positive and false negative diagnoses. More studies must be done with a larger statistical value to quantify the possibility of reducing false positive and false negative diagnoses.

By analyzing the XRFCT of the breast sample fragments, it was possible to visualize the elemental distribution of iron, copper and zinc, but it is necessary to correct the absorption to get the concentration of these elements in the samples and correct the fluorescence mapping. However, it can be seen that there may be a larger zinc concentration inside an initial cyst.

It will be necessary to measure more samples and quantify the difference in concentration in one sample and between normal and abnormal tissues to use the XRF microtomography as an analytic tool to analyze biological tissues.

The better definition of the interfaces in XRF images was striking and the spatial resolution of the system can be optimized as a function of the application. The experimental set up at XRF-LNLS has shown to be very promising and this effort at implementing XRF microtomography was justified by the high quality of the images obtained.

### Acknowledgements

This work was partially supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Rio de Janeiro State Research Foundation (FAPERJ), Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS) and Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

### REFERENCES

- Allonzi AM, Noia ALC, Martins LFL, Thuler LCS, Santos MO, Alvez MRD, Rebelo MS, Szklo M, Goldfarb R, Figueiredo V. *Atlas de Mortalidade por câncer no Brasil 1979–1999*. INCA: Rio de Janeiro, 2002; 412 (In Portuguese).
- Fitzgerald R. *Phys. Today* 2000; **53**: 23.
- Pisano D, Johnston E, Chapman D, Geradts J, Lacocca MV, Livasy CA, Washburn DB, Sayers DE, Zhong Z, Kiss MZ, Thomlinson W. *Radiology* 2000; **214**: 895.
- Bushuev VA, Ingal VN, Beliaevskaya EA. *Crystallogr. Rep.* 1998; **43**: 538.
- Momose A. *Nucl. Instrum. Methods Phys.* 1995; **A 352**: 622.
- Wilkins SW, Gureyev TE, Gao D, Pogany A, Stevenson AW. *Nature* 1996; **384**: 335.
- Wu X, Liu H. *Med. Phys.* 2004; **31**: 997.
- Bravin A. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2003; **36**: A24.
- Chapman D, Thomlinson W, Arfelli F, et al. *Rev. Sci. Instrum.* 1995; **67**(CD Suppl): [doi:10.1063/1.1147502].
- Chapman D, Thomlinson W, Johnston R, et al. *Phys. Med. Biol.* 1997; **42**: 2015.
- Geraki K, Farquharson MJ, Bradley DA. *Phys. Med. Biol.* 2004; **49**: 1.
- Wu T, Sempos CT, Freudenheim JL, et al. *Ann. Epidemiol.* 2004; **14**(3): 195.
- Hasnah M, Oltulu O, Zhong Z, Chapman D. *Rev. Sci. Instrum.* 2002; **73**: 1657 [doi: 10.1063/1.1445831].
- Lagomarsino S, Cedola A. X-ray microscopy and nanodiffraction. In *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, Vol. 10, American Scientific Publishers: Stevenson Ranch, CA, USA, 2004; 681.
- Ingal VN, Beliaevskaya EA. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 1995; **28**: 2314.
- Davis TJ, Gao D, Gureyev TE, Stevenson AW, Wilkins SW. *Nature* 1995; **373**: 595.
- Menk RH, Rigon L, Arfelli F. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A.* 2005; **548**: 213.
- Khelashvili G, Brankov JG, Chapman D, Anastasio MA, Yang Y, Zhong OZ, Wernick MN. *Phys. Med. Biol.* 2006; **51**: 221 [doi:10.1088/0031-9155/51/2/003].
- Wernick MN, Wirjadi O, Chapman D, Zhong OZ, Galatsanos N, Yang Y, Brankov JG, Oltulu O, Anastasio MA, Muehleman C. *Phys. Med. Biol.* 2003; **48**: 3875 [doi:10.1088/0031-9155/48/23/006].
- Dilmanian F, Zhong Z, Ren B, Wu X, Chapman L, Orion I, Thomlinson W. *Phys. Med Biol.* 2000; **45**: 933 [doi:10.1088/0031-9155/45/4/309].
- Zhong Z, Thomlinson W, Chapman D, Sayers D. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A.* 2000; **A 450**: 556 [doi:10.1016/S0168-9002(00)00308-9].
- Rigon L, Besch H, Arfelli F, et al. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2003; **36**: A107 [doi:10.1088/0022-3727/36/10A/322].
- Giles C, Hönnicke MG, Lopes RT, Rocha HS, Gonçalves OD, Mazzaro I, Cusatis C. *J. Synchrotron Radiat.* 2003; **10**: 421.
- Rocha HS, Lopes RT, Valiante PM, Tirao G, et al. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A.* 2005; **548**: 175 [doi:10.1016/j.nima.2005.03.086].
- Hönnicke M, Foerster LA, Navarro-Silva MA, Menk RH, et al. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A.* 2005; **548**: 207 [doi:10.1016/j.nima.2005.03.091].
- Rocha HS, Lopes RT, Pessôa LM, Hönnicke MG, et al. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A.* 2005; **548**: 228 [doi:10.1016/j.nima.2005.03.094].
- Connor DM, Sayers D, Sumner DR, Zhong Z. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A.* 2005; **548**: 234.
- Farquharson MJ, Geraki K. *X-Ray Spectrom.* 2004; **33**: 240 [doi: 10.1002/xrs.684].
- Chwiej J, Sczerbowska-Boruchowska M, Lankosz M, et al. *Spectrochim. Acta, Part B* 2005; **60**: 1531.
- Braz D, Motta LMG, Lopes RT. *Appl. Radiat. Isot.* 1999; **50**: 661.
- Lopes RT, Rocha HS, Jesus EFO, Barroso RC, et al. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A.* 2003; **A 505**: 604 [doi:10.1016/S0168-9002(03)01157-4].
- Cesareo R, Mascarenhas S. *Nucl. Instrum. Methods* 1989; **A 277**: 669 [doi:10.1016/0168-9002(89)90802-4].
- Naghedolfeizi M, Chung J-S, Morris R, Ice GE, Yun WB, Cai Z, Lai B. *J. Nucl. Mater.* 2003; **312**: 146.
- Hogan JP, Gonsalves RA, Krieger AS. *IEEE Trans. Nucl. Sci.* 1991; **38**: 1721.