Notas em Matemática Aplicada e-ISSN 2236-5915

Volume 1, 2012

Editado por

Eliana X.L. de Andrade
Universidade Estadual Paulista - UNESP
São José do Rio Preto, SP, Brasil

Rubens Sampaio
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro -
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Geraldo N. Silva
Universidade Estadual Paulista - UNESP
São José do Rio Preto, SP, Brasil

Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional

2012

A Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional - SBMAC publica, desde as primeiras edições do evento, monografias dos cursos que são ministrados nos CNMAC.

Para a comemoração dos 25 anos da SBMAC, que ocorreu durante o XXVI CNMAC em 2003, foi criada a série **Notas em Matemática Aplicada** para publicar as monografias dos minicursos ministrados nos CNMAC, o que permaneceu até o XXXIII CNMAC em 2010.

A partir de 2011, a série passa a publicar, também, livros nas áreas de interesse da SBMAC. Os autores que submeterem textos à série Notas em Matemática Aplicada devem estar cientes de que poderão ser convidados a ministrarem minicursos nos eventos patrocinados pela SBMAC, em especial nos CNMAC, sobre assunto a que se refere o texto.

O livro deve ser preparado em **Latex (compatível com o Miktex versão 2.7), as figuras em eps** e deve ter entre **80 e 150 páginas**. O texto deve ser redigido de forma clara, acompanhado de uma excelente revisão bibliográfica e de **exercícios de verificação de aprendizagem** ao final de cada capítulo.

Veja todos os títulos publicados nesta série na página
http://www.sbmac.org.br/notas.php

RESTAURAÇÃO DE IMAGENS COM APLICAÇÕES EM BIOLOGIA E ENGENHARIA

Problemas Inversos em Nanociência e Nanotecnologia

Geraldo Antonio Guerrera Cidade

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - IBCCF
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ
Rio de Janeiro - RJ
gcidade@biof.ufrj.br

Antônio José da Silva Neto[1]

Departamento de Engenharia Mecânica e Energia
Instituto Politécnico - IPRJ
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ
Nova Friburgo - RJ
ajsneto@iprj.uerj.br

Nilson Costa Roberty

Programa de Engenharia Nuclear
Coordenação dos Programas de Pós-Graduação em Engenharia - COPPE
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ
Rio de Janeiro - RJ
nilson@lmn.con.ufrj.br

Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional

São Carlos - SP, Brasil
2012

[1]AJSN é Professor Colaborador no Programa de Engenharia Nuclear da COPPE/UFRJ

Coordenação Editorial: Geraldo Nunes Silva

Coordenação Editorial da Série: Geraldo Nunes Silva

Editora: SBMAC

Capa: Matheus Botossi Trindade

Patrocínio: SBMAC

Copyright ©2012 by Geraldo Cidade, Antonio Silva Neto e Nilson Costa Roberty. Direitos reservados, 2012 pela SBMAC. A publicação nesta série não impede o autor de publicar parte ou a totalidade da obra por outra editora, em qualquer meio, desde que faça citação à edição original.

Catalogação elaborada pela Biblioteca do IBILCE/UNESP
Bibliotecária: Maria Luiza Fernandes Jardim Froner

Cidade, Geraldo.
Restauração de Imagens com Aplicações em Biologia e Engenharia - São Carlos, SP: SBMAC, 2012, 88 p., 20.5 cm -(Notas em Matemática Aplicada; v. 1)

e-ISBN 978-85-86883-70-5

1. Problemas Inversos. 2. Restauração de Imagens. 3. Nanociência. 4. Computação científica. I. Cidade, Geraldo. II. Silva Neto, Antonio. III. Roberty, Nilson Costa. IV. Título. V. Série.

CDD - 51

Esta é uma republicação em formato de e-book do livro original do mesmo título publicado em 2003 nesta mesma série pela SBMAC.

PREFÁCIO DA SÉRIE

A Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional - SBMAC, desde a realização do primeiro CNMAC - Congressso Nacional de Matemática Aplicada e Computacional, publica monografias de cursos que são ministrados durante o Evento. A atual diretoria decidiu fazer a indexação bibliográfica dessas monografias através do ISBN para efeito de catalogação para preservação das mesmas para a memória dos CNMAC.

A coleção recebeu o título de "Notas em Matemática Aplicada" e consistirá das monografias dos cursos ministrados nos CNMAC. O livro correspondente a cada minicurso deve ser preparado em até 100 páginas para servir como texto introdutório, de modo que é aconselhável que contenha uma boa revisão bibliografica e exercícios de verificação de aprendizagem. A clareza do texto é um dos fatores mais importantes.

A coleção incluirá, gradativamente, os textos dos Encontros Regionais de Matemática Aplicada e Computacional, os ERMAC e de outros eventos patrocinados pela SBMAC.

Além disso, é objetivo desta coleção publicar volumes com coletâneas de *preprints* de trabalhos apresentados em reuniões científicas patrocinadas pela SBMAC.

Esta primeira coleção, composta das monografias dos minicursos do XXVI CNMAC, foi especialmente preparada em comemoração aos 25 anos da SBMAC.

E. X. L. de Andrade
R Sampaio
G N Silva

A Mônica, Natália, Isadora e Beatriz
gagc

A Gilsineida, Lucas e Luísa
ajsn

A Regina, Bruno e Nara
ncr

Agradecimentos

Diversos alunos de graduação e de pós-graduação da UERJ, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, da UFRJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro, e de outras instituições de ensino e pesquisa do país, participaram de cursos em problemas inversos e restauração de imagens em escala nanométrica ministrados pelos autores. A eles agradecemos pelo entusiasmo e por sempre nos fazer pensar sobre a melhor maneira de transmitir o conhecimento que desenvolvemos e/ou aplicamos. Em especial somos gratos aos alunos Valéria Furtado, Simone Ribeiro, Carlos Eduardo Hill, Dalmo Stutz e Elivelti Xavier por participarem diretamente de nossos projetos em restauração de imagens em escala nanométrica.

Diversos colegas da SBMAC, Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional, em especial os membros das diretorias atual e anterior, merecem nosso respeito e sincero agradecimento pelo apoio contínuo e pelo estabelecimento de uma atmosfera de intensa interação científica em nossa comunidade.

Agradecemos também aos Professores Paulo Bisch e Gilberto Weissmüller, e à aluna de pós-graduação Lílian França, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ, aos Professores Carlos Alberto Achete e Renata Antoun Simão, e aos alunos de pós-graduação Rossana Thiré e Leandro von Muhlen do Programa de Engenharia Metalúrgica e Materiais da COPPE/UFRJ, por algumas das imagens utilizadas, e aos alunos de pós-graduação Dany Sánchez e Susana Marrero do Instituto Politécnico, Campus Regional da UERJ em Nova Friburgo, pela digitação do texto em LATex.

Finalizando, agradecemos o apoio financeiro das seguintes instituições, que tem sido fundamental para o desenvolvimento das atividades do nosso grupo de pesquisa:

CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
FAPERJ	Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FUJB	Fundação Universitária José Bonifácio (UFRJ)
CEPUERJ	Centro de Produção da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

gagc
ajsn
ncr

Prefácio

Tem sido observado nos últimos anos um interesse crescente no desenvolvimento e aplicação de métodos para a restauração de imagens, principalmente aquelas obtidas em escala nanométrica através das técnicas de microscopia de varredura por sonda (*Scanning Probe Microscopy*-SPM). A motivação para o desenvolvimento destas técnicas, que leva então à necessidade de pós-processamento das imagens obtidas, está nas aplicações em nanociência e nanotecnologia, onde busca-se conhecer a morfologia de tecidos vivos, ou de materiais de interesse de engenharia. Em alguns casos esta técnica permite, inclusive, a avaliação de aspectos funcionais.

O conjunto de técnicas denominado microscopia de varredura por sonda (SPM) tem sua origem na microscopia de varredura por tunelamento (*Scanning Tunneling Microscopy*-STM) que levou seus criadores Gerd Binnig e Heinrich Rohrer ao Prêmio Nobel de Física de 1986, juntamente com Ernst Ruska que desenvolveu o primeiro microscópio eletrônico.

Outra área de pesquisa que tem experimentado um crescimento acelerado, juntamente com uma ampla gama de aplicações, é aquela associada à formulação, análise e solução de problemas inversos, devendo-se aqui destacar o trabalho fundamental realizado por Andrei Nikolaevich Tikhonov, na década de 60 do século passado, que buscava o entendimento de problemas mal-postos, sendo este pesquisador o criador do conceito de operador de regularização.

É aqui feita a junção destas duas áreas de pesquisa, com a aplicação de uma abordagem de problemas inversos na restauração de imagens obtidas, em escala nanométrica, com microscópios de forca atômica (*Atomic Force Microscopy*-AFM), uma das técnicas desenvolvidas no escopo de SPM.

Primeiramente são discutidas a técnica de AFM e as características das imagens com ela obtidas. A seguir são apresentadas algumas técnicas tradicionais empregadas na restauração de imagens, com algum detalhe sobre a Transformada Rápida de Fourier (FFT) e a Morfologia Matemática (MM). Chega-se então à formulação e aplicação da restauração de imagens biológicas e de engenharia com o funcional de regularização de Tikhonov. A minimização deste funcional é feita primeiramente com um método determinístico (Newton multivariável), seguida de um método estocástico (algoritmo genético). Finalizando são brevemente discutidas estratégias baseadas na combinação de técnicas, como por exemplo a restauração de Tikhonov empregando como referência uma imagem processada com FFT. Nos Anexos são apresentados diversos passos omitidos do texto principal, para facilitar a leitura, sendo também apresentado o manual do programa computacional desenvolvido para

a restauração de imagens empregando a regularização de Tikhonov.

Deve-se ressaltar que este não pretende ser de forma alguma um texto completo sobre a restauração de imagens e problemas inversos. Por este motivo muitos assuntos são apenas brevemente mencionados, mas procurou-se incluir um bom número de referências bibliográficas que permitam ao leitor iniciar sua busca por um maior aprofundamento. São descritas com razoável nível de detalhe a formulação e a aplicação do funcional de Tikhonov, com um termo geral de regularização, na restauração de imagens de AFM, o que consiste na contribuição original dos autores.

O material aqui apresentado foi escrito levando em conta o nível de entendimento de alunos dos últimos anos da graduação e dos primeiros anos da pós-graduação, que tenham interesse em matemática, biologia ou engenharia, visando aplicações em nanociência e nanotecnologia.

Desejamos que a leitura deste material seja agradável e proveitosa. Os autores tiverem muito prazer em prepará-lo, e é para nós uma honra que este faça parte de uma série especial dedicada à comemoração do jubileu de prata da SBMAC, a nossa Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional.

Nova Friburgo
30 de junho de 2003

Geraldo A. G. Cidade
Antônio J. Silva Neto
Nilson C. Roberty

Glossário

AFM	Microscopia de Força Atômica (*Atomic Force Microscopy*)
AG	Algoritmo Genético
AGC	Algoritmo Genético Canônico
cantilever	Braço de apoio (suporte) para a ponteira de mediçao (*tip*)
$D\beta v\delta s\xi$	Borramento com operador gaussiano onde β é a dimensão da matriz de borramento ($\beta \times \beta$), δ é a variância (σ^2) e ξ é a relação sinal-ruído (SNR)
FFT	Transformada Rápida de Fourier (*Fast Fourier Transform*)
FFT^{-1}	Transformada Rápida de Fourier Inversa (*Inverse Fast Fourier Transform*)
MM	Morfologia Matemática
MSE	Erro Médio Quadrático (*Mean Square Error*)
%MSE	Erro Médio Quadrático Relativo
PP	Plataforma piezoelétrica
PSF	Função de Espalhamento (*Point Spread Function*)
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura (*Scanning Electronic Microscopy*)
SFM	Microscopia de Varredura de Força (*Scanning Force Microscopy*)
SNR	Relação Sinal-Ruído (*Signal to Noise Ratio*)
SPM	Microscopia de Varredura por Sonda (*Scanning Probe Microscopy*)
STM	Microscopia de Varredura por Tunelamento (*Scanning Tunneling Microscopy*)
tip	Ponteira de medição

Conteúdo

1 Introdução **1**
1.1 Representação de uma Imagem Digital 2

2 Microscopia de Força Atômica (AFM) **3**
2.1 Modos de Operação 7
2.1.1 Contato 7
2.1.2 Não-Contato 7
2.1.3 Intermitente (Tapping Mode) 7
2.2 Princípio de Funcionamento 8

3 Características das Imagens de AFM **10**
3.1 Interação *tip*-amostra - Aspectos Importantes 10

4 Métodos Tradicionais para a Restauração de Imagens **12**
4.1 Filtragem de Imagens no Domínio da Freqüência (FFT e FFT^{-1}) 14
4.2 Morfologia Matemática 15

5 Restauração de Imagens Baseada na Regularização de Tikhonov **19**
5.1 Formulação Matemática de um Problema Inverso 19
5.2 O Teorema de Bayes Aplicado à Restauração de Imagens 22
5.3 Características do Modelo de Interação *Tip*-Amostra 23
5.4 O Termo Geral de Regularização 24
5.5 Regularização de Tikhonov 25
5.6 Formulação Matemática do Problema 26
5.7 O Algoritmo de Restauração - Minimização do Funcional Q 27
5.8 Avaliação e Utilização do Algoritmo de Restauração 29
5.8.1 Restauração de Imagens Ruidosas - Funcional q-discrepância 32
5.8.2 Restauração de Imagens Biológicas de AFM 34
5.8.3 Restauração de Imagens de Engenharia Obtidas com AFM . 43
5.8.4 Busca Exaustiva 44
5.8.5 Estratégia de Realimentação 49

6 Métodos Estocásticos e Redes Neurais para a Restauração de Imagens **53**
6.1 Algoritmo Genético (AG) 54
6.2 O Algoritmo Genético Canônico (AGC) 54
6.3 Como o AG é Aplicado na Restauração de uma Imagem 55
6.4 Resultados Preliminares 57

7 Outras Estratégias **61**
7.1 Combinação da Regularização de Tikhonov com a FFT 61

8 Referências Bibliográficas **64**

A Anexos **73**
A.1 Entropia Configuracional de uma Imagem 73
A.2 Funcional Geral de Regularização 76
A.3 Desenvolvimento das Expressões de F_{rs} e F_{mn} para o Funcional de Regularização de Tikhonov 78
A.4 Manual da Rotina Computacional para a Restauração de Imagens com a Regularização de Tikhonov 80
A.4.1 Como instalar 80
A.4.2 Janela principal 80
A.4.3 Apresentação do conteúdo da janela principal 81
A.4.4 Modificação de Imagens 82
A.4.5 Restauração de Imagens 84

Capítulo 1

Introdução

Os métodos de processamento de imagens digitais podem ser aplicados em quatro grandes áreas: i) melhoria de definição, ii) restauração, iii) codificação e iv) reconhecimento automático de padrões. A *melhoria de definição* diz respeito à identificação mais precisa dos objetos que compõem uma imagem, no que se relaciona à visão humana. A *restauração* tem por objetivo reduzir, ou mesmo eliminar, os efeitos degradantes que afetam o conteúdo informativo da imagem; degradações típicas que ocorrem na prática incluem o borramento, ruído aleatório aditivo, ruído de quantização, ruído multiplicativo e distorção geométrica. A *codificação* de uma imagem tem por objetivo representá-la através do menor número de pontos possível, preservando seu conteúdo informativo e conferindo inteligibilidade aceitável para uma dada aplicação. Desta forma, pode-se utilizar a *codificação* para reduzir a banda passante do canal de comunicação quando a imagem é transmitida, o que implica também em menores espaços de armazenamento para uso futuro. O *reconhecimento automático de padrões* consiste na identificação das representações simbólicas dos objetos que compõem uma imagem. Dentre inúmeras aplicações, pode-se destacar a visão computacional e a robótica. Desenvolvimentos de sistemas nesta área incluem não somente processamento de sinais, mas também outras disciplinas como inteligência artificial.

Uma das primeiras aplicações que envolvia técnicas de processamento de imagens consistia na melhoria da qualidade de fotos transmitidas através de cabeamento submarino entre Londres e Nova York. As fotos eram codificadas antes de serem transmitidas e, posteriormente, reconstruídas no receptor.

Desde meados da década de 60 do século passado, a área de processamento de imagens vem experimentando um vigoroso crescimento em aplicações diversas. Em adição às aplicações no programa aeroespacial, outras soluções vêm sendo geradas para uma grande variedade de problemas, que, embora nem sempre diretamente relacionados, compartilham de métodos capazes de realçar informações relevantes. Em medicina, por exemplo, é possível beneficiar-se das imagens de raios-X pós-processadas de alto contraste, ou codificadas por intermédio de cores. Técnicas similares também são empregadas por geógrafos no estudo de padrões de poluição

a partir de imagens aéreas, ou obtidas através de satélites. Outras áreas, como a astronomia, biologia, medicina nuclear, nanociência, nanotecnologia, defesa e indústria, utilizam-se das técnicas de processamento de imagens como ferramentas indispensáveis para a melhoria de interpretação ou diagnóstico.

1.1 Representação de uma Imagem Digital

O termo *imagem monocromática*, ou simplesmente imagem, refere-se a uma função bidimensional de intensidade de luz do tipo $f(u, v)$, em que u e v referem-se às coordenadas espaciais de brilho (ou gradação de cinza) de qualquer par (u, v). Pode-se interpretar a intensidade de uma imagem como um terceiro eixo na Fig 1.1.

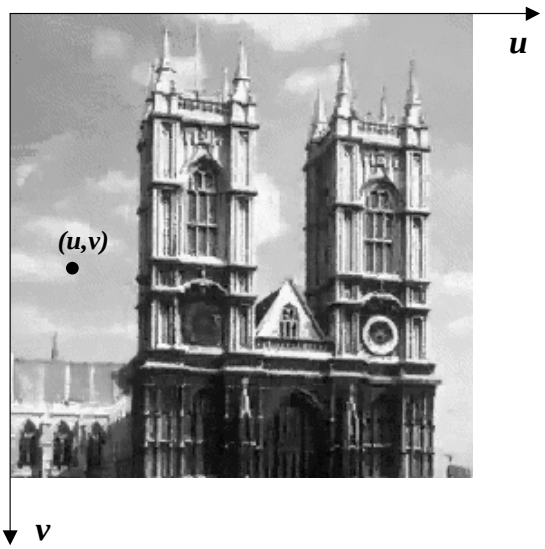


Figura 1.1: Convenção empregada para a representação de uma imagem digital, mostrando o elemento (u, v) como um de seus representantes.

Uma *imagem digital* do tipo $f(u, v)$ é toda aquela que resulta da discretização em coordenadas espaciais e em intensidade luminosa. Pode-se considerar uma imagem digital como uma matriz de pontos, denominados elementos de imagem, elementos de figura, *pixels* ou *pels* (abreviações comuns de *picture elements*).

Embora as dimensões de uma imagem digital variem de acordo com a aplicação, torna-se mais conveniente representá-la sob a forma de uma matriz quadrada contendo elementos graduados em escala de cinza, com dimensões escalonadas em potências de 2; por exemplo, imagens de *256* $\times$ *256 pixels* e *128* gradações de cinza.

Todas as imagens consideradas neste livro são constituídas por 256 $\times$ 256 pixels com 256 gradações de cinza.

Capítulo 2

Microscopia de Força Atômica (AFM)

A Microscopia de Força Atômica (*Atomic Force Microscopy* - AFM), originalmente descrita por Binnig et al. (1986), e também conhecida por Microscopia de Varredura de Força (*Scanning Force Microscopy* - SFM), enquadra-se como uma derivação da técnica de Tunelamento (*Scanning Tunneling Microscopy* - STM) (Hansma et al., 1988), adaptada às amostras não-condutoras. Atualmente, estas, e outras técnicas, formam uma vasta família de instrumentos denominados Microscópios de Varredura por Sonda (*Scanning Probe Microscope* - SPM) (Fig. 2.1), diferindo entre si pela forma como a sonda de medição interage com a amostra, largamente empregados em nanociência e nanotecnologia.

A Fig. 2.2 ilustra esquematicamente o princípio de funcionamento de um SPM genérico, destinado à caracterização de superfícies condutoras, isolantes e semicondutoras, possibilitando a visualização de estruturas desde sua intimidade atômica até dimensões micrométricas, através da quantificação das forças de interação entre uma ponteira de medição (*tip*) e a amostra. A Tabela 2.1 estabelece comparações entre algumas técnicas de aumento existentes.

Tabela 2.1: Comparação entre algumas técnicas microscópicas.

Tipo	Magnificação	Meio	Imagem	Danos à Amostra
Óptica	10^3	Ar e Líquido	2-D	Nenhum
Feixe de Íons	10^5	Ar	2-D	Severos
SEM[1]	10^6	Vácuo	2-D	Alguns
SPM	10^9	Ar, Líquido e Vácuo	3-D	Mínimos

[1] **SEM -** Scanning Electronic Microscopy (Microscopia Eletrônica de Varredura)

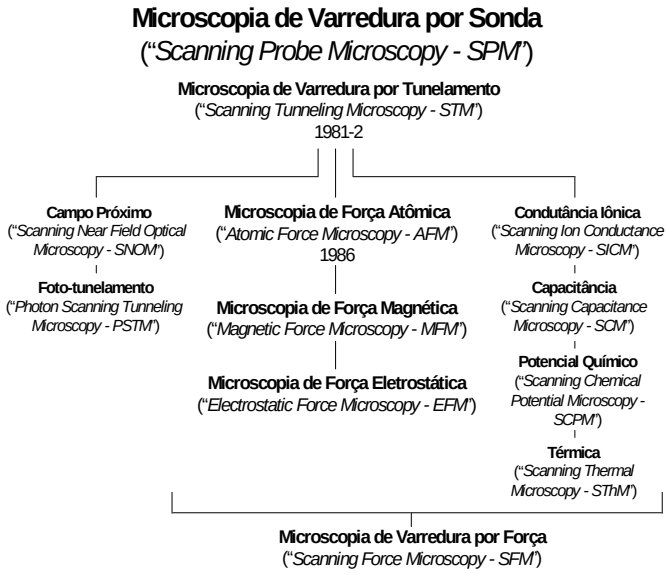


Figura 2.1: Mapa das Técnicas de SPM.

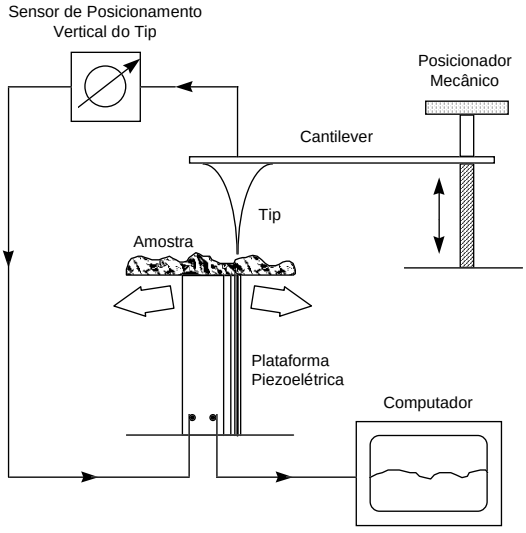


Figura 2.2: Diagrama esquemático de um SPM genérico

O STM diferencia-se do AFM em relação à forma de sensoriamento do sinal. O primeiro emprega a captação de elétrons (tunelamento) da superfície de uma amostra condutora (ou semicondutora) através da aplicação de um campo elétrico entre esta e um *tip* metálico, gerando uma corrente eletrônica que decai exponencialmente ao longo da distância que os separa; o segundo utiliza-se de um feixe de laser colimado, que incide sobre a extremidade de uma pequeno braço de apoio (mola) denominado *cantilever*, registrando sobre um dispositivo fotodetetor informações topográficas relacionadas à superfície de amostras com propriedades dielétricas.

Castle e Zhdan (1997) empregam conjuntamente a Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) e a Microscopia de Varredura de Força (SFM) para a caracterização topográfica de diferentes superfícies, comparando suas sensibilidades, discutindo vantagens e desvantagens, e propondo a combinação entre estas duas modalidades em um único instrumento.

O AFM mostra-se vantajoso em estudos citológicos e histológicos, já que apresenta a capacidade única de produzir imagens tridimensionais de forma direta e quantitativa, a partir de estruturas vivas, colocando-o em relevante posição estratégica.

Durante o processo de aquisição, as imagens de AFM estão sujeitas às limitações impostas pela instrumentação utilizada. Imagens desta natureza, que, freqüentemente, representam estruturas em escala nanométrica, costumam apresentar pobres relações sinal/ruído, bem como a manifestação dos efeitos degenerativos relacionados à interação entre o *tip* e a amostra (borramento).

No sentido de encontrar uma possível adequação ao tratamento das imagens obtidas a partir de estruturas biológicas, Cidade, Roberty e Silva Neto (Cidade et al., 1998a,b, 1999c, 2000a, 2001a) propuseram o emprego de um método pouco tradicional na área de processamento de imagens, denominado regularização de Tikhonov (Kress, 1989), para a deconvolução de imagens ruidosas apresentando pobres conteúdos de contraste. As causas do borramento devem-se, em parte, à múltipla atuação das forças de interação entre o *tip* e a amostra, genericamente descritas por uma função gaussiana (Kokaram et al., 1995), ou um parabolóide de revolução (Weisman et al., 1992), em meio à presença de ruído aditivo. Argento e French (1996) analisam a relação força $\times$ distância em função da geometria do sistema.

É importante considerar que a adaptação do uso da técnica de AFM para amostras biológicas ainda encontra-se em desenvolvimento, exigindo do experimentador maior conhecimento técnico sobre o funcionamento do sistema (Cidade, 2000, Cidade et al., 2003). A técnica de AFM vem conquistando seu espaço junto à comunidade científica em aplicações diversas, constituindo-se em mais uma poderosa ferramenta para a caracterização de superfícies biológicas, permitindo a visualização nanoscópica de estruturas *in vivo*, bem como aplicações nanotecnológicas em engenharia.

O AFM emprega uma sonda de reduzidas dimensões denominada *cantilever*, que, através de uma ponteira de formato piramidal (*tip*) presa em sua extremidade (Fig. 2.3), interage com a superfície da amostra, gerando uma resposta mecânica em função do relevo que lhe é característico. A forma de interação depende do modo

de funcionamento do microscópio, podendo ser por: *contato, não-contato* ou *intermitente* (*tapping mode*). A Fig. 2.4 descreve o comportamento característico (curva força × distância) da interação *tip*-amostra, localizando as regiões de operação para cada modo.

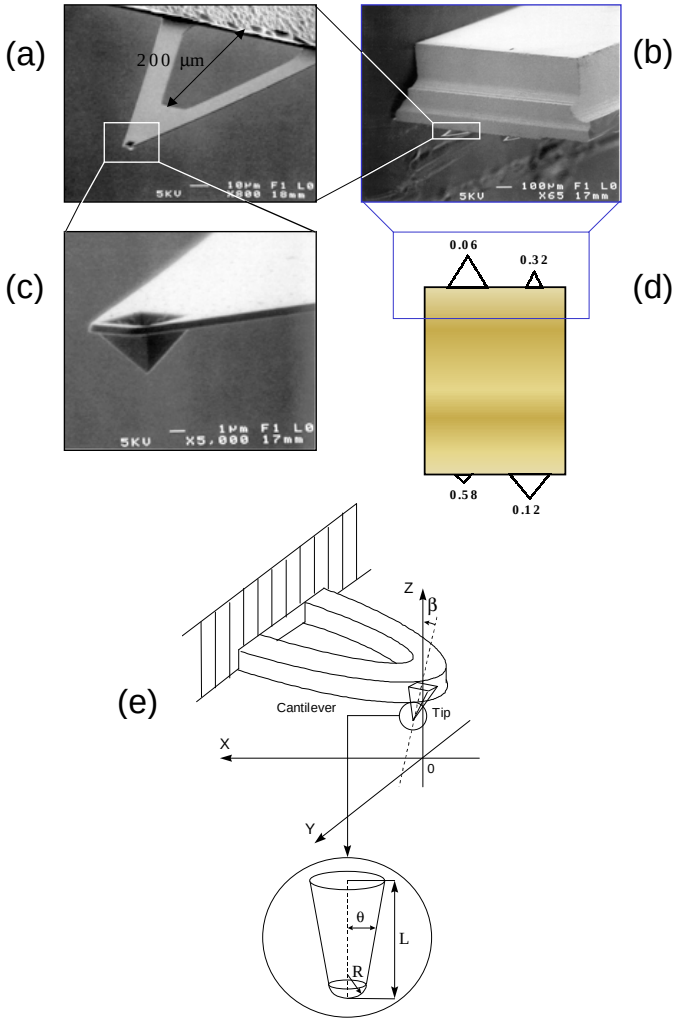


Figura 2.3: *Cantilever* convencional empregado em AFM (a), parte de um conjunto de ponteiras com diferentes constantes de mola (d e b), contendo em sua extremidade um *tip* de reduzidas dimensões (c), geometricamente representado em (e). Em aplicações biológicas, costuma-se empregar o *cantilever* com menor constante de mola (0,06 Nm - 200 μm).

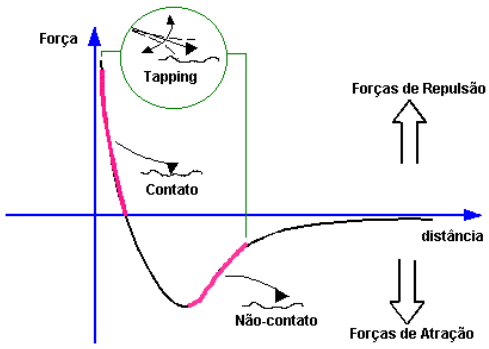


Figura 2.4: Curva força × distância, obtida a partir da interação *tip*-amostra.

