



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MARIO OMAR CALLA SALCEDO

CARACTERIZAÇÃO FRACTAL DA NANOTEXTURA SUPERFICIAL DA FOLHA
DE *Copaifera sp.* POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)

Macapá
2016

MARIO OMAR CALLA SALCEDO

**CARACTERIZAÇÃO FRACTAL DA NANOTEXTURA SUPERFICIAL DA FOLHA
DE *Copaifera sp.* POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração Tecnologias Aplicadas a Fármacos.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Tavares
Carvalho

Macapá
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

502.82

C156c Calla Salcedo, Mario Omar.

Caracterização fractal da nanotextura superficial da folha de *Copaifera* sp. por Microscopia de Força Atômica (AFM) / Mario Omar Calla Salcedo; orientador, José Carlos Tavares Carvalho. – Macapá, 2016.

151f.

Dissertação (mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

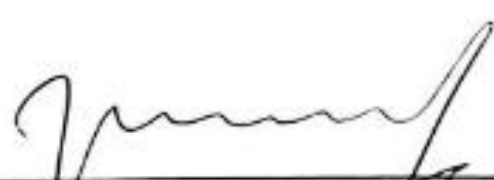
MARIO OMAR CALLA SALCEDO

**CARACTERIZAÇÃO FRACTAL DA NANOTEXTURA SUPERFICIAL DA FOLHA
DE *Copaifera sp.* POR MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)**

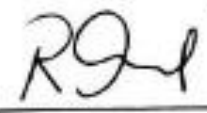
Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá-UNIFAP, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração Tecnologias Aplicadas a Fármacos.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho

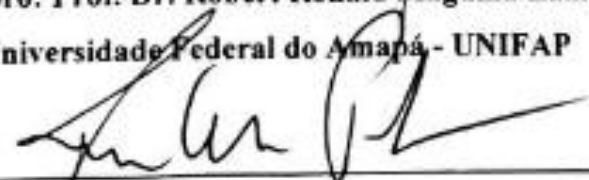
Aprovado em: ____/____/____



Presidente: Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho - Orientador
Universidade Federal do Amapá - UNIFAP



Membro: Prof. Dr. Robert Ronald Maguiña Zamora
Universidade Federal do Amapá - UNIFAP



Membro: Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto
Universidade Federal do Amapá - UNIFAP

Meus pais Mario Jesús e Rita María, meus filhos Mario de Jesús, Rita María e Omar Alí, meus irmãos e minha esposa Brígida Angelita. Pelo apoio em todos os momentos da minha vida e para concretização deste grande passo.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar o caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

A Universidade Federal do Amapá, através do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Ao meu orientador, Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho que acreditou em meu potencial. Sempre disponível e disposto a ajudar, você é uma referência profissional e pessoal para meu crescimento. Obrigado por estar ao meu lado e acreditar tanto em mim!

Ao Prof. Dr. Robert Ronald Maguiña Zamora, pela amizade, orientação e apoio nos momentos em que precisei e pela disponibilização de equipamentos no Laboratório de Materiais/UNIFAP.

Ao Dr. Walter Cárdenas pela disponibilidade de sempre me acompanhar em todos os momentos do cálculo computacional.

A equipe do Laboratório de Pesquisa em Fármacos, em especial a Adriana Maciel pela colaboração para realização das imagens MEV.

Aos colegas da turma de mestrado 2015.

Aos amigos, Dr. Jesus Rodriguez Amado e Dr. Hady Keita pelas sugestões, incentivo e apoio.

A minha família, em especial a meus filhos, pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência.

A minha irmã Rocio Rubi, por todo incentivo, apoio e compreensão durante este período e sempre me deu força quando mais precisei relacionados ao trabalho.

A minha esposa Brígida Angelita que sempre me deu força quando mais precisei nos estresses relacionados ao trabalho.

Muito obrigado!

RESUMO

As espécies de *Copaifera sp.*, também denominadas de copaíba, as quais são utilizadas na medicina popular devido a suas propriedades etnofarmacológicas, na atualidade a taxonomia tem uma dificuldade para identifica-las, isto devido ao fato que tem uma similitude entre elas, além disso, para sua identificação entre as espécies carece da flor e folha e por tal complica a identificação, já que a planta só flórea uma vez por ano. Neste trabalho propõe-se uma nova metodologia de identificação de folhas, só fazendo uso da folha vegetal. Nesta pesquisa foi caracterizada a nano textura superficial da folha, para isto, foram calculados os parâmetros fractais, os quais são: Dimensão Fractal (DF), Lacunaridade (L) e Sucolaridade (S), neste caso, foram utilizados dados que fornece a Técnica de Microscopia de Força Atômica (AFM), este fato faz desta pesquisa o primeiro trabalho que utiliza o AFM para calcular os parâmetros fractais em superfícies foliares. Adotou-se também a técnica de Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV) para identificar as causas que geram as diferentes rugosidades superficiais na folha. Os dados (matrizes) obtidos das imagens do AFM foram processados computacionalmente usando algoritmos desenvolvidos nesta pesquisa. Para o cálculo dos parâmetros fractais usamos o método de Box-Counting, por sua simplicidade e fácil processamento. Para a Dimensão Fractal, o cálculo foi realizado com o Software livre Gwyddion2.32, no caso da Lacunaridade se trabalho no linguagem de programação FORTRAN 77 e na Sucolaridade, além de propor para este parâmetro um novo modelo, seu cálculo foi realizado com a linguagem de programação C++. Neste sentido, caracterizamos completamente a nano textura fractal da superfície foliar. Para dar validade ao método proposto, empregou-se os dados da folha vegetal espécie *Thalia geniculata*, que é uma folha superhidrofóbica desta forma, há maior possibilidade de se fazer uma comparação com relação às características fractais. Esta nova metodologia pode ser estendida para identificar espécies de uma mesma família vegetal.

Palavras-chave: *Copaifera sp.*, *Thalia geniculata*. Dimensão Fractal. Lacunaridade. Sucolaridade. Textura.

ABSTRACT

The species *Copaifera sp.*, Also known as copaiba, which is used in folk medicine due to its ethnopharmacological properties, currently the taxonomy has a difficulty to identify them, this due to the fact that it has a similarity between them, in addition , For their identification between species lacks the flower and leaf and for this complicates the identification, since the plant only flórea once a year. In this work a new methodology of identification of leaves is proposed, only making use of the vegetal leaf. In this research the nano surface texture of the sheet was characterized, for which the fractal parameters were calculated, which are: Fractal Dimension (DF), Lacunarity (L) and Sufficiency (S), in this case, (AFM), this fact makes this research the first work that uses the AFM to calculate the fractal parameters in foliar surfaces. It was also adopted the technique of Electron Scanning Microscopy (SEM) to identify the causes that generate the different surface roughness on the sheet. The data (matrices) obtained from the AFM images were processed computationally using algorithms developed in this research. For the calculation of the fractals we use the Box-Counting method, for its simplicity and easy processing. For the Fractal Dimension, the calculation was done with the Free Software Gwyddion 2.32, in the case of Lacunarity if I work in the programming language FORTRAN 77 and in the Sufficiency, besides proposing for this parameter a new model, its calculation was carried out with the language of C ++ programming. In this sense, we completely characterize the nano fractal texture of the leaf surface. In order to validate the proposed method, the data of the plant leaf species *Thalia geniculata*, which is a super-hydrophobic leaf in this way, is more likely to be compared with respect to the fractal characteristics. This new methodology can be extended to identify species from the same plant family.

Keywords: *Copaifera sp.* *Thalia geniculata*. Fractal Dimension. Lacunarity.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

σ^2	Variância
AFM	Microscópio de Força Atômica
ANOVA	Análise de variância
DF	Dimensão Fractal
EDX	Difratômetro de raios-X
KNN	K-vizinho mais próximo
Kv	Quilovolts
L	Lacunaridade
LABMAT	Laboratório de Materiais
LPF	Laboratório de Pesquisa em Fármacos
MEV	Microscópio de Varredura Eletrônico
Mm	Milímetro
N	Newton
Nm	Nanômetro
OP	Percentual de Ocupação
PR	Pressão
S	Sucolaridade
UNIFAP	Universidade Federal do Amapá
α	Coeficiente angular
μm	Micrometro
$BS(n)$	Divisão das áreas de enchente em caixas de mesmo tamanho

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Imagem da planta da <i>Copaifera</i> sp	19
Figura 2 –	Imagem da folha da <i>Copaifera</i> sp.....	20
Figura 3 –	Regiões onde o gênero <i>Copaifera</i> sp. é encontrado.....	21
Figura 4 –	Folha composta-bifoliada paripinada.....	21
Figura 5 –	Elíptica (mais ampla próxima ao meio).....	21
Figura 6 –	Ápice atenuado.....	22
Figura 7 –	Base obtusa.....	22
Figura 8 –	Filotaxia oposta.....	22
Figura 9 –	Esquema do movimento do AFM , na toma de medida.....	29
Figura 10 –	Microscopia de Força Atômica-AFM.....	30
Figura 11 –	Ponta do cantilever Type: NCST 50 Non-contact/Soft Tapping mode.....	31
Figura 12 –	Esquema de funcionamento de um AFM.....	32
Figura 13 –	Esquema do movimento do AFM, na área de 25x25µm ²	33
Figura 14 –	Comportamento qualitativo da dependência do potencial da força Interatômica com a distância entre a ponta de prova e a superfície da amostra.....	34
Figura 15 –	Modo Tapping.....	36
Figura 16 –	Formação de imagem em AFM.....	37
Figura 17 –	Microscópio Eletrônico de Varredura-MEV, modelo HITACHI TM3030Plus.....	38
Figura 18 –	Desenho esquemático da coluna do MEV.....	40
Figura 19 –	Canhão de Elétrons.....	41
Figura 20 –	Ânodo.....	42
Figura 21 –	Esquema Lentes Magnéticas I.....	43
Figura 22 –	Esquema das Bobinas de digitalização.....	44
Figura 23 –	Detectores Retro Espalhamento.....	45
Figura 24 –	Auto-Similaridade	51
Figura 25 –	Função auto afim. Mostramos três iterações.....	52
Figura 26 –	Perfiloblíquo superior da imagem da <i>Copaifera</i> sp.....	53
Figura 27 –	Perfil oblíquo inferior da imagem da <i>Copaifera</i> sp.....	54

Figura 28 –	Perfil vertical da imagem da <i>Copaifera sp.</i>	54
Figura 29 –	Dimensão Fractal de uma linha, plano, caixa.....	57
Figura 30 –	Comprimento de uma línea em função de sua partição ϵ	58
Figura 31 –	Linha, área e volume em função de sua partição ϵ	59
Figura 32 –	Cálculo da Dimensão Fractal.....	60
Figura 33 –	Sobreposição de círculos pelo método de massa de raio.....	61
Figura 34 –	Gráfico do logaritmo da massa acumulada em relação de logaritmo de raio.....	62
Figura 35 –	Método de Análise Intersecção Acumulativa.....	63
Figura 36 –	Gráfica log-log da variação do número de intersecções em relação ao raio.....	63
Figura 37 –	Imagem topográfica da <i>Copaifera sp.</i>	64
Figura 38 –	Perfil da figura 38.....	65
Figura 39 –	Medida para diferentes valores de r	65
Figura 40 –	Gráfica $\ln(l(r))$ vs $\ln(r)$	66
Figura 41 –	Dilatação de uma curva com um disco de raio r	67
Figura 42 –	Gráfica $\ln(A(r))$ vs $\ln(r)$	68
Figura 43 –	Método Box-Counting em três dimensões.....	69
Figura 44 –	A) folha de <i>copaifera sp.</i> sem buraco – B) folha com buraco.....	70
Figura 45 –	Triangulo de Sierpinski.....	71
Figura 46 –	Tabelas com a mesma Dimensão Fractal, mas tem diferentes formas.....	74
Figura 47 –	Demonstração da Sucolaridade.....	77
Figura 48 –	Imagem binaria, fluido se traslada de acima para abaixo (vertical).....	78
Figura 49 –	Demonstração da pressão vertical na Sucolaridade.....	79
Figura 50 –	Vista aérea do bairro onde se localiza museu Sacaca.....	80
Figura 51 –	Exemplo de extração das janelas texturais de uma amostra da folha de <i>Copaifera sp.</i>	82
Figura 52 –	Método Box-Counting.....	85
Figura 53 –	Gráfica para calcular a Dimensão Fractal.....	86
Figura 54 –	Representação de caixas apilhadas.....	87
Figura 55 –	Deslizamento das caixas usando o método Box-Counting	

	Diferencial.....	88
Figura 56 –	Imagem demonstrativa para o cálculo da Sucolaridade.....	90
Figura 57 –	Quatro direções onde um fluido pode inundar a imagem.....	91
Figura 58 –	Exemplo de extração das janelas texturais de uma amostra da folha de <i>Copaifera sp.</i>	93
Figura 59 –	Rugosidade-RMS versus Área.....	95
Figura 60 –	Topografia da folha (Adaxial) <i>Copaifera sp.</i> em diferentes escalas AFM.....	99
Figura 61 –	Topografia da folha (Adaxial) <i>Copaifera sp.</i> -MEV.....	101
Figura 62 –	Topografia superficial da folha <i>Copaifera sp.</i>	101
Figura 63 –	Lacunaridade em função das caixas (25x25 μm^2).....	102
Figura 64 –	Log(L) em função Log(r)	103
Figura 65 –	imagem da folha <i>Copaifera sp.</i> parte adaxial-MEV.....	106
Figura 66 –	Morfologia superficial da folha <i>Copaifera sp.</i>	112
Figura 67 –	Morfologia superficial da folha <i>Thalia geniculata</i>	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Identificação de plantas por análise de textura foliar.....	24
Tabela 2 –	Análise de textura em tons de cinza.....	24
Tabela 3 –	Identificação de táxones de plantas por análise de textura de epiderme superior.....	25
Tabela 4 –	Identificação de táxons de plantas por análise de textura do parênquima paliçádico.....	25
Tabela 5 –	Comparação dos resultados obtidos para os diferentes métodos considerados.....	26
Tabela 6 –	A análise da morfologia de amostras sólidas.....	26
Tabela 7 –	Especificações do cantiléver do Microscópico de Força Atômica (AFM).....	30
Tabela 8 –	Especificações técnicas do modelo HITACHI TM3030Plus.....	39
Tabela 9 –	Taxa de acerto para os descritores fractais espaço-escala na base de Brodatz, classificados por KNN*.....	72
Tabela 10 –	Dependência da rugosidade superficial (RMS) da área.....	94
Tabela 11 –	Dimensão Fractal em função da área.....	96
Tabela 12 –	ANOVA da Tabela 11.....	96
Tabela 13 –	Dependência da Dimensão Fractal com o tempo.....	97
Tabela 14 –	ANOVA da Tabela 13.....	98
Tabela 15 –	Dependência do expoente de Lacunaridade com a área.....	104
Tabela 16 –	ANOVA da Tabela 15.....	104
Tabela 17 –	Dependência dos expoentes de Lacunaridade do tempo.....	105
Tabela 18 –	ANOVA da Tabela 17.....	105
Tabela 19 –	Dependência da Sucularidade da área.....	107
Tabela 20 –	ANOVA da Tabela 19.....	107
Tabela 21 –	Sucularidade em função do tempo.....	108
Tabela 22 –	ANOVA da Tabela 25.....	108
Tabela 23 –	Comparação de Dimensão Fractal.....	109
Tabela 24 –	ANOVA da Tabela 23.....	110
Tabela 25 –	Comparação dos expoentes (β).....	111

Tabela 26 – ANOVA da Tabela 25.....	111
Tabela 27 – Comparação da Sucularidade	113
Tabela 28 – ANOVA da Tabela 27.....	113
Tabela 29 – Comparação dos parâmetros fractais.....	114

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 –	Função auto-afins.....	52
Equação 2 –	Rugosidade fractal da superfície.....	56
Equação 3–	Rugosidade Euclidiana.....	56
Equação 4 –	Rugosidade media	56
Equação 5 –	Dimensão Fractal	59
Equação 6 –	Dimensão FractalMétodomassa raio.....	60
Equação 7–	Dimensão Fractal MétodoAnálise Intersecção Acumulativa.....	62
Equação 8 –	Dimensão Fractal Método Dividers.....	66
Equação 9 –	Dimensão FractalMétodo de Bouligand-Minkowski	67
Equação 10 –	Lacunaridade - lei de potencia.....	75
Equação 11--	Sucolaridade de uma imagem binária.....	79
Equação 12 --	Rugosidade Quadrática Média.....	83
Equação 13 --	Primeiro Momento estatístico.....	87
Equação 14 --	Segundo Momento estatístico.....	87
Equação 15 –	Lacunaridade.....	87
Equação 16 --	Altura relativa na caixa seleccionada.	87
Equação 17 --	Total de movimentos no cálculo da lacunaridade.....	89
Equação 18 --	Factor F.....	92
Equação 19 --	Potencial Lennard-Jones.....	132
Equação 20 --	Força de Van Der Waals.....	133
Equação 21 --	Equação de Lagrange.....	133

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	27
2.1	OBJETIVO GERAL	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
3.1	MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA- AFM	28
3.1.1	Princípio de funcionamento AFM	30
3.1.2	Modos Primários de Operação	33
3.1.2.1	Modo Contato	34
3.1.2.2	Modo Intermitente ou Tapping	35
3.2	MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA-MEV	37
3.2.1	Princípio de Funcionamento MEV	40
3.2.1.1	Canhão de Elétrons	41
3.2.1.2	Ânodo	42
3.2.1.3	Lentes Magnéticas	42
3.2.1.4	Bobinas de Digitalização	44
3.2.1.5	Detectores Retro Espalhamento	45
3.3	FRACTAIS EM SUPERFÍCIES FOLIARES	47
3.3.1	Textura foliar	47
3.3.2	Fractais	49
3.3.3	Tipos de fractais	50
3.3.3.1	Fractais Auto-Similaridade	50
3.3.3.2	Fractais Auto-Afins	52
3.3.4	Importância dos fractais	55
3.3.5	Leis de escala e rugosidade	55
3.3.6	Dimensão Fractal	56
3.3.6.1	Métodos para calcular a Dimensão Fractal-comparação	60
3.3.6.2	Massa raio	60
3.3.6.3	Análise Intersecção Acumulativa	62
3.3.6.4	Método Dividers	64

3.3.6.5 Método de Bouligand-Minkowski.....	66
3.3.6.6 Método de Box Counting.....	68
3.3.6.7 Comparação dos métodos	69
3.3.7 Lacunaridade	72
3.3.7.1 Por que usar a lacunaridade.....	74
3.3.8 Sucolaridade	76
3.3.8.1 Cálculo da sucolaridade.....	76
4 MATERIAIS E MÉTODOS	80
4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	80
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS FOLHAS.....	81
4.2.1 Microscopia de Força Atômica-AFM.....	81
4.2.2 Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV).....	83
4.3 PARAMETRIZAÇÃO FRACTAL.....	83
4.3.1 Dimensão Fractal.....	84
4.3.2 Lacunaridade.....	86
4.3.3 Sucolaridade.....	90
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	92
4.4.1 Anova.....	92
4.4.1.1 O valor-p.....	92
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	93
5.1 ANÁLISE DA RUGOSIDADE E DIMENSÃO FRACTAL.....	94
5.2 ANÁLISE DA LACUNARIDADE	101
5.3 ANÁLISE DA SUCOLARIDADE	106
5.4 COMPARAÇÃO ENTRE AS CARACTERÍSTICAS SUPERFICIAIS DAS FOLHAS DE COPAIFERA SP E THALIA GENICULATA.....	109
5.4.1 Dimensão Fractal.....	109
5.4.2 Lacunaridade.....	110
5.4.3 Sucolaridade.....	112
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	116
REFERÊNCIAS	118
APÊNDICE A -Modelo Matemático do AFMno Modo Tapping	128
APÊNDICE B - Dedução matemática da Lacunaridade	134
APÊNDICE C - Dependência dos parâmetros fractais com a cera	136

APÊNDICE D -Rugosidade (RMS)	140
---	------------

1 INTRODUÇÃO

A taxonomia vegetal ainda é realizada seguindo o trabalho desenvolvido no século XVIII pelo sueco Carolus Linnaeus. Nesse sistema a identificação e reconstrução das relações entre vegetais têm sido amplamente baseadas em características dos órgãos reprodutivos (AMANDA ASH et al., 1999). O procedimento consiste na coleta de ramos férteis na natureza (galhos com flores ou frutos), os quais devem submeter às amostras a um processo de prensagem, dissecação e montagem sobre papel-cartão. A seguir, as amostras são comparadas com espécies já catalogadas em um herbário, no qual é possível estudar e classificar espécies provenientes de diferentes ecossistemas e localidades (FIDALGO; BONONI, 1989).

A metodologia de Carolus Linnaeus apresenta bons resultados mas alguns problemas ainda precisam ser resolvidos, entre os quais é possível destacar: o processo é manual e, por conseguinte, muito moroso; o profissional da área taxonômica precisa possuir amplos conhecimentos e habilidades de identificação e descrição da planta vegetal, exigindo um longo período de treinamento; embora as características propiciadas por flores e frutos tenham se mostrado muito úteis, nem sempre estão disponíveis para estudo; algumas características são perdidas durante o processo de dessecamento como cor, brilho etc. e algumas partes dos vegetais simplesmente não são contempladas para a análise como por exemplo, as folhas (SÁ JUNIOR, 2013).

Com o intuito de oferecer suporte aos botânicos e aumentar a precisão e a rapidez do processo de identificação de vegetais, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos para a análise de diferentes atributos das folhas. Por exemplo:

- ✓ Rodrigo Plotze (2009) analisa espécies vegetais do gênero *Passiflora* por meio dos contornos externos das folhas e de seu sistema de venação.
- ✓ Casanova, Sá Junior e Bruno (2009), analisam a superfície foliar para identificar vinte espécies da flora brasileira.
- ✓ Sá Junior (2011) analisa uma série de atributos das células do interior da folha (epiderme superior, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso etc).

Segundo Costa (2007), o gênero apresenta o que Barneby (1996) denominou “caos acumulado” devido a sua complexidade e proximidade morfológica com outros gêneros, especialmente *Guibourtia*, que foi desmembrado de *Copaifera* por Leonard (1949). Os tratamentos taxonômicos tradicionais realizados na metade do século

passado (LEONARD 1949; DWYER, 1954) não foram suficientes para elucidar os problemas de delimitação dentro do gênero gerando alguns complexos de espécies de taxonomia confusa. As dificuldades encontradas para delimitar os táxons dentro de *Copaifera* estão relacionadas, principalmente, a sobreposição e a interpretação da variação dos caracteres utilizados até o momento (BRUNEAU, 2001; HERDEEN, 2003; FOUGERE-DANEZAN, 2003).

Segundo Andréia Fonseca Silva (2010), a identificação botânica da *Copaifera* é difícil, sendo realizada na maioria das vezes, pelas características de suas flores, e em alguns casos das folhas, flores e frutos e isso complica a identificação já que a *Copaifera* só floresce uma vez ao ano e, se é nova não floresce e seria impossível tal identificação.

A *Copaifera* sp. é uma árvore pertencente à família das Leguminosae (antigamente chamadas Fabaceas), subfamília Caesalpinioideae, decídua a semidecídua, heliófila, seletiva xerófita com grande porte em altura podendo alcançar 40 metros de altura, 4 metros de diâmetro e pode viver até 400 anos e também conhecida por diversos nomes, como: Bálsamo, Caobi, Copaíba, Copaúba, Coopaíba, Copaí, Copaíba Preta, Copaíba da Várzea, Copaíba Vermelha, Copaibeira, Copaibeira de Minas, Copaúba, Copaúva, Capiúva, Oleiro, Óleo, Óleo Amarelo, Óleo Copaíba, Óleo Copaíba, Óleo Pardo, Óleo Vermelho, Óleo de Copaúba, Pau Óleo, Pau de Copaíba, Pau Óleo do Sertão, Podoi, Copaibo, Cupay, Kupay, Copaíba da Várzea, Cupaúva, Cupiúva, Óleo de Copaíba, Pau Dóia, Pau Óleo de Copaíba de Copaíba (CARVALHO, 2003).

As *Copaifera*sp são adaptadas aos mais diferentes ambientes, desde florestas de terra firme, terras alagadas, margens inundáveis dos rios e igarapés, margens arenosas de lagos e até as matas de cerrado da região central do Brasil. (MICHELE CRISTINA HECK, 2012).

A planta brasileira *Copaifera* sp. (Figura 1) é uma árvore cujo óleo é tradicionalmente utilizado pela população principalmente como anti-inflamatório, analgésico e relaxantemuscular justificando o grande interesse científico em seu estudo. Entretanto, estudos tecnológicos, fotoquímicos e biológicos sobre suas folhas são escassos (COSTA MACHADO, 2011).

Figura 1 - Imagem da planta da *Copaifera* sp. (Museu Sacaca-Macapá)



Fonte: Autor (2016).

O gênero *Copaifera sp.* é composto por árvores e arbustos com a casca do tronco aromática e é caracterizado pela combinação da folha paripinada, com dois ou mais folíolos, flores apétalas e legume com uma semente, esta apresentando um arilo conspícuo. A distinção entre as espécies é feita, principalmente, com base em caracteres das folhas. Esses caracteres envolvem a presença ou não de pontuações nos folíolos bem como o número e a forma dos folíolos (Figura 2). Além disso, são considerados também os caracteres florais como o indumento das sépalas, o comprimento das anteras e o indumento do pistilo (DWYER, 1954).

Figura 2 - Imagem da folha da *Copaifera sp.*

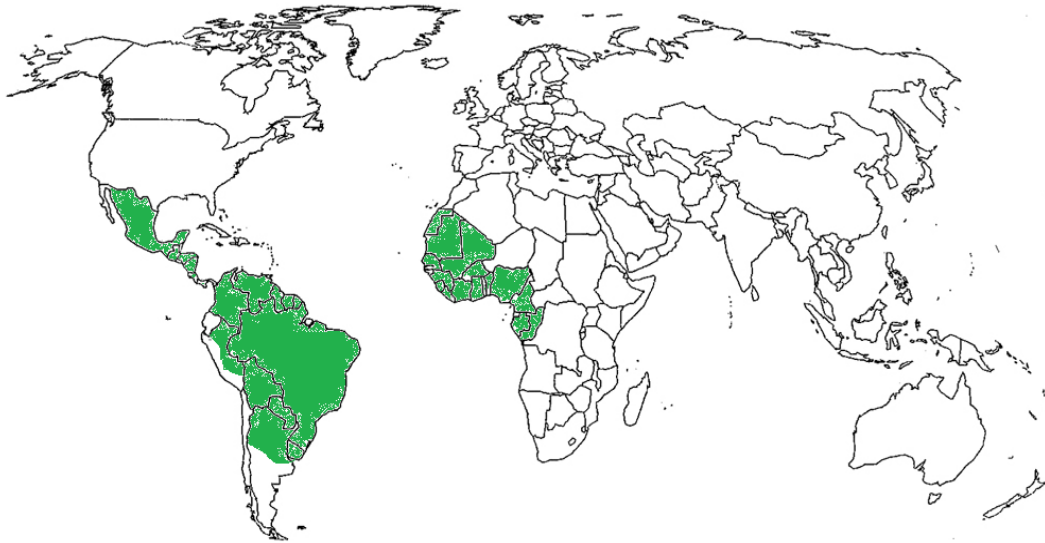


Fonte: Autor (2015).

Segundo Jorge Antonio Silva Costa (2007), As espécies americanas estão distribuídas entre Costa Rica e as Antilhas ($\pm 15^{\circ}N$) e o nordeste da Argentina \ Sul do Brasil ($\pm 30^{\circ}S$), tal como se amostra na Figura 3. A Bahia é o estado com maior diversidade de *Copaifera* (13 espécies), seguido pelo Mato Grosso (11), Pará (7), Goiás, Minas Gerais e Tocantins (6), Maranhão (5).

O gênero *Copaifera* é composto por árvores e arbustos com casca do tronco aromática e é caracterizado pela combinação da folha paripinada com dois ou mais folíolos (em nosso caso tem 8), flores apétalas, legume com uma semente, está apresentando um arilo conspícuo. A distinção entre as espécies é feita, principalmente, com base em caracteres das folhas. Esses caracteres envolvem a presença ou não de pontuações nos folíolos bem como o número e a forma dos folíolos. Além disso, são considerados também os caracteres florais como o indumento das sépalas, o comprimento das anteras e o indumento do pistilo (DWYER 1951, 1954).

Figura 3 - Regiões onde o gênero *Copaifera* sp. é encontrado



Fonte: Veiga Junior; F., V.; Ângelo C. Pinto, 2002.

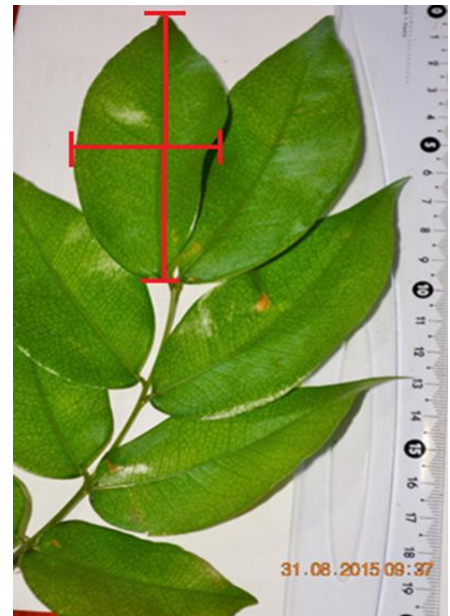
A folha da *Copaifera sp.* é peciolada, tem forma elíptica, limbo foliar inteiro, folha composta bifoliada paripinada, ápice atenuada, base obtuso, nervação peninérvea, filotaxia: oposta.

