

CÁSSIA APARECIDA MARQUES BATISTA

**ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE UMIDADE E ATIVIDADE
BIOLÓGICA EM SEMENTES DE FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS*
L.), ATRAVÉS DO MÉTODO *BIOSPECKLE* E DO ALGORITMO
MOMENTO DE INÉRCIA**

Monografia apresentada ao Departamento de Ciência da Computação da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciência da Computação, para obtenção do título de Bacharel.

Orientador

Prof. Giovanni Francisco Rabelo

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

CÁSSIA APARECIDA MARQUES BATISTA

**ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE UMIDADE E ATIVIDADE
BIOLÓGICA EM SEMENTES DE FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS*
L.), ATRAVÉS DO MÉTODO *BIOSPECKLE* E DO ALGORITMO
MOMENTO DE INÉRCIA**

Monografia apresentada ao Departamento de Ciência da Computação da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciência da Computação, para obtenção do título de Bacharel.

Aprovada em *16 de Junho* de *2003*

Prof. Luciano Mendes dos Santos

Prof. Giovanni Francisco Rabelo
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Agradecimentos

Agradeço a Deus e à Virgem Maria a constante proteção.

Agradeço a minha família, especialmente meu pai, o amor e apoio que sempre me dispensam.

Agradeço a Patrícia, Viviane e Rita pela força e carinho durante este período.

Agradeço a Frank por toda ajuda, amor e companheirismo.

Agradeço aos professores Giovanni Francisco Rabelo e Roberto Alves Braga Júnior pelo incentivo e confiança em meu potencial acadêmico e, ao CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO

Uma nova técnica para análise da viabilidade e vigor de sementes baseia-se no fenômeno conhecido como *biospeckle* ou *speckle* dinâmico, que é resultado da iluminação de materiais biológicos com luz laser, formando uma figura de interferência que lembra um líquido em ebulição (fervilhamento). Quando um material iluminado por laser apresenta grande atividade, a imagem de *speckle* gerada mostra um fervilhamento muito dinâmico, enquanto que materiais com menos atividade fornecem um padrão de interferência que se modifica mais brandamente, sendo que a evaporação da água pode mascarar as informações de *speckle*. O objetivo deste trabalho é, então, contribuir para o desenvolvimento dessa metodologia, e determinar um nível limite de umidade em que se possa utilizar com segurança essa técnica. Para atingir tais finalidades, realizou-se a análise da relação entre umidade e valores de atividade biológica conseguidos por meio do *biospeckle* de sementes de feijão. O *Momento de Inércia*, que é um algoritmo de processamento de imagens, foi usado para quantificar as figuras de *speckle*. Concluiu-se que o limite máximo de trabalho com esse método é 19% b.u. Após esse valor, as informações retornadas pelo *speckle* dinâmico passam a ser altamente influenciadas pela umidade e, conseqüentemente, incoerentes.

ABSTRACT

A new technique for analysis of the seeds viability and vigor is based on the phenomenon known as biospeckle or dynamic speckle, that is resulted of the biological materials illumination with laser light forming an interference figure that reminds a boiling liquid. When a material presents great activity, the image of generated speckle shows a very dynamic changes, while materials with low activity shows an interference pattern that modifies more softly, and the evaporation of the water can mask the speckle information. The goal of this work is, then, to contribute for the development of this methodology, and to determine a limit humidity level in that is possible to use with safety this technique. To reach such purposes, took place the analysis of the relationship between humidity and values of biological activity gotten through the biospeckle of bean seeds. The Moment of Inertia, that is an image-processing algorithm, was used to quantify the speckle pattern. It was concluded that the maximum limit of work with this method is 19% b.u. After this value, the information returned by the dynamic speckle become strongly affected by the humidity and, consequently, inconsistent.

Sumário

1	Introdução	1
2	O Laser e o <i>speckle</i> dinâmico	4
2.1	Introdução	4
2.2	Características gerais do Laser.....	4
2.3	Geração da luz Laser	6
2.4	O Laser e a física óptica	10
2.4.1	Coerência	10
2.4.2	Interferência.....	11
2.4.3	<i>Scattering</i>	11
2.5	<i>Speckle</i>	12
2.5.1	O Laser em materiais biológicos.....	13
2.5.2	<i>Speckle</i> dinâmico ou <i>Biospeckle</i>	14
3	O algoritmo Momento de Inércia	17
3.1	Introdução	17
3.2	Por que o nome MI?.....	17
3.3	Pseudocódigo do algoritmo MI.....	18
3.4	O STS ou THSP.....	18
3.5	A Matriz de Ocorrências	21
3.6	Cálculo do MI	24
4	Metodologia	26
4.1	Introdução	26
4.2	Locais de realização do experimento	26
4.3	Desenvolvimento dos programas de aquisição e análise das imagens.....	26
4.4	Determinação do modelo de análise estatística a ser usado	27
4.5	Determinação do teor de água nas sementes a serem ensaiadas	27
4.6	Definição do <i>setup</i> de iluminação e aquisição de imagens.....	28
4.7	Realização do experimento.....	29
5	As aplicações desenvolvidas	30
5.1	Introdução	30
5.2	O programa <i>captura</i>	30

5.3 Os programas <i>mi</i> e <i>moc</i>	34
6 Resultados e Discussão	37
6.1 Introdução	37
6.2 Resultados	37
6.3 Discussão	43
7 Conclusões	46
Referências bibliográficas	48
Anexos	50

Lista de Figuras

2.1 Diagrama representativo do processo de amplificação da luz no laser	7
2.2 Representação esquemática dos níveis de energia	8
2.3 Esquema básico de um laser de rubi	9
2.4 <i>Speckle</i> de uma folha de papel branca	13
3.1 STS de uma casca de uva seca	20
3.2 STS de uma casca de uva recém cortada	20
3.3 MOC de uma caixa de papel	22
3.4 MOC de uma laranja	23
4.1 <i>Setup</i> de iluminação e aquisição de imagens	29
5.1 <i>Help</i> para o programa <i>captura</i>	31
5.2 Saída para o programa <i>captura</i>	33
5.3 <i>Help</i> para o programa <i>mi</i>	34
5.4 <i>Help</i> para o programa <i>moc</i>	34
5.5 Saída para o programa <i>mi</i>	35
5.6 Saída para o programa <i>moc</i>	35
6.1 Tendências das médias dos valores de MI para cada valor de umidade	40
6.2 STS de uma semente de feijão a 11,21% b.u	41
6.3 MOC da semente de feijão da Figura 6.2.....	41
6.4 STS de uma semente de feijão a 29,7% b.u	42
6.5 MOC da semente de feijão da Figura 6.4.....	42

Lista de Tabelas

6.1	Quadro de análise de variância para os valores de MI	38
6.2	Valores médios de MI obtidos na análise do <i>biospeckle</i> de sementes de feijão em diferentes níveis de umidade	39

Lista de Equações

2.1	$N_1 \rho(v_{21}) B_{12} = N_2 A_{21} + N_2 \rho(v_{21}) B_{21}$	7
3.1	$MOC[i, j] = N_{ij}$	21
3.2	$MOCM[i, j] = \frac{MOC[i, j]}{\sum_i N_{ij}}$	23
3.3	$MI = \sum_{ij} (MOCM[i, j] \times (i - j)^2)$	25
4.1	$P(\%) = \frac{100 \times (U_i - U_f)}{(100 - U_f)}$	28

Capítulo 1

Introdução

O laser, atualmente, tem sido empregado com sucesso em muitas áreas. Por isso, a análise de suas características tornou-se interesse de muitos pesquisadores. O estudo das séries temporais, aplicado ao tratamento de imagens, possibilitou o controle dos produtos da luz laser. Hoje é possível extrair informações inerentes a um material biológico iluminado por laser e relacioná-las com as alterações fisiológicas desse. Diz respeito a esse fato, a descoberta recente de um fenômeno conhecido como *biospeckle* ou *speckle* dinâmico. Ele surgiu como a possibilidade de uma nova metodologia para o controle da qualidade de produtos agrícolas. Vislumbra-se o seu uso como uma técnica de avaliação de vigor e viabilidade de sementes, complementando os métodos existentes até o presente momento. O desenvolvimento de equipamentos de aquisição de imagens que são mais rápidos e de melhor resolução é o grande aliado para a realização de pesquisas como esta.

O conhecimento do nível de qualidade das sementes é de fundamental importância para que se tenha uma boa produção de grãos. Para assegurar esse fato, deve-se submeter uma amostra do lote a testes. Características como viabilidade e vigor são as mais analisadas. A viabilidade é medida principalmente pelo teste de germinação padrão, que determina o percentual de germinação da semente, em condições favoráveis de umidade, temperatura e luminosidade. O

vigor representa o potencial de atividade e desempenho de uma semente durante a germinação e a emergência da plântula. Os testes atuais para análises laboratoriais de monitoramento de viabilidade e vigor de sementes são subjetivos, lentos, não automáticos e sem padronização. É necessário, portanto, o desenvolvimento de melhorias nas metodologias atuais e novas tecnologias para complementar esses métodos (Rodrigues, 2003).

Segundo Braga Júnior (2000), a técnica do *speckle* dinâmico baseia-se na utilização da luz laser a partir da física óptica e de tratamento de imagens, buscando identificar as características da semente em análise, pela mudança da figura de interferência formada pela bioatividade do material. Dessa forma, a visão que se tem da semente passa a ser outra, uma vez que serão visualizadas áreas de diferentes atividades, após o tratamento de imagem da semente sob estudo. A técnica do *biospeckle* apresenta características interessantes, acrescentado ao teste de viabilidade e vigor de sementes um caráter mais automatizado, independente do julgamento humano, o qual é carregado de uma dose de subjetividade sem controle, além de se imprimir uma maior velocidade ao exame. Contudo, nesse novo método, ainda se faz necessário o corte da semente após sua embebição em água, como ocorre nos testes atuais.

Até agora, os trabalhos com laser não conseguiram identificar muito bem até que ponto algumas variáveis podem interferir nos resultados fornecidos pelo *biospeckle*, como acontece no caso da umidade. Sabe-se que o nível de água presente na semente influencia a determinação da atividade biológica da mesma, quando essa é analisada pela técnica do *biospeckle*. Isso pode levar a um mascaramento dos resultados obtidos. Braga Júnior (2000) identificou a influência da umidade nos resultados do *biospeckle*, e mostrou que seria preciso um estudo para se determinar os limites de trabalho e a relação umidade *versus* *Momento de Inércia* (MI). O *Momento de Inércia* é um algoritmo utilizado para

quantificar o dinamismo impresso nas imagens do *speckle* dinâmico. Batista (2002), a partir das hipóteses formuladas por Braga Júnior (2000), realizou um experimento e sugeriu a repetição do mesmo, a fim de se confirmar os resultados que obteve, pois a precisão desses é crucial para se garantir a aplicabilidade do método do *speckle* dinâmico.

O presente projeto tem como meta, então, avaliar a relação umidade *versus* *Momento de Inércia*, e determinar o nível limite de teor de água que as sementes devem possuir, para serem avaliadas, com segurança, pela técnica do *biospeckle*.

Para atingir tais finalidades, este trabalho foi dividido em sete capítulos e a estrutura de cada um deles será descrita a seguir (excetuando-se comentários sobre o capítulo atual):

Capítulo 2 – introduz os conceitos sobre laser, mostrando suas principais características e como ele origina o fenômeno do *biospeckle*;

Capítulo 3 – aborda os princípios do algoritmo *Momento de Inércia*, explicando como ele é utilizado para analisar as imagens de *speckle* dinâmico;

Capítulo 4 – exhibe a metodologia empregada para realizar o experimento, incluindo preparação do mesmo, escolha do delineamento estatístico, equipamentos usados para capturar e analisar as imagens, programas utilizados e locais onde foi realizado o trabalho;

Capítulo 5 – descreve os aplicativos que foram desenvolvidos para adquirir as imagens e calcular o MI das mesmas;

Capítulo 6 – apresenta os resultados obtidos e a avaliação desses, através de uma comparação com o trabalho realizado por Batista (2002);

Capítulo 7 – síntese final do trabalho.

