

Marcos Carneiro de Andrade

Orientador: Arnaldo de Albuquerque Araújo

IMAGEAMENTO* MICROSCÓPICO

Dissertação apresentada ao Departamento de Ciência da Computação do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência da Computação

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Ciência da Computação
Belo Horizonte
1993

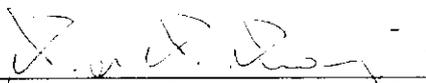
* termo técnico

FOLHA DE APROVAÇÃO

Imageamento Microscópico

MARCOS CARNEIRO DE ANDRADE

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelos Senhores:



PROF. ARNALDO DE ALBUQUERQUE ARAÚJO - Orientador
DCC - ICEX - UFMG



PROF. ROBERTO DE ALENCAR LOTUFO
DECAI/FEE/UNICAMP



PROF. FERNANDO SOARES LAMEIRAS
CDTN/CNEN

Belo Horizonte, 8 de março de 1993.

ÍNDICE

1	Introdução	2
1.1	Uma Revisão dos Analisadores de Imagens	2
1.2	Terminologia Empregada	11
1.3	Motivação	15
1.4	Organização do Trabalho	15
2	Descrição do Sistema	16
2.1	Equipamento Necessário	16
2.2	Funções Oferecidas Pelo Analisador	17
	Segmentação da Imagem	19
	Erosão, Dilatação e Resíduos	21
	Determinação de Áreas	21
	Determinação de Perímetros	21
	Medição de Distâncias	21
	Edição da Imagem	22
	Inspeção de Regiões	22
	Caracterização de Materiais	22
2.3	Estrutura Interna do Sistema	23
2.4	Considerações Sobre Erros de Medida	23
2.5	Conclusões	27
3	Algoritmos Básicos	29
3.1	Segmentação	29
3.2	Exibição da Imagem Segmentada	31
3.3	Determinação de Áreas	31
3.4	Determinação de Perímetros	31
3.5	Exibição dos Perímetros	32
3.6	Operações Morfológicas	32
	Dilatação	32
	Erosão	33
	Resíduo da Dilatação	33
	Resíduo da Erosão	33

	Resíduo da Dilatação Melhorado	33
	Resíduo da Erosão Melhorado	35
3.7	Determinação de Distâncias	35
3.8	Distâncias Aproximadas por Poligonais	35
3.9	Edição de Imagens	36
3.10	Inspeção de Regiões	36
3.11	Geração de Classes de Saltykov	36
3.12	Conclusões	37
4	Aplicação à Ceramografia	38
4.1	Análise Quantitativa de Imagens Microestruturais	38
4.2	Método de Saltykov	43
	Validação do Programa	48
4.3	Conclusões	51
5	Aplicação à Histopatologia	54
5.1	A Estrutura Glomerular	54
5.2	Caracterização Digital da Estrutura Glomerular	55
5.3	Conclusões	62
6	Novas Aplicações e Extensões	63
6.1	Considerações Sobre Novas Aplicações	63
6.2	Aplicação à Monitoração Ambiental	65
6.3	Aplicação à Metalografia	66
6.4	Aplicação à Geologia	66
6.5	Extensão às Estruturas Orientadas	68
6.6	Conclusões	70
7	Conclusões	71
	Referências Bibliográficas	72

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

FIGURAS

Aço com três fases distintas	67
Áreas obtidas com o analisador para uma imagem sintética	24
Aspecto de biópsia renal dois meses após o transplante	59
Aspecto de biópsia renal durante o transplante	59
Aspecto de biópsia renal um ano e sete meses após o transplante	60
Aspecto histopatológico de um glomérulo normal	56
Aspectos diversos de formações calcáreas	65
Bordas em imagem binária	10
Contornos de grãos em material cerâmico, UO2	64
Contribuição das esferas de diâmetros D1 a D5 para o número total	46
Corte esquemático de um glomérulo	54
Corte esquemático de um rim	55
Densidade de comprimento em função de $1/s$ e de \emptyset	70
Distribuição de tamanhos de grão para óxido de cromo	52
Distribuição de tamanhos de grão para óxido de urânio	52
Distribuição de tamanhos de grão para óxido de urânio-gadolínio	53
Efeito da aplicação de um algoritmo de esqueletonização	10
Efeito da edição sobre a imagem original	57
Efeito da segmentação com limiar fixo	7
Fibras de asbestos em amostra de ar poluído,	66
Fragmento de biópsia renal. (Corte transversal)	58
Fronteiras incompletas geradas pela binarização	6
Iluminação heterogênea sobre glóbulos de látex	7
Imagem anterior após segmentação produzida pelo analisador	57
Imagem da córnea humana	64
Imagem da microestrutura após a codificação por pulsos	69
Imagem de fibras musculares vistas em corte	9
Imagem sintética utilizada para verificação das funções	24
Máscara circular superposta à imagem original	69
Micrografia de qualidade insuficiente	42
Micrografia de qualidade mínima	42
Microscopia eletrônica de espécime contendo grãos	5

Orientação preferencial de grãos de hematita	67
Óxido de cromo, Cr ₂ O ₃	49
Óxido de urânio, UO ₂	50
Óxido misto de urânio-gadolínio, (U,Gd)O ₂	50
Óxido misto de urânio. Imagem original	40
Óxido misto de urânio. Imagem segmentada após edição	41
Óxido misto de urânio. Imagem segmentada sem pré-processamento	40
Padrão metrológico de 50mm de largura	26
Relações geométricas entre o diâmetro da seção	47
Resultado da segmentação seletiva com base na coloração	9
Resultado de uma boa segmentação	6
Seções de corte geradas pela interseção de um plano aleatório	45
Segmentação ideal com limiar adaptativo	8
Seqüência de operações durante a caracterização de um material	4
Seqüência mínima de operações para obtenção das regiões da imagem	18
Sistema monodisperso de esferas	44
Sistema polidisperso de esferas	44
Tela de apresentação do sistema	19
Vizinhos considerados durante a rotulação, conectividade 4	30
Vizinhos considerados durante a rotulação, conectividade 8	30
Volume da luz nos glomérulos	61
Volume dos tufos nos glomérulos	61
Volume total dos glomérulos	62

TABELAS

Áreas obtidas com o analisador para uma imagem sintética	24
Medidas para padrões metrológicos (valores em mm)	26
Notação introduzida por Saltykov	43
Perímetros obtidos com o analisador para uma imagem sintética	25

RESUMO

Apresenta-se um analisador de imagens microscópicas digitais, desenvolvido com base na interface PIXELWARE [DAVIS 92/1], para plataformas IBM PC compatíveis e padrão gráfico SVGA. O analisador apresenta qualidade adequada à análise quantitativa de imagens em aplicações reais e custos significativamente reduzidos. O programa emprega uma técnica de segmentação por limiares fixos para determinar as regiões que constituem a imagem. O algoritmo, aqui empregado [TAMURA 82], segmenta a imagem com base nos seus níveis de cinza, permitindo a separação e a identificação de cada uma de suas regiões individualmente. A segmentação das regiões, realizada interativamente, impõe um ou dois limiares de corte sobre os níveis de cinza. Medidas geométricas, morfológicas e estatísticas são, então, obtidas a partir da imagem segmentada. Nos casos em que a imagem representa uma seção plana de uma amostra, comum em muitas aplicações, o programa permite a extrapolação para espaço tridimensional das informações, obtidas no plano da imagem, através da correção estereométrica de Saltykov. Descrevem-se uma aplicação do programa à determinação de tamanhos de grão em cerâmicas, com base no método estereométrico de Saltykov e, outra, à histopatologia que mostra as alterações morfológicas induzidas pela droga imunossupressora Ciclosporina, sobre glomérulos, em transplantes renais. Propõem-se outras possíveis alternativas de aplicação do analisador e sua extensão para caracterização de estruturas orientadas.

ABSTRACT

This work introduces a digital image analyzer, developed upon the PIXELWARE interface [DAVIS 92/1], to run on IBM-PC compatibles employing a SVGA graphic adaptor. The program was designed to meet the requirements of real quantitative image analysis tasks. The analyzer employs a fixed threshold segmentation approach to identify the image features. The algorithm, here employed [TAMURA 82], segments the image imposing one or two thresholds over the image gray levels. Geometrical, morfological and statistical features are determined from the segmented image. The Stereometrical Saltykov correction is also provided to allow three-dimensional data extrapolation from measurements made on the image plane. An application of the analyzer to the characterization of ceramic materials by the Saltykov method is described and illustrated. It is also presented an application to the analysis of histopathological aspects of renal biopsies from a patient treated with Cyclosporine. The effect of this drug on the glomerulus structure was monitored. Other possible applications of the analyzer are proposed and its extension to characterize spatially oriented structures is discussed.

INTRODUÇÃO

1.1 Uma Revisão dos Analisadores de Imagens

Analisadores de imagens fazem uso dos métodos do processamento e da análise de imagens. Através das técnicas do processamento digital de imagens modifica-se a informação, presente na imagem, com o intuito de torná-la mais adequada à interpretação visual [GONZALEZ 87]. A análise de imagens, por sua vez, é empregada para quantificar a informação contida na imagem. Os resultados são, em geral, numéricos e se referem às características geométricas da imagem (áreas e perímetros), estatísticas (distribuições), magnitudes estereológicas ou características relativas à textura - veja terminologia no parágrafo 1.2. Usualmente, a avaliação destes resultados é feita com base no preenchimento de algum critério de qualidade [KODITZ].

Um número crescente de atividades, rotineiramente desenvolvidas nos laboratórios de pesquisa e na indústria, emprega analisadores de imagens. Embora muitas análises possam ser feitas manualmente, tornou-se evidente que os analisadores impuseram um novo patamar de produtividade e qualidade às rotinas de análise. Devido à vasta quantidade de dados normalmente presentes numa imagem, pode ser necessário utilizar um analisador para obter e tratar convenientemente as informações disponíveis.

O lançamento dos microcomputadores pessoais, a custos significativamente reduzidos, abriu novas perspectivas aos analisadores de imagens baseados nestas plataformas [SNELLING 84]. Este fato é particularmente relevante, quando se considera que muitas atividades de pesquisa e desenvolvimento (P&D) e controle de qualidade (CQ), exigem procedimentos de análise de imagens específicos, que podem não justificar a aquisição de analisadores comerciais, quer por razões econômicas, quer por dificuldades técnicas de adaptação das funções disponíveis nestes aparelhos. Como consequência, rotinas de caracterização de materiais que dependam do processamento e da análise de imagens deverão beneficiar-se do uso de analisadores de imagens, especialmente projetados e baseados nestas plataformas.

Os analisadores de imagens são utilizados para contar, medir, comparar, classificar e identificar características presentes nas imagens. Seu uso agiliza e, em alguns casos, viabiliza tarefas que manualmente seriam tediosas, difíceis ou até mesmo impossíveis. Permitem medições precisas, rápidas, automáticas e padronizadas com flexibilidade e facilidade. Na sua maioria, possuem facilidades para criação de rotinas ou seqüências de instruções, definidas pelo usuário, que podem ser armazenadas e, posteriormente, reproduzidas. Permitem a visualização dos resultados obtidos na forma de tabelas, gráficos, ou imagens sintéticas, que podem ser superpostas à imagem original para facilitar

o trabalho de análise [TRACOR 89], [CAMBRIDGE 88], [CAMBRIDGE 89], [LECO 88], [AMS], [LINK 90].

Quanto ao grau de automação, classificam-se os analisadores de imagens em semi-automáticos ou interativos e automáticos. Os analisadores semi-automáticos ou interativos são empregados nas tarefas que não consomem muito tempo ou quando as estruturas analisadas são tão complexas, que o esforço de prepará-las para a análise automática não é viável. Estes sistemas são operados com a intervenção do usuário, quer para decidir sobre a qualidade da imagem, quer para realizar alguma outra tarefa como a retificação manual das bordas das regiões presentes na imagem.

A análise inteiramente automatizada permite maior rapidez na obtenção dos resultados às custas de equipamentos mais caros e sofisticados. Os analisadores automáticos devem prover as facilidades para extração das características a serem medidas, da maneira mais rápida e precisa possível. As imagens, nos equipamentos automáticos, são obtidas através de uma câmera de vídeo acoplada a um cartão de aquisição de imagens.

Na prática, os analisadores comerciais são projetados de maneira modular e oferecem como configuração básica um sistema interativo, que pode evoluir para um sistema inteiramente automatizado, se o cliente assim o desejar.

A gama de materiais analisáveis é vastíssima, variando desde amostras naturais de minerais, vegetais, ou material biológico, até aos materiais sintéticos como polímeros, aços e cerâmicas.

Compõem os analisadores, em geral, os seguintes equipamentos: microscópio ótico ou eletrônico, *scanner*, *frame-grabber*, câmera de vídeo, câmera fotográfica, unidade central de processamento, disco rígido, teclado, monitor, aparelho de raios-x, *mouse*, sistema operacional, programas e documentação.

As imagens podem ser obtidas diretamente da amostra, através de microscópio acoplado a um dispositivo de aquisição de imagens, ou podem provir de fotografias, radiografias, slides ou negativos, convenientemente digitalizadas por um *scanner*. É usual digitalizá-las com 256 níveis de cinza ou cores. As resoluções mais usadas variam de 50 a 1200 *dpi* (*dots per inch* - pontos por polegada) e dependem do equipamento empregado e da aplicação pretendida.

Os analisadores encontram aplicação na maioria dos ramos do conhecimento com destaque especial para a metalografia, ceramografia, farmacêutica, botânica, geologia, ecologia, histologia e monitoração ambiental.

Em termos genéricos, classificam-se suas aplicações em identificação de componentes, determinação de dimensões críticas, separação de partículas que se apresentem aglomeradas na imagem original e determinação dos parâmetros que caracterizam suas

regiões. A natureza destes parâmetros pode ser morfológica, geométrica, topológica e estatística.

As principais operações oferecidas pelos analisadores incluem transformações morfológicas, da escala de cinza, da *look-up table*, operações aritméticas, medições de parâmetros geométricos e morfológicos e determinação de distribuições de tamanho.

O diagrama da Figura 1 ilustra a seqüência de operações realizadas durante o processo de caracterização de um material através de um analisador de imagens.

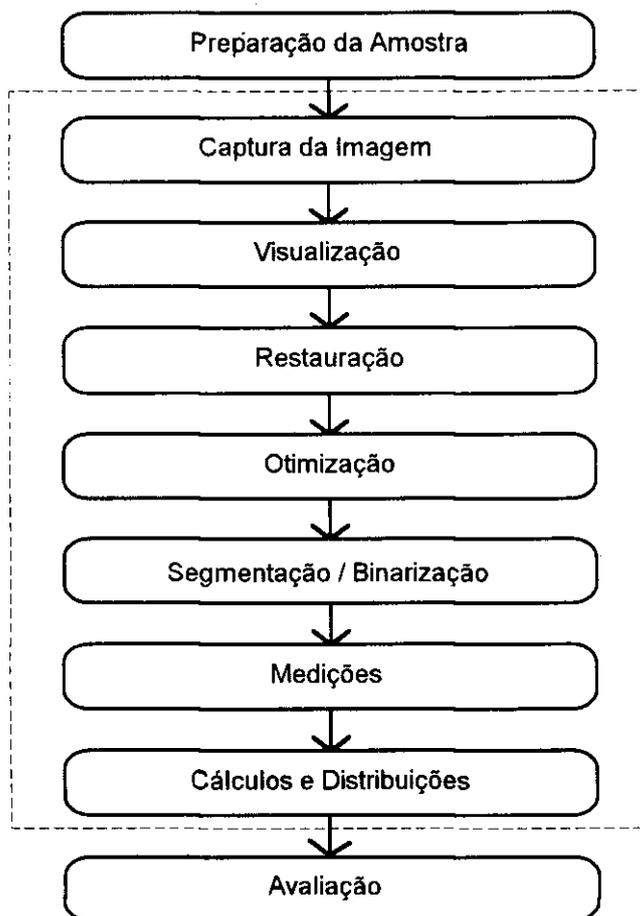
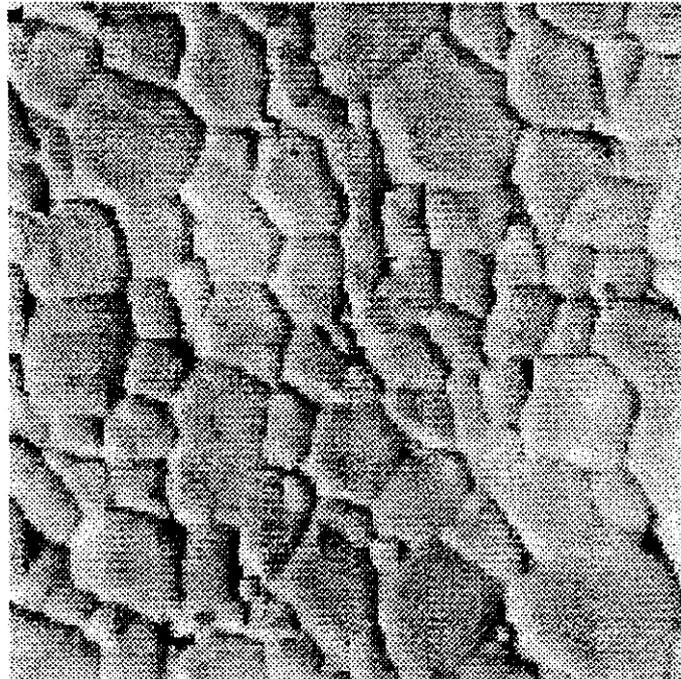


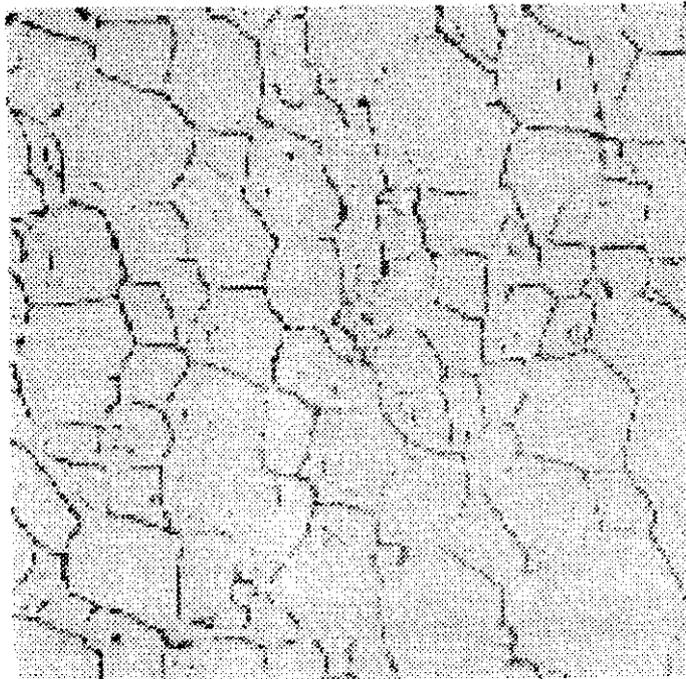
Figura 1
Seqüência de operações durante a caracterização de um material

As imagens [KODITZ], apresentadas a seguir, ilustram alguns dos problemas comumente presentes na fase de análise. A Figura 2a mostra fronteiras de grão fotografadas através de um microscópio eletrônico. Após a binarização, algumas das fronteiras aparecem incompletas como na Figura 2b, impedindo que medições precisas possam ser realizadas. As fronteiras incompletas podem ser retificadas por um algoritmo automático ou

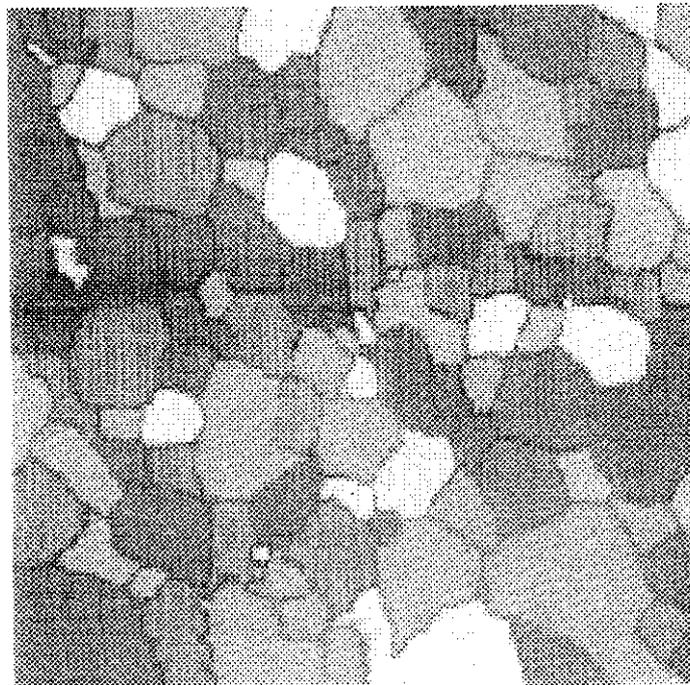
corrigidas manualmente permitindo que as regiões fiquem bem definidas, como na Figura 2c, e possam, então, ser medidas. A Figura 3a exemplifica outro problema enfrentado na fase de segmentação: o efeito de sombreamento causado pela iluminação heterogênea. Esta micrografia representa glóbulos de látex fotografados sob condição de iluminação inadequada. O efeito do uso de um limiar fixo durante a segmentação pode ser observado na Figura 3b. Para uma segmentação conveniente, mostrada na Figura 3c, pode-se recorrer a um algoritmo que opere com limiares adaptativos. A Figura 4 ilustra o efeito da utilização de um algoritmo de segmentação seletiva com base na coloração. A Figura 4a apresenta uma imagem de fibras de tecido muscular. A Figura 4b é o resultado da aplicação de um algoritmo de segmentação com limiares seletivos, utilizado para separar as regiões de interesse. A Figura 5 mostra o efeito da aplicação de um algoritmo de esqueletonização sobre uma imagem binária. O algoritmo de esqueletonização determina as fronteiras entre as células a partir das linhas geométricas centradas sobre as bordas, produzindo bordas de um *pixel* de largura. A Figura 5a representa uma imagem binária contendo elementos esféricos para os quais se procura determinar os contornos. A Figura 5b é o resultado da aplicação de um algoritmo de esqueletonização sobre a imagem binária original. O esqueleto, linhas centradas sobre as bordas, pode ser visto com clareza.