Figura 4 - Folha composta - bifoliada paripinada



Fonte: autor (2015).

Figura 5 - Elíptica (mais ampla próxima ao meio)



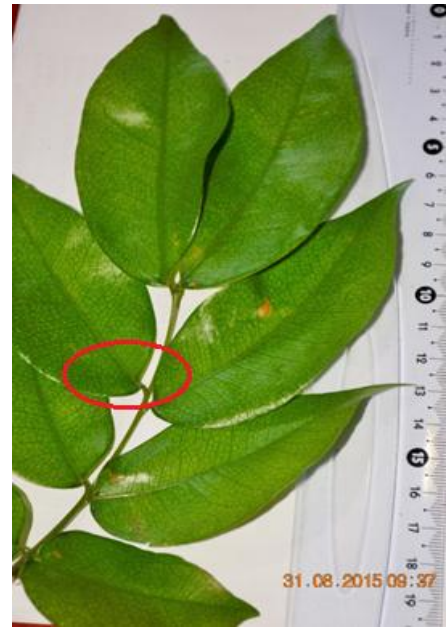
Fonte: autor (2015).

Figura 6 - Ápice atenuado

Figura 7 - Base obtusa



Fonte: autor (2015).



Fonte: autor (2015).

Figura 8 - Filotaxia oposta



Fonte: autor (2015).

Apesar de vários estudos sobre a taxonomia do gênero *Copaifera* realizados ao longo de quase três séculos, ainda existem dificuldades para identificar as espécies que ocorrem na Amazônia brasileira devido à carência de informações de

campo sobre a variação de características morfológicas e a ausência de ilustrações demonstrativas dos caracteres-chave (MARTINS-DA-SILVA, 2007). A identificação incorreta de plantas, ou mal uso de diferentes plantas, já que tem o mesmo nome popular, podem levar a intoxicações, é por isso que é importante sua identificação correta das espécies (RATES, 2001). Sua difícil identificação se deve por que a superfície foliar apresenta um alto nível de complexidade e padrões que se repetem. Estas características são intrínsecas aos fractais, isto é, podemos representar como uma geometria fractal. Assim, a geometria fractal possui uma maior flexibilidade e precisão na representação dessas características superficiais que surgem naturalmente (GONZALEZ; WOODS, 2007). Esta matemática fractal consiste em obter informações quantitativas e qualitativas de objetos a partir de uma análise matemática da imagem digital na qual o objeto é representado (FLORINDO, 2013). Deste modo, nosso estudo permite a descrição e identificação destas superfícies.

A medida fractal mais usada na modelagem de texturas e imagens em geral é a dimensão fractal. A dimensão fractal quantifica a complexidade de um objeto, isto é, o nível de detalhes que podem ser observados em diferentes partes do todo. Assim, ela mede, em termos mais práticos, a distribuição espacial e mesmo espectral de uma textura. Tal medida está diretamente ligada a atributos físicos como rugosidade, luminância e arranjo de padrões, características essas que são primordiais na descrição e discriminação de objetos (COSTA; CESAR JUNIOR, 2000).

De acordo a literatura de tem diferentes métodos para o estudo da textura superficial como a continuação se mostra:

- Espectro de Fourier (STANLEY, 1970; COGGINS; JAIN, 1985)
- Co-ocorrência de pixels (HARALICK; DINSTEIN, 1973)
- Wavelets (PAGET, 2008)
- Filtros de Gabor (GABOR, 1946; CLARK, GEISLER, 1990)
- Autocorrelação (FAUGERAS, PRATT, 1980)
- Fractais:
 - ✓ Dimensão fractal (EBERT, 1994)
 - ✓ Lacunaridade (C. ALLAIN, M. CLOITRE, 1991)
 - ✓ Succolaridade (J. I. R. Cojocar, D. Popescu and I. E. Nicolae, 2013)

Segundo, André R. Backes, Dalcimar Casanova, Odemir M. Bruno (2013), no trabalho “Identificação de plantas por análise de texturafoliar”, fazem uma comparação de diferentes técnicas para o estudo da textura foliar macroscópico e obtiveram os seguintes resultados (Tabela 1).

Tabela 1 - Identificação de plantas por análise de textura foliar

Método	Taxa de acertos (%)
Matriz de Co-ocorrência	86,66
Descritores de Fourier	62,66
Filtros de Gabor	73,33
Descritores de Wavelet	84,67
Dimensão Fractal	90,67

Fonte: André R. Backes, Dalcimar Casanova, Odemir M. Bruno, 2013.

O método de dimensão fractal tem a maior taxa de acerto com 90,67%, pelo tanto é o melhor método de identificação de plantas por análise de textura. A continuação apresentou a tabela 2 de análise de textura em tons de cinza.

Tabela 2 - Análise de textura em tons de cinza

Método	Taxa de acertos (%)
Filtros de Gabor	89,37
Descritores de Fourier	80,00
Matrizes de Co-ocorrência	59,91
Caminhada doTurista Original	89,37
Caminhada do Turista Máximo Contraste	89,37
Caminhada do Turista +Redes Complexas	95,32
Descritores dos Grafos da caminhada do turista	91,08
Dimensão Fractal	98,02
Redes Complexas	96,48

Fonte: André R. Backes , Dalcimar Casanova , Odemir M. Bruno, 2013

Também temos na tabela 2 que a dimensão fractal tem o maior taxa de acerto (98,02%), e Matrizes de Co-ocorrência é o que tem menor taxa de acerto com

59,91%, mas em na Tabela 1 tem um porcentagem alto (86,66%) que o posiciona no segundo lugar depois da dimensão fractal (90,67%).

Tabela 3 - Identificação de táxones de plantas por análise de textura de epiderme superior

Método	Taxa de acertos (%)
Matriz de Co-ocorrência	92,08
Descritores de Fourier	76,67
Filtros de Gabor	85,42
Dimensão Fractal	93,33

Fonte: André R. Backes , Dalcimar Casanova , Odemir M. Bruno, 2013.

Tabela 4 - Identificação de táxons de plantas por analise de textura do parênquima paliçádico

Método	Taxa de acertos (%)
Matriz de Co-ocorrência	77,81
Descritores de Wavelet	60,31
Descritores de Fourier	62,81
Filtros de Gabor	65,31
Dimensão Fractal	78,44

Fonte: Andre R. Backes; Jarbas J. de M. Sá Junior; Odemir M. Bruno, 2013

Nas duas tabelas anteriores a dimensão fractal é o método com maior taxa de acertos, e Matriz de Co-ocorrência é o segundo melhor em análises de textura.

Andre Ricardo Backes em seu estudo de “Métodos de análise de complexidade em imagens” (2010), em a identificação de táxones de plantas por análise de textura de epiderme superior.Os resultados (Tabela 5) demonstram que dimensão fractal de padrões de textura histológica. Isso se deve a grande sensibilidade e precisão do método para detectar pequenas alterações na textura.

Tabela 5 - Comparação dos resultados obtidos para os diferentes métodos considerados

Método	Taxa de acertos (%)
Matriz de Co-ocorrência	92,08
Descritores de Fourier	76,67
Filtros de Gabor	85,42
Dimensão Fractal	93,33

Fonte: Andre Ricardo Backes, 2010.

João B. Florindo et al., 2013, em seu trabalho intitulado: “Characterization of nanostructured material images using fractal descriptors”. Fizeram uma comparação entre os diferentes métodos tal como se mostra na tabela 6 seguinte:

Tabela 6 - A análise da morfologia de amostras sólidas.

Método	Taxa de acerto (%)
Entropia	59,38±0,01
Fourier	81,25±0,01
Fractais	87,50±0,01

Fonte: João B. Florindo, 2013.

De acordo com a Tabela 6, percebe-se que os fractais são melhores que a entropia e Fourier em caracterização de nanoestruturas.

Existe um grande número de trabalhos de aplicações que tratam de identificar características usando dimensão fractal como: Batty e Longley, 1994; Block et al., 1990; Barros Filho e Sobreira de 2005 e Melo e Conci 2007, algum uso lacunaridade para este fim, como Fernandes e Conci, 2004; Barros Filho e Sobreira, 2005 e Melo et al, 2007. No entanto, existem poucos trabalhos usando sucularidade para caracterizar padrões através de imagens. A sucularidade também apresenta bons resultados em imagens que têm características de fluxo (MELO et al., 2007).

2. OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a nanotextura superficial da folha de *Copaifera sp.* fazendo uso dos parâmetros fractais por Microscopia de Força (AFM).

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a) Descrever matematicamente a homogeneidade e rugosidade superficial da folha da *Copaifera sp.* usando a dimensão fractal.
- b) Descrever matematicamente o grau de desordem das lacunas da superfície foliar da *Copaifera sp.* usando a lacunaridade.
- c) Descrever matematicamente as características de interconexão entre as bandas superficiais da folha da *Copaifera sp.* usando a sucularidade.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)

A modificação do microscópio de tunelamento (efeito de túnel), que só serve para medir superfícies condutoras; combinado com um profilômetro Stylus (aparelho para medir rugosidade em escala microscópica) Binnig, Quate e Gerber em 1986 desenvolveram o Microscópio de Força Atômica, em parceria de IBM e Universidade de Stanford o que permitiu obter imagens reais, em três dimensões, da topografia das superfícies sem danificá-las, com uma resolução espacial que se aproxima das dimensões atômicas (WIESENGANGER, 1994).

O AFM mede as deflexões do cantilever em cuja extremidade livre está montada a sonda. Estas deflexões são causadas pelas forças de interação entre a sonda e a amostra. Essas forças incluem as forças de Van Der Waals (Modo Não Contato e Contato Intermitente) e forças Coulombianas (Modo Contato). A distância entre a ponta e a amostra, que geralmente é uma fração de nanômetro, também é controlada por computador (BARBOSA, 2015). Este trabalho foi realizado em modo Contato Intermitente, para evitar que o cantilever mude de massa e assim fornecer dados errados (CARVALHO, 2011).

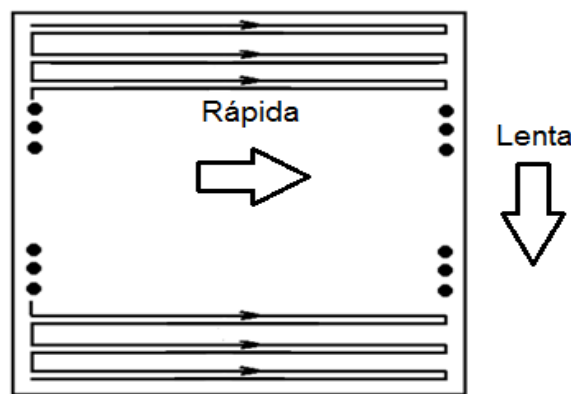
Segundo Jandt (1998), em seu trabalho intitulado: *Developments and Perspectives of Scanning Probe Microscopy*; o AFM é utilizado nos estudos dos polímeros; e isso é devido a sua capacidade de fornecer informação dos pontos (matriz) chamados *pixels* os quais pode-se calcular rugosidades e parâmetros fractais, que não são possíveis com o Microscópio de Varredura Eletrônica (MEV).

A técnica de Microscopia de Força Atômica fornece imagens digitais em escala micro e nano e tais medições são precisas e confiáveis comparadas com uma caracterização puramente visual e qualitativa (escala macroscópica), além disso, esta técnica nos dá a possibilidade da obtenção de dados característicos morfológicos em uma grande quantidade de amostras. Deste modo, a aplicação e o desenvolvimento da técnica do AFM, tornaram-se ferramentas importantes no processo de caracterização e de análise das estruturas superficiais (PITHAN, 2011).

O AFM faz a varredura da amostra linha a linha, desta forma existe uma direção de varredura rápida “x” (horizontal), e outra lenta “y” (vertical) tal como se amostra na figura 9, só armazena dados na varredura horizontal quando vai para a

direita e não quando está de volta para a esquerda, e inicia a armazenar dados na primeira linha no ponto (0,0), até o ponto (0,256), que é último ponto da direita e de aí está de volta ao ponto (1,0) para iniciar a armazenar dados até o ponto (1,256) e assim sucessivamente hasta chegar ao última linha, que inicia no ponto (256,0) e finaliza no ponto (256,256). Na varredura horizontal armazena 256 dados de alturas, e na varredura vertical armazena também 256 dados de linhas horizontais, que fazem um total de $256 \times 256 = 65\,536$, dados armazenados por cada imagem. A cada imagem corresponde um arquivo na forma de uma matriz de três colunas (x, y, z) no formato TXT. Onde a coluna “z” são valores correspondentes às alturas. Estes dados em formato TXT, já podem ser processados para calcular a dimensão fractal, lacunaridade e sucularidade.

Figura 9 - Esquema do movimento do AFM, na toma de medida



Fonte: Braga e Davide, 2004.

A continuação apresenta-se a imagem do Microscópio de Força Atômica do Laboratório de Materiais (LABMAT) do curso de Física da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), modelo Nanosurf Easyscan 2.

Figura 10 - Microscopia de Força Atômica (AFM)



Fonte: autor

O cantilever tem umas características específicas feita por o fabricante (NANO WORLD Innovative Technologies), para cada modo de trabalho e tem as seguintes características (Tabela 7).

Tabela 7 - Especificações do cantiléver do Microscópio de Força Atômica (AFM)

Modo	Soft Tapping
Tipo de ponta	Silicon SPM-Sensor
Espessura	28 μm
Comprimento	150 μm
Largura	26 μm
Frequência de ressonância	160 kHz
Constate de elasticidade	7,4 N/m
Fabricação	NANO WORLD Innovative Technologies

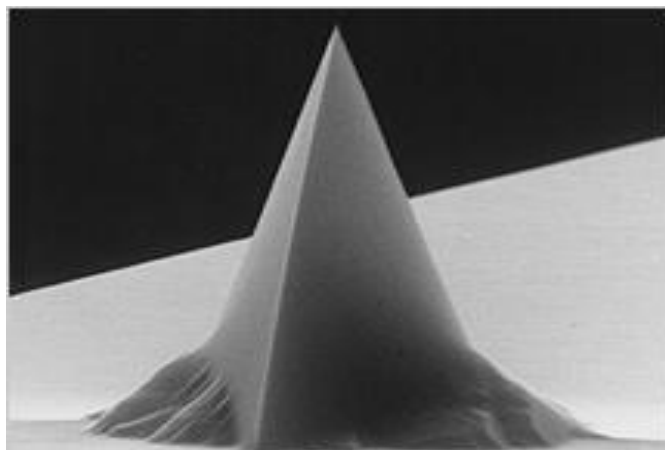
3.1.1 Princípio de funcionamento AFM

Compreender o princípio de funcionamento do Microscópio de Força Atômica é fundamental para entender sua gama de aplicações. Ele trabalha de forma semelhante a uma agulha de toca-disco (vinil), a agulha serve para ler a informação armazenada no disco, em o caso do AFM, também se tem uma agulha crecida no extremo livre do cantilever, com comprimento de 150 μm (FILHO, CAPPARELLI, 2003).

Para fazer o varrido da amostra e obter uma imagem, é empregado um sistema de posicionamento que utiliza cerâmicas piezoelétricas, que se contraem ou se expandem a pequenas variações de voltagens, e são capazes de realizar movimentos nas três direções (xyz), com precisão de angstrons ($\text{\AA}=10^{-10}\text{m}$) (FILHO, CAPPARELLI, 2003). Durante esta varredura, é usado um sistema de alinhamento, onde um feixe de laser incide sobre o cantilever e refletindo em um sensor, de quatro quadrantes no fotodetector (fotodiodo), fornece informação de posição para o sistema de realimentação e controle. Este corrige a posição do cantilever de forma a manter um contínuo interação com a amostra durante a varredura e permitir a obtenção da imagem.

As sondas AFM Nanoworld Pointprobe NCST, são fabricadas para o modo não contato. A combinação de cantilever suave e frequência de ressonância bastante elevada permitem medições estáveis e rápidos com mínima interação ponta-amostra. Assim, o desgaste da ponta e da amostra pode ser significativamente diminuído, são feitas de silício monolítico altamente dopado para dissipar a carga estática, já que tais cargas produziriam forças elétricas e mudaria os valores das alturas. Eles são quimicamente inertes e oferecem um alto factor Q-mecânica para alta sensibilidade. A ponta tem a forma de uma pirâmide com base polígono com uma altura típica de $10^{-15}\text{ }\mu\text{m}$ (figura 11). Além disso, esta sonda de AFM oferece um raio de curvatura da ponta típicas de menos do que 8 nm. (<http://www.nanoworld.com/pointprobe-soft-tapping-mode-afm-tip-ncst#video>).

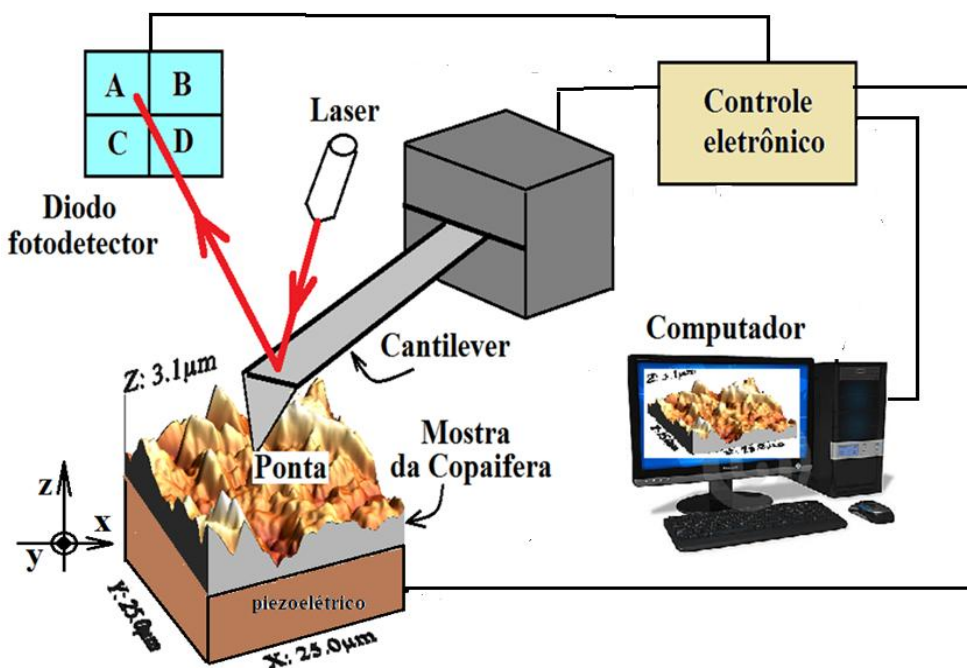
Figura 11 -: Ponta do cantilever Type: NCST 50 Non-contact/ Soft Tapping mode



Fonte: <http://www.nanoworld.com/pointprobe-soft-tapping-mode-afm-tip-ncst#video>

A força entre a ponta e a superfície da amostra faz com que o cantiléver se aproxime ou se afaste e essa deflexão é proporcional à força de interação. Na parte superior da haste há um espelho que reflete a luz de um feixe de laser. Após a reflexão, o feixe de laser passa por uma lente e incide sobre um fotodetector (fotodiodo) de quatro quadrantes, que mede as variações de posição e de intensidade da luz produzidas pelas deflexões do cantiléver (Figura 12). À medida que a ponta varre a amostra ou a amostra é deslocada sob a ponta, os diferentes tipos de “acidentes geográficos” encontrados sobre a superfície fazem com que a interação mude. As variações das interações são os fatores que provocam diferentes deflexões. Essas diferenças, captadas no detector, são armazenadas e processadas por um computador, que as transformam em imagens topográficas da superfície bi e tridimensionais. A força mais comumente associada com AFM na deflexão do cantiléver é a força de Van der Waals (WORCESTER, 1988).

Figura 12 - Esquema de funcionamento de um AFM.



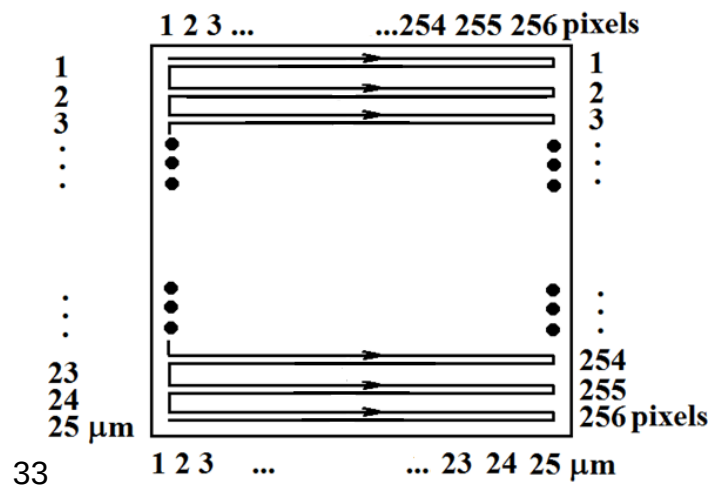
Fonte: autor.

Jacob N. Israelachvili em seu livro “Intermolecular and Surface Forces”, mostra que a relação força-distância de Van der Waals é apresentada para a interação entre diferentes corpos homogêneos e isotrópicos, como por exemplo, entre uma esfera e uma superfície plana. Este é o modelo mais utilizado para

descrever a interação ponta-amostra, pois apesar das pontas de AFM geralmente possuírem geometria piramidal ou cônica, nelas existe um ápice aproximadamente esférico e, além disso, as forças de Van der Waals só são significativas para distâncias da ordem de alguns angstroms (múltiplos de 10^{-10} m), por isso é no ápice das pontas que se localizam os átomos que mais influenciam na interação ponta-amostra

O AFM mede os dados tais como se mostra na Figura 13, onde a área é $25\mu\text{m} \times 25\mu\text{m}$ (256×256 *pixels*), a distância entre *pixels* é de 97,66 nm, onde faz um percurso de aproximadamente de 78 *pixels*/s (velocidade horizontal) e de 3,3 *pixels*/s (velocidade vertical).

Figura 13 - Esquema do movimento do AFM, na área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$



Fonte: Braga e Davide, 2004.

O AFM modelo Nanosurf Easyscan 2, pode medir em escala de 0.78125X0.78125, 1.5625X1.5625, 3.125X3.125, 6.25X6.25, 12,5X12,5, 25X25, 50x50, é dizer o comprimento do lado da imagem vai duplicando-se, mas em todo as escalas sempre mede 256 *pixels* por cada lado da imagem, isso significa que a maior escala, maior é a distância entre os *pixels*.

3.2.2. Modos Primários de Operação

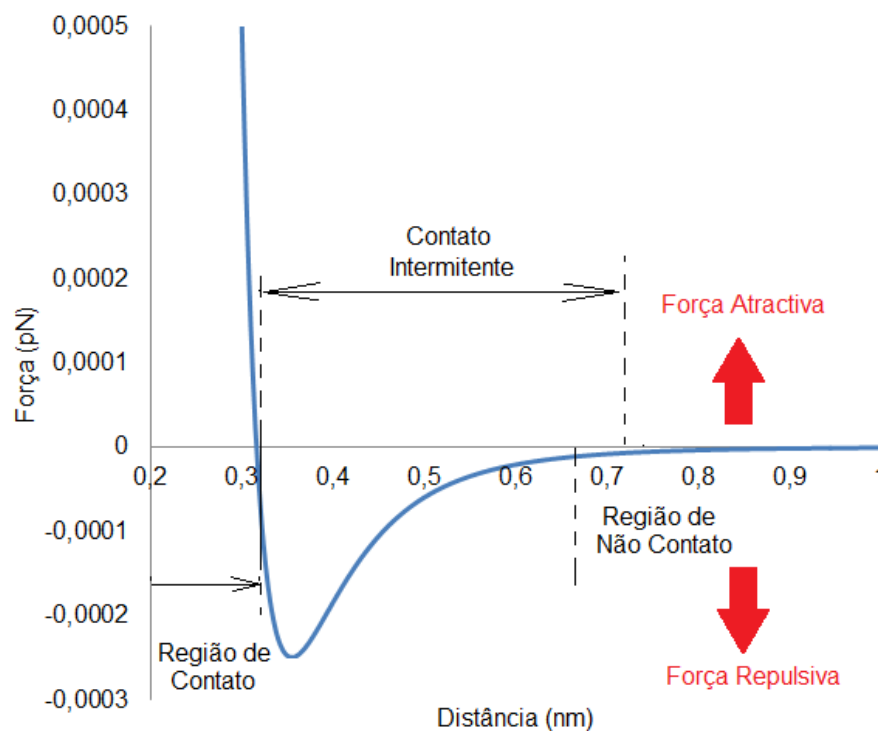
Os diferentes modos de obter imagem variam em função de vários fatores: amostra, tipo de cantilever utilizado, tipo de varredura. A primeira informação que

deve ser obtida sobre a amostra é se ela é rígida ou não, isto vai determinar o tipo de cantilever e se será utilizado o modo contato, contato intermitente ou não contato.

Para obter elevada sensibilidade a mola deve ter o valor da constante elástica (k) o menor possível e operar na frequência de ressonância para minimizar os efeitos das vibrações mecânicas do exterior. É por isso que a massa da mole não deve mudar em toda a varredura, já que se muda a massa da mole também muda a frequência de ressonância, e tenderíamos dados errados.

Na Figura 14, se apresenta a gráfica força em função da distância, da interação entre a amostra e a ponta do cantilever. Observamos também a região de contato intermitente, que é a região de trabalho desta pesquisa.

Figura 14 -Comportamento qualitativo da dependência do potencial da força Interatômica com a distância entre a ponta de prova e a superfície da amostra.



Fonte: (Braga.et al., 2004).

3.2.2.1 Modo Contato

No modo contato, o cantiléver é mantido a poucos angstroms da superfície da amostra e a força interatômica entre a ponta e a amostra é repulsiva. Neste modo de operação, a ponta faz um leve “contato físico” com a amostra produzindo imagens com alta resolução, mas a compressão e as forças geradas, entre a ponta e a

superfície, podem causar danos à amostra, o que é especialmente prejudicial às amostras biológicas que são sensíveis e nem sempre fortemente aderidas ao substrato (FERREIRA, 2006).

No modo contato a pequena força repulsiva entre a agulha e a amostra é da ordem de 10^{-6} à 10^{-9} N. Neste caso, é de fundamental importância um sistema com boa sensibilidade para detectar a deflexão do cantiléver (HERRMANN et al., 1997).

Neste modo do contato a ponta do cantiléver está em contato direto com a superfície da amostra. A força de interação entre os átomos da ponta e da amostra é contrabalanceada por deflexões do cantiléver. Para aumentar a sensibilidade, hastes utilizadas no modo contato possuem constantes de mola relativamente baixas (do ordem 10^{-6} à 10^{-9} N). Os experimentos podem ser conduzidos a uma força constante ou distância constante. Em uma varredura a força constante, o sistema de realimentação mudará a distância entre a sonda e a amostra de forma a manter constante a força de interação entre os dois. Operando em distância constante, a sonda varre a amostra sem variação em “Z” enquanto é registrado um mapa de distribuição de força. Esse modo é frequentemente utilizado em amostras de baixa rugosidade (BARBOSA, 2010).

O contato entre a ponta e superfície ocorre quando a força de Van der Waals se torna positiva (força de interação repulsiva), conforme a ponta varre a superfície da amostra passa por diferentes pontos causando a deflexão do cantiléver. Essa deflexão é medida através de um feixe de laser refletido na extremidade do cantiléver, chegando até o fotodiodo. Um circuito de alimentação mantém constante a deflexão do cantiléver e o move verticalmente a cada ponto. A posição vertical do cantiléver, juntamente com a posição (x,y) corresponde, é armazenado em computador, formando a imagem topográfica da amostra. Esse sistema de medida proporciona alta sensibilidade no eixo “z”, detectando frações de angstroms de deslocamento vertical (FERREIRA, 2014).

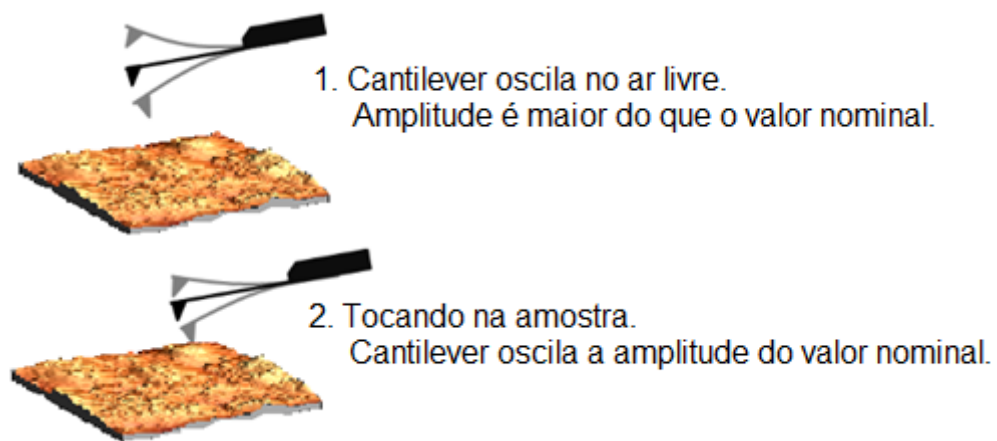
3.2.2.2. Modo Intermitente ou Tapping

O modo “Tapping” foi eleito neste trabalho porque é o más usado comumente em campos da ciência como alimentos e biologia, em função de reduzir significativamente as forças exercidas por a ponta sobre a amostra, assim como o

dano que pode causar em ambos, comparado com o modo de operação contato (YANG H. et al., 2007).