Capítulo 2

O Laser e o *speckle* dinâmico

2.1 Introdução

Este capítulo exibirá as características do laser, através de uma abordagem amplamente baseada no trabalho de Braga Júnior (2000). A palavra laser, na realidade, é um acrônimo da expressão *Light Amplification by the Stimulated Emission Radiation*, que, traduzindo-se para o português significa *Amplificação da Luz pela Emissão Estimulada de Radiação*.

Nas últimas seções deste capítulo, uma atenção especial será dada ao fenômeno de interferência que é resultado da interação entre a luz laser e materiais biológicos. Como já dito anteriormente, esse fenômeno é denominado *biospeckle* ou *speckle* dinâmico.

2.2 Características gerais do Laser

O laser sempre foi visto como uma ferramenta muito complexa, e suas aplicações ficaram inicialmente restritas a pesquisas realizadas por físicos. Porém, por se tratar de um instrumento muito útil, esse foi se adaptando aos

desenvolvimentos tecnológicos nas mais diversas áreas, e passou a ser comercialmente desenvolvido para aplicações simples ou complexas. O seu uso vai desde a caneta laser, para servir de apontador em palestras, e o disco laser (CD), passando pelas aplicações na medicina, na indústria, nas áreas de corte de chapas e de precisão, nas telecomunicações por fibra óptica, até a área militar, como no programa “Guerra nas Estrelas” dos EUA (Braga Júnior, 2000).

As principais características que estimularam o uso do laser são, de acordo com Braga Júnior (2000):

- alta direcionalidade do feixe;
- alta intensidade do feixe;
- capacidade de controle da cor e intensidade;
- coerência e quasi-monocromaticidade;
- o tamanho pode ser reduzido;
- a potência pode ser de mW até alguns MW.

Essas características proporcionam condições que viabilizam inúmeras aplicações. O importante, nesse caso, é observar que, apesar das propriedades favoráveis citadas anteriormente, a manipulação do laser exige certos cuidados que, dependendo da aplicação, podem comprometer os resultados esperados. Além disso, a pesquisa nesse campo é muito dinâmica, tanto na área de desenvolvimento de novos tipos de laser (menores, maiores, mais potentes, etc), como também nas aplicações.

O laser é um tipo de luz que permite um certo controle, além de apresentar características importantes, como é o caso da quasi-monocromaticidade e da coerência temporal e espacial.

A cor da luz do laser está relacionada a um comprimento de onda que é selecionado e amplificado pela óptica interna e pela natureza do material

estimulado, que são partes constituintes do equipamento. A óptica é uma importante ferramenta para a manipulação do laser, pois a luz laser é um fenômeno eletromagnético de natureza ondulatória e visível.

2.3 Geração da luz Laser

Todo átomo tem uma quantidade de energia interna que se encontra em equilíbrio no estado de mínima energia, chamado de estado fundamental ou original (*Ground State*). Ao receber energia externa, o átomo irá passar para um estado de maior energia, que corresponde à transição dos elétrons a órbitas superiores, ou seja, mais distantes do núcleo, processo esse chamado de absorção.

Como o átomo propende ao equilíbrio, os elétrons tenderão a retornar para as órbitas inferiores, perdendo energia, porém não só de uma vez. Nessa transição, passa a existir, então, um estado chamado estado meta estável (*Metastable State*), em que, de forma intermediária, esses elétrons permanecem antes de retornarem ao estado original. Do estado estimulado ao meta estado, o elétron emite radiação não estimulada ou espontânea. Nesse momento, procura-se fornecer uma referência para a energia que será emitida do *Metastable State* para o *Ground State*, estimulando a emissão de fótons com a frequência desejada por meio de uma outra fonte externa (Hecht, 1987).

Os fótons emitidos estarão restritos a uma cavidade óptica que visa amplificar a intensidade na frequência desejada pela ressonância entre os fótons e essa cavidade, que é munida de espelhos dispostos frente a frente, para refletirem entre si o comprimento de onda que será amplificado. A Figura 2.1 apresenta um diagrama representativo do processo de amplificação:

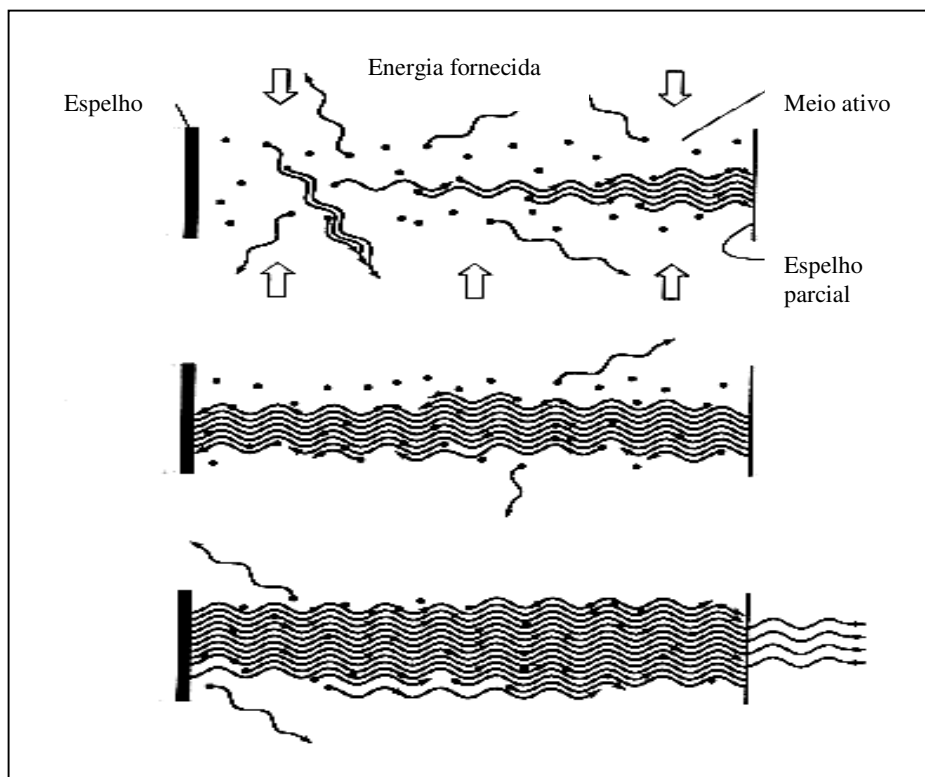


Figura 2.1: Diagrama representativo do processo de amplificação da luz no laser (Hecht, 1987)

Além da amplificação, a cavidade permite que apenas a parcela de luz que está em ressonância e axialmente disposta possa sair e, então, formar o feixe de luz laser quase-monocromático, altamente direcionado e com grande intensidade. A equação 2.1 representa uma equação básica que define essas situações, em caso de equilíbrio:

$$N_1 \rho(\nu_{21}) B_{12} = N_2 A_{21} + N_2 \rho(\nu_{21}) B_{21} \quad (\text{equação 2.1})$$

Em que,

$N_1 \cdot \rho(\nu_{21}) B_{12}$: termo relativo à absorção;

$N_2 A_{21}$: termo relativo à emissão espontânea;

$N_2 \cdot \rho(\nu_{21}) B_{21}$: termo relativo à emissão estimulada.

Sendo:

N_1 : número de elétrons nos níveis de menor energia;

N_2 : número de elétrons nos níveis de maior energia;

$\rho(\nu_{21}) B_{12}$: probabilidade de absorção de energia por unidade de tempo;

$\rho(\nu_{21}) B_{21}$: probabilidade de transmissão estimulada;

A_{21} , B_{12} , B_{21} : coeficientes de Einstein.

A Figura 2.2 mostra uma representação básica de níveis de energia que reproduzem as etapas de absorção, emissão estimulada e emissão espontânea. Esse é um comportamento característico do laser de rubi, existindo algumas alterações para outros tipos de laser.

A Figura 2.3 apresenta o corte de um laser de rubi com seus componentes básicos.

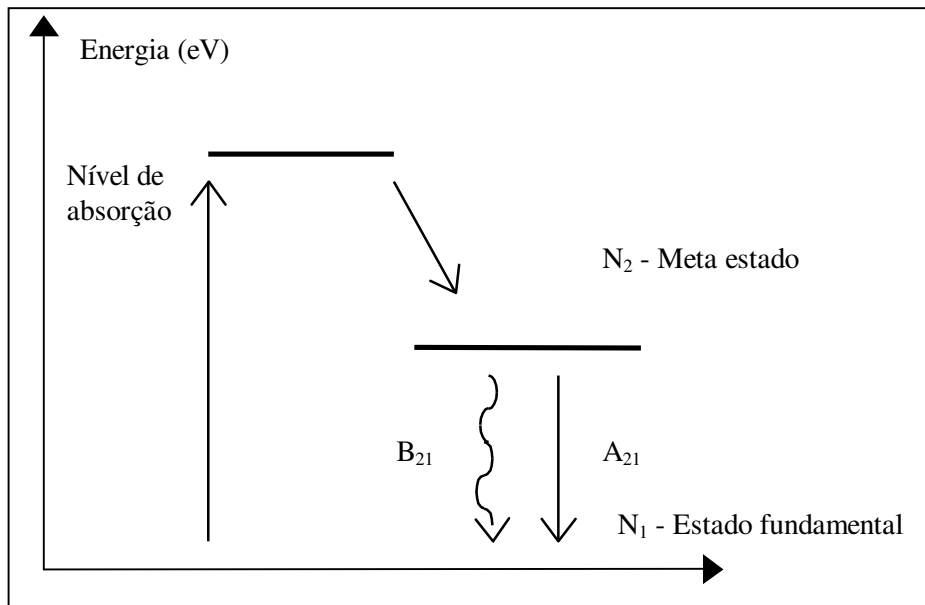


Figura 2.2: Representação esquemática dos níveis de energia

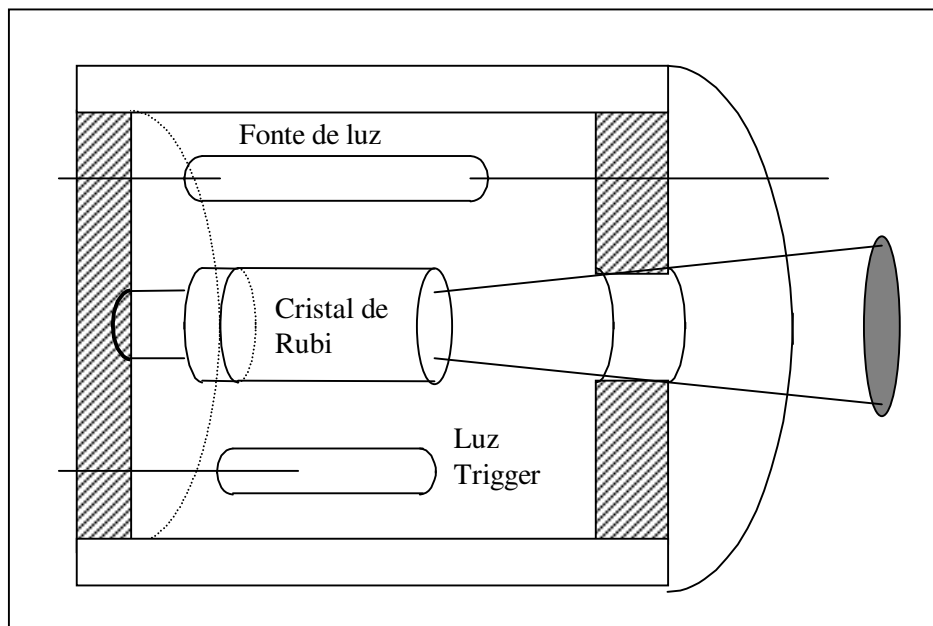


Figura 2.3: Esquema básico de um laser de rubi

O feixe emitido é dito quasi-monocromático porque, além do mesmo ser formado por uma faixa de frequência muito estreita, a cavidade permite oscilar somente alguns poucos modos, dos quais um é o predominante. Por exemplo, para o laser de He-Ne vermelho, o modo predominante é relativo a $\lambda = 633 \text{ nm}$.

