



CONTAGEM AUTOMÁTICA DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS EM AMOSTRAS DE CONTRA FILÉ COM O USO DO SOFTWARE OPENCV

A. Zonta^{1*}, P. A. C. Luz², C. Andrigheto², M. C. M. Zonta¹

¹ APTA - Agência Paulista de Tecnologias dos Agronegócios, Campinas, SP, Brasil

² UNESP - Universidade Estadual Paulista, Campus de Dracena, SP, Brasil

Article history: Received 30 May 2018; Received in revised form 16 June 2018; Accepted 18 June 2018; Available online 28 June 2018.

RESUMO

A carne é um ótimo meio para a multiplicação de microorganismos e pode ser contaminada durante a aquisição da matéria prima, no processamento, armazenamento, transporte ou preparo. Rotineiramente centenas de placas de petri são utilizadas para a inspeção dos produtos alimentícios em laboratórios onde técnicos realizam a contagem das unidades formadoras de colônias. Como toda tarefa repetitiva, esta análise é susceptível à falhas humanas e exige uma quantia razoável de tempo. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um algoritmo simples que não dependa de iluminação controlada, para realizar a contagem automática de unidades formadoras de colônias obtidas da incubação de amostras de contra filé. O algoritmo foi desenvolvido com o uso da linguagem Python v2.7 e a biblioteca OpenCV v3.0. A média de erro na contagem automática foi de 7,7% para as 40 placas processadas. Não foram encontradas contaminações significativas nos cortes bovinos analisados. O tempo médio empregado na contagem das UFCs pelo método visual e o automático foi de 44,6 e 2,07 segundos, respectivamente. O sistema desenvolvido apresentou resultados iniciais promissores. A iluminação não homogênea, o formato irregular e o contato entre colônias tem forte impacto no resultado das análises.

Palavras-chave: Zootecnia de Precisão; Qualidade da Carne Bovina; Processamento de Imagens; Automatização.

AUTOMATIC COUNTING OF COLONY FORMING UNITS IN SAMPLES OF TENDERLOIN USING OPENCV LIBRARY

ABSTRACT

Meat is a good medium for the multiplication of microorganisms and can be contaminated during raw material acquisition, processing, storage, transport or preparation. Routinely hundreds of petri dishes are used for inspection of food products in laboratories where trained technicians perform counting of the colony forming units on these plates. Like any repetitive task, this analysis is susceptible to human failures and requires a reasonable amount of time. The objective of this work was to develop a simple algorithm that does not depend on controlled lighting, to perform the automatic counting of colony forming units in samples of tenderloin. The algorithm was developed using the Python v2.7 programming language and the OpenCV v3.0 image processing library. The average error in automatic counting was 7.7% for the 40 plates processed. No significant contaminations were found in the analyzed bovine cuts. The average time used in the counting by the visual and automatic method was 44.6 and 2.07 seconds, respectively. The developed system presented promising initial results.

* zonta@apta.sp.gov.br

Non homogeneous illumination, irregular shape and contact between colonies have a strong impact on the results.

Keywords: Precision Animal Production; Meat Quality; Image Processing; Automation.

INTRODUÇÃO

O agronegócio nacional é responsável por 23% do produto interno bruto (CNA, 2016). Atualmente o Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking mundial dos maiores exportadores de carne, com mais de 24 milhões de bovinos abatidos em 2016, estes números demonstram a importância da pecuária bovina para a economia do país (ABIEC, 2016).

A carne por suas características intrínsecas, como composição química, elevada atividade de água e pH próximo à neutralidade, é um ótimo meio para a multiplicação de microorganismos (FONTOURA et al, 2010). Rotineiramente recipientes chamados de placa de petri são utilizados nos laboratórios de controle de qualidade para a inspeção da qualidade deste produto. Quando estas placas são submetidas à condições ambientais adequadas, após serem preenchidas com um meio de cultura semi-sólido chamado de agar, ocorre o desenvolvimento de microrganismos e formação de colônias

visíveis de bactérias. Os técnicos então realizam a contagem das unidades formadoras de colônias e avaliam sua taxa de crescimento para determinar o nível de contaminação da amostra.

Assim como toda tarefa repetitiva, esta análise é susceptível à falhas humanas. Grandes volumes de amostras exigem uma quantia razoável de tempo nesta tarefa, aumenta significativamente os casos de fadigas, distrações e erros. Para acelerar este processo geralmente mais de um técnico é direcionado para a análise, o que acaba introduzindo um certo fator de subjetividade e inconsistência nos resultados.

Uma das alternativas para minimizar estes problemas seria o emprego da visão computacional uma vez que ela é capaz de absorver um volume maior de informações que a visão humana deixa escapar, além dos ganhos em velocidade e uma menor taxa de erro nas análises.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Zootecnia e agricultura de precisão

Na última década as ciências agrárias tem ampliado o interesse no uso do processamento de imagens como ferramenta de trabalho. Esta técnica auxilia na avaliação do conforto térmico de aves poedeiras através da sua distribuição espaço-temporal e padrões de postura corpórea (RODRIGUES, 2006) e consegue identificar 10 diferentes espécies de maracujá nativo, do gênero *Passiflora*, com acerto de 75% após a análise de imagens com a forma e as medidas biométricas das folhas (PLOTZE, 2004).

Estudando os contornos de gotas de irrigação, Koenigkan (2005) classificou o

percentual das gotas de acordo com seu diâmetro utilizando imagens de papel hidrosenssível. Já Oyama (2014) classificou grãos de café quanto a forma, cor e textura, com 64%, 79% e 83% de acerto, respectivamente. A determinação automática do teor de gordura intramuscular em cortes de *Longissimus thoracis* (contra filé) de bovinos também foi objeto de estudo com o uso do processamento de imagens (CAMPOS, 2014).

Conceito de imagem digital

O elemento básico de uma imagem digital é chamado de pixel. Os pixels estão

organizados em uma matriz de linhas e colunas conforme a resolução do sensor da câmera e assumem diferentes valores de intensidade de luz no momento em que a imagem é capturada (GONZALES &

WOODS, 2002). Em uma imagem digital de 8 bits o valor mínimo e máximo que cada pixel pode assumir é 0 e 255, correspondendo respectivamente ao preto e o branco (Figura 1).