Este modo apareceu como uma tentativa de evitar os problemas inerentes ao modo de contato. No modo tapping a ponta está em intermitente contato com a superfície no mesmo tempo que ele vai varrendo, como mostra a Figura 15. Em este modo se faz vibrar a micropalanca até a sua frequência de ressonância utilizando para isso o atuador piezoelétrico. A interação ponta-superfície modifica a amplitude, frequência e fase da ressonância, enquanto o circuito fechado de realimentação mantém constante uma destas três propriedades (LÓPEZ; SOLARES, 2014).

Figura 15 - Modo Tapping



Fonte: autor

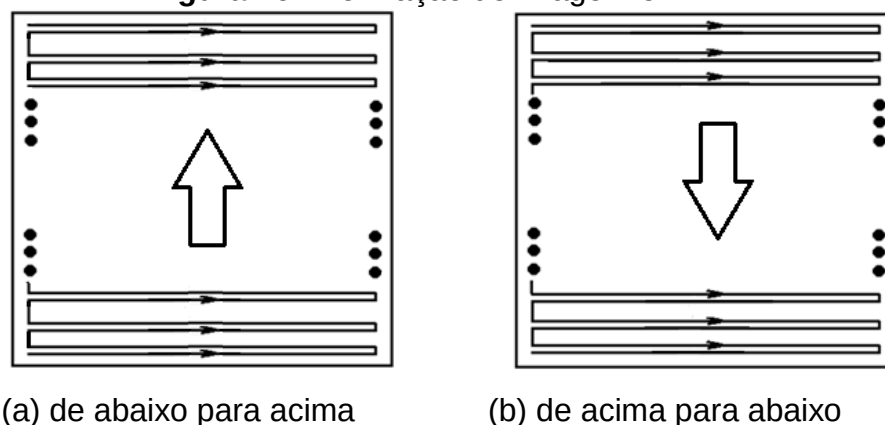
O modo intermitente (Tapping) tem sido amplamente utilizado em escala nano na caracterização da superfície de materiais, especialmente para materiais macios como polímeros, moléculas de DNA e proteínas. Sendo o cantiléver excitado em uma frequência próxima da frequência natural da amostra, o que possibilita manter a amplitude de oscilação do cantiléver em um valor fixo. Neste caso o cantiléver percorre a amostra vibrando perto de sua frequência de ressonância. O cantiléver trabalha, principalmente, nas regiões de atuação da interação de van der Waals. Entretanto pode tocar ligeiramente a amostra o que pode causar ação da repulsão eletrostática. Conforme (ZHANG; ZHAO, 2007) mesmo com a grande utilização do modo intermitente em experiências, ainda há necessidade de uma melhor compreensão das vibrações do microcantiléver, pois a precisão das forças de interações entre a ponta e a amostra depende fundamentalmente da qualidade do modelo matemático utilizado para analisar a dinâmica da microestrutura,

influenciando diretamente na estratégia de controle, resultando na precisão da imagem. Conforme (PAULO; RICARDO, 2002), os modelos matemáticos utilizados são em sua maioria sistemas lineares massa-mola-amortecedor que incorporaram a força não-linear derivada da interação entre a ponta e a amostra. A inerente e altamente não-linearidade na interação ponta-amostra dá lugar a uma dinâmica complexa do cantiléver na AFM. A não-linearidade é essencial para a compreensão da dinâmica do sistema, pois há muitas forças não-lineares em AFM, como as forças de atração de van der Waals, as interações repulsivas Shortrange e não linearidades de contato (ZHAO, DANKOWICZ, 2006).

Conforme, W.M. Zhang (2009) o AFM tem suas vantagens, tais como topografia 3D. Para que a AFM tenha um bom desempenho, é necessário identificar e, eliminar possíveis movimentos caóticos do cantiléver (ZHANG, 2009). Conforme M. Ashhab (1999) o caos na AFM vai depender do amortecimento da excitação, e da distância entre a ponta do cantiléver e a amostra, sugerindo que um controle feedback dos estados pode ser usado para eliminar a possibilidade de comportamento caótico.

Na Figura 16a, se apresenta o percorrido que faz o varrido do AFM, de abaixo para acima com uma duração de tempo de aproximadamente de 13 minutos, e na figura 16b de acima para abaixo, também com uma duração de aproximadamente de 13 minutos.

Figura 16 - Formação de imagem em AFM



Fonte: autor

O modelo matemático do AFM no Modo Tapping, se apresenta no Apêndice A, onde temos a solução numérica do Movimento Harmônico Amortecido Forçado,

simulamos o movimento em linguagem de programação FORTRAN 77 e representando tal movimento na gráfica feita no software Gnuplot 5.0 patchlevel 3.

3.2 MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA - MEV

O Microscópio Eletrônico de Varredura é uma ferramenta importante e usado frequentemente para a análise superficial das folhas. Sua maneira de obtenção das imagens é complexa, utiliza um feixe de elétrons no lugar de fótons utilizados em um microscópio óptico, o que permite ter uma melhor resolução, já que o tamanho dos elétrons é menor ao comprimento de onda da luz branca. As amostras não precisam preparação previa para sua análise, isto faz que a obtenção das imagens sejam rápidas e fáceis, e devido ao fluxo de elétrons aumenta a profundidade do campo e as imagens tem uma aparência tridimensional. (<http://hitachi.com.br/products/business/biotechnology/index.html>) o modelo trabalhado nesta investigação foi HITACHI TM3030Plus (Figura 17). Que se encontra no Laboratório de Pesquisa em Fármacos (LPF) do curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Amapá (UNIFAP).

Figura 17 - Microscópio Eletrônico de Varredura (M.E.V.), modelo HITACHI TM3030Plus.



Fonte autor.

O modelo HITACHI TM3030Plus uma qualidade da imagem e contraste superior a seus modelos antecessores, trabalha em 5 kV, 15 kV e modo EDX, simplificando a configuração de uso, é compacto, com uma ampliação de suave de

15x até 30.000x (zoom digital: 2x e 4x) as imagens topográficas com uma grande profundidade de foco, não precisa nenhuma preparação da amostra (<http://hitachi.com.br/products/business/biotechnology/index.html>).

Tabela 8 - Especificações técnicas do modelo HITACHI TM3030Plus.

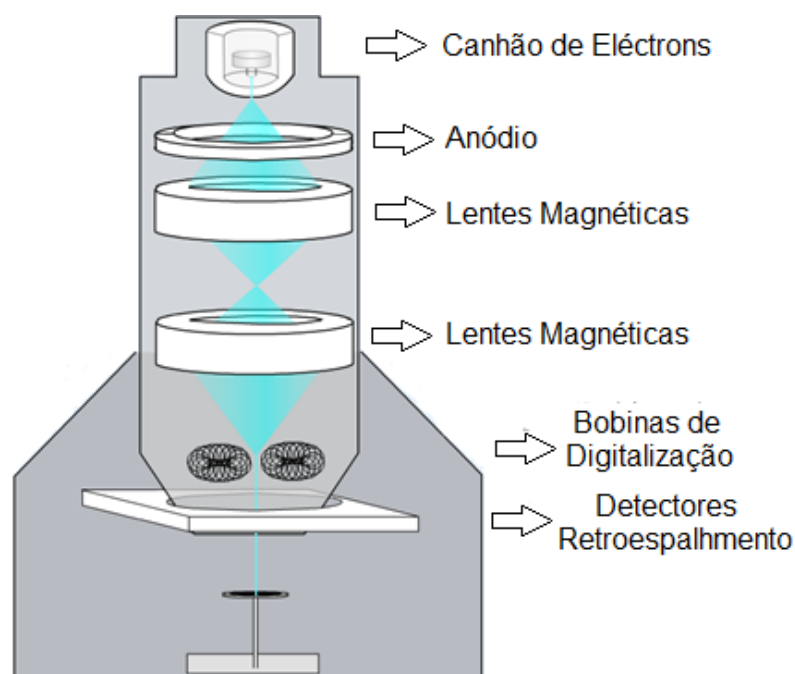
Itens	Descrição
Ampliação	×15 to ×60,000 (Up to ×240,000 Com zoom digital)
Condição de observação	5 kV/15 kV/EDX
Seleção de sinal	BSE/SE/Mix
Modo de observação	BSE: Condutor / Padrão /Charge-up Redução SE: Padrão/Charge-up Redução Mix: Padrão /Charge-up Redução
Modo de imagem (BSE)	COMPO/ Sombra 1/ Sombra 2/TOPO
Etapas da amostra transversal	X: 35.0 mm, Y: 35.0 mm
Tamanho máximo da amostra	70 mm em diâmetro
Altura máxima da amostra	50 mm
Canhão de elétrons	Filamento do cartucho pré-centrado
Autofunção de ajuste de imagem	Arranque automático, Focagem automática, Brilho / contraste automático
Sistema de evacuação (bomba de vácuo)	Turbo molecular bomba: 30 L /s × 1 unit, Bomba de diafragma: 1 m ³ /h × 1 unit
Dimensões e peso	330(W) × 606(D) × 565(H) mm, 65.0kg(Etapas manual 330(W) × 633(D) × 565(H) mm, 68.0kg(Fase de acionamento do motor) Bomba de diafragma: 145 × 256 × 217mm, 4.5kg

Fonte: http://www.hitachi-hightech.com/eu/product_detail/?pn=em-tm3030plus

3.2.1. Princípio de funcionamento MEV

Na Figura 18, temos o desenho esquemático da coluna do MEV, do modelo HITACHI TM3030Plus, que se encontra no Laboratório de Pesquisa em Fármacos (LPF) do curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Amapá (UNIFAP), onde inicia o fluxo de elétrons no canhão de elétrons que vai a impactar finalmente na amostra, e a reflexão de estes elétrons nos os detectores retroespalhamento são os responsáveis da imagem da amostra.

Figura 18 - Desenho esquemático da coluna do MEV.



Fonte: http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf

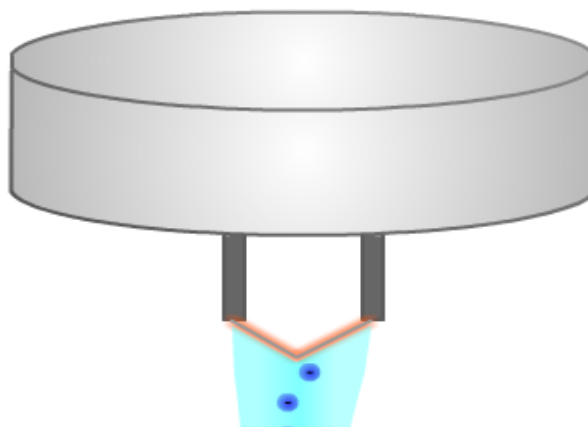
O princípio de um Microscópio de Varredura Eletrônica (MEV) consiste em utilizar um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto por linhas sucessivas e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente. Por um sistema de bobinas de deflexão, o feixe pode ser guiado de modo a varrer a superfície da amostra segundo uma malha retangular. O sinal de imagem resulta da interação do feixe incidente com a superfície da amostra. O sinal recolhido pelo detector é utilizado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação. Usa como fonte de elétrons um filamento de tungstênio (W) aquecido. O tungstênio

é tipicamente usado por ser o metal com mais alto ponto de fusão e mais baixa pressão de vapor, permitindo que seja aquecido para a emissão de elétron (https://pt.wikipedia.org/wiki/Microsc%C3%B3pio_eletr%C3%B4nico_de_varredura), operando numa faixa de tensões de aceleração de 1 a 50 kV. O feixe é acelerado pela alta tensão criada entre o filamento e o ânodo. Ele é, em seguida, focalizado sobre a amostra por uma série de três lentes eletromagnéticas com um spot menor que 4 nm. O feixe interagindo com a amostra produz elétrons e fótons que podem ser coletadas por detectores adequados e convertidas em um sinal de vídeo (DEDAVID, B. A.; CARMEM ISSE GOMES; GIOVANNA MACHADO, 2007).

3.2.1.1. Canhão de Elétrons

O canhão de elétrons (Figura 19) é usado para a produção do feixe de elétrons com energia e quantidade suficiente para ser captado pelos detectores. Esse feixe eletrônico é então demagnificado por várias lentes eletromagnéticas, cuja finalidade é produzir um feixe de elétrons focado com um pequeno diâmetro numa determinada região da amostra.

Figura 19 - Canhão de Elétrons



Fonte: http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf

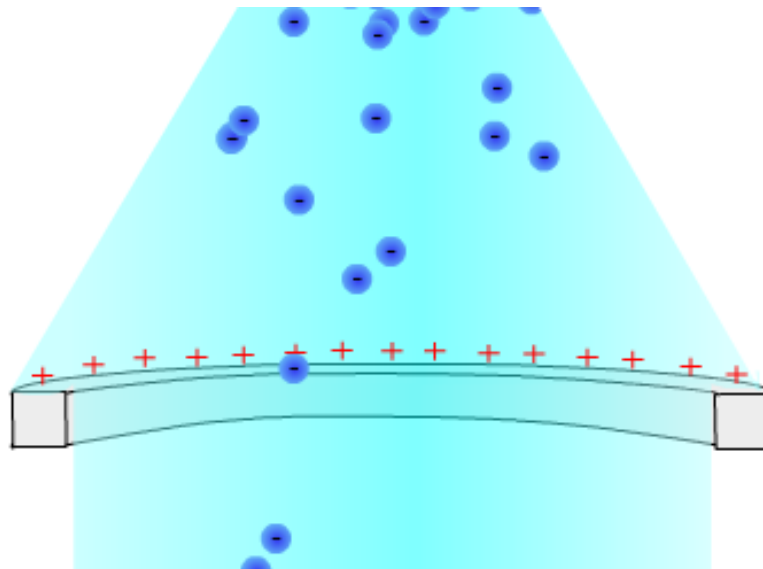
O canhão de elétrons (Figura 19) é composto basicamente por três elementos: filamento de tungstênio (W) + cátodo (cilindro de Whenelt) + ânodo. O filamento é aquecido (geralmente a 2500 °C) tal como mostra na figura 19 e causa uma emissão termiônica de elétrons. Os elétrons que são atraídos para o ânodo e

mantidos em potencial positivo em relação ao filamento na faixa de 1 a 30 kV (DEDAVID, B. A.; CARMEM ISSE GOMES; GIOVANNA MACHADO, 2007)

3.2.1.2. Ânodo

O anodo (Figura 20) é a componente do MEV, que acelera os elétrons devido a sua alta tensão que existe entre este e o filamento (DEDAVID, B. A.; CARMEM ISSE GOMES; GIOVANNA MACHADO, 2007).

Figura 20 - Ânodo



Fonte: http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf

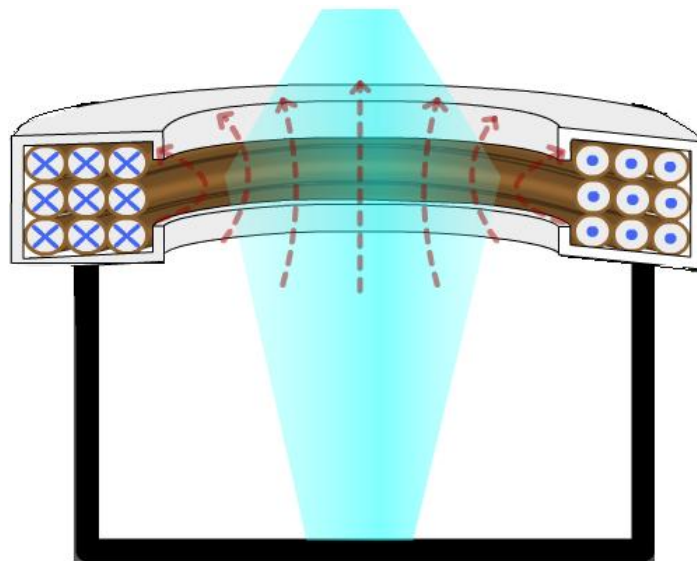
Para o MEV para ser eficaz, o feixe de elétrons tem de ter energia cinética significativa. O ânodo é utilizado para acelerar o feixe. Como os elétrons carregados negativamente se aproximam do ânodo carregado positivamente, força eletrostática acelera o feixe para o ânodo. Uma parte desses elétrons vai bater o ânodo, mas o resto vai passar pelo centro, onde produz um feixe de elétrons de alta energia. (http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf).

3.2.1.3. Lentes Magnéticas

Uma lente magnética (Figura 21) é um dispositivo para focar ou causar a deflexão de partículas carregadas tais como elétrons ou íons. Partículas carregadas

sofrem deflexão sob a ação de força de campos magnéticos. Uma lente magnética normalmente consiste de diversos eletromagnetos arranjados em um formato quadrupolo ou hexapolo. Este consiste de várias bobinas eletromagnéticas colocada nos vértices de um quadrado ou hexágono, respectivamente. Desta configuração um campo magnético convexo pode ser formado, o qual tem o efeito de focar (ou divergir) partículas carregadas (https://pt.wikipedia.org/wiki/Lente_magn%C3%A9tica).

Figura 21 - Esquema Lentes Magnéticas I



Fonte: http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf

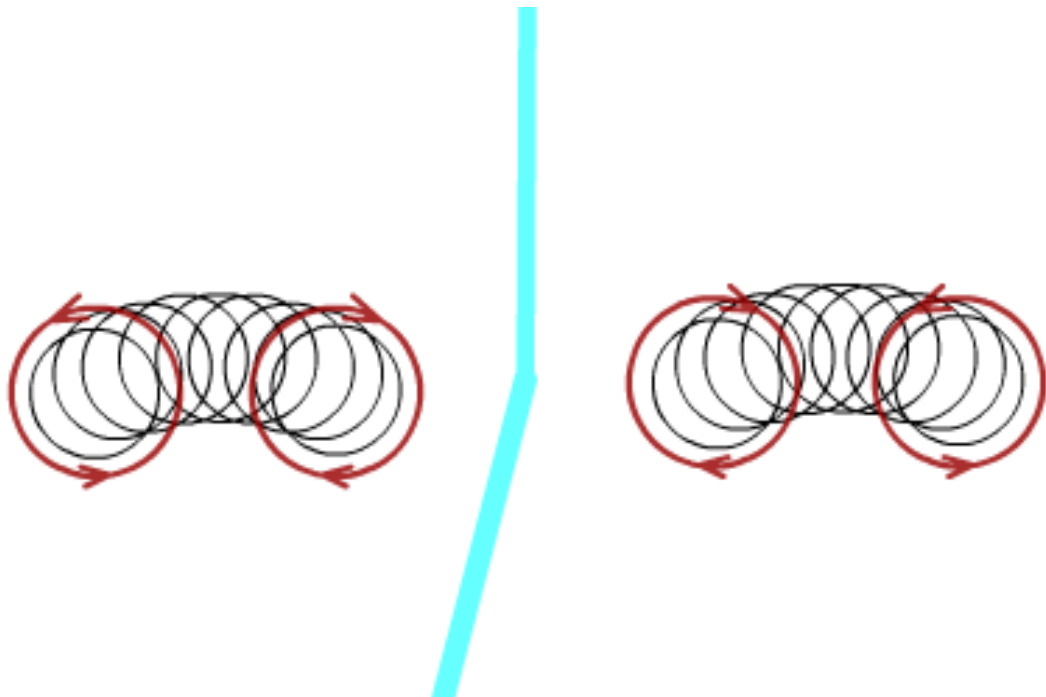
Assim como o feixe de luz de um microscópio ótico, o feixe de elétrons tem de ser ajustada de modo a que o seu ponto mais apertado é a amostra. Isto é referido como a focagem. No entanto, enquanto um microscópio de luz pode incidir movendo as lentes de vidro para mais perto ou mais longe da fonte de luz, um MEV usa lentes magnéticas. Um eletroímã equipado com várias bobinas condutoras que circula uma corrente em sentido horário e como consequência de isso produz um campo magnético como visto pelas setas vermelhas, que dobra o feixe de forma adequada, tal como se mostra na Figura 21. Ajuste da corrente para ajustar a intensidade do campo magnético, que tem o mesmo efeito sobre um feixe de elétrons como se movendo de uma lente para cima ou para baixo tem em um feixe de luz (http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf). O campo magnético B gerada pelas lentes atua sobre o feixe de elétrons e faz sua trajetória

helicoidal em torno do eixo óptico do MEV, causada pela variação de orientação da força F (força de Lorentz) atuante sobre o elétron.

3.2.1.4. Bobinas de Digitalização

O “S”, em MEV está para digitalização. O feixe de elétrons faz mais do que brilho na amostra. Para fazer isso, o feixe deve ser capaz de se mover para trás e para frente. Bobinas de digitalização capacitá-los a fazê-lo. Bobinas de análise são pequenos eletromagnetos que utilizam competindo campo magnético para mover o feixe de elétrons em diferentes direções. Se o feixe é mover para a esquerda, o eletroímã esquerdo vai puxar o feixe em direção a ele, enquanto o eletroímã apertado irá afastá-lo, e vice-versa para mover o feixe para a direita. o resultado é o feixe de elétrons fazendo uma varredura contínua, a amostra.

Figura 22 - Esquema das Bobinas de digitalização.



Fonte: http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf

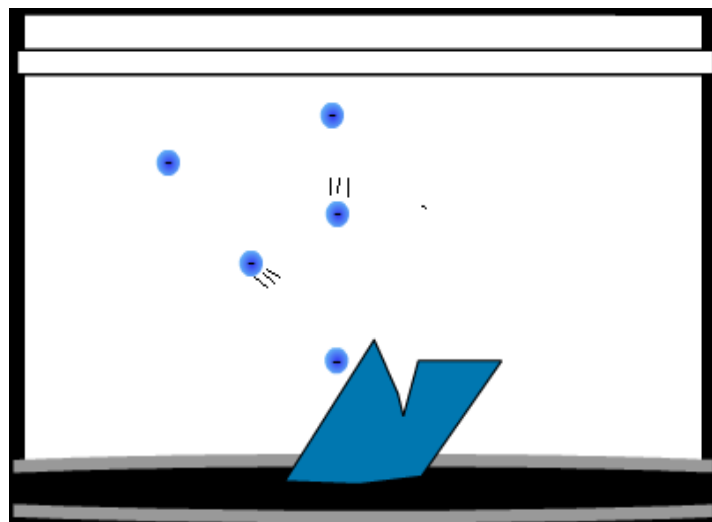
De acordo a Figura 22 pode-se observar o sentido da corrente elétrica para as bobinas são diferentes, as bobinas geram forças magnéticas em feixes de elétrons, e estas forças desviam ao feixe de elétrons de acordo à intensidade e sentido da Corrente, tais desvios dos elétrons geram os varridos na superfície foliar. A

varredura do feixe de elétrons pelas bobinas é também acompanhada pela deflexão de sua imagem no vídeo. O aumento da varredura da imagem é simplesmente a relação entre o tamanho da imagem no vídeo pelo tamanho da área varrida na amostra. Como o tamanho da imagem do vídeo não varia, as bobinas de deflexão é que serão as responsáveis pelo aumento da amostra. Quanto maior o aumento, menor a região varrida e menor a deflexão do feixe. É muito importante do fato de se poder variar o aumento da imagem somente variando a área varrida sem ter que modificar outros parâmetros do MEV. Uma consequência é a possibilidade de o operador selecionar um aumento maior do que o desejado para a imagem, podendo então focar adequadamente o feixe na amostra e com isso obter uma correta focagem (MALISKA, 1995).

3.2.1.5. Detectores Retro Espalhamento

A técnica de difração de elétrons retroespalhados (Electron Back-Scattered Diffraction - EBSD – Randle 1992; Dingley et al. 1995; Prior et al. 1999) em um Microscópio de Varredura Eletrônica (MEV), oferece a possibilidade de mapear a orientação cristalográfica e microestrutura de grãos individuais de um agregado policristalino como uma rocha, um metal ou uma cerâmica. Isto permite vislumbrar uma grande variedade de aplicações no estudo de propriedades regidas por esses dois fatores (MORALES *et.al* , 2007).

Figura 23 - Detectores Retro Espalhamento



Fonte: http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf

Na Figura 23 se observa como os elétrons entrar em contato com a amostra, eles refletem ou retroespalha, fora de sua superfície. A direção na qual os elétrones retroespalha depende da forma da superfície, enquanto o impulso (e, portanto da velocidade) dos elétrones que retornam depende da massa atômica dos átomos que ele atinge. Um detector de retroespalhamento é uma grade composta de muitas pequenas cintiladores posicionada acima da amostra, e detecta a onde os elétrons de retroespalhamento e com a quantidade de velocidade. Estes dados permitem produzir uma imagem em escala de cinza, tridimensional da amostra. (http://www.kcvs.ca/site/projects/physics_files/sem/sem.swf).

3.3 FRACTAIS EM SUPERFÍCIES FOLIARES

3.3.1 Textura foliar

A textura é uma propriedade que está relacionada com os diferentes aspectos microestruturais da rugosidade. Isto significa que as formas microestruturais presentes em uma superfície rugosa é que determina a sua textura (ALVES, 2011).

No processo taxonômico, tradicionalmente realizado sobre ramos férteis, flores e frutos, acarreta em aferições não tão precisas, pois podem conter erros causados pela manipulação humana, além de não contemplar todas as possíveis informações contidas nas amostras, como por exemplo, características de textura foliar (BACKES *et. al.*, 2011). Apesar dos muitos estudos da textura, não existe uma definição consensual e satisfatória entre os pesquisadores de visão computacional (MANDELBROT, 1983), Segundo Tuceryan e Jain (1993), a textura é definida com uma função de variações espacial nas intensidades dos *pixels*. A textura é gerada por um ou mais padrões básicos locais que se repetem de maneira periódica em alguma região da imagem (WECHSLER, 1980). A noção de textura parece depender de três ingredientes (HAWKINS, 1970).

- i. Alguma ordem local é repetida sobre a região que é maior em comparação ao tamanho da ordem.
- ii. A ordem consiste em uma organização não aleatória das partes elementares.
- iii. As partes são entidades aproximadamente uniformes, tendo aproximadamente as mesmas dimensões em todos os lugares na região de textura.

Durante as últimas décadas a textura é um atributo importante por ser uma fonte rica de informações (JUNIOR, 2013) e para o estudo computacional e processamento de imagens (GONZALES, WOODS, 2007), análise de imagens medicas (AL-KADI, 2010).

Segundo Casanova Dalcimar (2008, p. 14) computacionalmente, há quatro interesses principais em análise de textura:

1. Extração de características: calcular as características de uma imagem digital é extrair suas propriedades de textura numericamente.
2. Discriminação: particionar em regiões de textura uma imagem, onde cada partição tem uma percepção de textura homogênea.

3. Classificação: determinar a classe a que uma textura pertence dentre um número definido de classes;
4. Reconstrução: reconstruir superfícies tridimensionais a partir de informações de textura.

A extração de características (1) é o primeiro estágio em análise de textura. Os resultados obtidos deste estágio são usados para discriminação (2), classificação (3) e/ou reconstrução (4) de textura. Desta forma, nosso trabalho de investigação concentra-se nos itens 1 e 3, uma vez que objetiva-se identificar espécies vegetais por meio da análise fractal da nano textura foliar.

O referido estudo da nano textura da superfície foliar está baseado na matemática fractal, neste caso, trabalhou se com os três parâmetros fractais:

- A. Dimensão Fractal (KELLER, *et.al* , 1989).
- B. Lacunaridade (C. ALLAIN, M. CLOITRE, 1991).
- C. Sucolaridade (MELO, 2007).

Algumas imagens diferentes podem ter o mesmo valor de Dimensão Fractal, mesmo valor de lacunaridade ou até um mesmo valor de sucolaridade, porém, nunca os três parâmetros serão iguais em imagens diferentes (MELO, 2007).

A matemática fractal é uma técnica que mede quão complexo é a superfície. Em textura, esta complexidade é caracterizada pela organização dos *pixels* a complexidade é relacionada com o aspecto da textura. Assim, a dimensão fractal é uma técnica adequada para descrever a textura em termos de sua homogeneidade, tornando assim possível a comparação entre diferentes texturas (TRICOT, 1995; LANGE, 1996).

Dimensão fractal caracteriza a Textura pela repetição exata ou com pequenas variações, de um modelo sobre uma região. Trata-se de uma característica diretamente relacionada com as propriedades físicas (rugosidade) da superfície de um objeto (EBERT. *et al.*, 1994).

Uma região em uma imagem tem uma textura constante se o conjunto de estatística local ou outras propriedades locais da função da imagem são constantes, tem pouca variação ou é aproximadamente periódica (SKLANSKY, 1978), em nossa superfície foliar estudada cumpre isto, é dizer tem uma textura constante, já que os parâmetros fractais significativamente permanecem constante.

A base denominada texturas foliares consiste em amostras de textura em níveis de cinza extraída de folhas de plantas. A identificação de folhas plantas é uma tarefa complexa devida á alta variabilidade dentro de uma mesma classe, assim como grande similaridade entre classes distintas (PLOTZE, 2009; BACKES, 2011). Para os cientistas é um grande desafio desenvolver ferramentas computacionais para identificação de espécies de plantas. Isto é porque a textura pode fornece características intrínsecas da superfície, tornando possível a diferenciação de imagens semelhantes. Embora tenha mais de meio século estudando a textura, e ainda não existe um consenso sobre sua definição e nem mesmo um método de extração de característica de textura que seja eficiente para todos os tipos de imagens. Além disso, os métodos da literatura analisam os padrões de textura de maneira global, considerando que uma imagem apresenta um conjunto de micro padrões que formam um único padrão global ou homogêneo de textura na imagem. No entanto, alguns tipos imagens apresentam heterogeneidade em sua composição, o seja, o conjunto de micro padrões na imagem é responsável por formar mais de um padrão de textura dentro da mesma imagem (SILVA, 2015).