O fornecimento de energia para que os elétrons possam saltar do estado de menor energia para um estado de maior energia, fenômeno conhecido como absorção, é frequentemente realizado por meio de luz ou descargas elétricas. Para estimular o fóton na frequência desejada, o que se utiliza como fonte de energia é também uma fonte de luz. É interessante ressaltar que para se conseguir uma certa energia em forma de luz em um laser, é necessário fornecer uma energia ainda maior para excitar e estimular os elétrons. A luz laser pode ser utilizada, então, de diversas formas, sendo que em algumas se faz uso de aparato óptico, constituído basicamente de lentes de várias características, além de se utilizar

fenômenos como a difração, a interferência e o *speckle* produzidos pela luz coerente (Braga Júnior, 2000).

2.4 O Laser e a física óptica

O laser é uma fonte de luz com atributos peculiares e que possibilitam uma série de aplicações. Características como a coerência permitem o uso de fenômenos ópticos, como o *speckle* e o *speckle* dinâmico. E para melhor conhecer esses fenômenos, é necessário iniciar definindo a coerência, a interferência e a dispersão (*scattering*).

2.4.1 Coerência

De acordo com Hecht (1987), a coerência é uma importante característica da luz emitida por um laser e que permite muitas aplicações. Alguns autores costumam denominar uma fonte como coerente ou não coerente, porém a coerência é resultado de uma conjugação de fatores que tornam uma fonte mais ou menos coerente, dependendo do ponto de vista. A coerência é dividida em forma acadêmica em duas: coerência temporal e coerência espacial. A primeira está relacionada com a limitada faixa de frequência da fonte e a segunda com a limitada extensão espacial.

De outra forma, é possível afirmar-se que a coerência temporal é um intervalo sobre o qual pode-se prever a fase de uma onda luminosa em um dado ponto do espaço.

A coerência espacial está relacionada com a área em que a luz do laser é capaz de se manter coerente, por exemplo, ao incidir em um objeto. Isso coloca a

coerência espacial intimamente relacionada com a direcionalidade do feixe. O laser se apresenta como uma fonte altamente coerente por causa da grande direcionalidade de seus feixes (Hecht, 1987).

2.4.2 Interferência

A interferência é um fenômeno que depende da coerência, uma vez que ela mostra a superposição das ondas formando raias ou franjas claras e escuras. Caso as ondas em questão não sejam coerentes, a interferência das ondas não pode ser observada na forma de franjas e sim por uma parcela iluminada do espaço sem qualquer definição de áreas claras e escuras (Braga Júnior, 2000).

A interferência é o fenômeno básico para a formação do *speckle*, que será explicado mais adiante.

2.4.3 Scattering

O *scattering* foi definido por Hecht (1987) como a absorção e pronta re-emissão da radiação eletromagnética por elétrons associados a átomos e moléculas. Dessa forma, os processos de transmissão, reflexão e refração da luz são manifestações macroscópicas do *scattering*, ocorrendo em um nível submicroscópico.

Ao conhecer-se o processo de formação do *speckle* dinâmico, a interação luz-matéria deve ser muito bem dominada e tratada em nível de *scattering*, uma vez que cada componente do material biológico contribui de forma diferenciada para o espalhamento da luz incidente.

2.5 *Speckle*

Uma impressionante e facilmente observável manifestação da coerência espacial da luz laser é sua aparência granular na reflexão de superfícies difusas. Isso pode ser visto se um feixe de luz laser He-Ne for expandido, de modo que passe por uma lente simples. Ao projetar esse feixe em uma parede ou em um pedaço de papel, forma-se um *disco* iluminado, manchado com regiões claras e escuras, que oscilam entre um brilho forte e fraco. Olhando estrabicamente os grãos aumentam o seu tamanho; andando em direção à parede eles encolhem-se (Arizaga et al., 1999).

A coerência espacial da luz laser em uma superfície difusa dá origem a um padrão de interferência estacionária. Na superfície, os granulados são excessivamente pequenos e eles aumentam de tamanho com a distância. Esse padrão é conhecido como *speckle*.

Segundo Braga Júnior (2000), o *speckle* é um fenômeno que inicialmente era considerado como um ruído que atrapalhava os trabalhos de óptica. Esse fenômeno ocorre somente pelo fato de a luz laser ser coerente, e que, quando ilumina um objeto, observa-se algo diferente, como apresentado na Figura 2.4.

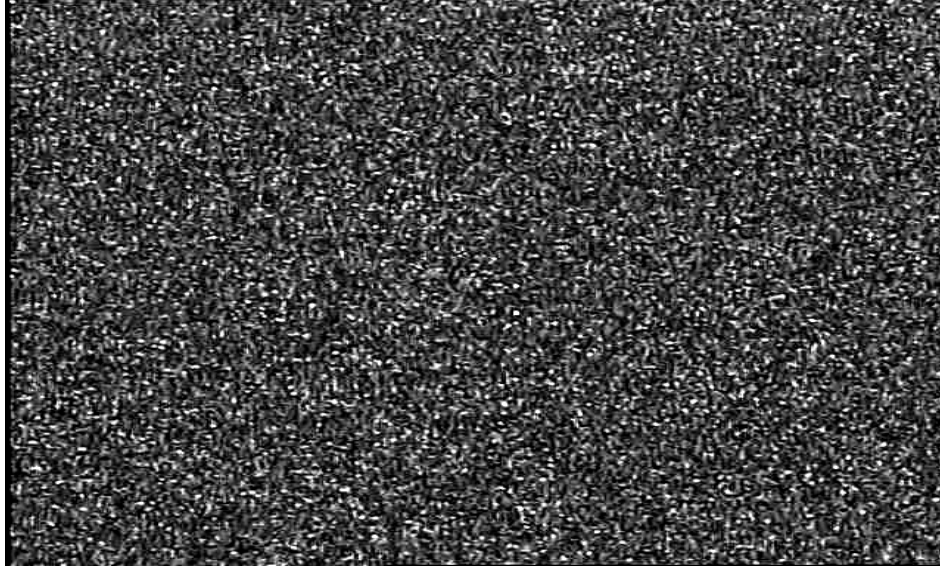


Figura 2.4: *Speckle* de uma folha de papel branca

O efeito que se registra é a interferência dos diversos feixes que retornam do material iluminado. A figura de interferência muda, então, de acordo com o ponto de observação, mudando também se a superfície mudar de posição.

As pesquisas para eliminar o *speckle* dos resultados dos experimentos ópticos acabaram por conhecer melhor esse fenômeno, e assim o mesmo passou a ser visto não mais como algo indesejado. Muitas aplicações foram descobertas, entre elas na área de metrologia e nos novos desenvolvimentos referentes ao *biospeckle*, que será explicado na seção 2.5.2, com aplicações em sementes.

2.5.1 O Laser em materiais biológicos

Os materiais biológicos possuem uma característica peculiar em relação aos outros materiais, uma vez que os mesmos, segundo Bergkvist (1997), apresentam-se como meios de grande dispersão da luz (*scattering*). E, dessa

forma, esses materiais exibem uma grande complexidade no que se refere à interação da luz com seus diversos constituintes, o que é amplificado pela complexa movimentação interna. Essa movimentação, proveniente da atividade metabólica, pode ser maior ou menor, dependendo do estado de maturação, crescimento ou deterioração do material biológico, bem como da quantidade de água, temperatura e iluminação.

A complexa constituição dos tecidos biológicos acaba sendo a base para um intrincado funcionamento biológico que dificulta a relação causa-efeito.

A água é um constituinte básico de materiais biológicos, e segundo Bergkvist (1997), não absorve a luz do laser de He-Ne a 632 nm. Por outro lado, em uma semente, a quantidade de água está relacionada com a intensidade do processo metabólico, portanto pode ser um elemento que influencia na interação da luz com o material.

Em experimentos e de forma intuitiva, observa-se que o teor de água está relacionado com a transmissão da luz pelo material biológico, especificamente a semente.

2.5.2 *Speckle* Dinâmico ou *Biospeckle*

A utilização do *speckle* na área biológica tem sido uma nova linha de grande potencial, sendo que ainda nem todas as aplicações foram desenvolvidas completamente, bem como até agora não se conseguiu mapear todas as reais viabilidades (Rabal et al., 1998). O *speckle* dinâmico, quando proveniente de material biológico, é também conhecido como *biospeckle*, que é uma expressão que explica bem o que se deseja denominar. O termo *biospeckle* é definido como sendo a figura de interferência formada ao se incidir a luz laser em um processo dinâmico, e o que se observa é uma figura que lembra um líquido em ebulição. É

por isso que o *biospeckle* é chamado, em português, de fervilhamento. Esse processo dinâmico pode ser uma pintura sendo seca, a transmissão de calor em uma chapa ou a atividade de um organismo vivo.

A bioatividade faz com que a luz retorne do material biológico, ocorrendo contribuição do interior e exterior desse e, o padrão de interferência varie de acordo com a movimentação de todas as moléculas presentes nesse material. Essa modificação pode ser frenética ou mais lenta, representando a atividade do material biológico (Xu et al., 1995).

Segundo Rabal et al. (1998), por ser dinâmico, o *biospeckle* deve ser analisado com técnicas de processamento de imagens e tratamento estatístico, uma vez que a observação visual possibilita apenas a identificação da existência desse fenômeno, mas não permite quantificá-lo.

As imagens devem ser, portanto, adquiridas com a maior taxa de aquisição possível para acompanhar a mudança de direção das dispersões, o que força a necessidade de um equipamento de aquisição de imagens muito rápido. Como devem ser obtidas várias imagens para o acompanhamento do movimento, faz-se necessário, também, uma capacidade de memória considerável.

Um outro fator que necessita ser observado é o ruído gerado pelos equipamentos e pelo objeto iluminado. Com relação ao equipamento, Bergkvist (1997) avaliou o nível de ruído gerado pelos vários equipamentos que compõem uma montagem experimental para a coleta das imagens. O mesmo conclui que a taxa sinal ruído está na faixa de 1000 vezes, o que seria o bastante para um estudo de nível de atividade. O ruído gerado pelo material biológico iluminado pode mascarar os resultados e ainda é indefinido. Esse ruído deve ser determinado para garantir resultados de nível de atividade mais confiáveis (Braga Júnior, 2000).

Romero (1999) também consegue separar o ruído produzido pela

montagem experimental e mostra por meio do espectro de frequências que os módulos desses ruídos são menores que o do sinal proveniente do material biológico, e para o caso específico, ficou na faixa de 100 vezes.

Existem várias técnicas para tratar imagens que expressam o fervilhamento, permitindo sua quantificação. No próximo capítulo estudaremos um desses métodos.

Capítulo 3

O algoritmo Momento de Inércia

3.1 Introdução

O *speckle* pode ser usado de formas distintas como fonte de informação. Segundo Arizaga et al. (1999), quando o que se deseja é uma quantificação da mudança do padrão de *speckle* formado durante uma observação, o *Momento de Inércia* (MI) é o que tem sido proposto pela literatura. Este capítulo explicará os conceitos e o funcionamento desse algoritmo.

3.2 Por que o nome MI?

O nome é sugerido por analogia mecânica de sua operação. A fim de se obter um valor numérico que permita quantificar as diferenças entre duas imagens distintas pode ser utilizado o conceito de momento de segunda ordem. Esse cálculo é aplicado sobre uma *Matriz de Ocorrências* (MOC) com respeito à sua diagonal principal na direção das linhas da matriz, constituindo o *Momento de Inércia* da imagem (Rabelo, 2000). Nas seções à frente esses conceitos serão melhor esclarecidos.