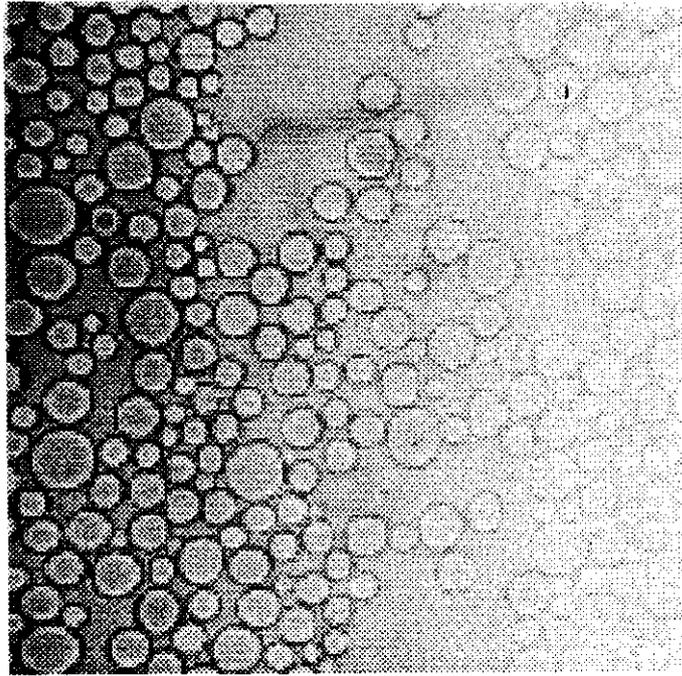
*Figura 2a [KODITZ]
Microscopia eletrônica de espécime contendo grãos*



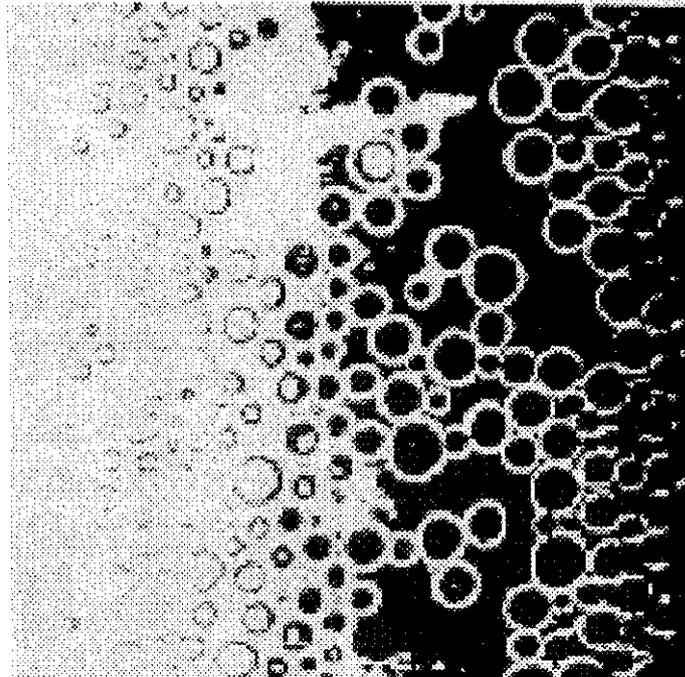
*Figura 2b [KODITZ]
Fronteiras incompletas geradas pela binarização*



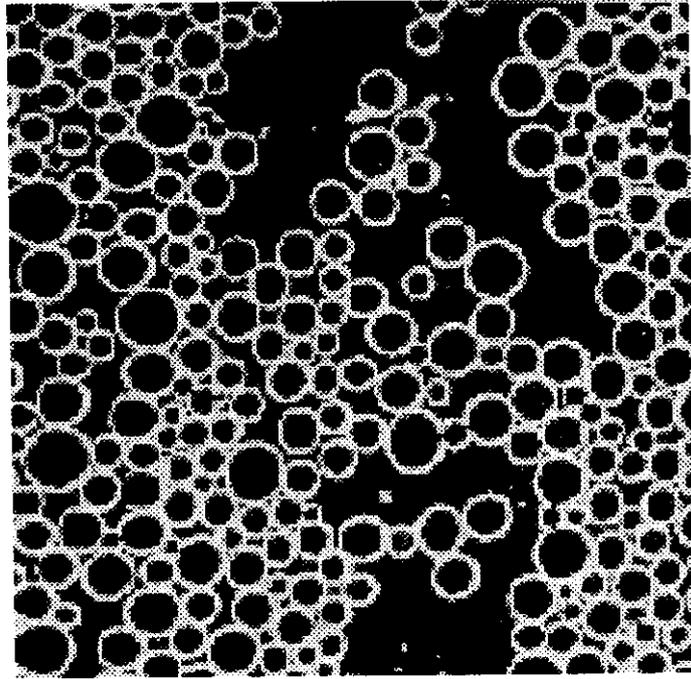
*Figura 2c [KODITZ]
Resultado de uma boa segmentação*



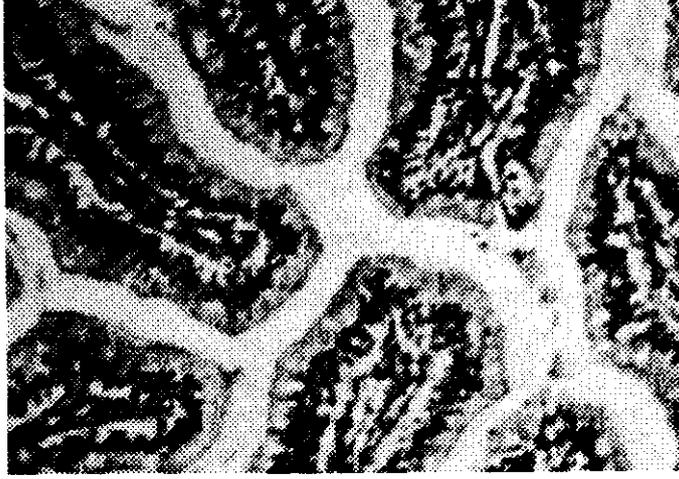
*Figura 3a [KODITZ]
Iluminação heterogênea sobre glóbulos de látex*



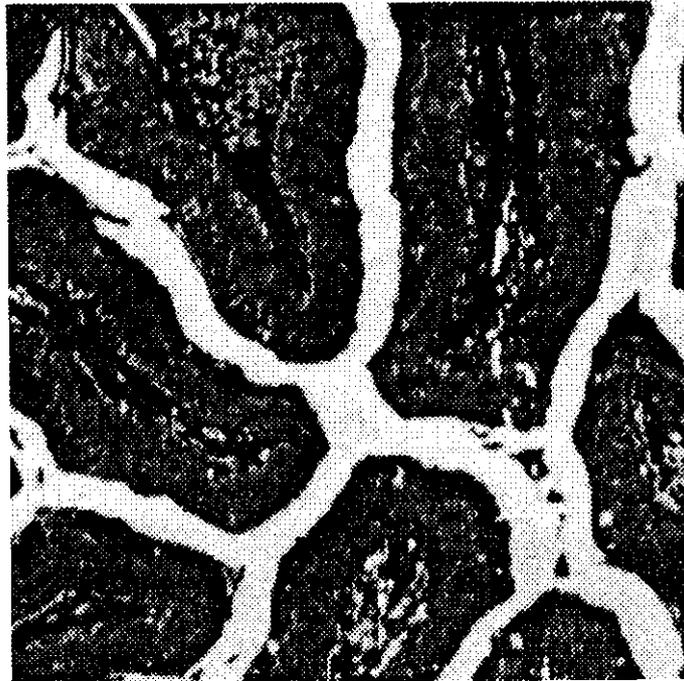
*Figura 3b [KODITZ]
Efeito da segmentação com limiar fixo*



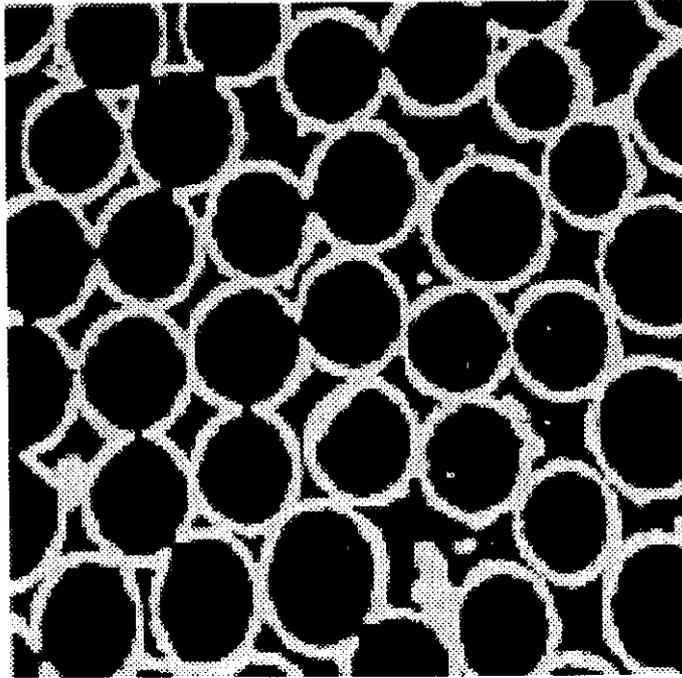
*Figura 3c [KODITZ]
Segmentação ideal com limiar adaptativo*



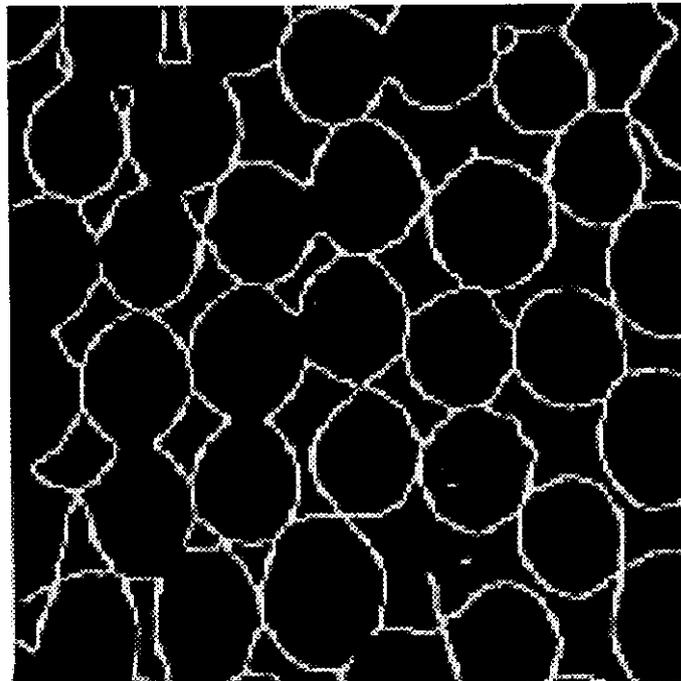
*Figura 4a [KODITZ]
Imagem de fibras musculares vistas em corte*



*Figura 4b [KODITZ]
Resultado da segmentação seletiva com base na coloração*



*Figura 5a [KODITZ]
Bordas em imagem binária*



*Figura 5b [KODITZ]
Efeito da aplicação de um algoritmo de esqueletonização*

1.2 Terminologia Empregada

Os termos aqui utilizados foram retirados da bibliografia consultada, principalmente dos livros *Digital Image Processing* [GONZALEZ 87], *Quantitative Microscopy* [DEHOFF 68] e possuem a seguinte conotação:

Imagem

O termo imagem é definido como sendo uma função de intensidade luminosa bidimensional $f(x,y)$, onde a amplitude f , nas coordenadas (x,y) , indica o brilho da imagem neste ponto. As imagens percebidas pelo olho humano normalmente consistem de luz refletida pelos objetos. Pode-se considerar $f(x,y)$ como sendo composta de dois componentes: a iluminação $i(x,y)$ que é a quantidade de luz incidente sobre a cena e a refletância $r(x,y)$ que representa a quantidade de luz refletida pelos objetos na cena.

Assim,

$$f(x,y) = i(x,y) \times r(x,y).$$

Imagem digital

Imagem digital refere-se a uma imagem $f(x,y)$ que sofreu discretização tanto das suas coordenadas espaciais quanto do seu brilho. Uma imagem digital pode ser vista como uma matriz bidimensional cujas linhas e colunas identificam os pontos da imagem e cujos valores representam a intensidade dos níveis de cinza em cada ponto. Cada elemento desta matriz é denominado *pixel*.

Imagem sintética

Neste contexto significa uma imagem gerada artificialmente, onde cada uma das suas regiões é representada por uma figura geométrica, bem definida, de dimensões exatas em número de *pixels*. As imagens sintéticas aqui empregadas servem para verificação das medidas de áreas, perímetros, distâncias, etc.

Imagem de controle

O termo é aplicado às imagens segmentadas, artificialmente coloridas, que são utilizadas para facilitar a visualização das regiões e verificar a qualidade da segmentação. A imagem de controle é superposta à imagem original para efeito de comparação.

Amostragem

Amostragem é a discretização das coordenadas espaciais da imagem, que se traduz na determinação do número de linhas e colunas da matriz que a representa.

Quantização

Quantização é a discretização da amplitude dos níveis de cinza da imagem, que se traduz na determinação dos valores de cada elemento da matriz que a representa.

Segmentação

Segmentação é o processo de subdivisão da imagem nas suas partes ou objetos constituintes. A segmentação é uma das principais operações na análise automática de imagem porque é nesta etapa que os objetos ou partes de interesse são extraídos para descrição ou reconhecimento subseqüentes. Os algoritmos de segmentação baseiam-se em duas propriedades dos níveis de cinza: descontinuidade e similaridade. Na primeira categoria, a imagem é particionada com base em mudanças bruscas nos níveis de cinza, permitindo a identificação dos pontos, linhas e bordas da imagem. Na segunda categoria, estão os algoritmos baseados em limiares, no crescimento de regiões ou na partição e aglomeração de regiões.

Vizinhança de um *pixel*

Um *pixel* p de coordenadas (x,y) possui 2 vizinhos na direção vertical e 2 vizinhos na direção horizontal cujas coordenadas são dadas por :

$$(x+1,y), (x-1,y), (x,y+1), (x,y-1)$$

	-1,0	
0,-1		0,1
	1,0	

Este conjunto de *pixels*, chamado 4-vizinhos de p , é denominado $N_4(p)$.

Os quatro vizinhos das diagonais de p têm coordenadas

$(x+1,y+1), (x+1,y-1), (x-1,y+1), (x-1,y-1)$

-1,-1		-1,1
1,-1		1,1

e o conjunto é denotado $N_D(p)$. A união destes conjuntos de pontos constitui os 8-vizinhos de p e é denotada $N_8(p)$.

-1,-1	-1,0	-1,1
0,-1	0,0	0,1
1,-1	1,0	1,1

Conectividade

Conectividade entre *pixels* é um conceito importante usado no estabelecimento de fronteiras de objetos e componentes de regiões de uma imagem. Para determinar se dois *pixels* estão conectados devemos determinar se são adjacentes (pertencem à vizinhança imediata) e se seus níveis de cinza satisfazem a algum critério de similaridade (são iguais, por exemplo). Se admitirmos V como sendo o conjunto de valores de cinza, $V = \{V_1, V_2, V_3, \dots, V_n\}$ usados para definir a conectividade, dois *pixels* p e q serão 4-conectados se seus valores pertencem a V e q está incluído em $N_4(p)$. Analogamente, define-se a conectividade-8.

Distância

Definem-se as seguintes distâncias entre dois *pixels* $p(x,y)$ e $q(s,t)$:

- Distância euclídeana, $D_e(p,q) = [(x-s)^2 + (y-t)^2]^{1/2}$
- Distância *city-block* ou *taxicab*, $D_4(p,q) = |x-s| + |y-t|$
- Distância *chessboard* [GARDNER 80]. $D_8(p,q) = \max(|x-s|, |y-t|)$

Estereologia

Estereologia é a interpretação tridimensional de imagens planas (seções ou projeções) com base nos princípios gerais da probabilidade geométrica. É amplamente empregada por geólogos, metalurgistas e biólogos na descrição de estruturas tridimensionais

Os primeiros estereologistas foram os astrônomos da antiguidade que interpretavam o movimento aparente e as variações de luminosidade de imagens dos planetas, projetadas no vazio do céu, em termos de movimentos no espaço. Como ciência formal multidisciplinar a estereologia existe desde 1961.

Seção

Corte ou superfície plana polida de um objeto opaco. Uma seção não possui espessura.

Fatia

"Seção" histológica ou mineralógica de espessura finita, mas cortada de um objeto translúcido.

Lâmina

Porção de um objeto entre dois planos de corte específicos. Uma lâmina pode ser opaca ou consistir de um conjunto de fatias finas entre dois planos de corte distantes.

Perfil

Seção ou fatia de um através de um componente individual de um material, uma célula ou um órgão.

Intercepto

Comprimento do segmento de uma linha teste que cai sobre a área de um perfil.

1.3 Motivação

Muitas tarefas, rotineiramente desenvolvidas nos laboratórios de pesquisa e na indústria, requerem o uso de analisadores de imagens, quer pela maior confiabilidade oferecida, quer pelo ganho de produtividade resultante do uso de procedimentos automatizados. A conveniência de se desenvolver analisadores de imagens de propósito específico, que possibilitem as adaptações requeridas pela aplicação, tem motivado alguns pesquisadores a optar pelo desenvolvimento de analisadores próprios, dedicados às suas necessidades.

O lançamento de microcomputadores baseados na plataforma IBM PC, dotados de processadores INTEL 386/486, e do adaptador gráfico SVGA, a custos significativamente reduzidos, tornou viável o desenvolvimento de analisadores de imagens com padrões de desempenho e qualidade de imagem de nível profissional.

Ciente do potencial destes equipamentos e das vantagens de desenvolver programas que atendam suas necessidades, o Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear - CDTN, decidiu pelo desenvolvimento de analisadores de imagens empregados no controle de qualidade de combustíveis nucleares [PUJOL 92].

O presente trabalho de tese concretiza uma proposta de desenvolvimento de um analisador de imagens multitonal, no âmbito do CDTN, sob a orientação do Núcleo de Processamento Digital de Imagens - NPDI do DCC-UFMG, para substituir o analisador mecânico TGZ [ZEISS], utilizado em ceramografia.

1.4 Organização do Trabalho

O Capítulo 2 descreve o sistema dos pontos de vista organizacional e funcional. As exigências mínimas quanto ao *hardware* e *software* são apresentadas. A estrutura interna do programa é exposta e eventuais mudanças no sistema, para atender novas aplicações, são consideradas. O Capítulo 3 descreve em detalhes a implementação de cada um dos algoritmos presentes no módulo desenvolvido para análise de imagens. O Capítulo 4 discorre sobre a análise quantitativa de imagens, apresenta o método estereométrico de Saltykov, três aplicações reais deste método e sua validação para caracterização de materiais cerâmicos. O Capítulo 5 apresenta uma aplicação do programa ao estudo de aspectos histopatológicos de biópsias em transplantes renais. O Capítulo 6 discute e ilustra possíveis alternativas de aplicação do analisador e considera sua possível extensão à análise de estruturas orientadas. O Capítulo 7 apresenta as conclusões finais.

Um Manual de Utilização do programa complementar o trabalho. Para esclarecimentos sobre o projeto e operação da interface PIXELWARE, deve-se consultar o Manual de Projeto do sistema PIXELWARE [DAVIS 92/2] e a publicação [DAVIS 92/1].

DESCRIÇÃO DO SISTEMA

Descreve-se o equipamento necessário ao uso do programa. Apresentam-se as funções oferecidas pelo analisador e sua utilização. Comenta-se sobre a seqüência de operações e detalhes de implementação. Apresentam-se os erros de medidas lineares obtidas com o programa.

2.1 Equipamento Necessário

O analisador, aqui apresentado, foi desenvolvido sobre a interface PIXELWARE [DAVIS 92/1] para operar em equipamentos compatíveis com o IBM PC, sob o Sistema Operacional MS-DOS e adaptador gráfico SVGA. Recomenda-se o uso de microcomputadores baseados nos processadores 286/386/486 e da versão 5.0 do MS-DOS.

O sistema não faz uso direto de memória expandida ou estendida, mas emprega o *cache* de disco SMARTDRIVE, distribuído com o MS-DOS v. 5.0 ou com o WINDOWS que permite *bufferizar* as operações em disco e, em conseqüência, reduzir significativamente o tempo de acesso a estes dispositivos. Recomenda-se o uso do SMARTDRIVE distribuído com a versão 3.1 do WINDOWS devido ao seu melhor desempenho.

Os arquivos que contêm a imagem original e os auxiliares (de rótulos, de índices, etc.) são mantidos em disco. As operações sobre as imagens transformam um arquivo em disco em outro, carregando-os parcialmente na memória durante o processamento.

A configuração mínima exigida é a seguinte:

- CPU baseada no 80x86
- 640 *Kbytes* de memória RAM
- Monitor de vídeo e placa gráfica padrão SVGA
- *Mouse* compatível com o Microsoft *Mouse*
- Coprocessador aritmético. O uso do coprocessador é recomendado, já que as operações em ponto flutuante serão executadas em tempo consideravelmente menor, caso esteja presente.

O sistema PIXELWARE foi concebido para trabalhar apenas com a memória convencional de 640 *Kbytes* presente nas máquinas IBM-PC. Contudo, o uso de disco virtual (*RAMdisk*) ou de *cache* de disco (*SMARTDRIVE* ou equivalente) é possível e recomendado. Como as imagens são mantidas em disco, é preferível utilizar um *cache* de disco em lugar do *RAMdisk* porque, neste caso, a limitação ao tamanho das imagens será o espaço disponível no disco físico.

O formato padrão BM (*BitMap*), adotado pelo PIXELWARE, está descrito em [DAVIS 92/1]. É um formato não compactado, que evita o trabalho de compressão e descompressão por parte da CPU e facilita a emulação em disco da estrutura de vetor bidimensional que representa a imagem. Alguns programas conversores de formato foram implementados por Davis para facilitar o intercâmbio de arquivos entre o PIXELWARE e outros aplicativos.

Os arquivos auxiliares vinculados ao arquivo de imagem (rótulos, áreas, perímetros e índices) também são mantidos em disco. Esta decisão pretendeu atender as técnicas mais modernas de projeto de interfaces gráficas para aplicações científicas que devem oferecer maior flexibilidade, mesmo em detrimento da velocidade de execução [ODDY 83].