3.3.2 Fractais

Segundo Mandelbrot (1983), a palavra fractal foi cunhada em 1975 pelo matemático Benoit Mandelbrot. Tomando esta Palavra do latim fractus ou frangere, sugerindo "fragmentado, quebrado, descontínua e irregular." (RIVERA; LÓPEZ, 2011) os fractais oferecem uma nova maneira científica de pensar sobre os fenômenos naturais.

Os fractais são objetos que exibem a mesma riqueza de detalhes à medida que diminuimos a escala de observação, ou seja, um pedaço é semelhante ao todo. A sua estrutura geométrica pode ser descrita em termo de uma dimensão não inteira denominada de dimensão fractal. Ainda, os fractais podem ser classificados em auto-similares ou auto-afins. Os fractais auto-similares são objetos capazes de reproduzir nos sentidos estatísticos dois partes distintas de tamanhos diferentes. Isso é feito através de uma transformação ou reescala isotrópica, que utiliza um mesmo fator de escala em todas as direções. Já nos fractais auto-afins a sobreposição de duas partes de tamanhos distintos desses objetos somente é

possível através da utilização de um fator de escala dependente da direção. Esse processo é realizado mediante a uma transformação anisotrópica (RIBEIRO, 2008).

A natureza está repleta de estruturas fractais denominada de fractais naturais. Uma árvore e suas folhas, rochas e nuvens são exemplos de formas fractais, aglomerados de estrelas ou galáxias, ramificações de uma bacia hidrográfica, a rugosidade do relevo terrestre (elevações e depressões), a compreensão da morfologia das folhas dos vegetais, da copa das árvores, da estrutura das plantas e das árvores, e da sua distribuição em uma floresta, o sistema de vasos sanguíneos e do sistema nervoso, bem como a formação esponjosa dos pulmões, a estrutura de empacotamento do cérebro com suas dobras (REBELO NUNES, 2006).

Em meados do século 20, B.B. Mandelbrot mostrou que superfícies reais ásperas podem ser tratadas como fractais dentro de certos limites espaciais. Isso significa que, dentro desses limites, a morfologia da superfície conserva certas propriedades estatísticas quando a escala é alterada (CRUZ, 2002).

A matemática fractal trata com mais peculiaridade da descrição matemática de padrões e estruturas fragmentadas. Ou seja, por meio da matemática fractal é possível, a princípio, quantificar e descrever de uma forma geral, qualquer estrutura desordenada, aparentemente irregular presentes em diversos fenômenos (como uma superfície rugosa, por exemplo) (MANDELBROT, 1982). Assim a partir do surgimento da geometria fractal tornou-se necessário uma revisão dos conceitos matemáticos para uma nova descrição fenomenológica das teorias e modelos desenvolvidos com base na geometria euclidiana (ALVES, 2011), uma das características gerais de sistemas biológicos é a sua natureza fractal (CARMEN; MARIN, 2011).

Características de um fractal

1. Ter a mesma aparência em qualquer escala de observação.
2. Tem comprimento infinito.
3. Não seja diferenciável.
4. Ter dimensão fraccionada ou fractal.

3.3.3 Tipos de fractais

3.3.3.1 Fractais Auto-Similaridade

As principais propriedades que caracterizam os fractais são a autosemelhança, a complexidade infinita e a sua dimensão. A autosemelhança é identificada quando uma porção, de uma figura ou de um contorno, pode ser vista como uma réplica do todo, numa escala menor (ASSIS. et al., 2012).

Até então a definição de fractal estava relacionada com a capacidade de se obter a mesma figura (ao menos estatisticamente) ao se efetuar uma mudança de escala. Há fractais onde uma transformação de escala com o mesmo fator para todas as direções, leva a sistemas similares, denominados fractais auto-similares. Tal como se amostra na Figura 24 (FAVARETTO, 2004).

A autossimilaridade dos fractais pode ser autossimilaridade exata onde o fractal é idêntico em diferentes escalas, geralmente é uma característica de fractais gerados por meio de iterações e autossimilaridade estocástica, neste caso, o fractal possui medidas estatísticas que são preservadas em diferentes escalas, como os fractais estocásticos (MANDELBROT, 1983).

Fractais autossimilaridade (Figura 24) são invariantes segundo uma transformação por escala isotrópica, ou seja, quando todos os seus eixos são reescalados por um mesmo fator. Isso significa que eles são formados por partes que são similares ao todo. Se cortarmos uma parte de um objeto fractal, e olharmos este pedaço como um todo, o objeto resultante parecerá (num sentido estatístico) com o original.

Figura 24 - Auto-Similaridade



Fonte: http://www.cei.santacruz.g12.br/~multi_trabalhos/fractal/fractaisbio.html

3.3.3.2 Fractais Auto-Afim

No estudo de superfícies estaremos trabalhando com uma subclasse de fractais anisotrópicos, descrito por funções que apresentam auto-afinidade (FERREIRA, 2009). Temos a Figura 25, uma função auto-afim: Mostramos três iterações da figura. Cada iteração a figura é reescalada por fatores diferentes em cada direção (FARIA, 2002).

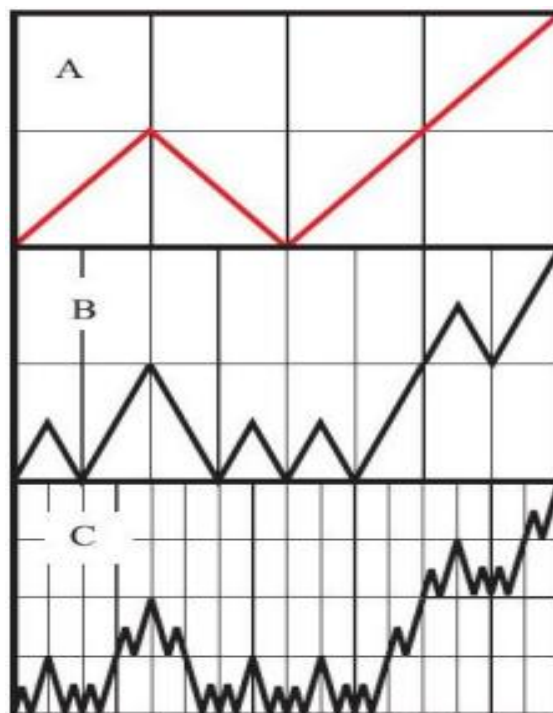
Uma função que representa um perfil típico dos fractais auto-afins, e que é unívoca, tem a seguinte propriedade:

$$F(x) = b^{-H}F(bx) \dots \dots \dots (1)$$

onde $H > 0$, conhecido como expoente auto-afim ou expoente de Hurst, é um expoente que expressa uma quantidade mensurável chamada de rugosidade da função $F(x)$. A equação mostra que uma função auto-afim deve ser reescalada diferentemente na abscissa e na ordenada. No caso especial de $H=1$, a transformação por escala é isotrópica e o objeto é auto-similar. (RESENDE, 2008).

A continuação se mostra a Figura 25, onde indicasse uma superfície auto afim em um processo de três iterações.

Figura 25 - Função auto afim. Mostramos três iterações.

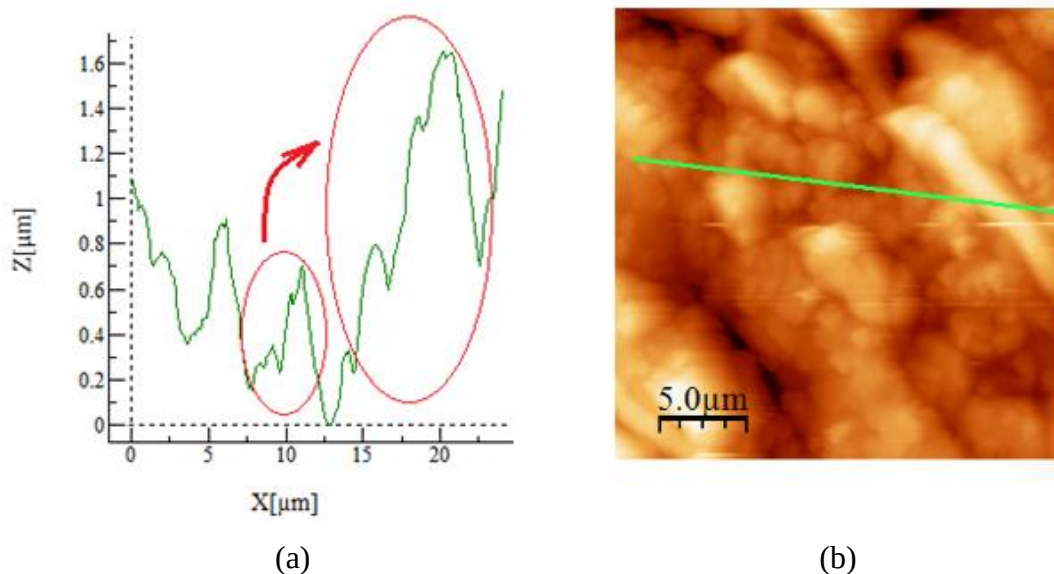


Autor: ATMAN, A. P. F, 2002

Na Figura 25, se observa que as primeiras três iterações da construção de um objeto geométrico auto-afim. Em cada passo, todos os segmentos de linha, como em (a) são substituídos pela construção mostrada em (b). Cada segmento de linha em (b) foi reduzido pelas escalas vertical que é representado pela função R_y ($R_y = 1/2$) e horizontal pela função R_x ($R_x = 1/4$) em comparação com a linha em (a). Este é um modelo de Rugosidade.

Na Figura 26b temos a superfície topográfica em dois dimensões, em seguida uma linha oblíqua foi traçada na superfície topográfica da folha *Copaifera sp.* e assim desta maneira obter o perfil de tal linha (figura 26a) e verificar sua propriedade fractal da superfície foliar.

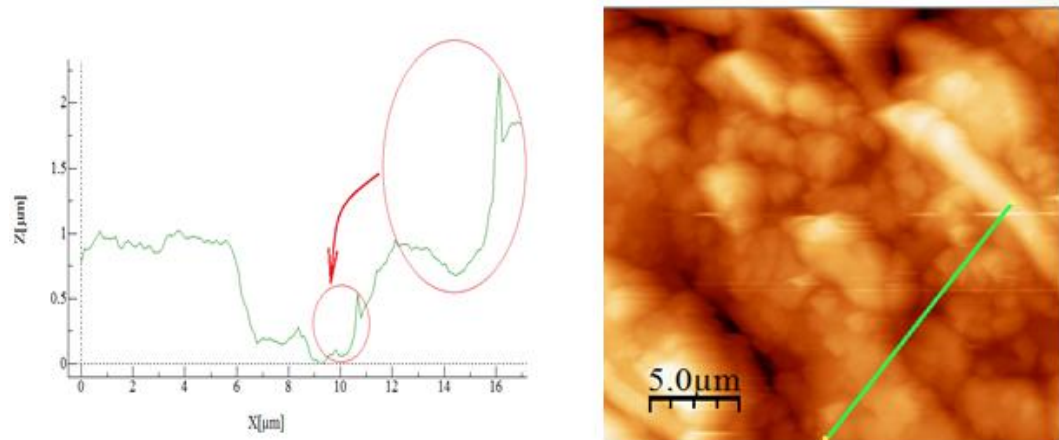
Figura 26 - Perfiloblíquo superior da imagem da *Copaifera sp*



Fonte: autor

Na Figura 26, traçamos uma linha oblíqua de cor verde, obtivemos o perfil e podemos observar que tem três alturas que são de a mesma forma, que são caraterísticos de um fractal auto afim, em este caso está representado pela rugosidade da superfície foliar, os picos máximos estão separados no eixo "x" aproximadamente $10\mu\text{m}$, e em eixo "y" $0,9\mu\text{m}$, a altura máxima aproximadamente $1,7\mu\text{m}$.

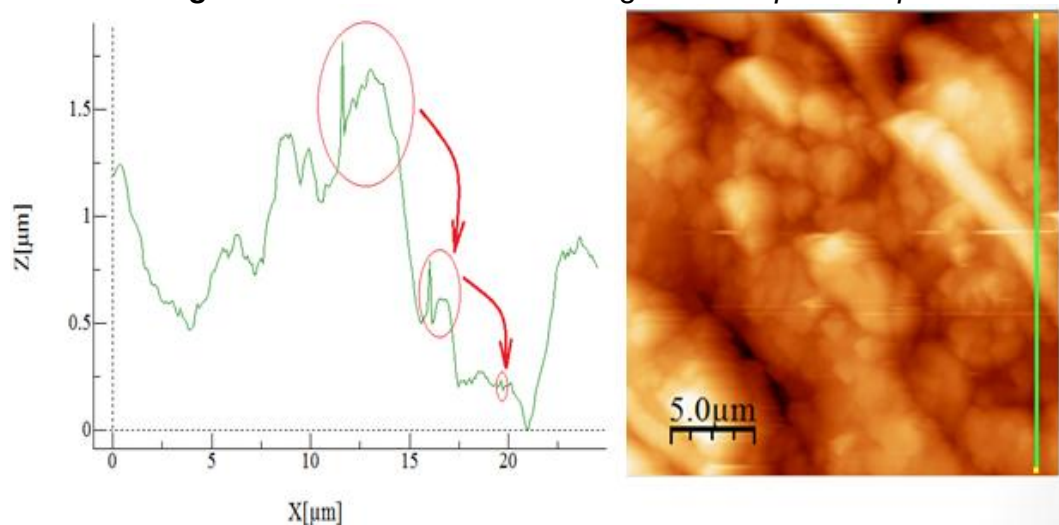
Figura 27 - Perfil oblíquo inferior da imagem da *Copaifera sp*



Fonte: autor

Na Figura 27, traçamos uma linha oblíqua na parte inferior direita de cor verde, obtivemos o perfil e podemos observar que tem dois alturas que são de a mesma forma, que são caraterísticos de um fractal auto afim, e está representado pela rugosidade da superfície foliar. Neste caso a rugosidade tem a altura máxima maior a $2,5\mu\text{m}$, os picos máximos estão separados no eixo “x” aproximadamente $5\mu\text{m}$, que é a metade da figura 27, e em eixo “y” $2\mu\text{m}$, que é aproximadamente o dobro.

Figura 28 - Perfil vertical da imagem da *Copaifera sp*



Fonte: autor.

Na Figura 28, traçamos uma linha vertical na parte direita de cor verde, obteve-se o perfil e podemos observar que tem três alturas que são de a mesma forma, que são caraterísticos de um fractal auto afim, e está representado pela rugosidade da superfície foliar. Neste caso a rugosidade tem a altura máxima maior a $1,75\mu\text{m}$, os picos máximos estão separados no eixo “x” aproximadamente $5\mu\text{m}$ (ambas variações) que é a metade da Figura 29, e em eixo “y” $1\mu\text{m}$, para a primeira variação vertical, e aproximadamente 0,5 para a segunda variação vertical (de acima para abaixo) se conclui e que superfície foliar da *Copaifera sp.* tem um comportamento fractal auto afim.

3.3.4 Importância dos fractais

Os fractais são importantes, por que tem uma melhor aproximação ao estudo das superfícies e em nosso caso na superfície da folha da *Copaifera sp.*, e nos fornece de três parâmetros, que tem relação direta com parâmetros físicos, dimensão fractal (rugosidade), lacunaridade (permeabilidade), e sucularidade (molhabilidade) que caracterizam completamente a textura da superfície (KADIR, et al., 2011). Segundo Dalcimar Casanova (2008), as texturas naturais possuem uma dimensão topológica não inteira e, em muitos casos, também apresentam uma estrutura não periódica. Desta forma, torna-se interessante fazer uso dos fractais na caracterização da textura superficial da folha vegetal *Copaifera sp.*

A teoria fractal, do ponto de vista da física, diz respeito ao estudo de estruturas irregulares que apresentam a propriedade de invariância por transformação de escala autosimilaridade, ou auto-afinidade, propriedade esta em que as partes são similares ao todo, em escalas sucessivas de ampliação ou redução em uma ou em todas as direções (MANDELBROT, 1983).

3.3.4.1 Leis de escala e rugosidade

A dimensão fractal (DF) é a técnica que descreve bem a rugosidade, já que ambas crescem simultaneamente, então mais rugosa é uma superfície, maior grau de complexidade e, portanto, maior dimensão fractal (RIAÑO-ROJAS, 2008), a maioria das superfícies reais tem muita rugosidade em escalas de comprimento diferentes, e este facto é tomado em consideração nesta análise.

Quando a rugosidade ocorre em diferentes escalas de comprimento, surgem novos comportamentos da rugosidade, onde, por exemplo, a força de adesão pode desaparecer ou pelo menos ser fortemente reduzido, se a superfície áspera pode ser descrito como um fractal auto-afim com dimensão fractal $DF=2.5$, Isto significa que para tal dimensão fractal a rugosidade é máxima (PERSSON, 2001).

As superfícies reais tem rugosidade variada de acordo de a escala de comprimento. É por isso que é muito importante trabalhar as superfícies como fractal auto afim. Neste caso, as propriedades estatísticas da superfície são invariantes sob a transformação.

$$X \rightarrow X\xi$$

$$Z \rightarrow ZH^\xi$$

Onde $X = (x, y)$ é o vector de posição bidimensional no superfície plana, e em que $0 < H < 1$. Isto implica que, se é h_a a amplitude da rugosidade da superfície sobre a escala de comprimento λ_a , em seguida, a amplitude h da rugosidade da superfície na escala de comprimento λ será de ordem.

$$h = h_a \left(\frac{\lambda}{\lambda_a} \right)^H \dots\dots\dots(2)$$

H se o chama parametro de Hurts. (PERSSON; 2001).

No caso de superfícies, um conceito importante é a medida de sua rugosidade. Na Figura (4) é mostrado um esquema simples que representa partículas atingindo uma superfície unidimensional. Cada quadrado representa uma partícula. A dimensão horizontal é formada de L quadrados. A função $W(L, t)$ que caracteriza a rugosidade Euclidiana, da superfície é chamada de largura da interface (*interface width*) e é definida como (PITHAN, 2011).

$$W(L, t) = \sqrt{\frac{1}{L} \sum_{i=1}^L [h(i, t) - \bar{h}(i, t)]^2} \dots\dots\dots(3)$$

Nesta equação, $h(i, t)$ é a altura da coluna i (posição horizontal) no instante t e $\bar{h}(i, t)$ a sua média neste instante, ou seja:

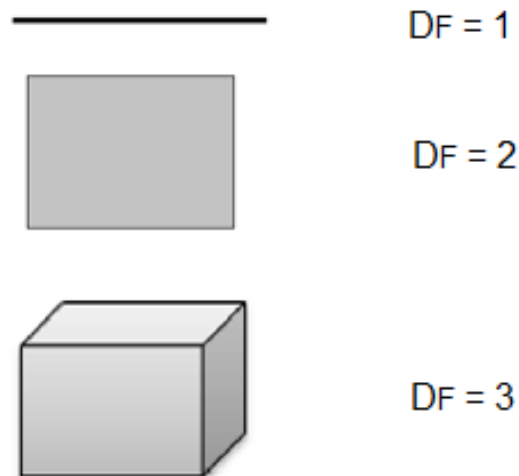
$$\frac{1}{L} \sum_{i=1}^L [h(i, t)] \dots\dots\dots(4)$$

3.3.6 Dimensão Fractal

Segundo Mandelbrot (1983), os fractais são objetos gerados pela repetição de um mesmo processo recursivo, apresentando irregularidade em sua forma, autossemelhança e complexidade infinita. Além dessas características importantes os fractais apresentam uma medida que quantifica a densidade dos mesmos no espaço métrico (Euclidiano) em que são definidas. Essa medida é chamada de dimensão fractal que é utilizada como uma metodologia para aferir a complexidade de uma imagem (PLOZET, 2009).

Na Figura 29, se observa que a dimensão fractal para um linha é a unidade, mas se esta linha tem picos o que chamaríamos rugosidade a dimensão fractal ficaria entre os valores de 1 e 2, agora a dimensão fractal de uma superfície lisa é 2; pero se esta superfície tem rugosidade o valor da dimensão fractal ficaria entre os valores 2 e 3.

Figura 29 - Dimensão Fractal de uma linha, plano, caixa

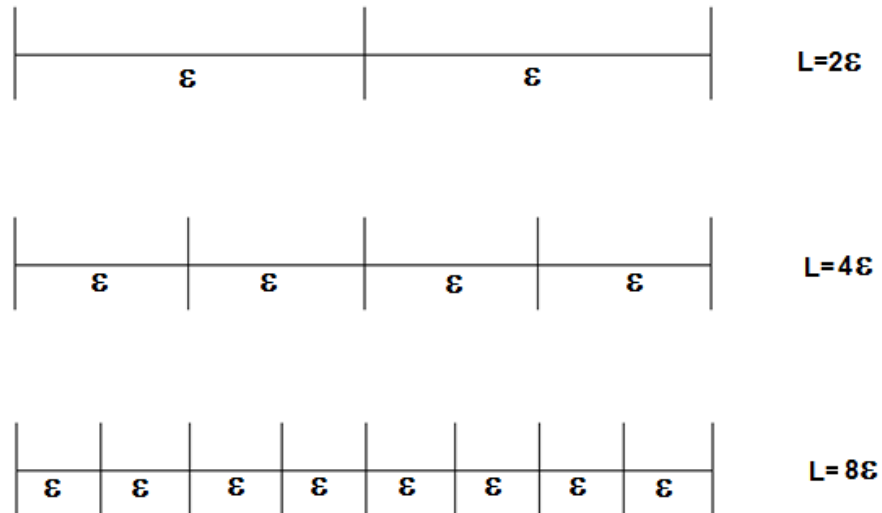


Fonte: autor.

A dimensão fractal descreve o grau de irregularidade ou a textura da superfície. Com esta abordagem mais áspera, irregular ou mais, as estruturas têm uma dimensão fractal superior (FEDER, 1988).

Na Figura 30, se vai demonstrar como se obteve a dimensão fractal, iniciando primeiro com uma linha, e fazendo as divisões, depois com um plano y fazendo também as divisões, e por último em um cubo, $N(\varepsilon)$ é numero de divisões, se a divisão ε é menor o $N(\varepsilon)$ é maior, ou vive versa.

Figura 30 -Comprimento de uma linha em função de sua partição ε



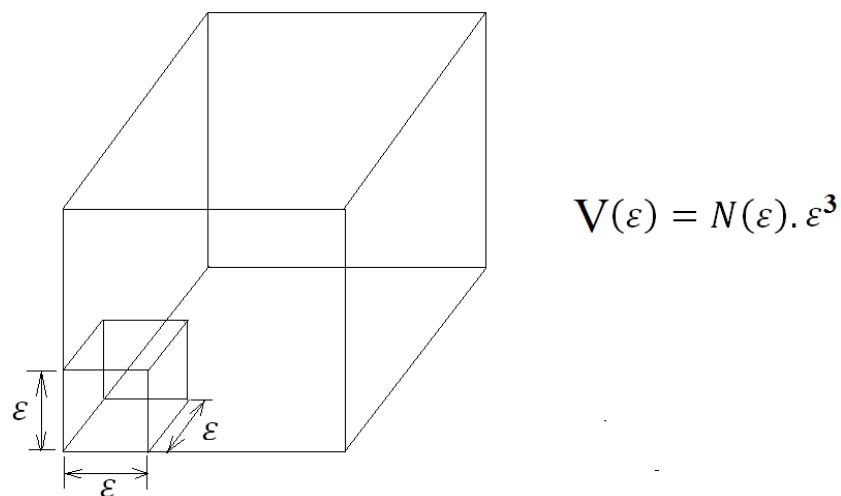
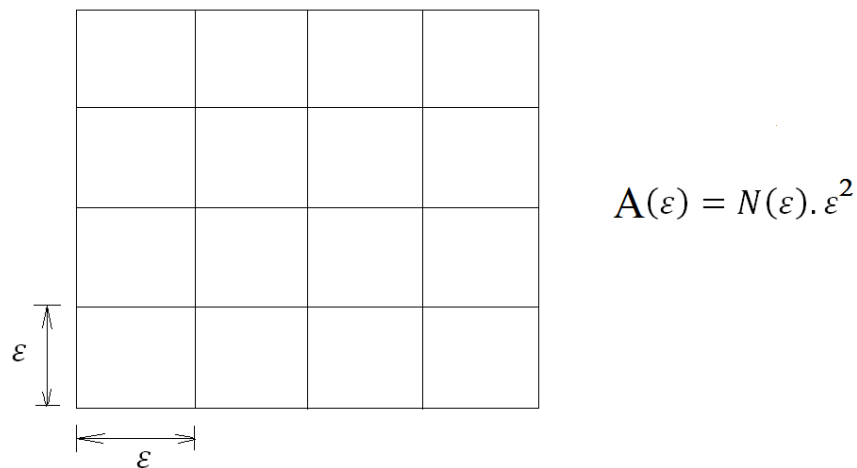
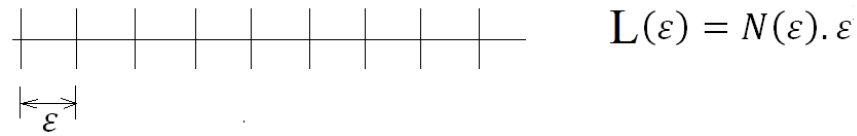
Fonte: autor.

De acordo a Figura 30, temos que a menor valor de ε , mais divisões tem, então o comprimento total é, $L = N(\varepsilon) \cdot \varepsilon$, onde $N(\varepsilon)$, é o numero de partições e este valor vai depender do tamanho de ε , é dizer mais pequeno é o valor de ε , maior o é valor de N , ou vice-versa ; mais grande o é valor de ε , menor o é o numero de N .

Na seguinte Figura 31, temos uma linha, uma superfície e um volume, onde para a linha se faz N divisões, cada divisão é L/N , o mesmo se faz para a superfície, é dizer que uma superfície se divide em quadrados, onde cada quadrado é Área total/ N ; N é o número total de quadrados. Da mesma maneira fazemos para o volume.

Tais divisões são mostradas na seguinte figura 31, longitudinal, superficial e volumétrico.

Figura 31 - Linha, área e volume em função de sua partição ε



Fonte: autor.

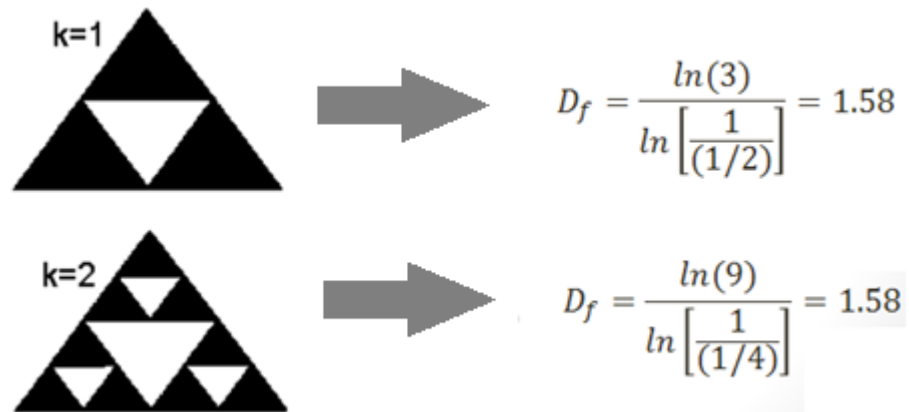
De acordo as Figuras anteriores observados que mais pouco é ε , maior é o número de $N(\varepsilon)$, e vice-versa, em conclusão $N(\varepsilon)$ é inversamente proporcional ε .

$$N(\varepsilon) \approx \varepsilon^{-D}$$

Para o saco linear $D=1$, superficial $D=2$, volumétrico $D=3$; em termos fractal temos:

$$\dots\dots\dots(5) \quad DF = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{\ln N(\varepsilon)}{\ln (1/\varepsilon)}$$

Figura 32 - Cálculo da Dimensão Fractal



Fonte: autor.

De acordo a figura 32 temos o exemplo como calcular a dimensão fractal de uma figura plana, observa-se que em ambos os casos a dimensão fractal o é mesmo valor (1.58).