2.1 Modos de Operação

2.1.1 Contato

O *tip* e a amostra encontram-se em contato íntimo durante a varredura. Por contato entende-se regime de repulsão de forças inter-moleculares, principalmente as de van der Waals (Hartmann, 1991); a região repulsiva da curva localiza-se acima do eixo horizontal da Fig. 2.4. Cabe ressaltar que são predominantes as forças de van der Waals (Shluger et al., 1999).

2.1.2 Não-Contato

Neste modo de operação, mantém-se o *tip* distanciado da amostra (região das forças de atração), com o objetivo de preservá-la. Devido a este distanciamento, as forças de interação resultantes apresentam pouca intensidade, devendo-se recorrer a técnicas de deteção mais sensíveis.

2.1.3 Intermitente (Tapping Mode)

Neste modo, o *cantilever* também é excitado mecanicamente por uma oscilação centrada em uma de suas freqüências de ressonância (normalmente algumas dezenas de kHz), reunindo as vantagens dos modos contato e não-contato, operando no ar ou em ambientes líquidos, interagindo de forma intermitente com a superfície da amostra. Como cada interação ocorre apenas durante uma pequena fração do período de oscilação, consegue-se minimizar a atuação das forças laterais e os efeitos de adesão (capilaridade) produzidos pela camada de hidratação, quando operado no ar. Para amostras macias, ou fracamente imobilizadas (superfícies celulares), reduz

a possibilidade de que as amostras sofram danos irreversíveis, produzindo imagens com maior conteúdo informativo.

2.2 Princípio de Funcionamento

A Fig. 2.5 ilustra esquematicamente o princípio de funcionamento de um Microscópio de Força Atômica (AFM), em regime de força constante, tanto para o modo contato quanto para o modo não-contato. Na medida em que o *cantilever* tende a flexionar-se em função do relevo da amostra depositada sobre uma superfície limpa e regular (emprega-se como substrato a mica muscovita) fixada à plataforma piezoelétrica (PP), o feixe de laser incidente sobre um fotodetetor de dois quadrantes (A e B) produz uma resposta elétrica na saída de um amplificador diferença, para o reposicionamento (quase imediato) da PP na direção Z, protegendo a amostra contra quaisquer riscos de ser atingida pelo *tip*. O sinal de correção (reposicionamento) é utilizado para delinear a topografia da amostra (direção Z), enquanto a PP realiza movimentos simultâneos de varredura nas direções X e Y.

Como o comportamento do *cantilever* é modelado empregando a Lei de Hooke para pequenos deslocamentos

$$F = -k \triangle z \tag{2.1}$$

em que F corresponde à força de interação entre o *tip* e a superfície da amostra (da ordem de 10^{-9} N), k equivale à constante elástica (constante de mola) do *cantilever*, e $\triangle z$ à deflexão resultante desta interação, pode-se facilmente quantificar as forças resultantes, para que se possa produzir o deslocamento da PP, suficiente para manter o sistema em regime de *força constante*, evitando danos à amostra.

O circuito *integrador* amortiza a velocidade de reposicionamento da PP, para evitar a ocorrência de oscilações indesejáveis em uma de suas freqüências de ressonância, o que também poderia prejudicar a qualidade das imagens topográficas.

Shluger et al. (1999) discutem que, dentre as forças de longo alcance que atuam entre o *tip* e a superfície da amostra, pode-se incluir:

- as forças de atração de van der Waals;
- as forças de adesão (capilaridade) em presença de filmes fluidos, tanto em meios líquidos quanto no ar;
- as forças eletrostáticas, resultantes da polarização do *tip*, da amostra, ou mesmo como resultado da clivagem do substrato (mica) onde encontra-se depositada a amostra (mica muscovita). Em regime de contato, as forças de curto alcance desempenham papel decisivo para regular o equilíbrio global do sistema.

A Fig. 2.6 ilustra o equipamento de AFM de construção própria, em funcionamento no Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ desde 1996.

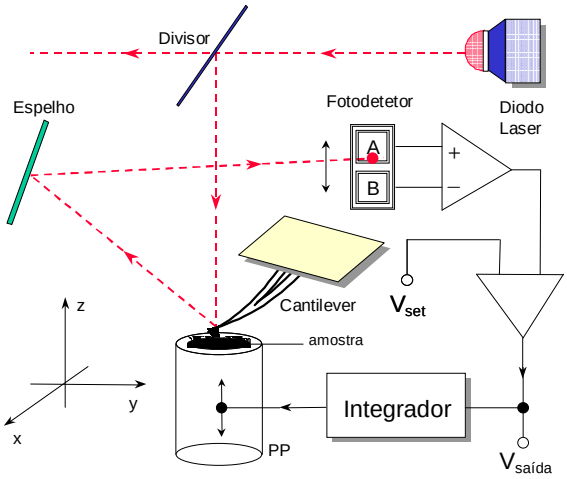


Figura 2.5: Representação esquemática do princípio de funcionamento de um microscópio de Força Atômica (AFM).

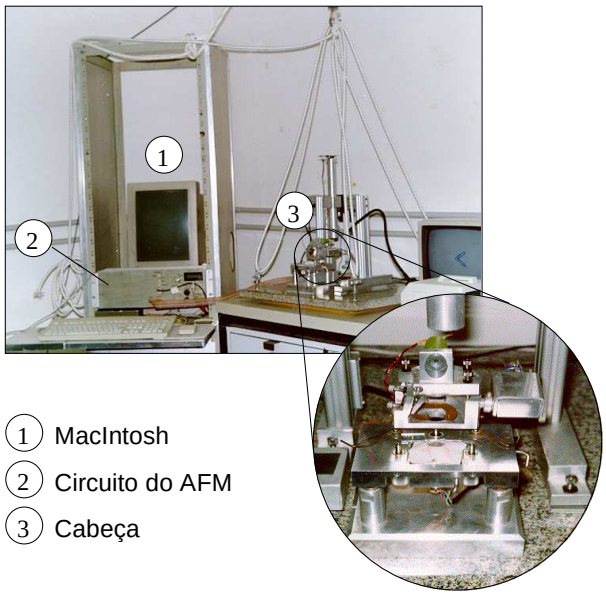


Figura 2.6: Imagens do Microscópio de Força Atômica do IBCCF, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ, destacando seus componentes principais.

Capítulo 3

Características das Imagens de AFM

As imagens produzidas pela técnica de AFM são usualmente afetadas pela não-estacionariedade das estruturas que compõem a amostra, pelos efeitos degenerativos (convolução) decorrentes da interação *tip*-amostra e pela distribuição irregular do ruído aditivo, dificultando, assim, a exatidão dos resultados obtidos. Os efeitos degenerativos estão associados à textura e à imprecisão na definição das bordas que delimitam as estruturas que compõem a imagem.

Dependendo da velocidade de varredura, da dimensão da imagem, e do tipo de substrato utilizado para depositar a amostra, tanto a função de degradação como o ruído aditivo podem criar efeitos distintos, dificultando a elaboração de modelos gerais e consistentes (Kokaram et al., 1995). Sendo assim, técnicas de pós-processamento são freqüentemente utilizadas em imagens que contenham ruído aditivo, como as que empregam filtros do tipo: passa-baixa, mediana, ou Wiener; este último requer a estimativa do espectro de potência do ruído e da imagem (Weisman et al., 1992)

3.1 Interação *tip*-amostra - Aspectos Importantes

Informações morfológicas relevantes sobre as superfícies de amostras estudadas pela técnica de AFM são interpretadas a partir de imagens tridimensionais, geradas a partir da interação entre o *tip* e a amostra.

Conforme visto anteriormente, o sinal de AFM é detetado a partir da deflexão do *cantilever*, cuja constante de mola efetiva compreende diferentes graus de liberdade: *normal*, *lateral* e *torcional*; o primeiro está relacionado com as informações topográficas da amostra, enquanto o segundo e o terceiro com suas propriedades mecânicas. Se as dimensões do *tip* forem comparáveis aos detalhes da superfície da amostra que se deseja observar, a imagem resultante representará uma convolução entre os dois. Shluger et al. (1999) discutem a atuação das forças que agem entre

o *tip* e a superfície da amostra, enquanto Weisenhorn e Hansma (1989) analisam as forças presentes em experimentos realizados no ar e em líquido:

- forças de longo alcance: forças de atração de van der Waals e eletrostática, bem como as forças de adesão, resultantes da capilaridade induzida pela camada de hidratação em experimentos realizados no ar;
- forças de curto alcance: de natureza repulsiva ou atrativa, as forças de curto alcance desempenham um importante papel na regulação do equilíbrio, especialmente no modo contato.

Uma forma de suavizar a ação das forças durante a operação no modo contato, seria a imersão de todo o sistema em um meio líquido com propriedades apropriadas, que, efetivamente, fosse capaz de distribuir uniformemente as forças de van der Waals (*screening*) (Hartmann, 1991), prevenindo a ocorrência de bruscas forças de adesão (*jump-to-contact*). Embora esta estratégia tenha provado ser muito eficiente em estudos de sistemas biológicos, ainda não é de uso universal. Levadny et al. (1996) descrevem os efeitos das forças eletrostáticas em interfaces biológicas.

Outra técnica, que vem se popularizando em aplicações de natureza biológica, é conhecida por modo intermitente (*tapping mode*). Consiste em fazer o *cantilever* oscilar mecanicamente em grandes amplitudes, de tal maneira que as forças elásticas superem a atuação das forças de van der Waals, minimizando, assim, os efeitos produzidos pelas forças laterais e de adesão.

Sendo assim, dependendo da informação que se queira extrair de uma amostra, seja ela de natureza topográfica, magnética, friccional, entre outras, deve-se adequar a forma de sensoriamento das forças através da utilização de *cantilevers* apropriados.

Capítulo 4

Métodos Tradicionais para a Restauração de Imagens

O crescente interesse em restauração de imagens a partir de dados incompletos deve-se, em parte, à larga utilização da técnica de tomografia computadorizada (TC). Motivados pela aplicação direta da transformada de Fourier, Sezan e Stark (1983) propuseram um novo método iterativo, que emprega projeções convexas em presença de ruído aditivo.

A restauração de uma imagem consiste, basicamente, na recuperação total ou parcial do formato original do objeto por ela representado, em meio a diferentes relações sinal-ruído. Costuma-se empregar modelos confiáveis no escopo da solução de um problema inverso (Gonzales e Wintz, 1987):

1. a partir do conhecimento prévio (*prior*) do fenômeno de degradação da informação original - deconvolução (Cidade et al., 1998a,b, 1999a-c, 2000a-f, 2001a,b, 2003; Cidade, 2000; Anteneodo et al., 1999; Furtado, 2002; Furtado et al., 2002, 2003; Gonzales e Wintz, 1987; Kang e Katsaggelos, 1995; Katsaggelos, 1989; Katsaggelos et al., 1991; Kokaram et al., 1995; Lim, 1990) - considerando os movimentos relativos entre o dispositivo sensor e o objeto (Brailean e Katsaggelos, 1995; Liu e Xiao, 1988; Trussell e Fogel, 1992);

2. a partir do emprego de formas geométricas primitivas (morfologia matemática), através do uso de funções do tipo erosão (*erosion*) e dilatação (*dilation*) (Dongmo et al., 1996; Schneir et al., 1996; Villarrubia, 1997; Weisman et al., 1992; Williams et al., 1996; Wilson et al., 1996); Dongmo et al. (1996) aplicam a morfologia matemática em dados simulados sem ruído aditivo, alertando para a possibilidade deste método não funcionar corretamente em imagens reais, enquanto Villarrubia (1997) também chama a atenção para outras limitações, como os efeitos de não-linearidade da plataforma piezoelétrica (PP), torções laterais do *cantilever*, bem como possíveis efeitos de subamortecimento provocados pelo sistema de reposicionamento da plataforma de varredura piezoelétrica;

3. através da estimativa da função de degradação - deconvolução cega (Lim, 1990; Gull e Skilling, 1984; Todd e Eppell, 2001); Guan e Ward (1990) descrevem a restauração de imagens estocasticamente borradas, através do método de filtragem por média geométrica, que combina os efeitos do filtro de Wiener com o critério dos mínimos quadrados (Nagy et al., 1996; Kang e Katsaggelos, 1995).

Usualmente, os métodos que empregam restauração iterativa de imagens baseiam-se no conhecimento prévio do modelo de degradação (operador) e da natureza estatística do ruído aditivo presente, implementados no escopo de algoritmos apropriados. Sendo assim, o procedimento iterativo reúne duas vantagens importantes:

- não há necessidade de implementar explicitamente a representação inversa do operador;
- o processo pode ser monitorado durante seu andamento (Banham e Katsaggelos, 1997; Gonzales e Wintz, 1987). Diferentes métodos de restauração foram propostos para as imagens obtidas a partir da técnica de STM nos domínios da freqüência e do espaço (Kokaram et al., 1995).

Quando o processo de degradação da imagem é conhecido, e a função de transferência correspondente mostra-se linear e invariante quanto ao deslocamento de fase, qualquer método eficiente de filtragem poderá ser empregado. Sendo assim, a linearidade passa a representar uma restrição para o projeto de qualquer tipo de filtro (Weisman et al., 1992), definida a partir da seguinte relação:

$$\psi\left(af + bg\right) = a\psi\left(f\right) + b\psi\left(g\right) \tag{4.1}$$

em que f e g poderão representar imagens distintas. Algumas técnicas de linearização, como as de deconvolução da função de degradação (domínio do espaço) e filtragem de Wiener (domínio da feqüência), podem mostrar-se adequadas, sendo que esta última requer que a imagem apresente características de estacionariedade. Berriel et al. (1983) empregam o filtro de Wiener para a restauração de imagens desfocadas (borradas), obtidas de uma câmera fotográfica padrão de 35 mm; a filtragem de Wiener baseia-se na invariabilidade da relação sinal-ruído ao longo de toda a imagem.

O emprego de algoritmos iterativos em restauração de imagens digitais (Katsaggelos, 1989) vem ocupando cada vez mais espaço na área de processamento de sinais (Rivera e Marroquin, 2002), pois permite tratar adequadamente as operações que, trivialmente, não admitam a inversão do operador (problema mal-condicionado) (Tikhonov e Arsenin, 1977; Kress, 1989; Silva Neto e Moura Neto, 1999).

A restauração de uma imagem através da teoria de regularização provê uma base formal para o determinação de uma solução estável em presença de pequenas perturbações (Karayiannis e Venetsanopoulos, 1989; Katsaggelos et al., 1991), criando um compromisso entre a acurácia e a estabilidade da solução, sustentada pela formulação Bayesiana (Burton et al., 1990; Cidade et al., 1998a,b; Kokaram et

al., 1995). Kokaram et al. (1995) empregam o funcional de entropia como termo de regularização para a restauração de imagens de STM, utilizando o critério da máxima entropia configuracional (Anexo A.1) como o indicador da solução mais provável (Trussel e Civanlar, 1984).

Em recente revisão, Banham e Katsaggelos (1997) afirmam que a maioria das técnicas clássicas assume que o operador de convolução (representado, por exemplo, por uma função Gaussiana), é conhecido *a priori*. Isto, entretanto, poderá não ocorrer em determinadas situações práticas. Importantes trabalhos vêm sendo desenvolvidos nesta área, que incluem a estimativa do operador a partir de uma imagem borrada e ruidosa (Lagendijk et al., 1990; Lay e Katsaggelos, 1990). Em revisão anterior, Sezan e Tekalp (1990) apontam importantes aspectos sobre restauração de imagens, sob a forma de um tutorial.

Liew et al. (1997) propõem a utilização da transformada *wavelet* como uma nova estratégia de restauração. Dado seu caráter de multiresolução, permite separar o espectro do sinal em regiões distintas; na prática, a maioria dos sinais tem sua energia concentrada na região das baixas freqüências, em que a relação sinal-ruído apresenta-se elevada em relação às de alta. Sendo assim, os autores empregam, primeiramente, a restauração na região de baixas freqüências, adicionando sucessivamente as informações de alta freqüência.

Em trabalhos recentes Hou (2003) propõe uma combinação de decomposição em valores singulares (SVD) com transformadas de *wavelet*, e Zhang et al. (2003) propõem um método híbrido com mínimos quadrados e *wavelets*, para a restauração de imagens.

Outros autores propõem e discutem a utilização de procedimentos adaptativos para a restauração de imagens no escopo dos métodos de regularização, tendo em vista o caráter de variabilidade da relação sinal-ruído e da degradação imposta pelo operador ao longo dos dados (Efstratiadis e Katsaggelos, 1990; Katsaggelos, 1989; Lagendijk et al., 1988).

4.1 Filtragem de Imagens no Domínio da Freqüência (FFT e FFT^{-1})

Tradicionalmente, a maioria das técnicas de filtragem digital opera no domínio da freqüência. Dentre elas pode-se destacar a consagrada Transformada Rápida de Fourier (FFT), e sua inversa (FFT^{-1}) (Bergland, 1969), que possibilitam substanciais ganhos de velocidade de processamento, já que as operações realizadas no domínio da freqüência possuem caráter algébrico.

Para o tratamento de imagens ruidosas, a filtragem passa-baixa (FPB) em duas dimensões permite o aproveitamento dos componentes abaixo de uma dada freqüência de corte superior, assumindo que o ruído aditivo presente esteja acima deste limite. Neste caso, a ação deste tipo de procedimento é global, penalizando igualmente todos os componentes da imagem, compromentendo, portanto, as informações de contraste que se encontram nas altas freqüências espaciais (Fig 4.1). Como resultado, pode-se impedir a recuperação de características importantes da

imagem (borda e/ou textura), que estejam compreendidas na faixa de freqüências do ruído aditivo (Weisman et al., 1992).

Dependendo do grau de estacionariedade da imagem que se deseja recuperar, a filtragem linear ótima no escopo da FFT é representada pela filtragem de Wiener (Gonzales e Wintz, 1987) aplicado por Kokaram et al. (1995) em imagens de estruturas cristalinas de silício obtidas pela técnica de STM, requerendo a estimativa do espectro de potência tanto do ruído como do sinal. O caráter de não-estacionariedade observado em estruturas biológicas sugere que as imagens produzidas pela técnica de AFM não podem ser adequadamente recuperadas por este método. Sendo assim, um procedimento adequado para imagens desta natureza seria a restauração no domínio do espaço, com o auxílo de algoritmos de regularização apropriados.

Jeng e Woods (1988) afirmam que a vantagem da restauração no domínio do espaço (ao invés do domínio da freqüência) é que o método utilizado para a estimativa da imagem original tem um caráter recursivo (tratamento em base local), ou seja, os pixels da imagem passam a ser tratados em função de uma vizinhança local, sem que os componentes de freqüência do sinal (contraste) e do ruído sejam penalizados igualmente.

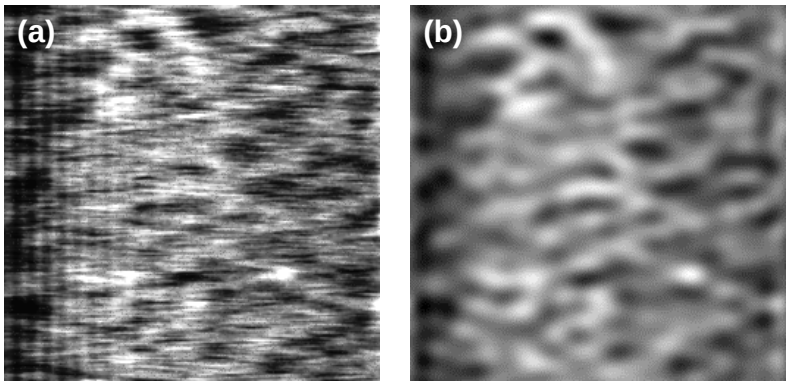


Figura 4.1: Efeito da filtragem de uma imagem de AFM de (200 × 200)nm representando filamentos de ssDNA em alta concentração (a), a partir de uma implementação passa-baixa empregando a FFT (fc=0,3 c/p) e sua inversa (b).

4.2 Morfologia Matemática

Em Morfologia Matemática - MM (Heijmans, 1995), uma amostra é descrita pelo conjunto de todos os elementos de imagem pertencentes ao objeto representado sob forma de uma imagem, no qual o operador de erosão (*erosion*) é aplicado para restaurar os efeitos da dilatação (*dilation*) causada pela convolução do *tip*.

O efeito da dilatação sobre uma imagem (Fig 4.2) é definido por (Villarrubia, 1994; Heijmans, 1995)

$$A \oplus B = \bigcup_{b \epsilon B} (A + b) \tag{4.2}$$

em que B representa a amostra e A o operador. No caso de uma imagem, pode-se escrever

$$I = S \oplus P \tag{4.3}$$

onde I representa os valores da imagem adquirida, S é o conjunto dos elementos da superfície da amostra e P representa o efeito do elemento sensor (*tip*).

Para que se possa reconstruir a superfície da amostra a partir da imagem adquirida, torna-se necessário dispor do modelo tridimensional do *tip*. Para isto, utiliza-se uma grade de caracterização (*characterizer grid*) para estimar a geometria do *tip* (Fig. 4.3). Qualquer grade de tamanho e geometria conhecidos poderá ser utilizada para caracterizar o *tip*. Vick et al. (2000) propõem o uso de filmes porosos finos para esta caraterização visando aplicações em AFM.

Dongmo et al. (2000) propõem uma reconstrução cega (*blind reconstruction*) para a determinação da forma do *tip*, na qual não é necessário o conhecimento a *priori* da geometria de uma grade de caracterização. Todd e Eppell (2001) avaliam o efeito do ruído na reconstrução cega do tip.

Uma vez determinado o modelo do *tip* (P), o operador de erosão (Villarrubia, 1994; Heijmans, 1995)

$$A \ominus B = \bigcap_{b \epsilon B} (A - b) \tag{4.4}$$

será capaz de estimar o conteúdo da amostra (S), dada a imagem (I), segundo a expressão

$$S = I \ominus P \tag{4.5}$$

Cabe ressaltar que a MM não leva em consideração o ruído aditivo presente na imagem adquirida. A Fig 4.4b mostra o tratamento de uma imagem de AFM de microcristais de AL_2O_3 (safira) (Fig 4.4a). Pode-se observar que após o tratamento os componentes da imagem adquirida passaram a exibir maior definição em seus contornos.

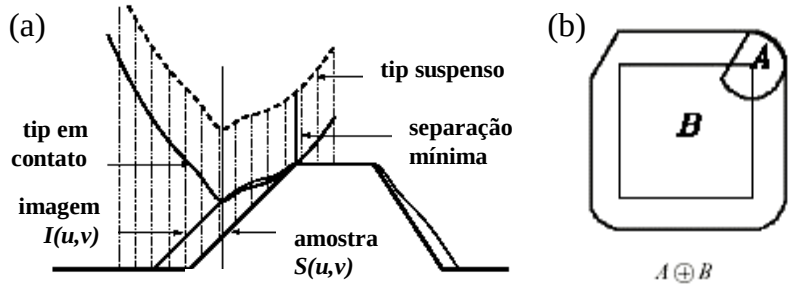


Figura 4.2: (a) Modelo convencional de formação de imagem em AFM e (b) o efeito do operador de dilatação (A) sobre a amostra (B).

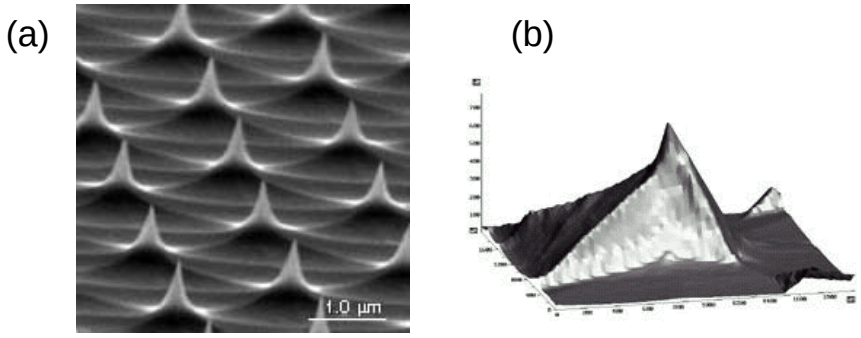


Figura 4.3: Exemplo de uma grade de caraterização (a) e o *tip* reconstruído.

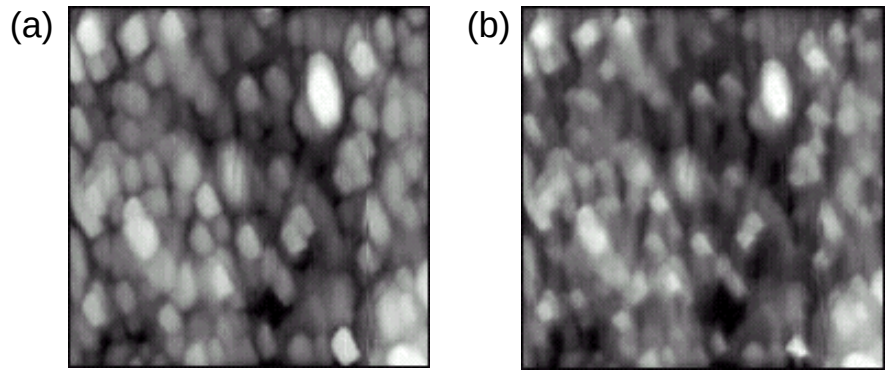


Figura 4.4: Resultado de aplicação da MM (b) em uma imagem de AFM de microcristais de AL_2O_3 (a).

Capítulo 5

Restauração de Imagens Baseada na Regularização de Tikhonov

A teoria de regularização aplicada à restauração de imagens no domíno do espaço baseia-se na otimização do compromisso entre a acurácia e a *estabilidade* da solução, em meio a diferentes relações sinal-ruído, transformando um problema mal-condicionado (Kang e Katsaggelos, 1995; Tikhonov e Arsenin, 1977; Silva Neto e Moura Neto, 1999) em outro bem-posto, cuja solução representaria uma aproximação aceitável daquela que seria obtida pelo primeiro no escopo de um problema inverso trivial.

5.1 Formulação Matemática de um Problema Inverso

Segundo Kirsch (1996), dois problemas são considerados inversos entre si, se a formulação de um deles requerer o conhecimento total (ou parcial) do outro. Na maioria dos casos, um problema inverso é mal-condicionado, enquanto o problema direto é bem-posto. Para um problema ser considerado bem-posto, três requisitos essenciais devem ser satisfeitos:

- Existência - o problema deve apresentar solução;
- Unicidade - a solução deve ser única;
- Estabilidade - a solução deve exibir dependência contínua em relação aos dados que a originou.

Pode-se, matematicamente, obter a *existência* e a *unicidade* de uma solução, delimitando-se o espaço onde ela, provavelmente, se encontra. Se um problema

exibe múltiplas soluções, as informações que definem o operador são insuficientes para descrevê-lo corretamente. Portanto, somente informações confiáveis deverão ser consideradas, não necessariamente suficientes.

O atributo da estabilidade é tido como o mais importante, já que é praticamente impossível convergir para o espaço de soluções sem considerar os efeitos degenerativos do ruído aditivo sobre os dados, do operador, ou até mesmo das limitações impostas pelo caráter iterativo do processamento numérico.

Caso a solução não dependa continuamente dos dados, os valores computados encontram-se, freqüentemente, distantes da solução esperada. Desta forma, não haveria como superar esta dificuldade a menos que se pudesse fornecer informações adicionais confiáveis acerca da solução. Portanto, *"não há falta de informação que possa ser remediada por qualquer artifício matemático"* (Kirsch, 1996).

Pode-se, portanto, definir um problema bem-posto da seguinte forma:

"*Sejam X e Y espaços normados, em que $K : X \to Y$ representa um mapeamento (linear ou não-linear). A equação $Kx = y$ é considerada bem-posta se as seguintes condições forem satisfeitas:*

1. *Existência - para todo $y \in Y$ há (pelo menos) um $x \in X$, de tal forma que $Kx = y$;*
2. *Unicidade - para todo $y \in Y$* há somente um *$x \in X$, de tal forma que $Kx = y$;*
3. *Estabilidade - a solução x depende continuamente de y, isto é, para toda seqüência $(x_n) \subset X$ com $Kx_n \to Kx\,(n \to \infty) \Rightarrow x_n \to x\,(n \to \infty)$.*

As situações que não atendam a estas condições são consideradas mal-condicionadas, e em alguns casos mal-postas.

Os atributos de *existência* e *unicidade* dependem somente da natureza algébrica dos espaços e do operador utilizado. No entanto, a estabilidade também depende da topologia dos espaços, isto é, saber se o operador inverso $K^{-1} : Y \to X$ é contínuo. Tais requisitos não são independentes entre si.

O processo de degradação de uma imagem durante a aquisição com um microscópio de força atômica, na qual ocorre a interação de uma ponteira com a amostra, pode ser modelado através da seguinte expressão geral

$$y = B * x + \eta \tag{5.1}$$

considerando que $\Im$ e ψ sejam espaços de Hilbert, onde B representa um operador linear limitado (função de borramento) descrito por uma matriz $(B : \Im \to \psi)$, o vetor $x \in \Im$ equivale à solução esperada (intensidades da imagem esperada), $y \in \psi$ aos dados experimentais, e o termo η ao ruído aditivo, geralmente do tipo gaussiano.