2.2 Funções Oferecidas pelo Analisador

O diálogo com o usuário é conduzido através de caixas de diálogo, menus de seleção única ou múltipla, entradas de dados para inteiros, reais e *strings*, botões, barras de *scroll* e ícones. O controle de eventos é realizado por um *loop* de eventos disparado pelo acionamento de uma tecla do *mouse* ou do teclado. Um sistema de *help*, sensível ao contexto, que faz parte da interface, pode ser acionado de qualquer ponto para informar sobre a função. Cada operação é monitorada através de uma janela de evolução que indica, sob a forma de percentagem, a evolução do processamento a cada instante.

O módulo que engloba os procedimentos do analisador, obedece aos critérios de projeto ditados pela interface PIXELWARE. Uma completa descrição do sistema PIXELWARE pode ser encontrada em [DAVIS 92/1] e [DAVIS 92/2].

A principal função realizada pelo analisador é a segmentação. É através da imagem segmentada que as áreas e os perímetros das regiões da imagem são determinados. Por sua vez, as áreas obtidas na fase de segmentação, irão influenciar as demais informações obtidas a partir delas, como por exemplo a distribuição tridimensional de tamanhos de grão geradas pela correção de Saltykov [SALTYKOV 74].

Para facilitar a visualização, à cada região da imagem segmentada é atribuída uma cor artificial, determinada a partir do rótulo de cada região. A imagem segmentada pode ser superposta à imagem original para efeito de comparação.

A seqüência mínima de operações, ilustrada na Figura 6, deve ser obedecida para que se possa obter as principais características das regiões da imagem, como áreas, perímetros, fatores de forma, etc.

A seqüência de operações é protegida por um mecanismo de verificação de consistência que impede o disparo de uma operação fora de seqüência. Assim, se for feita, por exemplo, uma tentativa de determinação das áreas antes da segmentação da imagem, o usuário recebe uma mensagem de advertência informando-o da necessidade de segmentar a imagem em primeiro lugar.

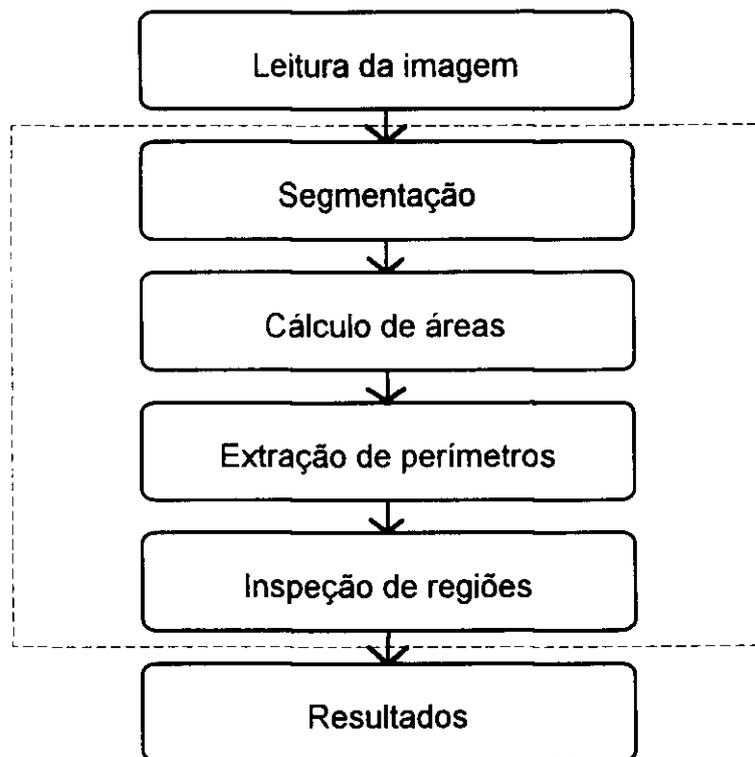


Figura 6
Seqüência mínima de operações para obtenção das regiões de uma imagem

A tela de apresentação do sistema pode ser vista na Figura 7.

A seqüência mínima de operações, ilustrada na Figura 6, deve ser obedecida para que se possa obter as principais características das regiões da imagem, como áreas, perímetros, fatores de forma, etc.

A seqüência de operações é protegida por um mecanismo de verificação de consistência que impede o disparo de uma operação fora de seqüência. Assim, se for feita, por exemplo, uma tentativa de determinação das áreas antes da segmentação da imagem, o usuário recebe uma mensagem de advertência informando-o da necessidade de segmentar a imagem em primeiro lugar.

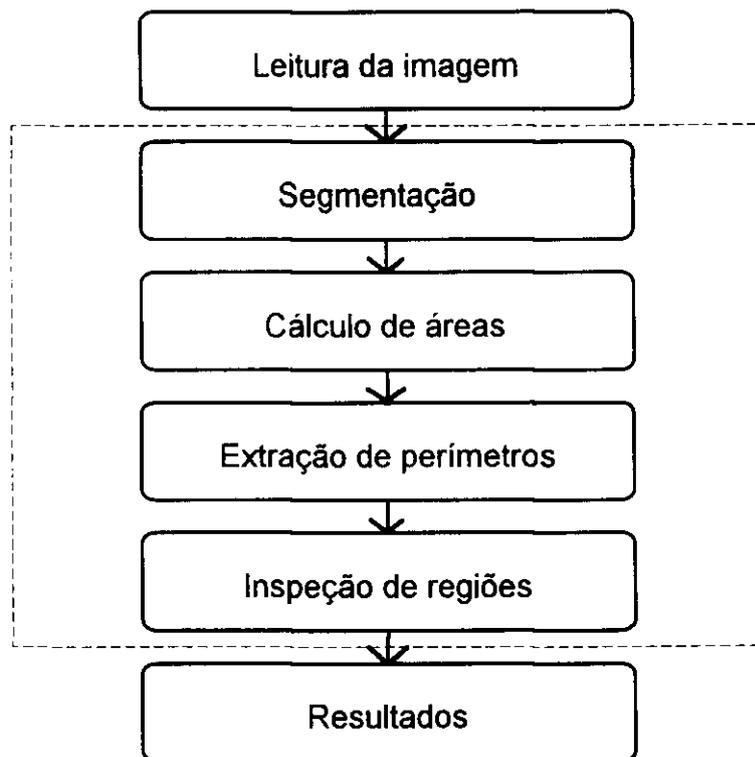


Figura 6
Seqüência mínima de operações para obtenção das regiões de uma imagem

A tela de apresentação do sistema pode ser vista na Figura 7.

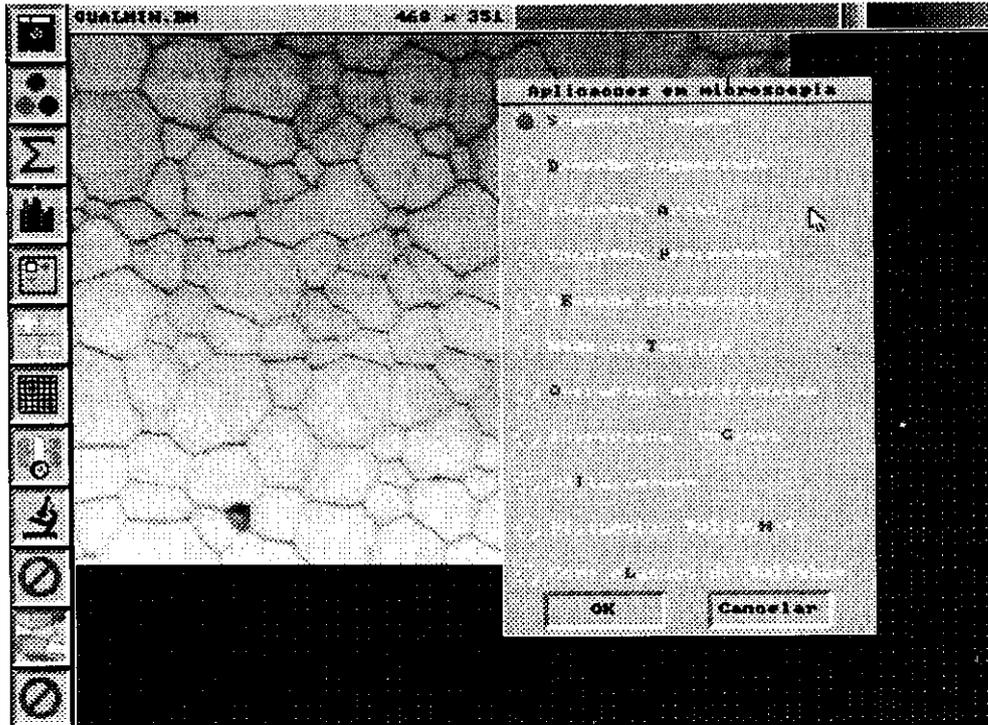


Figura 7
Tela de apresentação do sistema

Para utilizar as funções oferecidas pelo analisador, deve-se fazer uso dos ícones colocados a esquerda da tela. As funções dirigidas à microscopia são acessadas através do ícone representado por um microscópio.

As funções do analisador de imagem são descritas abaixo:

Segmentação da Imagem

A operação de segmentação torna possível separar as diversas regiões da imagem, com base na similaridade entre os níveis de cinza de um *pixel* e seus vizinhos imediatos. O sucesso da operação de segmentação depende, na maioria dos casos, da etapa de pré-processamento que deve anteceder-lá. Nesta fase, é costumeiro fazer-se uso de filtros espaciais, ou no domínio da frequência, para permitir que as imagens tenham qualidade mínima, antes que possam ser submetidas à análise quantitativa.

Durante o processo de segmentação, as regiões da imagem recebem rótulos que as identificam de maneira unívoca. Assim, cada região identificada tem todos os seus *pixels* rotulados com o mesmo e único rótulo. A imagem segmentada serve, então, de base para o cálculo das áreas e dos perímetros das regiões.

A etapa de segmentação é reconhecidamente uma das mais difíceis do processamento digital de imagens. Frequentemente, as imagens microscópicas apresentam iluminação

heterogênea e contornos mal definidos ou incompletos que representam uma dificuldade adicional. Vários algoritmos de segmentação conhecidos tratam o problema concentrando esforços em alguma particularidade. Há algoritmos de segmentação que fazem uso de limiares adaptativos para amenizar o efeito da má iluminação. Outros baseiam-se no conceito de crescimento de regiões para delimitar as regiões da imagem, etc. Contudo, as imagens segmentadas costumam apresentar defeitos, como regiões aglutinadas, às vezes por um único *pixel*, que devem ser corrigidos lançando-se mão de recursos que transcendem a etapa de segmentação.

A segmentação implementada neste programa é baseada no uso de um limiar, ou alternativamente dois limiares, que irão determinar a faixa dos níveis de cinza a ser considerada na identificação das regiões da imagem. Deve-se escolher, por tentativa ou inspeção do histograma da imagem, o(s) limiar(es) de maneira que a imagem segmentada represente adequadamente a original. Este processo é interativo, requer que se faça uma inspeção visual da imagem segmentada e se decida, a cada interação, sobre a qualidade do resultado obtido. Nos casos em que a segmentação não produza bons resultados, pode ser utilizada uma combinação de operações morfológicas de dilatação e erosão para separar, efetivamente, as regiões da imagem que permaneceram aglutinadas. Finalmente, quando mesmo as operações morfológicas não surtam efeito, pode-se usar o recurso de edição da imagem. Neste caso, a retificação das bordas da imagem deve ser feita manualmente, empregando-se o recurso de edição que é mais trabalhoso mas bastante eficaz.

Há, naturalmente, um compromisso entre a qualidade esperada, de um lado, e o esforço do algoritmo e do operador, de outro. É conveniente salientar que todo o trabalho de pré-processamento pode ser reduzido se as amostras forem adequadamente preparadas, focalizadas, fotografadas e as imagens resultantes forem convenientemente digitalizadas.

Para segmentar uma imagem é necessário escolher entre um ou dois limiares, informar seu(s) valor(es) e selecionar o grau de conectividade (4 ou 8) que se deseja atribuir às regiões. A janela onde devem ser informados os limiares possui dois campos: O primeiro campo indica o valor do limiar superior, cujo valor *default* é 255 e o segundo, apresenta o limiar inferior, cujo valor *default* é o nível de cinza médio da imagem. Somente os níveis de cinza entre os limiares são contabilizados. Para obter o efeito de segmentação com um único limiar, o campo *Limiar superior* deve ser mantido em 255, enquanto o limiar inferior varia.

Para visualizar parte da imagem que não se encontra visível na tela é necessário fechar a janela de microscopia, realizar o reposicionamento da imagem, utilizando-se as barras de *scroll*, ativar novamente o ícone de microscopia e solicitar, mais uma vez, a função *Desenha segmentada*.

Para restaurar a imagem original, deve-se acionar o *mouse* sobre uma das barras de rolagem, após ter sido fechada a janela de diálogo.

Erosão, Dilatação e Resíduos

Todas as operações morfológicas são solicitadas através de uma janela de diálogo secundária ativada pelo botão *Operações morfológicas* do menu de microscopia. Para preservar a imagem original as operações morfológicas são realizadas sobre cópias. Uma janela de diálogo pede o nome do arquivo de saída que conterá a imagem transformada.

O programa permite as seguintes operações morfológicas, baseadas nos níveis de cinza: erosão, dilatação, resíduo da erosão, resíduo da dilatação, resíduo da erosão melhorado e resíduo da dilatação melhorado. Os algoritmos que implementam as quatro primeiras operações têm caráter didático [LEE 87]. Entretanto, os algoritmos que implementam as operações com resíduos melhorados podem ser utilizados, conjuntamente com operações aritméticas, para produzir resultados eficazes. Como exemplo, a adição da imagem original ao seu resíduo melhorado da dilatação pode servir para separar regiões que se apresentem aglutinadas.

Determinação de Áreas

As áreas das regiões são determinadas a partir da imagem segmentada. Como cada *pixel* da imagem segmentada possui um rótulo que identifica a região à qual pertence, a determinação reduz-se a uma mera contagem dos *pixels* que pertencem a cada região. As áreas obtidas são registradas em um arquivo texto para uso eventual por programas externos como planilhas ou bancos de dados.

Determinação de Perímetros

A determinação dos perímetros também é obtida a partir da imagem segmentada. Cada ponto sobre o perímetro é identificado e registrado ordenadamente em um arquivo texto para uso posterior por programas externos. Ao final do processamento o arquivo de bordas contém uma vetorização da imagem original.

Medição de Distâncias

Medições de distâncias lineares ou aproximadas por polígonos podem ser realizadas com o analisador. As medições são efetuadas posicionando-se o cursor do *mouse* sobre o ponto inicial e pressionando-se a tecla esquerda. Imediatamente, uma linha elástica torna-se visível para auxiliar o processo de medição. A seguir, deve-se posicionar o cursor sobre o segundo ponto e pressionar novamente o botão esquerdo do *mouse*. Uma janela de diálogo exibirá a distância expressa na unidade de medida escolhida inicialmente.

Para obter-se distâncias aproximadas por poligonais, procede-se de maneira semelhante à descrita acima. Porém, para encerrar a marcação das arestas, deve-se acionar o botão direito do *mouse*. São exibidas as distâncias, máxima, média, mínima e total do conjunto de arestas nas unidades de medida previamente escolhidas.

Edição da Imagem

O recurso de edição de imagens foi acrescentado ao analisador para permitir que o usuário interfira, de maneira contundente, no processo de segmentação. A edição, neste caso, reduz a zero os níveis de cinza do *pixel* sob o cursor e dos seus oito vizinhos imediatos. Este recurso tem o propósito de permitir que o operador separe manualmente as regiões da imagem que ainda permaneceram emendadas após a etapa de segmentação. A separação manual das regiões emendadas garante que após novo processo de segmentação as regiões estarão separadas.

Para evitar que a edição ocorra sobre a imagem original o programa solicita ao operador que forneça um novo nome à imagem editada.

Inspeção de Regiões

O recurso de inspeção de regiões foi acrescentado ao programa para permitir que o operador pudesse observar as características de cada região da imagem na tela. Ao ativar o recurso de inspeção a primeira região gerada pela segmentação é imediatamente apresentada na janela de diálogo. O contorno da região é desenhado e seus dados geométricos e morfológicos são apresentados. A visualização das demais regiões é feita através das setas de navegação. Para observar as informações relativas a uma dada região, pode-se digitar o seu número no quadro disponível. As informações sobre uma região também podem ser obtidas, de maneira mais prática, apontando-se o cursor do *mouse* para qualquer ponto do interior da região e pressionando-se o botão esquerdo do *mouse*.

Caracterização de Materiais

O analisador permite a obtenção de medidas estereométricas pelo método de Saltykov. Imediatamente, após a escolha desta função, a imagem segmentada é apresentada sem os grãos incompletos que interceptam os limites da imagem. Deve-se, então, selecionar as regiões que não serão contabilizadas, posicionando o cursor do *mouse* no interior da região e pressionando o botão esquerdo do *mouse*. A região desconsiderada terá sua coloração alterada para cinza significando que esta não será contabilizada. Se se desejar reconsiderá-la, deve-se repetir a mesma operação que, então, irá restaurar a cor original da região. Após a marcação das regiões desconsideradas, deve-se apontar o *mouse* para o ícone que representa a porta de saída e pressionar o botão esquerdo do *mouse*.

Caso a imagem seja maior que a janela, deve-se fazer uso das barras de rolagem da imagem que estão posicionadas a direita e abaixo da janela da imagem. Entretanto, para realizar esta operação, a janela de microscopia deve ter sido previamente fechada. Após o reposicionamento da imagem, deve-se acionar novamente o ícone de microscopia e selecionar *Gera classes de Saltykov* mais uma vez. Finalmente, deve-se encerrar a seleção das regiões pressionando o botão esquerdo do *mouse* sobre a porta de saída.

O cálculo da distribuição tridimensional de tamanhos de grão e a visualização, na forma gráfica, dos resultados obtidos são realizados pelos programas externos, GRÃOSANLEXE e SEMILOG.EXE [PUJOL 92], desenvolvidos e utilizados rotineiramente no CDTN. Para executá-los seqüencialmente, utilize o arquivo de lote SALTYKOV.BAT.

2.3 Estrutura Interna do Sistema

O sistema PIXELWARE [DAVIS 92/1] e [DAVIS 92/2] foi implementado de maneira modular, em linguagem C, de forma a facilitar a incorporação de módulos orientados a novas aplicações. O analisador de imagens, em concordância com o projeto da interface, também foi concebido de maneira modular, reunindo todas as funções implementadas para aplicações em microscopia em um único módulo.

Para simplificar o controle, algumas poucas variáveis globais foram acrescentadas ao sistema original.

2.4 Considerações Sobre Erros de Medida

A natureza discreta dos dispositivos gráficos computadorizados permite a geração de imagens sintéticas que apresentem figuras geométricas de dimensões exatas. Para verificar os algoritmos de segmentação, de cálculo de áreas e extração de perímetros foram geradas algumas imagens sintéticas.

A imagem sintética mostrada na Figura 8 possui fundo branco (*pixels* de valor um) sobre o qual foram desenhados dez quadrados, na cor preta (*pixels* de valor zero), cujos lados variam de 1 a 10 *pixels*. A segmentação desta imagem produziu, corretamente, os resultados, medidos em *pixels*, apresentados na Tabela 1.

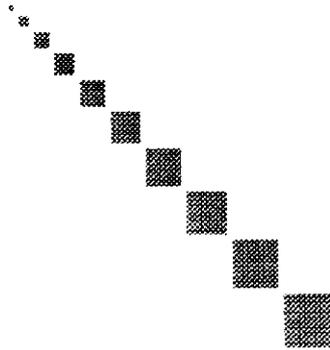


Figura 8
Imagem sintética utilizada para verificação das funções

PIXELWARE

Sintetic.log 10/2/1993 8:18:59

Áreas medidas em pixels quadrados

Região	Área
1	1
2	4
3	9
4	16
5	25
6	36
7	49
8	64
9	81
10	100

Tabela 1a
Áreas obtidas com o analisador para uma imagem sintética

PIXELWARE

Perímetros medidos em pixels

Sintetic.log 10/2/1993 8:19:16

Região	Perímetro
1	1
2	4
3	8
4	12
5	16
6	20
7	24
8	28
9	32
10	36

Tabela 1b
Perímetros obtidos com o analisador para uma imagem sintética

A discretização das coordenadas espaciais de um dispositivo gráfico, como o monitor, permite o desenho de imagens sintéticas de dimensões exatas mas impõe restrições às posições do cursor na tela. Restrições que afetam a precisão das medidas realizadas, sobre a tela do computador, por um dispositivo apontador como o *mouse*.

A resolução utilizada na digitalização das imagens, o aumento, no caso de imagens microscópicas e a resolução do *mouse*, medida em *mickeys*, introduzem erros de medida adicionais. Para avaliar os erros cometidos na medição de distâncias vários padrões metrológicos de dimensões precisas foram digitalizados. A imagem de um padrão metrológico, cuja largura possui 50mm, pode ser observada na Figura 9. Todos os padrões foram digitalizados a 150 dpi para um aumento correspondente a 1. A resolução do monitor, com *dot-pitch* de 0.28 mm, foi fixada em 800x600 *pixels*. A resolução do *mouse* foi de 200 *mickeys* por polegada que equivale a 0.13 mm por *mickey*.

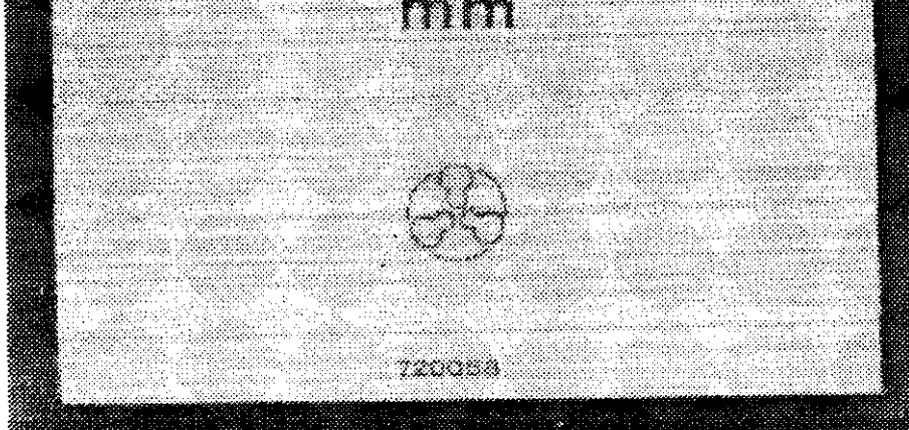


Figura 9
Padrão metrológico de 50mm de largura

A Tabela 2 apresenta o conjunto de padrões metrológicos digitalizados, suas dimensões nominais e medidas e os respectivos desvios.