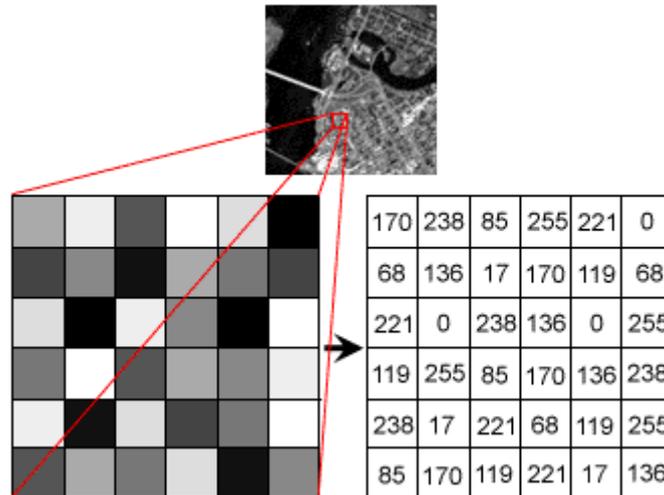


Figura 1: Matriz de pixels e seus valores em escala de cinza. (SCHOWENGERDT, 1997)

Histogramas e Limiarização

O histograma é a representação gráfica da frequência e distribuição dos pixels de uma imagem (IBGE, 2001). No eixo X temos o intervalo de cores adquirido pelo sensor da câmera e no eixo Y a frequência de cada valor encontrado. Com os histogramas é possível determinar a cor que aparece com maior frequência, além de observar os agrupamento de cores semelhantes. Estas informações auxiliam na remoção do fundo da imagem (GONZALES & WOODS, 2002). A limiarização, também conhecida como thresholding ou binarização, é uma operação crítica no processamento de imagens digitais, uma vez que é fundamental para a detecção dos contornos dos objetos e sua extração (SEZGIN & SANKUR, 2004). Os pixels da imagem de entrada que possuem valores abaixo de um valor limiar escolhido passam a ter valor igual à zero e assumem a cor preta, os demais pixels tornam-se brancos. O histograma pode ajudar na determinação deste valor limiar (SEZGIN & SANKUR, 2004). O algoritmo proposto por Otsu (1979) tem como objetivo detectar automaticamente o melhor valor

limiar minimizando o erro médio entre grupos de pixels semelhantes. Apesar de não ser um método muito elaborado, ainda é um dos mais populares e considerado hoje um padrão a ser comparado com qualquer novo método proposto (ISMAIL & MARHABAN, 2009).

Filtros e Detectores de contornos

Convolução é o nome dado ao processo de filtragem em que um operador matemático bi-dimensional, de tamanho conhecido, se desloca sobre uma imagem pixel a pixel multiplicando os valores dos pixels desta imagem pelos valores de seus coeficientes. O valor do pixel da imagem que se localiza no centro deste operador será substituído pela soma dos produtos do cálculo efetuado. Este operador matemático também pode ser chamado de kernel, janela ou simplesmente filtro (GONZALES & WOODS, 2002). A filtragem gaussiana é obtida quando usamos uma função gaussiana para definir os coeficientes do operador que será utilizado na convolução. A palavra contorno é frequentemente utilizada como os limites que definem um objeto. Os detectores de contornos, em sua maioria,

baseam-se no fato de que onde há uma brusca mudança na intensidade de pixels vizinhos há também uma discontinuidade de uma superfície e portanto haverá uma borda com largura mínima de 1 pixel e por esse motivo os algoritmos de detecção de bordas são muito sensíveis aos ruídos que são introduzidos aleatoriamente pelo sensor CCD da câmera e confere à imagem uma aparência granulada (SOBEL & FELDMAN, 1968). Para objetos pequenos e muito próximos um dos outros, os ruídos podem prejudicar de maneira considerável a detecção dos contornos e a individualidade.

Equipamentos de contagem automatizada

MATERIAL E MÉTODOS

Com a aprovação da comissão de ética da UNESP de Dracena, em julho de 2016 foram abatidos 48 bovinos machos, castrados, da raça Nelore, com média de 453kg de peso vivo e 34 meses de idade, provenientes das áreas de pastagem de *Urochloa brizanta* (Syn. *Barchiaria brizanta*) cv. *Marandu*. As carcaças foram refrigeradas por 24 horas antes da retirada das amostras do músculo *Longissimus thoracis* por o corte transversal entre a 11 e 12 vértebra torácica. As amostras foram embaladas a vácuo, congeladas à -20°C e posteriormente foram utilizadas para as análises no Laboratório de Microbiologia do mesmo campus.

Para a análise microbiológica, 1g de carne de cada amostra descongelada foi pesada em balança de precisão, triturada e agitada por 15 segundos em 99ml de solução salina estéril. Em seguida foi retirada 1ml desta solução resultante e adicionada à 9ml de solução salina pura em um segundo frasco obtendo-se uma diluição de 10^{-3} . As placas de petri foram confeccionadas com 15ml de ágar padrão preparado e inoculadas com 1 ml da solução salina 10^{-3} final. Um grupo com 48 placas foi incubado por 48 horas em estufa à 32°C para a contagem total de bactérias e

Atualmente existem alguns equipamentos especializados na contagem automática de unidade formadoras de colônias. O custo de aquisição está em torno de US\$ 7000,00. E este valor pode ser considerado alto e inviável para pequenos estabelecimentos. Uma vez que empresas, instituições de ensino e pesquisa fazem rotineiramente análises microbiológicas de alimentos, busca-se com o uso do processamento de imagens reduzir o tempo empregado para a tarefa de contagem e que os resultados sejam menos susceptíveis à falha humana, além de oferecer uma alternativa econômica quando comparada aos equipamentos existentes.

um outro grupo, de mesma quantidade, por 10 dias em refrigerador à 7°C para a contagem de bactérias psicotróficas, segundo a metodologia de Downes e Ito (2001).

Ao fim dos respectivos períodos de incubação, com o uso de uma câmera digital fez-se a aquisição das imagens coloridas de 20 placas de cada grupo, escolhidas ao acaso, a serem processadas pelo algoritmo proposto. Não foi utilizado flash ou tripé e as configurações da câmera estavam no modo automático. No momento da captura as placas foram apoiadas sobre uma superfície preta fosca para aumentar o contraste visual entre o fundo de ágar e as colônias de bactérias. Não foi utilizada nenhuma iluminação especial, ou cabines, apenas a luz ambiente e a iluminação de lampadas fluorescentes encontrada no laboratório. Porém foi estudado o melhor ângulo para não ocorrer aparições de reflexos ou sombreamento na superfície lisa do ágar.

As imagens foram salvas em formato JPG com resolução de 4000x3000 pixels. O algoritmo de análise para a contagem automática das UFCs foi desenvolvido com o uso da linguagem de programação Python v2.7 e a biblioteca de

processamento de imagens OpenCV v3.0 (BRADSKI & KAEBLER, 2008). Este software foi escolhido por ser de código aberto, liberado sob a licença BSD e oferecer dezenas de funções para o processamento de imagens, ficando à responsabilidade do pesquisador escolher as mais adequadas e a sequência de aplicação das mesmas para o seu caso de estudo. O computador utilizado tem um processador Intel i5 de 3.2GHz e 4gb de memória RAM. O sistema operacional do equipamento é o Windows 7 - 32bits. O resultado da contagem automática foi comparada com a contagem visual das

unidades formadoras de colônias presente no interior da placa de petri. As UFCs que se desenvolveram nas bordas ou paredes do recipiente foram ignoradas.

Processamento das imagens

A função *cv2.cvtColor (imagem, cv2.COLOR_BGR2GRAY)* do OpenCV foi utilizada para converter as imagens das placas de petri em escala de cinza (Figura 2). A percepção de cor é irrelevante no algoritmo proposto, portanto esta informação foi descartada durante a conversão.