Considerando apenas o primeiro termo do lado direito da igualdade, a imagem (sem ruído aditivo) poderia ser descrita por uma equação integral de Fredholm do 1° tipo (Kress, 1989; Press et al., 1996):

$$f(u) = \int_a^b B(u, v)\,\varphi(v)\,dv \tag{5.2}$$

continuamente integrável, em que $u \in [a,b]$; a função $B(u,v)$ representaria um operador compacto responsável pela modificação dos dados originais através de uma convolução espacial (borramento), enquanto que $\varphi(v)$ equivaleria à solução esperada. A garantia de existência e unicidade da solução só ocorrerá se existir um operador inverso capaz de mapear y em x $\left(B^{-1} : \psi \rightarrow \Im\right)$.

Conforme visto anteriormente, este problema seria considerado bem-posto se, para cada $y \in \psi$, a solução existisse e fosse única, dependendo continuamente dos dados experimentais; do contrário, seria mal-condicionado, ou mal-posto (Karayiannis e Venetsanopoulos, 1989), não havendo solução aparente se, por exemplo, o operador B fosse uma matriz do tipo quadrada, em que: $detB = 0$. Sendo assim, a restauração de uma imagem empregando, simplesmente, a inversa da função de degradação B (determinada *a priori*), desprezando-se o termo aditivo, definiria

$$x = B^{-1}y \tag{5.3}$$

resultando em um problema considerado mal condicionado por Franklin (1970) e Tikhonov e Arsenin (1977), já que os autovalores da função B poderiam acumular em zero. Isto significa que uma pequena perturbação nos dados experimentais refletiria em uma grande perturbação na solução (Kang e Katsaggelos, 1995).

Pode-se tentar a determinação da solução através do método dos mínimos quadrados, onde busca-se minimizar

$$L(x) = \|y - Bx\|^2 \tag{5.4}$$

considerando B fixo, mas também neste caso são usualmente observadas dificuldades associadas ao mal condicionamento do problema. Por outro lado, supondo que o operador B também pudesse estar sujeito a variações, como se, implicitamente, os dados incorporassem tais perturbações, Tikhonov e Arsenin (1977) classificaram o problema descrito pela Eq. (5.1) como mal-condicionado, analisando o efeito da perturbação de B em seu *rank*. Na prática, as perturbações associadas ao operador B podem estar relacionadas aos erros numéricos provenientes do processo computacional iterativo para a determinação da solução (Cidade et al., 1998a; Karayiannis e Venetsanopoulos, 1989).

Sendo assim, uma maneira de transformar um problema mal-condicionado em outro bem-posto seria o emprego da *teoria de regularização* (Kirsch, 1996; Press et al., 1996; Silva Neto e Moura Neto, 1999).

Neste capítulo é abordado o emprego do método de regularização de Tikhonov para a restauração de imagens biológicas obtidas da técnica de AFM e de imagens de interesse da engenharia obtidas com STM, utilizando uma expressão proveniente do argumento Bayesiano de probabilidade condicionada (Burton et al., 1990, Cidade et al., 1998a,b; Kokaram et al., 1995), definindo uma solução praticável (idealmente única) através do emprego conjunto do método dos mínimos quadrados, e de um termo de regularização agindo sobre o ruído aditivo. Propõe-se, também, a utilização de um funcional geral de regularização, construído a partir de um funcional denominado *q-discrepância* (Carita Montero et al., 1999, 2001, 2003; Cidade et al., 1999a,b, 2000a,c,f), a partir do qual uma família de normas poderá ser definida, tendo como casos particulares, p.ex., entropia e mínima energia.

É também proposta uma estratégia de realimentação para a obtenção de uma solução próxima à ótima evitando assim a realização de uma busca exaustiva com a variação dos parâmetros presentes no modelo matemático. Esta abordagem foi proposta por Silva Neto e Roberty em outro contexto, permitindo a solução de problemas inversos em transferência radiativa (Kauati et al., 2001) com uma formulação explícita (Silva Neto, 2002).

5.2 O Teorema de Bayes Aplicado à Restauração de Imagens

O Método Bayesiano utiliza-se do conceito de probabilidade condicionada para testar uma hipótese H, baseada em uma informação *a priori*

$$p\left(H\left|D,\ M\right.\right)=\frac{p\left(D\left|H,\ \sigma_{\eta}\right.\right).p\left(H\left|M\right.\right)}{p\left(D,M\right)} \tag{5.5}$$

em que $p\left(H\left|D,\ M\right.\right)$ equivale à probabilidade a posteriori da hipótese H, baseada nos dados experimentais (D) e no modelo adotado (M); $p\left(H\left|D,\ \sigma_{\eta}\right.\right)$ corresponde à probabilidade de obtenção dos dados a partir de H, dada a variabilidade do ruído aditivo (σ_{η}); $p\left(H\left|M\right.\right)$ refere-se à probabilidade *a priori* de H fornecido o modelo M, e $p\left(D\left|M\right.\right)$ à probabilidade dos dados com base somente no modelo.

Em restauração de imagens, a formulação estatística de Bayes define H como a estimativa dos dados originais, $\hat{x}$, a partir dos dados experimentais, y, dada a intensidade do ruído aditivo presente. Sendo assim:

$$p\left(D/\hat{x},\sigma_{n}\right)=exp\left[-\left\|y\left(i,j\right)-\sum_{k}\sum_{l}b\left(k,l\right)\hat{x}\left(i+k,j+l\right)\right\|^{2}/2\sigma_{\eta}^{2}\right] \tag{5.6}$$

$$p\left(\hat{x}/M\right)=exp\left[-S\right] \tag{5.7}$$

representam probabilidades gaussianas, em que y refere-se ao dado da imagem adquirida na posição (i,j), $b\left(k,l\right)$ a uma matriz de borramento, $\hat{x}$ ao valor estimado e σ_{η}^{2} à variância do ruído aditivo presente nos dados experimentais; e S poderá representar uma norma do tipo entropia (Shannon, 1948), mínima energia (Kress, 1989), ou uma forma generalizada destas (Cidade et al., 2000a,c,f). Assumindo que o modelo é fixo, o termo $p\left(D|M\right)$ pode ser considerado constante, dado que não depende dos valores estimados.

Substituindo os termos das Eqs (5.6) e (5.7) na Eq (5.5), define-se o funcional

$$Q\left(\hat{x}\right)=\left\|y\left(i,j\right)-\sum_{k}\sum_{l}b\left(k,l\right)\hat{x}\left(i+k,j+l\right)\right\|^{2}+\alpha S\quad\left(\alpha>0\right) \tag{5.8}$$

em que α corresponde ao parâmetro de regularização, cujo valor está diretamente relacionado à variabilidade do ruído aditivo (Silva Neto e Moura Neto, 1999), os

índices i e j representam as posições dos elementos da imagem (pixels) em formato cartesiano (*linha, coluna*). O funcional Q deverá ser minimizado ($p\,(Q) = 1$) sendo então escrita a equação do ponto crítico (Silva Neto e Moura Neto, 1999)

$$\frac{\partial Q\,(\hat{x})}{\partial \hat{x}} = 0 \tag{5.9}$$

para que se possa determinar uma única solução, dada a convexidade do funcional descrito pela Eq (5.8). Este ponto será abordado em maior detalhe na seção 5.7.

Pode-se desconsiderar o termo do denominador da Eq (5.5), cujas características exatas são de difícil determinação; esta decisão está amparada na premissa de não considerar o que não se conhece sobre o sinal para que não se introduza nenhuma estrutura espúria na solução esperada (Kapur e Kesavan, 1992). Ressalta-se que α é o parâmetro de regularização, que está diretamente relacionado com a variância do ruído aditivo agregado aos dados experimentais.

5.3 Características do Modelo de Interação *Tip*-Amostra

Dada a dificuldade de se obter uma representação exata do modelo de interação entre o *tip* e a amostra, Kokaram et al. (1995) sugerem o emprego de uma distribuição gaussiana; Dongmo et al. (1996) e Weisman et al. (1992) utilizam como modelo um parabolóide de revolução. Portanto, a matriz quadrada $b(k, l)$ da Eq (5.8) representa numericamente o modelo de interação adotado. A Fig 5.1 ilustra a representação matricial do perfil de interação gaussiana assumido para o *tip* (para diferentes razões de aspecto) em relação a um ponto P qualquer sobre amostra, como uma projeção normalizada das forças envolvidas sobre um plano (grade reticulada).

Argento e French (1996) propõem o desenvolvimento de um método de integração das forças de interação entre os volumes do *tip* e da amostra, para se obter a correta formulação da relação força-distância.

Outros autores (Jarausch et al., 1996; Markiewicz e Goh, 1995a,b) descrevem formas de se determinar a geometria do *tip*, simulando o efeito da interação entre este e a amostra; segundo Jarausch et al. (1996), a habilidade do AFM em produzir imagens de boa qualidade depende de como a geometria do *tip* interage com a geometria da superfície, guardadas suas devidas proporções.

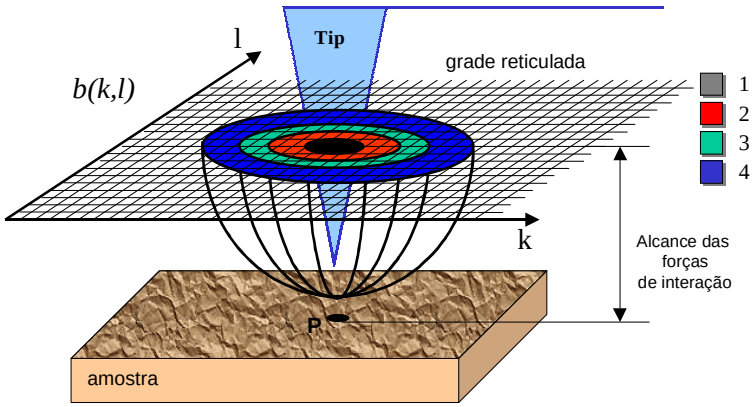


Figura 5.1: Montagem da matriz de borramento $b(k,l)$, com formato de parabolóide de revolução, a partir da projeção normalizada das forças de interação sobre uma grade reticulada, para diferentes razões de aspecto do *tip* (1, 2, 3 e 4). O *tip* mostrado na figura está associado à razão de aspecto 1.

5.4 O Termo Geral de Regularização

Segundo Reeves e Mersereau (1990), a finalidade da restauração de uma imagem consiste na remoção das degradações sofridas ao longo do processo de aquisição, de tal maneira que se seja capaz de restabelecer (da forma mais eficiente possível) o formato de seu conteúdo original.

Além das degradações impostas pelas limitações da instrumentação, qualquer imagem de AFM exibirá traços de ruído aditivo, bem como erros de medida e/ou quantização. Considera-se, portanto, não haver correlação entre o ruído aditivo e os fenômenos de degradação (como, p.ex., a convolução entre o tip e a amostra), conforme definido na Eq (5.1).

O termo de regularização (αS) definido na Eq (5.8) representa o tratamento dado à parcela ruidosa da imagem, em que o parâmetro α estabelece então um compromisso entre a acurácia e a estabilidade na minimização do funcional Q durante o processo de obtenção da solução esperada (imagem ideal). Diferentes funcionais de regularização (S) podem ser empregados na busca de estabilidade do processo de restauração (Csiszár, 1991; Zervakis et al., 1995), e unicidade da solução, sendo os mais utilizados:

1. Mínima energia:

$$S = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left(\hat{x}(i,j) - \bar{x}(i,j)\right)^2 \tag{5.10}$$

2. Entropia-cruzada:

$$S = -\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[\hat{x}(i,j) - \bar{x}(i,j) - \hat{x}(i,j)\ln\frac{\hat{x}(i,j)}{\bar{x}(i,j)}\right] \tag{5.11}$$

em que $\hat{x}(i,j)$ representa o valor esperado da solução e $\bar{x}(i,j)$ um valor de referência determinado *a priori*, podendo ser a própria imagem borrada, ou uma com valor constante (cinza), ponderada na entropia ou na energia, para uma imagem composta por $M \times M$ pixels. A minimização do funcional descrito pela Eq (5.8) também está associada à minimização da Eq (5.10), ou à maximização da Eq (5.11) (máxima entropia configuracional).

Usando distâncias de Bregman (1967) $D_q(\hat{x},\bar{x})$ construídas a partir da medida de Csiszár (Kapur e Kesavan, 1992), aqui denominada funcional *q-discrepância*,

$$\eta_q = \frac{1}{1+q}\sum_p \hat{x}_p \frac{(\hat{x}_p)^q - m^q}{q} \tag{5.12}$$

onde m representa uma medida, e q é um número real, variável, sendo tomado $q > 0$, com o qual pode-se definir um funcional geral de regularização (Carita Montero et al., 1999, 2001; Cidade et al., 1999a,b, 2000a-f) da forma

$$S = D_q(\hat{x},\bar{x}) = \frac{1}{1+q}\sum_{p=1}^{M\times M}\left\{\hat{x}_p\left[\frac{(\hat{x}_p)^q - (\bar{x}_p)^q}{q}\right] - (\bar{x}_p)^q\left(\hat{x}_p - \bar{x}_p\right)\right\} \tag{5.13}$$

Os detalhes relativos à obtenção da Eq.(5.13) a partir das distâncias de Bregman e do funcional *q-discrepância*, Eq. (5.12), são apresentados no Anexo A.2.

Fazendo $q = 1$ e $q \to 0$ na Eq. (5.13) obtém-se respectivamente, as Eqs. (5.10) e (5.11). Para outros valores de q outras normas são obtidas.

5.5 Regularização de Tikhonov

A regularização de Tikhonov define a atuação de um operador linear limitado B entre dois espaços de Hilbert ($\Im$ e ψ), com a inclusão de um parâmetro de regularização (α), para estabelecer um compromisso ótimo entre a nitidez e a suavização do ruído contido na imagem, em que, para cada $y \in \psi$, deverá existir um único $x \in \Im$, de tal maneira que, minimizando o funcional $Q\left(\inf_{x\epsilon\Im}(Q)\right)$, a igualdade

$$\|y - B * \hat{x}_\alpha\|^2 + \alpha\|\hat{x}_\alpha\|^2 = \inf_{x\epsilon\Im}\left\{\|y - B * x\|^2 + \alpha\|x\|^2\right\} \tag{5.14}$$

seja satisfeita; $\hat{x}_\alpha$ (que depende continuamente de y) representa a solução única da equação

$$\alpha\hat{x}_\alpha + B * B\hat{x}_\alpha = B * y \tag{5.15}$$

(Kress, 1989).

Com o termo geral de regularização descrito na seção anterior, procura-se, portanto, minimizar o funcional

$$Q\left(x_\alpha\right) = \left\|y - B * x_\alpha\right\|^2 + \alpha S \tag{5.16}$$

em que o parâmetro α representa o compromisso ótimo entre a *exatidão* e a *estabilidade* da solução. O termo de regularização αS deverá ser especificado, através da escolha adequada dos parâmetros α e q, levando em consideração as características da imagem, principalmente em função de sua relação sinal-ruído.

5.6 Formulação Matemática do Problema

As imagens de AFM são após sua aquisição discretizadas em $M \times M$ elementos de imagem (pixels), representados pelo par (i, j) com $i, j = 1, 2, ..., M$, cada qual exibindo uma tonalidade específica ao longo de uma escala de cinza com 256 gradações, proporcional ao relevo da amostra. Sendo assim, uma imagem real representará, através destes elementos, o aspecto topográfico da amostra (mapeamento das forças de interação).

Como uma imagem real é composta, ponto a ponto, pela convolução entre o *tip* e a superfície da amostra, define-se:

$$y(i,j) = \sum_{k=-N}^{N} \sum_{l=-N}^{N} b(k,l)\hat{x}(i+k, j+l), \quad i,j = 1,2,...,M \tag{5.17}$$

em que $y(i, j)$ equivale ao dado experimental, i.e. intensidade na escala de cinza, na posição (i, j), e N delimita o alcance de atuação do operador de borramento aqui representado em uma forma discretizada por uma matriz quadrada $N \times N$. A Eq (5.17) está relacionada à Eq (5.2), para o problema discreto, onde $b(k, l)$ pode ser qualquer função em duas dimensões: gaussiana, parabólica, com direção preferencial, ou uma combinação destas (Silva Neto e Moura Neto 1999); $\hat{x}(i + k, j + l)$, por sua vez, corresponde às intensidades dos termos da vizinhança de (i, j), conforme a dimensão da matriz $b(k, l)$, para a composição de $y(i, j)$ (média ponderada de uma vizinhança local).

Para a determinação de uma estimativa $\hat{x}$ para as intensidades da solução (imagem esperada) emprega-se então o funcional de Tikhonov descrito pela Eq (5.8). A suavização dos efeitos do ruído aditivo ficam a cargo do parâmetro de regularização α, e conforme já mencionado anteriormente, estabelecendo um compromisso ótimo entre a acurácia e a estabilidade da solução. Considerando, por exemplo, o funcional de entropia-cruzada (Eq. (5.11)) como *prior* na construção de $Q\left(\hat{x}\right)$,

resulta que o funcional

$$Q(\hat{x}) = \sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[y(i,j) - \sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l)\,.\hat{x}(i+k,j+l)\right]^2 - \alpha\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[\hat{x} - \bar{x} - \hat{x}ln\frac{\hat{x}}{\bar{x}}\right] \tag{5.18}$$

deverá ser minimizado, onde $\bar{x}$ corresponde a um valor de referência, empregado como *prior* na obtenção da condição de máxima entropia configuracional (solução única).

5.7 O Algoritmo de Restauração - Minimização do Funcional Q

A restauração de imagens de AFM é aqui feita empregando a regularização de Tikhonov, buscando-se então a minimização do funcional dado pela Eq. (5.8), com o termo de regularização geral dado pela Eq. (5.13), que no caso particular em que $q \to 0$ leva ao funcional apresentado na Eq. (5.18). Skilling e Bryan (1984) afirmam que a natureza de não-linearidade de um problema desta natureza sugere o emprego de um algoritmo iterativo.

A minimização do funcional convexo descrito pela Eq (5.8) para um determinado par (α, q) leva à obtenção de uma solução única. Escrevendo a equação do ponto crítico

$$\overrightarrow{F}(\hat{x}) = \frac{\partial Q(\hat{x})}{\partial \hat{x}} = 0 \tag{5.19}$$

obtém-se um sistema de equações não-lineares

$$\overrightarrow{F}(\hat{x}) = 0 \tag{5.20}$$

ou então,

$$\begin{cases} F_1(\hat{x}_1, \hat{x}_2, \hat{x}_3, ..., \hat{x}_{N_t}) = 0 \\ F_2(\hat{x}_1, \hat{x}_2, \hat{x}_3, ..., \hat{x}_{N_t}) = 0 \\ F_3(\hat{x}_1, \hat{x}_2, \hat{x}_3, ..., \hat{x}_{N_t}) = 0 \\ ..... \\ F_{N_t}(\hat{x}_1, \hat{x}_2, \hat{x}_3, ..., \hat{x}_{N_t}) = 0 \end{cases} \tag{5.21}$$

onde $N_t = M \times M$ representa o número total de pixels que compõem a imagem. Para a solução do sistema de equações não-lineares (5.20) é empregado o método de Newton-Raphson multivariável (Lim, 1990; Press et al, 1996). Constrói-se então um procedimento iterativo onde novas estimativas $\overrightarrow{\hat{x}}^{t+1}$ são obtidas fazendo correções $\triangle\overrightarrow{\hat{x}}^{t}$ nas estimativas disponíveis na iteração anterior $\overrightarrow{\hat{x}}^{t}$, partindo-se de uma estimativa inicial $\overrightarrow{\hat{x}}^{0}$, i. e.

$$\overrightarrow{\hat{x}}^{t+1} = \overrightarrow{\hat{x}}^{t} + \triangle\overrightarrow{\hat{x}}^{t}, \qquad t = 0, 1, 2... \tag{5.22}$$

buscando-se obter

$$\overrightarrow{F}\left(\overrightarrow{\hat{x}}^{t+1}\right) = 0 \tag{5.23}$$

onde t é um contador de iterações, e $N_t = M \times M = 65536$ para uma imagem formada por 256×256 pixels.

As correções $\triangle\overrightarrow{\hat{x}}^{t}$ são obtidas a partir da linearização da Eq. (5.23). Empregando uma expansão de Taylor e retendo apenas os termos até a primeira ordem resulta

$$\begin{aligned} F_{rs}\left(\overrightarrow{\hat{x}}^{t+1}\right) &= F_{rs}\left(\overrightarrow{\hat{x}}^{t} + \triangle\overrightarrow{\hat{x}}^{t}\right) \\ &= F_{rs}\left(\overrightarrow{\hat{x}}^{t}\right) + \sum_{n=1}^{M}\sum^{M} \frac{\partial F_{rs}}{\partial \hat{x}_{mn}}\Big|_{\overrightarrow{\hat{x}}^{t}} . \triangle\hat{x}^{t}_{mn} = 0 \end{aligned} \tag{5.24}$$

no plano rs (associado à primeira derivada do funcional Q), com $r, s = 1, 2, ..., M$, e mn (associado à segunda derivada do funcional Q), com $m, n = 1, 2, ..., M$.

Devido à dominância da diagonal principal, resultante do operador de borramento gaussiano aqui empregado, o método iterativo de Gauss-Seidel (Press et al, 1996; Silva Neto e Moura Neto, 1999; Wu, 1997) mostrou-se apropriado para a solução do sistema de equações algébricas lineares (5.24), devido ao seu caráter de correção sucessiva (Kreyszig, 1972). A partir da Eq (5.24) escreve-se então

$$\begin{aligned} \triangle\hat{x}_{rs}\Big|^{t,c+1} = \; & -\frac{1}{\left(\frac{\partial F_{rs}}{\partial \hat{x}_{mn}}\right)\Big|^{t,c}_{m=r,n=s}} \times \\ & \times \left\{ F_{rs}\Big|_{\overrightarrow{\hat{x}}^{t,c}} + \sum_{\substack{m=1 \\ m\neq r}}^{M} \sum_{\substack{n=1 \\ n\neq s}}^{M} \frac{\partial F_{rs}}{\partial x_{mn}}\Big|_{\overrightarrow{\hat{x}}^{t,c}} . \triangle\hat{x}^{t,c}_{mn} \right\} \end{aligned} \tag{5.25}$$

onde $r = 1, 2, ..., M$, $s = 1, 2, ..., M$, e c é o contador de iterações para o método iterativo de Gauss-Seidel, com o qual são obtidas as correções $\triangle\overrightarrow{\hat{x}}^{t,c}$, partindo-se da estimativa inicial $\triangle\overrightarrow{\hat{x}}^{t,0} = 0$. Os termos contidos no somatório duplo da Eq (5.25), para $m \neq r$ e $n \neq s$, refletem a influência de uma vizinhança local em torno da diagonal principal ($m = r$ e $n = s$) no plano da segunda derivada do funcional Q (plano mn), influenciando significativamente a acurácia da solução.

Para atribuir melhor estabilidade ao algoritmo de restauração com o método de Newton-Raphson multivariavel, em direção à solução esperada, o emprego de um fator de atenuação γ sobre os incrementos obtidos

$$\overrightarrow{\hat{x}}^{t+1} = \overrightarrow{\hat{x}}^{t} + \gamma\triangle\overrightarrow{\hat{x}}^{t,c\star} \tag{5.26}$$

onde $\triangle\overrightarrow{\hat{x}}^{t,c\star}$ é a solução do sistema (5.24), é usualmente bastante eficiente.

A determinação dos termos $F_{rs} = \frac{\partial Q}{\partial \hat{x}_{rs}}$ e $F_{mn} = \frac{\partial F_{rs}}{\partial \hat{x}_{mn}}$, relativos ao funcional geral de regularização (construído a partir da *q-discrepância*), é apresentada no Anexo A.3.

A Fig 5.2 ilustra o fluxograma do algoritmo de restauração, empregando como critério de parada do procedimento iterativo o menor valor atingido pelo funcional

Q (dado seu caráter de convexidade), restrito a um limiar de 5%, ou ao número máximo de iterações escolhido a *priori*.

Para as funções de borramento em que a convergência não esteja garantida com o método de Gauss-Seidel (quando não se verifica dominância da diagonal principal), pode-se empregar outros métodos, como o de ação por linha (Censor e Lent, 1981), que é incondicionalmente convergente. A convergência não é tão rápida, mas é compensada pela robustez do algoritmo.

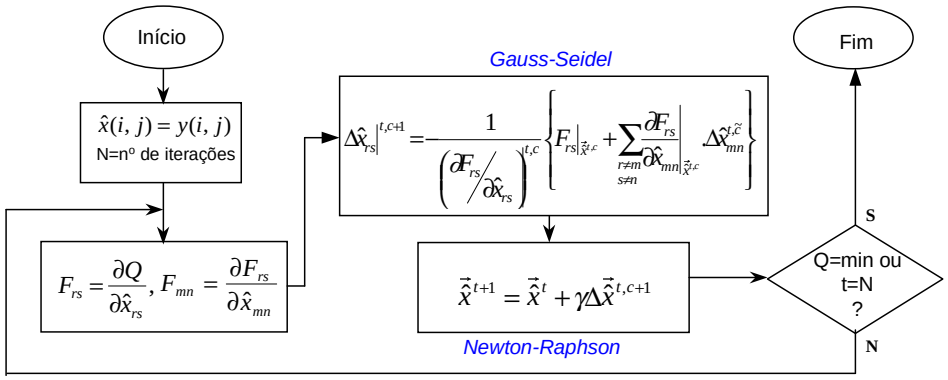


Figura 5.2: Fluxograma do algoritmo de restauração.

5.8 Avaliação e Utilização do Algoritmo de Restauração

A metodologia de restauração empregando o procedimento descrito na seção anterior foi avaliada a partir de modificações impostas em uma imagem padrão $p(i,j)$ (Fig 5.3a), com o objetivo de simular os efeitos degenerativos produzidos durante a aquisição das imagens biológicas de AFM, que compreendem: i) a convolução (borramento) entre a ponteira de medição (*tip*) e a amostra biológica e ii) o ruído aditivo presente. Para simular os efeitos do borramento sobre a imagem padrão utilizou-se uma função de espalhamento (*Point Spread Function* - PSF) representada por uma matriz gaussiana normalizada, com variância $\left(\sigma^2\right)$ ajustável. O ruído aditivo foi obtido de um gerador numérico pseudo-aleatório, de tal forma que a quantidade $\Gamma(i,j)$ adicionada à intensidade de cada píxel da imagem, $g(i,j)$, com $i,j = 1,2,...,M$, fosse determinada a partir da relação sinal-ruído (*Signal to Noise Ratio* - SNR) desejada, expressa em decibéis (dB) (Gonzales e Wintz, 1987)

$$(SNR)_{dB} = 10\log\left(\frac{\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[g(i,j)+\Gamma(i,j)\right]^2}{\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[k\bar{\Gamma}(i,j)\right]^2}\right) \tag{5.27}$$

onde $g(i,j)$ corresponde à intensidade nos pontos da imagem borrada com coordenadas (i,j), e k equivale ao fator de correção imposto sobre uma distribuição gaussiana normalizada $\left(\bar{\Gamma}\right)$; o fator k determina a intensidade do ruído que se deve adicionar à intensidade de cada píxel $g\left(i,j\right)$ (podendo ser uma quantidade positiva ou negativa), para um dado valor de $\left(SNR\right)_{dB}$.

Para todos os efeitos, considera-se que o ruído é sempre adicionado aos dados de uma imagem borrada (Eq (5.1)), assumindo não existir correlação entre o borramento e o ruído aleatório. Entende-se por imagem modificada toda aquela que apresenta traços de borramento, contendo, ou não, ruído aditivo.

Para medir a distância entre os dados da imagem padrão, $p\left(i,j\right)$, e o resultado da restauração, $\hat{x}\left(i,j\right)$, empregou-se o erro médio quadrático (*Mean Square Error* - MSE) (Weisman et al., 1992)

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^{M}\sum_{i=1}^{M}\left[\hat{x}\left(i,j\right) - p\left(i,j\right)\right]^2}{N_t} \tag{5.28}$$

para imagens com dimensão $N_t = M \times M$ pixels. As curvas de erro mostradas na próxima seção foram normalizadas em relação ao MSE da imagem modificada (com ou sem ruído aditivo), gerando desvios relativos ($\%MSE$).

O critério adotado para determinar a imagem restaurada mais provável dentro do espaço de soluções, baseia-se: i) no menor valor do funcional Q - como o funcional é de natureza convexa, existirá somente um valor mínimo associado, ou ii) no número máximo de iterações; o que ocorrer primeiro (Fig 5.2). O primeiro critério estabelece que, após ter sido atingido o ponto de mínimo, o processamento deverá ser interrompido quando o valor de Q for ultrapassado em 5%.

Os resultados da simulação foram comparados com outros obtidos a partir de uma variação da Transformada Rápida de Fourier (FFT) para duas dimensões (*Fast Hartley Transform* - FHT), a partir dos quais discute-se a validação do método de regularização de Tikhonov para a restauração de imagens de AFM, em meio a diferentes valores de *SNR*.

Para a avaliação do algoritmo de restauração, utilizou-se uma imagem padrão (Fig 5.3a) modificada por uma matriz de borramento (PSF) gaussiana de dimensão 5×5, e com variância $\sigma^2 = 20$, que representa o perfil das forças de interação entre o *tip* e a amostra em imagens de AFM (Fig 5.3b), apresentando SNR de $20dB$ e $40dB$ (Figs 5.3c,d). Sob cada imagem da Fig 5.3 encontra-se o perfil que representa a variação de amplitude expressa em tonalidades de cinza (entre 0 e 255) ao longo de uma linha da imagem (escolhida a de número 200), revelando diferenças importantes, que a simples inspeção visual não seria capaz de detetar (como o que ocorre entre as Figs 5.3b e d).