3.3 Pseudocódigo do algoritmo MI

Para se estudar o MI, será fornecido um pseudocódigo simples do mesmo e a partir desse, será analisado o funcionamento do algoritmo:

```
Início
  Abra o arquivo que contém a imagem de STS
  Gere a MOC a partir do STS
  Calcule o valor do MI para a MOC
Fim
```

Nas seções a seguir, cada uma das etapas do algoritmo MI será explicada e, também, os termos desconhecidos que foram apresentados nesse pseudocódigo.

3.4 O STS ou THSP

A primeira parte do algoritmo se refere à abertura da imagem de STS ou *Spatial Temporal Speckle*. Esse também é conhecido como THSP (*Time History of the Speckle Pattern*) e foi proposto por Oulamara et al. (1989), utilizado em Bergkvist (1997), Rabelo (2000) e Braga Júnior (2000). A figura de STS é conseguida da seguinte forma: 512 imagens sucessivas são registradas do modelo de padrão do *biospeckle* do material iluminado com laser e uma linha é selecionada em cada uma delas. Cada linha é composta por 512 pixels. Neste trabalho, a linha capturada do padrão de *speckle* foi a central, seguindo a proposta de Rabelo (2000). Essa linha é transformada em coluna e posicionada, de acordo com a ordem temporal de aquisição da mesma, em uma matriz de 512 x 512 *pixels*. Quando todas as linhas tiverem sido capturadas, transformadas em colunas e postas na matriz, tem-se a imagem de STS do material observado. Esse processo pode ser melhor entendido com o pseudocódigo a seguir:

```
Para x = 0 até x < 512 faça
  Capture a linha central da imagem x
  Para y = 0 até y < 512 faça
    Insira na posição (x, y) da matriz de STS o pixel na posição
    (y,x) da linha central da imagem x
  Fim do Para
Fim do Para
```

As colunas dessa nova imagem representam diferentes pontos no objeto e suas linhas, o estado de intensidade em todo o instante exemplificado. A atividade da amostra aparece como mudanças de intensidade na direção horizontal. Isso se deve ao fato de que, se ocorreu algum movimento na superfície do material, essa mudança será transmitida para a figura do *speckle* formado, e conseqüentemente, a linha observada será diferente da anterior. Essa é uma forma de se avaliar o nível de atividade do material iluminado, pois se o resultado apresentar uma figura completamente distorcida, é sinal de que o movimento está muito intenso. Por outro lado, se a figura formada for composta por linhas bem definidas, significa que não está ocorrendo mudança na formação do *speckle* de uma imagem para outra, repetindo sempre o mesmo nível de cinza de antes.

Segundo RABELO (2000), em uma amostra que apresenta baixa atividade, a variação do *speckle* é lenta e, conseqüentemente, o THSP exibe linhas paralelas bem definidas como uma cortina tipo persiana. Quando uma amostra possui muita atividade, a variação do *speckle* é muito rápida e o STS se apresenta como um padrão aleatório, lembrando uma única imagem do *speckle*. As diferenças entre dois padrões extremos de atividade do *biospeckle* podem ser observadas ao se analisar a Figura 3.1 e Figura 3.2, a seguir:

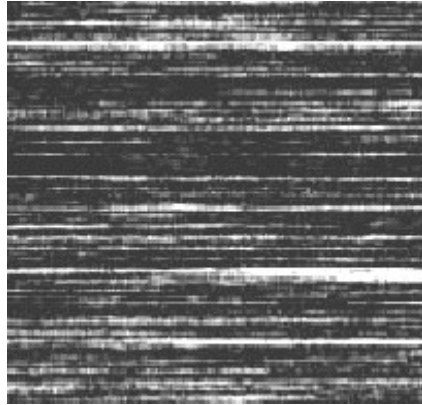


Figura 3.1: STS de uma casca de uva seca (Braga Júnior, 2000)

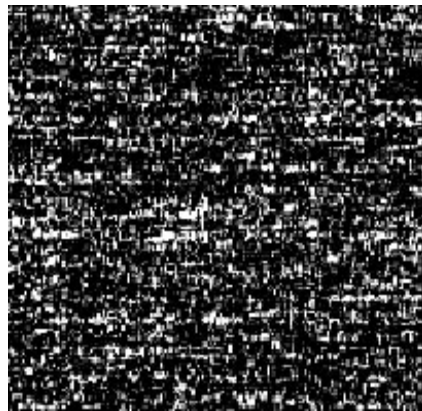


Figura 3.2: STS de uma casca de uva recém cortada (Braga Júnior, 2000)

O STS é uma forma representativa do estado do fenômeno avaliado quando ele foi registrado. De acordo com Rabelo (2000), considerando que o THSP carrega informações da atividade do material sob estudo, cada tipo de material apresenta um STS diferente. Isso pode ser percebido através de inspeção visual, porém valores numéricos são necessários para efeito de comparação através de métodos artificiais objetivos mais precisos. Dessa forma, torna-se necessário transformar essa imagem em um número ou índice de quantificação, para permitir diferenciar os objetos que apresentam níveis de atividades distintos.

Assim, foi desenvolvido um processo baseado nas ocorrências de valores de intensidade sucessivos dos *pixels* que compõem a imagem do THSP. O processo transforma o THSP em uma matriz denominada *Matriz de Ocorrências*, que nesse trabalho será referida como MOC.

3.5 A Matriz de Ocorrências

A segunda parte do algoritmo é a geração da MOC a partir da imagem de STS. É preciso dizer que as imagens de STS são constituídas por *pixels* em níveis de cinza codificados em oito bits, ou seja, 256 diferentes tons de cinza. Convencionou-se que o preto é o valor 0 e o branco, o valor 255. O fato de as intensidades de cinza variarem de 0 a 255 é que faz com que a MOC seja uma matriz de 256 x 256 posições, sendo cada uma dessas definida pela equação 3.1:

$$\text{MOC}[i, j] = N_{ij} \quad (\text{equação 3.1})$$

Em que,

MOC[i, j]: valor da *Matriz de Ocorrências* situado na linha *i*, coluna *j*, com *i* e *j* variando de 0 a 255;

N_{ij}: número de ocorrências, na imagem de STS em análise, de uma certa intensidade de cinza *i*, que é imediatamente seguida, no próximo instante de tempo, por um nível de cinza de valor *j*.

Braga Júnior (2000) e Rabelo (2000) apresentam esta equação com pequenas modificações de representação, porém elas são equivalentes.

Esse é um caso particular do chamado nível espacial de cinza em matrizes de dependências. Ele é freqüentemente utilizado para caracterizar texturas em imagens. No caso espacial, sua diagonal principal está relacionada com regiões homogêneas e elementos não nulos distantes da mesma representam alto contraste

de ocorrências. Ou seja, observa-se que a diagonal principal se refere a intensidades que não variaram no tempo, enquanto que fora dessa, aparecem as ocorrências que caracterizam uma mudança ao longo do tempo. Dessa forma, quanto mais afastado da diagonal principal estiver a ocorrência, maior a mudança na intensidade do pixel i para o pixel j .

Assim, com a MOC é possível analisar o nível de alteração do *speckle* observado durante um intervalo de tempo. Essa observação pode ser facilitada com a representação gráfica das ocorrências, como pode ser constatado na Figura 3.3 e Figura 3.4.

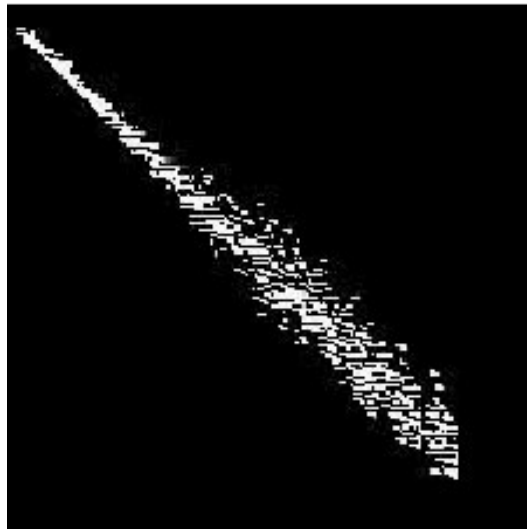


Figura 3.3: MOC de uma caixa de papel (Braga Júnior, 2000)

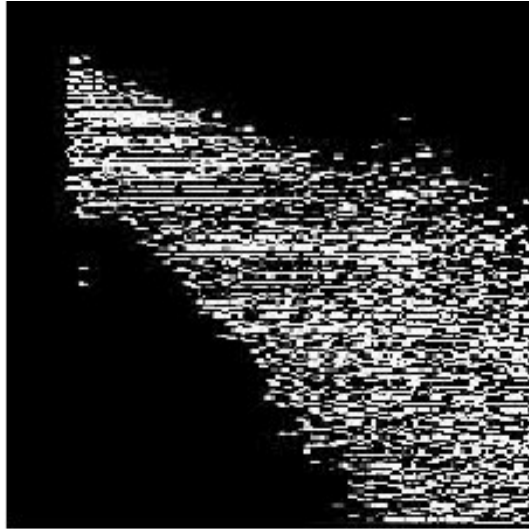


Figura 3.4: MOC de uma laranja (Braga Júnior, 2000)

Segundo Rabelo (2000), para proposta de normalização, é conveniente dividir cada linha da MOC pelo número médio das ocorrências de cada linha da imagem THSP. Isso pode ser visto na equação 3.2 que, também, é apresentada com algumas modificações de representação em Braga Júnior (2000) e Rabelo (2000).

$$\text{MOCM}[i, j] = \frac{\text{MOC}[i, j]}{\sum_i \text{Nij}} \quad (\text{equação 3.2})$$

Em que,

MOCM[i, j]: valor da *Matriz de Ocorrências Modificada* (MOCM), situado na linha i , coluna j , com i e j assumindo valores entre 0 a 255;

MOC[i, j]: mesma definição dada na equação 3.1;

Nij: mesma definição fornecida na equação 3.1.

Dessa forma, a soma dos componentes em cada linha é igual a 1. Após

esse processo, atribui-se valores de intensidade para cada valor de ocorrência normalizada, de forma que o maior valor seja equivalente ao branco ou 255 e o menor valor, ao negro ou 0 (Rabelo, 2000). A MOCM é uma aproximação experimental da matriz de transição de probabilidades entre os valores de intensidade no STS.

3.6 Cálculo do MI

A última parte do algoritmo se refere ao cálculo propriamente dito do MI. O objetivo é caracterizar a atividade de um fenômeno pouco conhecido pela atribuição de um número a seu estado. Pelo fato de a atividade ser um termo indefinido, assume-se que mais atividade significa mais frequência e a intensidade de saturação muda por unidade de tempo. Como a presença de valores não nulos fora da diagonal principal da MOCM é uma evidência de uma atividade exemplificativa, o interesse é pesar mais os valores que aparecem distantes da diagonal principal, uma vez que eles correspondem às mudanças de intensidade de saturação.

De acordo com Arizaga et al. (1999), uma medida da dispersão dos valores ao redor da diagonal principal com essa característica pode ser construída como a soma dos valores da MOCM vezes o quadrado da distância da linha até a diagonal principal. Este é um momento de segunda ordem particular chamado de *Momento de Inércia*. O valor do MI pode, então, ser encontrado de acordo com a equação 3.3:

$$MI = \sum_{i,j} (\text{MOCM}[i, j] \times (i-j)^2) \quad (\text{equação 3.3})$$

Em que,

MI: valor do *Momento de Inércia*;

MOCM[i, j]: mesma definição dada na equação 3.2;

i: i-ésima linha da MOCM, com valores entre 0 e 255;

j: j-ésima coluna da MOCM, com valores entre 0 e 255.

Essa medida é similar a uma muito usada na correlação espectroscópica do fóton, chamada de *função estrutural do fóton* (Arizaga et al., 1999). Em Braga Júnior (2000) e Rabelo (2000) esta equação também aparece com algumas diferenças de apresentação, possuindo todas, porém, o mesmo significado.