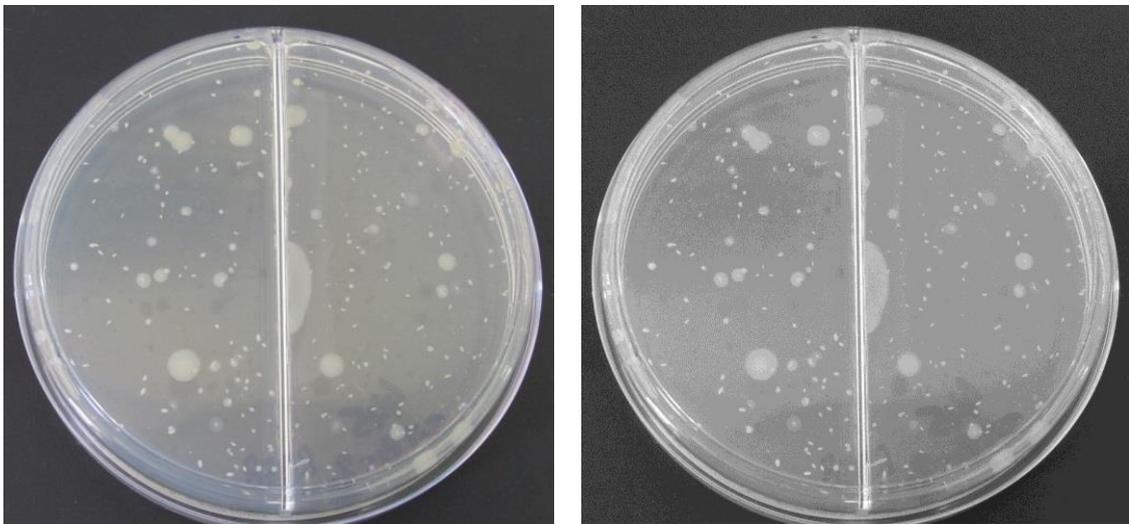


Figura 2: Imagem original e a convertida em tons de cinza.

Em seguida o resultado foi submetido a uma filtragem com a função *cv2.pyrMeanShiftFiltering (img-cinza)*. Esta operação faz com que pixels vizinhos com valores muito próximos sejam considerados pertencentes à um mesmo

grupo e todos assumem o valor da média entre eles. O efeito visual obtido é uma homogeneização das diferenças de tonalidades dos pixels e remoção parcial dos ruídos introduzidos pelo sensor da câmera (Figura 3).

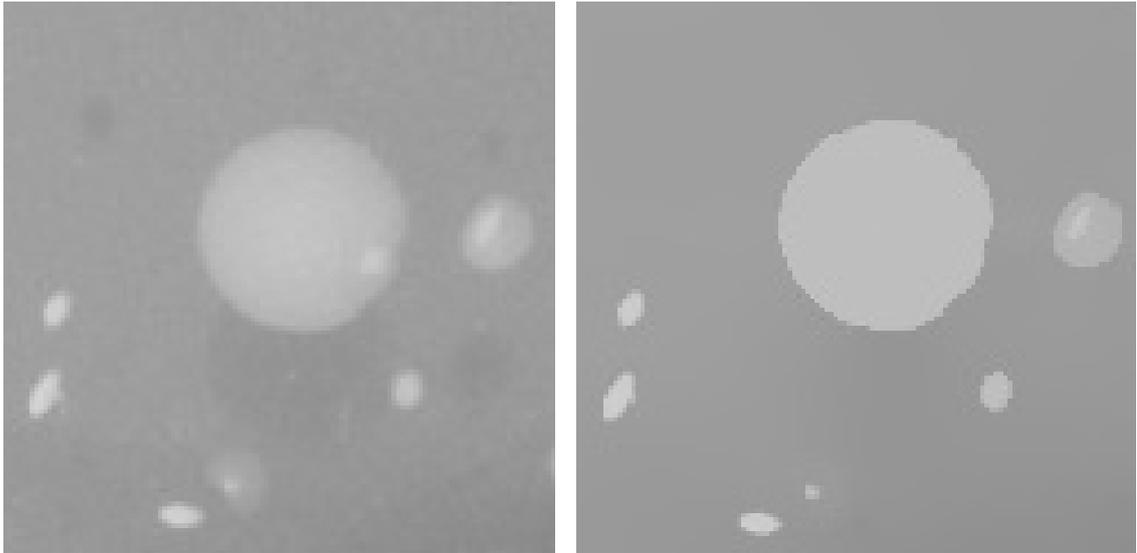


Figura 3: Detalhe da imagem em tons de cinza antes e depois do filtro.

Segmentação

Uma vez que nenhum cuidado para uniformizar a iluminação de cada imagem foi tomado e como as unidades formadoras de colônias são objetos muito pequenos em comparação com o fundo de ágar, evitou-se no presente trabalho o uso das funções de limiarização clássicas.

Em substituição, escolhemos o cálculo da diferença de gaussianas como método inicial alternativo do processo para extrair os objetos de interesse. Este cálculo submete a mesma imagem de entrada à dois operadores gaussianos com diferentes valores de desvios padrão. Ou seja, a

imagem resultante processada com menor desvio padrão é subtraída da resultante com maior desvio. Os valores 1,7 e 2,7 que foram utilizados na função *cv2.GaussianBlur(img-filtrada)*, como menor e maior desvio, respectivamente. Estes valores foram determinados inicialmente por experimentação e depois permaneceram inalterados durante a análise de todas as 40 imagens.

Com o fundo da imagem removido foi aplicado na sequência a detecção de bordas de Sobel, *cv2.Sobel(img-gauss)* com a finalidade de individualizar as unidades formadoras de colônias (Figura 4).

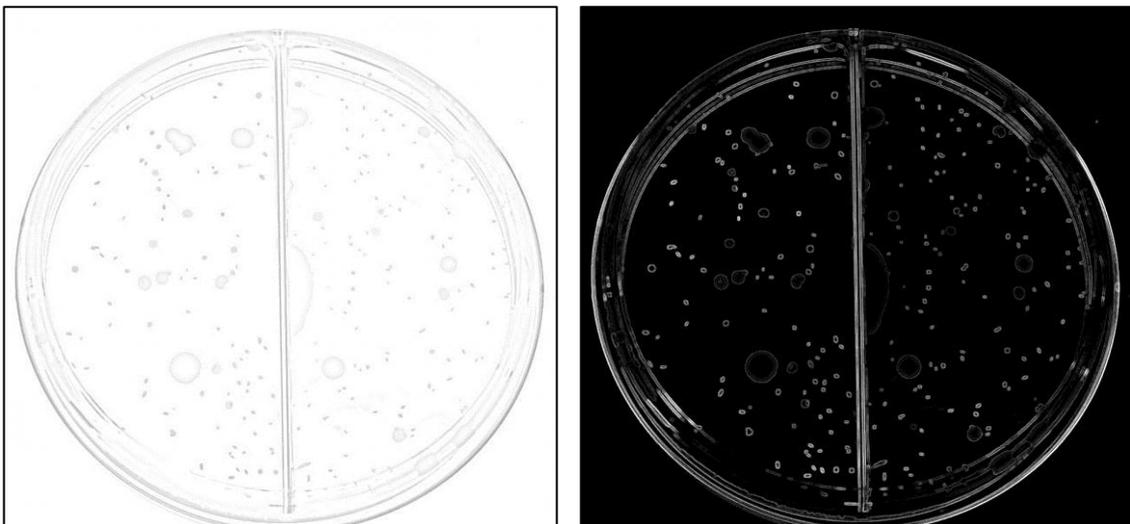


Figura 4: Resultado da diferença de gaussianas e do detector de Sobel.