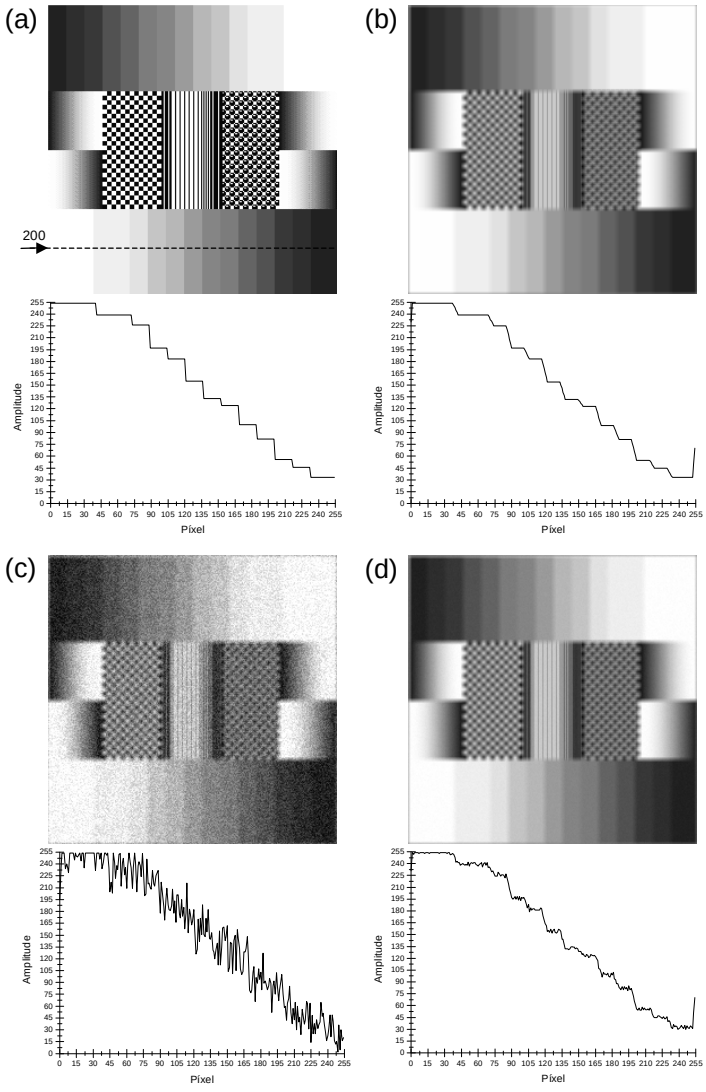


Figura 5.3: Perfis de amplitude traçados ao longo da linha de número 200, referentes à: (a) imagem padrão, (b) imagem padrão modificada por uma PSF gaussiana de 5×5 com variância $\sigma^2 = 20$, e após ter sido acrescentado ruído aditivo, gerando imagens modificadas apresentando (c) SNR=20dB e (d) SNR=40dB.

5.8.1 Restauração de Imagens Ruidosas - Funcional *q*-discrepância

Adicionou-se ruído gaussiano à imagem borrada, Fig. 5.3b, em proporções distintas ($SNR = 20dB$, Fig. 5.3c, e $SNR = 40dB$, Fig. 5.3d,), para analisar a eficiência da restauração com dados ruidosos utilizando-se o funcional geral de regularização construído com a distância de Bregman baseada no funcional *q-discrepância.* Assumiu-se não haver correlação entre os dados convoluídos e o ruído aditivo. Adotou-se como modelo de regularização (*prior*), ou valor de referência $\vec{x}$, uma função constante (cinza), correspondente à média ponderada dos pixels da imagem modificada, de tal maneira que, ao longo do processo iterativo, todos os pixels tendessem a assumir o mesmo valor (ruído uniformemente distribuído) em direção à máxima entropia configuracional da imagem esperada. Portanto, todas as discrepâncias geradas pelo ruído aditivo sobre os dados convergiriam em direção ao modelo escolhido, conferindo maior estabilidade à solução.

A Fig 5.4a ilustra o comportamento do MSE relativo (% MSE) para *SNR=20dB* (Fig 5.3c), empregando $q \to 0$ (entropia-cruzada), q=1 (mínima energia) e q=2. Devido ao baixo valor de *SNR*, o funcional de entropia produziu resultados bastante satisfatórios até, aproximadamente, $\alpha = 0,04$, em relação àqueles obtidos para $q = 1$ e $q = 2$; acima deste valor, o funcional correspondente a $q = 1$ gerou os menores desvios (maiores correlações), devido, provavelmente, ao ganho de contraste produzido. Por outro lado, $q = 2$ produziu as menores correlações, já que, além do contraste, também poderia atuar sobre o ruído aditivo, acentuando as discrepâncias presentes na imagem modificada.

A Fig 5.4b ilustra o comportamento da restauração para $q \to 0$, $q = 1$ e $q = 2$, considerando uma imagem modificada exibindo o dobro da relação sinal-ruído ($SNR = 40d$B) (Fig 5.3d). Neste caso, $q \to 0$ produziu resultados pouco satisfatórios em relação ao que fora obtido para $SNR = 20dB$. Pôde-se observar, que os funcionais para $q = 1$ e $q = 2$ resultaram nos menores erros para pequenos valores de α; provavelmente q=2 exerceu maior atuação sobre o contraste da imagem modificada para $\alpha = 0,02$ ($\%MSE = 36,46\%$), em relação a $q \to 0$ ($\%MSE = 50,58\%$) e $q = 1$ ($39,65\%$).

A Fig 5.4c ilustra os resultados obtidos a partir do uso da FFT (e sua inversa), para diferentes freqüências espaciais de corte, em uma configuração passa-baixa. A curva de erro obtida para a imagem apresentando $SNR = 40dB$ atingiu valores ligeiramente superiores àqueles obtidos para $SNR = 20dB$. Nos dois casos, o MSE calculado para as imagens filtradas superou o MSE da imagem modificada (utilizado para normalizar a curva), devido ao caráter restritivo imposto pela FFT, atenuando indistintamente as freqüências que caracterizavam tanto o contraste quanto o ruído aditivo presente.

Verificando os valores de α que produziram resultados satisfatórios para $SNR = 20dB$ ($\alpha = 0,04$) e $SNR = 40dB$ ($\alpha = 0,02$), pôde-se observar a importância do valor do parâmetro de regularização sobre a eficiência da restauração, dependendo da qualidade da imagem modificada.

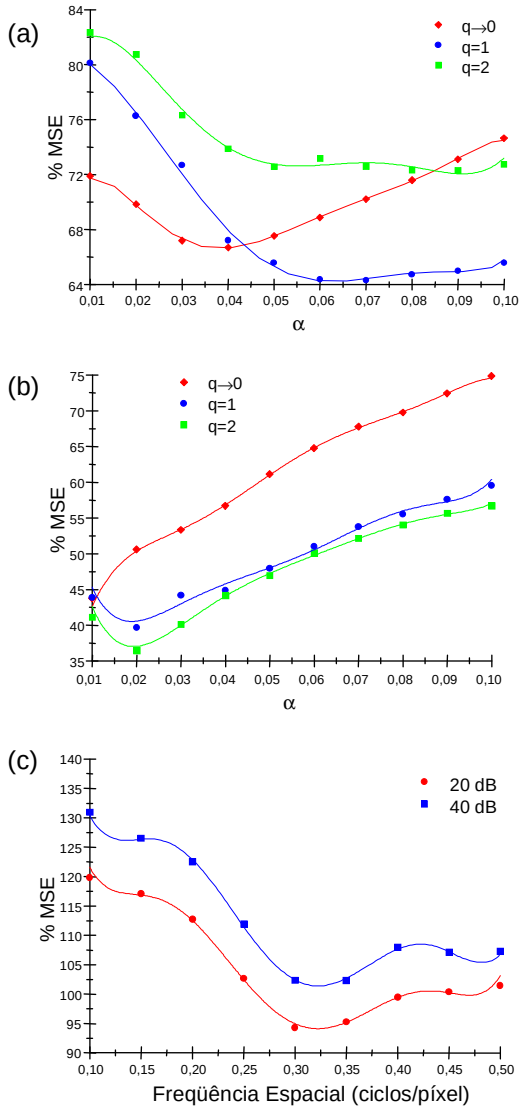


Figura 5.4: Comportamento do MSE relativo (% MSE) em função do parâmetro de regularização α, para diferentes funcionais de regularização ($q \to 0$, $q = 1$ e $q = 2$) sobre imagens modificadas apresentando (a) $SNR = 20dB$ e (b) $SNR = 40dB$. Em (c) é apresentada a variação do %MSE em função da freqüência espacial de corte com o uso da FFT, em uma configuração passa-baixa.

Após ter sido processada com $\alpha = 0,04$, $\gamma = 0,1$ (vide Eq. 5.26) e $q \to 0$, a imagem modificada apresentando $SNR = 20dB$ (Fig 5.5b) passou a apresentar $\%MSE = 66,70\%$, exibindo contornos mais nítidos (maior contraste) (Fig 5.5c). Para $SNR = 40dB$ (Fig 5.5d), considerando $\alpha = 0,02$, $\gamma = 0,1$ e $q \to 0$ (Fig 5.5e), o erro calculado mostrou-se inferior ($\%MSE = 50,58\%$) ao do caso anterior, o que já era esperado. Além disso, com $\alpha = 0,02$ e $q = 2$ obtém-se $\%MSE = 36,46\%$. Estes resultados mostram que imagens pouco ruidosas requerem pouca regularização. Deve-se, portanto, determinar para que valores de q e α consegue-se definir o melhor compromisso entre o melhor contraste e a maior suavização do ruído presente, para SNRs distintas.

Os menores valores de %MSE obtidos a partir da FFT (Fig 5.4c) para $SNR = 20dB$ $(94,29\%)$ e $SNR = 40dB$ $(102,37\%)$, obtidos para uma freqüência espacial de corte (f_c) de 0,3 ciclos/píxel (c/p), mostraram-se muito superiores aos maiores valores calculados para $q \to 0$, $q = 1$ e $q = 2$ (Tabela 5.1), sugerindo ser o método de regularização mais indicado para o tratamento diferenciado do contraste e do ruído aditivo de uma imagem desta natureza. Para uma análise mais detalhada, foram determinados os espectros de amplitude das imagens tratadas a partir de diferentes funcionais de regularização e pela FFT, sendo então confirmados os resultados aqui apresentados.

Tabela 5.1: Erros (%MSE) calculados a partir do método de regularização e da FFT.

SNR (dB)	q			**FFT** ($f_c = 0,3c/p$)
	0	1	2	
20	66,70% (α=0,04)	67,20% (α=0,04)	73,90% (α=0,04)	94,29%
40	50,58% (α=0,02)	39,65% (α=0,02)	36,46% (α=0,02)	102,37%

5.8.2 Restauração de Imagens Biológicas de AFM

O método de regularização de Tikhonov aplicado à restauração de imagens biológicas de AFM define uma estratégia matemática eficiente, que busca a determinação de uma solução provável, em meio a outras similares, que melhor represente a morfologia das estruturas originais da amostra. É importante ressaltar que, em hipótese alguma, este método pretende superar a eficiência de outros que se queira empregar em imagens deste tipo. Apenas ressalta-se que ele está de acordo com a natureza dos dados adquiridos (imagens não-estacionárias), ficando a critério do especialista especificar corretamente os parâmetros de regularização, para que o resultado da restauração torne-se satisfatório.

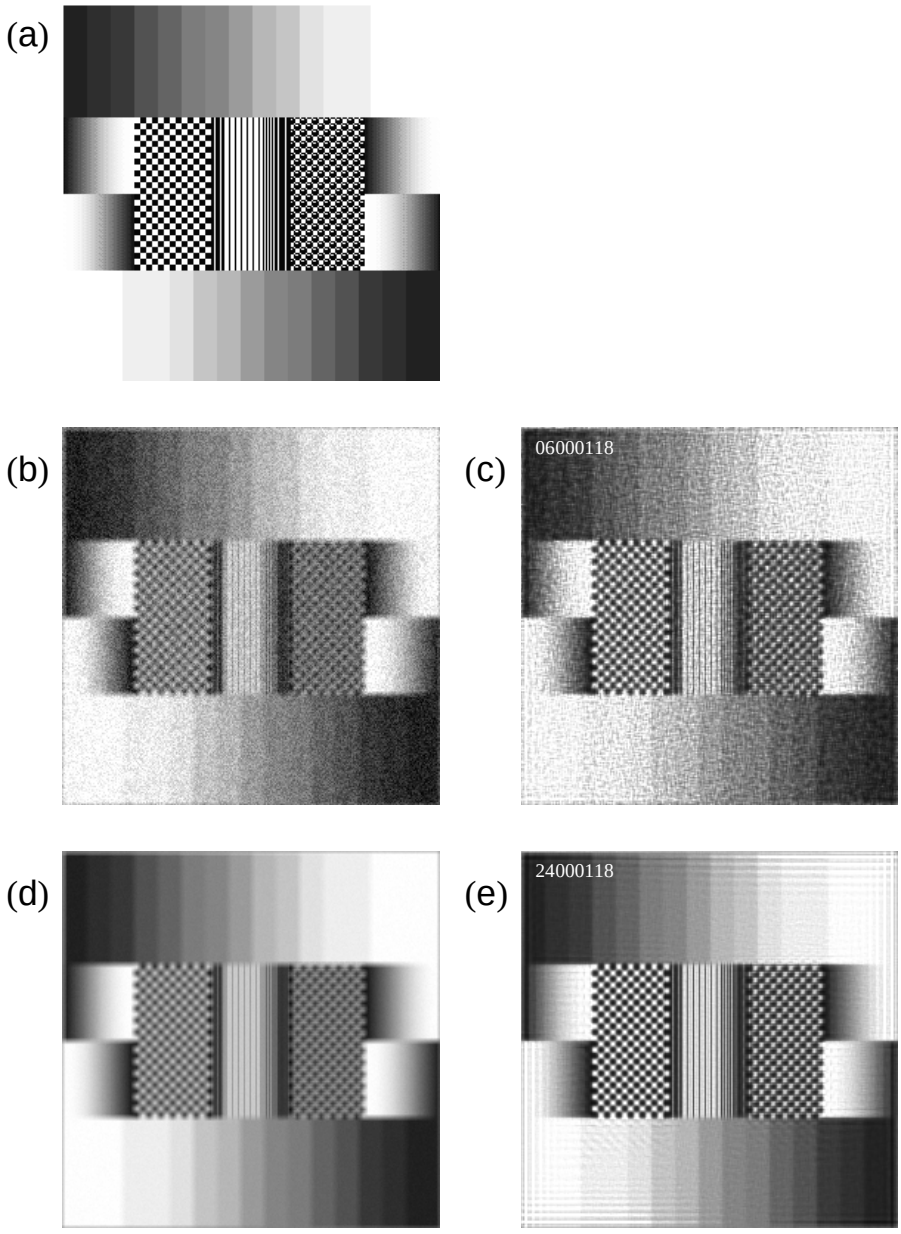


Figura 5.5: Resultados da restauração (c, e) de imagens apresentando SNR=20dB (b) e SNR=40dB (d), modificadas a partir da imagem padrão (a). As imagens (b) e (d) correspondem àquelas mostradas respectivamente nas Figs. 5.3c e 5.3d.

Para analisar os efeitos do algoritmo de restauração sobre os dados reais de AFM, diferentes imagens biológicas foram empregadas (Fig 5.6). Para cada caso, foram necessárias em média 50 iterações do procedimento descrito na seção 5.7, com duração total aproximada de 15 minutos (em um microcomputador com processador Pentium III 550 MHz).

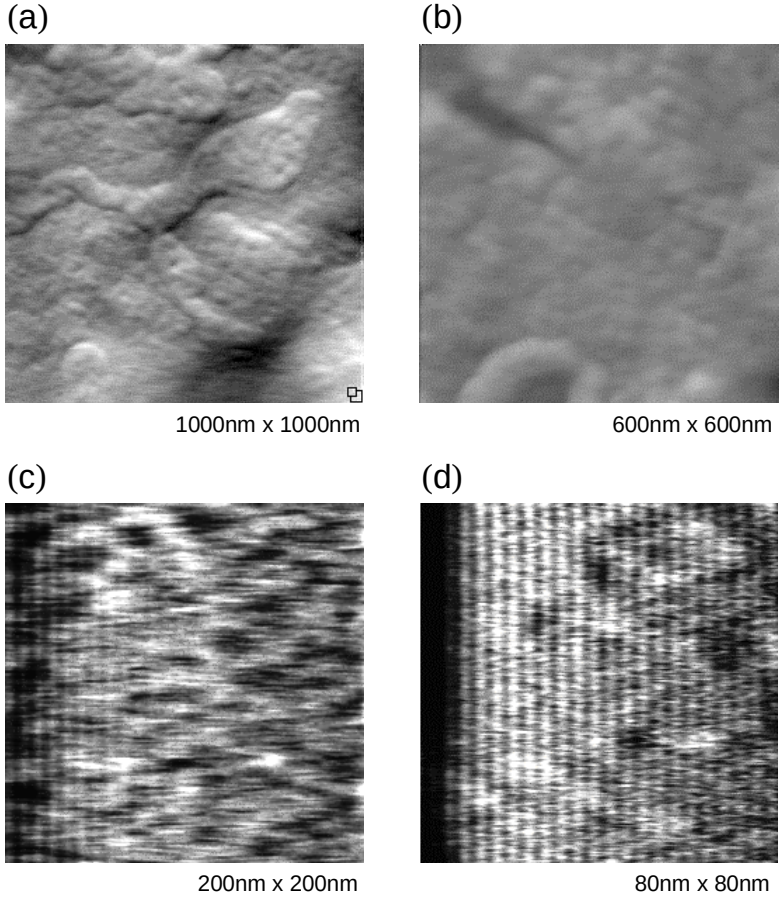


Figura 5.6: Imagens biológicas de AFM utilizadas para avaliar o desempenho do método de regularização; (a) e (b) são superfícies de um eritroblasto em estado leucêmico; (c) e (d) são filamentos de DNA obtidos da técnica de *spin-coating*.

Para estimar a variância da matriz de deconvolução fez-se necessário considerar as dimensões da imagem para um mesmo *tip*. Desta forma, a influência dos átomos da extremidade do *tip* sobre um ponto específico da amostra (convolução) torna-se importante para traçar o perfil de alcance das forças de interação em todas as

direções. Em função das dimensões da imagem adquirida, o tamanho da matriz de deconvolução deverá, *a priori*, variar em sentido oposto, ou seja, quanto menor for a área varrida (sabendo-se que o *tip* interagirá com uma região mais restrita da amostra), maior deverá ser a matriz (ou vice-versa), para um mesmo *tip*.

Pode-se observar que os *tips* que apresentam baixa razão de aspecto apresentam maior dispersão das forças de interação (σ^2). Conseqüentemente, a matriz que representa o perfil de interações deverá conter mais elementos distribuídos, de acordo com a atuação (alcance) das forças. Por outro lado, *tips* com maior razão de aspecto apresentam menos elementos projetados sobre o plano reticulado, concentrando toda a sua atuação na região mais próxima da amostra (vide Fig. 5.1). Optou-se aqui por utilizar distribuições gaussianas normalizadas para representar as matrizes de borramento, seguindo o modelo geométrico assumido para o *tip*.

A Fig 5.7 exemplifica algumas diferenças observadas para restaurações obtidas com diferentes valores dos parâmetros de regularização $\alpha = 0,01$, $\alpha = 0,05$ e $\alpha = 0,10$. No canto superior direito encontra-se a distribuição das forças de interação assumida para a interação *tip*-amostra. Estes resultados sugeriram que o funcional de entropia ($q \rightarrow 0$) nem sempre seria o mais indicado para produzir imagens restauradas com a qualidade desejada, além do que, mesmo para $q > 0$, o aumento progressivo de α confirmou o caráter "suavizante" da regularização sobre o ruído aditivo. Deve ser ressaltado, no entanto, que em problemas de reconstrução de imagens tomográficas Carita Montero et al. (1999, 2001) obtiveram os melhores resultados com a máxima entropia, i. e. $q \rightarrow 0$.

A Fig 5.8 ilustra os perfis de amplitude das imagens mostradas na Fig 5.7, para $\alpha = 0,01$. Para uma mesma linha (de número 120), foram observados progressivos aumentos de amplitude entre os perfis das Figs 5.8b a 5.8d, quando comparados com o da imagem original (Fig 5.8a), resultando em melhorias significativas de nitidez.

A Fig 5.9 mostra uma seqüência de imagens restauradas a partir da utilização de diferentes funcionais ($q \rightarrow 0$, $q = 1$, $q = 2$ e $q = 3$) e parâmetros de regularização ($\alpha = 0,03$ e $\alpha = 0,06$); pôde-se constatar a importância da regularização sobre as imagens de AFM produzidas nesta ordem de magnitude (baixa relação sinal-ruído), ao compará-las com a solução obtida para $\alpha = 0$ (canto superior esquerdo da figura).

As Figs 5.10*b,c,e,f* ilustram os resultados referentes à restauração de duas imagens representando um conjunto de filamentos de DNA (Figs 5.10a e 5.10d - 80nm $\times$ 80nm e 200nm $\times$ 200nm, respectivamente), depositados sobre uma superfície de mica tratada quimicamente (*spin coating*) em ambiente de nitrogênio.

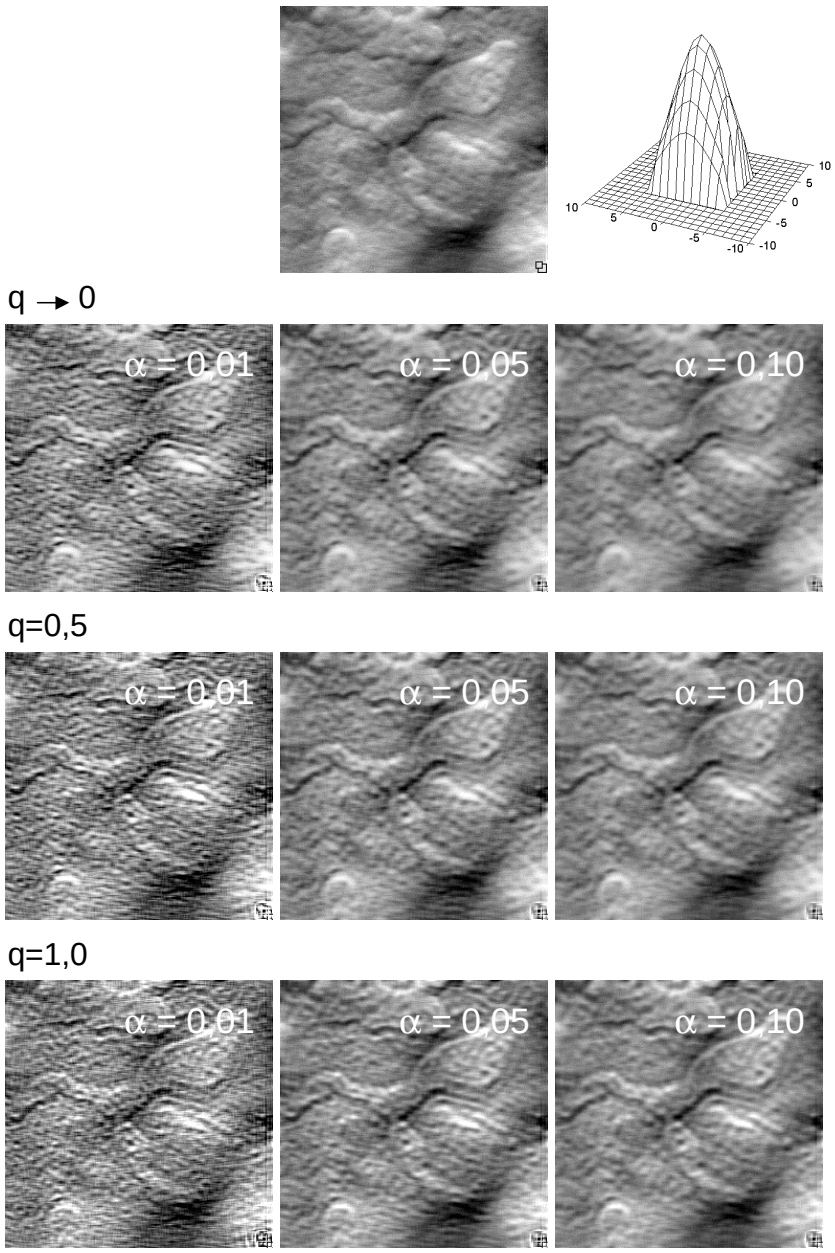


Figura 5.7: Efeitos do funcional geral de regularização ($q \to 0$, $q = 0,5$ e $q = 1$) sobre uma imagem de AFM de 1000nm $\times$ 1000nm (Fig. 5.6a), para diferentes parâmetros de regularização ($\alpha = 0,01$, $\alpha = 0,05$ e $\alpha = 0,10$).

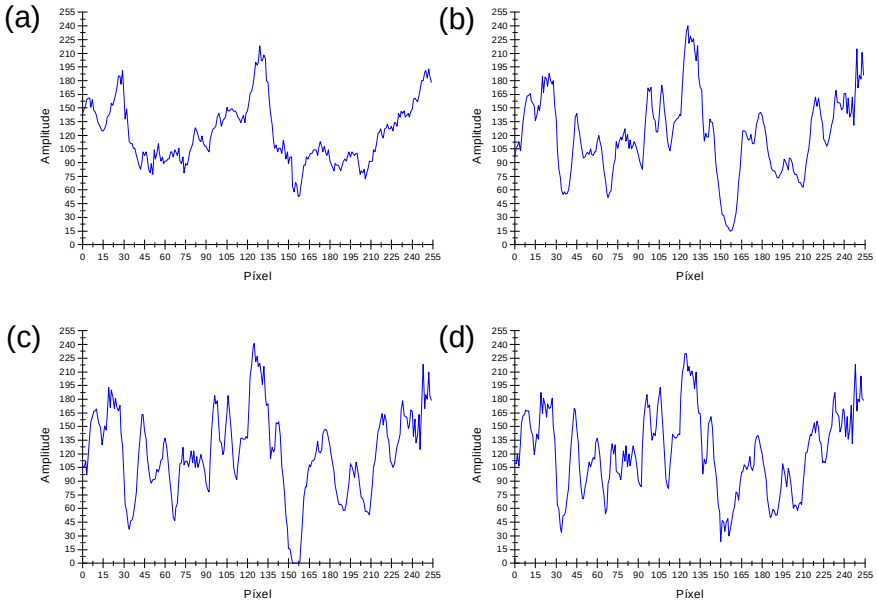


Figura 5.8: Perfis de amplitude das imagens restauradas (mostradas na Fig. 5.7) referentes a $\alpha = 0,01$, obtidos ao longo da linha de número 120, para (b) $q \to 0$, (c) $q = 0,5$ e (d) $q = 1$. Em (a) é apresentado o perfil da imagem de AFM de 1000nm $\times$ 1000nm.

A imagem da Fig 5.10b foi obtida a partir de uma matriz de deconvolução (PSF) de 21 $\times$ 21 e uma variância $\sigma^2 = 40$, $\alpha = 0,08$, $\gamma = 0,1$ e $q \to 0$. Para a imagem da Fig 5.10c, uma variância menor foi empregada, $\sigma^2 = 20$, revelando traços mais definidos em relação aos da Fig 5.10b (menor razão de aspecto do *tip*).

Para as imagens restauradas obtidas a partir da Fig 5.10d (Figs 5.10e e 5.10f), somente a dimensão da matriz de deconvolução foi alterada (15 $\times$ 15 e 21 $\times$ 21, respectivamente), mantidos os demais parâmetros ($\sigma^2 = 40$, $\alpha = 0,08$, $\gamma = 0,1$ $q \to 0$). Observou-se que, para imagens nesta ordem de magnitude (200nm $\times$ 200nm), o aumento da dimensão da matriz de deconvolução surtiu melhor resultado. Em ambos os casos, o funcional de entropia fora utilizado como termo de regularização em função da baixa relação sinal-ruído, geralmente associadas a imagens com tais dimensões.

A Fig 5.11 ilustra, por intermédio de imagens tridimensionais, os efeitos da restauração relativos à imagem da Fig 5.10f (Fig 5.11f), bem como o resultado produzido pela FFT (Figs 5.11b,e), para uma freqüência espacial de corte de 0,3 ciclos/píxel (c/p). A Fig 5.11d ilustra a topografia da imagem original (Fig 5.11a). Observa-se aqui um ganho de informação na restauração com o funcional de regularização de Tikhonov (Figs. 5.11c,f) com relação àquela obtida com a técnica tradicional de FFT (Figs. 5.11b,e).

