

Aplicação de Imagens Hiperespectrais na Detecção de Fungos e na Predição de Micotoxinas em Grãos de Trigo

Jayme Garcia Arnal Barbedo

Casiane Salete Tibola

Maria Imaculada Pontes Moreira Lima

Introdução

Grãos são a base da cadeia alimentar, servindo tanto como matéria-prima para a indústria alimentícia quanto para formulação de rações nas cadeias de produção animal. Assim, grande importância é atribuída à análise em termos de qualidade e de contaminantes, fatores estes que podem reduzir o valor comercial dos lotes e causar danos à saúde de pessoas e animais. Historicamente, essas análises são realizadas manualmente, seja por inspeção visual, seja através da seleção de amostras a serem submetidas a análises laboratoriais. Essa abordagem manual, apesar de acurada, tende a ser demorada e cara. Além disso, se a amostragem não é realizada corretamente, lotes contaminados podem não ser detectados.

Por esse motivo, técnicas alternativas capazes de superar algumas das limitações das técnicas tradicionais vêm sendo investigadas cada vez com mais frequência. Dentre essas, a aplicação de imagens hiperespectrais vem ganhando destaque à medida que o custo diminui e a resolução espectral e espacial dos equipamentos aumenta. Algumas aplicações têm recebido considerável atenção nos últimos anos em razão da sua importância comercial e das características do problema a ser resolvido. Alguns dos trabalhos de maior destaque nessas aplicações são brevemente descritos a seguir.

Insetos podem causar sérios prejuízos à produção de grãos, tanto pela indução de brotamento (Singh et al., 2010a) quanto pela deterioração da qualidade física e nutricional (Kaliramesh et al., 2013). Singh et al. (2009, 2010a, 2010b) focaram seus esforços na detecção de danos causados por insetos em grãos de trigo. Em 2009, os autores utilizaram análise multivariada de imagens, atributos estatísticos e de histograma e classificadores estatísticos para detectar danos causados por quatro espécies de insetos. Os trabalhos seguintes, publicados em 2010, empregaram abordagens similares, variando o número de atributos e, em alguns casos, utilizando redes neurais do tipo “backpropagation” para classificação. A detecção de grãos de feijão-mungo danificados por insetos foi o foco de trabalho de Kaliramesh et al. (2013), os

quais extraíram, a partir das bandas mais relevantes (1.100 nm, 1.290 nm e 1.450 nm), os mesmos atributos sugeridos por Singh et al. (2009). Chelladurai et al. (2014) combinaram imagens hiperespectrais e de raio-x para detectar grãos de soja danificados, a partir das quais 81 atributos foram extraídos e usados para alimentar classificadores de análise discriminante linear e quadrática, alcançando taxa de acerto próxima a 80%.

A classificação é importante na determinação da qualidade de lotes de sementes. Essa classificação pode buscar a identificação de diferentes cultivares de um mesmo lote (Choudhary et al., 2009) ou de sementes pertencentes a diferentes espécies (Serranti et al., 2013b). O método proposto por Mahesh et al. (2008) fez a detecção de oito diferentes cultivares de trigo utilizando um classificador estatístico e redes neurais. Uma abordagem similar foi usada por Choudhary et al. (2009) na classificação das mesmas oito cultivares de trigo. A detecção de diferentes cultivares de milho foi o objetivo de Nansen et al. (2008), os quais utilizaram análise discriminante e análise de regressão, Zhang et al. (2012), os quais utilizaram redes neurais, e Wang et al. (2016), os quais utilizaram máquinas de suporte vetorial. A detecção de cultivares de outras culturas, como arroz (Wang et al., 2015a) e aveia (Serranti et al., 2013b), tem também recebido atenção da comunidade científica.

A detecção de danos causados por brotamento é outra tarefa que vem se beneficiando da informação contida em imagens hiperespectrais. Xing et al. (2010) utilizaram análise de componentes principais, combinada com a extração de atributos morfológicos, para detectar brotamentos em grãos de trigo. O método proposto por McGoverin et al. (2011) utilizou análise de componentes principais e análise discriminante para detectar brotamento em trigo, cevada e sorgo. Arngren et al. (2011) utilizaram classificação supervisionada baseada em um conjunto de atributos para detectar germinação em grãos de cevada.

Pierna et al. (2012) combinaram imagens hiperespectrais com quimiometria para detectar uma variedade de impurezas em trigo e cevada. A detecção de impurezas em grãos de trigo foi também o objetivo do método proposto por Ravikanth et al. (2015), os quais empregaram diversas técnicas (Máquinas de Suporte Vetorial, Naïve Bayes, k-vizinhos mais próximos) para classificar os contaminantes.

A detecção de sintomas de doenças causadas por fungos e de seus danos é especialmente a principal aplicação de imagens hiperespectrais na análise de grãos, especialmente no caso do trigo. Outro uso comum desse tipo de imagem é na quantificação de micotoxinas associadas a esses fungos, aplicação esta que tem sido mais comum no caso do milho (Wang et al., 2014; Wang et al., 2015b; Kandpal et al., 2015; Wang et al., 2015c). Essas aplicações (detecção de fungos e predição de micotoxinas), no contexto da análise de grãos de trigo, são o principal objeto deste capítulo e o foco da próxima seção.

Estado da arte da detecção de doenças e micotoxinas em grãos de trigo utilizando imagens hiperespectrais

A giberela, doença fúngica que ocorre em cereais, destaca-se pela importância que representa em áreas de produção de trigo no mundo. O agente causal da doença no Brasil é *Gibberella zeae* Petch (Schwein.) (anamorfo: complexo de espécies em *Fusarium graminearum* Schwabe) (Del Ponte et al., 2013). Além dos danos diretos no rendimento de grãos e na redução da qualidade da farinha, a giberela pode ocasionar a contaminação de grãos com metabólitos secundários tóxicos, conhecidos como micotoxinas. No trigo, prevalecem as micotoxinas deoxinivalenol (DON) e zearalenona (ZEA). Para proteger os consumidores das micotoxicoses, muitos países estabeleceram níveis máximos permitidos para as micotoxinas prevalentes em cereais e derivados. No Brasil, o limite máximo permitido de DON em trigo não processado é de 3.000 ppb, na farinha é de 1.000 ppb e nos produtos destinados à alimentação infantil é de 200 ppb (Brasil, 2017).

A detecção de doenças e de seus danos em grãos de trigo têm recebido considerável atenção da comunidade acadêmica, dada a importância econômica e social desta atividade. À medida em que os equipamentos para captura de imagens hiperespectrais se tornam mais baratos e robustos, cresce a probabilidade de que técnicas baseadas neste tipo de informação venham a ser utilizadas na prática.