As ocorrências na diagonal principal não contribuem para aumentar o valor do MI, enquanto que as entradas mais distantes adicionam seus valores mais pesadamente no resultado final. Medidas similares a essa são usadas na discriminação de texturas (Arizaga et al., 1999).

Capítulo 4

Metodologia

4.1 Introdução

Este capítulo abordará os métodos adotados para a realização do trabalho. Buscou-se aprimorar as técnicas utilizadas em Batista (2002), principalmente no que diz respeito à preparação do experimento.

4.2 Locais de realização do experimento

Este trabalho foi realizado na Universidade Federal de Lavras, no laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas e no laboratório de Laser e Óptica, ambos localizados no Departamento de Engenharia Agrícola. Desenvolveu-se este projeto, também, no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura.

4.3 Desenvolvimento dos programas de aquisição e análise das imagens

Os programas foram implementados no ambiente de desenvolvimento do

Microsoft Visual C++ 6.0. Utilizou-se as bibliotecas da placa PXC200 *COLOR FRAME GRABBER* da *IMAGENATION* para implementar os aplicativos *captura*, *mi* e *moc*, usados na aquisição e análise das imagens de *biospeckle* das sementes iluminadas com laser. Esses aplicativos desenvolvidos serão descritos no capítulo 5.

4.4 Determinação do modelo de análise estatística a ser usado

Adotou-se o modelo de Delineamento de Blocos Casualizados, com três repetições ou blocos. Cada bloco foi composto por dez níveis distintos de umidade aplicados às sementes, ou seja, utilizou-se dez tratamentos no experimento. As parcelas foram formadas por sete sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

4.5 Determinação do teor de água nas sementes a serem ensaiadas

Utilizou-se, no experimento, cerca de 2kg de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), colhidas com um mês de antecedência ao preparo das amostras. O teor de água inicial do lote foi determinado conforme metodologia proposta por Brasil (1992).

A fim de se elevar o teor de água das sementes, foram separadas amostras contendo 50g de sementes cada uma. Elas foram colocadas em uma caixa *higrostat* com circulação forçada de ar, contendo ao fundo cloreto de sódio

hidrofóbico em uma primeira fase e nitrato de potássio PA em uma segunda fase, até que as sementes deixassem de absorver água.

Para se obter os teores de umidade de cada tratamento, as amostras foram acrescidas, a partir da umidade inicial do lote, de uma quantidade de água, que variava cerca de 2% de uma amostra à outra. Conhecendo-se o teor de água inicial das amostras, os outros níveis aproximados de umidade puderam ser conseguidos por pesagem.

O cálculo para se estimar em qual peso as amostras deveriam estar de acordo com a nova umidade desejada foi realizado segundo a equação 4.1:

$$P(\%) = \frac{100 \times (U_i - U_f)}{(100 - U_f)} \quad (\text{equação 4.1})$$

Em que,

P(%): Peso;

U_i: Umidade inicial da amostra;

U_f: Umidade final que se deseja alcançar.

Pela equação 4.1 consegue-se um valor em porcentagem que, multiplicado pelo peso da amostra, resulta na quantidade de água que deve ser adicionada (neste caso) ao lote, a fim de se obter a umidade final desejada.

4.6 Definição do *setup* de iluminação e aquisição de imagens

O *setup* do experimento consistiu de um laser de He-Ne de 632.8 nm, lente de dispersão de feixe e um sistema de aquisição digital de imagem composto de uma câmara CCD (*Charge Coupled Device*), micro-computador com 128 MB

de memória RAM, processador AMD Duron de 1.7 GHz e sistema operacional *Microsoft Windows Millennium*. A Figura 4.1 apresenta o esquema básico de iluminação de uma semente com todos os equipamentos necessários para a aquisição e análise das imagens:

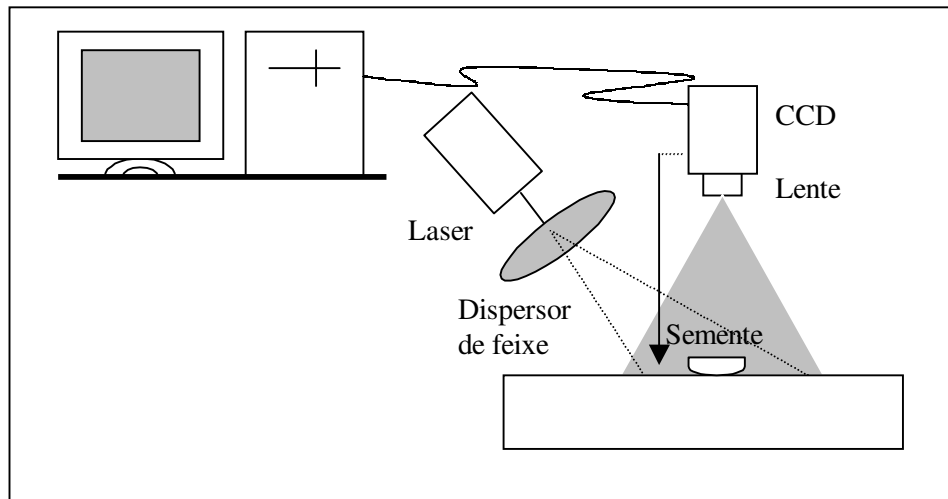


Figura 4.1: *Setup* de iluminação e aquisição de imagens.

4.7 Realização do experimento

A aquisição e análise das imagens de *biospeckle* foram realizadas em três dias, à temperatura ambiente, no mês de novembro de 2002. As sementes foram retiradas da câmara fria com antecedência de 12 horas à iluminação.

Capítulo 5

As aplicações desenvolvidas

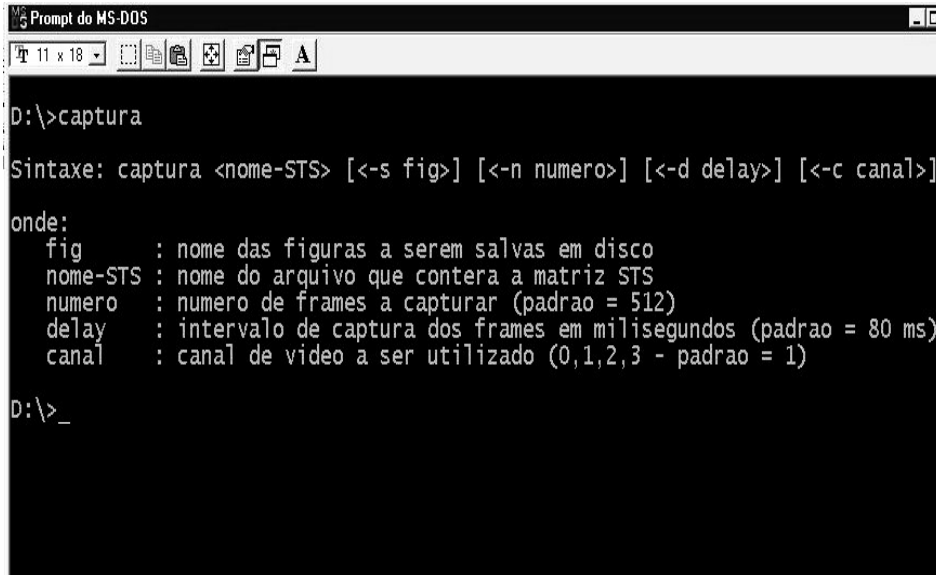
5.1 Introdução

Após exibida a metodologia empregada para a realização do experimento, o presente capítulo faz uma descrição dos programas desenvolvidos para conseguir-se os valores de MI das imagens de *biospeckle* das sementes iluminadas com laser. Como foi dito na seção 4.3, as imagens foram adquiridas através de uma placa PXC200 *COLOR FRAME GRABBER* da *IMAGENATION* e os programas para manipulá-las foram implementados através das bibliotecas, escritas em linguagem C, fornecidas com a PXC200. Utilizou-se, como guia de implementação, as informações contidas em Imagenation Corporation (1997).

Os aplicativos foram desenvolvidos com interfaces em linha de comando, possuindo parâmetros de entrada obrigatórios e optativos e ainda, um *help* (ajuda), que é exibido ao digitar-se o nome do programa sem nenhum parâmetro na tela. Nas seções seguintes serão explorados os parâmetros de entrada, o *help* e a saída de cada um dos programas implementados para este projeto.

5.2 O programa *captura*

O programa *captura* é responsável pela aquisição das imagens e geração da figura de STS das mesmas. Na Figura 5.1 podemos ver o *help* para esse programa e através dele estudaremos os parâmetros de entrada desse aplicativo.



```
MS-DOS Prompt
D:\>captura
Sintaxe: captura <nome-STs> [<-s fig>] [<-n numero>] [<-d delay>] [<-c canal>]
onde:
  fig      : nome das figuras a serem salvas em disco
  nome-STs : nome do arquivo que contera a matriz STS
  numero   : numero de frames a capturar (padrao = 512)
  delay    : intervalo de captura dos frames em milisegundos (padrao = 80 ms)
  canal    : canal de video a ser utilizado (0,1,2,3 - padrao = 1)
D:\>_
```

Figura 5.1: *Help* para o programa *captura*

Como dito anteriormente, ao digitar-se o nome do programa sem nenhum parâmetro, na tela é exibida a ajuda.

A sintaxe do programa mostra como os parâmetros podem ser configurados para essa aplicação. Quando eles estão delimitados por < > são obrigatórios e quando estão delimitados por [< >] são opcionais.

Pode-se observar na Figura 5.1 que, para o programa *captura*, o único parâmetro obrigatório é *nome-STs*, o qual será concatenado à *string STS* para formar o nome que será dado ao arquivo de THSP criado a partir das imagens de *speckle* do material que está sendo analisado. Opcionalmente, o usuário tem a possibilidade de indicar:

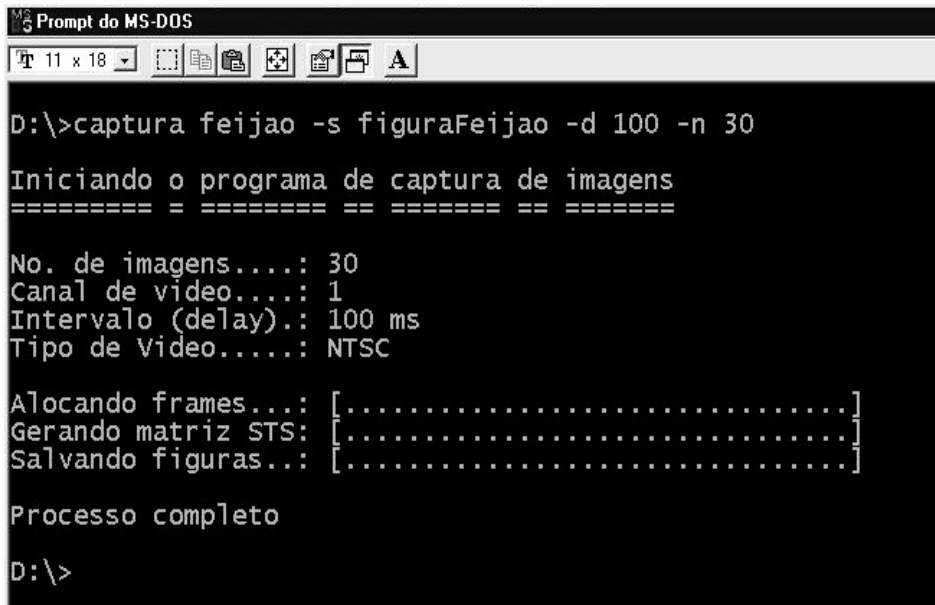
- o número de quadros de vídeo (*frames*) que serão capturados para gerar a figura de STS, através da opção *-n numero*;
- o tempo de *delay* para a aquisição por meio da opção *-d delay*;
- o canal de vídeo que será utilizado como entrada dos dados, através da opção *-c canal*;
- o radical que será acrescido de um número que varia de 0 a *n-1*, onde *n* é o número de *frames* a serem capturados, formando o nome do arquivo que será armazenado no disco rígido, caso o usuário deseje salvar esses *frames*. Isso deve ser feito por meio da opção *-s fig*, sendo *fig* o radical mencionado acima.