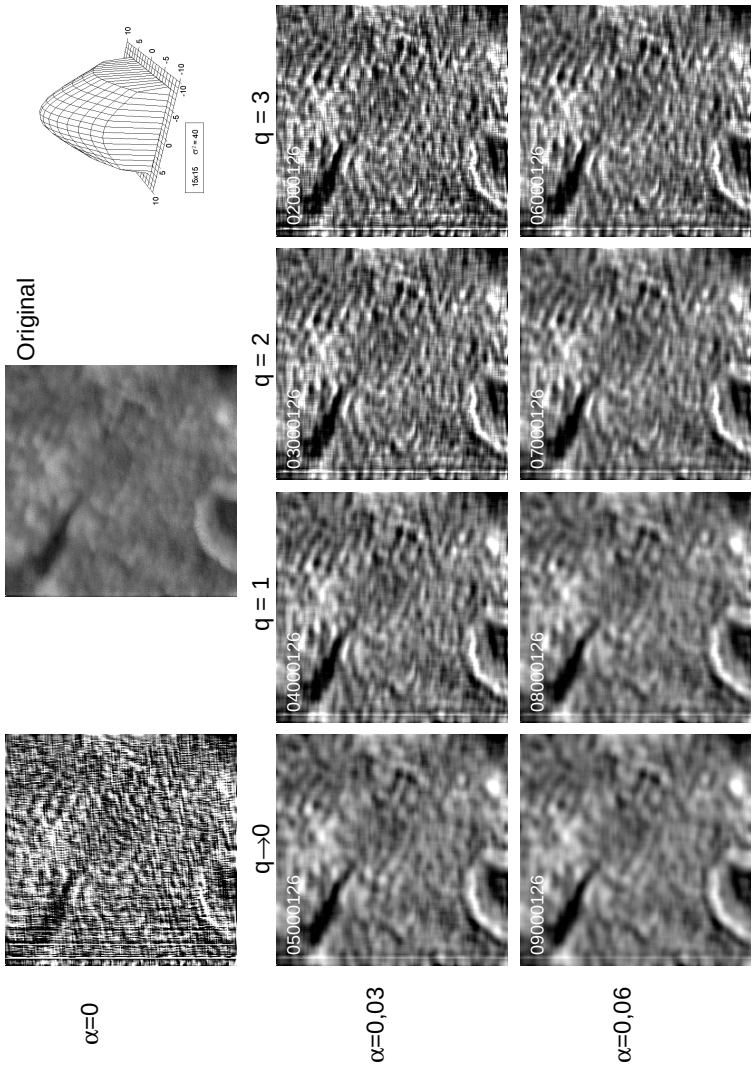


Figura 5.9: Seqüências de imagens restauradas com $q \to 0$, $q = 1$, $q = 2$ e $q = 3$, $\alpha = 0,03$ e $\alpha = 0,06$, a partir de uma imagem de AFM com 600nm $\times$ 600nm (Fig. 5.6b). Pode-se observar os efeitos deletérios do ruído aditivo sobre o conteúdo da restauração não regularizada ($\alpha = 0$) (canto superior esquerdo da figura).

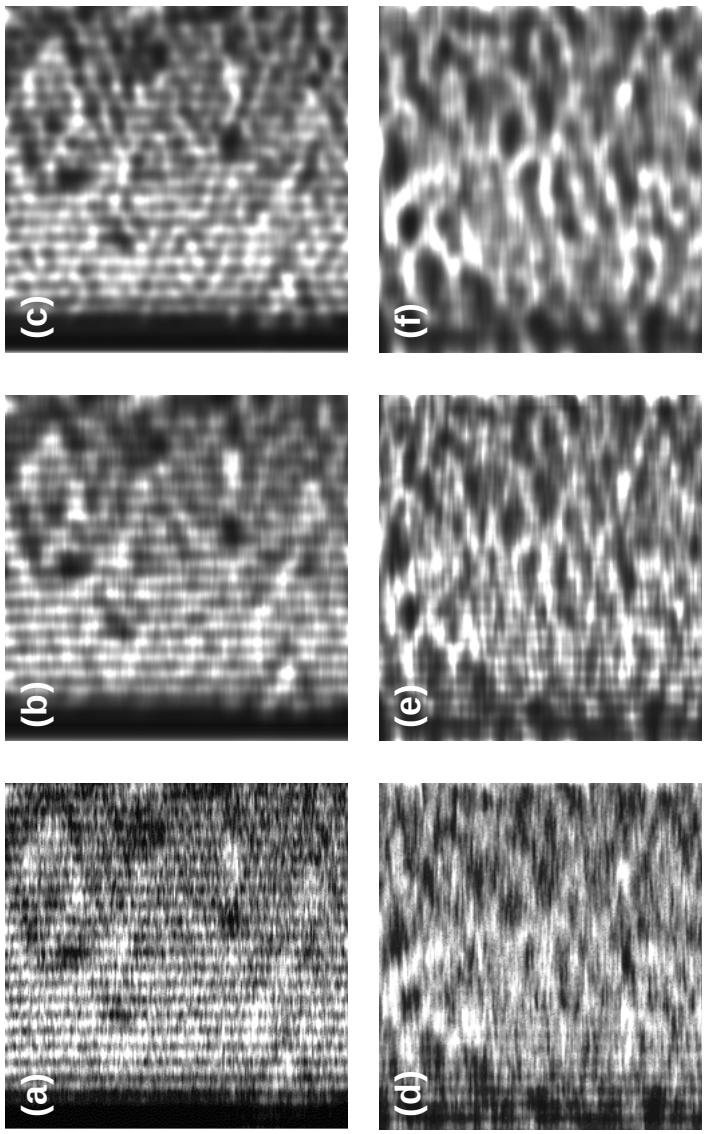


Figura 5.10: Efeitos da variância (σ^2) associada a uma PSF gaussiana de 21 × 21 para a restauração de uma imagem de AFM com 80nm × 80nm (a) (correspondente à Fig. 5.6d), assumindo (b) $\sigma^2 = 40$ e (c) $\sigma^2 = 20$. Restauração de uma imagem de AFM com 200nm × 200nm (d) (correspondente à Fig. 5.6c), mantendo-se a mesma variância ($\sigma^2 = 40$) para dimensões distintas da PSF: 15 × 15 (e) e 21 × 21 (f).

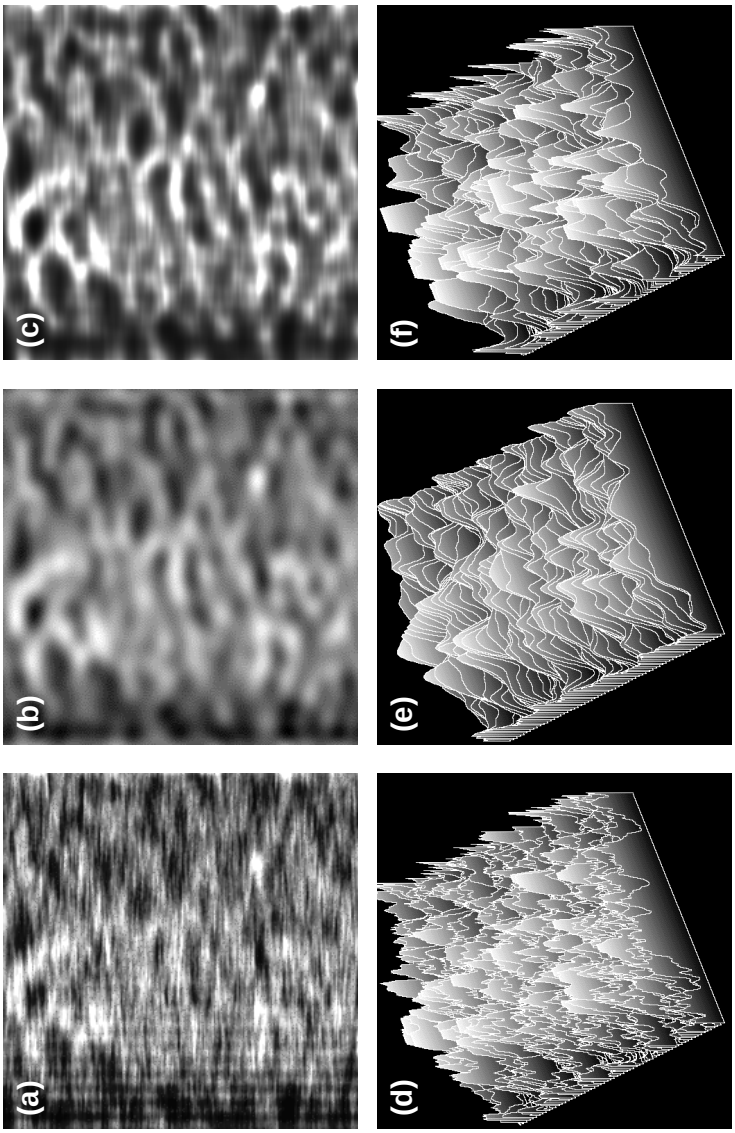


Figura 5.11: Efeito da restauração de uma imagem de AFM de 200nm × 200nm (a) (Fig. 5.6c), a partir de uma PSF de 21×21 com $\sigma^2 = 40$, $\alpha = 0,08$, $\gamma = 0,1$ e $q \to 0$, (c), quando comparado com o resultado do emprego da FFT com freqüência de corte $fc = 0,3$ c/p (b), mostrando suas respectivas representações tridimensionais (d-f).

5.8.3 Restauração de Imagens de Engenharia Obtidas com AFM

O algoritmo de restauração baseado no funcional de Tikhonov também foi aplicado a imagens de interesse em engenharia.

Na Fig. 5.12a é apresentada uma imagem de AFM, de dimensão $2\mu m \times 2\mu m$, de um filme de carbono amorfo hidrogenado depositado com um bias de 370 V a partir de um gás de butadieno, e atacado com plasma de nitrogênio com um bias de 120 V durante 3 minutos. Estes filmes são empregados como camadas protetoras e barreiras de difusão. Esta imagem de AFM foi obtida pelos pesquisadores do Laboratório de Estudos de Materiais e Interfaces, LEMI, do Programa de Engenharia Metalúrgica e Materiais (PEMM) da COPPE/UFRJ.

Na Fig. 5.12b é apresentado o resultado da restauração empregando os seguintes parâmetros: $\alpha = 0,08$, $\gamma = 0,2$, $q = 3$, e uma matriz de deconvolução de dimensão 17×17 e variância $\sigma^2 = 20$.

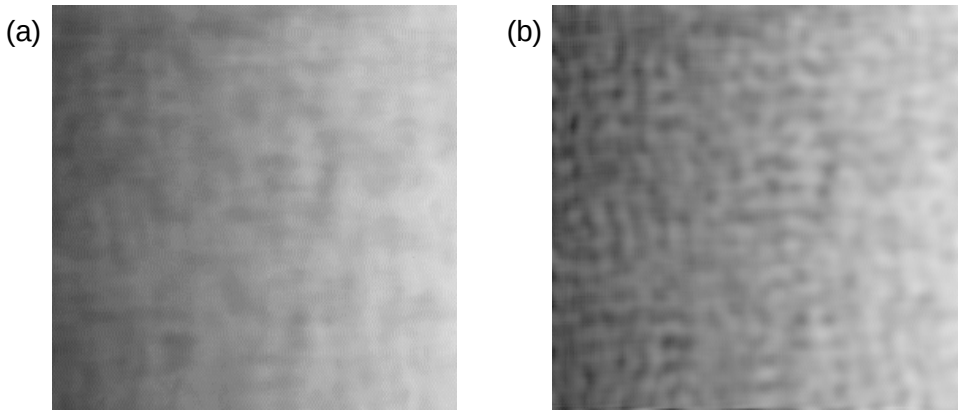


Figura 5.12: Restauração de uma imagem de AFM de um filme de carbono amorfo hidrogenado ($2\mu m \times 2\mu m$) (a), empregando os parâmetros $\alpha = 0,08$, $\gamma = 0,2$, $q = 3$, e uma matriz de deconvolução de dimensão 17×17 e variância $\sigma^2 = 20$.

Na Fig. 5.13a é apresentada uma imagem de AFM, de dimensão $4\mu m \times 4\mu m$, de um filme termoplástico de amido de milho, obtida no LEMI do PEMM/COPPE/UFRJ. Os filmes termoplásticos de amido de milho são obtidos a partir de amilose e amilopectina, procurando-se criar materiais que sejam ao mesmo tempo hidrofóbicos e biodegradáveis, com aplicações em agricultura, medicina e engenharia, como por exemplo em embalagens e na liberação controlada de drogas. Aproximadamente 50 milhões de toneladas de plástico são produzidas e despejadas anualmente no meio ambiente. A busca de uma solução para os problemas causados pelo aumento do

volume de rejeitos sólidos, tais como saturação dos aterros sanitários e a poluição aquática e terrestre, tem incentivado inúmeras pesquisas para a busca de alternativas aos plásticos baseados em polímeros sintéticos. O estudo morfológico destes materiais é um passo importante para o desenvolvimento dos mesmos. Na Fig. 5.13b é apresentado o resultado da restauração do filme termoplástico apresentado na Fig. 5.13a, empregando os seguintes parâmetros $\alpha = 0,08$, $\gamma = 0,2$, $q = 1$, e uma matriz de deconvolução de dimensão 15×15 e variância $\sigma^2 = 20$.

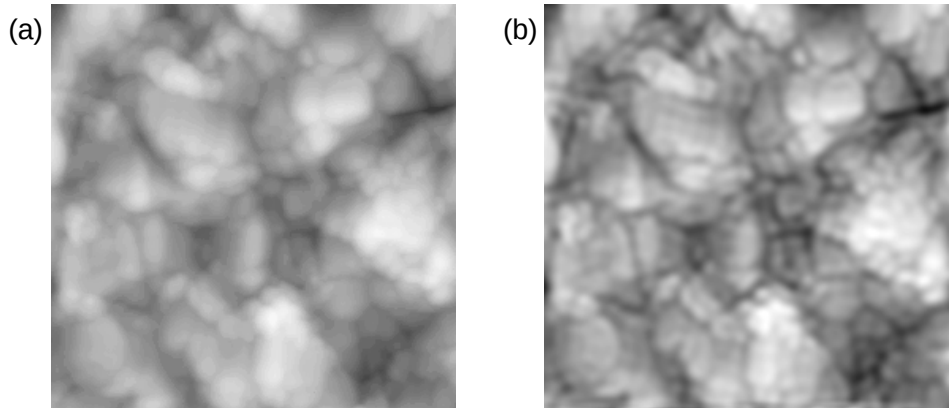


Figura 5.13: Restauração de uma imagem de AFM de um filme termoplástico de amido de milho ($4\mu m \times 4\mu m$)(a), empregando os parâmetros $\alpha = 0,08$, $\gamma = 0,2$, $q = 1$, e uma matriz de deconvolução de dimensão 15×15 e variância $\sigma^2 = 20$.

O ganho de informação nas imagens restauradas apresentadas foi confirmada por especialistas, não consistindo, portanto, de artefatos matemáticos artificialmente introduzidos no processo de restauração. De fato esta deve ser uma preocupação constante para os usuários de pacotes desenvolvidos para a restauração de imagens.

5.8.4 Busca Exaustiva

Com a estratégia de restauração de imagens descrita por Cidade et al. (1999c, 2000a), baseada no método de Tikhonov (Tikhonov e Arsenin, 1977), pode-se empregar uma família de funcionais de regularização definida pelo valor do parâmetro q. Fica porém a pergunta sobre quais parâmetros α e q devem ser usados. Buscando uma resposta, são aqui feitas simulações (uma busca exaustiva) a partir de uma imagem padrão modificada. A nomenclatura $D\beta v\delta s\xi$ indica as novas características da imagem padrão Fig. 5.3a após ter sido modificada, ou seja, β indica a dimensão ($\beta \times \beta$) da matriz de borramento (de natureza gaussiana), δ sua variância (σ^2) e

ξ a relação sinal-ruído (SNR) da imagem, expressa em decibéis (dB). Para produzir a relação SNR desejada, utilizou-se um gerador numérico pseudo-randômico, de maneira que a quantidade somada a cada ponto da imagem pudesse ser determinada (Eq. 5.27) (Gonzales e Wintz, 1987).

A Fig. 5.14 representa esquematicamente como os parâmetros α e q, do funcional Q dados pelas Eqs. 5.8 e 5.13, são variados automaticamente pela rotina computacional desenvolvida, nos intervalos indicados, admitindo todas as combinações possíveis. O parâmetro α atua diretamente sobre o funcional de regularização S, em que $\hat{x}$ representa o valor esperado, para a estimativa da imagem real, $y\,(i,j)$ corresponde ao dado da imagem original, $b\,(k,l)$ refere-se ao operador de borramento, e S é uma função de regularização baseada na distância de Bregman (Bregman, 1967).

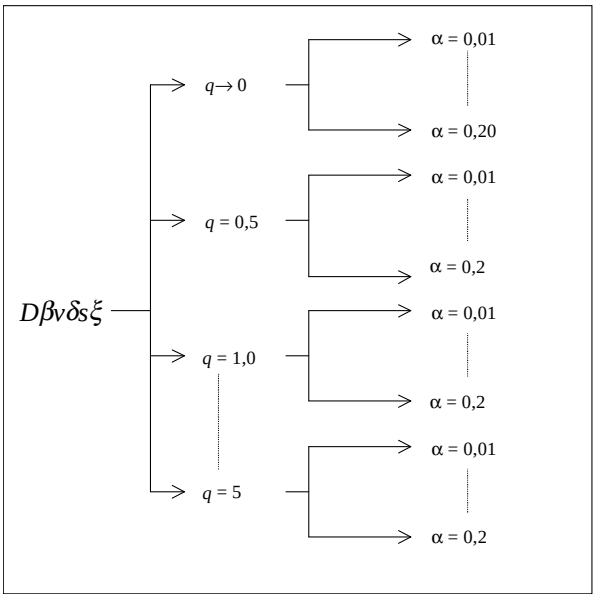


Figura 5.14: Diagrama da combinação dos parâmetros α e q.

A família de funções de regularização utilizada foi obtida a partir de diferentes valores do parâmetro q, aplicados ao funcional geral q-discrepância (Anexo A.2), levando a normas importantes como a entropia cruzada ($q \to 0$) e energia ($q = 1$), ou norma quadrada.

Para calcular a distância entre os dados da imagem padrão, $p\,(i,j)$, e o resultado da restauração, $\hat{x}\,(i,j)$, utilizou-se o erro médio quadrático relativo (%MSE) definido a partir da (Eq. 5.28).

Para analisar o comportamento do erro médio quadrático relativo (%MSE) em

função dos parâmetros q e α, adicionou-se ruído aditivo em proporções distintas ($SNR = 20dB$, $SNR = 40dB$ e $SNR = 60dB$) à imagem padrão representada na Fig. 5.3a, modificada por uma matriz gaussiana de dimensões que variam de 5×5 a 21×21, com variâncias também distintas ($\sigma^2 = 20$, $\sigma^2 = 30$, $\sigma^2 = 40$). Após exaustiva análise dos resultados, concluiu-se que os valores de %MSE obtidos em experimentos com matrizes de dimensões acima de 5×5 não foram satisfatórios, devido, provavelmente, à complexidade da imagem padrão adotada. Sendo assim, as avaliações foram limitadas à matriz gaussiana de borramento com dimensão 5×5. Nas imagens biológicas de AFM, dimensões superiores a 5×5 foram utilizadas.

As Tabelas 5.2-5.4 mostram o comportamento do erro (%MSE) da restauração de imagens modificadas por uma matriz de borramento gaussiana de 5×5, através da combinação entre α e q, indicando os melhores e piores valores obtidos. Pode-se verificar que as imagens restauradas que apresentam altos SNRs, independente da variância da matriz de borramento, exibem melhorias significativas (baixos %MSEs) para valores crescentes do parâmetro q. Isto sugere que normas superiores seriam capazes de produzir maiores níveis de contraste.

Tabela 5.2: Erro médio quadrático relativo (%MSE) na restauração de uma imagem padrão (Fig. 5.3a) para uma matriz de borramento de 5×5, $\sigma^2 = 20$.

VARIÂNCIA	SNR	PARÂMETROS QUE FORNECERAM OS MELHORES RESULTADOS			PARÂMETROS QUE FORNECERAM OS PIORES RESULTADOS		
		q	α	$\%MSE$ (%)	q	α	$\%MSE$ (%)
20	20	1	0,07	63,92	5	0,02	117,26
		0,5	0,05	63,94	5	0,01	111,13
		1	0,08	63,97	5	0,03	111,58
	30	0,5	0,01	42,70	0	0,20	90,74
		1	0,01	42,95	0	0,19	89,48
		1,5	0,01	44,78	0	0,18	88,17
	40	5	0,02	29,40	0	0,20	91,38
		5	0,03	29,85	0	0,19	89,88
		4,5	0,02	29,76	0	0,18	88,54

Tabela 5.3: Erro médio quadrático relativo (%MSE) na restauração de uma imagem padrão (Fig. 5.3a) para uma matriz de borramento de 5×5, $\sigma^2 = 40$.

VARIÂNCIA	SNR	PARÂMETROS QUE FORNECERAM OS MELHORES RESULTADOS			PARÂMETROS QUE FORNECERAM OS PIORES RESULTADOS		
		q^*	α^*	$\%MSE$ (%)	q	α	$\%MSE$ (%)
40	20	1	0,05	62,71	5	0,02	116,94
		0,5	0,07	62,80	5	0,01	110,92
		1	0,08	62,81	5	0,03	111,06
	30	0,5	0,01	43,17	0	0,20	89,67
		1	0,01	43,57	0	0,19	88,41
		1,5	0,01	44,78	0	0,18	87,09
	40	5	0,02	26,74	0	0,20	90,03
		5	0,03	27,14	0	0,19	88,75
		4,5	0,02	26,91	0	0,18	87,41

Tabela 5.4: Erro médio quadrático relativo (%MSE) na restauração de uma imagem padrão (Fig. 5.3a) para uma matriz de borramento de 5×5, $\sigma^2 = 60$.

VARIÂNCIA	SNR	PARÂMETROS QUE FORNECERAM OS MELHORES RESULTADOS			PARÂMETROS QUE FORNECERAM OS PIORES RESULTADOS		
		q^*	α^*	$\%MSE$ (%)	Q	α	$\%MSE$ (%)
60	20	1	0,07	62,54	5	0,02	117,09
		0,5	0,05	62,56	5	0,01	111,31
		1	0,08	62,59	5	0,03	111,17
	30	0,5	0,01	42,52	0	0,20	89,18
		1	0,01	42,80	0	0,19	89,48
		1,5	0,01	43,97	0	0,18	87,92
	40	5	0,02	26,07	0	0,20	86,20
		4,5	0,02	26,22	0	0,19	88,36
		5	0,03	26,37	0	0,18	87,02

Nas Figs. 5.15 a 5.17 são representadas as superfícies geradas com os valores do erro médio quadrático relativo (%MSE) obtidos na restauração da imagem padrão para os casos com $\sigma^2 = 20$, e $SNR = 20$, 30 e 40, respectivamente, conforme os resultados apresentados na Tabela 5.2.

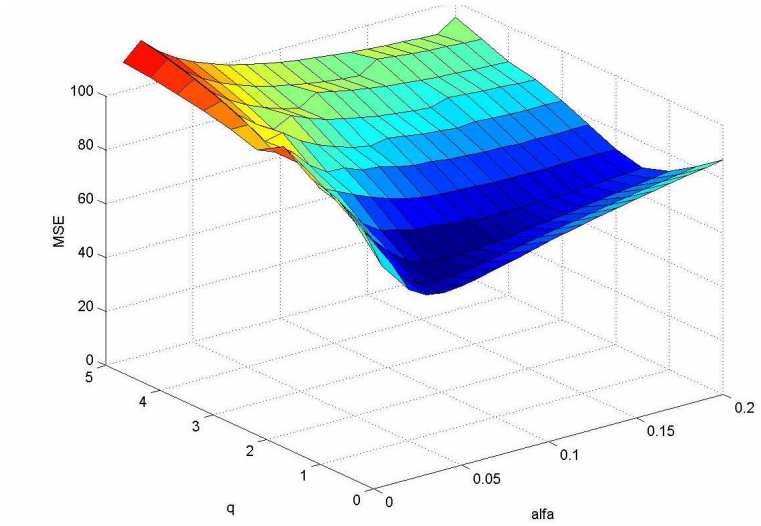


Figura 5.15: Superfície gerada com os valores de %MSE obtidos na restauração de uma imagem padrão (dim 5×5, $\sigma^2 = 20$, $SNR = 20dB$, i.e. $D5v20s20$).

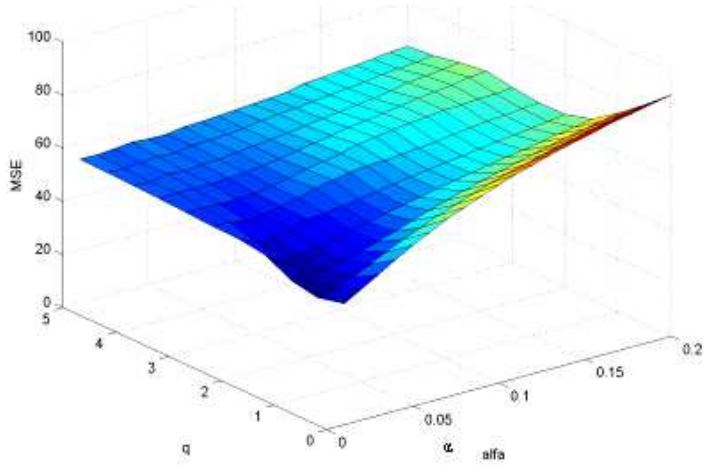


Figura 5.16: Superfície gerada com os valores de %MSE obtidos na restauração de uma imagem padrão (dim 5×5, $\sigma^2 = 20$, $SNR = 30dB$, i.e. $D5v20s30$).

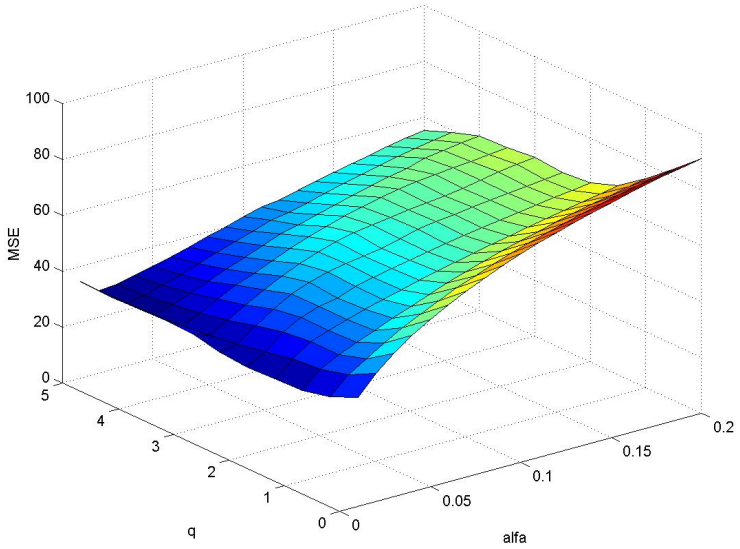


Figura 5.17: Superfície gerada com os valores de %MSE obtidos na restauração de uma imagem padrão (dim 5×5, $\sigma^2 = 20$, $SNR = 40dB$, i.e. $D5v20s40$).

5.8.5 Estratégia de Realimentação

A utilização dos parâmetros mais apropriados para cada experimento não constitui tarefa difícil para o operador experiente, que saiba identificar a quantidade aproximada de ruído aditivo presente nos dados a serem analisados. Porém, quando a SNR não puder ser quantificada, deve-se então realizar a busca exaustiva descrita na seção anterior, fazendo-se a ressalva de que em aplicações em imagens de AFM não se conhece a imagem original para o cálculo do erro médio quadrático relativo, devendo-se usar como parâmetro de comparação o valor mínimo obtido no cálculo do funcional de Tikhonov, Q. Silva Neto e Cidade propuseram então um procedimento alternativo (Furtado 2002; Furtado et al., 2002, 2003) no qual o algoritmo de restauração é implementado com realimentação.

Como extensão do método de regularização, propõe-se uma estratégia de localização do mínimo global associado aos dados da imagem restaurada, através de uma seqüência de restaurações em que cada estimativa obtida após a minimização do funcional de regularização é empregada como valor de referência para uma nova restauração, procedimento este denominado realimentação; os resultados obtidos através deste método mostram-se bastante satisfatórios, tendo em vista que a imagem candidata ao mínimo global fora obtida ao longo de um reduzido número de iterações. Este método também pode ser estendido para outras aplicações que envolvam regularização.

A Fig. 5.18 mostra o procedimento de realimentação utilizado como método de

convergência rápida, em que a imagem restaurada é utilizada como referência para a restauração seguinte.

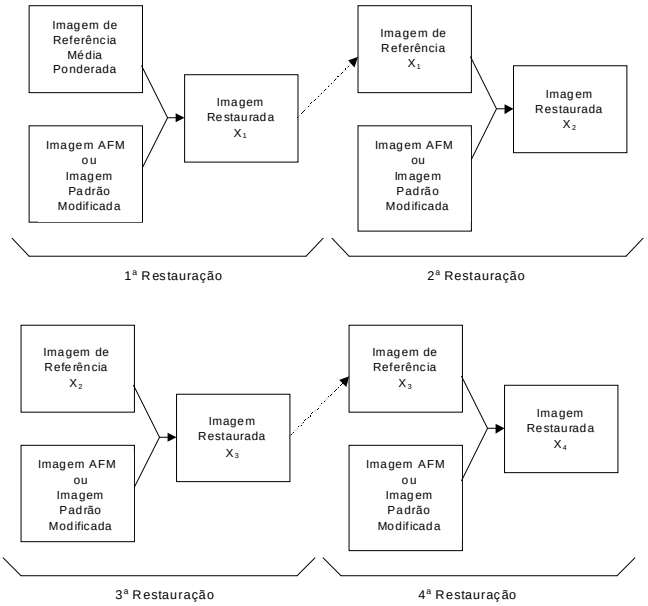


Figura 5.18: Diagrama esquemático do método de realimentação.

Este método mostrou que o algoritmo de restauração possui um limite mínimo para o valor de %MSE, variando de acordo com a relação sinal-ruído de cada experimento. As análises realizadas indicaram que o número de realimentações suficientes para se atingir o melhor resultado possível, varia de acordo com a relação SNR da imagem, isto é, quanto mais ruidosa maior deverá ser o número de realimentações necessárias para se chegar à solução desejada, que é alcançada mesmo se os parâmetros geradores dos piores resultados de %MSE com um único passo forem utilizados na primeira iteração do ciclo de realimentações. Ressaltando que, se os pares de parâmetros α e q adequados forem aplicados, bastará apenas uma restauração para a obtenção da melhor solução.