Um dos primeiros métodos a aplicar imagens hiperespectrais na detecção de doenças em trigo foi proposto por Polder et al. (2005). Os autores combinaram espectrografia e processamento de imagens para detectar giberela em grãos de trigo, utilizando regressão por mínimos quadrados parciais e agrupamento *fuzzy* do tipo *C-means* para relacionar a giberela com os espectros. Os resultados mostraram que a faixa do infravermelho próximo é mais adequada que o espectro visível para esse fim.

Outro estudo em trigo, envolvendo o uso de imagens hiperespectrais, foi feito por Berman et al. (2007) e teve como objetivo detectar três tipos de manchas, sendo duas causadas por fungos, que reduzem o valor comercial de grãos de trigo. Os autores aplicaram análise discriminante penalizada ao formato do espectro para classificar os pixels, e uma regra simples para classificação da qualidade dos grãos, alcançando índices de acerto acima de 95%.

Os fungos *Penicillium* spp., *Aspergillus glaucus* e *Aspergillus niger* foram o alvo do trabalho de Singh et al. (2007), os quais utilizaram análise multivariada de imagens baseada em análise de componentes principais (PCA) para reduzir a dimensionalidade dos dados, e *k-means* e análise discriminante (linear, quadrática e de Mahalanobis)

para realizar a classificação, também alcançando acertos acima de 95%. Os mesmos autores publicaram a evolução de seu trabalho cinco anos depois (Singh et al., 2012), a qual incluiu o cálculo de diversos atributos de cor e textura, além do uso das imagens hiperespectrais.

Shahin e Symons (2011) propuseram método para classificar grãos de trigo saudáveis, levemente danificados ou muito danificados pela giberela através da combinação de análise de componentes principais com análise discriminante linear. Os autores conseguiram chegar a índices de acerto de 92% utilizando apenas seis bandas espectrais, resultado este similar àquele obtido utilizando todas as bandas. Os mesmos autores publicaram outro trabalho em que a análise discriminante foi a de mínimos quadrados parciais, ao invés da linear (Shahin; Symons, 2012).

O problema da detecção de danos causados por giberela foi abordado por Delwiche et al. (2011), tendo como base a análise discriminante linear. Os autores alcançaram índices de acerto acima de 95%, argumentando que a região do infravermelho próximo, especialmente ao redor da banda de 1.200 nm (faixa de absorção do ergosterol), foi a que mais contribuiu para os resultados.

O objetivo do trabalho de Vermeulen et al. (2012) foi o de detectar ergotismo em grãos de trigo, combinando um escâner de imagens hiperespectrais e uma esteira de transporte de grãos. Os autores reportaram correlações acima de 99% entre os valores estimados utilizando análise discriminante e máquinas de vetores suporte e os valores de referência, destacando que foi possível identificar grãos com níveis de contaminação tão baixos quanto 0,01%. Os mesmos autores publicaram outro trabalho em que a técnica foi estendida para grãos de centeio (Vermeulen et al., 2013).

O método proposto por Serranti et al. (2013a) visou a identificar três tipos de problemas que acometem grãos de trigo (giberela, grãos vítreos e *yellow berry*). Este método também se baseou em análise de componentes principais para exploração dos dados e análise discriminante para classificação dos grãos. Bons resultados foram obtidos utilizando apenas três faixas estreitas do espectro.

Bauriegel e Herppich (2014) compararam técnicas de imageamento hiperespectral e fluorescência de clorofila para detectar giberela em grãos de trigo. Foi observado que as imagens hiperespectrais detectaram as modificações causadas por giberela nas assinaturas espectrais dos grãos, enquanto que a fluorescência detectou a diminuição da atividade fisiológica causada pelo fungo. Os autores concluíram que o imageamento é mais apropriado quando os sintomas se tornaram visíveis, enquanto que a fluorescência, por depender de medições ao longo do tempo, pode restringir a

velocidade da detecção. Afirmaram que, se ambas as técnicas pudessem ser combinadas, a taxa de detecção da giberela aumentaria consideravelmente.

Mais recentemente, pesquisadores da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) desenvolveram um método para detectar giberela em grãos de trigo, o qual obteve bons resultados utilizando apenas algumas bandas espectrais sem depender de técnicas tradicionalmente utilizadas, como análise de componentes principais e análise discriminante (Barbedo et al., 2015). Esse método foi posteriormente estendido para a predição dos níveis de deoxinivalenol em lotes de trigo (Barbedo et al., 2017), algo ainda inédito para esta cultura, considerando que outros trabalhos reportados focaram no milho.

Métodos rápidos para detecção de giberela e predição do nível de DON

Apesar dos avanços alcançados até o momento na detecção de giberela em grãos de trigo, ainda há muitas demandas para melhorar a acurácia e o tempo de análise. Com a finalidade de superar alguns dos problemas reportados na literatura até então, pesquisadores da Embrapa desenvolveram um novo método cuidadosamente projetado para incorporar o conhecimento existente a respeito das respostas espectrais de grãos de trigo saudáveis e contaminados (Barbedo et al., 2015).

Apesar dos princípios explorados aqui serem, basicamente, os mesmos usados em outros trabalhos encontrados na literatura, o algoritmo proposto possui algumas vantagens que nem sempre são encontradas em seus predecessores, como simplicidade de implementação, alta velocidade de execução, ausência de ajustes manuais, capacidade de separação de grãos aglomerados e existência de interface gráfica. O algoritmo foi calibrado e testado utilizando imagens capturadas pelo espectrômetro EV/NIR Hyperspec Model 1003B-10151 (Headwall Photonics Inc., Fitchburg, MA, USA), o qual empregou um sensor InGaAs (resolução de 320 pontos x 256 bandas) e uma câmera XENICS (Model XEVA-1246 XC 134, Leuven, Belgium). As reflectâncias foram medidas na faixa de 528 nm-1.785 nm, com resolução espectral entre 5 nm e 7 nm, resultando em 256 bandas. Um total de 800 linhas foi capturado, sendo a região de interesse delimitada por cerca de 500 dessas linhas. Mais detalhes sobre como as imagens foram capturadas podem ser encontrados em Barbedo et al. (2015).