Valor nominal	Desvio	Médias medidas	Desvio padrão
2	+0.08	1,998	0,14
7	-0.08	6,977	0,14
10	+0.04	9,957	0,14
20	+0.09	19,912	0,14
30	-0.05	29,936	0,18
50	+0.03	49,584	0,08
100	-0.01	99,512	0,06

Tabela 2
Medidas e desvios para padrões metrológicos (valores em mm)

Para avaliar os erros cometidos nas medições realizadas com o analisador é necessário considerar dois tipos de incerteza: aleatórias e sistemáticas. Ao se medir a incerteza (I) pode-se considerar a adição linear das parcelas aleatória (I_a) e sistemática (I_s) por ser mais segura quanto ao risco de subestimação [DIN 91].

Através de uma regressão linear determina-se a relação entre o valor esperado da medida (\hat{y}) e o valor nominal (x). Para os dados obtidos esta relação representou :

$$\hat{y} = 0,9945x + 0,0091$$

A incerteza aleatória pode ser obtida a partir da distribuição de Student como sendo:

$$I_a = \frac{t_{\infty}}{\sqrt{n}} \sigma_y$$

A incerteza sistemática é dada por :

$$I_s = \hat{y} - y$$

Considerado o conjunto de valores obtidos e fixada uma confiabilidade de 95%, determinou-se a incerteza total para uma única medição como sendo:

$$I = \pm 0,29 + 0,0055x \text{ (valores em mm)}$$

2.5 Conclusões

O desenvolvimento do módulo para aplicações em microscopia procurou seguir os critérios de projeto adotados para a interface PIXELWARE. Entretanto, deve ser salientado que durante seu desenvolvimento, não houve preocupação de se otimizar a interface com o usuário.

Procurou-se implementar funções básicas de análise de imagens, típicas de um analisador desta categoria. As funções implementadas são de propósito geral e, em princípio, aplicáveis a diferentes tipos de problemas, como exemplificado nos Capítulos 4 e 5.

Aplicações específicas certamente exigirão o desenvolvimento de um conjunto próprio de novas funções que poderão ser, futuramente, incorporadas ao analisador. Caberá ao programador implementar o *loop* de controle, as janelas de diálogo e as funções para cada nova aplicação incorporada ao sistema.

Um conjunto de imagens sintéticas foi elaborado para avaliação das funções e dos erros decorrentes do uso do programa. Imagens digitalizadas de padrões metrológicos conhecidos permitiram uma avaliação precisa destes erros.

Para suprir as funcionalidades não encontradas na atual versão do analisador está sendo considerada a migração do ambiente MS-DOS para o WINDOWS. Considera-se, também, a incorporação de adaptadores gráficos de 24 *bits* (16.8 milhões de cores) que viabilizará o uso de imagens cuja qualidade rivaliza com a fotografia convencional [KARNEY 92] e representa o limite de acuidade do aparelho visual humano.

A interface gráfica PHOTOPIX, para o ambiente operacional WINDOWS, em desenvolvimento pelo NPDI, deverá servir de plataforma básica para as aplicações de processamento e análise de imagens.

ALGORITMOS BÁSICOS

Alguns dos algoritmos, aqui apresentados, foram desenvolvidos com base no pacote de subrotinas FORTRAN para processamento digital de imagens SPIDER [TAMURA 82]. Este pacote implementa um conjunto de procedimentos sem, no entanto, considerar as operações de entrada e saída (E/S). As rotinas SPIDER também pressupõem que tanto a imagem original quanto a imagem processada estejam residentes na memória central, representadas por vetores bidimensionais, transferidos entre as rotinas como argumentos.

Para viabilizar a implementação destas rotinas no ambiente operacional MS-DOS, que conhecidamente impõe limitações de memória aos programas sob seu controle, decidiu-se manter todos os arquivos de imagem em disco. Assim, simulam-se os vetores através da função *fseek*, da linguagem C, e de uma fórmula de endereçamento, por linhas e colunas, que permite o acesso direto a cada *pixel* da imagem mantida em disco. Esta solução, embora introduza uma redução na performance do sistema, permite o processamento de imagens maiores que toda a memória central disponível. A redução é parcialmente compensada pela utilização de programas *cache*, como o SMARTDRIVE.

Os algoritmos foram implementados utilizando-se as facilidades de alocação dinâmica oferecidas pela linguagem C. Cada função utilizada realiza o trabalho de alocação e liberação de memória para mantê-la o mais livre possível.

3.1 Segmentação

O algoritmo de segmentação foi adaptado do seu equivalente, CLAB, apresentado no pacote SPIDER. A segmentação é realizada em quatro passos consecutivos:

Primeiramente, é gerada uma matriz bidimensional nula, que representa o estado inicial da imagem rotulada.

No segundo passo, o algoritmo realiza uma rotulação parcial da imagem. Nesta etapa, dependendo do grau de conectividade escolhido pelo usuário, que pode ser 4 ou 8, o algoritmo rotula o *pixel* central de uma máscara 3x3 em concordância com o menor rótulo de parte dos seus vizinhos.

Assim, se a conectividade for 4, o rótulo do *pixel* central será igual ao menor entre o do norte e o do oeste. Se os vizinhos considerados forem nulos, um novo rótulo será atribuído ao *pixel* central.

No caso de conectividade 8, o *pixel* central receberá um rótulo igual ao menor rótulo entre os do oeste, noroeste, norte e nordeste. Se estes forem nulos, um novo rótulo será atribuído ao *pixel* central, veja Figuras 10 e 11.

	N	
O		

Figura 10

Vizinhos considerados durante a rotulação, conectividade 4

NO	N	NE
O		

Figura 11

Vizinhos considerados durante a rotulação, conectividade 8

Contudo, nesta etapa os rótulos atribuídos aos *pixels* da imagem segmentada não são definitivos. Se a vizinhança considerada tiver rótulos nulos, o *pixel* central receberá um rótulo maior que os já alocados aos demais vizinhos. Dessa forma, a região que deveria receber apenas um rótulo, passa a ter mais de um.

O terceiro passo do algoritmo corrige a inconsistência gerada no segundo passo atribuindo um único rótulo, o menor possível, a cada região. Para esta operação o algoritmo realiza uma re-rotulação do arquivo de rótulos. Por causa desta inconsistência, o algoritmo utiliza um conjunto de rótulos intermediários maior que o obtido ao final do processo de rotulação. Sempre que o rótulo intermediário ultrapasse o número máximo de regiões é realizada uma re-rotulação.

Na versão, ora apresentada, esse limite foi fixado, por razões práticas em 15000 valores, enquanto o número máximo de regiões foi estabelecido em 5000. Além disso, o mecanismo de re-rotulações intermediárias foi eliminado, visando-se acelerar o processo de segmentação. Apenas uma única etapa de re-rotulação é, então, realizada. O algoritmo verifica permanentemente a violação do limite máximo, emite uma mensagem de advertência caso este seja ultrapassado e interrompe o processamento.

Na quarta etapa, o arquivo de rótulos, definitivamente re-rotulado é escrito em disco.

3.2 Exibição da Imagem Segmentada

O algoritmo de exibição da imagem segmentada, inicialmente, verifica o posicionamento vertical e horizontal da imagem original na tela para determinar que parte da imagem está sendo exibida. Uma vez determinado o canto superior esquerdo da imagem na tela, o arquivo de rótulos é lido e a imagem segmentada é mostrada a partir desta posição. Cada linha da imagem é lida e em seguida desenhada através da função *putpixel*.

3.3 Determinação de Áreas

Para determinar as áreas das regiões, o algoritmo realiza uma leitura seqüencial do arquivo de rótulos e contabiliza, para cada rótulo encontrado, mais uma unidade no somador correspondente a região. Ao final da contagem, os valores encontrados são registrados em um arquivo texto (ASCII), com extensão *log*. Este arquivo contém um indicador para cada região e sua área correspondente. A data e a hora do processamento também são registradas para facilitar sua identificação. Informações relativas aos perímetros das regiões também são registradas neste arquivo durante a determinação de perímetros.

O formato texto do arquivo de registros com extensão *log* foi adotado para facilitar a sua importação por planilhas ou gerenciadores de bancos de dados.

3.4 Determinação de Perímetros

A determinação dos perímetros é realizada a partir da imagem segmentada. O algoritmo realiza um *loop* sobre as linhas da imagem em busca de um rótulo não nulo, que representa o ponto extremo norte de uma região. Para cada região encontrada é iniciado um *loop* interno que extrai seu perímetro, no sentido horário. Uma máscara 3x3 centrada num *pixel* da borda permite que o próximo *pixel*, também sobre a borda, aquele mais a esquerda em relação à direção em que ocorreu o último movimento, seja determinado. As coordenadas (x,y) de cada *pixel* são, então, registradas ordenadamente, num arquivo ASCII de registros *log*, a medida que o processamento avança. A extração do perímetro de uma região cessa quando o *pixel* inicial for revisitado e não houver mais ramificações a percorrer.

Alternativamente, os códigos de encadeamento poderiam ser registrados em lugar das coordenadas, porém, o registro das coordenadas, além de manter implicitamente os códigos de encadeamento, simplifica a determinação de parâmetros geométricos a partir dos valores armazenados.

3.5 Exibição dos Perímetros

Para exibir os perímetros, o algoritmo faz uma leitura seqüencial dos arquivos de índices e perímetros e verifica se a imagem é ou não maior que o *viewport*. Em caso afirmativo, determina a parte da imagem que está sendo exibida na tela e calcula os deslocamentos relativos, antes de desenhar sobre a imagem os perímetros.

3.6 Operações Morfológicas

Os operadores morfológicos para detecção de bordas implementados neste trabalho foram baseados nos algoritmos apresentados por Lee [LEE 87]. Todos estes algoritmos operam sobre imagens multitonais e utilizam janelas quadradas de 3x3 elementos.

Os operadores morfológicos empregam a imagem original e um elemento estruturante sobre a escala de cinzas que é análogo ao *kernel* de uma operação de deslocamento de janela. Cada elemento estruturante possui uma forma que pode ser vista como um parâmetro da operação.

A dilatação de uma imagem multitonal $f(l,c)$ por um elemento estruturante $b(l,c)$, definido sobre o domínio N_4 , é denotada $d(l,c)$ e definida por:

$$d(l,c) = \max_{i,j} (f(l-i,c-j) + b(l,c))$$

enquanto a erosão é definida por:

$$e(l,c) = \min_{i,j} (f(l+i,c+j) - b(l,c))$$

Dilatação

O algoritmo realiza a operação dilatação substituindo o valor do *pixel* central de uma máscara 3x3 pelo maior valor dentre os vizinhos do domínio N_4 .

Erosão

O algoritmo realiza a operação erosão substituindo o valor do *pixel* central de uma máscara 3x3 pelo menor valor dentre os vizinhos do domínio N_4 .

Resíduo da Dilatação

O algoritmo realiza a operação resíduo da dilatação substituindo o valor do *pixel* central de uma máscara 3x3 pelo maior valor dentre as diferenças entre os vizinhos do domínio N_4 e o valor central.

Resíduo da Erosão

O algoritmo realiza a operação resíduo da erosão substituindo o valor do *pixel* central de uma máscara 3x3 pelo maior valor dentre as diferenças entre o central e os vizinhos do domínio N_4 .

Resíduo da Dilatação Melhorado

Para definição dos operadores melhorados são estabelecidas as seguintes vizinhanças:

-1,-1	-1,0	-1,1
0,-1	0,0	0,1
1,-1	1,0	1,1

A partir destas, definem-se os elementos estruturantes sobre a escala de cinzas

	-1,0	
0,-1		0,1
	1,0	

$$D_1 = \{(0, -1), (0, 1), (-1, 0), (1, 0)\},$$

-1,-1		-1,1
1,-1		1,1

$$D_2 = \{(-1,-1), (-1,1), (1,-1), (1,1)\},$$

	-1,0	
		0,1

$$Da_1 = \{(-1,0), (0,1)\},$$

0,-1		
	1,0	

$$Da_2 = \{(0,-1), (1,0)\},$$

	-1,0	
0,-1		

$$Da_3 = \{(-1,0), (0,-1)\},$$

		0,1
	1,0	

$$Da_4 = \{(0,1), (1,0)\}.$$

O operador resíduo da dilatação melhorado é, então, definido por:

$$Gd'(l,c) = \min \{ \text{dilatação } D_1(l,c) - f(l,c), \text{ dilatação } D_2(l,c) - f(l,c), Gd''(l,c) \},$$

onde,

$$Gd''(l,c) = \max \{ |(\text{dilatação } Da_1(l,c) - f(l,c)) - (\text{dilatação } Da_2(l,c) - f(l,c))|, \\ |(\text{dilatação } Da_3(l,c) - f(l,c)) - (\text{dilatação } Da_4(l,c) - f(l,c))| \}$$

Resíduo da Erosão Melhorado

De forma análoga, define-se o operador resíduo da erosão melhorado:

$$Ge'(l,c) = \min \{ f(l,c) - \text{erosão } D_1(l,c), f(l,c) - \text{erosão } D_2(l,c), Ge''(l,c) \},$$

onde,

$$Ge''(l,c) = \max \{ |(f(l,c) - \text{erosão } Da_1(l,c)) - (f(l,c) - \text{erosão } Da_2(l,c))|, \\ |(f(l,c) - \text{erosão } Da_3(l,c)) - (f(l,c) - \text{erosão } Da_4(l,c))| \}$$

3.7 Determinação de Distâncias

O algoritmo para medição de distâncias é um *loop* de espera que permite ao usuário marcar um ponto inicial sobre a imagem. Após a marcação deste ponto, uma linha elástica (*rubber-band*) torna-se visível para facilitar a marcação do segundo ponto. Marcado o segundo ponto, uma janela de diálogo é aberta para informar o valor medido e, alternativamente, permitir que outra distância seja medida ou a que sessão seja encerrada.

3.8 Distâncias Aproximadas por Poligonais

Este algoritmo é um *loop* de espera encerrado pelo pressionamento do botão direito do *mouse*. Inicialmente, a forma do cursor é alterada para o tipo *hair shape* para facilitar o seu posicionamento sobre os pontos desejados. Após a escolha do ponto inicial, que é feita pressionando-se o botão esquerdo do *mouse*, um novo *loop* de espera é iniciado, permanecendo ativo até que o próximo ponto seja escolhido. Durante este tempo, uma

linha elástica é continuamente redesenhada sobre a imagem, numa operação XOR (ou exclusivo) até que o próximo ponto seja marcado. Marcado o ponto seguinte, a aresta é definitivamente desenhada sobre a imagem e o ciclo continua até que o botão direito do *mouse* seja pressionado. Ao término, uma janela de diálogo é ativada, apresenta os resultados e permite que novo ciclo de medidas seja iniciado ou que a sessão seja encerrada.

3.9 Edição de Imagens

O algoritmo de edição é simples e permite apenas que o *pixel* sob o cursor e seus oito vizinhos imediatos sejam zerados na imagem editada. Como a imagem pode ser maior que a janela de visualização, o algoritmo acrescenta à posição do cursor os correntes deslocamentos horizontal e vertical da imagem.

3.10 Inspeção de Regiões

Um inspetor de regiões foi implementado para que o usuário tenha a possibilidade de observar as informações referentes a cada região da imagem individualmente. O algoritmo é um *loop*, encerrado por solicitação do usuário, que exhibe, a cada solicitação feita, o número da região, a área, o perímetro, o fator de forma, o diâmetro equivalente e as cordas extremas na direção vertical e horizontal. Para exhibir as informações na tela, o algoritmo utiliza o arquivo de áreas, o arquivo de perímetros e um arquivo de índices que é um ponteiro para o início da cada região registrada no arquivo de perímetros. A introdução do arquivo de índices serviu para reduzir o tamanho do arquivo de perímetros e conseqüentemente, agilizar o processamento.

Quando o operador aciona o botão esquerdo do *mouse* sobre uma região da imagem, o algoritmo identifica o rótulo desta região em função das coordenadas do *mouse*, faz uma busca nos arquivos de índice e dados e exhibe as informações relativas à região apontada.

3.11 Geração de Classes de Saltykov

Para separar em classes de tamanho as áreas das regiões, determinadas no plano da imagem, foi implementado um algoritmo, que as classifica segundo seus raios equivalentes.

A correção de Saltykov é feita pelo programa independente, GRAOSANI.EXE, escrito na linguagem PASCAL. Este programa, que efetua operações puramente algébricas, foi

mantido como unidade externa para reduzir ao mínimo o tamanho do programa principal. Para exibir a distribuição de tamanhos de grão, na forma de um gráfico logarítmico, emprega-se o programa, também independente, SEMILOG.EXE.

Estes dois programas são parte integrante do analisador de imagens binárias ANIMAT [PUJOL 92] desenvolvido no CDTN.

3.12 Conclusões

A principal restrição imposta aos algoritmos implementados deveu-se às limitações de memória determinadas pelo sistema operacional MS-DOS que, na prática, restringe à aproximadamente 500 *KBytes*, a área de memória convencional disponível ao programa. Especialmente no caso de processamento de imagens, que demanda grandes quantidades de memória, estas restrições se tornam críticas. Para contornar estas limitações, decidiu-se manter as imagens em disco. Esta solução permitiu o processamento de imagens maiores que a memória da máquina, limitadas apenas pela área livre em disco.

Os algoritmos, aqui implementados, visaram permitir o processamento semi-automático de imagens microscópicas a partir de micrografias digitalizadas de materiais cerâmicos. Para esta finalidade, atenderam de forma satisfatória as necessidades correntes, apesar das limitações do ambiente operacional.

APLICAÇÃO À CERAMOGRAFIA

Descreve-se o método estereométrico de Saltykov aplicado à determinação da estrutura de grão em materiais cerâmicos. Aplica-se o método à caracterização de três amostras típicas de combustíveis nucleares. Apresenta-se a validação do programa para caracterização de materiais cerâmicos.

4.1 Análise Quantitativa de Imagens Microestruturais

As propriedades das cerâmicas dependem da sua microestrutura, isto é, da natureza das fases presentes, da morfologia, da estrutura cristalográfica, da anisotropia geométrica dos cristais e da qualidade da superfície. Variações nas propriedades de uma cerâmica são consequência da sua rota de processamento, das condições de sinterização, da distribuição de defeitos e da presença de impurezas [CHERMANT 86], [CHERMANT 77].

Cerâmicas de qualidade requerem processamento adequado começando-se pela preparação do pó e da sua forma. Por sua vez, a microestrutura ideal de uma cerâmica é dependente da aplicação visada.

A razão para se utilizar a análise de imagem quantitativa justifica-se na necessidade de se conhecer, em algumas situações e com bastante precisão, a microestrutura e a morfologia das cerâmicas.

A análise de imagem quantitativa está fundamentada em diferentes ramos da matemática, principalmente em probabilidade geométrica, geometria integral e transformações de conjuntos. A partir de relações estereométricas estabelecidas da geometria integral ou da probabilidade geométrica, uma série de parâmetros morfológicos podem ser deduzidos.

Parâmetros morfológicos como o número de grãos por unidade de volume ou área, a curvatura média integral, a fração de volume de uma dada fase, etc., permitem obter outras características morfológicas como o tamanho médio de grão e outros parâmetros ligados à curvatura e a forma. Em geral, o tamanho médio de grão e a distribuição de tamanhos de grão são os parâmetros mais usados.

Conhecendo-se a distribuição no espaço bidimensional R^2 , torna-se possível prever a distribuição de tamanhos no espaço tridimensional R^3 usando-se uma correção estereométrica. A correção de Saltykov, apresentada no parágrafo 4.2, é utilizada neste trabalho para determinação de tamanhos de grãos em material sinterizado.

A função de distribuição de tamanhos de grão, medida experimentalmente, é de aceitação limitada principalmente por causa da complexidade da microestrutura real onde a topologia dos grãos varia consideravelmente. Por isso, outros métodos têm sido usados para determinação do diâmetro médio de grão, que idealmente, deveria ser determinado a partir da distribuição de tamanhos de grão [GENERAZIO 88].

Há várias técnicas correntemente aceitas para determinação do tamanho médio de grão sem que se conheça a função de distribuição. A maioria destes métodos se baseia em interceptos ao longo de direções aleatórias ou em caminhos circulares. Métodos alternativos estimam a circunferência ou área de cada grão.

Os métodos correntes não são gerais e podem levar a erros consideráveis. O pesquisador deve determinar qual método produz o melhor resultado em cada caso. Os mais comuns para determinação do tamanho médio de grão são os baseados nas normas americanas ASTM:

- Intercepto de linha ASTM [ASTM 89]
- Comparação com padrões ASTM

Estes métodos não determinam a função de distribuição de tamanhos de grão. O primeiro é aplicável às estruturas regulares e pode produzir erros da ordem de 50%, quando a análise é realizada por diferentes operadores. O segundo depende de avaliações subjetivas por parte de quem analisa.

Os erros encontrados no processo de caracterização [LAMEIRAS 87] podem ser classificados em duas categorias: erros experimentais inevitáveis e erros introduzidos pelo método empregado. Os fatores que influenciam os erros experimentais inevitáveis são de natureza prática como a técnica de preparação da amostra, que pode eliminar os pequenos grãos, o aumento utilizado que pode impedir a observação dos grãos menores, etc. Erros também podem aparecer durante a contagem dos grãos. O analisador semi-automático TGZ, por exemplo, mede as áreas comparando-as com círculos, significando que o operador faz uma estimativa visual das áreas dos grãos. Analisadores automáticos podem medir a área real de cada grão, mas dependendo do ruído introduzido durante a fase de aquisição da imagem, vários grãos individuais podem ser considerados como um único grão.

Há vários métodos disponíveis para determinação da distribuição de tamanhos de grão, mas todos eles devem resolver o problema da conversão de uma distribuição bidimensional numa distribuição tridimensional.

As imagens abaixo ilustram alguns dos problemas comuns quando se utiliza um analisador de imagens para caracterização de materiais. A Figura 12 representa uma micrografia de óxido misto de urânio rotineiramente encontrada em um laboratório de combustíveis nucleares. Esta imagem, apesar de nítida e bem iluminada, possui fronteiras de grãos mal

definidas. O efeito da segmentação desta imagem sem pré-processamento pode ser observado na Figura 13. Nesta imagem, vários grãos aparecem aglutinados.