A Fig. 5.19 ilustra o resultado de uma seqüência de restaurações após o emprego do método de realimentação, partindo-se de uma imagem modificada com uma matriz de 5×5, $\sigma^2 = 20$ e $SNR = 40$, i.e. $D5v20s40$, empregando-se $q \to 0$ e $\alpha = 0,2$. Da Tabela 5.2 e da Fig. 5.19b observa-se que após a primeira restauração obtém-se o valor de 91,38% para o erro médio quadrático relativo. Após quatro realimentações obtém-se 31,02%, valor muito próximo daquele obtido com o melhor par de parâmetros $q = 5$ e $\alpha = 0,02$.

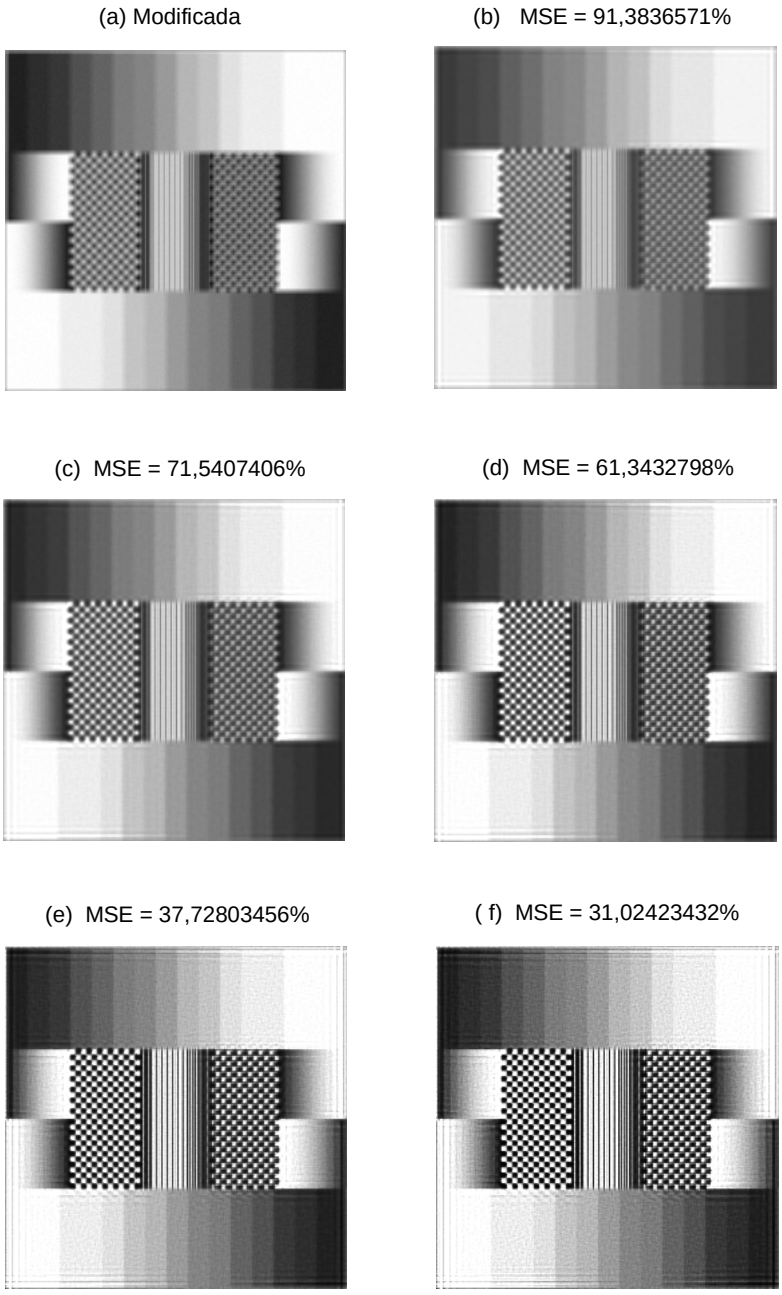


Figura 5.19: Restauração da imagem padrão com realimentação ($D5v20s40$, $q \rightarrow 0$, $\alpha = 0,20$).

A Fig. 5.20 mostra o resultado da realimentação sobre uma imagem biológica que representa um denso conjunto de filamentos de DNA com dimensão de (200×200) nm (vide Fig. 5.6c), utilizando como referência inicial a média ponderada das intensidades da imagem de AFM. Pode-se observar, nitidamente, que, a partir da primeira realimentação até a quarta, as imagens resultantes passam a exibir estruturas cada vez mais definidas, sugerindo que este método é capaz de produzir resultados de contraste bastante satisfatórios.

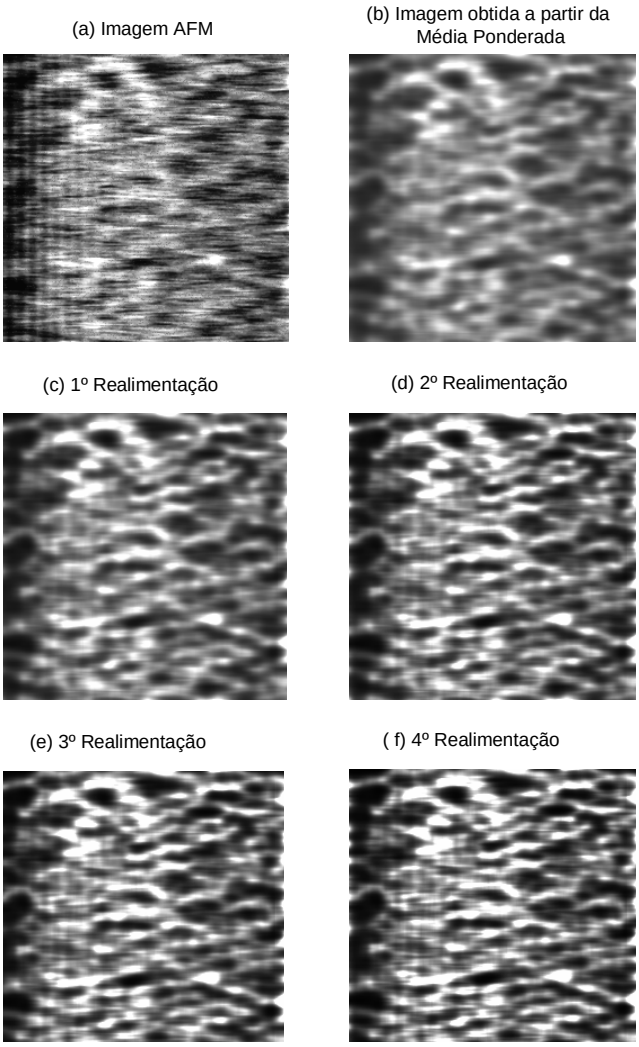


Figura 5.20: Restauração da imagem de AFM (conjunto de filamentos de DNA) com realimentação (Parâmetros de restauração $q \to 0$, $\alpha = 0,02$ e PSF 15×15).

Capítulo 6

Métodos Estocásticos e Redes Neurais para a Restauração de Imagens

Em dois trabalhos recentes Li et al. (2000) e Jiang e Evans (2001) aplicaram algoritmos genéticos para reconstrução e restauração de imagens, respectivamente, apresentando resultados satisfatórios quando comparados no primeiro caso com o algoritmo de retro-projeção (*back projection*) e no segundo caso com o filtro de Wiener.

May et al. (1997) empregaram uma combinação de algoritmos genéticos (GA - *Genetic Algorithms*) com o método do recozimento simulado (SA - *Simulated Annealing*) para a restauração de imagens.

Apesar do elevado esforço computacional associado aos métodos estocásticos, principalmente quando se leva em conta o tamanho e o nível de detalhes de imagens reais, esta é uma área de pesquisa promissora, onde, a combinação de métodos estocásticos com métodos determinísticos, como aquele apresentado no Capítulo anterior, e o possível emprego de computação paralela (Bevilacqua e Piccolomini, 2000), podem levar a uma melhoria na qualidade das imagens restauradas com tempos computacionais satisfatórios.

Hadjiiski et al. (1996) empregaram redes neurais para a correção de distorções ocorridas no processo de aquisição de imagens de AFM.

Silva Neto e Soeiro (2002, 2003) vêm trabalhando na combinação de métodos estocásticos com métodos determinísticos para a solução de problemas inversos em transferência de calor, e também propuseram o uso de redes neurais para a geração de estimativas iniciais a serem usadas nos procedimentos iterativos desenvolvidos (Soeiro et al., 2003). Tem-se a expectativa, de que no futuro estas técnicas poderão levar a resultados satisfatórios do ponto de vista computacional para a restauração de imagens em escala nanométrica.

É aqui apresentada apenas a implementação de algoritmos genéticos para a

restauração de uma imagem padrão, com regiões de altas e baixas freqüências espaciais, sujeita a um borramento gaussiano (Ribeiro et al., 2001).

6.1 Algoritmo Genético (AG)

Algoritmos genéticos (AGs) fazem parte de uma classe de técnicas utilizadas para resolver problemas de busca complexos e problemas de otimização que não podem ser resolvidos através de métodos analíticos ou de mera enumeração de possíveis soluções. Por essa razão, os AGs são incluídos numa classe mais abrangente de métodos, conhecida como Computação Evolucionária.

A idéia por trás de um AG é simular o processo de evolução dos organismos na natureza, baseando-se na Teoria de Seleção Natural de Darwin. Segundo essa teoria, organismos mais adaptados às condições de seu meio-ambiente possuem maiores chances de sobreviver e de se reproduzir, perpetuando seu material genético através das próximas gerações de organismos. Isso significa que os indivíduos competem pelos recursos disponíveis e os mais fortes (ou melhor adaptados ao ambiente) conseguem sobreviver e gerar descendentes.

Do ponto de vista dos AGs, um indivíduo é melhor adaptado, em relação aos outros indivíduos existentes, caso ele possua características que o aproximem mais de uma solução ótima para um problema.

Na natureza, a genética é a responsável pela criação de novas populações de indivíduos, atuando nas populações existentes através da reprodução dos indivíduos e da consecutiva troca de genes entre eles. No âmbito computacional, os operadores são os responsáveis pela criação de novas populações de indivíduos (novas possíveis soluções para um problema), atuando sobre populações de *strings* que contêm dados. A correspondência entre os dois enfoques pode ser vista na Tabela 6.1.

Tabela 6.1: Correspondência entre os elementos naturais e os utilizados em um AG.

Natureza	Computador
competição cega	seleção cega (aleatória)
genética	operadores
populações	populações
cromossomos	*strings*
organismos	candidatos a soluções
sobrevivência	Maximizar/minimizar um problema

6.2 O Algoritmo Genético Canônico (AGC)

A primeira coisa a fazer para se implementar um AGC é criar uma *geração inicial* ou *população inicial*, conhecida como P_0. De acordo com o AGC, essa população é criada de forma aleatória, para se evitar que a geração de indivíduos fique restrita a

um subconjunto de soluções possíveis, pois a melhor solução gerada pelo AGC não passaria então de um ótimo local.

Cada indivíduo de P_0 tem sua performance medida (segundo parâmetros definidos pelo AGC e pelo problema em questão) através de uma ***função objetivo*** ou ***função de avaliação*** (como por exemplo o funcional de Tikhonov dado pela Eq. (5.16)). A função de avaliação de um indivíduo fornece o ***valor de avaliação*** (f_i) deste, e não leva em conta os demais componentes da população.

Uma vez que todos os indivíduos tenham sido gerados e avaliados, cada um deles recebe um valor dado pela ***função de adaptação***. A ***função de adaptação*** mede o grau de adaptação de um indivíduo comparativamente aos outros indivíduos da população. Essa função deverá ser implementada de acordo com as particularidades do problema e, num sentido biológico, representaria o grau de adaptação do indivíduo ao meio. Logo, cada indivíduo de P_0 recebe também um valor de adaptação (***fitness value***) definido por essa função, calculado pelo AGC da seguinte forma :

$$Valor\ de\ Adaptação = f_i/\bar{f} \tag{6.1}$$

onde f_i representa o valor da função de avaliação de um indivíduo e $\bar{f}$ representa a média da avaliação de todos os indivíduos da geração corrente. Fica claro que o valor de adaptação posiciona os indivíduos de P_0 numa ordenação (*ranking*), que será utilizada para selecionar os indivíduos mais adaptados para reprodução.

O próximo passo do AGC é selecionar indivíduos de P_0, *gerando uma população intermediária* P_0'. Os indivíduos que formam P_0' são aqueles mais adaptados e que, portanto, têm mais chances de reprodução. Ou seja, são aqueles cujos descendentes têm mais chances de estar presentes na próxima geração. Uma vez criada a população intermediária P_0', os operadores de *cruzamento* e *mutação* são aplicados sobre ela, para que a próxima geração (P_1) seja criada.

O ***cruzamento*** é um operador que origina dois novos cromossomos através da troca de dados entre dois cromossomos originais ou "pais". Assim, os dados de um pai são misturados com os do outro de forma aleatória, como se partes dos "pais" fossem usadas para gerar os "filhos". Esse operador procura imitar a reprodução sexuada na natureza, e dessa forma, soluções parciais podem servir de base para a geração de soluções melhores. Para que a reprodução ocorra, é levada em consideração uma probabilidade P_c, que é a probabilidade de *cruzamento*.

A ***mutação*** é um operador que modifica um único cromossomo com uma dada probabilidade P_m. Através dele é possível criar indivíduos que não são apenas cópias de seus pais, mas ligeiramente diferentes. Assim, a mutação não garante que o indivíduo originado será melhor ou pior do que era anteriormente, mas evita que a busca se torne estagnada, recombinando sempre os mesmos pedaços de informações.

6.3 Como o AG é Aplicado na Restauração de uma Imagem

Os primeiros testes do método aqui proposto foram realizados sobre imagens padrão (artificiais com alternância entre regiões de alta e baixa freqüências espaciais), in-

tencionalmente borradas, com as mesmas dimensões (256×256 pixels) e a mesma *palette* de cores das imagens de AFM (com 256 tons de cinza). A imagem original, ou seja, sem o borramento e o ruído aditivo, é apresentada na Fig. 6.1a. O borramento e o ruído aditivo são adicionados à imagem original, através da aplicação do método proposto por Cidade et al. (2001a), descrito na seção 5.8, de forma que uma função Gaussiana simula o resultado da interação *tip*-amostra na técnica de AFM. Utilizando uma matriz de borramento de dimensão 3×3, com variância $\sigma^2 = 20$, sem adicionar ruído aleatório, obtém-se a imagem borrada da Fig. 6.1b.

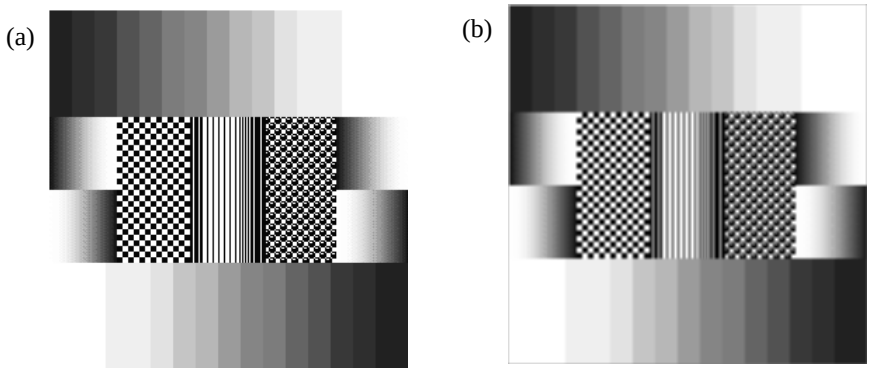


Figura 6.1: Em (a) pode-se visualizar a imagem original utilizada para testar o método do Algoritmo Genético conjugado com o funcional de regularização de Tikhonov, e em (b) a imagem resultante da aplicação de uma função Gaussiana, para o borramento. Matriz de borramento 3×3, com variância $\sigma^2 = 20$.

Pode-se perceber a perda de nitidez (e a conseqüente perda de informações) nas estruturas mais sutis presentes na imagem original. Esta perda de dados é maximizada, quando se trata de estruturas celulares em escala nanométrica. Uma vez definida a imagem de interesse, pode-se passar à aplicação do AG. Cria-se, portanto, uma população inicial de indivíduos em torno da imagem com borramento que queremos restaurar, composta por imagens que diferem ligeiramente da imagem borrada que se pretende restaurar. Ou seja, a população inicial será formada na vizinhança da imagem borrada, uma vez que a imagem restaurada também se encontra nas proximidades da mesma. Uma pequena variação é então gerada aleatoriamente, e essa variação poderá ser adicionada ou subtraída do valor de todos os pixels da imagem borrada. Essa operação é repetida até que k indivíduos tenham sido gerados.

Na medida em que os indivíduos vão sendo gerados, estes recebem um *valor de avaliação* (f_i) obtido pelo funcional de regularização de Tikhonov. Para isto, o valor da intensidade dos pixels de cada imagem/indivíduo deve ser normalizado antes de ser submetido ao funcional.

6.4 Resultados Preliminares

Dois tipos diferentes de *cruzamento* foram testados, uma vez que não há informação suficiente quanto à melhor configuração de um AG para a restauração de imagens.

O primeiro tipo de *cruzamento* testado foi o clássico. Segundo ele, fragmentos de informações genéticas (genes) são trocados entre dois indivíduos, resultando em indivíduos que possuem características dos dois pais.

Para o caso da restauração de imagens, este tipo de *cruzamento* foi adaptado da seguinte forma: uma imagem é seccionada horizontalmente, de acordo com o *ponto de cruzamento* escolhido, sendo que cada novo indivíduo é formado pela metade superior de um pai e pela metade inferior do outro. Isso significa que dois indivíduos são escolhidos e um *ponto de cruzamento* é determinado entre 1 e 254 (a imagem é composta de 256 linhas e 256 colunas numeradas de 0 a 255). Os dois indivíduos são desdobrados em dois fragmentos (resultando num *cruzamento de um único ponto*) e os novos indivíduos são formados a partir de uma parte de um pai e uma parte de outro.

Se a probabilidade de *cruzamento* determinar que a operação não deve ocorrer, então o *ponto de cruzamento* será igual a 255, significando que os pais não serão seccionados e não gerarão filhos.

O problema com este tipo de cruzamento é que, se uma das imagens-pai for bem mais clara do que o outro pai, os filhos resultantes apresentarão regiões desconexas ou destoantes de cor.

Na Fig. 6.2 é apresentado o resultado da restauração com o *cruzamento* clássico, após 50 gerações, com uma população de 20 indivíduos e probabilidade de *cruzamento* de 98% e de mutação igual a 0%. É visível o resultado de cruzamentos sucessivos através da presença de várias faixas horizontais de intensidades diferentes de sua vizinhança.

O outro tipo de *cruzamento* testado é ligeiramente diferente, pois atua nas cadeias binárias (de 8 *bits*, numerados de 0 a 7) que representam os valores da intensidade dos pixels de cada imagem, ou seja, nos genes que compõem os indivíduos. Por esse motivo, ele foi batizado de *cruzamento genético*. Um ponto de *cruzamento* é escolhido aleatoriamente para efetuar o seccionamento, podendo apresentar valores entre 1 e 6 (2 genes). O ponto de *cruzamento* poderá ser igual a 7 se este não ocorrer (o índice associado aos *bits* que compõem os dois genes varia de 0 a 7). Apesar de os indivíduos selecionados para o cruzamento serem imagens, quem sofrerá a ação do operador de *cruzamento genético* serão os pixels de cada imagem selecionada. A Fig. 6.3 ilustra o operador de *cruzamento genético* em mais detalhes, para o caso em que o ponto de cruzamento (seccionamento) corresponde ao *bit* 4.

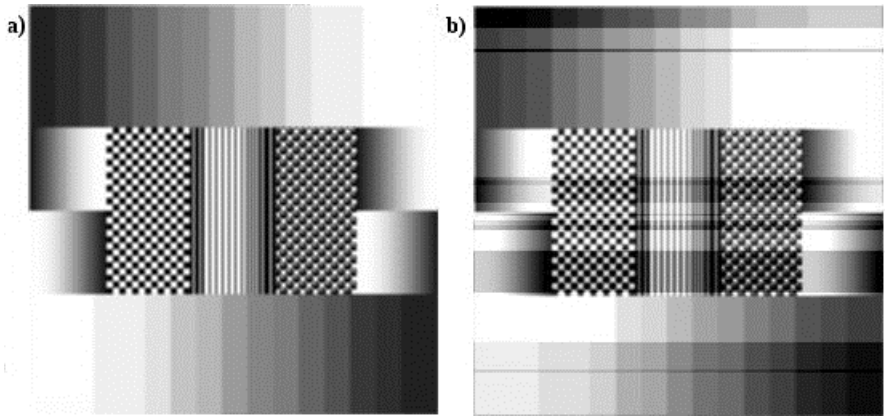


Figura 6.2: Restauração com cruzamento clássico (b) de uma imagem com borramento gaussiano (a). $P_c = 98\%$ e $P_m = 0\%$.

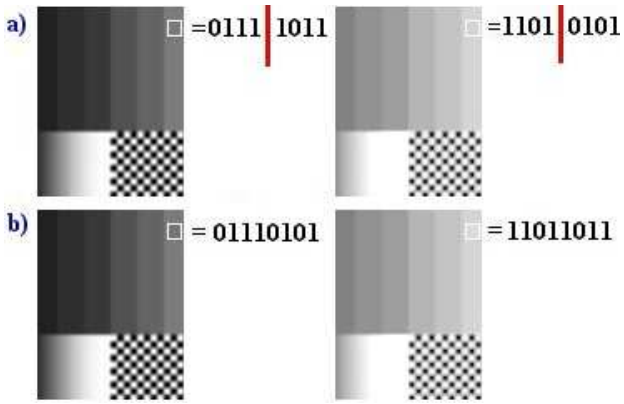


Figura 6.3: Emprego do operador de cruzamento genético. (a) pais. (b) filhos.

A Fig. 6.4 mostra o resultado da restauração com o *cruzamento genético* após 50 gerações, com uma população de 20 indivíduos e probabilidade de crossover de 78% e de mutação igual a 0%.

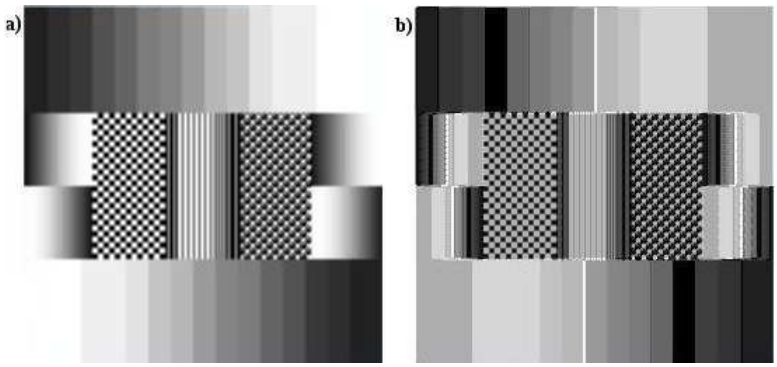


Figura 6.4: Restauração com cruzamento genético (b) de uma imagem com borramento gaussiano (a). $P_c = 78\%$ e $P_m = 0\%$.

Na Fig. 6.5 é apresentado o resultado da restauração empregando a mesma configuração, considerada no caso anterior, porém com uma probabilidade de *cruzamento* de apenas 10%. A avaliação feita por um observador seria que, neste caso, valores reduzidos da probabilidade de cruzamento levaram a melhores resultados.

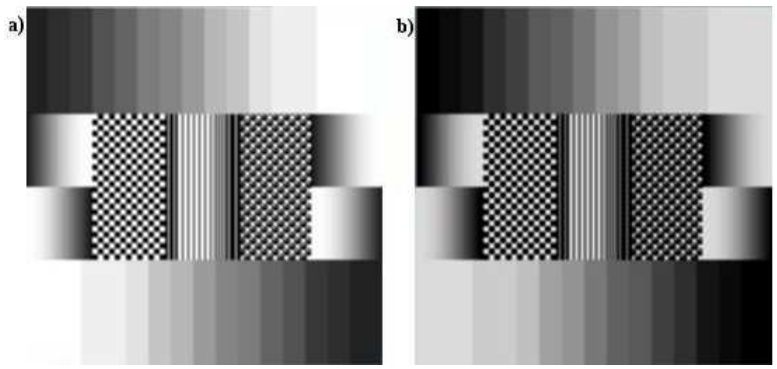


Figura 6.5: Restauração com cruzamento genético (b) de uma imagem com borramento gaussiano (a). $P_c = 10\%$ e $P_m = 0\%$.

Deve ser observado que em todos os casos aqui apresentados tem-se a probabilidade de mutação igual a zero, uma vez que os testes com valores mais elevados

levaram a resultados de qualidade bem inferior em relação à imagem com borramento. As imagens resultantes das restaurações empregando probabilidades de mutação diferentes de zero apresentaram um comportamento ruidoso.

Na Fig 6.6 é apresentado o resultado da restauração com os mesmos valores utilizados na geração da imagem apresentada na Fig. 6.5, porém com 1% de probabilidade de mutação.

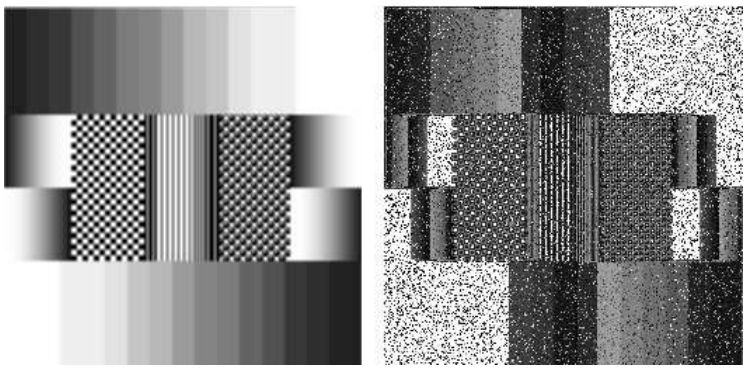


Figura 6.6: Restauração com cruzamento genético (b) de uma imagem com borramento gaussiano (a). $P_c = 10\%$ e $P_m = 1\%$.

Finalizando, ressalta-se que quanto maior o número de gerações e de indivíduos da população, maior também o tempo de processamento necessário para se realizar a restauração das imagens. Para 50 gerações e 20 indivíduos, os tempos de processamento variaram entre 10 e 15 minutos, num computador com processador $AMD\ K6II$ de $500MHz$ e $128MB$ de memória RAM.

Capítulo 7

Outras Estratégias

Uma estratégia que tem levado a resultados promissores é a combinação de métodos de restauração. O uso da Transformada de Fourier (FFT) para a geração da imagem de referência a ser empregada na restauração com o funcional de Tikhonov (Furtado, 2002, Furtado et al., 2002, 2003) é descrita na próxima seção.

Outras combinações, que se encontram em fase de implementação, consistem no uso de redes neurais e/ou métodos estocásticos para a geração de estimativas iniciais, e o uso da morfologia matemática como um pós-processamento, para a restauração de imagens de AFM com o funcional de Tikhonov.

7.1 Combinação da Regularização de Tikhonov com a FFT

Pode-se combinar a filtragem no domínio de freqüência (FFT) e a filtragem no domínio do espaço (Tikhonov), visando a obtenção de um compromisso ótimo entre a suavização do ruído aditivo e a nitidez (contraste), proporcionando melhorias significativas na qualidade das imagens.

Em uma primeira etapa emprega-se a FFT sobre uma imagem biológica de AFM. Posteriormente, este resultado é adotado como referência ($\overline{x}$) para a restauração da imagem de AFM propriamente dita, através do método de regularização de Tikhonov, gerando-se ciclos subseqüentes de tratamento a partir da última imagem restaurada, utilizando-a como referência para a próxima restauração (Fig 7.1b).

A Fig. 7.2b ilustra a restauração da imagem de um conjunto de filamentos de DNA de 200nm x 200nm (Fig. 7.2a), a partir da FFT. Pode-se observar uma suavização do ruído aditivo, porém pouca nitidez nos contornos. Aqui foi feito um corte na freqüência espacial de 0,3 ciclos/pixel.

Buscando destacar a nitidez dos contornos da solução apresentada pela FFT (Fig. 7.2b), utilizou-se a regularização de Tikhonov para o tratamento desta imagem. Portanto, esta imagem foi utilizada como referência para a restauração da imagem da Fig 7.2a, sendo que diferentes parâmetros foram empregados para a realização da restauração, como mostram as Figs 7.2c a 7.2f. Em cada caso pode-se observar níveis de contraste distintos. Porém, em todas elas a nitidez dos contornos foram realçadas, como era esperado. Caberia ao especialista avaliar qual dos resultados seria o mais satisfatório.