A função *cv2.inRange(img-sobel)* foi empregada para binarizar as imagens. O resultado final obtido foi comparado ao do método de limiarização proposto por Otsu (1979).

Parametrização e contagem

A área, perímetro e circularidade dos objetos foram calculados individualmente pelo algoritmo. O critério que definimos para decidir se determinado contorno de pertence a uma unidade formadora de colônia ou não foi o seguinte:

É UFC SE (*cv2.contourArea(objeto) >= 4 pixels*) E (*Circularidade >= 0,90*)

Onde:

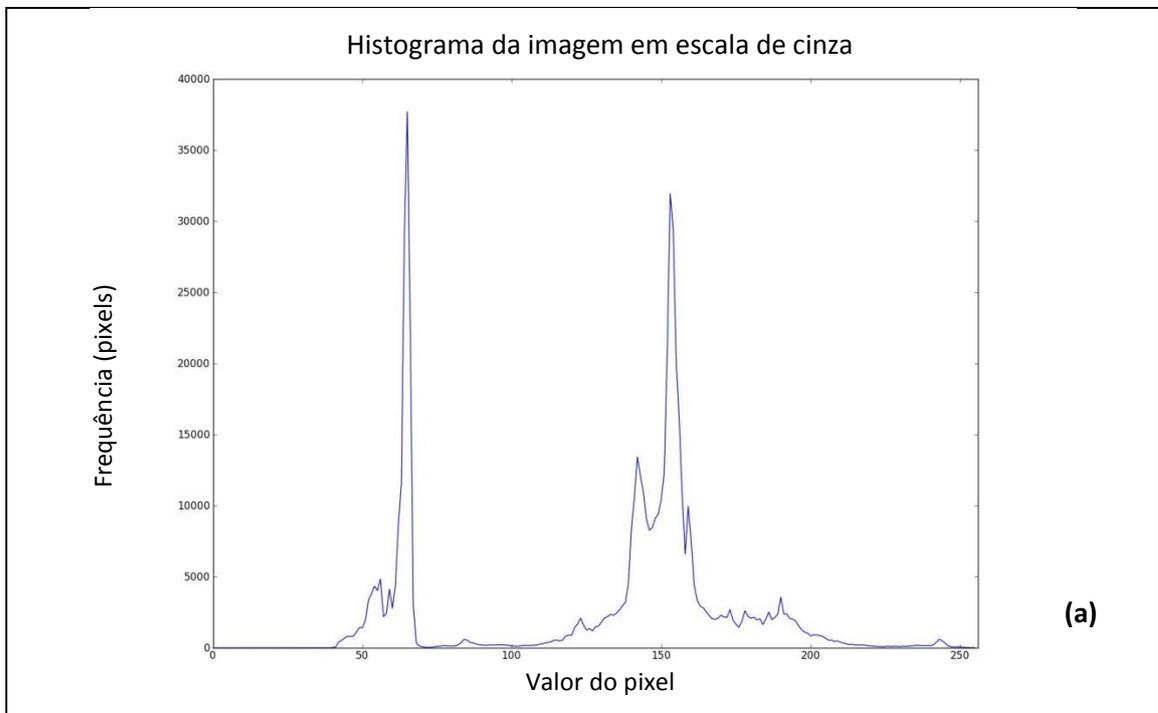
$$\text{Circularidade} = ((\pi * 4 * \text{cv2.contourArea(objeto)}) / \text{cv2.arcLength(objeto)}^2)$$

A contagem visual foi confrontada com a contagem automatizada e os casos em que o software contou colônias não presentes na imagem, falso positivo, ou que deveriam ter sido detectadas mas não foram, falso negativo, foram registrados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A filtragem realizada na etapa inicial do processamento melhorou a taxa de acerto do algoritmo, mas também elevou consideravelmente o tempo médio de análise de 0,06 para 2,30 segundos por imagem. Como este aumento de tempo não foi significativo no final do processo, mantivemos o uso do filtro.

A diferença de gaussianas alterou drasticamente o histograma da imagem (Figura 5). Uma vantagem da escolha deste método foi a sua baixa sensibilidade à ruídos o que melhorou a individualização de UFCs muito próximas umas das outras.



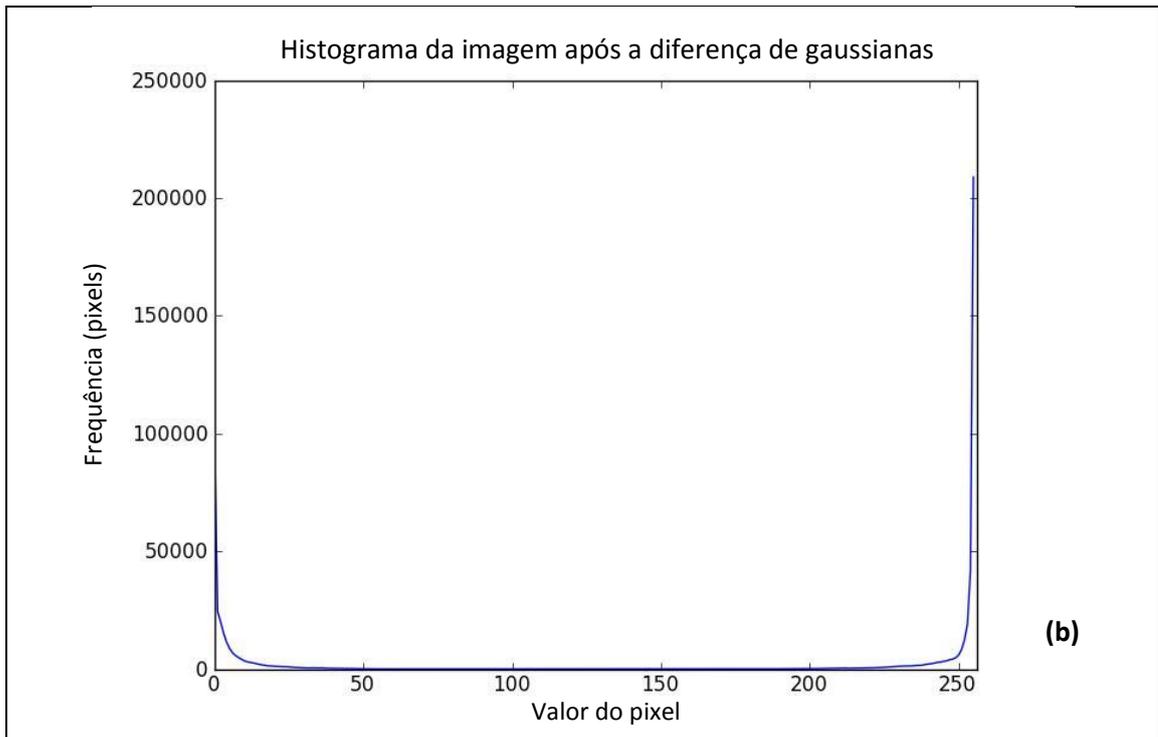


Figura 5: Exemplo do histograma de uma imagem em tons de cinza (a) e da submetida ao cálculo da diferença de gaussiana (b).