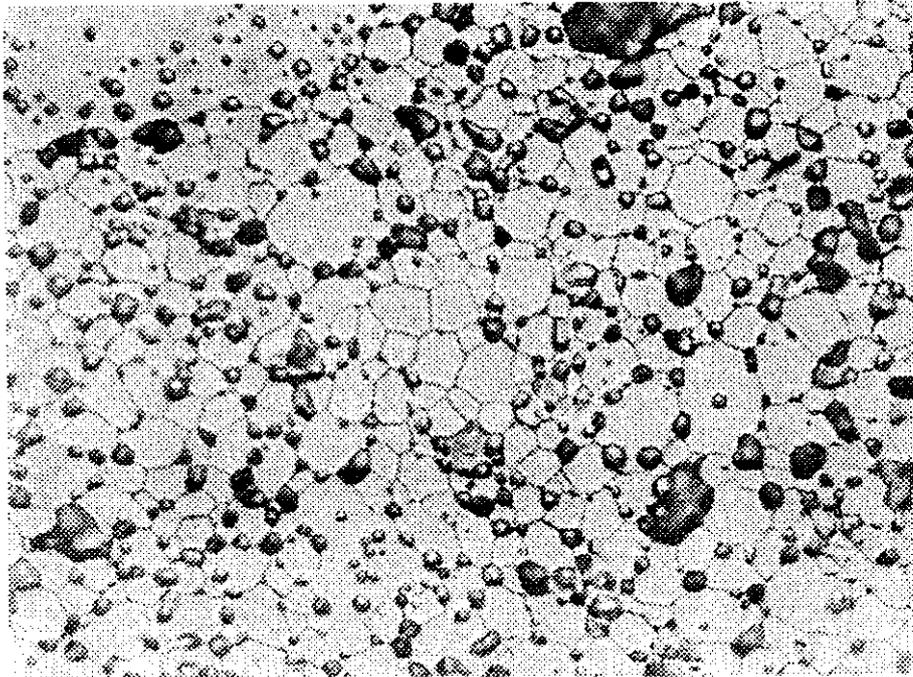


Figura 12
Óxido misto de urânio. Imagem original

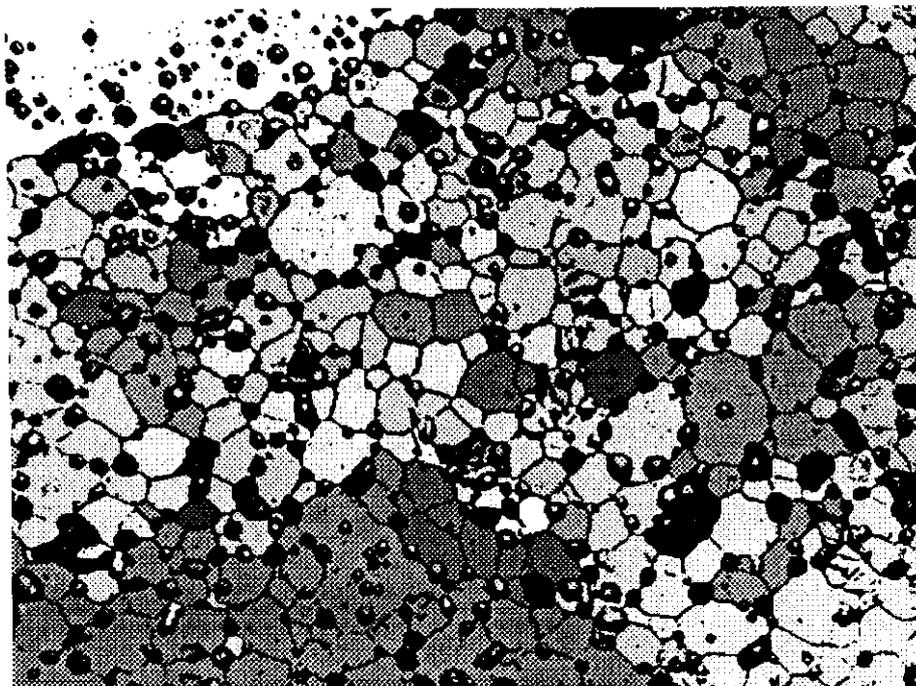


Figura 13
Óxido misto de urânio. Imagem segmentada sem pré-processamento

Para que a segmentação seja convenientemente realizada, se faz necessária uma etapa de edição da imagem. Nesta etapa, as bordas interrompidas devem ser manualmente retificadas de forma que os grãos tornem-se completamente definidos. O efeito da segmentação da imagem, após edição, pode ser visualizado na Figura 14. Após a segmentação, as regiões se apresentam convenientemente delimitadas e prontas para o processamento.

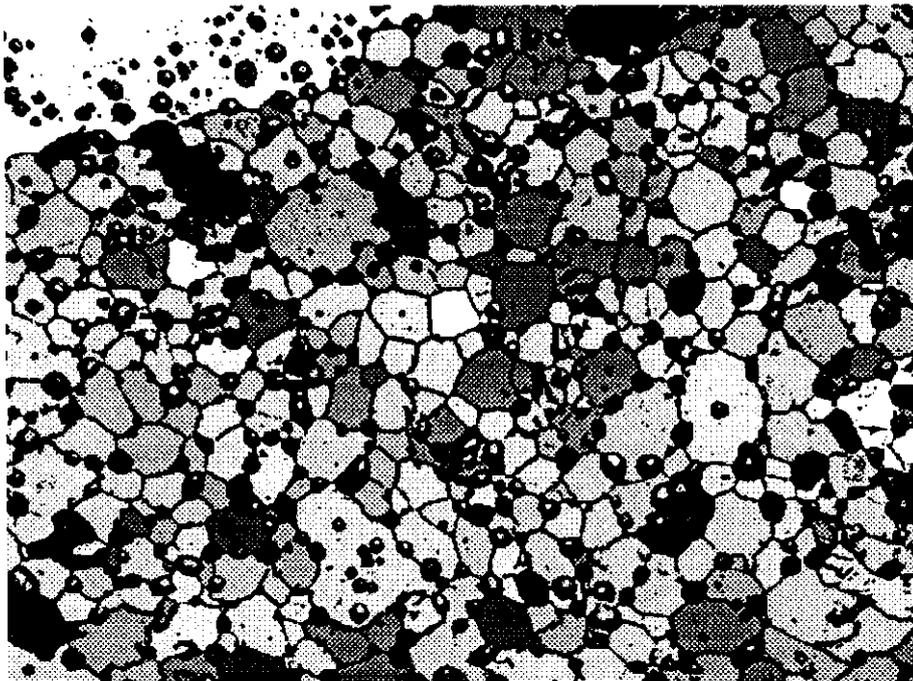


Figura 14
Óxido misto de urânio. Imagem segmentada após edição

Uma micrografia de qualidade insuficiente é apresentada na na Figura 15. Esta micrografia não possui a qualidade mínima requerida para processamento automático pelo presente analisador.

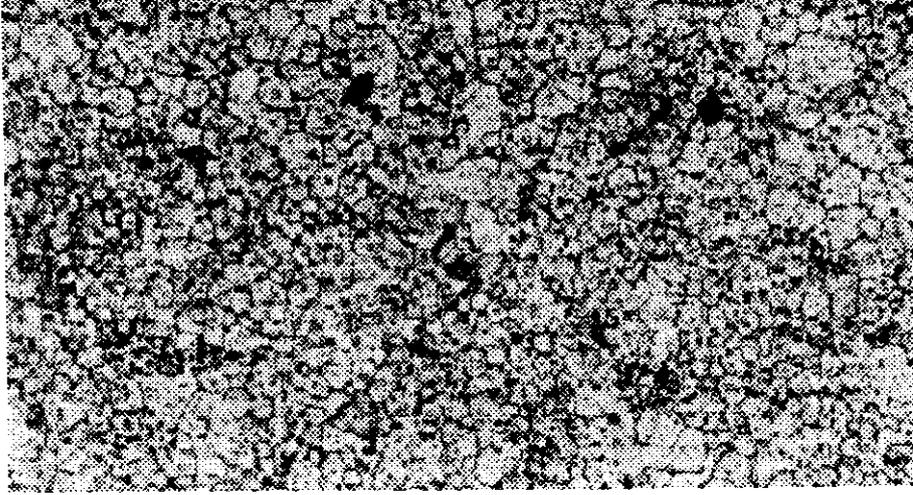


Figura 15
Micrografia de qualidade insuficiente

Uma micrografia de *qualidade* mínima está representada na Figura 16.

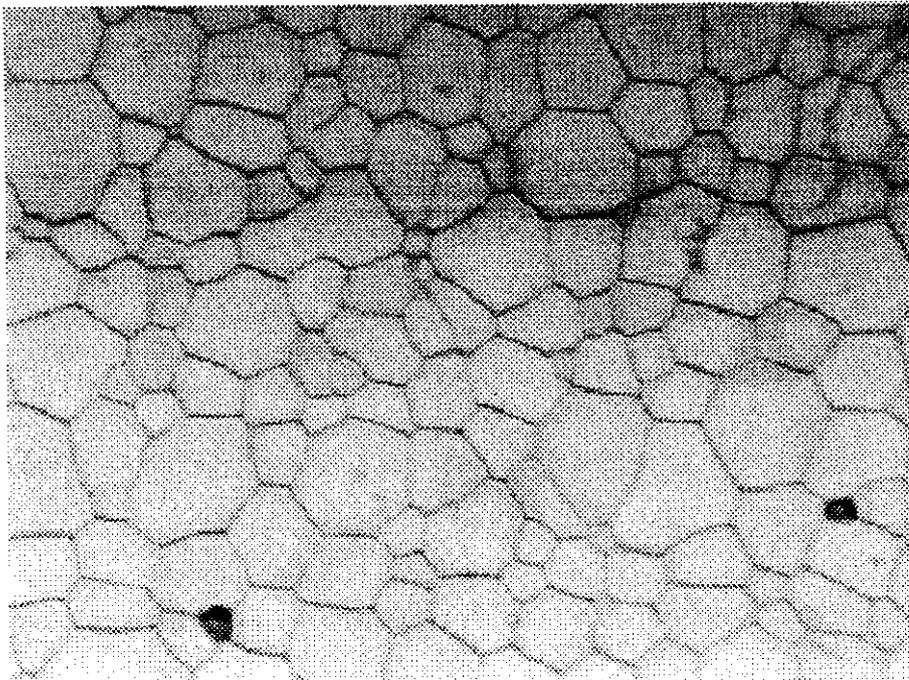


Figura 16
Micrografia de qualidade mínima

4.2 Método de Saltykov

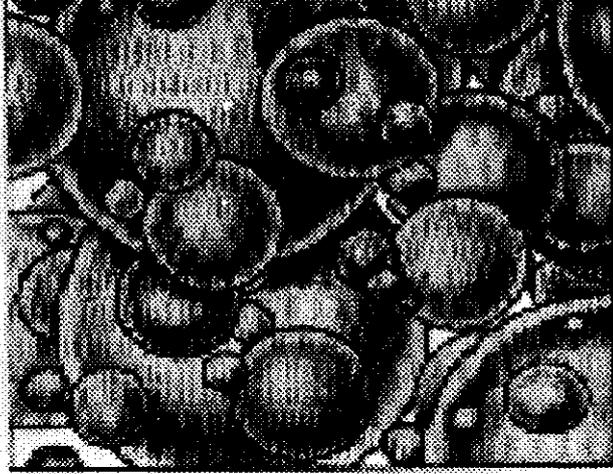
Nas considerações feitas a seguir, será adotada a notação introduzida por Saltykov que é apresentada na Tabela 3.

SÍMBOLO	DESCRIÇÃO	UNIDADE
i	Índice das classes de tamanho dos círculos	
j	Índice das classes de tamanho das esferas	
k	Número de classes de tamanho	
N_A	Número de regiões interceptadas por unidade de área	mm^{-2}
N_V	Número de regiões interceptadas por unidade de volume	mm^{-3}
$N_A(ij)$	Número de círculos por unidade de área no grupo i derivado de esferas de tamanho j (medido)	mm^{-2}
$N_V(j)$	Número de esferas por unidade de volume de tamanho j	mm^{-3}
Δ	Intervalo de diâmetros	mm
$P(ij)$	Probabilidade de um plano aleatório cortar uma esfera de tamanho $j\Delta$, gerando um círculo no grupo i	
P_2	Probabilidade do seccionamento da esfera gerar círculos cujos diâmetros estejam entre $(i-1)\Delta$ e $i\Delta$	
P_1	Probabilidade de que um plano aleatório corte uma esfera de diâmetro $j\Delta$	
$a(ij)$	Coefficientes de Saltykov	

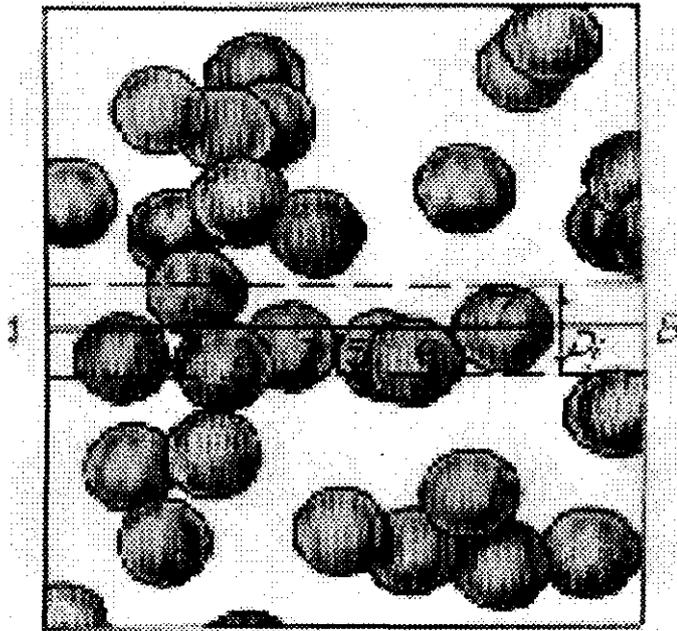
Tabela 3
Notação introduzida por Saltykov

O problema de derivar distribuições tridimensionais de tamanhos de partículas, a partir das distribuições de diâmetros de círculos no plano, foi inicialmente considerado por Scheil e posteriormente por Schwartz e Saltykov [DEHOFF 68]. Os métodos propostos baseiam-se na representação das partículas através de esferas ou elipsóides e na divisão dos diâmetros dos círculos, gerados por um plano de polimento, em classes de tamanho. A aproximação por esferas é razoável para partículas aproximadamente equiaxiais.

Consideremos as Figuras 17, 18 e 19 que representam, respectivamente, um sistema polidisperso de esferas, um sistema monodisperso de esferas derivado do primeiro e as seções circulares resultantes da interseção de um plano de corte aleatório e o sistema monodisperso. O número e o tamanho das seções circulares, no plano de polimento, podem ser contados e medidos. Então, o número provável e os tamanhos das esferas que deram origem às seções observadas podem ser obtidos a partir destas informações. A distribuição dos diâmetros das seções é classificada em grupos discretos por tamanho.



*Figura 17 [DEHOFF 68]
Sistema polidisperso de esferas*



*Figura 18 [DEHOFF 68]
Sistema monodisperso de esferas*

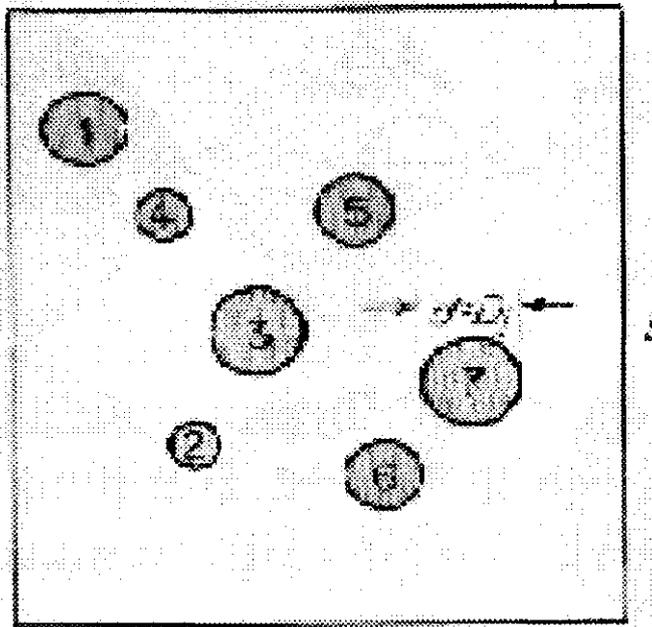


Figura 19 [DEHOFF 68]

Seções de corte geradas pela interseção de um plano aleatório e o sistema monodisperso de esferas

A correspondência entre os diâmetros de esferas e círculos por classes de tamanhos é:

ESFERAS			CÍRCULOS		
Tamanho	Diâmetro	#/Volume	Tamanho	Diâmetro	#/Área
1	Δ	$N_V(1)$	1	$0-\Delta$	$N_A(1)$
2	2Δ	$N_V(2)$	2	$\Delta-2\Delta$	$N_A(2)$
3	3Δ	$N_V(3)$	3	$2\Delta-3\Delta$	$N_A(3)$
j	$j\Delta$	$N_V(j)$	i	$(i-1)\Delta-i\Delta$	$N_A(i)$
k	$k\Delta$	$N_V(k)$	k	$(k-1)\Delta-k\Delta$	$N_A(k)$

Os índices i e j referem-se às classes de tamanho dos círculos e das esferas, respectivamente. O índice k refere-se ao número de classes de tamanho. As esferas de tamanho j podem gerar círculos em todos os grupos de tamanho $i \leq j$, veja Figura 20.

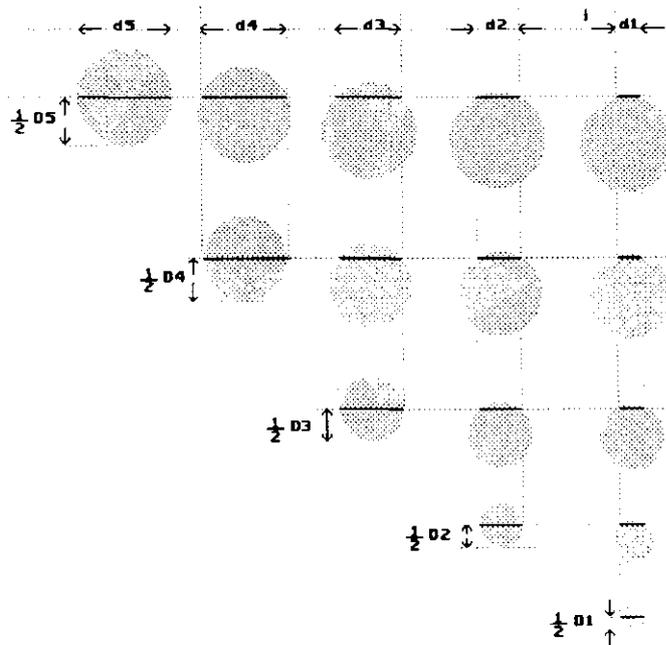


Figura 20

Contribuição das esferas de diâmetros D_1 a D_5 para o número total de seções com diâmetros d_i a d_5

Se definirmos $N_A(ij)$ como sendo o número de círculos por unidade de área no grupo de tamanho i derivado de esferas de tamanho j , teremos:

$$N_A(i) = N_A(i,i+1) + N_A(i,i+2) + \dots + N_A(i,k) \quad (1)$$

onde $N_A(i)$ é o número medido. Os métodos citados diferem na maneira pela qual os valores de $N_V(j)$ são obtidos dos valores de $N_A(i)$. Saltykov introduziu a notação acima e definiu delta (Δ) como sendo o diâmetro máximo dividido pelo número de classes D_{\max}/k . O número de classes k costuma estar entre 8 e 15, podendo ser maior.

A análise envolve a derivação de uma série de coeficientes para estabelecer a relação entre $N_A(i)$ e $N_V(j)$. Admite-se que as partículas em cada grupo possuem apenas um tamanho, ou seja $j\Delta$. $P(ij)$ é a probabilidade de que um plano aleatório corte uma única esfera de tamanho $j\Delta$ produzindo um círculo no grupo i . Assim,

$$N_A(ij) = P(ij) \times N_V(j) \quad (2)$$

Note-se que $P(ij)$ é o produto de duas probabilidades P_1 e P_2 . A primeira, P_1 , é a probabilidade de que um plano aleatório corte uma esfera de diâmetro $j\Delta$ enquanto a segunda, P_2 , é a probabilidade de que o seccionamento produza círculos de diâmetros entre $(i-1)\Delta$ e $i\Delta$. Portanto,

$$P(ij) = P_1 \times P_2 \quad (3)$$

P_1 é simplesmente o diâmetro da esfera,

$$P_1 = j\Delta \quad (4)$$

P_2 pode ser obtida por considerações geométricas simples, veja Figura 21.

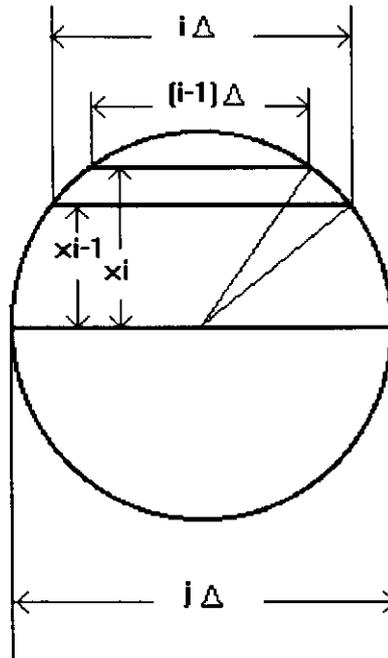


Figura 21

Relações geométricas entre o diâmetro da seção e o diâmetro da partícula

$$P_2 = \frac{x_{i-1} - x_i}{j\Delta/2} \quad (5)$$

mas,

$$x_{i-1} = \frac{\Delta}{2} \sqrt{j^2 - (i-1)^2} \quad (6)$$

e

$$x_i = \frac{\Delta}{2} \sqrt{j^2 - i^2} \quad (7)$$

Então,

$$P_2 = \frac{\sqrt{j^2 - (i-1)^2} - \sqrt{j^2 - i^2}}{j} \quad (8)$$

Substituindo-se na equação (2),

$$P(ij) = \Delta\{\sqrt{j^2 - (i-1)^2} - \sqrt{j^2 - i^2}\} = \Delta a(ij) \quad (9)$$

$$N_A(ij) = N_V(ij)\Delta a(ij) \quad (10)$$

Substituindo-se $N_A(ij)$ na equação (1) obtêm-se os valores medidos de $N_A(i)$ em termos de $N_V(j)$:

$$\begin{aligned} N_A(1) &= \Delta\{a(1,1)N_V(1) + a(1,2)N_V(2) + a(1,3)N_V(3) \dots + a(1,k)N_V(k)\} \\ N_A(2) &= \Delta\{ + a(2,2)N_V(2) + a(2,3)N_V(3) \dots + a(2,k)N_V(k)\} \\ N_A(3) &= \Delta\{ + + a(3,3)N_V(3) \dots + a(3,k)N_V(k)\} \\ &= \\ N_A(k) &= \Delta\{ + + \dots + a(k,k)N_V(k)\} \end{aligned}$$

Os valores de $N_V(j)$ são determinados resolvendo-se esta série de equações simultâneas. A solução mais simples é empregar um método de inversão de matriz para obter-se os coeficientes na série de equações para i variando de j até k .

$$N_V(j) = 1/\Delta \{ a(j,j)N_A(j) + a(j,j+1)N_A(j+1) + \dots + a(j,k)N_A(k) \} \quad (11)$$

onde os coeficientes são escritos na forma $a(ij)$ já que o primeiro sufixo se relaciona ao tamanho da esfera. Os valores dos coeficientes calculados por Saltykov são apresentados, na forma de tabela, em [DEHOFF 68] e [SALTYKOV 74]. A partir destes coeficientes, os valores de $N_V(j)$ podem ser determinados diretamente dos valores medidos de $N_A(i)$.