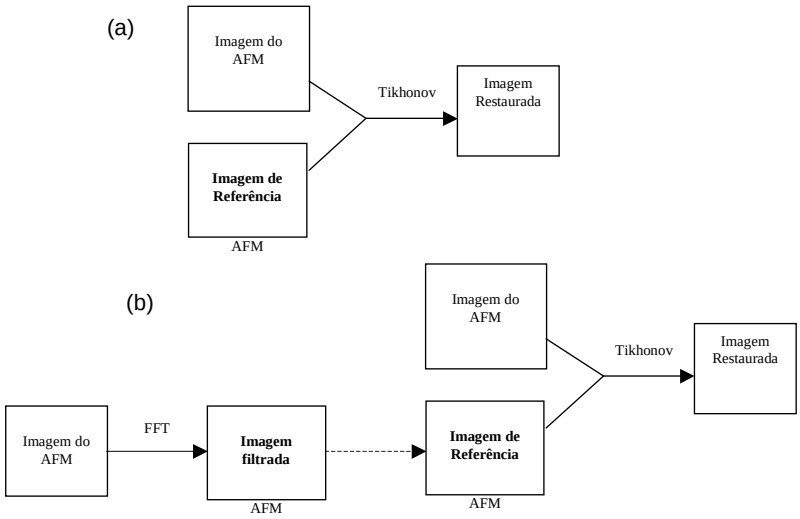


Figura 7.1: Esquema de funcionamento da regularização de Tikhonov (a). Esquema de funcionamento da combinação da FFT com a regularização de Tikhonov (b).

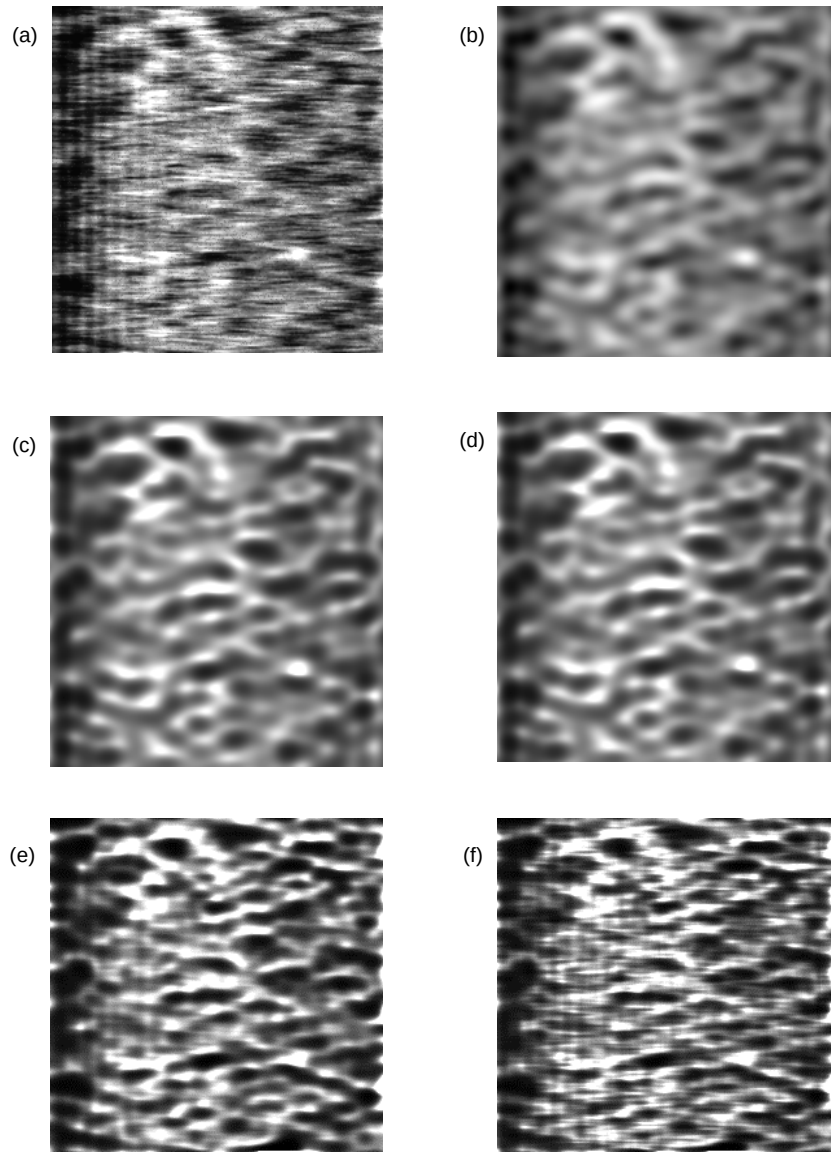


Figura 7.2: Imagens restauradas a partir da combinação da FFT com a Regularização de Tikhonov; (a) imagem obtida pelo AFM, (b) restaurada através da FFT, (c) restaurada com uma PSF de dim $= 21 \times 21$, $q \to 0$, $\alpha = 0,07$, (d) dim $= 21 \times 21$, $q = 1$, $\alpha = 0,07$, (e) dim $= 21 \times 21$, $q \to 0$, $\alpha = 0,03$, (f) dim $= 15 \times 15$, $q \to 0$, $\alpha = 0,03$.

Capítulo 8

Referências Bibliográficas

Anteneodo, C., Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Maximum Entropy Method for Restoration of Atomic Force Microscopy Images of Biological Samples", Anais do XXII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, pp. 41-42, São Lourenço, 1999.

Argento, C. e French, R. H., "Parametric Tip Model and Force-Distance Relation for Hamaker Constant Determination from Atomic Force Microscopy", *J. Appl. Phys.*, Vol. 80, pp. 6081-6090, 1996.

Banham, M. R. e Katsaggelos, A. K., "Digital Image Restoration", *IEEE Signal Processing Magazine*, pp. 24-41, 1997.

Bergland, G. D., "A Guided Tour of the Fast Fourier Transform", *IEEE Spectrum*, Vol. 6, pp. 41-52, 1969.

Berriel, L. R., Bescos, J. e Santisteban, A., "Image Restoration for a Defocused Optical System", *Applied Optics*, Vol. 22, No. 18, pp. 2772-2780, 1983.

Bevilacqua, A. e Piccolomini, E. L.,"Parallel Image Restoration on Parallel and Distributed Computers", *Parallel Computing*, Vol. 26, pp. 495-506, 2000.

Binnig, G., Quate, C. F. e Gerber, C. H., "Atomic Force Microscope", *Phys. Rev. Lett.*, Vol. 56, No. 9, pp. 930-933, 1986.

Brailean, J. C. e Katsaggelos, A. K., "Simultaneous Recursive Displacement Estimation and Restoration of Noisy-Blurred Image Sequences", *IEEE Trans. Image Process.*, Vol. 4, No. 9, pp. 1236-1251, 1995.

Bregman, L. M., "The Relaxation Method of Finding the Common Point of Convex Sets and its Application to the Solution of Problems in Convex Programming", *Zh. Vĭjchisl. Mat. Mat. Fiz.*, Vol. 7, No. 3, pp. 620-631, 1967.

Burton, D., Moore, G. J. e Fitzgerald, W. J., "Bayesian Model Selection and Parameter Estimation Applied to Sea Floor Pressure Data", em Maximum Entropy

and Bayesian Methods, Kluwer Academic Pub., pp. 185-194, 1990.

Carita Montero, R. F., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Natural Base Construction for Absorption Coefficient Estimation in Heterogeneous Participating Media with Divergent Beams", Proc. 3rd International Conference on Inverse Problems in Engineering: Theory and Practice, Port Ludlow, Washington, EUA, pp. 389-395, ISBN 0-7918-1991-4, 1999.

Carita Montero, R. F., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Absorption Coefficient Estimation in Heterogeneus Media Using a Domain Partition Consistent with Divergent Beams", *Inverse Problems in Engineering*, Vol. 9, pp. 587-617, 2001.

Carita Montero, R. F., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Reconstruction of a Combination of the Absorption and Scattering Coefficients with a Discrete Ordinates Method Consistent with the Source-Detector System", *Inverse Problems in Engineering*, aceito para publicação, 2003.

Castle, J. E. e Zhdan, P. A., "Characterization of Surface Topography by SEM and SFM: Problems and Solutions", *J. Phys. D: Appl. Phys.*, Vol. 30, pp. 722-740, 1997.

Censor, Y. e Lent, A., "An Iterative Row-Action Method for Interval Convex Programming", *J. Optimization Theory and Applications*, Vol. 34, No. 3, pp. 321-353, 1981.

Cidade, G. A. G., "Desenvolvimento de Metodologias de Aquisição e Processamento de Imagens Biológicas em Microscopia de Força Atômica", Tese de Doutorado, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, 2000.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Reconstrução de Imagens com Regularização de Tikhonov e Determinação do Parâmetro de Regularização Ótimo", Anais do II Simpósio Interdisciplinar em Tecnologia e Saúde, p. 26, Rio de Janeiro, 1998a.

Cidade, G. A. G., Anteneodo, C., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Deconvolução de Dados Simulados com a Regularização de Tikhonov", Anais do I Encontro de Modelagem Computacional, Nova Friburgo, 1998b.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Proposta de um Funcional Geral de Regularização para a Restauração de Imagens Biológicas Obtidas com Microscópios de Força Atômica", Anais do II Encontro de Modelagem Computacional, Nova Friburgo, 1999a.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "The Evaluation of a General Regularization Functional (q-Discrepancy) for the Restoration of Biological Atomic Force Microscopy Images", Proc. 3rd Italian-Latinoamerican Conference on Applied and Industrial Mathematics, Petrópolis, 1999b.

Cidade, G. A. G., Anteneodo, C., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "A Generalized Approach for Atomic Force Microscopy Image Restoration with Bregman Distances as Tikhonov Regularization Terms", Proc. 3rd International Conference

on Inverse Problems in Engineering: Theory and Practice, Port Ludlow, EUA, pp. 431-435, ISBN 0-7918-1991-4, 1999c.

Cidade, G. A. G., Anteneodo, C., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "A Generalized Approach for Atomic Force Microscopy Image Restoration with Bregman Distances as Tikhonov Regularization Terms", *Inverse Problems in Engineering*, Vol. 8, pp. 457-472, 2000a.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Resolution Enhancement in Atomic Force Microscopy Biological Image Restoration by Means of a General One Parameter Functional as Tikhonov's Regularization", Proc. 2000 International Conference on Mathematics and Engineering Techniques in Medicine and Biological Sciences, Las Vegas, EUA, 2000b.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "The Evaluation of a General Regularization Term in Tikhonov's Functional for the Restoration of Biological Atomic Force Microscopy Images", Anais do Mini-simpósio em Problemas Inversos em Medicina, Engenharia e Geofísica, XXIII Congresso Nacional de Matemática Aplicada e Computacional, pp. 52-61, Santos, 2000c.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Restauração de Imagens Biológicas Obtidas com Um Microscópio de Força Atômica (AFM) Através do Método de Regularização de Tikhonov - Uma Abordagem em Problemas Inversos", Anais do XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, Florianópolis, 2000d.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Evaluation and Application of a General Regularization Functional in Image Restoration", Anais do III Encontro de Modelagem Computacional, pp. 93-102, Nova Friburgo, 2000e.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C., Silva Neto, A. J. e Bisch, P. M., "The Proposal of a General Regularization Functional in the Scope of Tikhonov's Methodology for the Restoration of Biological Atomic Force Microscopy Images - Evaluation and Applications", Anais do IV Congresso de Biofísica do Cone Sul, Campinas, 2000f.

Cidade, G. A. G., Roberty, N. C., Silva Neto, A. J. e Bisch, P. M., "The Restoration of AFM Biological Images Using the Tikhonov's Regularization Method - The Proposal of a General Regularization Functional for Best Contrast Results", *Acta Microscopica*, Vol. 10, Suppl. 1, pp. 157-161, 2001a.

Cidade, G. A. G., França, L. T. C., Weissmüller, G., Silva Neto, A. J., Roberty, N. C., Moraes, M. B., Prazeres, G. M. P., Hill, C. E. M., Ribeiro, S. J. M., Souza, G. G. B., Sá, D. S. M. M. e Bisch, P. M., "A Microscopia de Força Atômica como Ferramenta em Biomedicina e Biotecnologia", II Congreso Latino-Americano de Biomateriais, Belo Horizonte, 2001b.

Cidade, G. A. G., Costa, L. T., Weissmüller, G., Silva Neto, A. J., G., Roberty, N. C., Moraes, M. B., Prazeres, G. M. P., Hill, C. E. M., Ribeiro, S. J. M., Souza, G. G. B., Teixeira, L. S. P., Monçores, M. C. e Bisch, P. M., "Atomic Force Microscopy

as a Tool for Biomedical and Biotechnological Studies", *Artificial Organs*, Vol. 27, No. 5, pp. 447-451, 2003.

Csiszár, I., "Why Least Squares and Maximum Entropy? An Axiomatic Approach to Inference for Linear Inverse Problems", *The Annals of Statistics*, Vol. 19, No. 4, pp. 2032-2066, 1991.

Dongmo, S., Troyon, M., Vautrot, P., Delain, E. e Bonnet, N., "Blind Restoration Method of Scanning Tunneling and Atomic Force Microscopy Images", *J. Vac. Sci. Technol. B.*, Vol. 14, No. 2, pp. 1552-1556, 1996.

Dongmo, L. S., Villarrubia, J. S., Jones, S. N., Renegar, T. B., Postek, M. T. e Song, J. F., "Experimental Test of Blind Tip Reconstruction for Scanning Probe Microscopy", *Ultramicroscopy*, Vol. 85, pp. 141-153, 2000.

Efstratiadis, S. N. e Katsaggelos, A. K., "Adaptive Iterative Image Restoration with Reduced Computational Load", *Optical Engineering*, Vol. 29, No. 12, pp. 1458-1468, 1990.

Franklin, J. N., "Well-Posed Stochastic Extensions of Ill-Posed Linear Problems", *J. Math. Anal. Applications*, Vol. 31, pp. 682-716, 1970.

Furtado, V., "Avaliação do Uso do Funcional de Tikhonov com Uma Família de Funções de Regularização a Um Parâmetro para a Restauração de Imagens Biológicas", Dissertação de Mestrado, Instituto Politécnico, UERJ, 2002.

Furtado, V., Cidade, G. A. G., Roberty, N. C. e Silva Neto, A. J., "Avaliação do Funcional de Tikhonov Empregando uma Família de Funções de Regularização a um Parâmetro para a Restauração de Imagens Biológicas - Proposta do Método de Realimentação", Anais do V Encontro de Modelagem Computacional, pp. 242-252, Nova Friburgo, 2002.

Furtado, V., Silva Neto, A. J., Cidade, G. A. G. e Roberty, N. C., "Tikhonov's Regularization and a Feedback Strategy for AFM Image Restoration", *Acta Microscopica*, Vol. 12, Suppl. A, 2003, aceito para publicação.

Gonzales, R. C. e Wintz, P., "Image Restoration", em *Digital Image Processing*, *Addison-Wesley Publ. Co.*, 1987.

Guan, L. e Ward, R. K., "Restoration of Stochastically Blurred Images by the Geometrical Mean Filter", *Optical Engineering*, Vol. 29, No. 4, pp. 289-295, 1990.

Gull, S. F. e Skilling, J., " Maximum Entropy Method in Image Processing", *IEE Proceedings*, Vol. 131-F, No. 6, pp. 646-659, 1984.

Hadjiiski, L., Münster, S., Oesterschulze, E. e Kassing, R., "Neural Network Correction of Nonlinearities in Scanning Probe Microscope Images", *J. Vac. Sci. Technol. B*, Vol. 14, No. 2, pp. 1563-1568, 1996.

Hartmann, U., "Van Der Waals Interactions Between Sharp Probes and Flat Sample Surfaces", *Physical Rev. B*, Vol. 43, No. 3, pp. 2404-2407, 1991.

Hansma, P. K., Ellings, V. B., Marti, O. e Bracker, C. E., "Scanning Tunneling Microscopy and Atomic Force Microscopy: Application to Biology and Technology", *Science*, Vol. 242, pp. 209-242, 1988.

Heijmans, H. J. A. M., "Mathematical Morphology: A Modern Approach in Image Processing Based on Algebra and Geometry", *SIAM Review*, Vol. 37, No. 1, pp. 1-36, 1995.

Hou, Z., "Adaptive Singular Value Decomposition in Wavelet Domain for Image Denoising", *Patttern Recognition*, Vol. 36, pp. 1747-1763, 2003.

Jarausch, K. F., Stark, T. J. e Russel, P. E., "Silicon Structures for *In Situ* Characterization of Atomic Force Microscope Probe Geometry", *J. Vac. Sci. Technol. B*, Vol. 14, No. 6, pp 3425-3430, 1996.

Jeng, F. C. e Woods, J. W., "Inhomogeneous Gaussian Image Models for Estimation and Restoration", *IEEE Trans. Acoust., Speech, Signal Proc.*, Vol. 36, No. 8, pp. 1305-1312, 1988.

Jiang, T. e Evans, D. J., "Image Restoration by Combining Local Genetic Algorithm with Adaptive Pre-Conditioning", *Intern. J. Computer Math.*, Vol. 76, pp. 279-295, 2001.

Kang, M. G. e Katsaggelos, A. K., "General Choice of the Regularization Functional in Regularized Image Restoration", *IEEE Trans. Image Process.*, Vol. 4, No. 5, pp. 594-602, 1995.

Kapur, J. N. e Kesavan, H. K., "Entropy Optimization Principles with Applications", *Academic Pres Inc.*, 1992.

Karayiannis, N. B. e Venetsanopoulos, A. N., "Regularization Theory in Image Restoration: The Regularizing Operator Approach", *Optical Engineering*, Vol. 28, No. 7, pp. 761-780, 1989.

Katsaggelos, A. K., "Iterative Restoration Algorithms", *Optical Engineering*, Vol. 28, No. 7, pp. 735-748, 1989.

Katsaggelos, A. K., Biemond, J., Schafer, R. W. e Mersereau, R. M., "A Regularized Iterative Image Restoration Algorithm", *IEEE Trans. Signal Process.*, Vol. 39, No. 4, pp. 914-929, 1991.

Kauati, A. T., Silva Neto, A. J. e Roberty, N. C., "A Source-Detector Methodology for the Construction and Solution of the One-Dimensional Inverse Transport Equation", *Inverse Problems in Engineering.*, Vol. 9, pp. 45-66, 2001.

Kirsch, A., "An Introduction to the Mathematical Theory of Inverse Problems", em *Applied Mathematical Sciences*, Vol. 120, Springer-Verlag, 1996.

Kokaram, A. C., Persad, N., Lasenby, J., Fitzgerald, W. J., McKinnon, A. e Welland, M., "Restoration of Images from the Scanning-Tunneling Microscope", *Applied Optics*, Vol. 34, No. 23, pp. 5121-5132, 1995.

Kress, R., "Linear Integral Equations", em *Applied Mathematical Sciences*, Vol. 82, Springer-Verlag, 1989.

Kreyszig, E., "Advanced Engineering Mathematics", 3rd Ed., Wiley International Ed., 1972.

Lagendijk, R. L., Biemond, J. e Boekee, D. E., "Regularized Iterative Image Restoration with Ringing Reduction", *IEEE Trans. Acoust., Speech, Signal Proc.*, Vol. 36, No. 12, pp. 1874-1888, 1988.

Lagendijk, R. L., Biemond, J. e Boekee, D. E., "Identification and Restoration of Noisy Blurred Images Using the Expectation-Maximization Algorithm", *IEEE Trans. Acoust., Speech, Signal Proc.*, Vol. 38, No. 7, pp. 1180-1191, 1990.

Lay, K. T. e Katsaggelos, A. K., "Image Identification and Restoration Based on the Expectation-Maximization Algorithm", *Optical Engineering*, Vol. 29, No. 5, pp. 436-445, 1990.

Levadny, V. G., Belaya, M. L., Pink, D. A. e Jericho, M. H., "Theory of Electrostatic Effects in Soft Biological Interfaces Using Atomic Force Microscopy", *Biophys. J.*, Vol. 70, pp. 1745-1752, 1996.

Li, X., Jiang, T. e Evans, D. J., "Medical Image Reconstruction Using a Multi-Objective Genetic Local Search Algorithm", *Intern. J. Computer Math.*, Vol. 74, pp. 301-314, 2000.

Liew, A. W. C., Law, N. F. e Nguyen, D. T., "Multiple Resolution Image Restoration", *IEEE Proc. - Vis. Image Signal Process.*, Vol. 144, No. 4, pp. 199-206, 1997.

Lim, J. S., "Image Restoration", em *Two-Dimensional Signal and Image Processing*, Prentice-Hall International Inc., 1990.

Liu, Z. K. e Xiao, J. Y., "Restoration of Blurred TV Picture Caused by Uniform Linear Motion", *Comput. Vision, Graphics, Image Proc.*, Vol. 44, pp. 30-34, 1988.

Markiewicz, P. e Goh, M. C., "Simulation of Atomic Force Microscope Tip-Sample / Sample-Tip Reconstruction", *J. Vac. Sci. Technol. B*, Vol. 13, No. 3, pp. 1115-1118, 1995a.

Markiewicz, P. e Goh, M. C., "Atomic Force Microscope Tip Deconvolution Using Calibration Arrays", *Rev. Sci. Instrum.*, Vol. 66, No. 5, pp. 3186-3190, 1995b.

May, K., Stathaki, T. e Constantinides, A., "A Simulated Annealing Genetic Algorithm for Blind Deconvolution of Nonlinearly Degraded Images", *Proc. IEEE Workshop on Nonlinear Signals and Image Processing*, EUA, 1997.

Nagy, J. G., Plemmons, R. J. e Torgersen, T. C., " Iterative Image Restoration Using Approximate Inverse Preconditioning", *IEEE Trans. Image Process.*, Vol. 5, No. 7, pp. 1151-1162, 1996.

Press, W. H., Teukolsky, S. A., Vetterling, W. T. e Flannery, B. P., "Numeri-

cal Recipes in Fortran 77 - The Art of Scientific Computing", 2ª edição, Vol. 1, Cambridge Univ. Press, 1996.

Reeves, S. J. e Mersereau, R. M., "Optimal Estimation of the Regularization Parameter and Stabilizing Functional for Regularized Image Restoration", *Optical Engineering*, Vol. 29, No. 5, pp. 446-454, 1990.

Ribeiro, S. J. M., Hill, C. E. M., Cidade, G. A. G., Soeiro, F. J. C. P. e Silva Neto, A. J., "Algoritmos Genéticos Aplicados em Restauração de Imagens de Microscopia de Força Atômica", Proc IV Encontro de Modelagem Computacional, Nova Friburgo, Brasil, 2001.

Rivera, M. e Marroquin, J. L., "Adaptive Rest Condition Potentials: First and Second Order Edge-Preserving Regularization", *Computer Vision and Image Understanding*, Vol. 88, pp. 76-93, 2002.

Schneir, J., Villarrubia, J. S., McWaid, T. H., Tsai, V. W. e Dixson, R., "Increasing the Value of Atomic Force Microscopy Process Metrology Using a High-Accuracy Scanner, Tip Characterization, and Morphological Image Analysis", *J. Vac. Sci. Technol. B*, Vol. 14, No. 2, pp. 1540-1546, 1996.

Sezan, M. I. e Stark, H., "Image Restoration by Convex Projections in the Presence of Noise", *Applied Optics*, Vol. 22, No. 18, pp. 2781-2789, 1983.

Sezan, M. I. e Tekalp, A. M., " Survey of Recent Developments in Digital Image Restoration", *Optical Engineering*, Vol. 29, No. 5, pp. 393-404, 1990.

Shanon, C. E., "A Mathematical Theory of Communication", *The Bell System Technical Journal*, Vol. 27, No. 3, pp. 379-656, 1948.

Shluger, A. L., Livshits, A. I., Foster, A. S. e Catlow, C. R. A., "Models of Image Contrast in Scanning Force Microscopy on Insulators", *J. Phys.: Condens. Matter*, Vol. 11, pp. R295-R322, 1999.

Silva Neto, A. J., "Explicit and Implicit Formulations for Inverse Radiative Transfer Problems", Proc. 5th World Congress on Computational Mechanics, Mini-Symposium MS125 - Computational Treatment of Inverse Problems in Mechanics, Viena, Áustria, 2002.

Silva Neto, A. J. e Moura Neto, F. D., "Escolha de Modelos - Problemas Inversos em Engenharia, Notas de Aula do Minicurso Técnico MC05, XXII Congresso Nacional de Matemática Aplicada e Computacional, Santos, Brasil, 1999.

Silva Neto, A. J. e Soeiro, F. J. C. P., "Estimation of Phase Function of Anisotropic Scattering with a Combination of Gradient Based and Stochastic Global Optimization Methods", Proc. 5th World Congress on Computational Mechanics, Viena, Áustria, 2002.

Silva Neto, A. J. e Soeiro, F. J. C. P., "Solution of Implicitly Formulated Inverse Heat Transfer Problems with Hybrid Methods, Mini-Symposium Inverse Problems from Thermal/Fluids and Solid Mechanics Applications", 2nd MIT Conference on

Computational Fluid and Solid Mechanics, Cambridge, EUA, 2003.

Skilling, J. e Bryan, R. K., "Maximun Entropy Image Reconstruction: General Algorithm", *Mon. Natl. R. Astr. Soc.*, Vol. 211, pp. 111-124, 1984.

Soeiro, F. J. C. P., Campos Velho, H. F. e Silva Neto, A. J., "Uso de Redes Neurais para a Geração de Estimativas Iniciais para a Solução de Problemas Inversos em Condução de Calor", XXVI Congresso Nacional de Matemática Aplicada e Computacional, São José do Rio Preto, Brasil, 2003.

Tikhonov, A. N. e Arsenin, V. Y., "Solution of III-Posed Problems", Wiley, New York, 1977.

Todd, B. A. e Eppell, S. J., "A Method to Improve the Quantitative Analysis of SFM Images at the Nanoscale", *Surface Science*, Vol. 491, pp. 473-483, 2001.

Trussell, H. J. e Civanlar, M. R., "The Feasible Solution in Signal Restoration", *IEEE Trans. Acoust. Speech, Signal Proc.*, Vol. ASSP-32, No. 2, pp. 201-212, 1984.

Trussell, H. J. e Fogel, S., "Identification and Restoration of Spatially Variant Motion Blurs in Sequencial Images", *IEEE Trans. Image Process*, Vol. 1, No. 1, pp. 123-126, 1992.

Vick, D., Brett, M. J. e Westra, K., "Porous Thin Films for the Characterization of Atomic Force Microscope Tip Morphology", *Thin Solid Films*, Vol. 408, pp. 79-86, 2002.

Villarrubia, J. S., "Morphological Estimation of Tip Geometry for Scanned Probe Microscopy", *Surface Science*, Vol. 321, pp. 287-300, 1994.

Villarrubia, J. S., " Algorithms for Scanned Probe Microscope Image Simulation, Surface Reconstruction, and Tip Estimation", *J. Res. Nat. Inst. Stand. Technol.*, Vol. 102, pp. 425-454, 1997.

Weisenhorn, A. L. e Hansma, P. K., "Forces in Atomic Force Microscopy in Air and Water", *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 54, No. 26, pp. 2651-2653, 1989.

Weisman, A. D., Dougherty, E. R., Mizes, H. A. e Miller, R. J. D., "Nonlinear Digital Filtering of Scanning-Probe-Microscopy Images by Morphological Pseudo-convolutions", *J. Appl. Phys.*, Vol. 71, No. 4, pp. 1565-1578, 1992.

Williams, P. M., Shakesheff, M. C., Davies, M. C., Jackson, D. E., Roberts, C. J. e Tendler, S. J. B., "Blind Reconstruction of Scanning Probe Image Data", *J. Vac. Sci. Technol. B*, Vol. 14, No. 2, pp. 1557-1562, 1996.

Wilson, D. L., Dalal, P., Kump, K. S., Benard, W., Xue, P., Marchant, R. E. e Eppel, S. J., "Morphological Modeling of Atomic Force Microscopy Imaging Including Nanostructure Probes and Fibrinogen Molecules", *J. Vac. Sci. Technol. B*, Vol. 14, No. 4, pp. 2407-2416, 1996.

Wu, N., "The Maximum Entropy Method", em Springer Series in Information

Science, Springer-Verlag, 1997.

Zervakis, M. E., Katsaggelos, A. K. e Kwon, T. M., "A Class of Robust Entropic Functionals for Image Restoration", *IEEE Trans. Image Process.*, Vol. 4, No. 6, pp. 752-773, 1995.

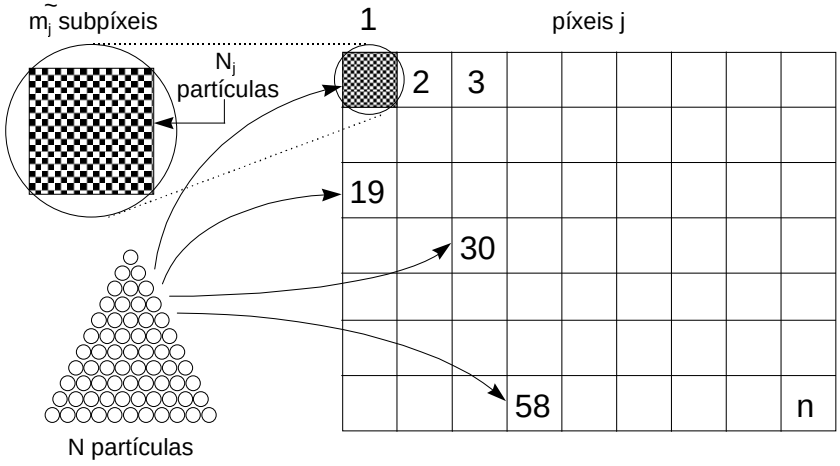
Zhang, L., Bao, P. e Wu, X., "Hybrid Inter and Intra - Wavelet Scale Image Restoration", *Pattern Recognition*, Vol. 36, pp. 1737-1746, 2003.