A iluminação não uniforme incidente na superfície da placa de petri prejudicou a limiarização automática de Otsu. Ocorreram perdas de objetos ou falhas nas bordas fazendo com que fossem parcialmente localizados. Isto prejudica de

maneira considerável a detecção das unidades formadoras de colônias na etapa de parametrização e contagem. O mesmo não ocorreu com tanta intensidade no método proposto (Figura 6).

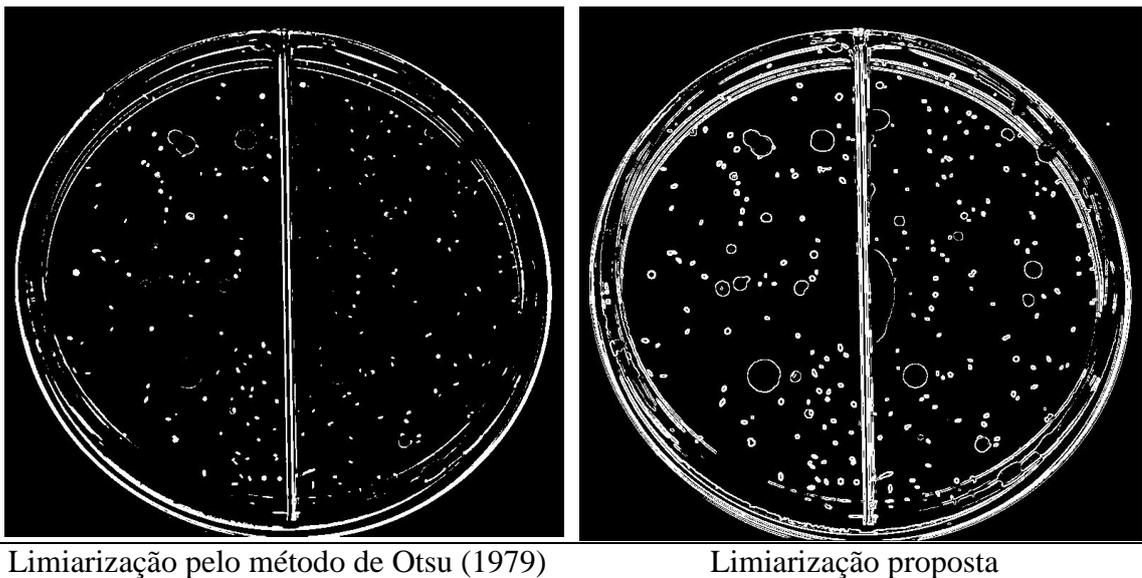


Figura 6: Comparação entre os processos de limiarização.

As placas de petri para a avaliação das bactérias psicotróficas, apresentaram maior quantidade de falso negativos (69

ocorrências), em relação as mesófilas (49 ocorrências). Esse fato pode ter ocorrido em virtude das colônias psicotróficas

apresentarem menor diâmetro quando comparadas às mesófilas. Jay (2005) afirma que as bactérias psicotróficas têm

taxas metabólicas mais lentas, o que diminui o seu crescimento em relação as mesófilas.

Tabela 1: Comparação entre a contagem visual e a automatizada do grupo incubado para a contagem do total de bactérias mesófilas.

| Contagem total de bactérias | | | | | | |
|-----------------------------|--------|-----------|------------|-----------|---------|---------|
| Placa | Visual | Tempo (s) | Automatica | Tempo (s) | Falso + | Falso - |
| 1 | 34 | 27,0 | 32 | 2,05 | 0 | 2 |
| 2 | 45 | 40,0 | 44 | 2,03 | 0 | 1 |
| 3 | 86 | 103,0 | 84 | 2,30 | 0 | 2 |
| 4 | 19 | 14,0 | 17 | 2,00 | 0 | 2 |
| 5 | 29 | 21,0 | 27 | 2,60 | 0 | 2 |
| 6 | 29 | 20,0 | 27 | 2,09 | 0 | 2 |
| 7 | 17 | 13,0 | 17 | 1,85 | 0 | 0 |
| 8 | 29 | 21,0 | 23 | 2,00 | 0 | 6 |
| 9 | 13 | 10,0 | 11 | 2,15 | 0 | 2 |
| 10 | 19 | 14,0 | 23 | 2,30 | 4 | 0 |
| 11 | 35 | 19,0 | 31 | 2,25 | 0 | 4 |
| 12 | 69 | 65,0 | 68 | 2,00 | 0 | 1 |
| 13 | 29 | 21,0 | 29 | 2,00 | 0 | 0 |
| 14 | 31 | 23,0 | 31 | 2,00 | 0 | 0 |
| 15 | 24 | 19,0 | 24 | 2,07 | 0 | 0 |
| 16 | 208 | 224,0 | 197 | 3,05 | 0 | 11 |
| 17 | 50 | 44,0 | 48 | 2,20 | 0 | 2 |
| 18 | 44 | 39,0 | 42 | 2,17 | 0 | 2 |
| 19 | 12 | 13,0 | 8 | 1,85 | 0 | 4 |
| 20 | 69 | 67,0 | 63 | 2,20 | 0 | 6 |

Tabela 2: Comparação entre a contagem visual e a automatizada do grupo incubado para a contagem do total de bactérias psicotróficas.

| Contagem total de bactérias psicotróficas | | | | | | |
|---|--------|-----------|------------|-----------|---------|---------|
| | Visual | Tempo (s) | Automatica | Tempo (s) | Falso + | Falso - |
| 1 | 50 | 32,0 | 48 | 2,08 | 0 | 2 |
| 2 | 50 | 34,0 | 50 | 1,90 | 0 | 0 |
| 3 | 28 | 27,0 | 26 | 1,95 | 0 | 2 |
| 4 | 28 | 30,0 | 27 | 1,85 | 0 | 1 |
| 5 | 36 | 23,0 | 36 | 1,90 | 0 | 0 |
| 6 | 22 | 18,0 | 21 | 2,00 | 0 | 1 |
| 7 | 25 | 18,0 | 23 | 1,85 | 0 | 2 |
| 8 | 13 | 15,0 | 12 | 1,85 | 0 | 1 |
| 9 | 41 | 26,0 | 32 | 2,00 | 0 | 9 |
| 10 | 14 | 12,0 | 13 | 2,10 | 0 | 1 |
| 11 | 88 | 76,0 | 82 | 2,00 | 0 | 6 |
| 12 | 11 | 8,0 | 11 | 2,00 | 0 | 0 |
| 13 | 32 | 20,0 | 30 | 2,00 | 0 | 2 |
| 14 | 44 | 28,0 | 38 | 1,90 | 0 | 6 |
| 15 | 33 | 21,0 | 27 | 1,80 | 0 | 5 |
| 16 | 56 | 41,0 | 55 | 1,80 | 0 | 1 |
| 17 | 60 | 58,0 | 49 | 2,10 | 0 | 11 |
| 18 | 176 | 212,0 | 162 | 2,10 | 0 | 14 |
| 19 | 74 | 75,0 | 69 | 2,10 | 0 | 5 |
| 20 | 142 | 191,0 | 130 | 2,20 | 0 | 12 |