3.3.6.1 Métodos para calcular a dimensão fractal-comparação

Os principais métodos para a estima da dimensão fractal

- Massa raio
- Analise intersecção acumulativa
- Divider (compass)
- Builigand-Minkowski,
- Box-Counting

3.3.6.2 Massa raio

O método de cálculo da massa-raio para calcular a dimensão fractal, consiste em sobrepor círculos em uma imagem binaria e contar a quantidade de pontos (*pixels*) presentes no interior do círculo. (Figura 33). Tal método se baseia na equação. (MARTINS, A. S., 2013)

$$M_r(A) = \alpha r^D$$

Desta equação temos a dimensão fractal, no limite $r \rightarrow 0$

$$D = \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\ln(M_r(A))}{\ln(r)} \dots\dots\dots(6)$$

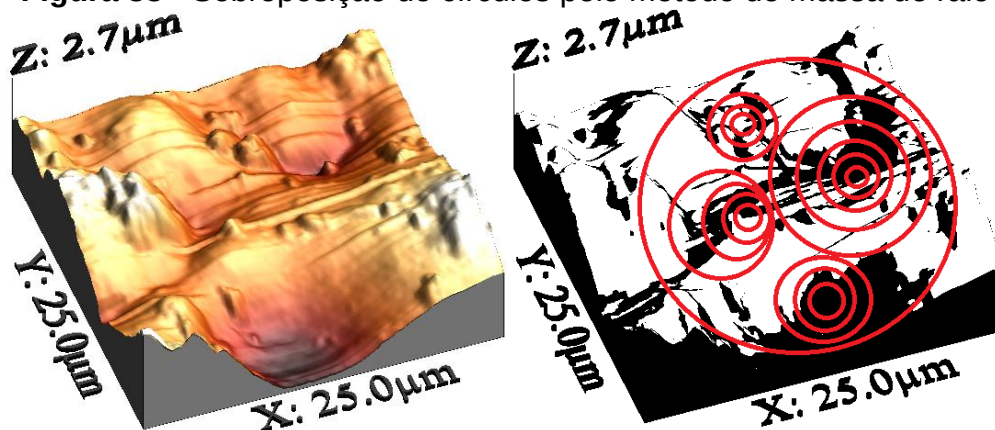
Onde:

D : Dimensão fractal

$M_r(A)$: Número de pontos de uma imagem A (*pixels*) presentes em um círculo de raio r .

α : Constate

Figura 33 - Sobreposição de círculos pelo método de massa de raio

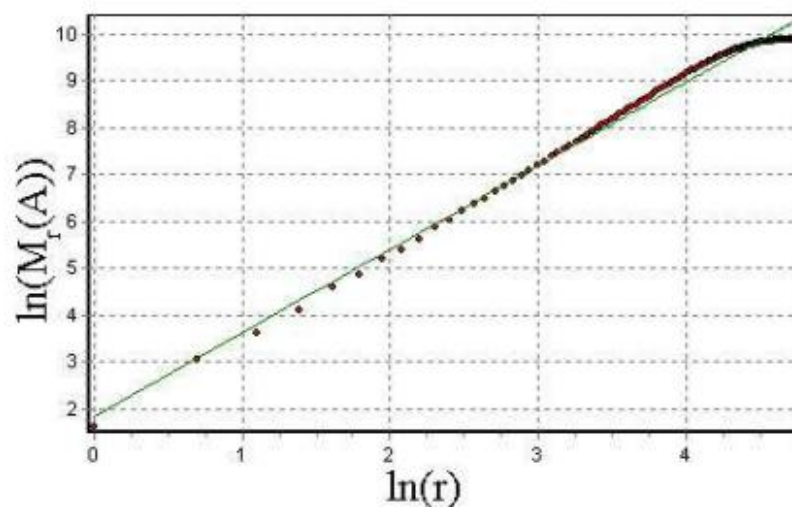


Fonte: autor.

Para calcular da dimensão fractal neste método, um ou mais círculos podem ser utilizado como podemos observar na figura 33. No caso de se utilizar apenas um círculo, é interessante escolher o centro do círculo como sendo o centro de massa da forma analisada. Já no caso de se utilizar vários círculos, um mecanismo de sorteio pode ser utilizado para se escolher os diferentes centros dos círculos, além é claro de se considerar a massa média calculada pelos vários círculos.

Na Figura 34, traçando o gráfico de entre $\log(M_r(A))$ e $\log(r)$, raio do círculo usado, obtém-se aproximação de uma reta com coeficiente angular α , onde $D=\alpha$ é dimensão fractal de A.

Figura 34 - Gráfico do logaritmo da massa acumulada em relação de logaritmo de raio



Fonte : Schroeder, 1996.

3.3.6.3 Análise Intersecção Acumulativa

O método da intersecção acumulativa foi desenvolvido por Schierwagen em 1990, baseado no trabalho de Scholl no ano 1953. É um método parecido ao método massa raio, no entanto, ao invés de calcular a massa de uma região esse método calcula o número de intersecção ou subdivisões existentes nessa região (CORNFORTH, 2002), e se baseia na relação.

$$M_r(A) = \alpha r^D$$

Obtém-se a dimensão fractal (D):

$$D = \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\ln(M_r(A))}{\ln(r)} \dots\dots\dots(7)$$

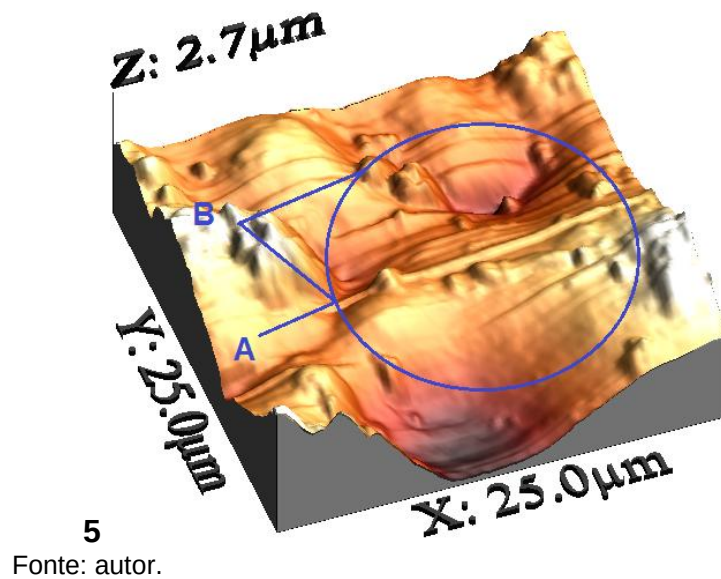
Onde:

D : Dimensão fractal

$M_r(A)$: Número de intersecções de uma imagem A (*pixels*) presentes em um círculo de raio r .

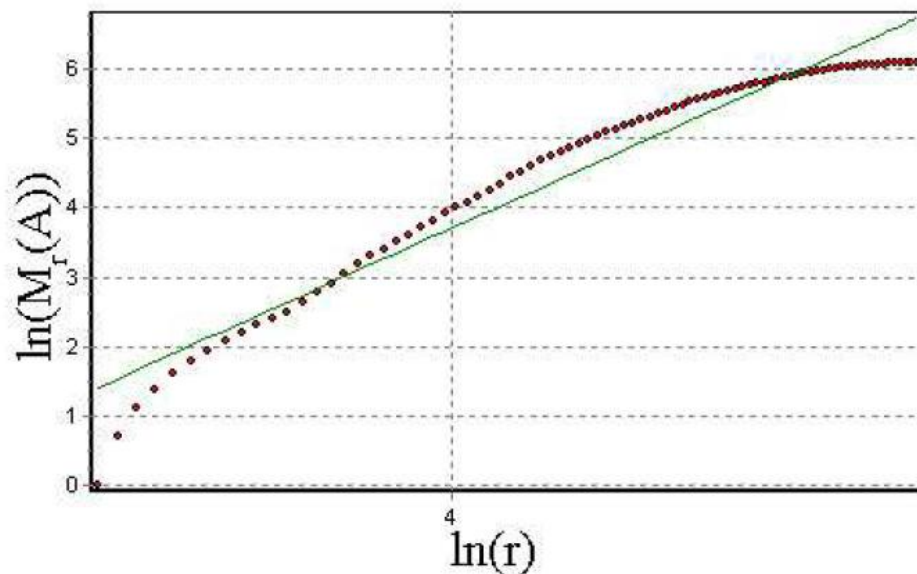
α : Constate

Figura 35 - Método de Análise Intersecção Acumulativa



Observa-se na Figura 35 a contagem de intersecções é então realizada ordenando os pontos pertencentes à forma e à borda do círculo pelo valor do ângulo que fazem com o centro do círculo, sendo após isso verificada a adjacência de pontos consecutivos.

Figura 36 - Gráfica log-log da variação do número de intersecções em relação ao raio



Autor: André Ricardo Backes.

Na Figura 36, traçando o gráfico de log-log entre $M_r(A)$, número de intersecções para um raio r , e r , raio do círculo usado, obtém-se aproximação de uma reta com coeficiente angular α , onde $D=\alpha$ é dimensão fractal de A .

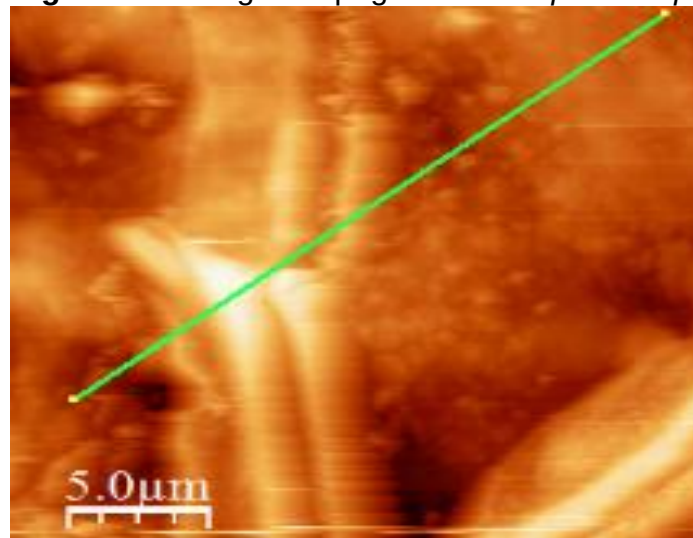
3.3.6.4 Método Dividers

O método Dividers tem dificuldade de estimar a dimensão fractal da maioria das formas devido à sua própria definição. Por basear-se no contorno externo, formas que possuíam informação interna (como o triângulo de Sierpinski ou um contorno indefinido (como o TreeLike) não puderam ser classificados por este método. No entanto ele mostrou-se eficiente para formas como uma reta e a curva de Koch (curvas abertas em geral) em suas diversas configurações utilizadas.

O método Dividers (STOYAN et al., 1994), também conhecido como Compass (MANDELBROT, 1983), é um dos métodos mais simples para estimar a Dimensão Fractal de objetos e curvas que possuam um contorno definido (membrana de célula, linha costeira...). Trata-se de um método exato apenas para curvas auto-semelhantes (NORMANT, 1991). Ele é baseado no fato do perímetro de um fractal ser proporcional ao tamanho de uma régua r usada para medir o seu contorno. Partindo-se da relação.

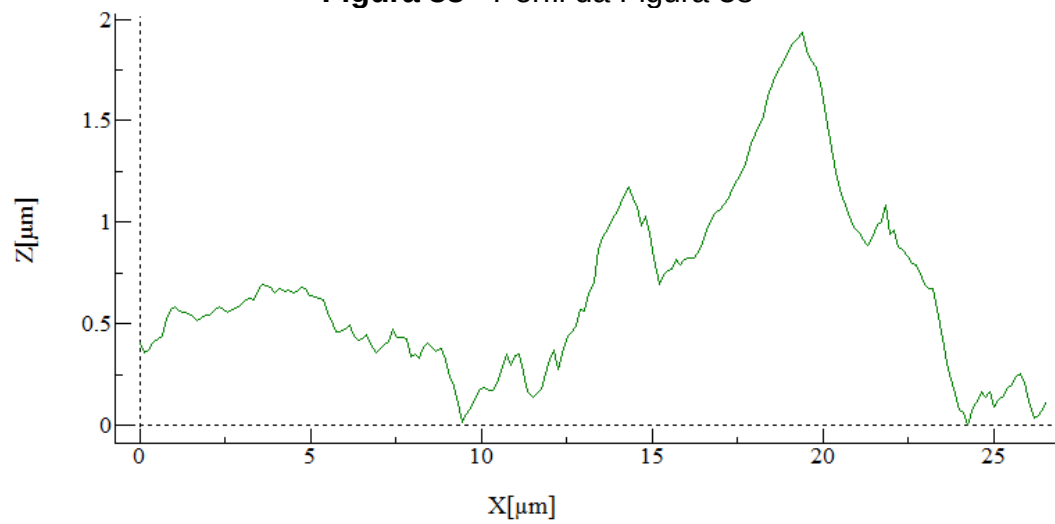
Na Figura 37, traçamos uma linha oblíqua assim obter seu perfil tal como se observa na Figura 38.

Figura 37 - Imagem topográfica da *Copaifera* sp.



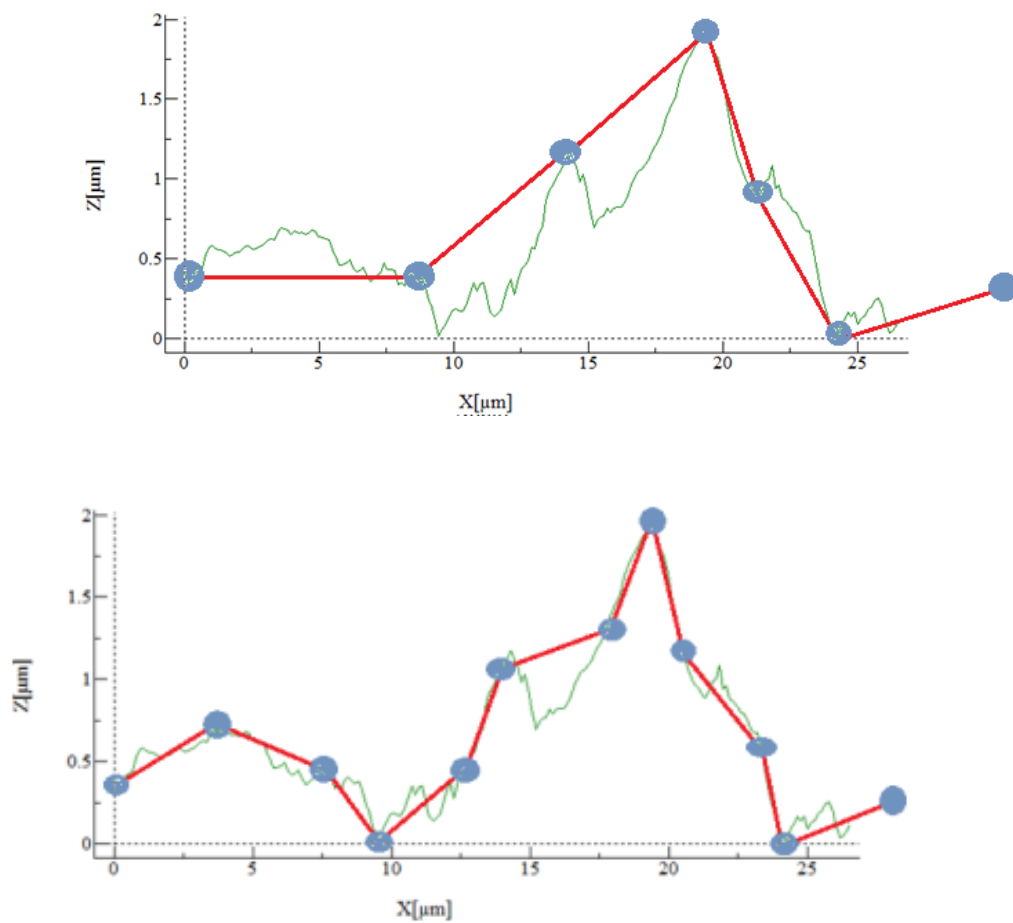
Fonte :autor.

Figura 38 - Perfil da Figura 38



Fonte: autor.

Figura 39 - Medida para diferentes valores de r



Fonte: autor.

Uma régua de tamanho r movendo-se ao longo do perímetro P (Figura 39), obtém-se o comprimento $l(r)$ do perímetro, onde cumpre a seguinte relação.

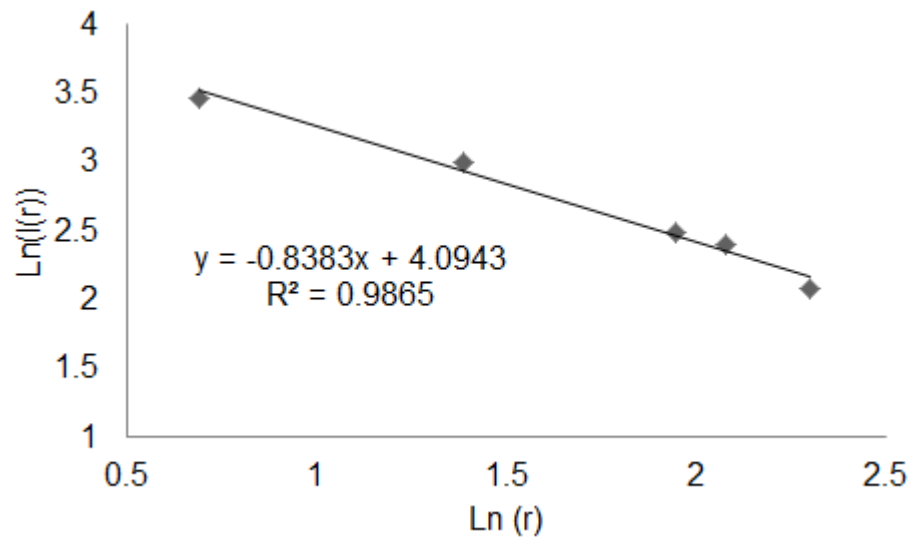
$$l(r) = cr^{1-D}$$

Onde aplicamos logaritmo a ambos os membros têm

$$D = 1 - \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\ln(l(r))}{\ln(r)} \dots\dots\dots(8)$$

A gráfica $\ln(l(r))$ vs $\ln(r)$, obtém-se uma reta aproximadamente com coeficiente angular α , onde $D = 1 - \alpha$ (MANDELBROT, 2000)

Figura 40 - Gráfica $\ln(l(r))$ vs $\ln(r)$



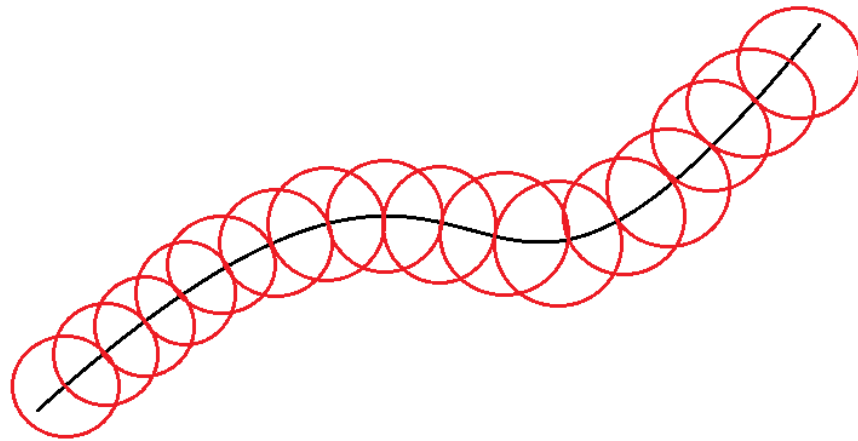
Fonte: autor.

De acordo a Figura 40, se tem a dimensão fractal $D=1-(-0,8383)=1,8383$

3.3.6.5 Método de Bouligand-Minkowski

O método de Bouligand-Minkowski ou Dimensão de Minkowski é um dos métodos que produz os resultados mais acurados e consistentes para dimensão fractal (TRICOT, 1995).

Figura 41 - Dilatação de uma curva com um disco de raio r .



Fonte: autor.

A dimensão fractal de Minkowski é obtida varrendo-se um disco de raio r continuamente ao longo dos pontos que compõem o objeto na imagem (Figura 41), sendo cada um desses pontos considerado como o centro do disco no momento da dilatação. Os pontos limitados pelo disco e que não constituem o objeto são então contados, sem repetição, fornecendo assim a área dilatada $A(r)$ do objeto (J. SERRA, 1982). A dimensão fractal pode então ser obtida a partir da relação entre $A(r)$ e r , de modo que:

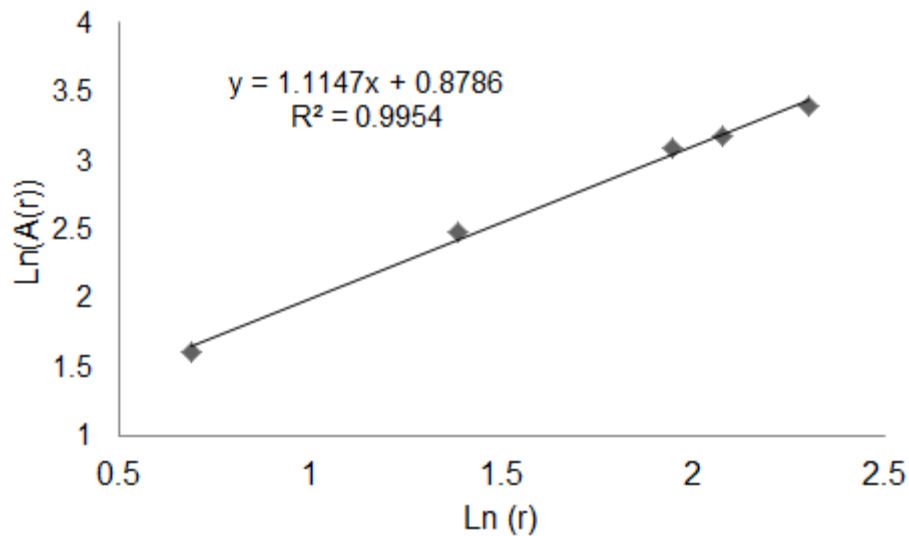
$$D = 2 - \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\log(A(r))}{\log(r)} \dots\dots\dots(9)$$

A partir do gráfico log-log de $A(r)$ (área de influência para um raio r) por r (tamanho do raio de dilatação) obtém-se a aproximação de uma reta de coeficiente angular α , sendo.

$$D = 2 - \alpha$$

Onde D é a dimensão fractal do objeto (FALCONER, 1990).

Figura 42 - Gráfica $\ln(A(r))$ vs $\ln(r)$



Fonte: autor.

De acordo a Figura 42, Traçando o gráfico de log-log entre $A(r)$ e r , obtém-se aproximação de uma reta com coeficiente angular α , onde $D=\alpha$ é dimensão fractal de A.

3.3.6.6 Método de Box-Counting

O método Box-Counting, procede da teoria dos fenômenos críticos da renormalização da mecânica estatística. Em mecânica estatística existe um método matemático, análogo a este o qual permite realizar transformações de escala, sem perda de generalidades na descrição das informações físicas do fenômeno, que vão desde grandezas como volume até energia. (ALVES, 2011).

O método Box-Counting em três dimensões (Figura 43) é o método mais conhecido para se estimar a dimensão fractal devido a sua facilidade de implementação. O Box-Counting consiste em dividir em metade a imagem, com quadrados de tamanhos variados e contar a quantidade de quadrados necessários para cobrir toda forma presente na imagem como representação na figura, (COELHO et al., 1995).

Nesta pesquisa se trata da superfície foliar, então a dimensão fractal está entre 2 e 3, se a dimensão fractal é mais próximo ao valor de 2, a superfície é menos rugosa, e se mais se afasta de 2 e se aproxima a 2,5 é mais rugosa, já que quando a dimensão fractal é 2 (superfície) e 3 (volumem) a rugosidade é zero, então se vai a ter máxima rugosidade quando a dimensão fractal é 2,5. (PERSSON, 2001).

Figura 43 - Método Box-Counting em três dimensões



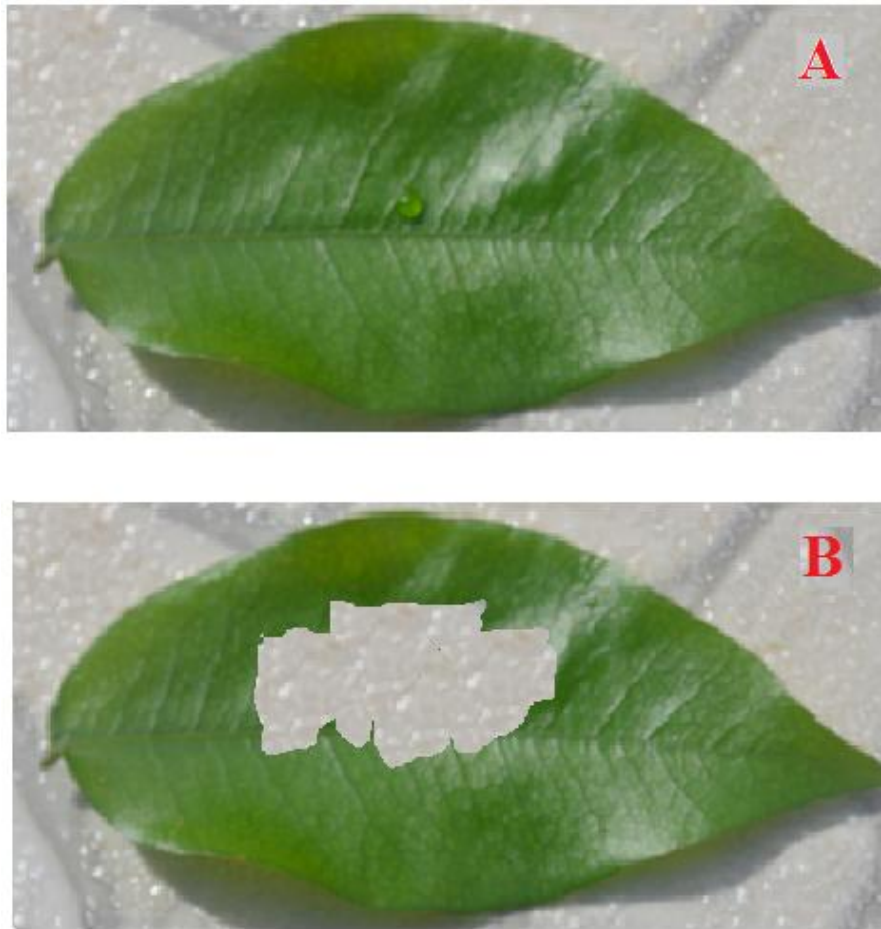
Fonte: André Ricardo Backes.

3.3.6.7 Comparação dos métodos

Os métodos descritos anteriormente são baseados em relações entre uma medida realizada e sua distribuição espacial.

Os métodos Box-Counting e Bouligand-Minkowski podem ser aplicados a qualquer tipo de estrutura, e os métodos Massa raio, Análise intersecção acumulativa, Divider (compass), sofrem restrições em sua utilização, já que o método de Dividers se baseia na medida do comprimento da curva (como perfil da imagem morfológica, membranas celulares, linhas costeiras), mais não toma em conta a parte interna, objetos com contornos semelhantes, com diferente forma interna tem a mesma dimensão fractal (Figura 44).

Figura 44 - A) folha de *copaifera sp.* sem buraco – B) folha com buraco



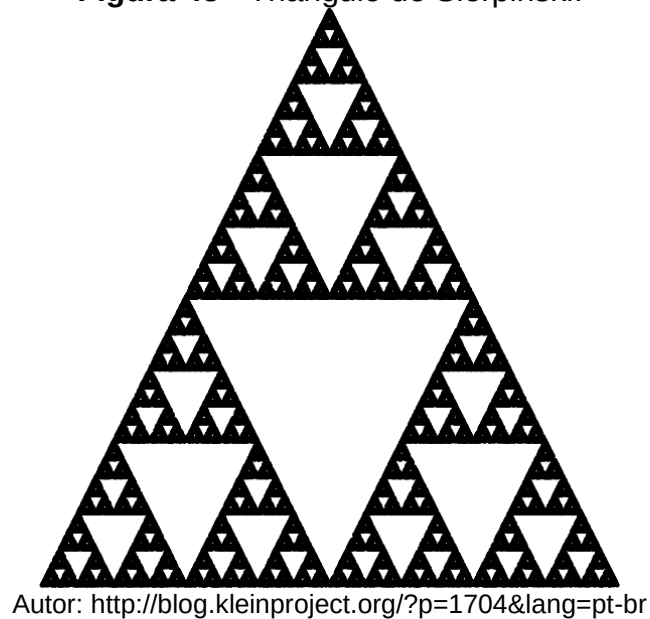
Fonte: autor.

Na Figura 44 ambas as imagens têm o mesmo contorno (mesma folha) onde uma de elas tem um buraco, mais tem a mesma dimensão fractal. Então o método de Dividers tem limitações no cálculo da dimensão fractal para superfícies.

O método intersecção acumulativa possui restrições, já que sua análise está baseada na descontinuidade e reentrância.

O método de Intersecções Acumulativas também mostra falha, apresentado muitas vezes valores diferentes dos esperados. O maior problema encontrado para esse método diz respeito ao centro de massa da forma. Alguns centros de massa eram pontos referentes ao fundo e não a forma, o que levava a resultados muito diferentes do esperado como é o caso do Triângulo de Sierpinski (Figura 45).

Figura 45 - Triângulo de Sierpinski.



Autor: <http://blog.kleinproject.org/?p=1704&lang=pt-br>

Os métodos Box-Counting e Minkowski não apresentam restrições quanto a classe de imagens a qual podem ser aplicados.

Os métodos Massa Raio, Análise Intersecção Acumulativa, Divider (Compass), possuem pontos e/ou ajustes iniciais escolhidos para a realização do cálculo. Esse fator de aleatoriedade adiciona ao método uma pequena variação em cada execução, o que pode induzir a certo erro de cálculo da dimensão fractal.

O método de Bouligand-Minkowski não necessita de ajustes iniciais para a sua aplicação, percebe-se que o raio utilizado no cálculo tem certa influência no resultado final obtido. Raios menores apresentam resultados mais próximos do esperado, apresentando uma tendência a zero conforme o raio aumenta.

Dentre todos os métodos para calcular a dimensão fractal o método Box-Counting e o Bouligand-Minkowski, apresentam os melhores resultados, evidenciando a sua capacidade de aferir diferentes estruturas. Sendo invariante à rotação e possuindo boa tolerância a ruídos, é por isso que neste trabalho se vai a utilizar o método Box-Counting (BACKES,2010).