O primeiro passo do algoritmo consiste na determinação da região de interesse (ROI), a qual deve incluir somente a superfície contendo os grãos de trigo, descartando todo o restante. Testes preliminares revelaram que a banda 25 (647 nm, Figura 1A) fornece o melhor contraste entre a ROI e a área a ser descartada. Todos os pixels

dessa banda são normalizados, e a imagem resultante é limiarizada de maneira que todos os pixels com valor maior que certo limite assumem valor 1, e todos os demais pixels assumem valor zero. Por causa do ruído inerente às imagens capturadas, a imagem binária resultante possui alguns elementos espúrios fora da ROI e algumas falhas dentro da ROI (Figura 1B). Para corrigir isso, algumas regras são aplicadas: a) apenas o maior componente conectado (grupo de pixels brancos) é mantido; b) a imagem é submetida a uma abertura morfológica utilizando um disco de 5 pixels de diâmetro como elemento estruturante, eliminando elementos espúrios nas bordas da ROI; c) todas as falhas na imagem resultante são preenchidas; d) a casca convexa do maior objeto é tomada como a região de interesse de fato. Como resultado, tem-se a máscara mostrada na Figura 1C, a qual, quando aplicada à imagem original, gera o resultado esperado (Figura 1D).

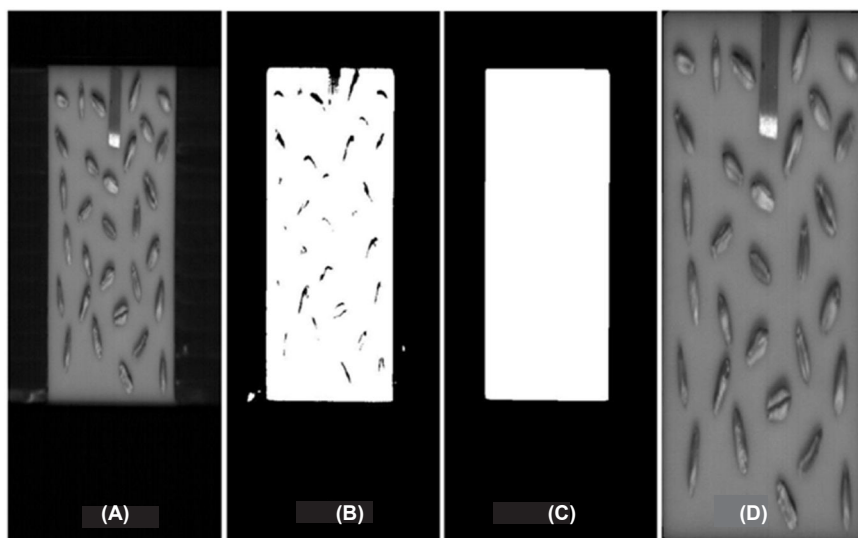


Figura 1. Processo de delineamento da região de interesse. A) A banda de 647 nm é selecionada. B) Imagem binária é gerada. C) Falhas são preenchidas e elementos espúrios são eliminados. D) Região de interesse é isolada.

Fonte: Barbedo et al., 2015.

Após a determinação da ROI, os grãos devem ser segmentados, isto é, separados do restante da imagem. Em razão da complexidade do processo, quatro bandas espectrais foram selecionadas para a tarefa: 672 nm (Figura 2A), 1.361 nm (Figura 2B), 1.509 nm (Figura 2C), e 1.657 nm (Figura 2D). Após uma normalização, essas quatro bandas são aritmeticamente combinadas duas a duas (2A com 2D, e 2B com 2C), e as duas imagens resultantes (Figuras 2E e 2F) são novamente combinadas, gerando a imagem mostrada na Figura 2G. A imagem resultante é limiarizada, gerando a má-

cara com o delineamento dos grãos (Figura 2H). Pode-se notar que alguns elementos espúrios permanecem após as operações, os quais são eliminados através da aplicação de algumas regras relacionadas ao tamanho dos objetos (Barbedo et al., 2015).

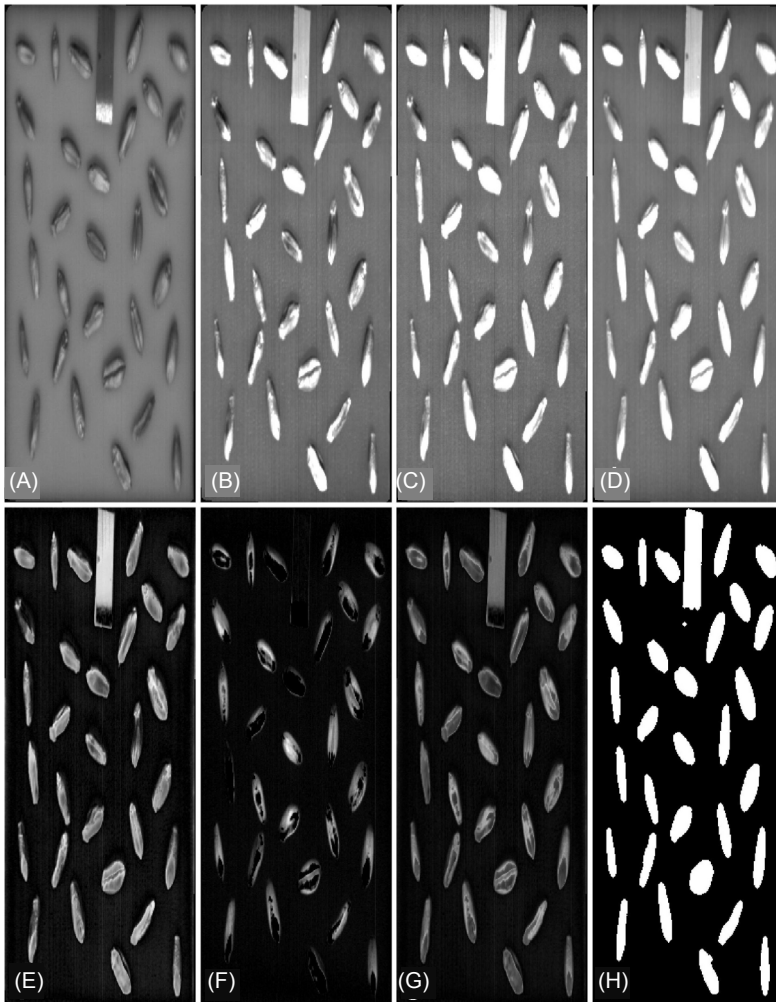


Figura 2. Processo de determinação da máscara para os grãos de trigo. Bandas de 672 nm (A), 1.361 nm (B), 1.509 nm (C) e 1.657 nm (D) são selecionadas e combinadas em duas novas imagens (E e F). Estas duas novas imagens são então combinadas (G) e binarizadas (H), gerando a máscara onde os grãos estão localizados.

Fonte: Barbedo et al., 2015.