O *delay* se refere ao intervalo de tempo entre a aquisição de um *frame* e a aquisição do *frame* imediatamente posterior. Esse parâmetro deve ser configurado de acordo com cada experimento, a fim de que a imagem de STS gerada não se apresente com muitas falhas, fator esse que é determinado pela capacidade de aquisição da câmera utilizada e a atividade biológica da amostra em análise.

Em relação à opção de configuração dos canais de vídeo, a placa PXC200 permite que estejam conectadas à mesma até quatro câmeras, sendo atribuído a cada uma delas, um canal de entrada de vídeo, que varia de zero a três.

É importante ressaltar que o único formato de arquivo de imagem que a placa PXC200 trabalha é do tipo *bmp*. Dessa forma, todas as imagens que são salvas ou analisadas nos programas deste projeto possuem esse formato.

Na Figura 5.2 vemos a saída do programa *captura* para alguns parâmetros configurados.



```
MS-DOS Prompt
D:\> captura feijao -s figuraFeijao -d 100 -n 30
Iniciando o programa de captura de imagens
===== = ===== == ===== == =====
No. de imagens....: 30
Canal de video....: 1
Intervalo (delay)..: 100 ms
Tipo de Video.....: NTSC
Alocando frames...: [.....]
Gerando matriz STS: [.....]
Salvando figuras..: [.....]
Processo completo
D:\>
```

Figura 5.2: Saída para o programa *captura*

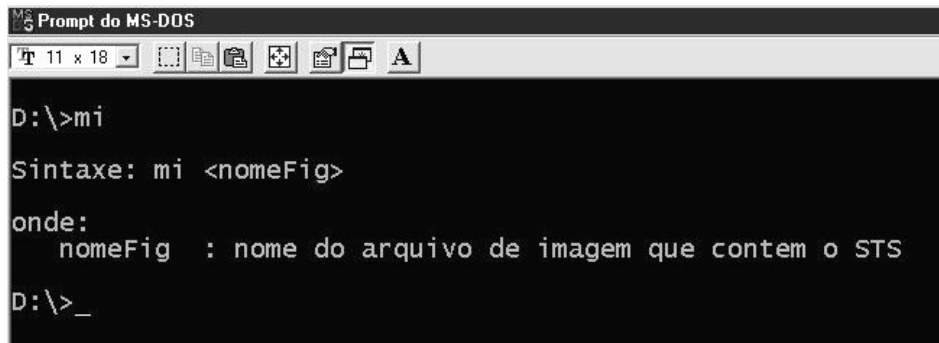
Pela Figura 5.2 percebemos que o programa *captura* foi configurado para gerar uma figura de STS chamada *feijaoSTS.bmp*. Como mencionado anteriormente, a imagem de THSP é criada com base no número de *frames* capturados, e, nesse caso, como foi fornecido o valor trinta, a figura de STS resultante foi composta de 30 x 30 *pixels*. Informou-se que os *frames* capturados deveriam ser salvos, portanto, trinta imagens foram armazenadas no disco rígido, sendo a primeira salva com o nome *figuraFeijao0.bmp*, a segunda com o nome *figuraFeijao1.bmp*, a terceira com o nome *figuraFeijao2.bmp* e assim por diante. O *delay* indicado foi de 100 ms (padrão é 80 ms). Nota-se, também, que o canal de vídeo usado foi o padrão (canal 1), uma vez que não se passou nenhum parâmetro relativo a essa opção.

O programa detecta automaticamente o tipo de vídeo que está sendo utilizado, que pode ser NTSC (*National Television Standards Committee*), que possui resolução de 640 x 480 *pixels* ou PAL (*Phase Alternate Lines*) ou

SECAM (*Systeme Electronique Couleur Avec Memoire*), ambos com resolução de 768 x 576 *pixels*. Nesse caso, o formato de vídeo detectado foi o NTSC.

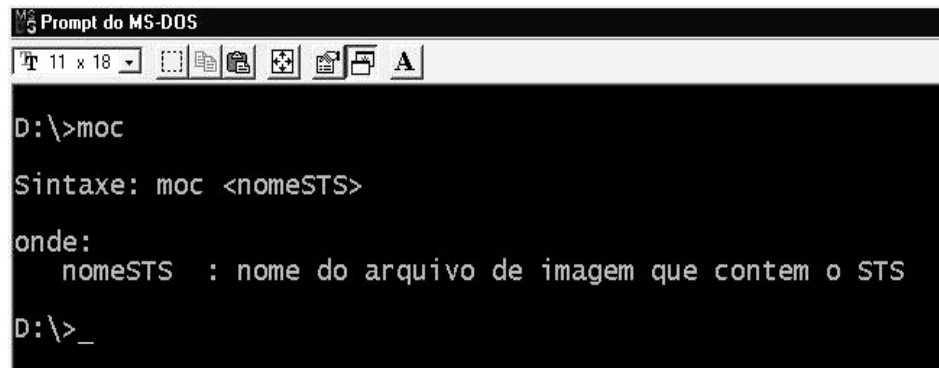
5.3 Os programas *mi* e *moc*

O programa *mi* foi desenvolvido para calcular o MI de uma determinada imagem de STS. Já o programa *moc* recebe como entrada, também, uma imagem de STS e gera a figura de MOC da mesma. Nas figuras 5.3 e 5.4 são apresentados os *helps* para os programas *mi* e *moc*.



```
MS-DOS Prompt
T 11 x 18
D:\>mi
Sintaxe: mi <nomeFig>
onde:
  nomeFig : nome do arquivo de imagem que contem o STS
D:\>_
```

Figura 5.3: *Help* para o programa *mi*

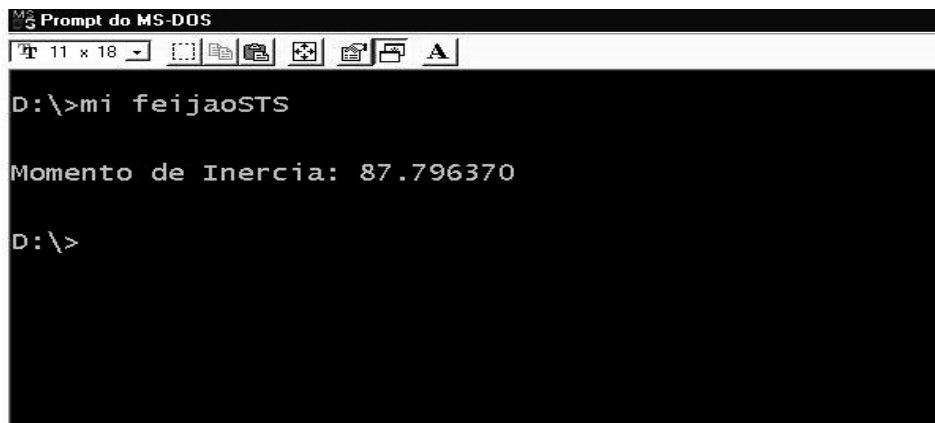


```
MS-DOS Prompt
T 11 x 18
D:\>moc
Sintaxe: moc <nomeSTS>
onde:
  nomeSTS : nome do arquivo de imagem que contem o STS
D:\>_
```

Figura 5.4: *Help* para o programa *moc*

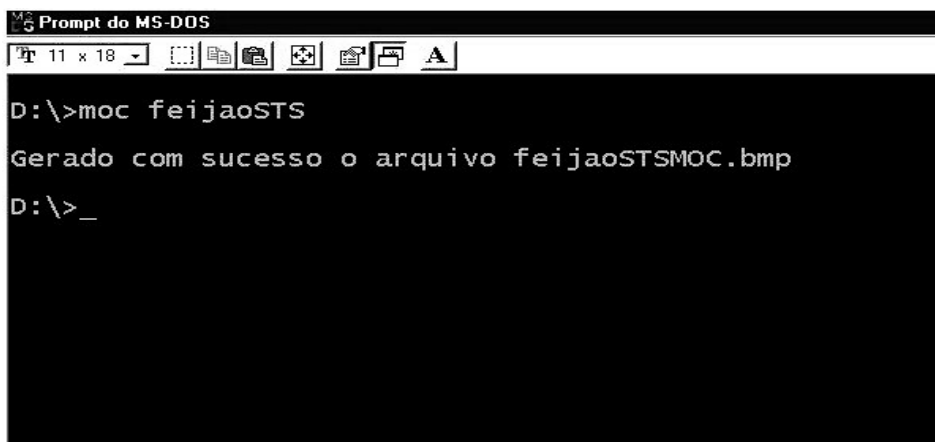
Como pode ser observado nas figuras 5.3 e 5.4, a sintaxe dos programas é extremamente simples, consistindo do nome programa seguido pelo nome de um arquivo STS (parâmetro obrigatório), não sendo necessário indicar a extensão da imagem.

Nas figuras 5.5 e 5.6 são apresentadas as saídas na tela para esses programas quando configurados para trabalharem com o arquivo *feijaoSTS.bmp*.



```
Prompt do MS-DOS
D:\>mi feijaoSTS
Momento de Inercia: 87.796370
D:\>
```

Figura 5.5: Saída para o programa *mi*



```
Prompt do MS-DOS
D:\>moc feijaoSTS
Gerado com sucesso o arquivo feijaoSTSMOC.bmp
D:\>_
```

Figura 5.6: Saída para o programa *moc*

Na Figura 5.5 vemos que o programa *mi* retorna o valor de *Momento de Inércia* para a figura de STS passada como entrada. Já o programa *moc*, exibido na Figura 5.6, gera um novo arquivo de imagem que é a *Matriz de Ocorrências* do arquivo de STS que foi especificado como entrada.

Os dados que foram conseguidos para este experimento com o programa *mi* estão disponíveis no Anexo A, e algumas imagens de STSs e MOCs geradas através do programa *captura* e *moc*, respectivamente, podem ser vistas no Anexo B.

Capítulo 6

Resultados e Discussão

6.1 Introdução

Analisaremos, neste capítulo, os produtos obtidos com este experimento, fazendo uma comparação com os resultados alcançados em Batista (2002). Discutiremos as possíveis causas para as diferenças que existam entre os dois trabalhos.

6.2 Resultados

O nível médio inicial de umidade encontrado para o lote de sementes analisadas foi de 11,21% b.u. Verificada a normalidade dos dados, procedeu-se à análise de variância.

A Tabela 6.1 apresenta o quadro de análise de variância para os valores obtidos através do programa *mi*. Como mencionado no capítulo 5, o Anexo A fornece todos os resultados de MI para os três dias de iluminação.

A Tabela 6.2 apresenta a média dos tratamentos para os três blocos e o teste de comparação de médias de Tukey.

A Figura 6.1 exibe a variação do *Momento de Inércia* em relação aos diversos níveis de umidade observados.

As figuras 6.2 e 6.3 mostram, respectivamente, a imagem STS e a MOC de uma semente de feijão a 11,21% b.u. O mesmo pode ser dito das figuras 6.4 e 6.5, porém a semente analisada estava a 29,7% b.u. São apresentadas no Anexo B, como citado no capítulo 5, mais figuras de STSs e MOCs de diversas sementes de feijão em variados teores de umidade, geradas pelos programas *captura* e *moc*.