A média de erro na contagem automática sem iluminação controlada foi de 7,7% para as 40 placas processadas. Alves (2006), utilizando iluminação controlada e o algoritmo da transformada de Hough adaptado para objetos circulares, obteve um erro médio de 5,29% após processar placas inoculadas com *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Acidithiobacillus ferrooxidans*. No trabalho de Lopes e Villaça (2009) foi desenvolvido um hardware baseado em processador ARM7 para esta tarefa e apresentou erro médio de 3,27% nos resultados. Segundo estes autores a

iluminação homogênea e de intensidade adequada é o fator mais importante para a correta contagem das colônias.

No presente trabalho praticamente não foram observados níveis de contaminações expressivos nos cortes de contra filé analisados. A maior contagem observada foi de 224 UFC/g ou 2,35 log UFC/g. De acordo com Fung et al., (1980) e Capta et al., (1999) esse valor não classifica a carne com grau de deterioração, uma vez que, para ser considerada contaminada. Na figura 7 está o resultado final do processamento de uma das placas incubadas.

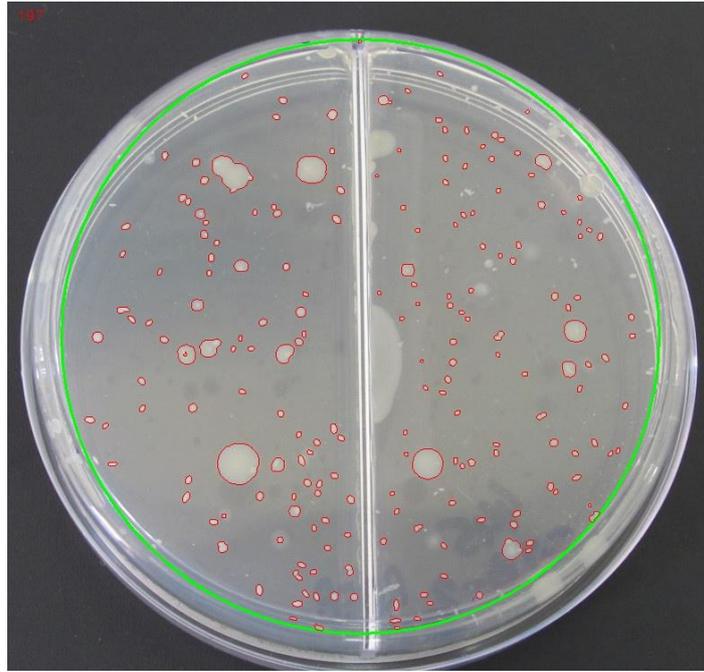


Figura 7: Resultado final após a imagem ser totalmente processada.

Observando o gráfico de regressão com os valores das Tabelas 1 e 2 pode-se afirmar que os resultados determinado pelo software possui boa correlação com os

determinados pela análise visual e se ajustam ao modelo linear com um coeficiente acima de 0,995 (Figura 8).

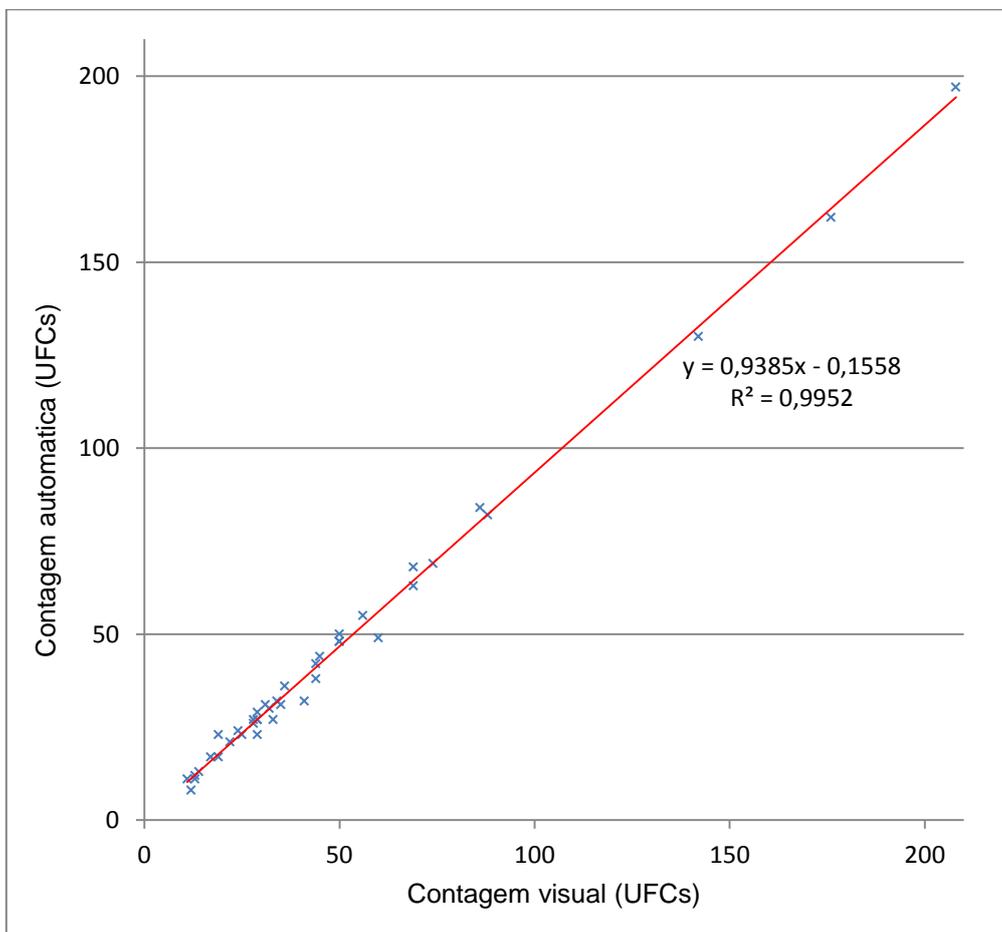


Figura 8: Resultados da análise de regressão linear

O tempo médio empregado na contagem das UFCs pelo método visual e o automático foi de 44,6 e 2,07 segundos, respectivamente, para cada placa. A contagem visual foi consideravelmente mais dispendiosa nas placas com 60 colônias ou mais. Já Martins et al., (2012) com o uso do software Matlab e em condições de iluminação controlada processaram imagens de colônias de *Saccharomyces cerevisiae* em 9 segundos. No trabalho de Lopes e Villaça (2009) o tempo médio de processamento para até 66 colônias por placa ficou próximo dos 51,0 segundos. O sistema desenvolvido por Osowski (1999) em linguagem C++, utilizou iluminação controlada e apesar de rodar em um hardware modesto,

apresentou resultados de tempos próximos ao nosso, com média de 2,65 segundos para a contagem de microorganismos em culturas de leite. Porém para que a contagem obtivesse boa correlação com a realizada pelos técnicos, era necessário que a mesma placa fosse processada entre 5 à 10 vezes, o que elevaria o tempo total de análise por placa.