Dependendo da posição dos grãos, alguns deles podem aparecer aglomerados nas imagens, sendo, portanto, tratados como entidades individuais. A fim de corrigir possíveis erros associados a esse fato, o método proposto inclui um conjunto de regras e procedimentos para separar os grãos aglomerados sem causar distorções no seu formato. Essas regras baseiam-se no fato de que os grãos possuem um formato quase perfeitamente convexo, propriedade esta que é perdida em aglomerados de grãos. Em linhas gerais, o procedimento adotado identifica o número de regiões côncavas que surgem ao se gerar uma casca convexa ao redor do aglomerado, e a partir dessa informação ele infere o número provável de grãos e as linhas mais apropriadas para separá-los de maneira adequada. Os passos utilizados na separação dos grãos podem ser visualizados na Figura 3, e mais detalhes podem ser encontrados em Barbedo et al. (2015).

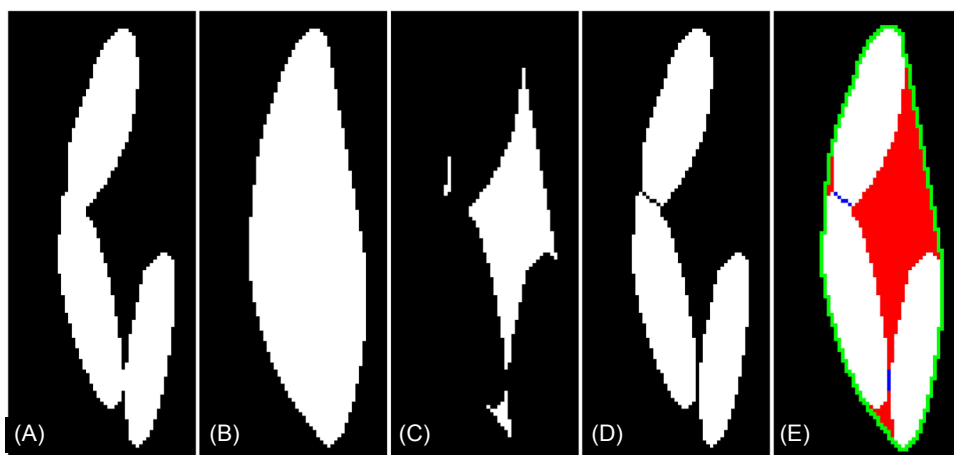


Figura 3. Processo de separação de aglomerados de grãos de trigo, pela técnica: (A) grãos aglomerados; (B) casca convexa envolvendo os grãos; (C) regiões côncavas dentro da casca convexa, obtidas subtraindo (A) de (B); (D) separação das sementes dada pelas linhas mais curtas que conectam as regiões encontradas em (C); (E) representação de todos os elementos usados no processo.

Fonte: Barbedo et al., 2015.

O passo final do algoritmo visa à identificação de grãos doentes e saudáveis. A banda espectral normalizada de 1.411 nm foi escolhida para esse fim. A partir dessa banda, é calculado o Índice Giberela (IG), o qual é dado pela proporção de pixels em um grão com valores maiores que 0,58. Quanto maior o valor de IG, maior a probabilidade de a giberela estar presente. Se uma abordagem absoluta é considerada, valores de IG acima de 0,5 indicam a presença de giberela, enquanto que valores menores que 0,5 indicam grãos saudáveis. Porém, uma estratégia mais apropriada é considerar esses valores como uma estimativa de que a giberela esteja de fato presente.

O algoritmo para identificação de grãos com sintomas de giberela está disponível em <https://www.digipathos.cnptia.embrapa.br>.

Tendo como base o algoritmo descrito acima, em 2017 foi proposta uma estratégia para estimar os níveis da micotoxina deoxinivalenol (DON) em lotes de grãos de trigo (Barbedo et al., 2017). Ambos os algoritmos foram idênticos até a separação de aglomerados de grãos. A primeira diferença entre eles foi o fato de que, enquanto o cálculo de IG faz uso apenas da banda espectral de 1.411 nm, o cálculo do nível de DON utiliza a diferença entre as bandas de 623 nm e 1.411 nm. A imagem de referência (IR) resultante evidenciou os efeitos espectrais causados pelo DON e atenuou as estruturas que não foram afetadas pela micotoxina, fornecendo assim melhor contraste entre grãos saudáveis e doentes. Após os grãos serem isolados, a proporção K de pixels com valor acima de 0,48 é calculada, e os resultados de todos os grãos são elevados à quarta potência e somados, resultando no chamado índice preliminar de DON (IPD).

Três classes de concentração de DON foram definidas no desenvolvimento do algoritmo: classe 1 (<0,5 mg/kg – nível baixo), classe 2 (>0,5 mg/kg e <1,5 mg/kg – nível médio) e classe 3 (>1,5 mg/kg – nível alto). À medida que os níveis de DON aumentam, os grãos aparecem mais brilhantes (Figura 4).

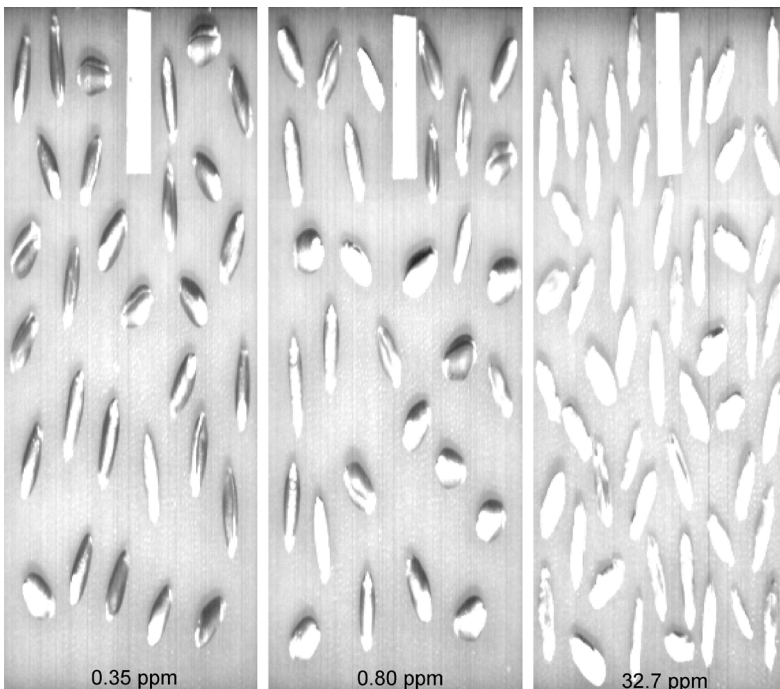


Figura 4. Reflectâncias típicas para diferentes concentrações de DON.