Tabela 6.1: Quadro de análise de variância para os valores de MI

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamentos	9	284545,290851	31616,143428	56,402	0,0000
Blocos	2	41903,378130	20951,689065	7,377	0,0000
Erro	185	103701,399092	560,548103		
T.cor.	196	430150,068073			

CV% = 53,37;

Média geral: 44,3614721;

Número de observações: 197

Tabela 6.2: Valores médios de MI obtidos na análise do *biospeckle* de sementes de feijão em diferentes níveis de umidade

Tratamentos	Umidade % (b.u.)	Médias
1	11,21	7,57 a
2	15,20	15,52 ab
3	16,80	18,91 ab
4	17,33	19,07 ab
5	18,93	21,23 ab
6	20,89	35,97 bc
7	24,62	54,73 c
8	23,44	58,76 c
9	26,60	104,77 d
10	29,70	135,22 e

As médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade. Coeficiente de variação – CV(%):53,37

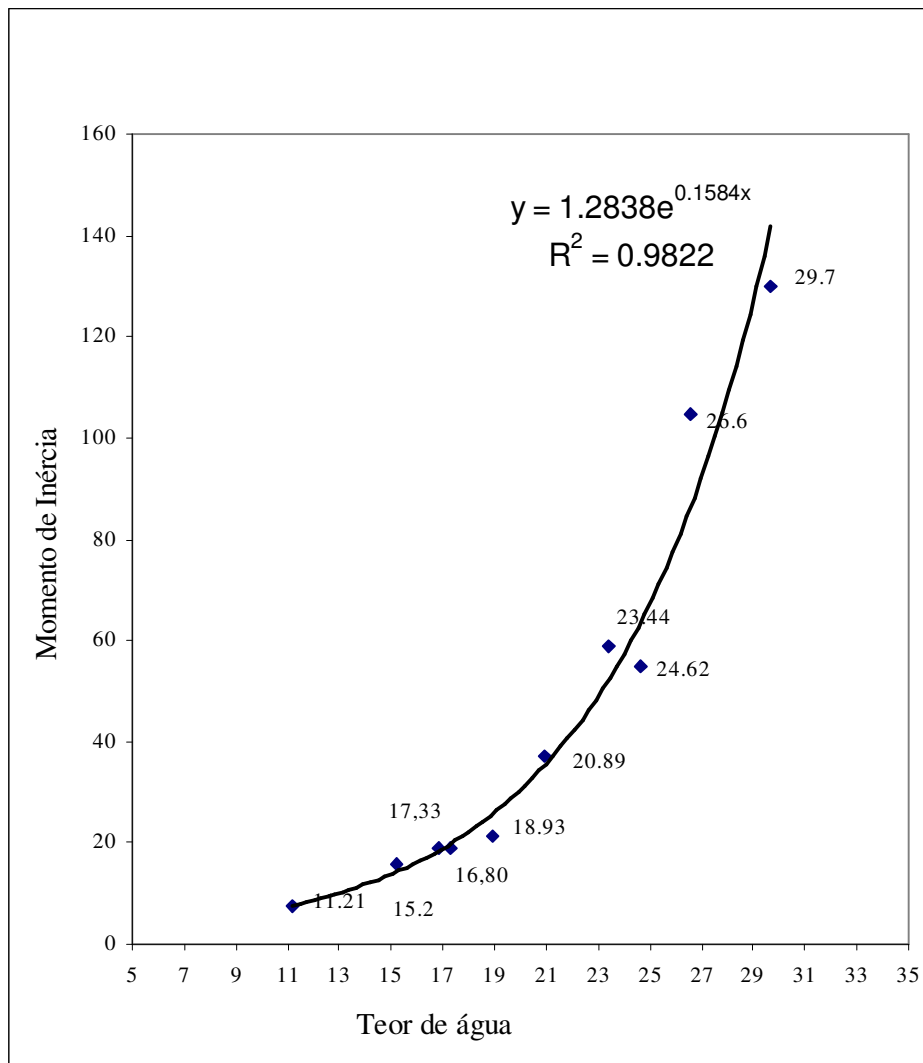


Figura 6.1: Tendências das médias dos valores de MI para cada valor de umidade

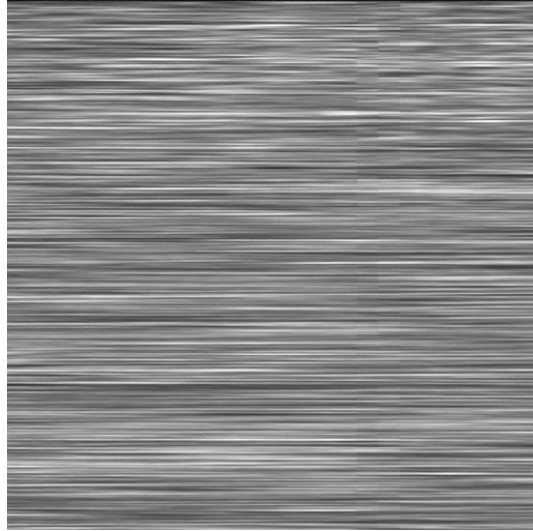


Figura 6.2: STS de uma semente de feijão a 11,21% b.u.



Figura 6.3: MOC da semente de feijão da Figura 6.2

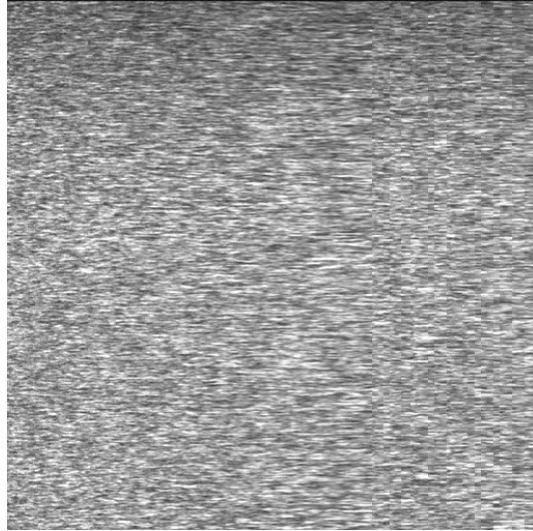


Figura 6.4: STS de uma semente de feijão a 29,7% b.u.

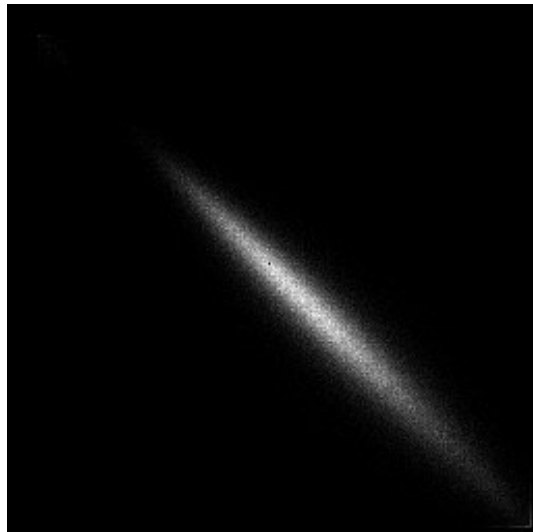


Figura 6.5: MOC da semente de feijão da Figura 6.4

6.3 Discussão

Na Tabela 6.1, observa-se que ocorreram diferenças significativas na média do MI para os tratamentos e entre os dias que se realizou as iluminações. Esses resultados mostram que a umidade influencia no *speckle* dinâmico. Essa informação entra em acordo com os trabalhos de Braga Júnior (2000) e Batista (2002).

Pode-se notar na Tabela 6.2, que após o teor de umidade de 18,93% b.u. existe uma diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em Batista (2002), ao nível de 5% de probabilidade, foi encontrada diferença significativa após o nível de umidade de 21,3% b.u.

Através da Figura 6.1 vemos que o *Momento de Inércia* varia com a modificação da umidade das sementes, observando que ele cresce exponencialmente com a umidade. Esse fato é evidenciado pela existência de um alto coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9822$).

Batista (2002) encontrou um ajuste de modelo linear para os valores médios estimados de MI, com $R^2 = 68\%$.

Percebe-se que os resultados obtidos neste experimento são mais coerentes do que os encontrados em Batista (2002). Isso é resultado de um cuidado maior na metodologia, principalmente no que diz respeito à determinação dos diversos teores de água na semente. Utilizou-se em Batista (2002), somente o sal cloreto de sódio hidrofóbico na caixa *higrostat*. Já neste projeto, o cloreto de sódio hidrofóbico foi usado em uma primeira fase e o sal nitrato de potássio PA em uma segunda fase. O teor máximo que as sementes conseguem alcançar na caixa *higrostat* contendo cloreto de sódio hidrofóbico é aproximadamente 18%

b.u. Ao passo que quando se utilizou também o nitrato de potássio, conseguiu-se um teor máximo de umidade de 24,6% b.u. As sementes que deveriam possuir teores de umidade maiores que esse foram colocadas no germinador. O problema desse aparelho é que nele a semente absorve água muito rapidamente, o que pode prejudicar a sua estrutura física. Dessa forma, quanto menos tempo a semente permanecer no germinador, melhor. Por isso, como a umidade máxima alcançada com o uso de cloreto de sódio hidrofóbico e depois nitrato de potássio PA foi bem maior que a conseguida com a utilização somente do cloreto de sódio hidrofóbico, a quantidade de sementes expostas ao germinador foi muito menor e o tempo de permanência daquelas nesse também reduziu significativamente. Esses fatores diminuem bastante a possibilidade de danos às amostras e, provavelmente, foi por isso que os resultados estatísticos alcançados neste trabalho foram mais precisos do que os encontrados em Batista (2002).

Uma outra observação que pode ser feita é a respeito das imagens de STSs e MOCs. Através da visualização dos STSs, temos a impressão de que analisamos duas amostras com níveis de atividade totalmente opostos. Um THSP é característico de amostras com alta atividade (Figura 6.4) e o outro é típico de amostras com baixa atividade (Figura 6.2). O efeito da água é bastante significativo pois sementes que são do mesmo lote e, teoricamente, deveriam possuir graus similares de atividade biológica, e, em conseqüência, figuras de STS parecidas, fornecem imagens de THSP próprias de extremos dos STSs possíveis.

As figuras 6.3 e 6.5 mostram as MOCs dos STSs citados acima. É interessante notar que essas figuras não são tão distintas como se haveria de pensar, devido à análise visual das figuras 6.2 e 6.4. O STS da Figura 6.2 atende às expectativas e fornece uma MOC (Figura 6.3) característica de amostras com baixa atividade. Porém, o STS da Figura 6.4 gera uma MOC (Figura 6.5) similar

à fornecida pelo THSP da Figura 6.2, contrariando o pensamento de que veríamos uma imagem bem mais parecida com a apresentada na Figura 3.4 (MOC de alta atividade). Contudo, é possível verificar muito mais ocorrências fora da diagonal principal na Figura 6.5 do que na Figura 6.3. Esses fatos só reforçam a declaração de Rabelo (2000) que diz que é necessária uma análise quantitativa da MOC, além da análise visual, para avaliar-se o *biospeckle*.

Capítulo 7

Conclusões

Baseando-se nos experimentos realizados por Batista (2002), e adotando-se uma metodologia mais apurada neste trabalho, concluiu-se que o *Momento de Inércia* é altamente influenciado pelo nível de umidade das sementes, o que concorda com os resultados obtidos por Braga Júnior (2000) e Batista (2002).

O teor de água limite para que a técnica do *biospeckle* funcione com segurança é de 19% b.u. Esse resultado parece bem mais razoável do que o obtido em Batista (2002), onde o limite de trabalho com o *speckle* dinâmico proposto foi de 21,3% b.u. Isso porque 19% b.u. já é um nível de umidade muito alto, uma vez que, geralmente, o nível médio de umidade de um lote de sementes é entre 11% b.u. e 13% b.u.

Se as sementes a serem analisadas com o *biospeckle* estiverem acima de 19% b.u., deve-se garantir que o efeito da evaporação seja minimizado, ou então as informações retornadas pelo *speckle* serão incoerentes.

Este projeto tem, portanto, uma grande importância para garantir a aplicabilidade do *biospeckle*. Isso porque, embora esse método seja ainda incipiente, possui várias possibilidades na área agrícola, como diferenciação entre sementes vivas e mortas, teste de viabilidade e vigor de sementes, identificação de fungos em sementes, etc, e é necessário o estabelecimento de um limite de umidade em que as sementes podem se encontrar, quando analisadas através

dessa técnica, uma vez que a umidade pode mascarar os resultados obtidos por meio do *speckle* dinâmico.