A maior densidade e proximidade das colônias aumentam as chances de confundir o avaliador, que por sua vez assume uma postura mais cautelosa, empregando mais tempo na análise. Neste trabalho apenas quatro placas exigiram tempos de contagem visual superiores a um minuto e meio (Figura 9).

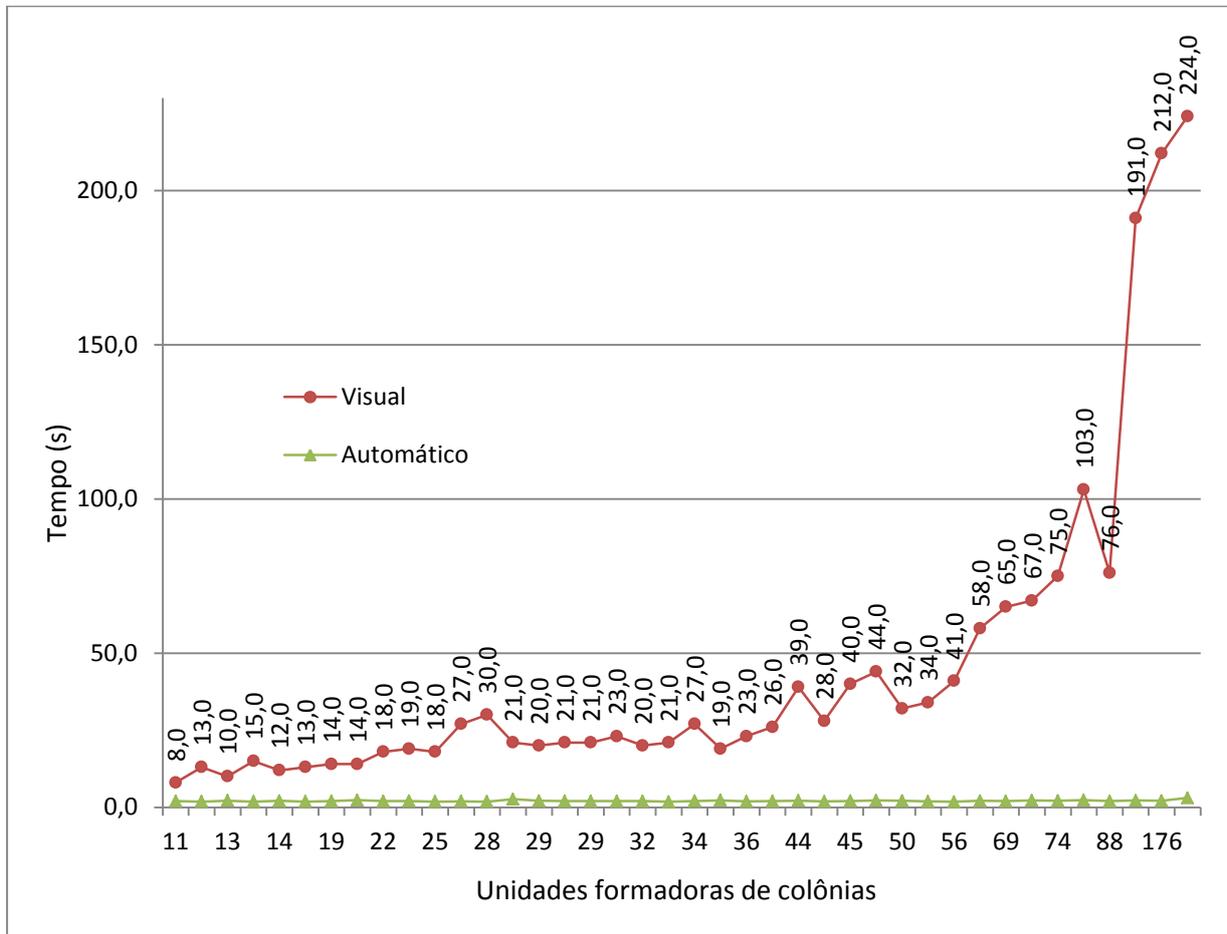


Figura 9: Tempo empregado na contagem visual e automática das UFCs nas placas de petri.

Resultados do tipo falso negativo ocorreram na maioria das placas analisadas. Reavaliando visualmente os resultados do processamento automático

concluimos que os motivos que contribuíram para este tipo de erro foram:

- Em alguns casos duas ou mais colônias distintas foram computadas

como uma só porque se tocavam ou estavam sobrepostas.

- Colônias com aspecto elíptico, ou seja, baixa circularidade, foram ignoradas pelo software.
- Colônias com tonalidade inicial muito suave quase desapareceram após a operação de diferença de gaussianas. E ao final do processamento apresentaram contornos que não se fecharam, sendo portanto ignoradas pelo critério do algoritmo.

Com a finalidade de desafiar a eficácia e o tempo de processamento do algoritmo proposto, foram criadas 40 placas de petri artificiais com 1000 unidades formadoras de colônia em cada uma. O diâmetro e disposição das unidades na placa virtual foram sorteadas de forma que elas nunca se tocassem e que cada

imagem gerada fosse diferente da outra. Os objetos e o fundo tinham a mesma tonalidade média que a imagens reais após serem convertidas em escala de cinza. Esta etapa também permitiu avaliar o comportamento da análise das imagens como se elas possuissem iluminação totalmente homogênea.

O número médio de acertos e o tempo de processamento das placas artificiais pelo algoritmo foi de 985 em 1000 e 2,25 segundos, respectivamente (Figura 10).

Para a contagem visual foi utilizada como ferramenta auxiliar uma folha de acetado com uma grade impressa com espaços de 1x1cm. O número médio de acertos foi de 976 e tempo empregado na contagem de cada placa artificial foi de 16 minutos, com um acerto máximo de 987 unidades formadoras de colônias. Alves (2006) conseguiu uma taxa de detecção de 100% em imagens simuladas com até 400 UFCs.