Fonte: Barbedo et al., 2017.

A partir dos resultados para todas as imagens utilizadas na calibração do algoritmo, foram geradas curvas para as distribuições de probabilidade de cada uma das classes (Figura 5). As expressões para cada uma dessas curvas são apresentadas em Barbedo et al. (2017). Idealmente, a sobreposição entre as curvas seria mínima, porém, na prática, há uma superposição moderada entre as curvas, o que explica a maior parte dos erros observados nos testes realizados. Os valores de IPD nos quais as curvas das distribuições de probabilidade se cruzam foram adotados como os limites entre as diferentes classes. Assim, as classes ficaram definidas da seguinte maneira: classe 1: $IPD \leq 0,26$, classe 2: $0,26 < IPD \leq 0,96$, classe 3: $IPD > 0,96$. Uma vantagem de utilizarem-se distribuições de probabilidade é o fato de estas poderem ser substituídas no caso de ser consideradas outras cultivares de trigo.

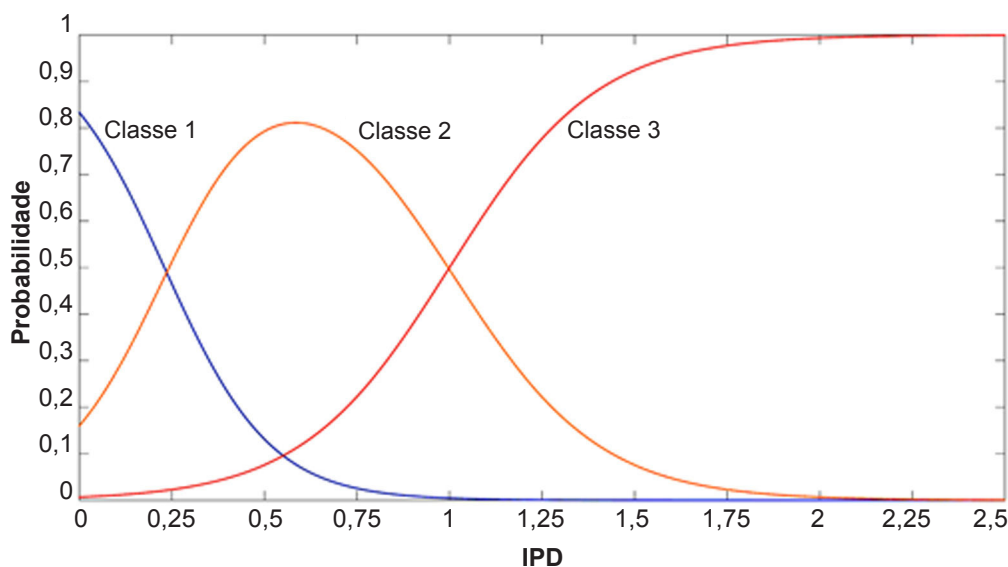


Figura 5. Distribuições de probabilidade para cada uma das classes de concentração de DON consideradas, com respeito ao índice preliminar de DON (IPD). Classe 1: concentração de DON $> 0,5$ mg/kg; classe 2: concentração de DON de 0,5 mg/kg a 1,5 mg/kg; classe 3: concentração de DON $< 1,5$ mg/kg.

Fonte: Barbedo et al., 2017.

Pode-se observar que o desempenho do método é ao menos tão bom quanto o de outras estratégias, porém utilizando um algoritmo mais simples e rápido (Tabela 1). É importante destacar que o uso de PCA não melhorou os resultados, porque os componentes principais gerados por essa análise tendem a convergir para as bandas com melhor contraste, as quais foram selecionadas manualmente no algoritmo proposto.

Tabela 1. Comparação do algoritmo com alguns de seus predecessores na avaliação de grãos com sintomas de giberela em trigo. Todos os métodos basearam-se em imagens hiperespectrais.

Algoritmo	Erro
Proposto	9%
Delwiche e Kim (2000)	2% – 17%
Menesatti et al. (2009)	9% – 18%
Shahin e Symons (2011)	8%
Delwiche et al. (2011)	4% – 10%

Fonte: Barbedo et al., 2015.

Na matriz de confusão obtida nos testes com o algoritmo para predição dos níveis de DON, as colunas representam as classes estimadas e as linhas representam as classes de referência (Tabela 2). Os valores na diagonal principal (em cinza) representam a porcentagem de classificações corretas. O índice geral de acerto foi de 72%.

Tabela 2. Matriz de confusão obtida para o algoritmo para predição dos níveis de DON em grãos de trigo, com valores dados em porcentagens. Classe 1: concentração de DON >0,5 mg/kg; classe 2: concentração de DON de 0,5 mg/kg a 1,5 mg/kg; classe 3: concentração de DON <1,5 mg/kg.

	Classe 1	Classe 2	Classe 3
Classe 1	58	31	11
Classe 2	21	71	8
Classe 3	4	21	75

Fonte: Barbedo et al., 2017.

Discussão, tendências e perspectivas

As pesquisas voltadas ao uso de imagens hiperespectrais na detecção de sintomas de doenças e na predição dos níveis de micotoxinas vêm crescendo consideravelmente, mas ainda há alguns desafios que precisam ser vencidos antes que esse tipo de técnica possa ser adotado em análises de rotina. Esta seção visa a discutir alguns desses desafios e possíveis soluções para os problemas associados.

A eficiência dos métodos para detecção de sintomas de doenças, e em particular da giberela, é prejudicada pela falta de amostras de referência rotuladas de maneira objetiva e consistente. Em geral, as amostras de referência são rotuladas de acordo com as observações visuais realizadas por pessoas com experiência na detecção de sintomas de doenças. Essa estratégia embute certo grau de subjetividade, o que faz com que o próprio conjunto de referência esteja sujeito a erros. Incerteza adicional

é introduzida quando a infecção está nos estágios iniciais, quando a manifestação visual da doença é praticamente imperceptível tanto para humanos quanto para computadores. Nesse contexto, é muito difícil ter certeza do diagnóstico, qualquer que seja o método utilizado.