João Batista Florindo (2013), em sua tese intitulada: Descritores fractais aplicados à análise de texturas, do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, faz uma comparação dos métodos Bouligand-Minkowski e Box-Counting, e determina que o método Box-Counting tem maior porcentagem de acerto, a continuação apresentamos

Tabela 9 - Taxa de acerto para os descritores fractais espaço-escala na base de Brodatz, classificados por KNN*

Método	Taxa de acertos (%)
Bouligand-Minkowski	70,27
Box-Counting	82,16

Fonte: João Batista Florindo-2013.

* KNN: K-Nearest Neighbor (K-vizinho mais próximo)

Conclui-se que o método Box-Counting é melhor em comparação de todos os métodos anteriormente mencionados, por tal motivo nesta pesquisa se trabalho com o método Box-Counting.

3.3.7 Lacunaridade

A lacunaridade é uma medida que avalia a distribuição de tamanhos de lacunas de um objeto fractal (MANDELBROT, 1982). Mesmo que este conceito seja utilizado inicialmente para calcular a heterogeneidade dos corpos fractais (MANDELBROT, 1983), com os anos se á proposto generalizações e diferentes métodos para calcular (SMITH, 1996), um dos aportes mais importantes foi realizado por Vernon-Carter (2009) elos generalizarão este conceito a corpos não fractais, no qual quantificaram a lacunaridade para corpos de diferentes tamanhos e para imagens e textura de diferentes origens. (RODRIGUEZ, 2010).

Entre as aplicações para a medida de lacunaridade podemos citar

1. Diagnostico automático de células de tumores (PLOTNICK, 1996; EINSTEIN, 1998).
2. Estudo de ecossistemas (PLOTNICK, 1996).
3. Estudo de morfometria de sólidos porosos. (ARMATAS, 2002).
4. Caracterização de neurônios. (SMITH, 1996).
5. Caraterização da distribuição espacial em células retiniais. (COSTA, 2004).
6. Padrões de expressão genica. .(COSTA, 2004).
7. Avaliação da permeabilidade através das membranas biológicas (EGAN, 2001).

A disponibilidade dos fármacos está relacionada às propriedades de permeabilidade através das membranas biológicas, os fármacos tem uma boa disponibilidade oral quando este tem máxima permeabilidade, portanto, a quantidade absorvido de fármacos pode ser estimada com base nas suas características de permeabilidade. (EGAN, 2001).

Para o cálculo da lacunaridade existem dois algoritmos; O primeiro é o algoritmo Gliding-Box (janela deslizante), que é frequentemente usado para computar a lacunaridade devido a sua simplicidade (ALLAIN; CLOITRE,1991). Este método consiste em deslizar uma janela sobre um padrão de textura e contar o número de gaps existentes no padrão binário, com o passar dos anos, essa abordagem foi também estendida para aplicação em imagens em níveis de cinza (DONG, 2000; DU; YEO, 2002). O segundo é o algoritmo Box-Counting-Diferencial, em vez de simplesmente contar o número de gaps, essa abordagem computa o valor mínimo e máximo dos *pixels* na janela, esta característica utiliza o nível de cinza como outra dimensão para que possa ser usado como um novo recurso no processo de reconhecimento de padrões tornando-a, assim, muito eficaz para a identificação de texturas naturais (MELO; 2007).

Filho e Sobreira (2008) no trabalho intitulado: “Accuracy of lacunarity algorithms in texture classification of high spatial resolution images from urban areas” fazem uma comparação entre os algoritmos Box-Counting-Diferencial e Gliding-Box e obtiveram que a distinção entre as imagens com o algoritmo Gliding-Box, são 80% das amostras de imagem foram corretamente classificadas. A partir de imagens em escala de cinza sob o algoritmo de Box-Counting-Diferencial, o 90% das imagens selecionadas foram corretamente classificadas. Nesta pesquisa devido ao fato, a sua maior acurácia, foi escolhido o algoritmo Box-Counting-Diferencial.

A lacunaridade é uma técnica matemática que complementa a Dimensão Fractal, por exemplo; pode haver dois corpos que têm a mesma Dimensão Fractal, mas não podem ter a mesma lacunaridade (MANDELBROT, 1983); A lacunaridade é uma medida que estima a distribuição do tamanho de lacunas dentro de um conjunto de dados. Valores grandes de lacunaridade implicam em grandes tamanhos de lacunas, os pequenos valores indicam uma distribuição mais uniforme dos dados e menores tamanhos de lacunas (SANTOS, 2014).

3.3.7.1 Por que usar a Lacunaridade

A dimensão fractal não é suficiente para descrever uma textura superficial já que é possível construir diversos fractais com a mesma dimensão, mas que são de diferentes texturas, neste contexto que surge uma grandeza chamada de lacunaridade (PLOTNICK, 1996).

A lacunaridade é uma medida que depende da escala, pois estruturas que são homogêneas em pequenas escalas podem ser heterogêneas em escalas maiores e vice-versa (PLOTNICK, 1996). Diferentes texturas podem apresentar a mesma dimensão fractal, enquanto que apresentam diferentes medidas de lacunaridade, como se mostra na Figura 46.

Figura 46 - Tabelas com a mesma Dimensão Fractal, mas tem diferentes formas.

1	0	1	0	0	0	0	0
0	1	0	1	1	1	1	1
1	0	1	0	1	1	1	1
0	1	0	1	0	0	0	0

(A)
(B)

Fonte: autor.

Na Figura 46 observamos duas representações de texturas diferentes, onde para cada figura (A e B) o número de divisões que tem cada lado é de 4 e um total de 8 valores de 1 e 8 valores de 0. A dimensão fractal neste caso para as duas texturas é calculada assim:

$$D = \frac{\ln(8)}{\ln(4)} = 1,5$$

Neste exemplo podemos concluir que a dimensão fractal não é suficiente para caracterizar uma textura.

Segundo Geoffrey Dougherty (2001), lacunaridade é sensível tanto a densidade de imagem e sua configuração espacial. Consequentemente, a lacunaridade por si só pode ser suficiente para a caracterização da textura resultando em uma grande vantagem sobre a dimensão fractal.

A lacunaridade é amplamente utilizada para avaliar padrões em radiografias dentárias já Dougherty e Henebry em 2001, detectaram padrões em imagens de tomografias computadorizadas de imagens de ossos trabeculares (LUCENA, 2014).

Em conclusão, a lacunaridade, serve.

- De complemento da dimensão fractal para a descrição dos objetos.
- Avalia os padrões das imagens.
- Avaliar a permeabilidade através das membranas biológicas.

Para as superfícies fractais a lacunaridade diminui com o aumento do tamanho da caixa (r) selecionada, de acordo a lei de potência (LUCENA, 2014).

$$L(r) = \alpha r^\beta \dots\dots\dots(10)$$

Onde, o expoente $\beta < 0$ pode ser estimado como coeficiente angular de reta $\log L(r)$ versus $\log(r)$.

O valor da expoente de lacunaridade β indica o grau de heterogeneidade da superfície foliar, tal que se β diminui, a heterogeneidade diminui (LUCENA, 2015).

A lacunaridade é definida (APÊNDICE B) como a razão entre o segundo momento (Z_2) da distribuição e o quadrado do primeiro momento (Z_1). A média de um conjunto de dados e sua variação é conhecido como momentos e são medidas de primeira ordem, sendo uma das abordagens mais simples para a descrição de texturas. O segundo momento (variância, $\sigma^2(h)$), h é a altura, é particularmente importante para a textura, pois indica como estão distribuídas as intensidades dentro da região, seu espalhamento em torno do tom médio, ou seja, sua homogeneidade (FILHO, 2012).

Ao se realizar o cálculo da lacunaridade para diferentes tamanhos de caixas, pode-se estudar o comportamento da textura segundo a escala. Isso ocorre pelo fato da lacunaridade ser uma característica dependente da escala (ALLAIN; CLOITRE, 1991). Por meio da lacunaridade é possível quantificar o quão homogênea é a textura dessa imagem, de maneira que se possa compará-la com outras texturas (PLOTNICK, 1996).

A determinação da classe biofarmacêutica dos fármacos assume importância no contexto atual da política de medicamentos, já que as características de solubilidade e permeabilidade de um fármaco, conforme definidas pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), constituem critério essencial para bioisenção na

obtenção de registro de medicamentos genéricos e similares (PARAISO, R. L. M, 2012).

3.3.8 Sucolaridade

A sucularidade foi definida por Mandelbrot (1977) como um parâmetro que informa sobre a conectividade e intercomunicação.

Sucularidade pode ser representado como o grau de penetração da água dentro de um objeto de acordo com a direção de entrada do líquido (MELO, 2011); isto é chamado de percolação, o qual depende da pressão.

Para o cálculo da sucularidade existe um único modelo que foi fornecido por Melo e Conci, o qual utiliza uma abordagem de contagem de caixa em uma imagem quadrado de lado “*n*” *pixels* (MELO, 2011). A sucularidade é calculada numa direção e depois na direção oposta: da acima para a abaixo, da abaixo para acima, de esquerda para direita e de direita para esquerda (N'DIAYE, et al. 2013).

Atualmente, a tecnologia farmacêutica fornece muitas abordagens para melhoria da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água, bem como modificações físicas normalmente aumentam a área superficial, a solubilidade e/ou a molhabilidade de partículas de pó (VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2007).

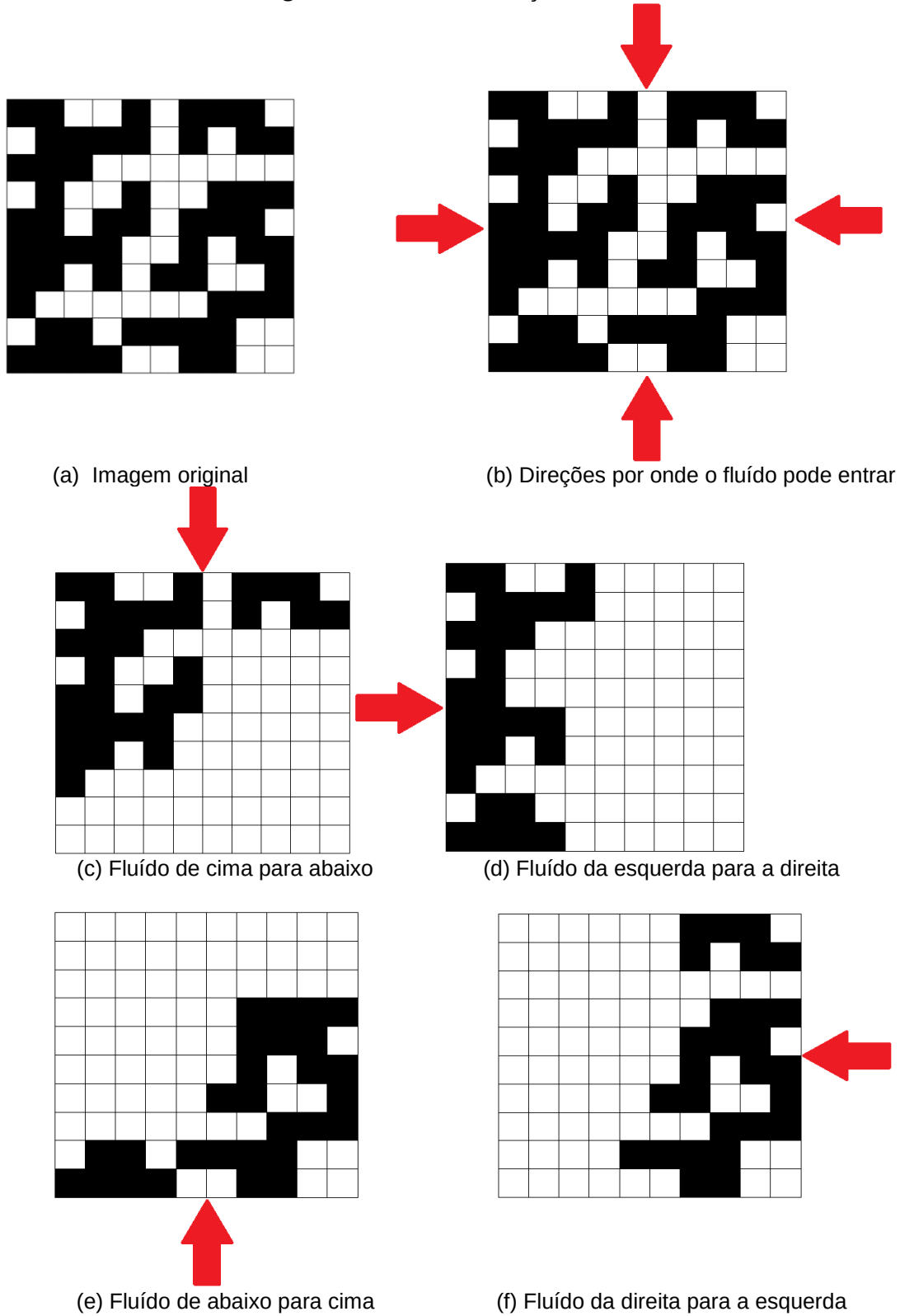
Muitos fenômenos relevantes para a área farmacêutica se iniciam na superfície. As interações interfaciais sólido-líquido são de especial interesse, pois tem implicação direta na dissolução do fármaco e em sua solubilidade. A molhabilidade da partícula é um pré-requisito para estes processos e pode afetar diretamente a qualidade biofarmacêutica do medicamento. O conhecimento das interações de superfície pode ajudar no entendimento dos eventos mediados nas interações e racionalizar o desenvolvimento de formulações farmacêuticas (NASCIMENTO, 2011).

3.3.8.1 Cálculo da Sucularidade

Computacionalmente, a forma mais simples de se conseguir calculá-la é através de uma imagem binária (Figura 47a). Para medir a sucularidade, simula-se a capacidade de percolação de um fluido na imagem, obtendo-se, dependendo das direções a serem consideradas, duas ou mais imagens. Melo (2007), apresenta por

meio da Figura 47-b as possibilidades de direções como um líquido pode fluir sobre uma imagem nas quatro posições possíveis (Figura 47c, 47d, 47e, 47f).

Figura 47 - Demonstração da Sucularidade

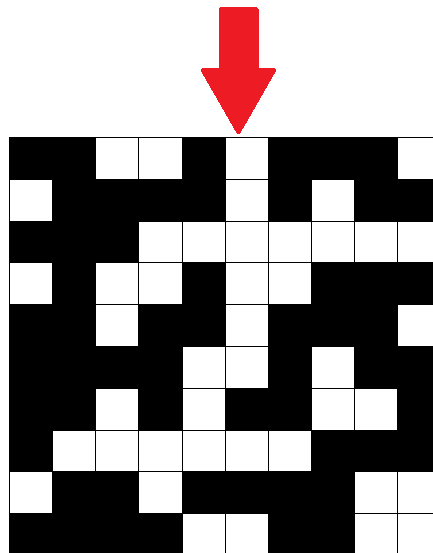


Fonte: autor (Baseado nas imagens de Melo, 2007).

Segundo Melo (2007), para se calcular a sucularidade, quatro passos devem ser seguidos:

1. A partir do topo da imagem binária (Figura 48), toda borda superior é considerada, se o pixel estiver vazio, significa que o fluido pode passar e inundar esta área, já se o pixel estiver ocupado, o caminho é considerado um obstáculo para o fluido. Toda área é inundada, recursivamente, a partir de sua vizinhança. Nesta figura a cor preta é equivalente ao valor zero (0) o que representa a espaço vazio, a cor branca é equivalente ao valor um (1) o que representa a uma massa impenetrável.

Figura 48 - Imagem binária, fluido se traslada de acima para abaixo (vertical)



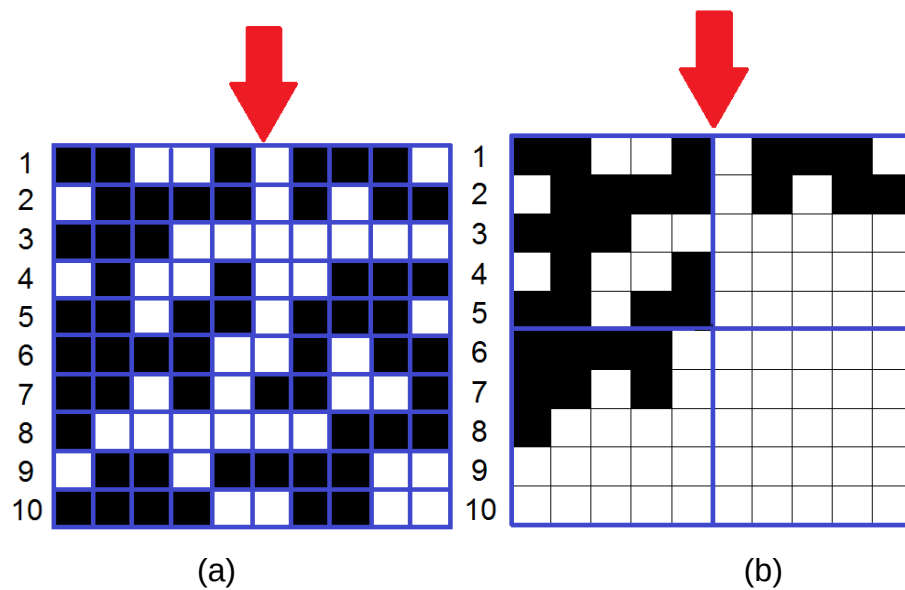
Fonte: autor (Baseado na imagem de Melo, 2007).

2. O passo seguinte é o de dividir as áreas de enchente em caixas de mesmo tamanho ($BS(n)$), sendo que n é a quantidade de possíveis divisões de uma imagem em caixas), similar ao método de Box-Counting. Na sequência, o percentual de ocupação (OP) é calculado para cada caixa.

3. Para cada caixa de tamanho k , soma-se a multiplicação de $OP(BS(k))$, e k varia de 1 a n , pela pressão $PR(BS(k), pc)$, e pc é a posição (x, y) do centroide da caixa na escala de pressão aplicada na caixa calculada. A pressão varia com o tamanho da caixa, pois ele é aplicado ao centroide da caixa. O centroide da caixa é dado por x (horizontalmente) e por y (verticalmente).

4. Para o cálculo da sucularidade tem-se a equação 11. Segundo Melo, existem duas maneiras para se dividir as figuras, originadas pela pressão horizontal e vertical, em caixas de mesmo tamanho, dividindo-a por um fator $d = 10$ (Figura 49-a), obtendo caixas de 1×1 , ou ainda, por um fator $d = 5$, obtendo-se caixas de tamanho 5×5 (Figura 49-b).

Figura 49 -Demonstração da pressão vertical na Sucularidade



Fonte: autor (Baseado nas imagens de Melo, 2007).

A sucularidade de uma imagem binária é definida como

$$S(BS(k), dir) = \frac{\sum_{k=1}^n OP(BS(k) \times PR(BS(k), pc))}{\sum_{k=1}^n PR(BS(k), pc)} \dots\dots\dots (11)$$

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa se caracteriza como teórico-experimental pela delimitação da forma de manipulação do objeto de estudo e suas variáveis, exploratória ao favorecer familiaridade com experiência para compreender o problema e quantitativa ao mensurar os dados assim como também modelar computacionalmente e relaciona-los à compreensão da natureza da superfície foliar.

4.1 COLETAS DO MATERIAL VEGETAL

As folhas foram coletadas de plantas adultas no período matutino. As folhas da planta *Copaifera* sp. onde foram obtidas do museu Sacaca, localizado no município Macapá, localizada na Avenida Feliciano Coelho 1583, Brasil, latitude 0° 1' 45.09" N, longitude 51° 4' 3.77" (Fonte: Google Earth), tal como se amostra na Figura 50:

Figura 50 - Vista aérea do bairro onde se localiza museu Sacaca. Destaque na imagem para o local de coleta do material vegetal. Coordenadas: 0,029192; 51,067714



Fonte: Google Earth.

Onde há uma árvore jovem de *Copaifera* que ate hoje não da flor para sua identificação, tal motivo como indicarão em EMBRAPA que se precisa da flor para

sua identificação da espécie. Foram escolhidas as folhas vegetais localizadas nas partes intermediárias da planta e que não tenham sido afetadas por patógenos, pois estes afetam a estrutura foliar.

Todas as folhas foram inicialmente lavadas em água corrente para que impurezas sejam retiradas através do processo de autolimpeza, e colocadas em recipientes para seu secado a temperatura ambiente. Em seguida elas foram conduzidas ao Laboratório de Materiais (LABMAT) do colegiado de Física da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) para análise e caracterização por Microscopia de Força Atômica (AFM). Também foram conduzidas ao Laboratório de Pesquisa em Fármacos (LPF) do curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) para análise e caracterização por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

Os dados referentes à folha vegetal espécie *Thalia geniculata*, (LINEU, 1753) que é uma folha superhidrofóbica (FIGUEIREDO, 2015).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS FOLHAS

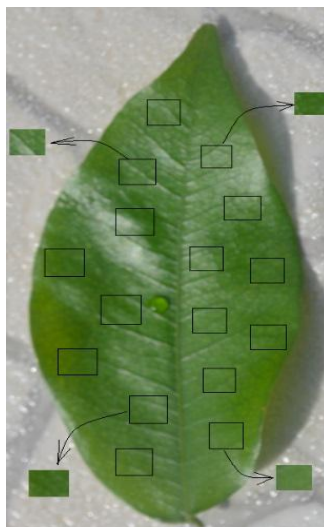
4.2.1 Microscopia de Força Atômica (AFM)

A topografia das superfícies das folhas foi analisada usando um Microscópio de Força Atômica (AFM) no Laboratório de Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). As imagens foram obtidas, sob condições ambientes (umidade relativa média de 51%), em um microscópio da marca Nanosurf, modelo EasyScan 2. controler em Modo Tapping periódico, isto é, utilizando-se um cantilever com ponta de silício modelo NCST-50 de silício, fabricado pelo Nano World Innovatite Technologies, com frequência de ressonância de **160 kHz** e constante elástica de **7,4 N/m**, operando no modo contraste de fase, em uma razão aproximado de varredura de 2 linhas por segundo.

As amostras foram lavadas em água corrente e deixadas sob condições ambientes por cerca de quinze minutos para que possíveis gotículas de água remanescentes sejam evaporadas das suas superfícies e não afetem a qualidade da sondagem por AFM. Em seguida, foram cortadas amostras com **1,5 cm²** de área da

região central das folhas tal como se mostra na figura 51, e conduzidas ao Microscópio de Força Atômica, para sua análise.

Figura 51 - Exemplo de extração das janelas texturais de uma amostra da folha de *Copaifera sp.*



Fonte: autor.

A cera epicuticular foi removida da superfície foliar utilizando-se como solvente acetona (CH_3COCH_3) fabricada por ALPHATEC-Química Fina: Reagente Analítico, do Laboratório de Pesquisa em Fármacos (LPF) do curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Amapá (UNIFAP), atuando por cerca de 1 minuto em um recipiente com uma quantidade de 100ml de acetona, conforme metodologia descrita por Ensikat (2006). Em seguida, foram realizadas novas sondagens, a fim de buscar a influência da cera epicuticular nas características fractais da superfície foliar, por meio de comparação entre os dados obtidos com e sem a presença da cera sobre a superfície foliar.

As imagens foram obtidas no AFM operando no modo tapping em as regiões de análise de 0,78x0,78; 1,56x1,56; 3,13x3,13; 6,25x6,25; 12,5x12,5; 25x25; 50x50 μm^2 , em uma razão de varredura de 2linhas por segundo. Foram feitas 12 imagens de cada região para obter-se uma média representativa do parâmetro de análise que é a Raiz Quadrática Média da rugosidade RRMS que dá o valor eficaz ou magnitude da rugosidade média RM, parâmetros esses que foram determinados pelo software WSxM versão 5.0 (Nanotec Eletrônica S. L.), cujo calculo se dá segundo as equações (PITHAN, S. L. D. S., 2011).

$$R_{RMS} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=N} (\bar{h} - h_i)^2}{N}} \dots\dots\dots(12)$$

Onde:

R_{RMS} : Rugosidade Quadrática Média avaliada sobre a superfície completa,

$\bar{h}$: Altura media

h_i : Altura de cada ponto.

N : Número de pontos (256x256=65536)

4.2.2 Microscópio de Varredura Eletrônico-MEV.

As imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas no aparelho de MEV ambiental, da marca Hitachi modelo TM3030Plus Tabletop Microscope, do Laboratório de Pesquisa em Fármacos (LPF) do curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Amapá (UNIFAP). Foram visualizadas as estruturas superficiais tanto da parte adaxial quanto abaxial, das folhas vegetal *Copaifera sp.*

As amostras foram novamente lavadas em água corrente e deixadas sob condições ambientes por cerca de quinze minutos para que possíveis gotículas de água remanescentes sejam evaporadas das suas superfícies e não afetem a qualidade da sondagem por MEV. Em seguida, foram cortadas amostras com $1,5 \text{ cm}^2$ de área da região central das folhas e conduzidas ao MEV para análise.

As sondagens foram realizadas, sob condições ambientes, e utilizando-se uma voltagem 5 KV, para não estragar a amostra foliar, trabalha-se com imagem aumentada ate em x3000 vezes.

4.2.3 PARAMETRIZAÇÃO FRACTAL

Todas as análises fractal foram realizadas no Laboratório de Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Foi usada a técnica de

contagem de caixas, para o caso da dimensão fractal foi usado o método Box Counting (KELLER, *et. al*, 1989), para a lacunaridade foi usado o método de Box Counting Diferencial descrita por Myint, Mesev e Lam (2006), e por último a sucularidade foi usado o método proposto por Melo (2007), este último adaptado pelo autor só para a superfície, onde se considerou a pressão constante.

Verifica-se se os parâmetros fractais tem dependência da área, tempo, e também da cera, esta última foi apresentado no apêndice 4. Este processo foi incluído neste trabalho com a finalidade de ter confiabilidade nos resultados, já que os varridos com o AFM, sempre foi realizado em mais de dois dias e segundo a literatura a folha muda a nível macroscópico.

Isto é, testar que o parâmetro β não muda com a área de trabalho, tampouco com o tempo. Quando se trabalhou no tempo de 250 horas, com a área da parte adaxial de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$, o processo de varrido pelo AFM a amostra ficou na porta amostras em um período de 10 dias, durante este procedimento só foi trocado a posição do varrido. E quando se trabalho para diferentes áreas.

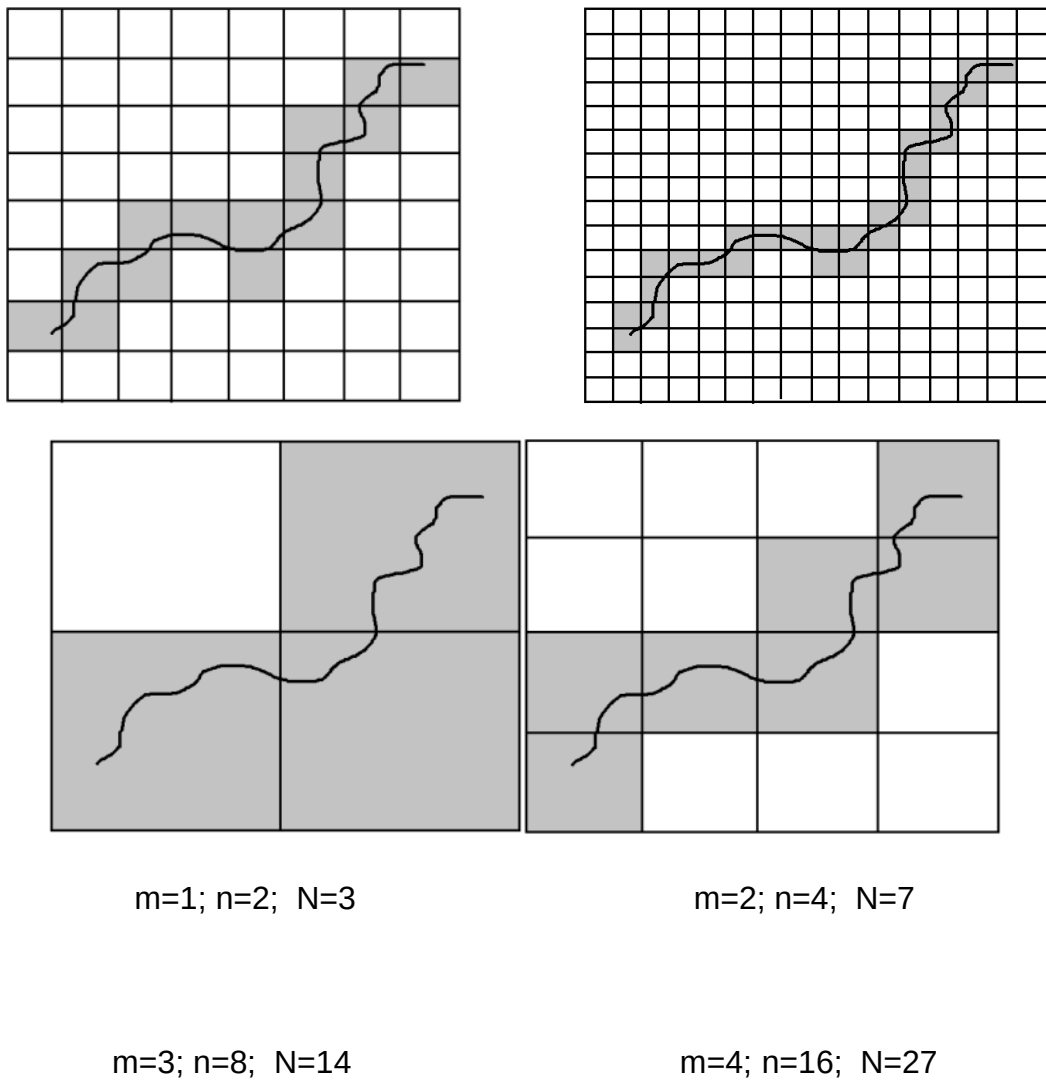
A continuação se apresenta o análise dos parâmetros fractais, onde é verificado para cada um deles, se estes são característicos para a superfície foliar, para isto trabalhou-se para diferentes áreas e tempos. Este processo foi incluído neste trabalho com a finalidade de ter confiabilidade nos resultados, isto é, testar que o parâmetro β não muda com a área de trabalho, tampouco com o tempo ou com o passar dos dias (10 dias). Quando se trabalhou no tempo de 250 horas, com a área da parte adaxial de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$. No processo de varrido pelo AFM a amostra ficou na porta amostras em um período de 10 dias, durante este procedimento só foi trocado a posição do varrido.