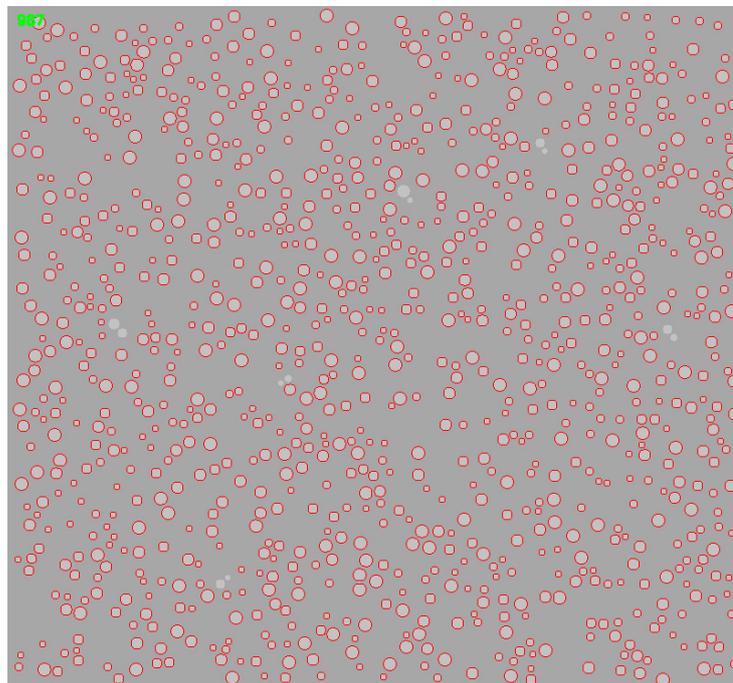


Figura 10: Placa de petri artificial com mil unidades formadoras de colônias.

O código fonte foi alterado posteriormente de forma que as imagens possam ser processadas em tempo real com o uso de uma webcam de boa qualidade. Portanto se somarmos isto ao valor do computador, o custo para rodar o sistema

proposto estaria em torno dos \$1300,00. O custo estimado representou apenas 26% do valor da solução comercial mais econômica. A linguagem de programação Python e o OpenCV são softwares de código aberto e gratuitos. Como o

OpenCV também pode ser compilado para rodar em sistema operacional android,

CONCLUSÃO

Processamento de imagens digitais é um segmento de trabalho rico que pode ser utilizado para solucionar problemas específicos em diversas áreas do conhecimento. O sistema desenvolvido possui deficiências que podem ser melhoradas com a adição de outras funções presentes no pacote OpenCV e apresentou

ainda é possível reduzir este custo total para o valor de um smartphone de \$750,00.

resultados iniciais promissores. A iluminação não homogênea, o formato irregular e o contato entre colônias tem forte impacto no resultado final da análise. O tempo utilizado na contagem automatizada das placas de petri foi consideravelmente inferior à realizada pela contagem manual.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Exportação de carne bovina do Brasil. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/download/exportacoes-jan-dez-2016.pdf>> Acesso em: 11 maio de 2017.

ALVES, G. M. Método fundamentado em processamento digital de imagens para contagem automática de unidades formadoras de colônias, 2006. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

BRADSKI, G.; KAEBLER, A. Learning OpenCV: Computer vision with the OpenCV library. O'Reilly Media, 1ed, 2008. 575p.

CAMPOS, G. F. C. Sistema robusto de visão computacional para segmentação da gordura da carne. 2014. 58p. Monografia em Ciência da Computação, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

CAPTA, R.; ALONSO-CALLEJA, C.; GARCÍA-ARIAS, M.T.; GARCÍA-FRENÁDEZ, M.C.; MORENO, B. Aspectos de interés en la calidad microbiológica de la carne de pollo. Eurocarne, v.9, n.73, p.73-86, 1999.

CNA - Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária. Disponível em: <<http://www.cnabrazil.org.br>> Acesso em: 11 maio de 2017.

DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of methods for the examination of foods. **American Public Health Association**, 2ed, Washington:APHA, 2001. 600p.

FONTOURA, C.L.; ROSSI JÚNIOR, O.D.; MARTINELLI, T.M.; CERESER, N.D. Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influência da refrigeração sobre a microbiota contaminante. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.2, p.189-193, abr./jun., 2010.

FUNG, D.Y.C.; KASTNER, C.L.; HUNT, M.C.; DIKEMAN, M.E.; KROPF, D. Mesophilic and psychrotrophic bacteria population on hot-boned and conventionally processed beef. **Journal Food Protection**, v.43, p.547-550, 1980.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. Processamento digital de imagens. Prentice Hall, 2ed, 2002. 190p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Introdução ao processamento digital de imagens. **Manuais Técnicos em Geociências** n.9, 2001. 91p.

ISMAIL, A. H.; MARHABAN, M.H. A Simple Approach to Determine the Best Threshold Value for Automatic Image Thresholding. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/251921839_A_simple_approach_to_determine_the_best_threshold_value_for_automatic_image_thresholding> Acesso em: 18 maio de 2017.

JAY, J. M. Microbiologia de alimentos. **Artmed**, 6ed, 2005. 711p.

KOENIGKAN, V. L. Método para Análise do Contorno de Aglomerados de Gotas de Chuva Artificial em Imagem Digital. 2005. 142p. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

LOPES, L. P.; VILLAÇA, M.V.M. Sistema Microcontrolado de Aquisição e Tratamento de Imagem para Contagem Automática de Colônias de Bactérias. **Revista Ilha Digital**, v.1, p. 31-41, 2009.

MARTINS, A. P. ; PIZOLATO JUNIOR, J. C. ; BELINI, V. L. Monitoramento da taxa de crescimento de colônias de *Saccharomyces Cerevisiae*. In: VIII Workshop de Visão Computacional, 2012, Góias-GO. VIII Workshop de Visão Computacional, 2012.

OSOWSKY, J. Sistema Automatizado para Contagem de Colônias Através de Processamento Digital de Imagem. 1999. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, CPGEI/CEFET, Curitiba, 1999.

OTSU, N. A threshold selection method from gray-level histograms. **IEEE Transactions on**

Systems, Man, and Cybernetics. v.9, n.1, p. 62-66, 1979.

OYAMA, P. I. C. Método para classificação de café em grãos por imagens digitais pelo uso de atributos selecionados de morfologia, cor e textura. 2014. 150p. Dissertação (Mestrado em Processamento de Sinais de Instrumentação) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

PLOTZE, R. O. Identificação de espécies vegetais através da análise da forma interna de órgãos foliares. 2004. 169p. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

RODRIGUES, V.C. Distribuição espacial e bem-estar de aves poedeiras em condições de estresse e conforto térmico utilizando visão computacional e inteligência artificial. 2006. 101p. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SCHOWENGERDT, R. A. Remote sensing: models and methods for image processing. **Acedemic Press**, 3ed, 1997. 522p.

SEZGIN, M.; SANKUR, B. Survey over image thresholding techniques and quantitative performance evaluation. **Journal of Electronic Imaging**, v.13, n.1, p. 146-165, 2004.

SOBEL, I.; FELDMAN, G. "A 3x3 Isotropic Gradient Operator for Image Processing", presented at the Stanford Artificial Intelligence Project (SAIL) in 1968. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/239398674_An_Isotropic_3_3_Image_Gradient_Operator> Acesso em: 18 maio de 2017.