Um fenômeno observado nos testes com o algoritmo foi o fato de as alterações espectrais causadas pela giberela aparecerem nas imagens menos pronunciadas para grãos alongados que para grãos arredondados. Hipóteses podem explicar isso. Primeiro, é possível que algumas das cultivares que têm formato alongado sejam mais resistentes à giberela. Segundo, como grãos alongados têm uma relação perímetro/área maior, efeitos de borda como sombras e distorções de pixels tendem a ter maior impacto. Adicionalmente, esse formato pode tornar mais difícil a detecção visual dos sintomas, prejudicando o processo de seleção dos grãos. Porém, não há dados concretos que suportem qualquer uma dessas possibilidades, indicando que mais estudos são necessários para uma explicação conclusiva.

O problema oposto é observado para grãos redondos, para os quais é relativamente comum que grãos saudáveis tenham altos valores de reflectância, o que seria um indicador de grãos doentes. Na maior parte das vezes, isso é causado pela presença de reflexões especulares produzidas pela superfície relativamente mais plana deste tipo de grão, artificialmente aumentando o valor da reflectância em todas as bandas espectrais. Uma possível solução para isso seria considerar apenas as porções dos grãos menos sujeitos à reflexão especular, porém há indicações de que, mesmo com a presença de distorções, considerar o grão inteiro normalmente leva a melhores resultados (Delwiche et al., 2011).

Dependendo do procedimento de segmentação adotado, sombras causadas pelos grãos podem ser tomadas como parte dos grãos ao invés de serem removidas, artificialmente reduzindo a reflectância média daquele grão. O efeito das sombras poderia ser reduzido pela utilização de outra fonte de luz no lado oposto da primeira, porém, isso poderia aumentar os problemas com reflexões especulares, além de poder tornar indiscerníveis detalhes importantes para a detecção da doença.

Algoritmos frequentemente empregam regras baseadas no tamanho dos objetos para eliminar elementos espúrios nas imagens. Em princípio, essas regras são dependentes da resolução espacial das imagens, valor este que determina, por exemplo, o número de pixels contidos em cada grão. Para que as regras de tamanho possam ser aplicadas de maneira geral, elas devem estar diretamente associadas às dimensões (em pixels) das imagens.

As operações de segmentação normalmente incluem a realização de limiarizações, as quais definem as faixas de valores de pixels que melhor representam as regiões

que se deseja separar (por exemplo, grãos e fundo). Por esse motivo, é sempre importante aplicar uma normalização aos valores de reflectância, compensando assim a maior parte das possíveis diferenças em iluminação. Contudo, é possível que as relações entre as reflectâncias dos grãos, bandeja e fundo possam ser diferentes, dependendo das condições. Em geral, os elementos nas imagens são suficientemente contrastantes para que isso não tenha um grande impacto, mas pode haver certas circunstâncias que requeiram uma redefinição dos valores de limiar.

A tarefa de estimar os níveis de micotoxinas em grãos tem também alguns desafios específicos. O maior deles é, provavelmente, o fato dos escâneres hiperespectrais não terem sensibilidade suficiente para detectar as micotoxinas diretamente, a menos que as concentrações sejam muito elevadas (Sun, 2009). Isso faz com que estimativas precisas sejam muito difíceis de ser obtidas. Portanto, o mais provável é que a resposta espectral de grãos contaminados com DON venha dos danos causados pela giberela ao invés de vir da própria micotoxina. Porém, apesar da relação entre giberela e DON ser inequívoca, ela não é perfeita, o que significa que grãos assintomáticos podem conter DON, e vice-versa. Isso sempre causa erros de predição, e será inevitável até que a sensibilidade dos equipamentos seja suficiente para detectar DON diretamente.

Nos testes realizados, as duas bandas mais efetivas na detecção de DON foram as de 623 nm e de 1.411 nm. A segunda banda está localizada exatamente na região espectral de absorção da água, o que indica que algoritmos utilizando esta banda devem se basear, ao menos parcialmente, nas diferenças de umidade entre os diferentes grãos. Isso pode causar problemas se diferentes lotes possuírem diferentes níveis de umidade, o que pode exigir a definição de diferentes parâmetros para diferentes lotes. Por outro lado, a banda de 1.408 nm está associada ao DON (Peiris et al., 2009), o que significa que esta banda também deve detectar DON diretamente quando as concentrações forem elevadas. Além disso, Dowell et al. (1999) indicaram que a giberela afeta o conteúdo de amido e proteína, causando absorção na faixa de 1.400 nm, contribuindo para a detecção indireta de DON. Portanto, apesar de a umidade ser um problema, diversos outros fatores contribuem para viabilizar a predição dos níveis de DON. Esse fato permitiu o desenvolvimento de métodos como os descritos em Barbedo et al. (2017) e em Peiris et al. (2017). Neste último trabalho, os autores reportaram que FT-NIR (*Fourier Transform - Near Infrared*) pode ser utilizado para segregar o trigo de acordo com níveis de DON, separando os lotes em baixo (<2.000 ppb) e alto (>2.000 ppb) níveis.

Como no caso da detecção de giberela, o desenvolvimento de algoritmos para estimar os níveis de DON é limitado pela falta de referências completamente confiáveis. Um dos métodos mais utilizados na avaliação do conteúdo de DON é o ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), que possui limitações de sensibilidade e especificidade (reação

cruzada), consequentemente, aumentando a incerteza associada aos resultados fornecidos pelos algoritmos. Para contornar estas limitações, a amostragem deve ser representativa e os métodos laboratoriais devem ser acurados na determinação dos níveis de micotoxinas. As técnicas cromatográficas geralmente são empregadas como métodos de referência, por causa da precisão e da reprodutibilidade dos resultados, entretanto são procedimentos longos e caros, demandam estrutura (laboratório) e utilizam reagentes tóxicos, limitando sua utilização em análises de rotina de grande volume de amostras (Xu et al., 2010; Pierna et al., 2012). Dadas as muitas incertezas relacionadas à predição dos níveis de micotoxinas, é mais apropriado adotar uma estratégia de classificação associada com o processamento dos grãos em lotes (Barbedo et al., 2017). Dessa maneira, os erros associados a grãos individuais acabam compensando-se mutuamente, e desde que os erros remanescentes não causem uma mudança de classe, o resultado obtido será correto.

Esta classificação de lotes de trigo quanto aos níveis de micotoxinas, através do NIR associado a imagens hiperspectrais, possui ampla demanda na cadeia produtiva, principalmente para orientar a segregação de lotes. Considerando que estes contaminantes são imperceptíveis visualmente no produto final, a predição dos níveis de micotoxinas por NIR hiperespectral previne a mistura de lotes de trigo com altos níveis de contaminação com lotes sadios, que podem ser destinados à produção de alimentos para humanos e animais, contribuindo, assim, para a garantia de qualidade dos alimentos comercializados e para o atendimento da legislação vigente.