4.3.1 Dimensão Fractal

O Box-Counting consiste em dividir em metade a imagem, com quadrados de tamanhos variados e contar a quantidade de quadrados necessários para cobrir toda forma presente na imagem como representação na figura, (COELHO et al., 1995), se tem cada lado dividido em duas partes, o qual resulta 4 quadrados, onde a divisão do lado o representamos por a letra n minúscula, e o total de quadros com a letra N maiúscula. Em cada iteração o lado do quadro se divide em 2^m , é dizer sim

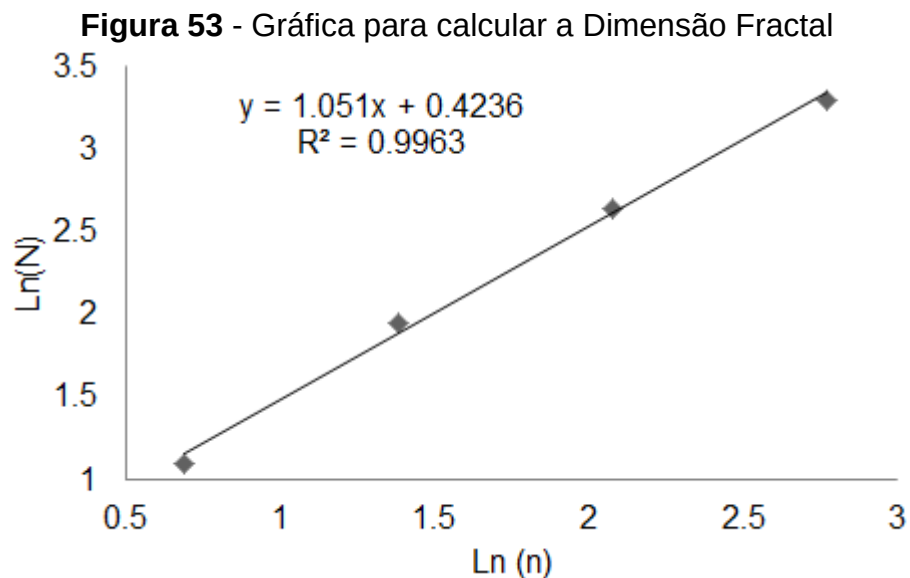
$m=1$, então se tem 2 divisões, em cada lado, sim $m=2$, se tem 4 divisões, sim $m=3$, então se tem 8 divisões em cada lado, tal como se mostra na Figura 52.

Figura 52 - Método Box-Counting.



Fonte: autor.

Logo se calcula o logaritmo de partição do lado do quadrado n , e logaritmo dos quadrados que contenham a imagem N , onde se gráfica $\text{Log}(N)$ em função de $\text{Log}(n)$ resulta uma linha reta, tal como se mostra na figura 53, onde o coeficiente angular é a dimensão fractal, e permanece constante para todas as partições, o qual representa a rugosidade da superfície.



Fonte: autor.

Na Figura 53 o coeficiente angular representa a dimensão fractal. Neste trabalho se trata da superfície foliar, então a dimensão fractal está entre 2 e 3, se a dimensão fractal é mais próximo ao valor de 2, a superfície é menos rugosa, e se mais se afasta de 2 e se aproxima a 2,5 é mais rugosa, já que quando a dimensão fractal é 2 (superfície) e 3 (volumem) a rugosidade é zero, então se vai a ter máxima rugosidade quando a dimensão fractal é 2,5. (PERSSON, 2001).

Os diferentes valores da dimensão fractal respeito ao tamanho das caixas foram calculados com o Software livre Gwyddion 2.32 que é um software livre, onde os dados são representados graficamente, onde fazemos um ajuste de curva (lineal)

e assim obter a pendente que é um valor constante característico da dimensão fractal em toda a superfície foliar.

4.3.2 Lacunaridade

A lacunaridade é definida como a razão entre o segundo momento (Z_2) da distribuição e o quadrado do primeiro momento (Z_1). A média de um conjunto de dados e sua variação são conhecidas como momentos e são medidas de primeira ordem, sendo uma das abordagens mais simples para a descrição de texturas. O segundo momento (variância, $\sigma^2(h)$), h é a altura, é particularmente importante para a textura, pois indica como estão distribuídas as intensidades dentro da região, seu espalhamento em torno do tom médio, ou seja, sua homogeneidade. (FILHO, 2012).

$$Z_2 = \sum_M M^2 \cdot Q(M, r) \dots \dots \dots (13)$$

$$Z_1 = \sum_M M \cdot Q(M, r) \dots \dots \dots (14)$$

$$L(r) = \frac{\sum_M M^2 \cdot Q(M, r)}{[\sum_M M \cdot Q(M, r)]^2} \dots \dots \dots (15)$$

Onde

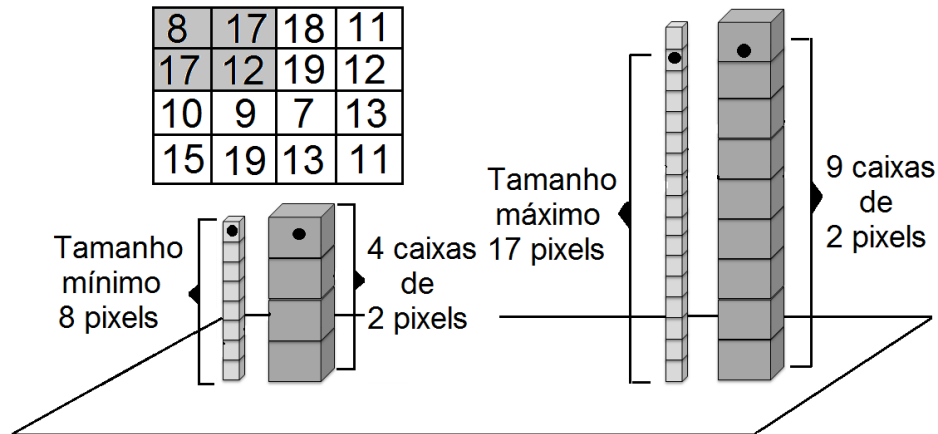
$$n_r(i, j) = v - u + 1 \dots \dots \dots (16)$$

É a altura relativa, sendo i, j as coordenadas da imagem

$$M_r = \sum_{i,j} n_r(i, j)$$

Na Figura 54, temos uma matriz 4x4, onde selecionamos uma caixa de 2x2x2.

Figura 54 - Representação de caixas apilhadas



Fonte: autor

Na figura 54, Tem-se um quadrado de 4x4 *pixels*, onde se vai fazer o movimento de um quadrado de 2x2 *pixels* de cor cinza, o primeiro quadrado de 2x2 *pixels* tem os valores máximo de 17 e mínimo de 8, então como estamos considerando o quadrado de 2x2, temos que considerar o tamanho da caixa de 2x2x2 como valor mínimo, por tal motivo temos que dividir o número máximo (17) entre 2, o qual resulta 8,5 e se vai considerar 9 caixas ($u = 9$), já se consideramos 8 caixas não completaria a todo o valor de 17, é por isso que se vai a considerara 9 caixas, o mesmo para o valor mínimo (8), em este caso só se precisa de 4 caixas de 2x2x2 ($v = 4$).

A quantidade de caixas necessários para cobrir todos os valores máximos y mínimos está dada pela seguinte relação intensidade\dimensão, ou seja, a quantidade de caixas para u será.

$$\frac{17}{2} = 8,5 \approx 9$$

Se a divisão não é exata, então se considera o máximo inteiro.

E para v será

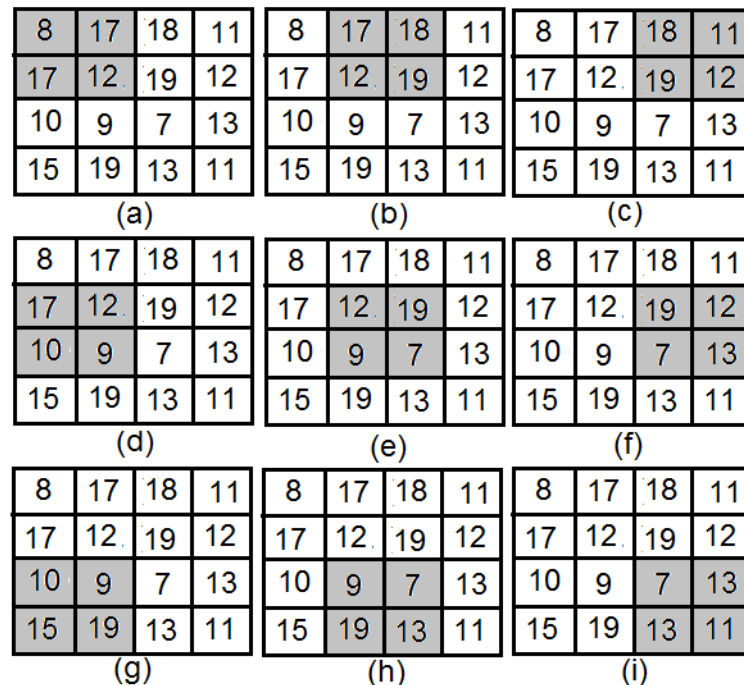
$$\frac{8}{2} = 4$$

Então temos

$$n_1 = u - v + 1 = 9 - 4 + 1 = 6$$

Assim continua de acordo a ordem que se apresenta na Figura 55,

Figura 55- Deslizamento das caixas usando o método Box-Counting Diferencial



Fonte: autor.

Na figura 55 temos que o quadrado de 2x2 *pixels* de cor cinza vai movendo-se para a direita de pixel em pixel, e continua o movimento na parte inicial (extremo esquerdo), mas um pixel abaixo, e começa o movimento para a direita é por isso que faz três movimentos para a direita e três para abaixo, em total nove movimentos, neste exemplo temos um quadrado de 4x4 *pixels*, então se tem $(4-1)(4-1)=9$ movimentos, então se tem um quadrado de $n \times n$ *pixels*, e consideramos um quadrado de 2x2 em movimento, este quadrado faz um total de movimentos de $(n-1)(n-1)$

Agora se o quadrado que vai a mover-se de 3x3, então se tenderia $(n-2)(n-2)$ movimentos.

Em conclusão se tem um quadrado de $n \times n$ *pixels*, o total de movimentos vai depender do tamanho do quadrado em movimento, e esta dada pelo a seguinte formula:

$$(n-m+1)(n-m+1) \dots \dots \dots (17)$$

Onde

n : é o número total de *pixels* de um lado do quadrado

m : é o número de '*pixels* de lado do quadrado em movimento.

Os diferentes valores de lacunaridade respeito ao tamanho das caixas foram calculados a través o linguagem de programação FORTRAN 77 (Compilador Fortran Force 2,0), que é um software livre, onde se elaborou um código computacional, os resultados obtidos foram apresentados graficamente, onde fazemos um ajuste de curva linear e assim obter o expoente que é um valor constate característico da lacunaridade em toda a superfície foliar. A lacunaridade é uma função que depende do tamanho das caixas(r), portanto não tem um único valor para uma determinada superfície, é por isso que precisa-se ter um valor característico para toda a superfície foliar. Neste trabalho se gráfico $\text{Log}(L)$ vs $\text{Log}(r)$ onde foi obtido uma linha reta, sendo o coeficiente angular, este valor caraterístico que representa a superfície, o qual é chamado de expoente de lacunaridade.

Com este cálculo da gráfica L vs r pode-se estudar o comportamento da textura segundo a escala, já que a lacunaridade tem valores distintos para as diferentes tamanhos das caixas.

4.3.3 Sucolaridade

Nesta pesquisa foi proposta uma forma diferente de análise de sucolaridade, isto é, originalmente ela mede a percolação, conforme explicado no capítulo III. Neste trabalho ela foi modelada para medir o escoamento superficial, neste caso, ao contrário da percolação, aqui a pressão é constante. A escolha deste modelo foi devido ao fato, que nesta pesquisa abordamos a textura superficial usando o AFM.

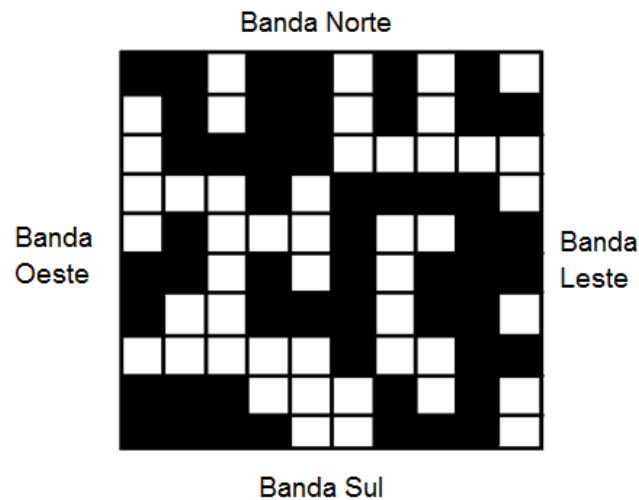
O modelo de sucolaridade desenvolvido neste trabalho vai calcular um valor numérico que varia entre zero (0) e um (1), que representa a interconexão entre as bandas de uma imagem superficial obtida em um AFM, isto é, vai calcular a interconexão entre a banda norte com as bandas sul, leste e oeste respectivamente, conforme na Figura 56.

Para este cálculo seguimos com os seguintes passos:

- a) Os dados fornecidos pelo AFM são convertidos em números binários, para isto obtivemos a média, logo, todo valor maior o igual a media é convertido a

“1” (um), e todo valor menor a media foi convertido a “0” (zero). Então a imagem fica da seguinte maneira:

Figura 56 - Imagem demonstrativa para o cálculo da sucularidade.

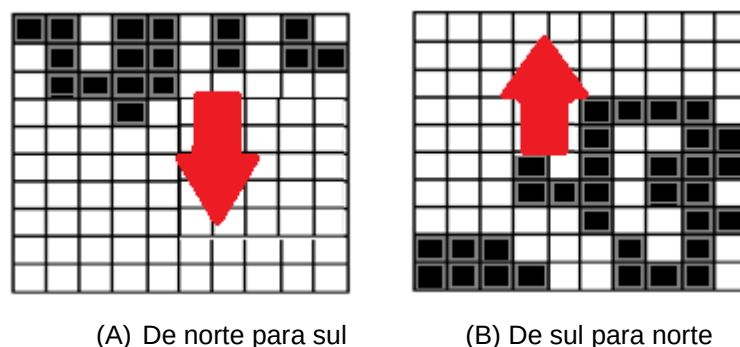


Fonte: autor.

Nesta Figura 56, a cor preta é equivalente ao valor zero (0) o que representa a espaço vazio, a cor branca é equivalente ao valor um (1) o que representa a uma massa impenetrável.

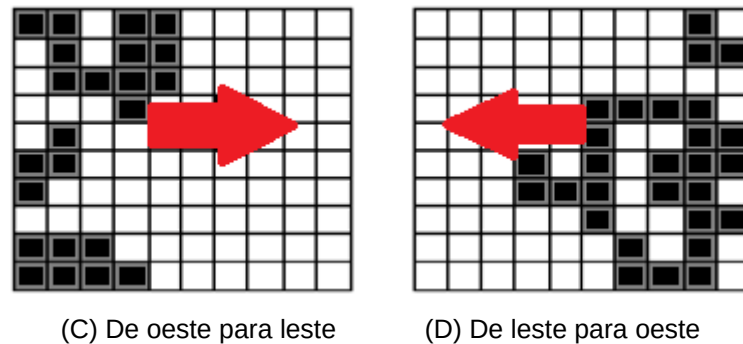
- b) A partir da imagem Figura 56, vamos obter quatro direções, tal como é mostrado na Figura 57, em cada direção vai ser calculada a porcentagem de preenchimento dos espaços vazios, isto é, vão ser contabilizados quantos quadros de cor pretos tem em tal direção, dividido entre o total de quadros. Quando se analise em outra direção, observamos quadros que se repetem ao repetirem-se os quadros de cor pretos a soma total vai diminuendo, consequentemente vai ter uma diminuição na sucularidade.

Figura 57 - Quatro direções onde um fluido pode inundar a imagem



(A) De norte para sul

(B) De sul para norte



Fonte: autor.

A Figura 57(a) observamos o preenchido, neste caso pela água, dos espaços vazios, de norte a sul, para a figura 57(b), também observou o preenchido onde o água ingressa de sul para norte, o mesmo para a Figura 57(c), tem um preenchido dos espaços vazios de oeste para leste e por último temos a Figura 57(d) observamos o preenchido dos espaços vazios de Leste para Oeste.

Os diferentes valores de sucularidade respeito a esta técnica foram calculados no linguagem de programação C++, onde se elaboro um código computacional.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos a partir das técnicas de microscopia foram expressos através das Médias e Desvio Padrão, organizados, de acordo com a pertinência, em tabelas, gráficos, quadros e figuras. As diferenças significativas entre os tratamentos foram avaliadas utilizando o teste Anova Um Critério, com limite probabilístico de erro igual a 0,05.

4.4.1 Anova

ANOVA, das siglas em inglês (Analysis Of Variance), uma análise de variância permite que vários grupos sejam comparados a um só tempo, utilizando variáveis contínuas. O teste é paramétrico (a variável de interesse deve ter distribuição normal) e os grupos têm que ser independentes.

Considerando uma variável de interesse com média μ e variância σ^2 temos dois estimadores de σ^2 :

S_B^2 = Dispersão entre os grupos.

S_W^2 = Dispersão dentro dos grupos.

O teste é aplicado utilizando a estatística calculada

$$F = \frac{S_B^2}{S_W^2} \dots\dots\dots(18)$$

Se $F_{calc} > F_{tab}$, neste caso dizemos que existem diferenças estatisticamente significativas entre as médias.

Se $F_{calc} < F_{tab}$, quando isso ocorre, dizemos que não existem evidências estatísticas de que as médias sejam diferentes.

5.3.1.1 O valor-p

O valor-p serve para determinar se os resultados são estatisticamente significativos.

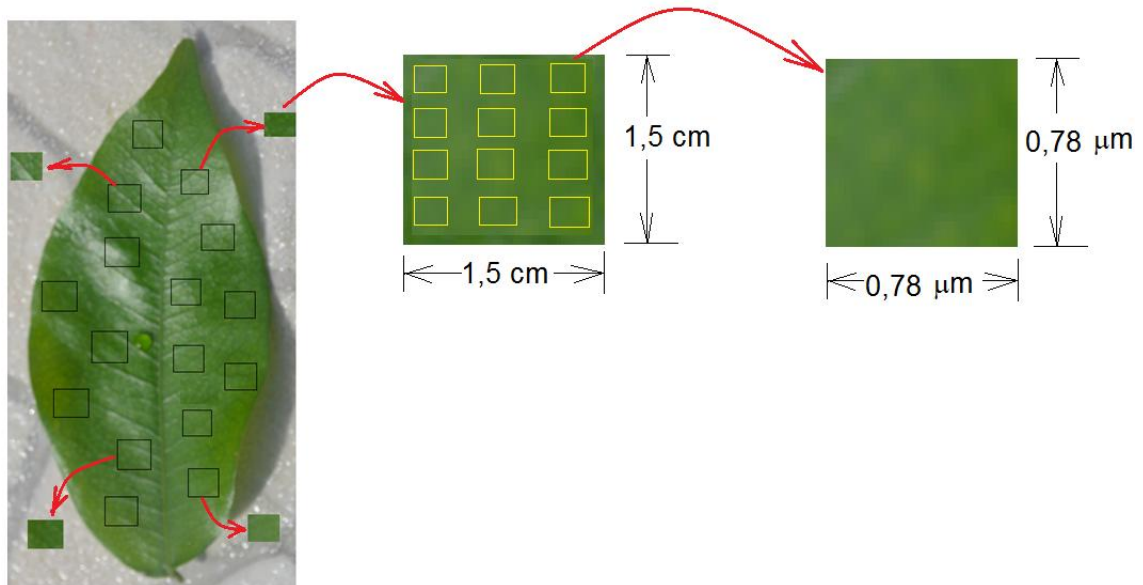
Se valor-p $< \alpha$, os valores são significativamente diferentes.

α : nível de significância (0,05)

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os resultados foram obtidos de imagens realizadas em diferentes partes da folha tal como se mostra na figura 58. Foram escolhidas áreas diferentes na folha, aproximadamente de 1,5 cm² para ser estudado no AFM. Para cada área obteve-se 12 imagens de AFM em diferentes regiões, como é mostrado na figura 58. Cada imagem de AFM tem uma informação de 256 x 256 *pixels*, assim como também as áreas de varrido do AFM foram escolhidas a partir de 0,78 x 0,78 μm^2 , até 50 x 50 μm^2 .

Figura 58 - Exemplo de extração das janelas texturais de uma amostra da folha de *Copaifera sp.*



Fonte: autor.

Apresenta-se a análise dos parâmetros fractais, onde é verificado também, para cada um deles, se estes são característicos da superfície foliar, para isto trabalhou-se para diferentes áreas. Neste trabalho também se estudou a dependência dos parâmetros fractais com o tempo, neste caso, este processo foi incluído nesta pesquisa com a finalidade de ter confiabilidade dos resultados, isto é, que os parâmetros fractais não sejam afetados com as mudanças morfológicas da folha com o tempo, isto é, testar que os parâmetros não mudem com o tempo ou com o passar dos dias (10 dias).

5.1 ANÁLISE DA RUGOSIDADE E DIMENSÃO FRACTAL

Os valores da rugosidade RMS (RMS: Rugosidade Média Quadrática) foram obtidos por um programa WS x M 5.0 (Windows Scanning X Microscope), trabalhou-se para diferentes áreas com o objetivo de estudar a dependência da rugosidade com a área, para isto calculamos a média de cada área tal como se mostra na Tabela 10, logo reproduzir uma gráfico da rugosidade RMS em função da área.

Tabela 10 -Dependência da rugosidade superficial (RMS) da área.

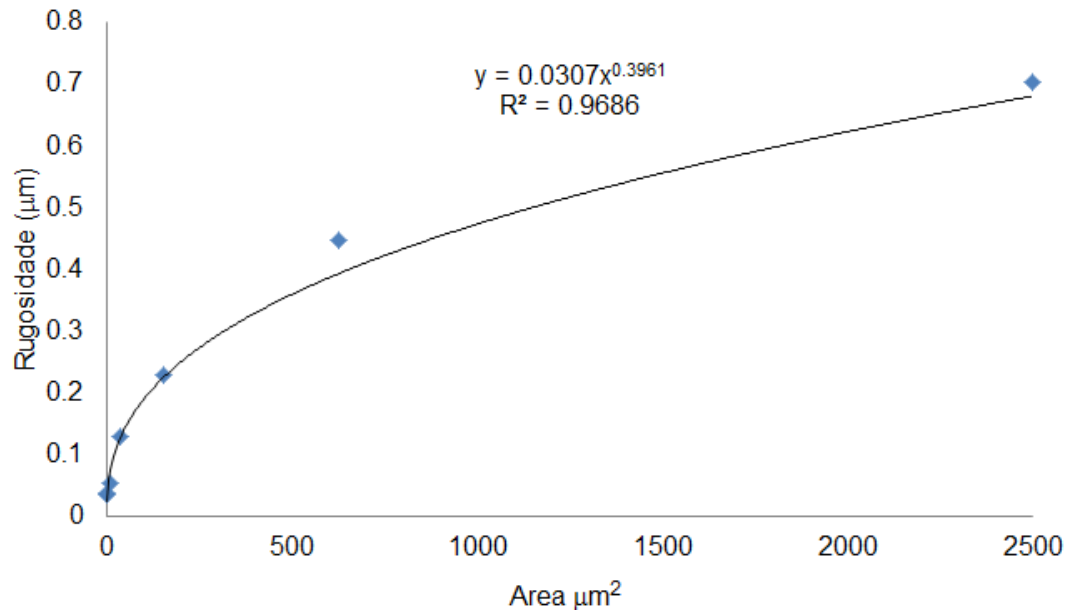
Área (μm^2)	$0,78^2$	$1,56^2$	$3,13^2$	$6,25^2$	$12,5^2$	25^2	50^2
σ	0.0159	0.0682	0.0997	0.1462	0.1889	0.5842	0.4789
ϵ	0.0158	0.0204	0.0508	0.1125	0.2238	0.2763	0.5277

	0.0191	0.0546	0.0502	0.1123	0.2222	0.2709	0.6122
	0.0183	0.0277	0.0682	0.1339	0.2839	0.9223	0.5158
	0.0085	0.0826	0.0419	0.2031	0.2329	0.8114	0.8939
	0.0543	0.0833	0.0777	0.1289	0.1366	0.2903	0.4282
	0.0448	0.0122	0.0275	0.0568	0.2363	0.4958	0.8026
	0.0214	0.0191	0.0180	0.0810	0.2586	0.4304	0.3995
	0.0400	0.0226	0.0686	0.1929	0.2221	0.3242	0.5905
	0.1185	0.0232	0.0462	0.0842	0.1649	0.2251	0.6561
	0.0408	0.0193	0.0507	0.1692	0.3057	0.4188	1.9990
	0.0246	0.0224	0.0386	0.1309	0.2798	0.3224	0.5265
Media (μm)	0.0352	0.0380	0.0532	0.1293	0.2296	0.4477	0.7026
❖	0,78^2=0,78x0,78 ; 1,56^2=1,56x1,56..... 50^2=50x50						

De acordo com os resultados da Tabela 10, observa-se que a rugosidade (RMS), vai aumentando conforme a área aumenta, e isto é devido a que RMS, é por definição o desvio padrão das alturas (MÁXIMO; SAAD; KUX, 1999). Isto significa que as alturas aumentam com o aumento da área, já que o número de *pixels* continua constatare (256 x 256) para as diferentes áreas. A maior variação de rugosidade acontece entre as áreas de 3,13 x 3,13 e 6,25 x 6,25 μm^2 , com um aumento do 143%, e a menor variação de rugosidades está entre as áreas de 0,78x0,78 e 1,56x1,56 μm^2 com um aumento do 7,95%. Isto no leva a concluir que a dependência da rugosidade com a área de varrido, tem um comportamento não linear, isto é, tem um comportamento exponencial, onde o expoente da função (Área) caracteriza a toda a superfície foliar da *Copaifera sp.*

Na Figura 59 mostra-se a rugosidade (RMS) em função da área, onde fazemos uso dos dados da Tabela 10, onde a área inicial escolhida é de 0,78 x 0,78 μm^2 e assim sucessivamente vai aumentando até chegar a 50 x 50 μm^2 de área da imagem fornecida pelo AFM.

Figura 59 - Rugosidade-RMS versus Área



Fonte autor.

De acordo o gráfico na Figura 59, temos uma dependência da rugosidade com a área, e que a rugosidade superficial da folha da *Copaifera sp.* em função da área cumpre a lei de potência ($R \approx A^\gamma$) onde o A é a área de trabalho no AFM, γ o expoente de potência que é um valor característico constata da rugosidade da folha que tem valor de 0,3961 e é adimensional.

$$\gamma = 0,3961$$

Onde γ é chamado de expoente de rugosidade, e descreve o crescimento das correlações com a área A ao longo da direção de crescimento. (MOREAU, 2011).

Nesta pesquisa calculou-se a dimensão fractal de uma imagem fornecida pelo AFM, através do Gwyddion que é software livre e de código aberto, coberto pela Licença Pública Geral de GNU o qual faz uso do método Box-Counting. A dimensão fractal foi calculada para diferentes áreas, sendo que para cada área foram realizadas 12 diferentes imagens de AFM, tal como se mostra na Tabela 11, de esta maneira ter a possibilidade de comparar se existe ou não uma diferença significativa do valor médio da dimensão fractal, para as diferentes áreas e assim determinar sua dependência com área, para este calculou-se a Análise de Variância-ANOVA, foi usado ANOVA uma via, devido ao fato da existência de uma variável dependente (variável categórica) que é a dimensão fractal, assim trabalhou-se com grau de confiabilidade de 95% ($\alpha=0,05$).

Tabela 11 - Dimensão Fractal em função da área.