Validação do programa

Três amostras de material cerâmico foram preparadas para exemplificar o procedimento de caracterização e validar o programa [LAMEIRAS 87], [ANDRADE 92], [ARAUJO 92]. Escolheram-se, uma amostra de óxido de cromo (Cr_2O_3) [SABIONI 90], uma de óxido de urânio (UO_2) e outra de óxido misto de urânio-gadolinio (Gd,UO_2), por serem cerâmicas representativas e rotineiramente analisadas nos laboratórios de pesquisa. As respectivas micrografias podem ser vistas nas Figuras 22, 23 e 24.

A micrografia de óxido de cromo, cedida pela Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP, foi transcrita para papel vegetal tornando-se uma imagem binária de contornos bem definidos e livre de ruídos. As duas últimas, são imagens multitonais produzidas e fotografadas no laboratório de materiais do CDTN.

Para a finalidade de se determinar a distribuição de tamanhos de grão, a imagem binária da Figura 22 representa a situação ideal. Nesta imagem, as regiões possuem todas a mesma tonalidade branca e as bordas dos grãos, em preto, estão completamente definidas e sem interrupções.

A imagem da Figura 23 representa situação análoga para uma imagem multitonal. A Figura 24 contém uma imagem bem iluminada, porém, os contornos de grão estão parcialmente interrompidos.

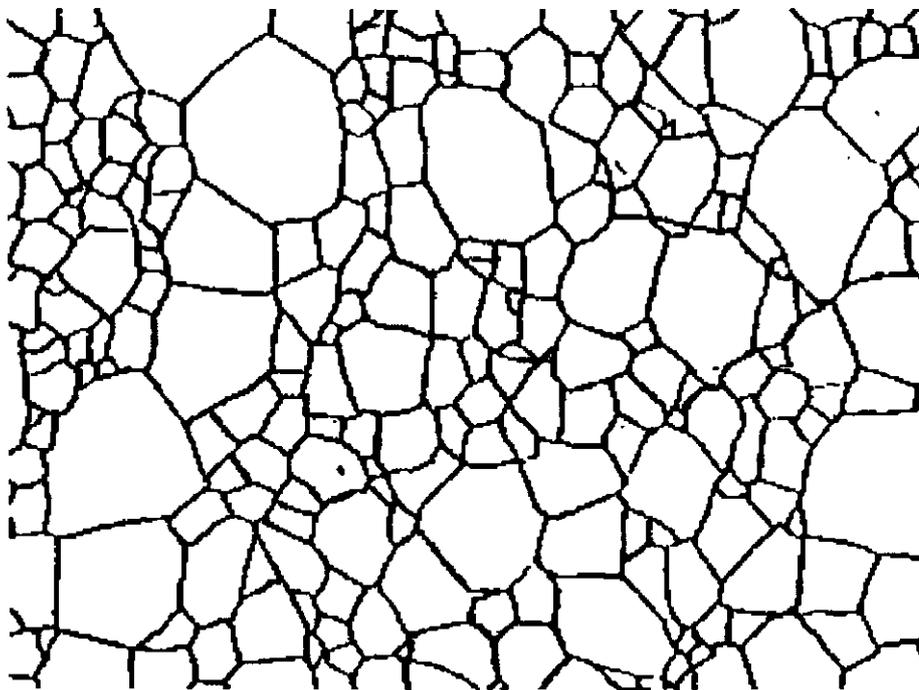


Figura 22
Óxido de cromo, Cr₂O₃ [SABIONI 90]

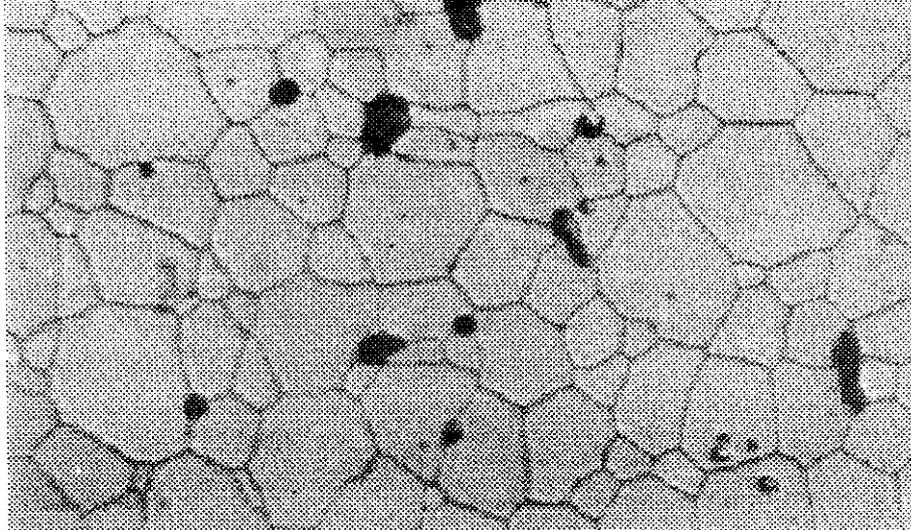


Figura 23
Óxido de urânio, UO₂

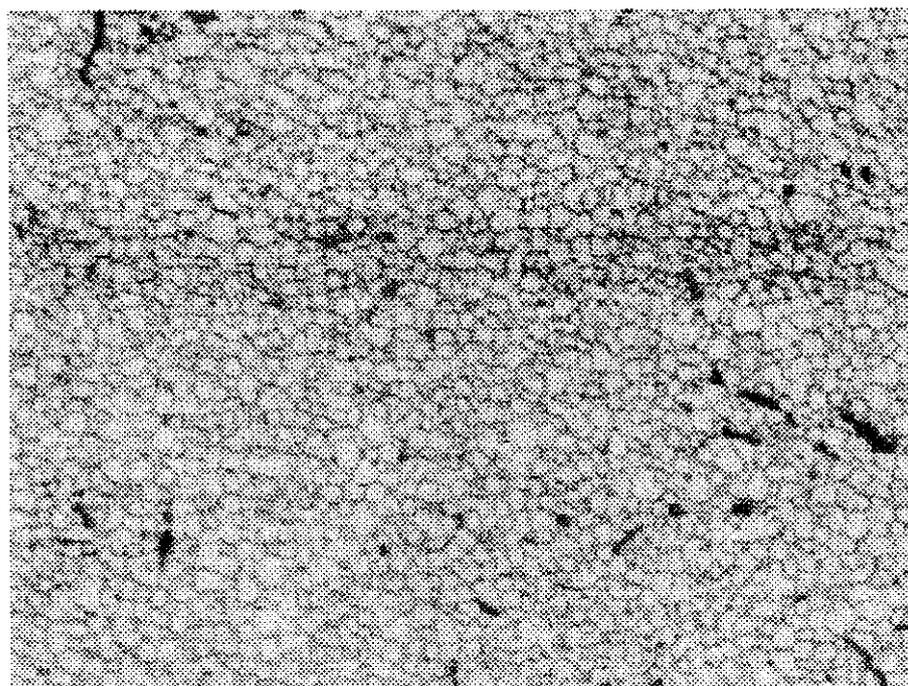


Figura 24
Óxido misto de urânio-gadolinio, (U,Gd)O₂

As amostras foram cortadas, polidas, atacadas química ou, termicamente e, então, fotografadas através de microscópio ótico. Para amenizar o trabalho de pré-processamento, as imagens foram reveladas tão nítidas quanto possível. As fotografias foram digitalizadas através de um *scanner*, com 256 níveis de cinza e resolução de 300 *dpi*. Algumas amostras necessitaram de mais de uma micrografia para que pudessem ser caracterizadas convenientemente.

Para evitar a aglomeração das regiões durante a segmentação, algumas imagens foram editadas com o objetivo de retificar as bordas dos grãos. Neste processo, o operador realizou uma inspeção visual e, então, decidiu quais segmentos das bordas deveriam ser manualmente reforçados. Foram empregados filtros espaciais para suavização das imagens, como o filtro da mediana e soma das diferenças absolutas [ARAUJO 85], [ARAUJO 86], [ARAUJO 90] que preservam as bordas e reduzem o ruído. A segmentação empregou um ou dois limiares fixos.

4.3 Conclusões

Como as frequências da distribuição tridimensional de grãos são calculadas a partir das frequências de áreas circulares determinadas no plano de polimento, o método de Saltykov introduz ligeiros erros na medida de distribuição de tamanhos de grãos.

Estes erros foram avaliados por Lameiras [LAMEIRAS 87] para o caso bidimensional simulando-se o crescimento de grãos por computador. Como resultado, foi observado que há uma tendência de se medir distribuições de tamanho cujas dispersões são maiores que as reais.

O aumento nas dispersões da distribuição de tamanhos, resultante da aplicação do método de Saltykov, varia em função do afastamento da forma esférica dos grãos reais.

A validação do programa [LAMEIRAS 87], [ANDRADE 92], [ARAUJO 92] foi realizada, por comparação, com resultados obtidos através do analisador semi-automático TGZ [ZEISS], amplamente utilizado na caracterização de material cerâmico.

As Figuras 25, 26 e 27, mostram distribuições de tamanhos de grão obtidas com analisador TGZ e com o presente programa. Note que a escala dos diâmetros é logarítmica.

Os resultados obtidos com o nosso programa apresentam menor dispersão e menores erros sistemáticos, relativamente aos resultados do TGZ. O tempo gasto para a completa caracterização de um material foi reduzido de uma ordem de grandeza com o uso do analisador.

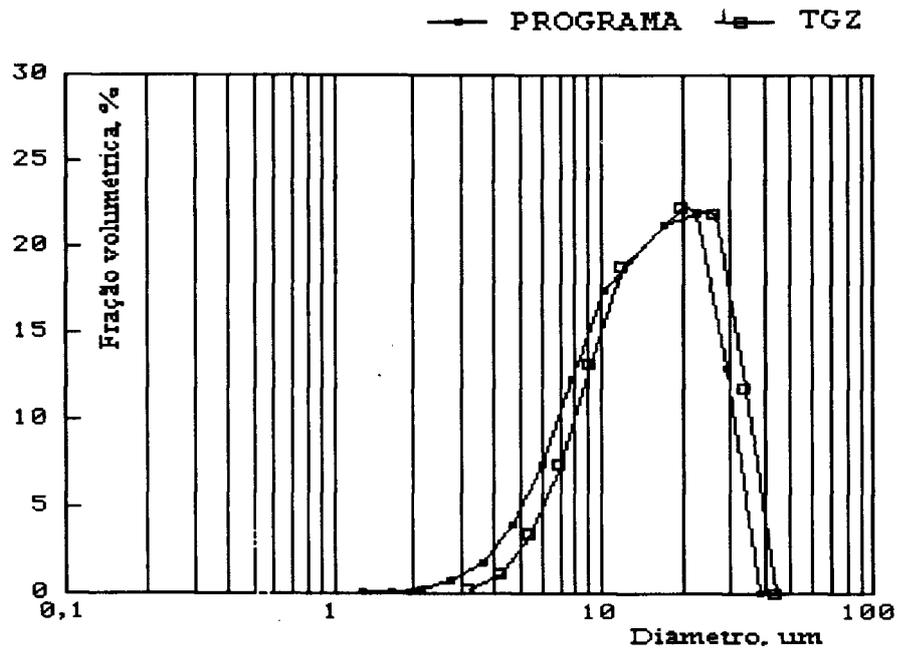


Figura 25
Distribuição de tamanhos de grão para óxido de cromo

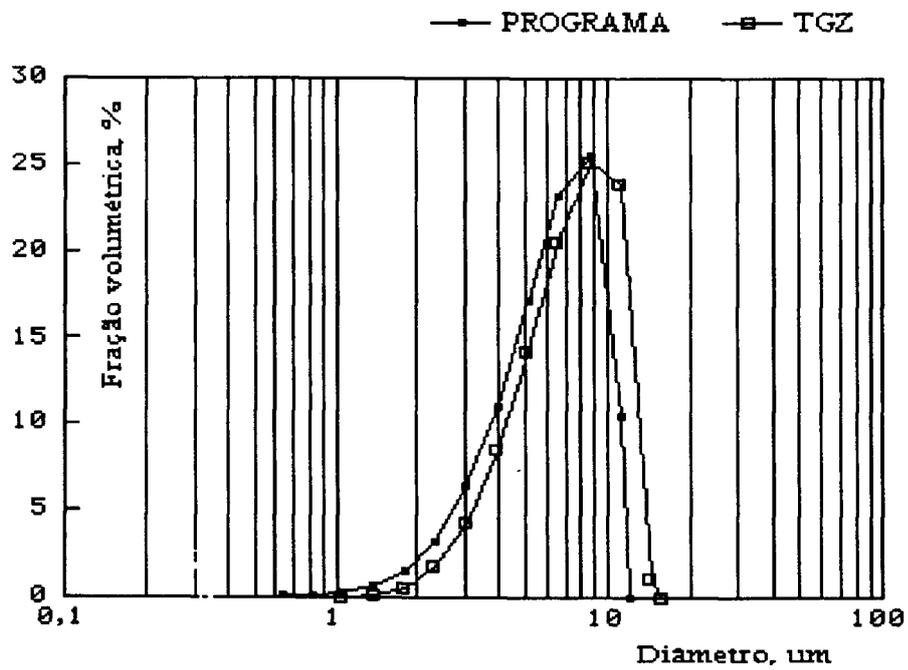


Figura 26
Distribuição de tamanhos de grão para óxido de urânio

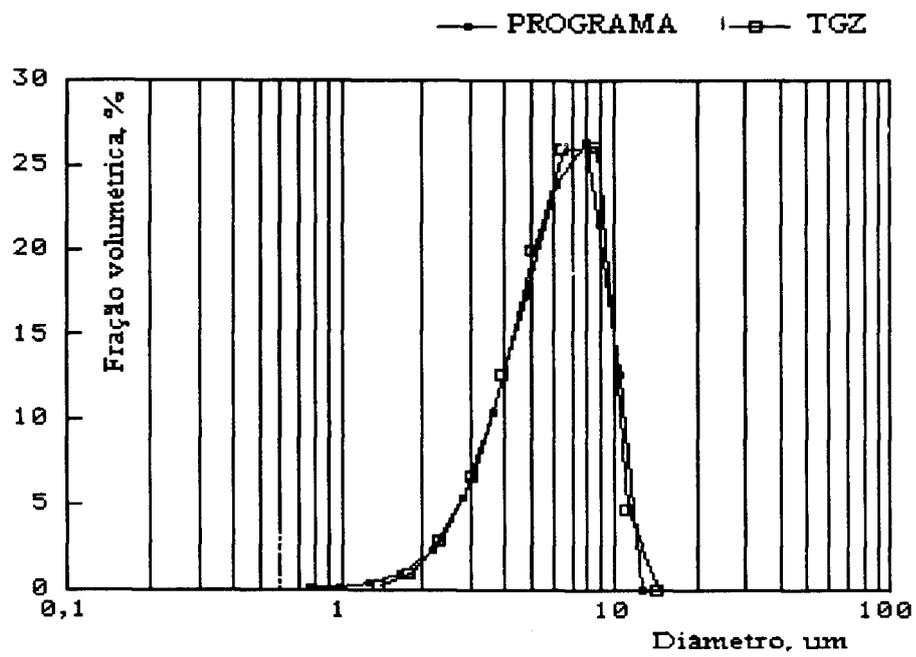


Figura 27
Distribuição de tamanhos de grão para óxido de urânio-gadolinio

APLICAÇÃO À HISTOPATOLOGIA

Apresenta-se uma aplicação do analisador ao estudo de aspectos histopatológicos de biópsias renais em pacientes submetidos a transplante renal. Descreve-se o procedimento utilizado para quantificar as alterações morfológicas induzidas pela droga imunossupressora Ciclosporina (CsA) durante o tratamento. Apresentam-se as distribuições de áreas dos glomérulos, dos tufo glomerulares e da luz glomerular. Micrografias de aspectos histopatológicos permitem visualizar o efeito da CsA sobre os glomérulos.

5.1 A Estrutura Glomerular

A estrutura microscópica dos rins revela a presença de elementos denominados *nefrons* que são essencialmente idênticos em estrutura e função. Cada nefron consiste de um glomérulo e de um túbulo. A parte interna do glomérulo é composta de um tufo de capilares paralelos, de forma quase esférica, envolto por uma cápsula de parede dupla, denominada cápsula de Bowman. Esta parede constitui a membrana filtrante do glomérulo. O espaço entre o tufo de capilares e a parede interior da cápsula está em contato direto com a luz do túbulo. As Figuras 28a e 28b, apresentam cortes esquemáticos de um glomérulo e de um rim.

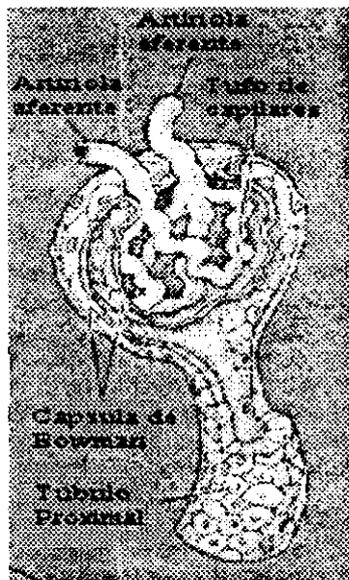


Figura 28a
Corte esquemático de um glomérulo

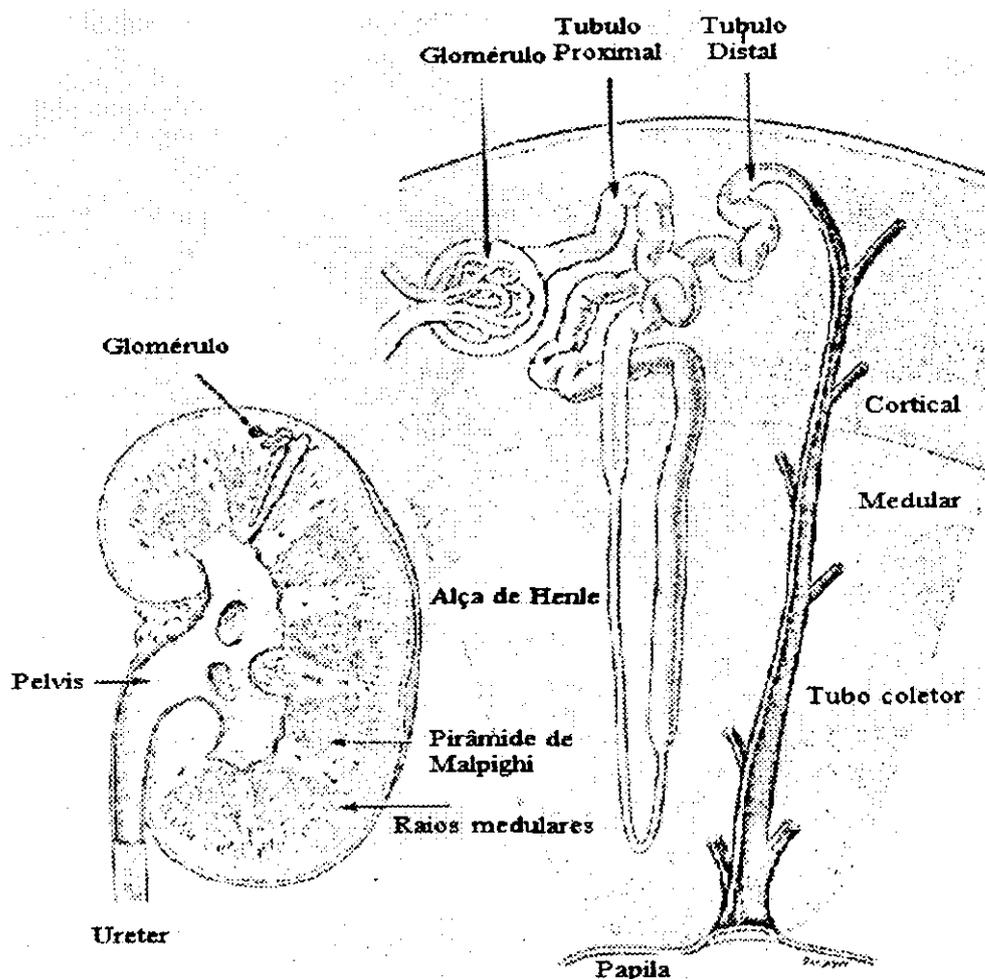


Figura 28b
Corte esquemático de um rim

5.2 Caracterização Digital da Estrutura Glomerular

A Ciclosporina é um fármaco imunossupressor empregado em transplantes de órgãos vascularizados, com o objetivo de reduzir a probabilidade de rejeição do órgão transplantado. Entretanto, apesar de suas propriedades imunossupressoras, o uso clínico terapêutico da ciclosporina é limitado devido a sua nefrotoxicidade. O padrão histopatológico de apresentação em humanos submetidos ao uso da CsA aparece sob a forma de fibrose intersticial, atrofia tubular e lesão dos microvasos (arteriopatía) [KUMAR 89].