Conclusões

Vários trabalhos encontrados na literatura corroboram a afirmação de que a banda do infravermelho próximo é apropriada para detectar giberela em grãos de trigo. A maior parte das inconsistências está associada à reflexão especular ou à incerteza inerente ao processo de rotulagem visual dos grãos. Como não há uma referência absoluta disponível, as estimativas geradas pelos algoritmos normalmente fornecem apenas um indicador da probabilidade de um determinado grão estar infectado, ao invés de fornecer uma avaliação categórica.

No caso da estimativa de DON, embora os resultados alcançados sejam relativamente acurados, eles não podem ser usados isoladamente como resposta definitiva na triagem de lotes de trigo, especialmente considerando os riscos à saúde representados por essa toxina. Por outro lado, eles podem ser utilizados como parte de um sistema de análise rápida, com o papel de selecionar lotes que mereçam uma análise mais detalhada. Contudo, esse tipo de uso tem algumas implicações importantes. Por

exemplo, falsos negativos são muito mais problemáticos que falsos positivos, porque o envio de um lote saudável para análise adicional vai ter apenas um impacto limitado nos custos, enquanto que a aprovação de lotes contaminados pode ter repercussões na saúde pública. Assim, é conveniente que algoritmos que venham a ser utilizados em sistemas de triagem sejam calibrados para evitar, tanto quanto possível, falsos negativos, ainda que isso prejudique o desempenho global.

Referências

- ARNGREN, M.; HANSEN, P. W.; ERIKSEN, B.; LARSEN, J.; LARSEN, R. Analysis of pregerminated barley using hyperspectral image analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 21, p. 11385-11394, Nov. 2011.
- BARBEDO, J. G. A.; TIBOLA, C. S.; FERNANDES, J. M. C. Detecting head blight in wheat kernels using hyperspectral imaging. **Biosystems Engineering**, v. 131, p. 65-76, Mar. 2015.
- BARBEDO, J. G. A.; TIBOLA, C. S.; LIMA, M. I. P. Deoxynivalenol screening in wheat kernels using hyperspectral imaging. **Biosystems Engineering**, v. 155, p. 24-32, Mar. 2017.
- BAURIEGEL, E.; HERPPICH, W. B. Hyperspectral and chlorophyll fluorescence imaging for early detection of plant diseases, with special reference to *Fusarium* spec. infections on wheat. **Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 32-57, 2014.
- BERMAN, M.; CONNOR, P. M.; WHITBOURN, L. B.; COWARD, D. A.; OSBORNE, B. G.; SOUTHAN, M. D. Classification of sound and stained wheat grains using visible and near infrared hyperspectral image analysis. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 15, n. 6, p. 351-358, 2007.
- BRASIL. Resolução nº. 138, de 08 de fevereiro de 2017. Regulamenta os limites máximos tolerados (LMT) de deoxinivalenol em alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 9 fev. 2017. Seção 1, n. 29, p. 45.
- CHELLADURAI, V.; KARUPPIAH, K.; JAYAS, D. S.; FIELDS, P. G.; WHITE, N. D. G. Detection of (F.) infestation in soybean using soft X-ray and NIR hyperspectral imaging techniques. **Journal of Stored Products Research**, v. 57, p. 43-48, Apr. 2014.
- CHOUDHARY, R.; MAHESH, S.; PALIWAL, J.; JAYAS, D. S. Identification of wheat classes using wavelet features from near infrared hyperspectral images of bulk samples. **Biosystems Engineering**, v. 102, n. 2, p. 115-127, 2009.
- DEL PONTE, E. M.; TESSMANN, D. J.; SPOLTI, P.; KUHNEM, P. R.; SILVA, C. N. Species identification, genetic diversity and phenotypic variation studies on the *Fusarium graminearum* complex populations from Brazil. In: ALCONADA MAGLIANO, T. M.; CHULZE, S. N. (Ed.). **Fusarium Head Blight in Latin America**. Netherlands: Springer, 2013. p. 15-29.

- DELWICHE, S. R.; KIM, M. S. Hyperspectral imaging for detection of scab in wheat. In: DESHAZER, J. A.; MEYER, G. E. **Biological quality and precision agriculture II**. Bellingham, WA: SPIE, 2000. p. 13-20, (Proceedings of SPIE 4203).
- DELWICHE, S. R.; KIM, M. S.; DONG, Y. *Fusarium* damage assessment in wheat kernels by vis/NIR hyperspectral imaging. **Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety**, v. 5, n. 2, p. 63-71, 2011.
- DOWELL, F. E.; RAM, M. S.; SEITZ, L. M. Predicting scab, vomitoxin, and ergosterol in single wheat kernels using near infrared spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 4, p. 573-576, 1999.
- KALIRAMESH, S.; CHELLADURAI, V.; JAYAS, D. S.; ALAGUSUNDARAM, K.; WHITE, N. D. G.; FIELDS, P. G. Detection of infestation by *Callosobruchus maculatus* in mung bean using near-infrared hyperspectral imaging. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, p. 107-111, Jan. 2013.
- KANDPAL, L. M.; LEE, S.; KIM, M. S.; BAE, H.; CHO, B.-K. Short wave infrared (SWIR) hyperspectral imaging technique for examination of aflatoxin B (AFB) on corn kernels. **Food Control**, v. 51, p. 171-176, May 2015.
- MAHESH, S.; MANICKAVASAGAN, A.; JAYAS, D. S.; PALIWAL, J.; WHITE, N. D. G. Feasibility of near-infrared hyperspectral imaging to differentiate Canadian wheat classes. **Biosystems Engineering**, v. 101, n. 1, p. 50-57, 2008.
- MCGOVERIN, C. M.; ENGELBRECHT, P.; GELADI, P.; MANLEY, M. Characterisation of non-viable whole barley, wheat and sorghum grains using near-infrared hyperspectral data and chemometrics. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, n. 7, p. 2283-2289, Oct. 2011.
- MENESATTI, P.; ANTONUCCI, F.; COSTA, C.; SANTORI, A.; NICIARELLI, I.; INFANTINO, A. Application of morphometric image analysis system to evaluate the incidence of *Fusarium* head blight wheat infected kernels. In: BORNIMER AGRARTECHNISCHE BERICHTE, 69., 2009, Potsdam. **Proceedings...** Potsdam: Leibniz-Institut für Agrartechnik, 2009. p. 157-161.
- NANSEN, C.; KOLOMIETS, M.; GAO, X. Considerations regarding the use of hyperspectral imaging data in classifications of food products, exemplified by analysis of maize kernels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 9, p. 2933-2938, May 2008.
- PEIRIS, K. H. S.; DONG, Y.; DAVIS, M. A.; BOCKUS, W. W.; DOWELL, F. E. Estimation of the deoxynivalenol and moisture contents of bulk wheat grain samples by FT-NIR spectroscopy. **Cereal Chemistry Journal**, v. 94, n. 4, p. 677-682, 2017.
- PEIRIS, K. H. S.; PUMPHREY, M. O.; DOWELL, F. E. NIR absorbance characteristics of deoxynivalenol and of sound and *Fusarium*-damaged wheat kernels. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 17, n. 4, p. 213-221, 2009.