Apêndice A

Anexos

A.1 Entropia Configuracional de uma Imagem

A ilustração abaixo mostra a formação de uma imagem composta por intensidades aleatoriamente distribuídas em j pixels,



de tal forma que o número de maneiras em que N partículas podem ser colocadas em n pixels, considerando que a posição j contenha N_j partículas, é dado por

$$W\left(\widetilde{N}\right) = \frac{N!}{\prod_{j=1}^{n} N_j!} \tag{A.1}$$

onde $\widetilde{N} = (N_1, N_2, ..., N_n)$; portanto, $W\left(\widetilde{N}\right)$ equivale ao número de combinações possíveis, para uma mesma distribuição de intensidades $\widetilde{N}$ (multiplicidade). Como para cada píxel j existem $\widetilde{m}_j^{N_j}$ maneiras de se colocar N_j partículas em subpíxeis, o número de maneiras de se obter a mesma distribuição de intensidades $\widetilde{N}$ é dado por

$$V\left(\widetilde{N}\right) = W\left(\widetilde{N}\right)\prod_{j=1}^{n}\widetilde{m}_j^{N_j} = \frac{N!}{\prod_{j=1}^{n} N_j!}\prod_{j=1}^{n}\widetilde{m}_j^{N_j} \tag{A.2}$$

em que M^N corresponde ao número total de distribuições possíveis. Considerando que as intensidades estejam uniformemente distribuídas, a probabilidade de ocorrência de uma distribuição $\widetilde{N}$ qualquer é dada por:

$$p\left(\widetilde{N}\right) = \frac{V\left(\widetilde{N}\right)}{M^N} \tag{A.3}$$

Ao empregar a aproximação de Stirling ($N! \approx N^N e^{-N}$) na Eq. (A.2)

$$V\left(\widetilde{N}\right) = \frac{N^N e^{-N}}{\prod_{j=1}^{n} N_j^{N_j} e^{-N_j}}\prod_{j=1}^{n}\widetilde{m}_j^{N_j} \tag{A.4}$$

e, ao substituir (A.4) em (A.3)

$$\begin{aligned} p\left(\widetilde{N}\right) &= \tfrac{V\left(\widetilde{N}\right)}{M^N} = \tfrac{N^N e^{-N}}{M^N}\prod_{j=1}^{n}\frac{\widetilde{m}_j^{N_j}}{N_j^{N_j} e^{-N_j}} \\ &= \left(\tfrac{N}{M}\right)^N e^{-N}\prod_{j=1}^{n}\left(\frac{\widetilde{m}_j}{N_j}\right)^{N_j} e^{N_j} \end{aligned} \tag{A.5}$$

$$\begin{aligned}
\log\left(p\left(\widetilde{N}\right)\right) &= \log\left[\left(\tfrac{N}{M}\right)^{N} e^{-N} \prod_{j=1}^{n}\left(\frac{\widetilde{m}_j}{N_j}\right)^{N_j} e^{N_j}\right] \\
&= \log\left[e^{-N}\prod_{j=1}^{n}\left(\frac{N}{M}\right)^{N_j}\left(\frac{\widetilde{m}_j}{N_j}\right)^{N_j} e^{N_j}\right] \\
&= \log\left[e^{-N}\prod_{j=1}^{n}\left(\frac{\frac{\widetilde{m}_j}{M}}{\frac{N_j}{N}}\right)^{N_j} e^{N_j}\right]
\end{aligned}$$

Fazendo $z_j = \frac{N_j}{N}$ e $\widehat{m}_j = \frac{\widetilde{m}_j}{M}$,

$$\begin{aligned}
\log\left(p\left(\widetilde{N}\right)\right) &= \log e^{-N} + \sum_{j=1}^{n}\log\left(\frac{\widehat{m}_j}{z_j}\right)^{N_j} e^{N_j} \\
&= -N + \sum_{j=1}^{n}\log\left(\frac{\widehat{m}_j}{z_j}\right)^{N_j} + N \\
&= \tfrac{N}{N}\sum_{j=1}^{n} -N_j \log\left(\frac{z_j}{\widehat{m}_j}\right) = -N\sum_{j=1}^{n} z_j \log\left(\frac{z_j}{\widehat{m}_j}\right)
\end{aligned}$$

Finalmente

$$\boxed{\log\left(p\left(\widetilde{N}\right)\right) = -N\sum_{j=1}^{n} z_j \log\left(\frac{z_j}{\widehat{m}_j}\right)}$$

A.2 Funcional Geral de Regularização

Empregando a medida de Csiszár (Kapur e Kesavan, 1992) aqui denominada *q-discrepância*

$$\eta_q = \frac{1}{1+q}\sum_p f_p \frac{f_p^q - m^q}{q} \tag{A.6}$$

na construção de distâncias de Bregman (Bregman, 1967)

$$D\left(\eta_q\left(f\right), \eta_q\left(f^0\right)\right) = \eta_q\left(f\right) - \eta_q\left(f^0\right) - \left\langle \nabla\eta_q\left(f^0\right), f - f_0\right\rangle \tag{A.7}$$

como uma forma de calcular o desvio do valor esperado $\frac{f_p^q}{(1+q)q}$ em relação a uma informação *prior* $\frac{m^q}{(1+q)q}$, representada por uma medida m no espaço de soluções, obtém-se

$$\begin{aligned} D\left(\eta_q\left(f\right), \eta_q\left(f^0\right)\right) = \quad & \tfrac{1}{1+q}\sum_p f_p \frac{f_p^q - m^q}{q} - \tfrac{1}{1+q}\sum_p f_p^0 \frac{\left(f_p^0\right)^q - m^q}{q} \\ & -\tfrac{1}{1+q}\sum_p \left(f_p^0 \frac{q\left(f_p^0\right)^{q-1} - 0}{q} + \frac{\left(f_p^0\right)^q - m^q}{q}\right)\left(f_p - f_p^0\right) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (1+q)D\left(\eta_q\left(f\right), \eta_q\left(f^0\right)\right) = \quad & \sum_p f_p \frac{f_p^q - m^q}{q} - \sum_p f_p^0 \frac{(f_p^0)^q - m^q}{q} \\ & -\sum_p (f_p^0)^q f_p - \sum_p f_p \frac{(f_p^0)^q - m^q}{q} \\ & +\sum_p (f_p^0)^{q+1} + \sum_p f_p^0 \frac{(f_p^0)^q - m^q}{q} \\ = \quad & \sum_p f_p \frac{f_p^q - m^q - (f_p^0)^q + m^q}{q} - \sum_p (f_p^0)^q \left(f_p - f_p^0\right) \\ = \quad & \sum_p f_p \frac{f_p^q - (f_p^0)^q}{q} - (f_p^0)^q \left(f_p - f_p^0\right) \end{aligned}$$

$$\boxed{D\left(\eta_q\left(f\right), \eta_q\left(f^0\right)\right) = \tfrac{1}{1+q}\sum_p f_p \frac{f_p^q - (f_p^0)^q}{q} - (f_p^0)^q \left(f_p - f_p^0\right)}$$

Definindo $f_p = \widehat{x}_p$ como o valor esperado de x, e $f_p^0 = \overline{x}_p$ como uma referência (*prior*), então

$$S = D_q(\widehat{x}, \overline{x}) = \frac{1}{1+q}\sum_{p=1}^{M\times M} \left\{ \widehat{x}_p \left[\frac{(\widehat{x}_p)^q - (\overline{x}_p)^q}{q}\right] - (\overline{x}_p)^q \left(\widehat{x}_p - \overline{x}_p\right)\right\} \tag{A.8}$$

1. *Entropia-Cruzada ($q \to 0$):*

$$S = D\left(\eta_q\left(\widehat{x}\right), \eta_q\left(\overline{x}\right)\right) = \sum_{p=1}^{M\times M} \left\{ \widehat{x}_p \left[\frac{\left(\widehat{x}_p\right)^q - 1}{q} - \frac{\left(\overline{x}_p\right)^q - 1}{q} \right] - \left(\overline{x}_p\right)^q \left(\widehat{x}_p - \overline{x}_p\right) \right\}$$

onde, após aplicada a aproximação $\lim_{q\to 0} \dfrac{(x)^q - 1}{q} = \ln(x)$, resulta

$$\begin{aligned} S = D\left(\eta_0\left(\widehat{x}\right), \eta_0\left(\overline{x}\right)\right) = & \sum_{p=1}^{M\times M} \left\{ \widehat{x}_p \left[\ln(\widehat{x}_p) - \ln(\overline{x}_p) \right] - \widehat{x}_p + \overline{x}_p \right\} \\ = & \sum_{p=1}^{M\times M} \left\{ \widehat{x}_p \left[\ln\left(\frac{\widehat{x}_p}{\overline{x}_p}\right) \right] - \widehat{x}_p + \overline{x}_p \right\} \\ = & -\sum_{p=1}^{M\times M} \left\{ \widehat{x}_p - \overline{x}_p - \widehat{x}_p \left[\ln\left(\frac{\widehat{x}_p}{\overline{x}_p}\right) \right] \right\} \end{aligned}$$

$$\boxed{S = -\sum_{p=1}^{M\times M} \left\{ \widehat{x}_p - \overline{x}_p - \widehat{x}_p \left[\ln\left(\frac{\widehat{x}_p}{\overline{x}_p}\right) \right] \right\}}$$

2. *Mínima energia ($q = 1$) :*

$$\begin{aligned} S = D\left(\eta_1\left(\widehat{x}\right), \eta_1\left(\overline{x}\right)\right) = & \tfrac{1}{2} \sum_{p=1}^{M\times M} \left\{ \widehat{x}_p \left(\widehat{x}_p - \overline{x}_p\right) - \left(\overline{x}_p\right)\left(\widehat{x}_p - \overline{x}_p\right) \right\} \\ = & \tfrac{1}{2} \sum_{p=1}^{M\times M} \left(\widehat{x}_p - \overline{x}_p\right)\left(\widehat{x}_p - \overline{x}_p\right) \\ = & \tfrac{1}{2} \sum_{p=1}^{M\times M} \left(\widehat{x}_p - \overline{x}_p\right)^2 \end{aligned}$$

$$\boxed{S = \tfrac{1}{2} \sum_{p=1}^{M\times M} \left(\widehat{x}_p - \overline{x}_p\right)^2}$$

A.3 Desenvolvimento das Expressões de F_{rs} e F_{mn} para o Funcional de Regularização de Tikhonov

Partindo do funcional

$$Q(\widehat{x}) = \sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[y(i,j) - \sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l)\widehat{x}(i+k,j+l)\right]^2 + \alpha S \tag{A.9}$$

$F_{rs} = \frac{\partial Q(\widehat{x})}{\partial \widehat{x}_{rs}}$ e $F_{mn} = \frac{\partial F_{rs}}{\partial \widehat{x}_{mn}}$ são determinados a partir do funcional geral de regularização

$$\begin{aligned} S = D_q(\widehat{x},\bar{x}) = \quad & \tfrac{1}{1+q}\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left\{\widehat{x}(i,j)\left[\frac{\widehat{x}^q(i,j) - \bar{x}^q(i,j)}{q}\right] - \right. \\ & \left. -\bar{x}^q(i,j)\left[\widehat{x}(i,j) - \bar{x}(i,j)\right]\right\} \end{aligned} \tag{A.10}$$

Fazendo $\widehat{x} = \widehat{x}(i,j)$ e $\bar{x} = \bar{x}(i,j)$ para simplificar a notação, escreve-se

$$\begin{aligned} F_{rs} = \frac{\partial Q(\widehat{x})}{\partial \widehat{x}_{rs}} = \quad & -2\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[y(i,j) - \sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l)\widehat{x}(i+k,j+l)\right] \\ & \times\left(\sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l).\frac{\partial \widehat{x}(i+k,j+l)}{\partial \widehat{x}_{rs}}\right) - \\ & -\tfrac{\alpha}{1+q}\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[\frac{\widehat{x}\left[q\widehat{x}^{q-1}\right] + \left[\widehat{x}^q - \bar{x}^q\right]}{q} - \bar{x}^q\right] \end{aligned}$$

onde,

$$\frac{\partial \widehat{x}(i+k,j+l)}{\partial \widehat{x}_{rs}} = \delta(i+k,r)\delta(j+l,s), \qquad r = i+k,\ s = j+l$$

$$\sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l).\frac{\partial \widehat{x}(i+k,j+l)}{\partial \widehat{x}_{rs}} = b(r-i,s-j), \qquad k = r-i,\ l = s-j$$

$$\frac{\partial \widehat{x}(i+k,j+l)}{\partial \widehat{x}_{rs}} = \delta(i,r).\delta(j,s)$$

em que $\delta(.)$ corresponde ao *delta de Kronecker*. Portanto,

$$\begin{aligned} F_{rs} = \quad & -2\left[\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left(y(i,j) - \sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l)\widehat{x}(i+k,j+l)\right)\right. \\ & \left.\times\, b(r-i,s-j)\right] + \tfrac{\alpha}{q}\left(\widehat{x}^q_{rs} - \bar{x}^q_{rs}\right) \end{aligned}$$

Fazendo: $F_{mn} = \frac{\partial F_{rs}}{\partial \widehat{x}_{mn}} = \frac{\partial^2 Q(\widehat{x})}{\partial \widehat{x}_{mn} \partial \widehat{x}_{rs}}$

$$F_{mn} = -2\sum_{i=1}^{M}\sum_{j=1}^{M}\left[-\sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l)\frac{\partial \widehat{x}(i+k,j+l)}{\partial \widehat{x}_{mn}}\right].b(r-i,s-j)+$$

$$+\alpha\frac{\partial}{\partial \widehat{x}_{mn}}\left(\frac{\widehat{x}_{rs}^{q}-\bar{x}_{rs}^{q}}{q}\right)$$

onde,

$\frac{\partial \widehat{x}(i+k,j+l)}{\partial \widehat{x}_{mn}} = \delta(i+k,m).\delta(j+l,n), \qquad m = i+k,\ n = j+l$

$$\sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l)\frac{\partial \widehat{x}(i+k,j+l)}{\partial \widehat{x}_{mn}} =$$

$$= \sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l)\delta(i+k,m).\delta(j+l,n) = b(m-i,n-j), \quad k = m-i,\ l = n-j$$

$\frac{\partial}{\partial \widehat{x}_{mn}}\left(\frac{\widehat{x}_{rs}^{q}-\bar{x}_{rs}^{q}}{q}\right) = \widehat{x}_{rs}^{q-1}\delta(r,m).\delta(s,n)$

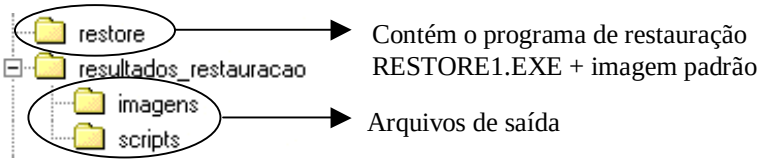
$$\boxed{F_{mn} = -2\sum_{k=-N}^{N}\sum_{l=-N}^{N} b(k,l)b(r-m+k,s-n+l) + \alpha\widehat{x}_{rs}^{q-1}\delta(r,m)\delta(s,n)}$$

A.4 Manual da Rotina Computacional para a Restauração de Imagens com a Regularização de Tikhonov

Para a implementação do algoritmo de restauração de imagens com o funcional de regularização de Tikhonov foi desenvolvido um código computacional em C++ Builder versão 3.0, orientado a objetos. Através de uma interface amigável, o programa apresenta facilidades de operação, e permite a escolha do modelo mais apropriado para cada experimento.

A.4.1 Como instalar

Basta executar o arquivo de lotes RESTORE.BAT, a partir de qualquer disco, por exemplo o disco rígido C:, desde que o kit esteja completo. A seguinte estrutura será automaticamente criada

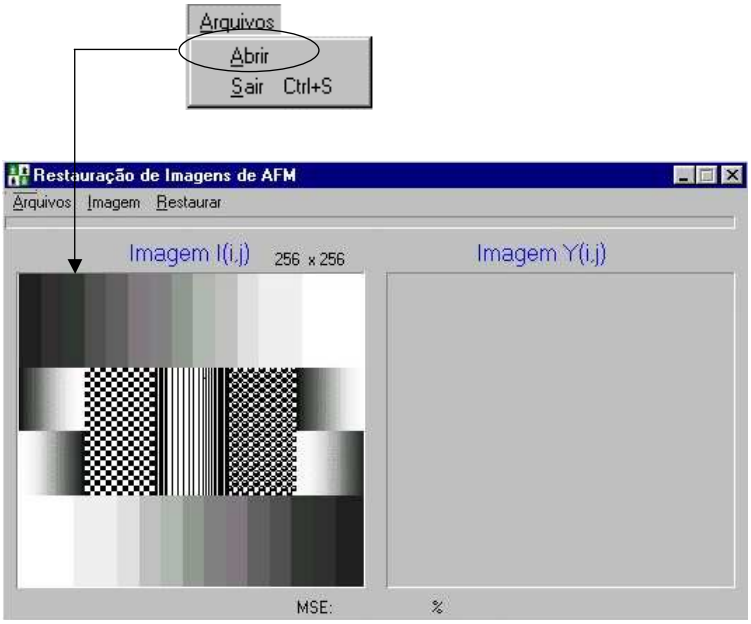


A.4.2 Janela principal

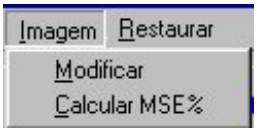
Além de permitir a escolha da imagem a ser tratada - $I(i,j)$ no campo de entrada (campo esquerdo da janela) - de qualquer arquivo, permite que os dados simulados reais obtidos, sofram borramento por uma matriz gaussiana, e ou adição de ruído controlado gerando uma imagem $Y(i,j)$ no campo de processamento (campo direito da janela). Ainda nesta mesma tela pode-se obter a distância entre a imagem modelo e a imagem processada.

A.4.3 Apresentação do conteúdo da janela principal

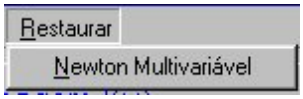
O botão Arquivos possui duas opções, a primeira permite a escolha da imagem a ser tratada, podendo ser um modelo ou uma imagem real, e a segunda é para sair do programa .



O botão **Imagem** contém duas opções: i) **Modificar** - gerar borramento e acrescentar ruído aditivo sobre a imagem original, e ii) **Calcular MSE%** - calcular a distância entre a imagem original e a imagem modificada; esta distância é denominada MSE, e expressa em valores percentuais, exibida na porção inferior central da janela principal. Este valor é obtido entre as imagens dos campos de entrada e processamento.



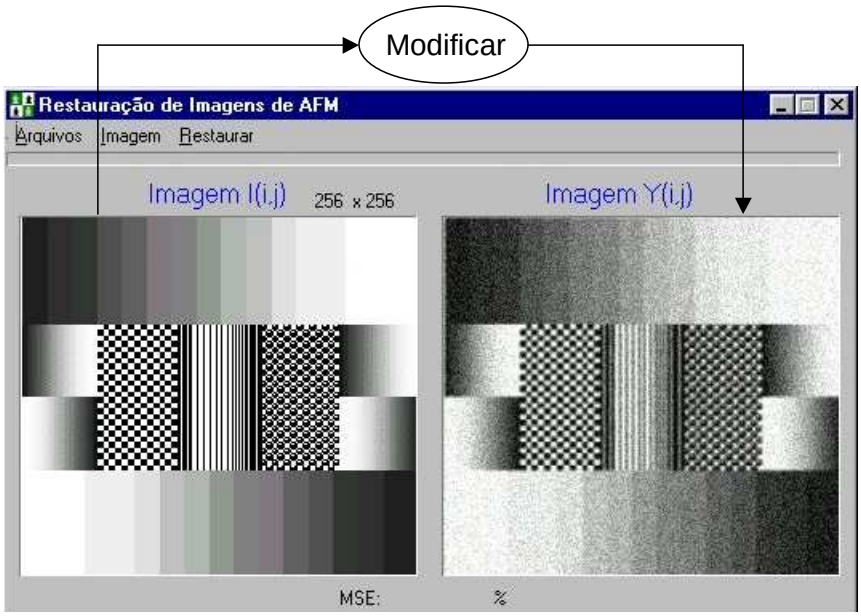
A próxima opção na tela principal denomina-se **Restaurar**, que permite o acesso a um único ítem ("Módulo de Restauração"), mostrado abaixo e que será descrito na seção A.4.5.

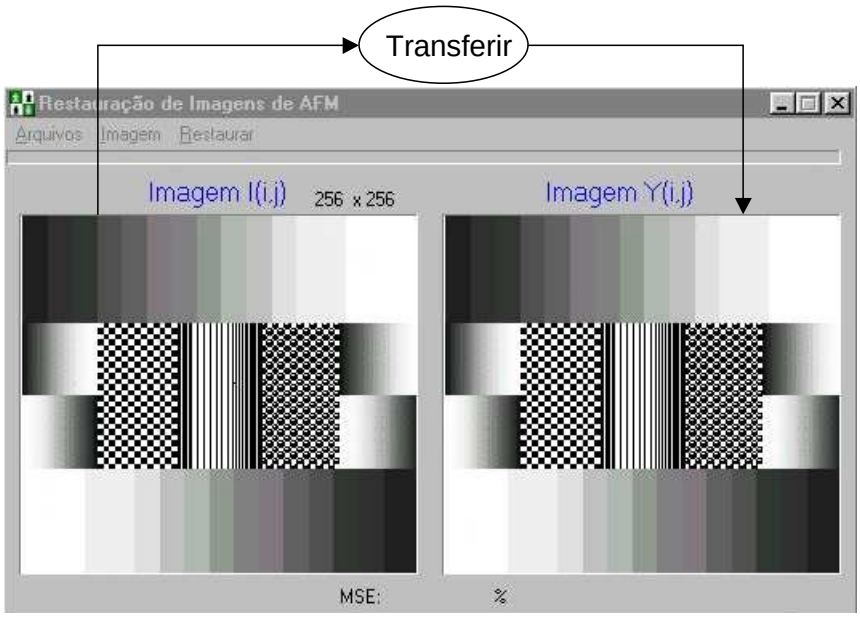


A.4.4 Modificação de Imagens

A imagem modelo pode ser alterada ou não, de acordo com a necessidade de cada experimento. A opção "modificar imagem" leva a uma janela denominada "Modificar (Gaussiano)", cujos componentes encontram-se descritos abaixo.

- **Dimensão:** dimensão da matriz gaussiana para simular os efeitos de borramento sobre a imagem modelo;
- **Sigma 2:** permite a escolha da variância da função de borramento, representada por uma matriz gaussiana normalizada (a porção direita da janela fornece uma idéia dos pesos atribuídos à distribuição para alguns pontos da matriz);
- **Ruído Aditivo:** deverá ser informada a relação sinal-ruído (SNR), em decibéis (dB), que se deseja atribuir ao dado modificado pela matriz de borramento. O *combox* (pequeno campo em branco ao lado do campo onde é informado o valor da relação SNR) deverá ser marcado para confirmar a adição de ruído;
- **Remover:** remover aleatoriamente os dados da imagem modificada, levando-os a valores próximos ao nível zero (preto);
- $I(i,j) \rightarrow Y(i,j)$: transferência direta do campo de entrada para o campo de processamento da janela principal, ou seja, é muito utilizada quando se tratar de uma imagem real a ser restaurada, ou para o cálculo do MSE da imagem restaurada em relação a qualquer imagem aberta no campo de entrada.
- **Gerar:** gera uma imagem modificada no campo de processamento ou transfere diretamente do campo de entrada (ver exemplos a seguir).

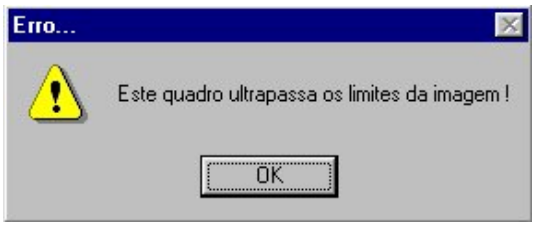




A.4.5 Restauração de Imagens

O "Módulo de Restauração", acionado a partir da opção **Restaurar** (janela principal), é mostrado abaixo.

- **Modelo:** fornece opções de modelo para as restaurações (cabe ao experimentador selecionar o mais adequado ao experimento). É escolhida então a imagem de referência ($\overline{x}$) a ser usada na restauração;
- α**:** parâmetro de regularização do funcional de Tikhonov Q, definido na Eq. 5.8;
- γ**:** fator de amortecimento para auxiliar a convergência do funcional Q em direção ao valor mínimo, ao longo do processo iterativo (Eq. 5.26);
- **Iterações:** define o número máximo de iterações;
- **Dim Matriz:** dimensão da matriz de deconvolução gaussiana (NxN);
- σ^2**:** variância da matriz de deconvolução gaussiana;
- q**:** parâmetro que define o funcional S (Eq. 5.13), estabelecendo, assim, a norma de regularização mais conveniente, dependendo da relação SNR da imagem;
- **Início:** inicia a restauração da imagem contida no campo de processamento, de acordo com os parâmetros selecionados pelo operador;
- **Posição Inicial:** permite definir um ponto de referência do quadro que delimitará a porção da imagem que se deseja restaurar - (Io, Jo) representa a coordenada do canto superior esquerdo do quadro (I corresponde ao eixo vertical y e J corresponde ao eixo horizontal x). Ao abrir a janela de restauração tem-se $I_0 = 255$ e $J_0 = 0$;
- **Dim Quadro:** determina as dimensões do quadro (imagem completa ou porção) através do par de coordenadas (x, y), a partir de (Io, Jo). O valor de y é subtraído de I_0 e o valor de x é adicionado a J_0. Obs: sempre que os limites do quadro forem ultrapassados um aviso de erro será emitido;



- **Indicadores:** informam a evolução da restauração através dos parâmetros do funcional Q em uma barra de progressão.

Ao final da restauração, uma tela como a que está mostrada abaixo indicará na barra de status (porção inferior) a mensagem: **Restauração bem sucedida !** - $\triangle\tau$ representa o tempo de duração do processamento (horas:minutos:segundos), e a imagem restaurada será colocada ao mesmo tempo no campo de processamento e armazenada no subdiretório **c:\resultados_restauracao\imagens** com extensão *bmp*, e um relatório (script) constará em **c:\resultado_restauração\scripts**, com extensão *txt*. Cabe ressaltar que os arquivos de saída obedecerão ao seguinte formato

NNAAMMDD.ext

em que: NN = número da restauração (1 até 99), AA = ano corrente, MM = mês e DD = dia, ext = bmp ou txt.

Índice

AFM 3, 4, 8, 9

Algoritmo de restauração 29, 80

Algoritmo genético canônico 54

Algoritmos genéticos 54

Algoritmos iterativos 13, 27

Borramento 20, 22, 26, 29, 45

Busca exaustiva 44

Cantilever (braço de apoio) 5, 6, 10

Combinação de métodos 61

Contato 6, 7

Cruzamento 55

Cruzamento clássico 57, 58

Cruzamento genético 57-59

Deconvolução 12, 43, 44

Degradação de uma imagem 20

Dilatação (*Dilation*) 15-17

Distância de Bregman 25, 45, 76

Entropia configuracional 73

Eritioblasto em estado leucêmico 36, 38, 40

Erosão (*Erosion*) 15, 16

Erro médio quadrático (MSE) 30

Erro médio quadrático relativo (%MSE) 30, 32, 46-49

Fator de atenuação γ 28

FFT (Transformada Rápida de Fourier) 14, 30, 32, 39, 42, 61

Filamentos de DNA 36, 41, 42, 52, 63

Filme de carbono amorfo hidrogenado 43

Filme termoplástico de amido de milho 44

Filtros 13

Função de espalhamento (PSF) 29

Funcional geral de regularização 25, 38, 76, 78

Gauss-Seidel 28

Grade de caracterização 17

Imagem de AFM 10, 26

Imagem digital 2

Imagem modificada 31, 44

Imagem monocromática 2

Imagem padrão 29, 31

Imagens biológicas 36, 38, 40-42, 52

Imagens de engenharia 43, 44

Intermitente (*tapping mode*) 6, 7

Iteração *tip*-amostra 7, 10 23, 26, 29, 37

Matriz de borramento 22, 24, 26, 45

Matriz de deconvolução 36, 39, 43, 44

Máxima entropia (e entropia-cruzada) 25, 37, 39, 77

Medida de Csiszár (q-discrepância) 25, 76

Método Bayesiano 22

Microcristais de AL_2O_3 18
Microscopia de Força Atômica 3, 4, 8, 9
Microscopia de Varredura de Força 3, 4
Microscopia de Varredura por Sonda 3, 4
Mínima energia 24, 77
Morfologia Matemática (MM) 12, 15, 61
MSE (erro médio quadrático) 30
Mutação 55
Não Contato 6, 7
Newton multivariável 27
Parâmetro de regularização 22, 32, 33, 37
Perfis de amplitude 31, 37, 39
Pixel 2
Plataforma pizoelétrica 8, 9
Ponteira de medição (*tip*) 5, 6, 10
Problema inverso 19
PSF (função de espalhamento) 29
q-discrepância (medida de Csiszár) 21, 25, 32, 76
Realimentação 49
Recozimento simulado (Simulated Annealing) 53
Redes neurais 53, 61
Regularização 13, 19, 21, 24
Regularização de Tikhonov 21, 27, 30, 34, 39, 55, 61, 78
Relação Sinal-Ruído (SNR) 29, 30
Restauração de imagens de AFM 27
Rotina Computacional 80
Ruído aditivo 20, 29
SFM 3, 4
SNR (relação sinal-ruído) 29, 30
SPM 3, 4
Termo de regularização 24, 26
Tip (ponteira de medição) 5, 6, 10
Transformada Rápida de Fourier (FFT) 14, 30, 32, 39, 42, 61
Wavelet 14