Referências bibliográficas

ARIZAGA, R.; TRIVI, M. R.; RABAL, H. J. **Speckle time evaluation characterization by co-occurrence matrix analysis.** Optics & Laser Technology, v. 4-5, n. 3, p. 1-7, 1999.

BATISTA, C. A. M. Relação Umidade x Momento de Inércia. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA – CICESAL, 15, 2002, Lavras - MG. **Resumos do XV Congresso de Iniciação Científica da UFLA – CICESAL: X Seminário de Avaliação do PIBIC/CNPq; V Seminário de Avaliação do PBICT/FAPEMIG.** Lavras: UFLA, 2002. p. 164.

BERGKVIST, A. **Biospeckle-based study of the line profile of light scattered in strawberries.** 1997. Dissertação de Mestrado - Faculty of Technology at Lund University.

BRAGA JÚNIOR, R. A. **Bio-Speckle:** Desenvolvimento de uma Tecnologia Aplicada a Análise de Sementes. 2000. 117 p. Dissertação (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BRASIL, Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** Brasília: DNPOV-DISEM, 1992. 365 p.

HECHT, E. **Optics.** 2. ed. Massachusetts: Addison-Wesley Publishing Co., 1987.

IMAGENATION CORPORATION. **PXC200:** Color Frame Grabber. 2. ed. Beaverton: Imagenation Corporation, 1997. 176 p. (User's Guide).

OULAMARA, A.; TRIBILLON, G.; DUVERNOY, J. **Biological activity measurement on botanical specimen surfaces using a temporal decorrelation effect of laser speckle.** Journal of Modern Optics, v. 36, n. 2, p. 165-179, 1989.

RABAL, H. J.; BRAGA JÚNIOR, R. A.; TRIVI, M. R.; DAL FABBRO, I. M. **O uso do laser na agricultura.** In: XXVII CONBEA, Poços de Caldas, 1998.

RABELO, G. F. **Avaliação da aplicação do Speckle Dinâmico no Monitoramento da qualidade da laranja.** 2000. 149 p. Dissertação (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

RODRIGUES, S. **Uso do biospeckle laser na diferenciação de tecidos vivos de mortos em sementes.** 2003. 43 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ROMERO, G. G. **Estudio y caracterizacion de patrones de speckle que varian en el tiempo.** 1999. 133 p. Dissertação de Doutorado - Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Física, Universidade Nacional de Salta, Argentina.

XU, Z.; JOENATHAN, C.; KHORANA, B. M. **Temporal and Spatial Proprieties of the Time-Varying Speckles of Botanical Specimens.** Optical Engineering, v. 34, n. 5 / 1478, may, 1995.

Anexos

Anexo A: valores de MI

Bloco 1

Umidade % (b.u.)	MI para feijão 1	MI para feijão 2	MI para feijão 3	MI para feijão 4	MI para feijão 5	MI para feijão 6	MI para feijão 7
11,21	6,5397	6,1907	7,2716	8,4513	8,2783	6,7059	6,6291
15,20	7,9226	12,3003	11,7659	25,0613	14,7626	18,9734	11,6164
16,80	11,8927	12,7548	13,1358	8,4884	10,2650	11,1562	8,7354
17,33	14,6409	13,1627	30,0807	7,9816	14,1928	11,1209	19,1763
18,93	6,6621	6,5889	10,7055	8,0165	13,2501	12,6219	12,7670
20,89	10,5587	10,0121	21,0144	15,5213	12,6184	23,3462	19,2084
24,62	34,1077	45,6671	58,6564	30,5174	42,1329	39,3406	154,7954
23,44	43,0283	23,8592	36,5221	20,6714	36,7184	34,5771	35,6614
26,60	33,5017	29,4809	88,9297	82,7864	90,8050	70,9134	56,1600

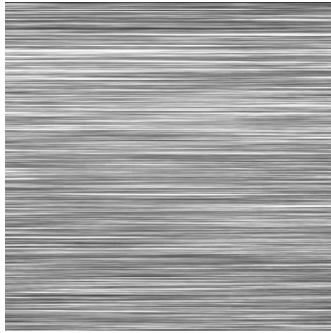
Bloco 2

Umidade % (b.u.)	MI para feijão 1	MI para feijão 2	MI para feijão 3	MI para feijão 4	MI para feijão 5	MI para feijão 6	MI para feijão 7
11,21	5,1927	8,1575	8,8313	9,5432	10,4651	8,3091	6,8620
15,20	20,5002	14,9354	16,6221	16,2207	15,7190	12,6424	21,2677
16,80	14,7046	15,5273	42,1025	10,4543	50,2779	12,4151	18,8295
17,33	27,7343	30,3985	19,8905	21,8812	18,5634	15,2781	30,4108
18,93	41,3155	26,0600	24,1512	27,7032	19,1075	34,5706	51,7449
20,89	30,3906	44,8458	37,4417	37,5144	18,3871	29,5286	39,6794
24,62	47,3314	55,1063	59,5208	76,9219	60,5324	67,4642	61,4102
23,44	47,6341	73,4595	74,0935	77,7906	40,9624	65,1982	53,9067
26,60	82,2896	106,5079	85,4392	151,1137	81,0100	75,7296	99,5352
29,70	116,5800	134,2866	100,0467	150,0614	140,6383	128,4514	135,5800

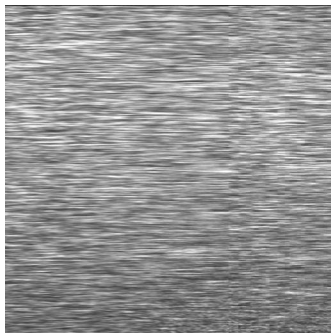
Bloco 3

Umidade % (b.u.)	MI para feijão 1	MI para feijão 2	MI para feijão 3	MI para feijão 4	MI para feijão 5	MI para feijão 6	MI para feijão 7
11,21	6,6874	6,3444	7,1421	6,8676	6,7857	6,7917	11,0048
15,20	10,1208	20,2437	18,6908	48,0618	20,9085	19,4299	42,8138
16,80	9,7002	11,6805	9,6570	10,8609	13,1106	8,8060	21,5332
17,33	16,6623	126,0221	15,1744	20,6543	16,7279	18,4066	16,1309
18,93	18,1388	22,0461	22,3103	16,4073	7,7987	15,5659	48,4068
20,89	81,6616	46,5868	68,6288	71,0921	42,1877	194,5193	60,1530
24,62	72,69301	252,4613	74,7033	110,4540	62,0428	94,8832	
23,44	27,5914	126,6863	112,5981	48,9339	157,7095	111,7287	84,7433
26,60	163,5964	131,9260	128,7910	142,2643	278,6947	168,8275	51,8112
29,70	139,7665	275,8542	78,7217	193,5406	93,0683	78,0281	128,4568

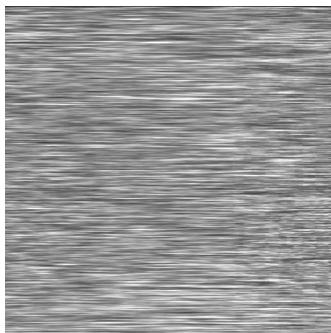
Anexo B: imagens de STSs e MOCs



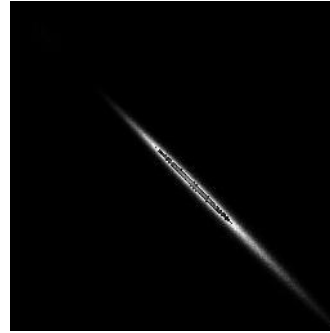
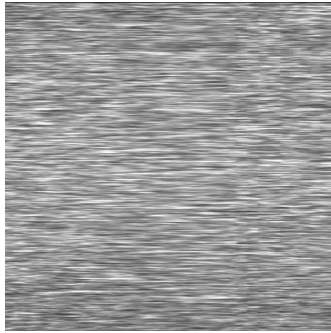
STS e respectiva MOC para feijão 1 Bloco 1 (11,21% b.u.)



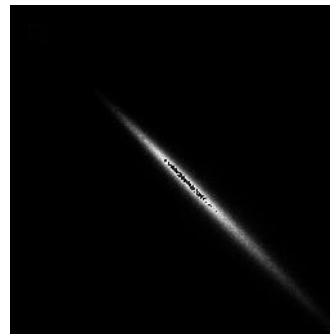
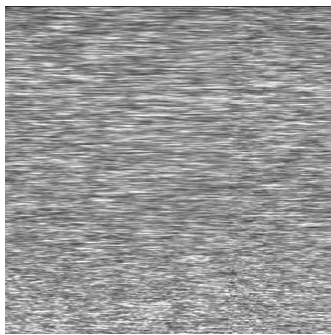
STS e respectiva MOC para feijão 1 Bloco 2 (15,20% b.u.)



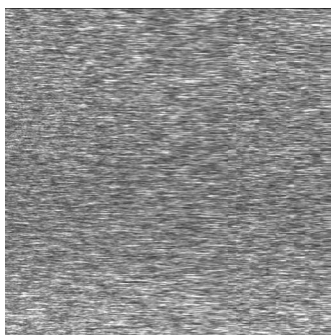
STS e respectiva MOC para feijão 4 Bloco 3 (16,80% b.u.)



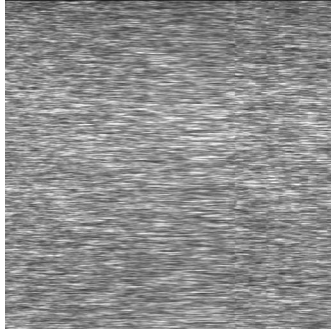
STS e respectiva MOC para feijão 1 Bloco 1 (17,33% b.u.)



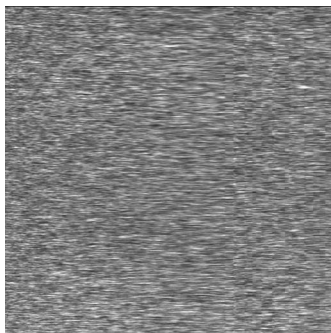
STS e respectiva MOC para feijão 1 Bloco 2 (18,93% b.u.)



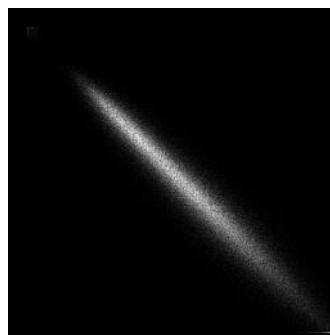
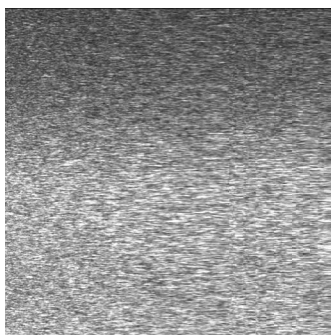
STS e respectiva MOC para feijão 4 Bloco 3 (20,89% b.u.)



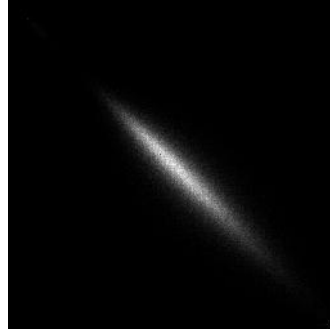
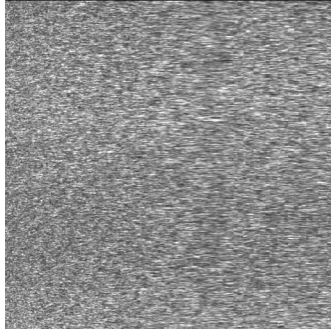
STS e respectiva MOC para feijão 1 Bloco 1 (24,62% b.u.)



STS e respectiva MOC para feijão 1 Bloco 2 (23,44% b.u.)



STS para feijão 4 Bloco 3 (26,60% b.u.)



STS e respectiva MOC para feijão 4 Bloco 3 (29,70% b.u.)