PIERNA, J. A. F.; VERMEULEN, P.; AMAND, O.; TOSSENS, A.; DARDENNE, P.; BAETEN, V. NIR hyperspectral imaging spectroscopy and chemometrics for the detection of undesirable substances in food and feed. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 117, p. 233-239, Aug. 2012.

POLDER, G.; VAN DER HEIJDEN, G. W. A. M.; WAALWIJK, C.; YOUNG, I. T. Detection of Fusarium in single wheat kernels using spectral imaging. **Seed Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 655-668, 2005.

RAVIKANTH, L.; SINGH, C. B.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Classification of contaminants from wheat using near-infrared hyperspectral imaging. **Biosystems Engineering**, v. 135, p. 73-86, July 2015.

SERRANTI, S.; CESARE, D.; BONIFAZI, G. The development of a hyperspectral imaging method for the detection of -damaged, yellow berry and vitreous Italian durum wheat kernels. **Biosystems Engineering**, v. 115, n. 1, p. 20-30, 2013a.

SERRANTI, S.; CESARE, D.; MARINI, F.; BONIFAZI, G. Classification of oat and groat kernels using NIR hyperspectral imaging. **Talanta**, v. 103, p. 276-284, Jan. 2013b.

SHAHIN, M. A.; SYMONS, S. J. Detection of Fusarium damage in Canadian wheat using visible/near-infrared hyperspectral imaging. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 6, n. 1/4, p. 3-11, 2012.

SHAHIN, M. A.; SYMONS, S. J. Detection of Fusarium damaged kernels in Canada Western Red Spring wheat using visible/near-infrared hyperspectral imaging and principal component analysis. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 75, n. 1, p. 107-112, 2011.

SINGH, C. B.; JAYAS, D. S.; PALIWAL, J.; WHITE, N. D. G. Detection of insect-damaged wheat kernels using near-infrared hyperspectral imaging. **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 3, p. 151-158, 2009.

SINGH, C. B.; JAYAS, D. S.; PALIWAL, J.; WHITE, N. D. G. Detection of midge-damaged wheat kernels using short-wave near-infrared hyperspectral and digital colour imaging. **Biosystems Engineering**, v. 105, n. 3, p. 380-387, 2010a.

SINGH, C. B.; JAYAS, D. S.; PALIWAL, J.; WHITE, N. D. G. Fungal damage detection in wheat using short-wave near-infrared hyperspectral and digital colour imaging. **International Journal of Food Properties**, v. 15, n. 1, p. 11-24, 2012.

SINGH, C. B.; JAYAS, D. S.; PALIWAL, J.; WHITE, N. D. G. Fungal detection in wheat using near-infrared hyperspectral imaging. **Transactions of the ASABE**, v. 50, n. 6, p. 2171-2176, 2007.

SINGH, C. B.; JAYAS, D. S.; PALIWAL, J.; WHITE, N. D. G. Identification of insect-damaged wheat kernels using short-wave near-infrared hyperspectral and digital colour imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 73, n. 2, p. 118-125, 2010b.

SUN, S.-W. (Ed.). **Hyperspectral imaging for food quality analysis and control**. San Diego: Academic Press, 2009. 477 p.

VERMEULEN, P.; FERNÁNDEZ PIERNA, J. A.; VAN EGMOND, H. P.; DARDENNE, P.; BAETEN, V. On-line detection and quantification of ergot bodies in cereals using near infrared hyperspectral imaging. **Food Additives and Contaminants: Part A**, v. 29, n. 2, p. 232-240, 2012.

VERMEULEN, P.; FERNÁNDEZ PIERNA, J. A.; VAN EGMOND, H. P.; ZEGERS, J.; DARDENNE, P.; BAETEN, V. Validation and transferability study of a method based on near-infrared hyperspectral imaging for the detection and quantification of ergot bodies in cereals. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 24, p. 7765-7772, Sep. 2013.

WANG, L.; SUN, D.-W.; PU, H.; ZHU, Z. Application of hyperspectral imaging to discriminate the variety of maize seeds. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 1, p. 225-234, Jan. 2016.

WANG, W.; HEITSCHMIDT, G. W.; NI, X.; WINDHAM, W. R.; HAWKINS, S.; CHU, X. Identification of aflatoxin B1 on maize kernel surfaces using hyperspectral imaging. **Food Control**, v. 42, p. 78-86, Aug. 2014.

WANG, L.; LIU, D.; PU, H.; SUN, D.-W.; GAO, W.; XIONG, Z. Use of hyperspectral imaging to discriminate the variety and quality of rice. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 2, p. 515-523, 2015a.

WANG, W.; HEITSCHMIDT, G. W.; WINDHAM, W. R.; FELDNER, P.; NI, X.; CHU, X. Feasibility of detecting aflatoxin B1 on inoculated maize kernels surface using Vis/NIR hyperspectral imaging. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 1, p. M116-M122, Jan. 2015b.

WANG, W.; NI, X.; LAWRENCE, K. C.; YOON, S.-C.; HEITSCHMIDT, G. W.; FELDNER, P. Feasibility of detecting Aflatoxin B1 in single maize kernels using hyperspectral imaging. **Journal of Food Engineering**, v. 166, p. 182-192, Dec. 2015c.

XING, J.; SYMONS, S.; SHAHIN, M.; HATCHER, D. Detection of sprout damage in Canada Western Red Spring wheat with multiple wavebands using visible/near-infrared hyperspectral imaging. **Biosystems Engineering**, v. 106, n. 2, p. 188-194, 2010.

XU, Y.; HUANG, Z.-B.; HE, Q.-H.; DENG, S.-Z.; LI, L.-S.; LI, Y.-P. Development of an immunochromatographic strip test for the rapid detection of deoxynivalenol in wheat and maize. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 834-839, 2010.

ZHANG, X.; LIU, F.; HE, Y.; LI, X. Application of hyperspectral imaging and chemometric calibrations for variety discrimination of maize seeds. **Sensors**, v. 12, n. 12, p. 17234-17246, 2012.