O efeito de drogas imunossupressoras, como a Ciclosporina, sobre estruturas renais pode ser quantificado com o emprego de analisadores de imagens. Uma primeira série de medidas das alterações morfológicas da estrutura glomerular, induzidas pela Ciclosporina,

empregando o analisador ora desenvolvido, foi apresentada em [ARAUJO 93]. Neste trabalho, o efeito da CsA foi monitorado considerando-se a evolução das distribuições de área dos glomérulos, dos seus tufos e luz, para três instantes de tempo distintos: durante o transplante, dois meses após o transplante e um ano e sete meses após o transplante.

Após a remoção dos fragmentos renais, através de biópsia, o tecido foi fixado e incluído em parafina. Seções desparafinizadas de 3 micra de espessura foram tratadas com corante e fotografadas através de microscópio ótico com aumento de 150x.

As fotografias foram digitalizadas empregando-se um *scanner* com 256 níveis de cinza para uma resolução de 400 *dpi*. Após a digitalização as imagens foram submetidas a filtros espaciais (ordem e vizinhança seletiva) para suavizar as regiões da imagem.

A Figura 29 apresenta a imagem de um glomérulo normal. O polo vascular pode ser observado claramente como sendo o pequeno círculo claro no interior da cápsula. Também, podem ser vistos o tufo de capilares, que aparece como a parte central mais escura, e a área da luz entre o tufo e a parede interior da cápsula de Bowman, que aparece na cor clara homogênea.

A segmentação destas imagens foi realizada empregando-se limiares fixos com resultados bastante satisfatórios. A Figura 30 apresenta a mesma imagem após segmentação realizada pelo programa. As regiões de interesse aparecem nitidamente separadas.

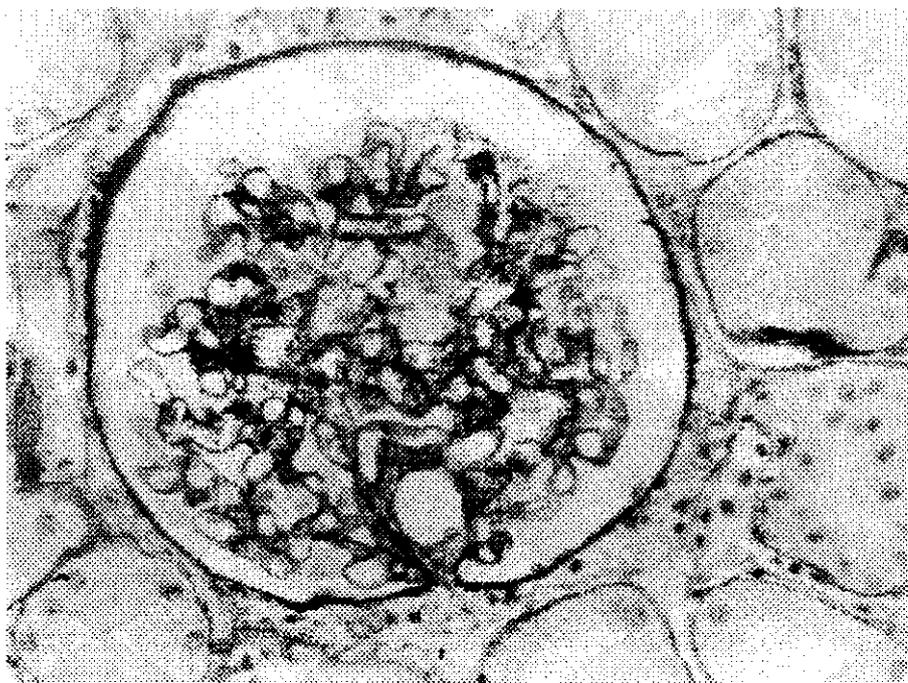


Figura 29
Aspecto histopatológico de um um glomérulo normal



Figura 30
Imagem anterior após segmentação produzida pelo analisador

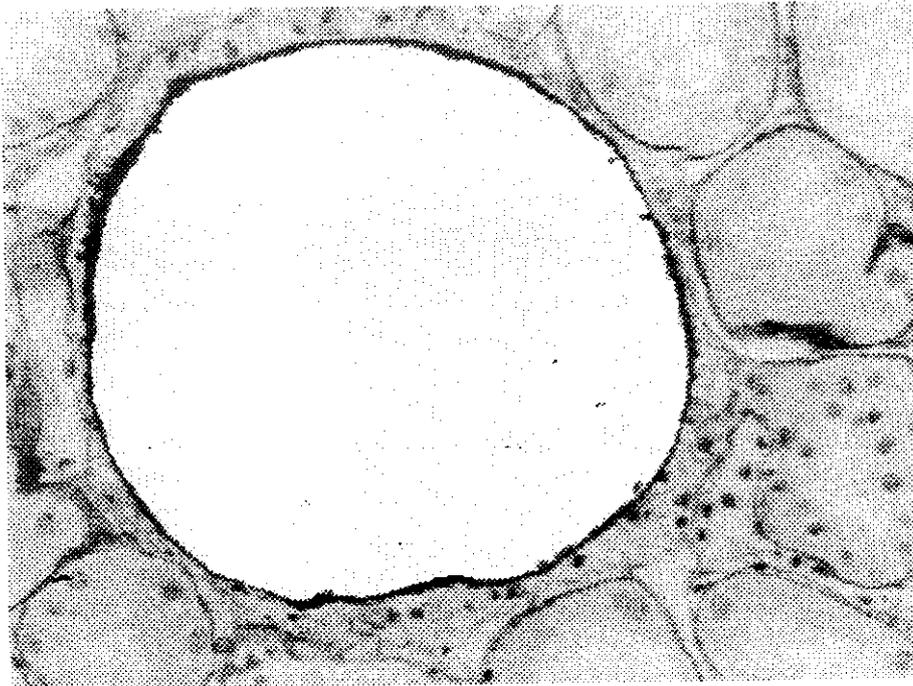


Figura 31
Efeito da edição sobre a imagem original

As áreas do glomérulo, tufo e luz, em cada seção transversal, foram medidas e classificadas por classes de tamanho para determinação das respectivas distribuições. Para medir a área transversal do glomérulo, as imagens foram cuidadosamente editadas de forma a homogeneizar o interior da cápsula de Bowman, como pode ser observado na Figura 31. As áreas da luz glomerular foram obtidas a partir da segmentação da imagem original. Obteve-se a área dos tufo por subtração.

A Figura 32 mostra um fragmento de biópsia renal percutânea após seccionamento e fixação. Algumas seções transversais dos glomérulos presentes no córtex renal podem ser observadas.

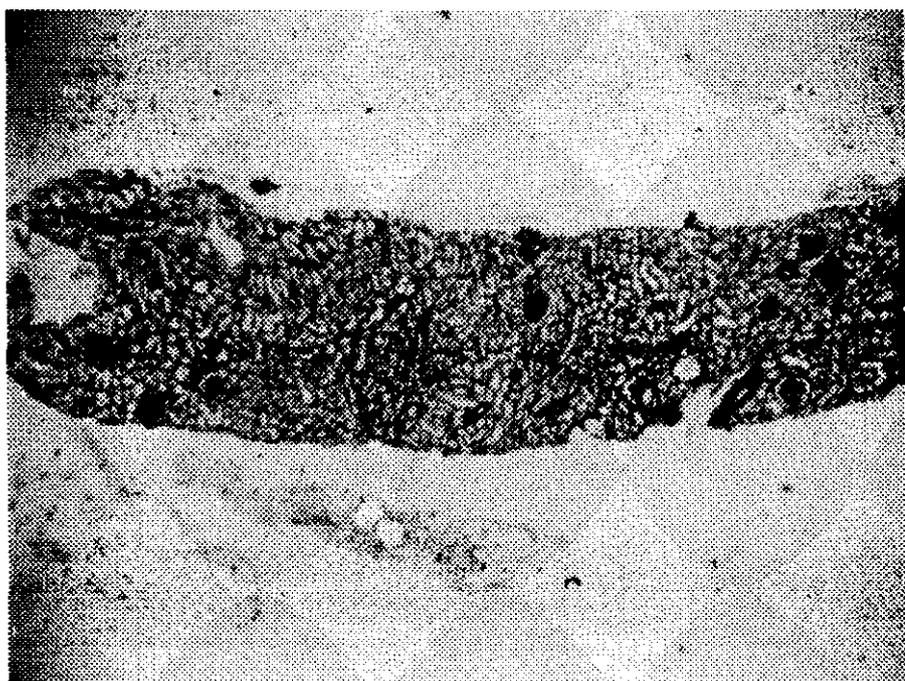


Figura 32
Fragmento de biópsia renal. (Corte transversal)

As Figuras 33, 34 e 35 mostram aspectos histológicos de biópsias renais percutâneas para os três tempos considerados, ou seja: durante o transplante, dois meses após o transplante e um ano e sete meses após o transplante, respectivamente.

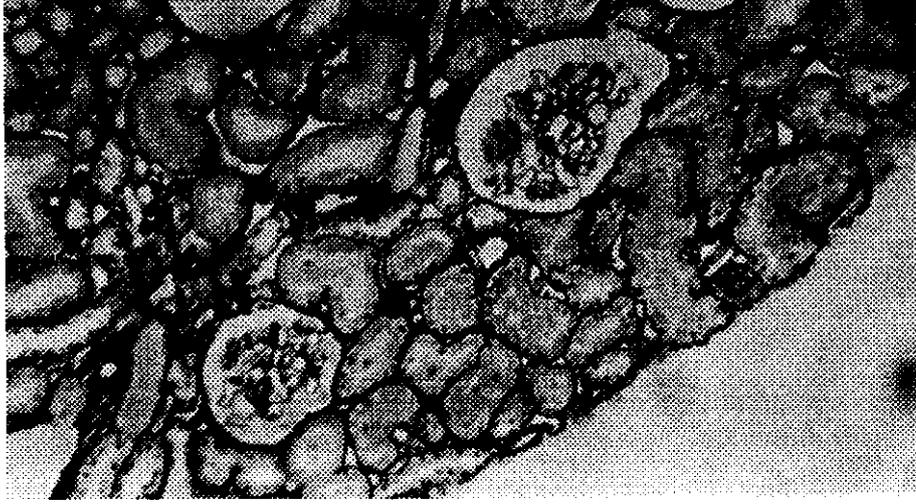


Figura 33
Aspecto de biópsia renal durante o transplante



Figura 34
Aspecto de biópsia renal dois meses após o transplante



Figura 35
Aspecto de biópsia renal um ano e sete meses após o transplante

As áreas foram medidas a partir de seções planas na altura do polo vascular dos glomérulos. Como os glomérulos são estruturas quase esféricas, as frações de área relativas foram plotadas em função dos seus diâmetros equivalentes. Os resultados estão apresentados sob a forma de gráficos nas Figuras 36, 37 e 38.

A fração volumétrica dos glomérulos foi obtida pelo método de contagem de pontos para os três tempos considerados. Determinamos que a fração volumétrica glomerular permaneceu estável, aproximadamente 7% do volume do córtex renal, em todas as situações analisadas.

Apesar dos glomérulos serem quase esféricos, não se pôde utilizar o método de Saltykov porque o número de seções disponíveis para análise foi insuficiente do ponto de vista estatístico. Por se tratar de uma biópsia, o volume de material extraído não pôde ser maior que o obtido.

5.3 Conclusões

Esta primeira avaliação mostrou que a CsA produziu uma sensível dilatação do volume dos glomérulos. Este efeito pode ser notado como um deslocamento para a direita no pico das distribuições da Figura 38, significando um aumento dos diâmetros equivalentes. O mesmo efeito pode ser observado para os tufos, como mostra a Figura 36. A Figura 37

não indica diferenças significativas na área da luz. Como consequência, o uso da CsA parece promover um aumento do volume dos glomérulos e de seus tufos, enquanto o volume da luz glomerular permanece estável.

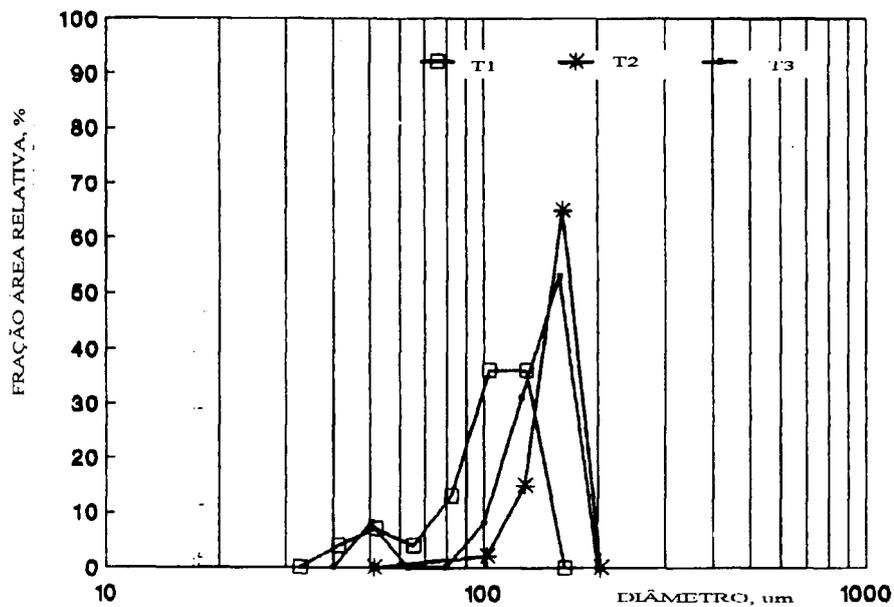


Figura 36
Volume dos tufos nos glomérulos

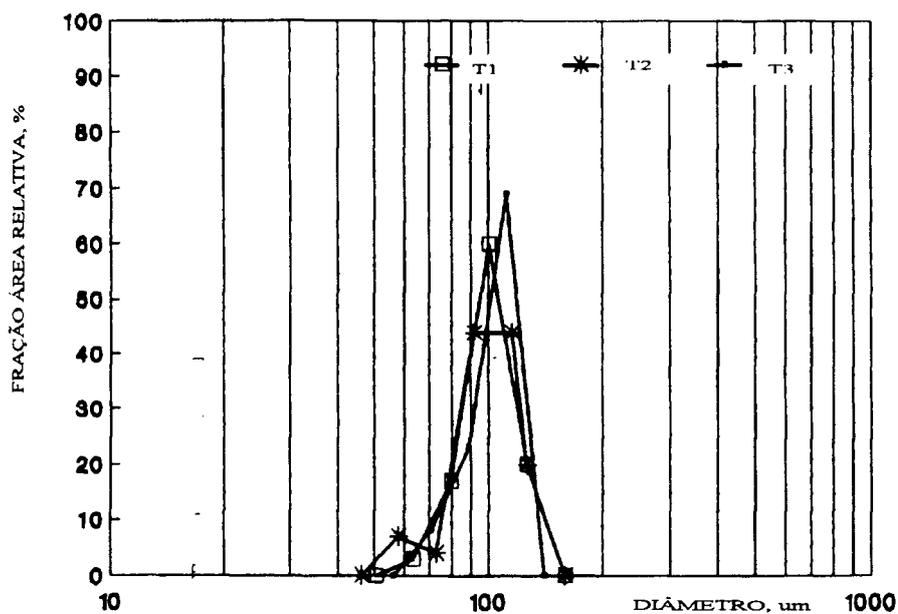


Figura 37
Volume da luz nos glomérulos

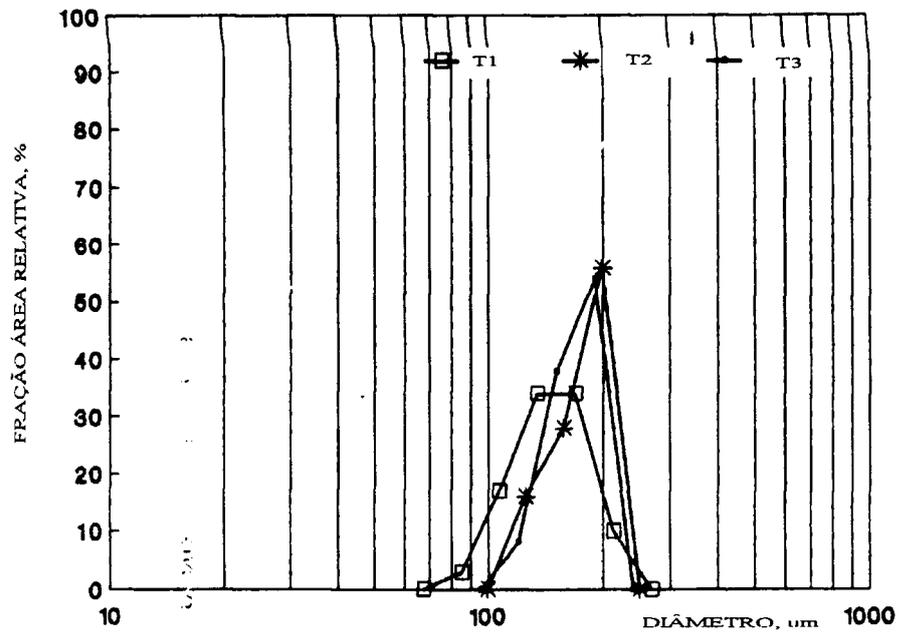


Figura 38
Volume total dos glomérulos

NOVAS APLICAÇÕES E EXTENSÕES

Comenta-se sobre possíveis aplicações do analisador a outras áreas. Particularmente, em monitoração ambiental, metalurgia e geologia, áreas para as quais, o programa está sendo cogitado. Descreve-se um método, apresentado por Generazio, baseado na Transformada de Fourier, aplicável à análise de estruturas orientadas, que poderia ser incorporado ao programa.

6.1 Considerações Sobre Novas Aplicações

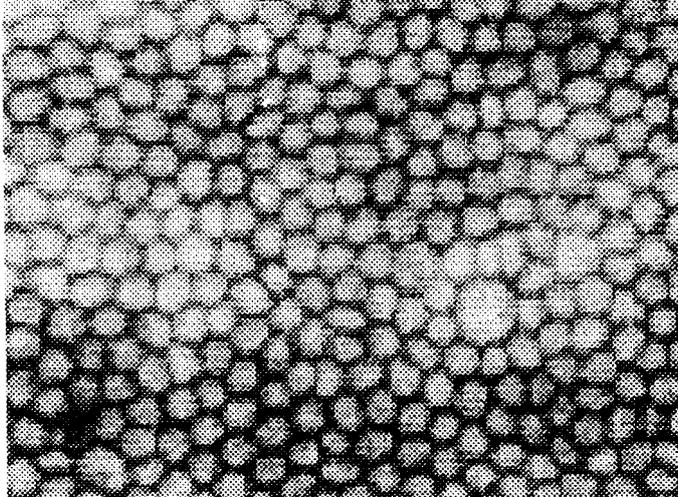
Muitas aplicações têm em comum não apenas os parâmetros necessários à caracterização do material analisado, mas também, fazem uso de metodologias similares. A necessidade de se determinar parâmetros geométricos, morfológicos, estereométricos e estatísticos é comum à maioria das aplicações que fazem uso de imagens no processo de caracterização.

Métodos estereométricos, como o de Saltykov, por exemplo, podem ser aplicados tanto à caracterização de materiais cerâmicos [SALTYKOV 74], quanto metálicos [CHERMANT 86], ou biológicos [ELIAS 71].

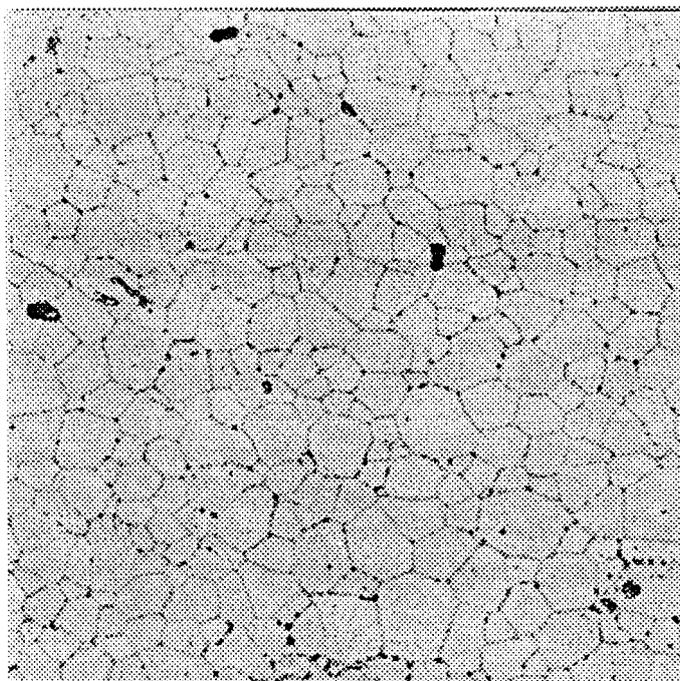
Métodos alternativos, como os baseados na teoria da Transformada de Fourier [GENERAZIO 88], também são utilizados na caracterização de materiais cerâmicos e metálicos.

Além dos parâmetros comuns à sua caracterização, imagens microscópicas de materiais diversos podem apresentar curiosas semelhanças físicas. A Figura 39 representa uma imagem do endotélio. A Figura 40 representa grãos em materiais cerâmicos e a Figura 41, microestruturas em sedimentos calcáreos.

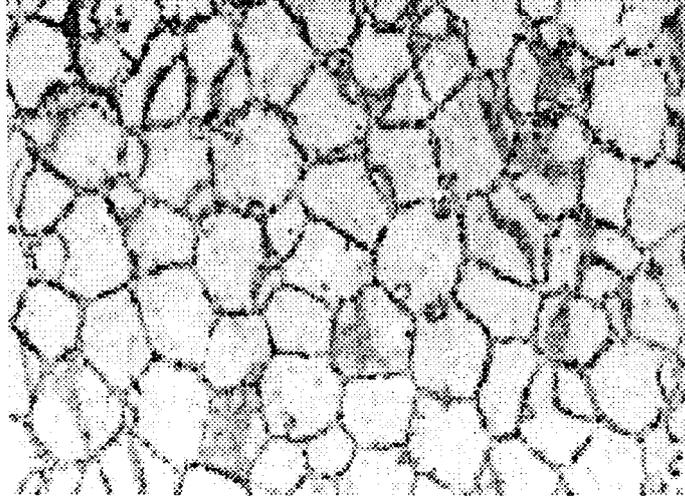
Algumas das possíveis aplicações do programa são consideradas a seguir.



*Figura 39 [KODITZ]
Imagem da córnea humana*



*Figura 40
Contornos de grãos em material cerâmico, UO₂*



*Figura 41 [AUBERT 92]
Aspectos diversos de formações calcáreas*

6.2 Aplicação à Monitoração Ambiental

A monitoração dos níveis de fibras de asbestos em ambientes industriais pode ser realizada de forma automática a partir de imagens ampliadas de amostras de ar [PAVLIDIS 78].

