

**11ª Jornada Científica e
Tecnológica do IFSULDEMINAS**

**& 8º Simpósio de
Pós-Graduação**

APLICAÇÃO DA TÉCNICA DO *BIOSPECKLE LASER*: Protocolo do Teste de Qualidade

Gabriel P. de L. ALEXANDRE¹; Marcelo A. dos REIS²

RESUMO

Quando uma superfície rugosa recebe um feixe de luz coerente, a diferença de fase dos raios espalhados e posteriormente incidentes em um anteparo produzem um padrão de interferência luminosa. O *Biospeckle* ou *speckle laser* dinâmico é a técnica experimental empregada no estudo de amostras biológicas a fim de quantificar sua atividade. Para que os resultados possam ser aferidos adequadamente, o teste de qualidade precisa indubitavelmente ser garantido. O protocolo de teste de qualidade é composto pelos testes de: Saturação, Contraste e Homogeneidade. Neste trabalho, o Protocolo do Teste de Qualidade é apresentado através de um experimento simples. Como um protótipo de amostra biológica, utilizou-se papel filtro recortado em quadrados de 5×5 cm, embebido em água e posicionados sobre uma folha de EVA preto. As amostras foram iluminadas por um laser de comprimento de onda de 638 nm com potência de até 50 mW. As imagens foram capturadas por uma câmera e, então, submetidas ao protocolo de teste de qualidade. Através do *biospeckle*, a percolação da água no papel-filtro foi observada ao longo do tempo de exposição à luz laser.

Palavras-chave: *Biospeckle*; Percolação; Interferência; Fervilhamento; Atividade.

1. INTRODUÇÃO

Quando uma superfície rugosa reflete um feixe de luz coerente – como a luz de um laser –, a imagem observada por uma câmera apresenta uma estrutura granular denominada *speckle* – mancha, em inglês. (BRIERS, 1975; RABAL; BRAGA JÚNIOR, 2009; SILVA; MURAMATSU, 2007;). Esse efeito, que ao longo do tempo assemelha-se ao fenômeno de fervilhamento da imagem, decorre do padrão de interferência de ondas luminosas e se apresenta com forma variável, randomicamente dispersa e alterna-se em regiões de claros ou escuros (RABAL; BRAGA JÚNIOR, 2009).

A dispersão óptica é amplamente aplicável e tem se mostrado muito conveniente como uma técnica de investigação em diversas áreas (RITTER et al., 2019). Uma extensão da dispersão óptica é o *biospeckle* ou *speckle laser* dinâmico quando é empregado em material biológico a fim de quantificar a atividade biológica (BRAGA JÚNIOR; RIVERA; MOREIRA, 2016). Para que alcance resultados acurados, o teste de qualidade precisa indubitavelmente ser garantido. A técnica do *Biospeckle Laser* é promissora em diversas áreas de pesquisas; atividade de sementes (BRAGA JÚNIOR; RIVERA; MOREIRA, 2016), qualidade de alimentos (ALVES; BRAGA JÚNIOR, BOAS), etc.

O Teste de Qualidade é um protocolo ao qual o usuário da técnica *biospeckle* deve seguir como base para evitar a subjetividade na obtenção das imagens. Esse protocolo é formado por um conjunto de três testes sequenciais – Teste da Saturação, o Teste do Contraste e o Teste da

¹ Bolsista PIBIC/CNPq, IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. e-mail: pedroso620@gmail.com

² Orientador, IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. e-mail: marcelo.reis@ifsuldeminas.edu.br

Homogeneidade –, que qualificam as imagens e a maneira de coletá-las como “bom, aceitável ou adequado” ou “ruim, inaceitável ou inadequado”.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O Teste de Saturação diz respeito à superexposição ou subexposição de luz na amostra. A superexposição é caracterizada por valores próximos ou igual a 255 (na escala de tons de cinza 0 corresponde ao preto, 255 ao branco), enquanto a subexposição caracteriza-se por valores próximos ou iguais a 0. Caso a saturação ocorra na região de interesse da amostra, tal fato compromete completamente os resultados (BRAGA JÚNIOR; RIVERA; MOREIRA, 2016).

O Teste de Contraste verifica a compatibilidade do fenômeno com a velocidade da câmera, ou seja, define se a velocidade da câmera em capturar as imagens é compatível com a velocidade que o fenômeno observado ocorre (BRAGA JÚNIOR; RIVERA; MOREIRA, 2016). A atual maneira de conduzir este teste é da forma proposta por Briers (1975). “Um alto contraste é caracterizado pela Região De Interesse – ROI – com alta definição dos grãos, enquanto um contraste baixo é caracterizado por ROI com desfoque.” (BRAGA JÚNIOR; RIVERA; MOREIRA, 2016, v. 1, p 34, tradução nossa).

O Teste de Homogeneidade estipula, por meio de cores, a quão homogênea se apresenta a amostra. Compara os *grids* vizinhos e, então, atribui cores. Quanto mais próximo de azul, mais homogênea é a amostra; quanto mais próximo de vermelho, menos homogênea (MOREIRA; CARDOSO; BRAGA, 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Figura 1 – Esquema do sistema experimental (i): *laser* (a), espelho (b), difusor (c), amostra (d), suporte da amostra (e), câmera (f) e computador (g); Fluxograma de processamento das imagens (ii)

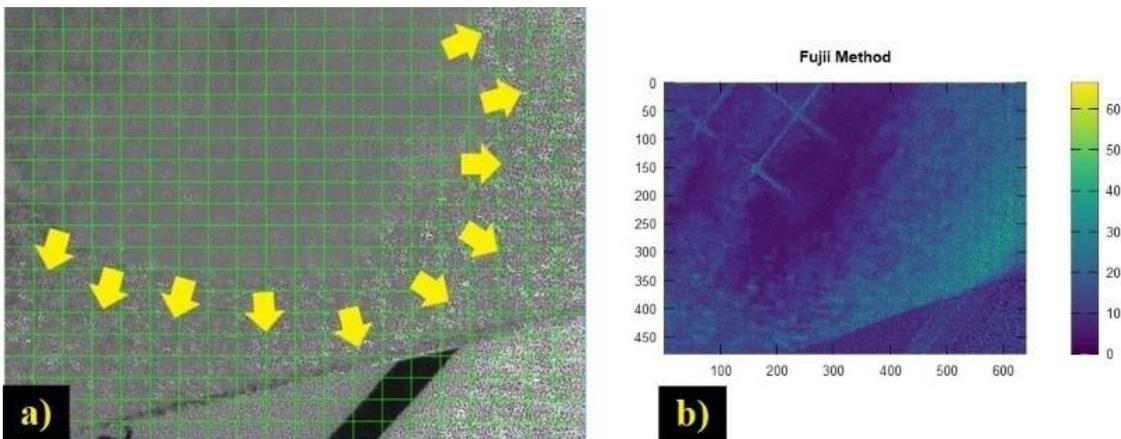


Fonte: Próprio autor, 2019.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A percolação da água sobre o papel-filtro pode ser vista na Figura 2 abaixo:

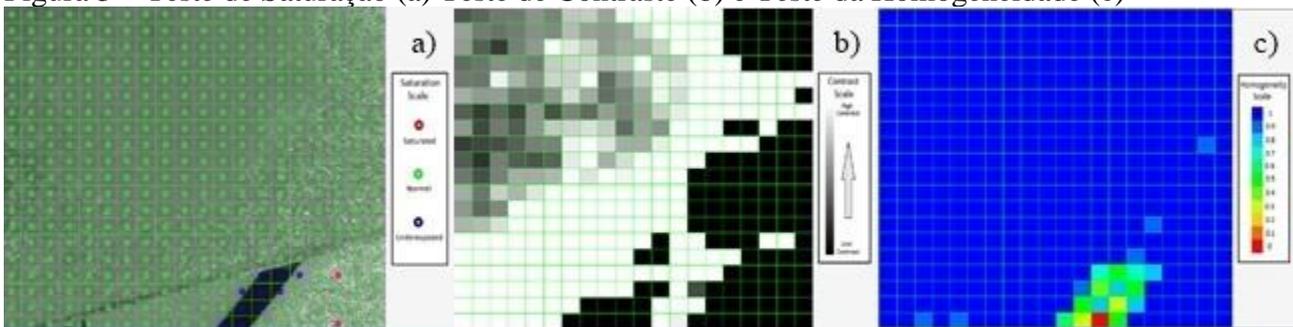
Figura 2 – Sentido que a percolação da água tomou no papel-filtro (a) e o mapa da atividade por meio do Método de Fujii (b)



Fonte: Próprio autor, 2019.