Justifica-se a contagem automática uma vez que os sistemas automáticos permitem maior consistência e confiabilidade nos dados, além de maior velocidade e redução de custos.

Para realização das contagens de partículas em suspensão, Pavlidis propôs um algoritmo engenhoso que converte a imagem digitalizada em um grafo, compactando a imagem original e simplificando as etapas subseqüentes do processamento. O algoritmo proposto é capaz de separar e contar as fibras mesmo que estejam superpostas. Fibras de asbestos aparecem na micrografia da Figura 42.



*Figura 42 [PAVLIDIS 78/1]
Fibras de asbestos em amostra de ar poluido*

6.3 Aplicação à Metalografia

A micrografia mostrada na Figura 43 apresenta um material com três fases distintas. A quantificação de cada fase pode ser realizada com base na coloração de cada fase. As fases *branca, cinza e preta* podem ser separadas se a imagem for segmentada com dois limiares convenientemente escolhidos. Mediante pequenas modificações nos procedimentos implementados, imagens como esta poderiam ser processadas pelo programa.

6.4 Aplicação à Geologia

A identificação das fases em minerais, dos fatores de forma e da orientação preferencial dos grãos é freqüentemente necessária nos estudos geológicos. A Figura 44, cedida pelo Instituto de Geociências - IGC da UFMG, apresenta uma amostra de hematita cortada e polida indicando a presença de grãos, cuja orientação preferencial pode ser observada.



Figura 43
Aço com três fases metálicas distintas

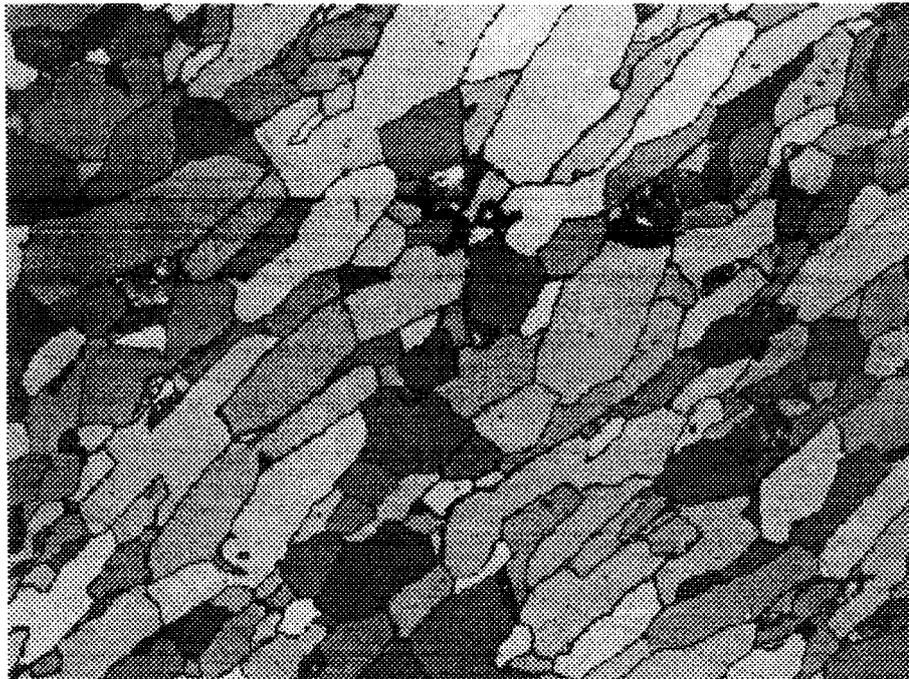


Figura 44
Orientação preferencial de grãos de hematita

6.5 Extensão às Estruturas Orientadas

Freqüentemente, é necessário determinar a orientação preferencial, no plano, da microestrutura do material. Um conjunto de técnicas eficazes para esta finalidade é descrito na literatura especializada. A técnica da codificação por pulsos seguida de uma Transformada de Fourier, descrita a seguir, permite a obtenção da distribuição de tamanhos de grão, sua forma média e orientação preferencial diretamente.

O método, utilizado por Genarazio [GENEZZIO 88], é baseado na determinação direta da função de distribuição bidimensional de tamanhos de grão. Pela aplicação da Transformada de Fourier 2D [BRIGHI 88] às imagens microestruturais codificadas por pulsos, obtém-se a função de distribuição. A relação resultante é bidimensional e produz a distribuição, a forma média, o tamanho e a orientação dos grãos.

Esta técnica não se limita à determinação de distribuições de poros e grãos em cerâmicas. Pode ser aplicada a qualquer sistema em que seja necessário conhecer a função de distribuição de tamanhos. Como exemplos, Genarazio cita a determinação de comprimentos de fibras, em materiais compostos, e a determinação da função de distribuição de comprimento de fases metálicas e inclusões, no caso dos metais.

Descrição

Para aplicar a teoria da transformada de Fourier à análise microestrutural, a imagem do material deve ser, inicialmente, codificada por pulsos de sinal periódico.

Após a fase de pré-processamento, quando a micrografia é filtrada e binarizada, gera-se uma máscara circular que, superposta à imagem do material, permitirá determinar um conjunto de intervalos de comprimento que serão codificados. A Figura 45 mostra a máscara circular superposta a uma imagem binária de óxido de cromo. A interseção entre as linhas, que partem do centro da máscara na direção radial, e as bordas dos grãos produz o conjunto de intervalos de comprimento. Cada um destes intervalos é, então, codificado por pulsos de sinal periódico, produzindo uma imagem como a da Figura 46.

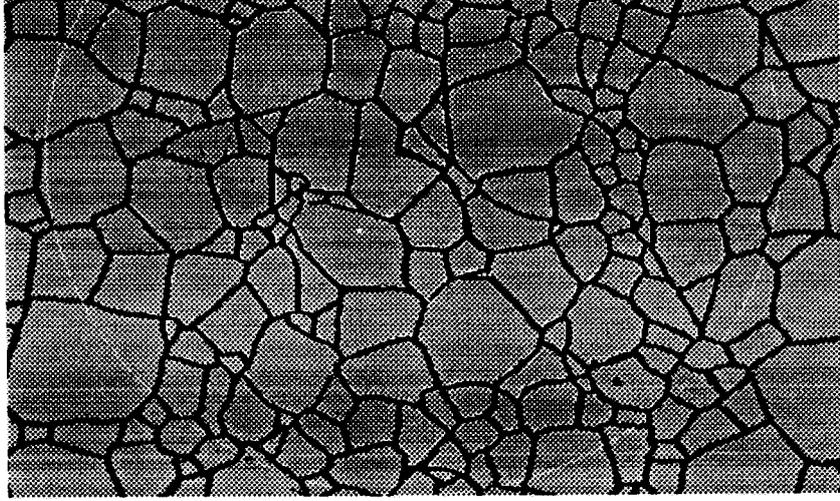


Figura 45
Máscara circular superposta à imagem original utilizada para obtenção dos intervalos de comprimento

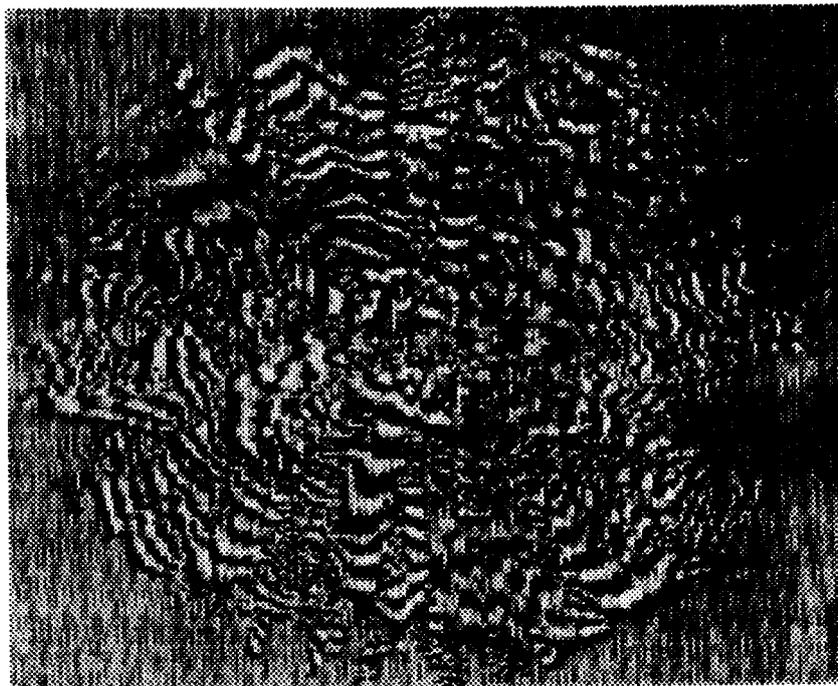
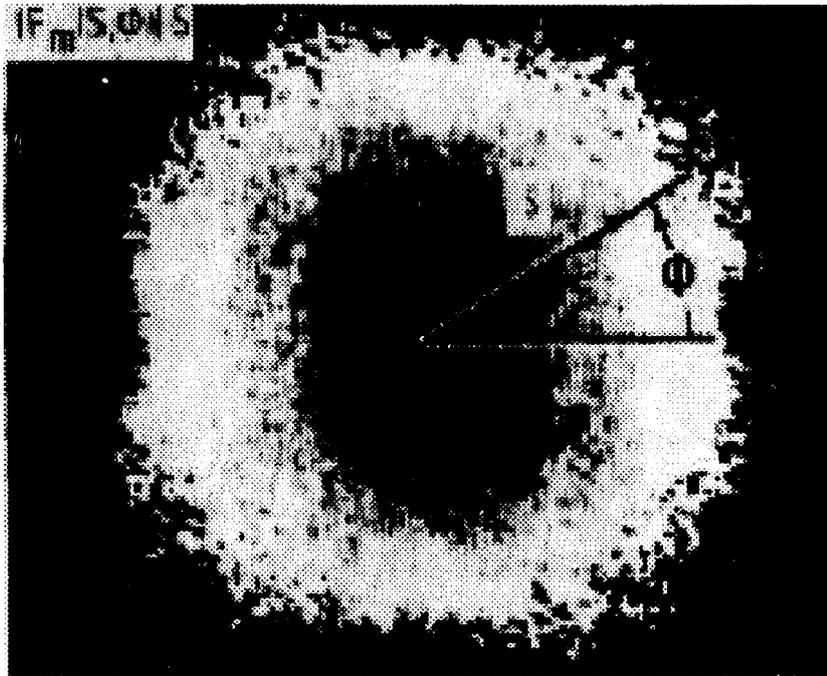


Figura 46 [GENERAZIO 88]
Imagem da microestrutura após a codificação por pulsos de sinal periódico

Após a aplicação da transformada de Fourier sobre a imagem codificada, obtém-se a uma imagem como a da Figura 47, que representa a função densidade de comprimento. A densidade de comprimento bidimensional é plotada em função do recíproco do comprimento s e do ângulo \varnothing . A partir desta figura, a distribuição de tamanhos de grão, o tamanho médio do grão da microestrutura original e a orientação preferencial podem ser determinados ao longo de qualquer direção.



*Figura 47 [GENERAZIO 88]
Densidade de comprimento em função de $1/s$ e de \varnothing*

Genarazio empregou um algoritmo 2DFFT implementado em hardware para realização destes cálculos.

6.6 Conclusões

Possíveis aplicações e extensões do programa foram consideradas. Mostrou-se que o programa, no estágio atual, pode ser aplicado à caracterização de materiais diversos e que sua extensão à outras aplicações poderá exigir a implementação de novos procedimentos, em conformidade com a aplicação pretendida.

CONCLUSÕES

O analisador, aqui apresentado, constitui uma ferramenta adequada à caracterização de materiais diversos, a partir de suas imagens digitais. As facilidades implementadas para aplicações em microscopia, aliadas as funções de tratamento de imagens, oferecidas pela interface PIXELWARE, permitem que um razoável número de aplicações possam ser bem atendidas pelo programa, considerando-se, naturalmente, o escopo no qual foi desenvolvido e as limitações impostas pelo sistema operacional.

Quanto à finalidade inicial para a qual foi desenvolvido, ou seja, substituir o analisador mecânico TGZ, pode ser dito que o analisador atendeu às expectativas. Permitiu que as análises se tornassem mais rápidas, semi-automáticas, apresentassem maior grau de confiabilidade e fossem reprodutíveis.

Posteriormente, estendeu-se sua aplicação, também com sucesso, à análise morfológica de estruturas biológicas, como exemplificado na aplicação em histopatologia apresentada no Capítulo 5. Supostamente, outros materiais de origem orgânica, como células, que apresentam estruturas claramente definidas, poderão ser convenientemente analisados pelo programa.

Possíveis aplicações e extensões do programa foram consideradas. Mostrou-se que sua extensão a outras aplicações poderá exigir a implementação de novos procedimentos, em conformidade com a aplicação pretendida.

A incorporação ao programa de funções que permitam aumentar o grau de automatização dos procedimentos de análise deverá ser considerada. Neste aspecto, seria conveniente desenvolver algoritmos de segmentação mais eficazes, que pudessem evitar a necessidade freqüente de retificação manual das bordas das regiões, existente na versão atual.

O NPDI desenvolve uma versão da interface PIXELWARE, para o ambiente operacional WINDOWS, que deverá suprir as funcionalidades não encontradas na atual versão do programa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [AMS] ANALYTICAL MEASURING SYSTEMS, *Image analysis and automated microscopy*, Cambridge, UK.
- [ANDRADE 92] ANDRADE. M. C, et al. Caracterização Digital da Estrutura de Grão pelo Método de Saltykov. Anais do V Simpósio Brasileiro de Computação Gráfica e Processamento de Imagens - SIBGRAPI, 1992.
- [ARAUJO 85] ARAÚJO, A. de A. Sum of Absolute Gray Level Differences: An edge Preserving Smoothing Approach, *Electronics Letters*, v. 21, n. 25/26, 1985.
- [ARAUJO 86] ARAÚJO, A. de A. Sum of Absolute Difference Values Smoothing: Evaluation and Application. Proceedings of III EUSIPCO, Elsevier Science Publishers, p.773-776, 1986.
- [ARAUJO 90] ARAÚJO, A. de A. et al. Sum of Absolute Differences Smoothing: Comparison to New Algorithms and Application to Remote Sensing, Proceedings of V EUSIPCO, Elsevier Science Publishing, p. 1043-1046, 1990.
- [ARAUJO 92] ARAÚJO, A. de A. et al. Characterization of Grain Structure by Image Processing: A New Implementation Based on the Saltykov Method, Proceedings of ICARCV, 1992.
- [ARAUJO 93] ARAÚJO, A. de A. et al. Digital Processing of Histopathological Aspects in Renal Transplantation. Proceedings of IS&T/SPIE, 1993.
- [ASTM 89] ASTM Standard Test Methods for Determining Average Grain Size (E 112-88), *1989 Annual Book of ASTM Standards*, v.03.01, American Society for Testing Materials, 1989.
- [AUBERT 92] COEN-AUBERT, M. et al. Sedimentologie, Paleoecologie et Paleontologie des Calcaires Crinoidiques au Voisinage de la Limite Couvinien-Givetien a Wellin. *Mémoires pour servir a l'Explication des Cartes Géologiques et Minières de la Belgique*. Mémoire # 31, 1992.

- [BRENNER 81] BRENNER, J. F. et al. Scene Segmentation in Automated Histopathology: Techniques Evolved From Cytology Automation. *Pattern Recognition*, v. 13, p. 65-77, 1981.
- [BRIGH 88] BRIGHAM, E. O. *The fast Fourier transform and its applications*. Englewood Cliffs, Prentice Hall International, 1988.
- [CAMBRIDGE 89] CAMBRIDGE INSTRUMENTS, *QUANTIMET 570- The fully integrated image processing and analysis system*, Cambridge, 1989.
- [CAMBRIDGE 88] CAMBRIDGE INSTRUMENTS, *QUANTIMET 970.- Image analysis system*, Cambridge, 1988.
- [CHERMANT 86] CHERMANT, J. L. Characterization of the microstructure of ceramics by image analysis, *Ceramics International*, v. 12, p. 67-80, 1986.
- [CHERMANT 77] CHERMANT, J. L., COSTER, M. Use of the Saltykov corrective method with a semi-automatic and automatic image analysers. *Praktische Metallography*, 14, 1977.
- [DAVIS 92/1] DAVIS JR, C. A. PIXELWARE. Um sistema de Processamento Digital de Imagens. Belo Horizonte: UFMG, 1992. Dissertação (mestrado em computação), UFMG, 1992.
- [DAVIS 92/2] DAVIS JR, C. A., ARAUJO, A. de A. Manual de projeto do sistema PIXELWARE. Belo Horizonte: Departamento de Ciência da Computação, UFMG, 1992. (RT016/92).
- [DAVIS 91/1] DAVIS JR, C. A., ARAÚJO, A. de A. Um Sistema de Tratamento e Classificação de Imagens de Satélites, In: III SIBGRAPI, Gramado, 1990.
- [DAVIS 91/2] DAVIS JR, C. A., ARAÚJO, A. de A. *Uso do Microsoft Mouse em Programas C*. Belo Horizonte: Departamento de Ciência da Computação, UFMG, 1991. (RT005/91)
- [DAVIS 91/3] DAVIS JR, C. A., ARAÚJO, A. de A. *Placas Gráficas SuperVGA para computadores PC compatíveis*. Belo Horizonte: Departamento de Ciência da Computação, UFMG, 1991. (RT006/91)

- [DEHOFF 68] DEHOFF, R. T., RHINES, F.N. *Quantitative Microscopy*. New York, McGraw-Hill Book Company, 1968.
- [DIN 91] DIN - DEUTSCHE INST. FÜR NORMUNG E. V. *Conceitos Básicos de Medição*. Conceitos sobre incerteza da medição e sobre avaliação de instrumentos de medida. Tradução de Maurício Mendes Campos. Belo Horizonte: CDTN, 1991.
- [ELIAS 71] ELIAS, H. et al. Stereology: Applications to Biomedical Research. *Physiological Reviews*, v. 51, n. 1, p. 158-200, 1971.
- [GARDNER 80] GARDNER, M. Mathematical Games, *Scientific American*, v. 243, n. 5, p. 18-28, 1980.
- [GENERAZIO 88] GENERAZIO, E.R. Determination of grain-size distribution function, using two-dimensional Fourier Transforms of tone-pulse-encoded images. *Materials Evaluation*, v. 46, n. 4, p. 528-534, 1988.
- [GONZALEZ 87] GONZALEZ, R.C., WINTZ, P. *Digital Image Processing*. 2.ed. Reading MA, AddisonWesley Publishing Company. 1987.
- [HEARN 86] HEARN, D., BAKER, M. P. *Computer Graphics*. Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall Inc, 1986.
- [KARNEY 92] KARNEY, J. True Color and Plenty of Horsepower. *PC Magazine*, v.11, n.1, p. 263-310, 1992.
- [KING 84] KING, R. P. Measurement of particle size distribution by image analyzer. *Powder Technology*, v. 34, p. 279-289, 1984.
- [KODITZ] KÖDITZ, W. Image Processing and Image Analysis. *Elektronik Praxis*, v.22, Vogel Verlag.
- [KÜBLER 91] KÜBLER, O., GERIG G. Computer analysis of 3-D medical images. *Siemens Review, R&D Special*, p. 4-8, 1991.

- [KUMAR 89] KUMAR, M.S.A. et al. *Chronic Cyclosporine Nephrotoxicity in Renal Transplantation : Is it Effect of Preservation?* Transplantation Proceedings. v 21, p 1552-1553, 1989.
- [LAMEIRAS 87] LAMEIRAS, F. S., PINHEIRO P. Simulação da distribuição de micropartículas em duas dimensões. In 31º Congresso Brasileiro de Cerâmica, 1987.
- [LECO 88] LECO CORPORATION, *THE LECO 2001*, San Jose, USA: 1988.
- [LEE 87] LEE, J. S. J., HARALICK R.M. Morphologic Edge Detection. *IEEE Journal of Robotics and Automation*, v. RA-3, n. 2, p. 142-155, 1987.
- [LINK 90] LINK ANALYTICAL, *Featurescan*, Oxford, UK, 1990.
- [NEEJA 91] NEEJARVI, J. et al. Knowledge-based segmentation using morfological filters, *Microprocessing and Microprogramming*, v. 32, p. 447-452, 1991.
- [ODDY 83] ODDY, C. J. et al. Software system design for general purpose image analysis. *The GEC Journal of research*, v. 1, n. 1, p. 48-58, 1983.
- [PARKER 91] PARKER, J. R. Gray level thresholding in badly illuminated images, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, v. 13, n. 8, p. 813-819, 1991.
- [PAVLIDIS 78/1] PAVLIDIS, T., STEIGLIZT, K. The automatic counting of asbestos fibers in air samples. *IEEE Transactions on Computers*, v. C-27, n. 3, p. 258-261, 1978.
- [PAVLIDIS 78/2] PAVLIDIS, T. A minimum storage boundary tracking algorithm and its application to automatic inspection. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, v. smc-8, n. 1, p. 66-69, 1978.
- [PUJOL 92] PUJOL, J. C. F. et al. Analisador de imagens de materiais-ANIMAT. Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear - CDTN, Belo Horizonte, MG, Brasil, 1992.

- [RYE 91] RYE, A. J., JOHNSON D.G., SAWYER F.G., and ODDY C. J. Image analysis workstations, *GEC Journal of Research*, v. 9, n. 1, p. 36-45, 1991.
- [SABIONI 90] SABIONI, A. C. S. et al. Cr grain boundary diffusion in Cr_2O_3 . *Colloque de Physique*, C1, suplemento 1, v. 51, 1990.
- [SALTYKOV 74] SALTYKOV, S. A. *Stereometrische Metallographie*, Leipzig, VEB, 1974.
- [SNELLING 84] SNELLING, K. W. *The IBAS Image Analyser and its Use in Particle Size Measurements*. WINFRITH, United Kingdom Atomic Energy Authority. AEEW-R1869, 1984.
- [TAMURA 82] TAMURA, H. et al. Design and implementation of SPIDER - A transportable image processing software package. *Computer Vision, Graphics and Image Processing*, v. 23, p. 273-294, 1982.
- [TRACOR 89] TRACOR NORTHERN, *Integrated imaging for electron microscopy*, Middleton, USA:1989.
- [ZEISS] Manual de utilização do analisador granulométrico TGZ.