A Figura 2.a) mostra, de forma grosseira, o trajeto que a água se dispôs a percorrer no papel-filtro, direcionando-se às extremidades. Na Figura 1.b) mostra o mapa dessa atividade ocasionada pela água, a qual se encontra nas extremidades. A distribuição das pseudocores na Figura 1.b) traduzem-se em níveis de atividades, começando pelas atividades baixas a partir do azul para atividades elevadas em vermelho (BRAGA JÚNIOR; RIVERA; MOREIRA, 2016). Neste caso, tem-se uma coloração entre verde e amarelo nas extremidades, possivelmente caracterizando uma atividade intermediária à percolação da água.

Figura 3 – Teste de Saturação (a) Teste de Contraste (b) e Teste da Homogeneidade (c)



Fonte: Autoral, 2019.

Pode-se observar que a maior parte dos *grids* foram qualificados com saturação normal. Uma pequena parcela foi considerada com subexposição que, possivelmente, deve ser influência da listra negra presente na superfície. Desta maneira, a amostra pode prosseguir no teste da qualidade.

Segundo Moreira, Cardoso e Braga (2014), “em áreas de baixa atividade, os grãos de *speckle* são fortemente definidos indicando alto contraste.”. Com base na afirmação dos autores citados anteriormente, pode-se observar que os *grids* em preto mostram baixo contraste o que leva a uma atividade considerável, sobretudo, na extremidade inferior direita.

A amostra mostrou-se bastante homogênea em decorrência da grande área em azul (Figura 3.c). Pelo teste da homogeneidade, a região da extremidade apresenta a mesma atividade das demais áreas, por exceção de uma que se encontra no canto inferior. Portanto, essa área apresentada em azul pode ser considerada boa para análises numéricas.

5. CONCLUSÕES

Em cada um dos testes da qualidade, a região que apresenta a listra negra possivelmente exerce uma influência sobre a qualidade das imagens. Embora uma área (branca) tenha sido considerada ruim pelo Teste de Contraste, foi qualificada como homogêneo pelo Teste de Homogeneidade. Por isso, deve-se aplicar esse protocolo. A área em azul é considerada boa para submeter às análises numéricas.

REFERÊNCIAS

ALVES, J. A.; BRAGA JÚNIOR, R. A.; BOAS, E. V. de B. V.. Identification of respiration rate and water activity change in fresh-cut carrots using biospeckle laser and frequency approach. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 86, n. [S. i.], p.381-286, 2013. Disponível em: DOI: 10.1016/j.postharvbio.2013.07.030. Acesso em: 26 ago. 2019.

BRAGA JÚNIOR, R. A.; RIVERA, P.; MOREIRA, J.. **A practical guide to Biospeckle Laser analysis: A practical guide to Biospeckle Laser analysis**. Lavras: UFLA, 2016. 158 p.
BRIERS, J. D.. Wavelength dependence of intensity fluctuations in laser speckle patterns from biological specimens. **Optics Communications**, Amsterdam, v. 13, n. 3, p.324-326, 1975.
Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/003040187590111X>>
Acesso em: 17 jul. 2019.

CARDOSO, R. R.; BRAGA, R. A.; RABAL, H. J.. Alternative protocols on dynamic speckle laser analysis. **SPIE**, Bellingham, v. 8413, n. [S.i.], p.1-6, 2012. V International Conference on Speckle Metrology. Disponível em: <<https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/8413/84131F/Alternative-protocols-on-dynamic-speckle-laser-analysis/10.1117/12.977628.short>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

MOREIRA, J.; CARDOSO, R. R.; BRAGA, R. A.. Quality test protocol to dynamic laser speckle analysis. **Optics And Lasers In Engineering**, Amsterdam, v. 61, n. [S.i.], p.8-13, out. 2014.
Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0143816614001006>>. Acesso em: 17 jul. 2019.

RABAL, H. J.; BRAGA JÚNIOR, R. A. (Ed.). **Dynamic laser speckle and applications**. Amsterdam: CRC Press, 2009. 282 p.

RITTER, J. et al. Depolarizing surface scattering by a birefringent material with rough surface. **Optics Communications**, Amsterdam, v. 230, n. [S.i.], p.456-460, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030401818307417>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

SILVA, E. R. da; MURAMATSU, M.. O fenômeno do *speckle* como introdução à metrologia óptica no laboratório didático. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, São Paulo, v. 29, n. 2, p.283-286, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbef/v29n2/a13v29n2.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

11ª Jornada Científica e Tecnológica e 8º Simpósio da Pós-Graduação do IFSULDEMINAS. ISSN: 2319-0124.