Área μm^2	0,78 ²	1,56 ²	3,13 ²	6,25 ²	12,5 ²	25 ²	50 ²
Dimensão Fractal	2,15	2,09	2,04	2,04	2,03	2,08	2,19
	2,26	2,05	2,06	2,04	2,18	2,08	2,11
	2,13	2,07	2,09	2,07	2,12	2,16	2,16
	2,14	2,09	2,11	2,08	2,14	2,10	2,14
	2,08	2,12	2,11	2,09	2,15	2,08	2,14
	2,04	2,13	2,12	2,09	2,05	2,19	2,10
	2,08	2,16	2,12	2,10	2,07	2,11	2,19
	2,05	2,16	2,14	2,12	2,04	2,09	2,14
	2,12	2,20	2,14	2,13	2,09	2,11	2,17
	2,08	2,23	2,14	2,13	2,20	2,08	2,20
	2,05	2,12	2,14	2,14	2,11	2,10	2,09
	2,08	2,07	2,14	2,18	2,11	2,14	2,13
❖ 0,78 ² =0,78x0,78; 1,56 ² =1,56x1,56..... 50 ² =50x50							

Na Tabela 11, se trabalhou em diferentes áreas (diferentes escalas) a partir de $0,78 \times 0,78 \mu\text{m}^2$, até $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ (AFM), para cada uma destas áreas obtivemos 12 valores, tal como se mostra na figura 58, cada valor foi obtido em diferentes pontos é dizer como se trabalho em 7 áreas distintas e por cada área 12 pontos distintos, então se trabalho com $7 \times 12 = 84$ pontos distintos em toda a superfície foliar, assim ter uma melhor representação numérica da superfície foliar.

Na Tabela 12, apresenta-se a análises ANOVA da Tabela 11, na qual se determinou a dependência da dimensão fractal com a área.

Tabela 12 - ANOVA da Tabela 11

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
1,36472	0,23956	2,21882

Na Tabela 12, calculado com análise ANOVA, observa-se que o valor-P (0,23956) é maior que o grau de confiabilidade ($\alpha=0,05$) e o valor de F (1,36472), é menor que F crítico (2,21882), isto significa que o valor médio entre os valores da dimensão fractal para diferentes áreas são significativamente iguais, portanto a dimensão fractal permanece significativamente constante para diferentes áreas de trabalho, o que é verificado na literatura, isto é, que a dimensão fractal permanece constante para diferentes escalas (PLOTNICK et al, 1993).

Agora se apresenta a Tabela 13 da dimensão fractal em função do tempo. Este processo foi incluído neste trabalho com a finalidade de ter confiabilidade no

resultado anterior, isto é, testar que a dimensão fractal não muda com o tempo ou com o passar dos dias (10 dias). Trabalhou-se com a área da parte adaxial de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$. No processo de varrido pelo AFM a amostra ficou na porta amostras em um período de 10 dias, durante este procedimento só foi trocado a posição do varrido.

Tabela 13 - Dependência da Dimensão Fractal com o tempo

Tempo (horas)	0-50	51-100	100-150	151-200	201-250
Dimensão Fractal	2.08	2.10	2.11	2.17	2.15
	2.08	2.14	2.18	2.05	2.13
	2.11	2.11	2.14	2.13	2.14
	2.10	2.14	2.06	2.16	2.12
	2.08	2.08	2.17	2.07	2.21
	2.19	2.04	2.12	2.15	2.17
	2.11	2.09	2.11	2.14	2.13
	2.09	2.12	2.22	2.12	2.12
	2.11	2.20	2.11	2.20	2.15
	2.08	2.10	2.14	2.16	2.14
	2.11	2.11	2.14	2.13	2.14
	2.16	2.12	2.17	2.12	2.08

*trabalhou-se com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$

Manteve-se constante a área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$, por que só queríamos determinar a dependência da dimensão fractal do tempo, e consideramos em um intervalo de tempo de 50 horas. A continuação se apresenta a Tabela 14 com o análise estatístico ANOVA da Tabela 13, usou fator único, por que todos os dados representam a dimensão fractal, e não tem outra variável categórica.

Tabela 14 - ANOVA da Tabela 13

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
1.932448	0.117971	2.539689

De acordo ao análise ANOVA da Tabela 14, temos que o Valor-P (0.117971), é maior que o grau de confiabilidade ($\alpha=0,05$), e o valor de F (1.932448), é menor que F crítico (2.539689) desta maneira concluiu-se que a média entre os valores de

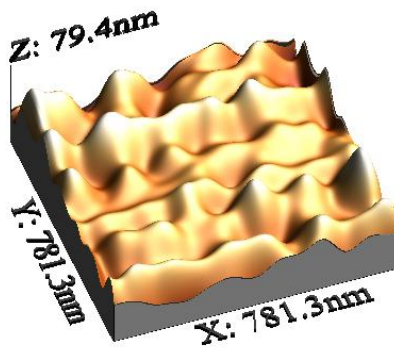
diferentes horas de realizada a medida são significativamente iguais, por tanto a dimensão fractal permanece constante no tempo. Isto significa que D é estacionário pelo menos para um tempo de 250 horas. Neste trabalho, as medidas no AFM foram realizadas durante um tempo menor a 250 horas. Este estudo se torna importante devido ao fato a que pelo menos até 10 dias pode-se realizar medições sem a preocupação de ter alterações significativas nos parâmetros fractais da superfície foliar a nível nanométrico. No caso de um estudo a nível macroscópico da superfície foliar, foi observada uma dependência temporal da superfície com o tempo, acarretando com isto, uma complicação no processo de identificação das espécies foliares (GÖERGEN, et al., 2009). Segundo Moreira (2003), explica que as mudanças que sofrem as folhas 72 horas após a coleta, isto ocorre devido à perda de umidade, degradação da clorofila e mudanças morfológicas.

Todas as tabelas mencionadas anteriormente contribuíram para entender o comportamento da dimensão fractal na superfície foliar da *Copaifera sp.*, chegando a concluir que neste parâmetro fractal não existe dependência com a área, tempo. Por tudo anteriormente mencionado precisamos de um valor representativo para relacionar a dimensão fractal com a superfície foliar da *Copaifera sp.* para isto o cálculo foi feito com os dados da Tabela 13, onde foi escolhida uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$. Foi calculado o valor médio e seu desvio padrão da Dimensão Fractal (DF), desta maneira caracterizando parcialmente a superfície da *Copaifera sp.*

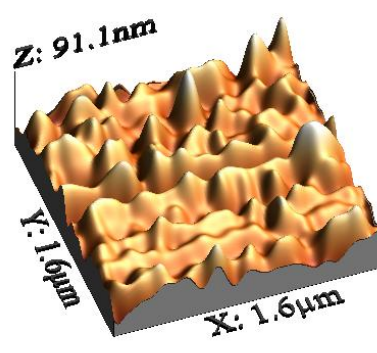
$$D = 2.1268 \pm 0.0059$$

Apresenta-se na Figura 60 as topografias da *Copaifera sp.* em diferentes escalas realizadas pelo AFM, onde é observado a variação da rugosidade e a dimensão fractal.

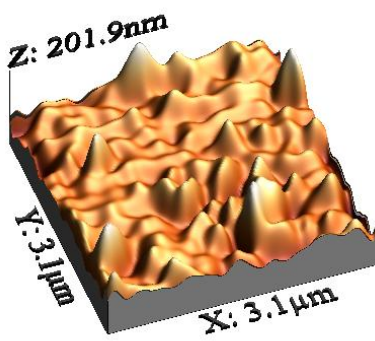
Figura 60 - Topografia da folha (Adaxial) *Copaifera sp.* em diferentes escalas (AFM)



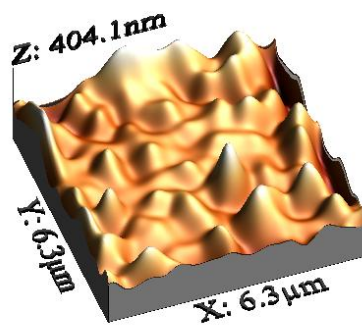
(A)



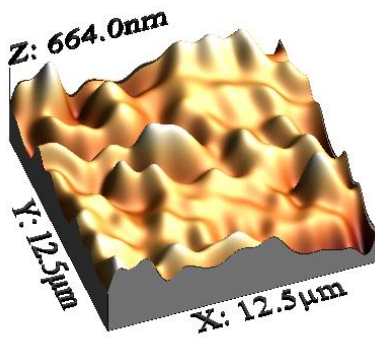
(B)



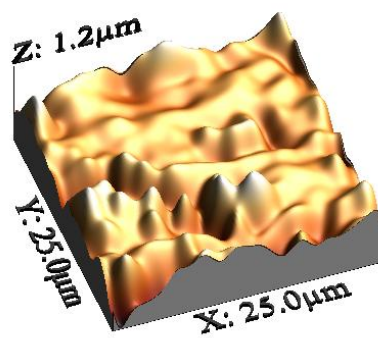
(C)



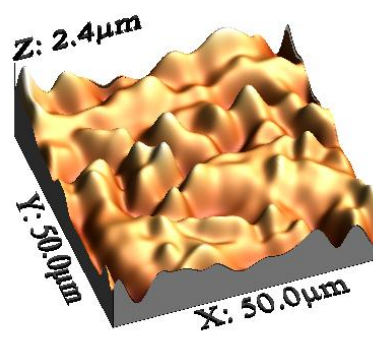
(D)



(E)



(F)



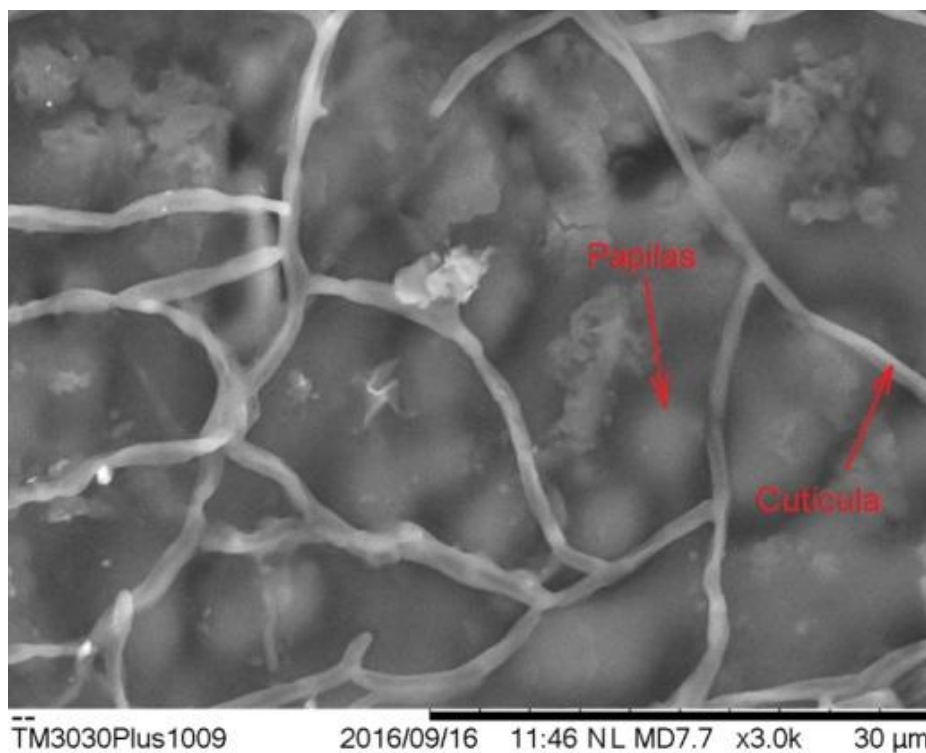
(G)

Fonte : autor.

Cada imagem fornecida pelo AFM na Figura 60 vai duplicando-se, inicia em $0,78 \times 0,78 \mu\text{m}^2$ e finaliza em $50 \times 50 \mu\text{m}^2$. Observa-se também que a escala no eixo “z” vai aumentando respectivamente, desta maneira pode-se concluir que a rugosidade vai aumentando com o aumento das escalas tal como mostrado na Figura 60 e na Tabela 10.

Como já observado na Tabela 11, a dimensão fractal não tem diferencia significativa para as diferentes áreas, o que pode ser verificado nas imagens das topografias da Figura 60 que fornece o AFM para as diferentes áreas, onde as imagens são parecidas na geometria dos picos, isto é, obedece a lei de potência. Na Figura 61, que é uma imagem de MEV, observa-se que na superfície foliar da *Copaifeira Sp.* existe a presença de cutículas, papilas e cera. Observa-se pouca quantidade de cera e o que mais predomina são as papilas e cutículas. As cutículas e papilas são as responsáveis pela quantificação dos parâmetros fractais.

Figura 61 - Topografia da folha (Adaxial) *Copaifeira sp.* (MEV)

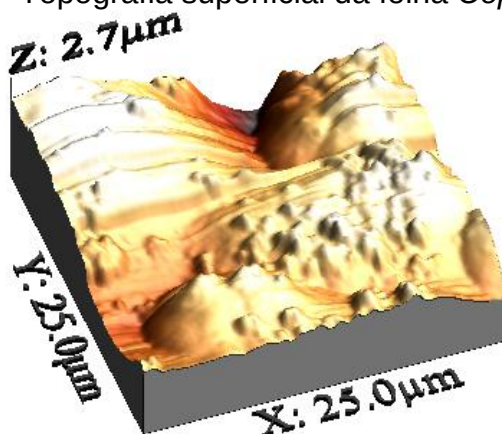


Fonte: Autor.

5.2 ANALISE DA LACUNARIDADE

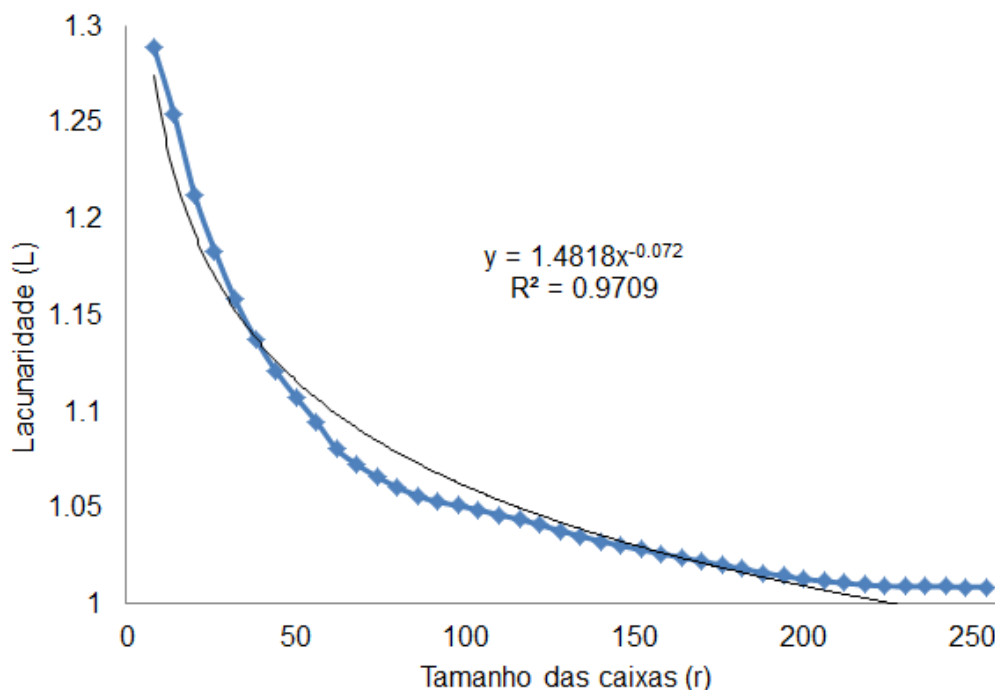
A continuação mostra-se a Figura 62, que representa a topografia da superfície foliar da *Copaifera sp.* e do qual foi calculado a lacunaridade para diferentes tamanhos das caixas.

Figura 62 - Topografia superficial da folha *Copaifera sp.*



Fonte: autor.

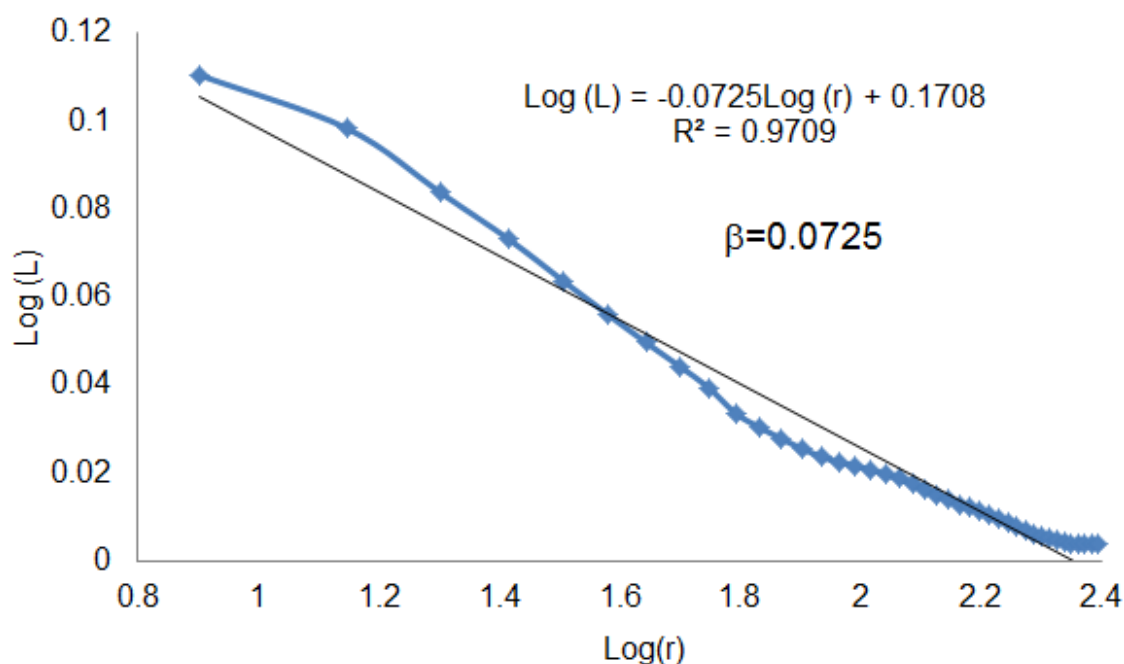
Da Figura 62, calculou-se a lacunaridade em função do tamanho das caixas, onde obtivemos a figura 63, onde observa-se que a gráfico cumpre a lei de potência, o expoente é negativo, tal como indica a literatura (SANTOS, et al, 2014).

Figura 63 - Lacunaridade em função das caixas ($25 \times 25 \mu\text{m}^2$)

Na Figura 63 é apresentada a lacunaridade em função do tamanho das caixas. Conforme aumenta o tamanho das caixas diminui as propriedades do relacionamento espacial entre dois *pixels* respeito às propriedades do relacionamento dos valores individuais dos *pixels*, isso significa que o segundo momento é menor que o primeiro momento estatístico, $Z_2 < Z_1$, maiores esclarecimentos no Apêndice B.

A continuação mostra-se a Figura 64, a qual representa a Figura 63 em escala logarítmica.

Figura 64 - Log(L) em função Log(r)



Fonte: autor.

De acordo com Gráfico 64 trabalhou-se com o método de estimativa do expoente de lacunaridade e deste modo caracterizar e quantificar a textura superficial foliar, já que tradicionalmente a lacunaridade apresenta uma medida pontual (Gráfico 63) isso é por que não tem um único valor que caracterize a superfície foliar, e como tal não seria possível determinar uma diferença entre duas ou mais superfícies. Esta abordagem permitiu utilizar a lacunaridade como uma ferramenta estatística para calcular uma assinatura de textura.

Na Tabela 15 são evidenciados os expoentes de lacunaridade em função da área, foram varridas áreas diferentes para uma mesma superfície foliar.

Tabela 15 - Dependência do expoente de Lacunaridade com a área

Área μm^2	$0,78^2$	$1,56^2$	$3,13^2$	$6,25^2$	$12,5^2$	25^2	50^2
Expoente de Lacunaridade (Modulo)	0.038	0.047	0.061	0.126	0.070	0.133	0.049
	0.048	0.050	0.066	0.157	0.115	0.103	0.042
	0.072	0.047	0.036	0.028	0.055	0.090	0.031
	0.069	0.064	0.038	0.091	0.030	0.080	0.091
	0.048	0.038	0.022	0.071	0.061	0.044	0.119
	0.086	0.046	0.021	0.038	0.060	0.058	0.062
	0.055	0.051	0.060	0.064	0.026	0.059	0.081
	0.036	0.078	0.024	0.029	0.055	0.123	0.047
	0.047	0.082	0.093	0.027	0.071	0.047	0.063
	0.047	0.047	0.072	0.048	0.035	0.052	0.035
	0.067	0.061	0.047	0.056	0.053	0.076	0.067
	0.065	0.047	0.130	0.062	0.093	0.069	0.049

❖ $0,78^2=0,78 \times 0,78$; $1,56^2=1,56 \times 1,56$ $50^2=50 \times 50$

Para esta Tabela 15 foi escolhido diferentes áreas, inicia-se a partir de $0,78 \times 0,78 \mu\text{m}^2$, até $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ (AFM), para cada uma destas áreas obtivemos 12 valores, tal como se mostra na Figura 58.

Apresenta-se na Tabela 16 com o análise estatístico ANOVA da Tabela 15, onde tem-se Valor-P, F, F crítico, já que com estes valores se podem determinar se tem ou não diferencia significativa entre as medias dos expoentes de Lacunaridade para diferentes áreas de trabalho.

Tabela 16 - ANOVA da Tabela 15

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
1.046501	0.402187	2.218817

A continuação se apresenta a Tabela 16 com o análise estatística ANOVA da Tabela 15, temos que o valor-P (0.402187), é maior que o grado de confiabilidade ($\alpha=0,05$), e o valor de F (1.046501), é menor que F crítico (2.218817). Portanto os valores dos expoentes de lacunaridade para diferentes áreas são significativamente iguais, então os expoentes de lacunaridade não depende significativamente da área. Este resultado indica que β é um parâmetro característico de toda a superfície foliar.

A Tabela 17 mostra os expoentes de lacunaridade em função do tempo. Este processo foi incluído neste trabalho com a finalidade de ter confiabilidade no resultado anterior, isto é, testar que o parâmetro β não muda com o tempo ou com o

passar dos dias (10 dias). Trabalhou-se com a área da parte adaxial de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$. No processo de varrido pelo AFM a amostra ficou na porta amostras em um período de 10 dias, durante este procedimento só foi trocado a posição do varrido.

Tabela 17 - Dependência dos expoentes de Lacunaridade do tempo.

Tempo (Horas)	00-50	51-100	101-150	151-200	201-250
Expoentes de Lacunaridade (Modulo)	0.133	0.076	0.055	0.043	0.048
	0.103	0.069	0.073	0.119	0.041
	0.090	0.093	0.065	0.037	0.085
	0.079	0.072	0.055	0.080	0.075
	0.044	0.075	0.040	0.168	0.122
	0.058	0.051	0.054	0.065	0.121
	0.059	0.181	0.055	0.088	0.079
	0.123	0.046	0.035	0.087	0.071
	0.047	0.036	0.056	0.085	0.067
	0.052	0.042	0.055	0.033	0.063
	0.079	0.072	0.055	0.080	0.075
	0.080	0.051	0.062	0.072	0.055

❖ Trabalhou-se com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$

Nesta Tabela 17 manteve-se constante a área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$, neste caso porque só queríamos determinar a dependência do expoente de lacunaridade com o tempo e consideramos em um intervalo de tempo de 50 horas por os motivos mencionados na discussão de dimensão fractal (5.1).

A continuação se apresenta a Tabela 18 com o análise estatístico ANOVA da Tabela 17, para determinar se são significativamente iguais ou não as médias para os diferentes intervalos de tempos (50 horas) de realizada a medida.

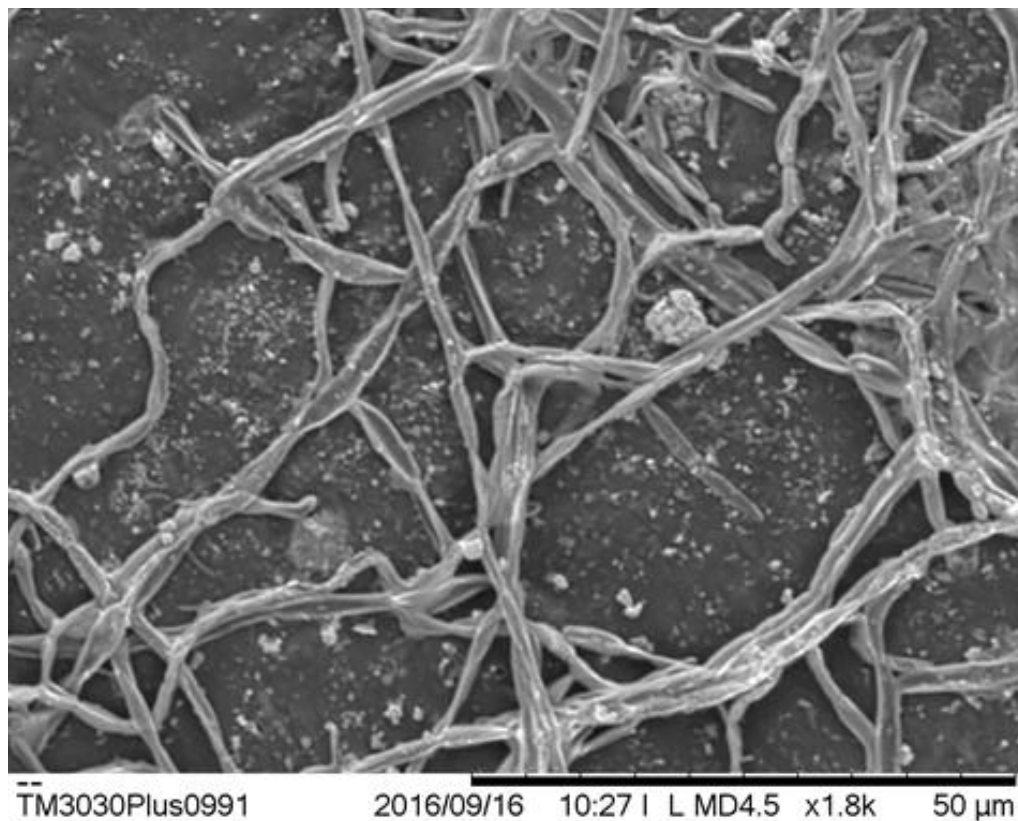
Tabela 18 - ANOVA da Tabela 17

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
1.377115	0.253824	2.539689

Na Tabela 18 se apresenta à análise ANOVA, temos que o valor-P (0.253824), é maior que o grado de confiabilidade ($\alpha=0,05$) e o valor de F (1.377115), é menor que F critico (2.539689), observamos que a média entre os valores dos expoentes da lacunaridade para diferentes intervalos de tempos, são significativamente iguais, por tanto os expoentes de lacunaridade são

significativamente constates para diferentes intervalos de tempos, isto significa que β é estacionário pelo menos para um tempo de 250 horas. Neste trabalho, as medidas no AFM foram realizadas durante um tempo menor há 250 horas.

Figura 65 - Imagem da folha *Copaifera* sp. parte adaxial (MEV)



Fonte: autor.

Na Figura 65, observamos que a superfície foliar tem pouca cera, e que a cutícula forma um emaranhado, não se observa estômatos, portanto as lacunas estão formados só por as cutículas na parte adaxial da folha de *Copaifera* sp.

5.3 ANALISE DA SUCOLARIDADE

Nesta pesquisa, a sucularidade mede o grau de interconexão entre bandas, assumimos que toda superfície onde a sucularidade está mais próximo a zero, significa que tem maior interconexão entre as bandas, neste sentido não vai ter retenção das moléculas de água na superfície foliar. Portanto, para valores da

sucolaridade mais próximo de um, vamos ter uma superfície foliar com alta molhabilidade.

Os procedimentos realizados anteriormente para a dimensão fractal e lacunaridade vão ser reproduzidos para a sucolaridade.

A continuação mostra-se a seguinte Tabela 19 da sucolaridade em função da área de trabalho.

Tabela 19 - Dependência da sucolaridade da área

Área μm^2	0,78 ²	1,56 ²	3,13 ²	6,25 ²	12,5 ²	25 ²	50 ²
Sucolaridade	0.3878	0.4340	0.3207	0.3164	0.3162	0.2691	0.3792
	0.3078	0.3223	0.3071	0.3126	0.3767	0.3998	0.3324
	0.3074	0.3192	0.3073	0.3116	0.3139	0.3395	0.4016
	0.2915	0.3195	0.3837	0.3018	0.3722	0.4117	0.4401
	0.3077	0.3020	0.2794	0.4637	0.3124	0.3324	0.3508
	0.3682	0.3720	0.3794	0.3778	0.3426	0.3593	0.3577
	0.3811	0.3126	0.2837	0.3324	0.3824	0.3349	0.3753
	0.3341	0.3130	0.3991	0.3815	0.3942	0.3001	0.3547
	0.3345	0.3959	0.3427	0.3226	0.2955	0.3164	0.3150
	0.3873	0.3957	0.3430	0.4477	0.3002	0.4142	0.3665
	0.3256	0.3457	0.2968	0.4566	0.3677	0.3425	0.4319
	0.4332	0.3185	0.3950	0.3187	0.4197	0.4131	0.4120

❖ 0,78²=0,78x0,78; 1,56²=1,56x1,56..... 50²=50x50

A continuação se apresenta a Tabela 20 com a análise estatística ANOVA da Tabela 19, onde tem-se valor-P, F, F crítico, já que com estes valores seu pode determinar se tem ou não diferencia significativa entre as medias da sucolaridade para diferentes áreas.

Tabela 20 - ANOVA da Tabela 19

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
0.933533	0.476002	2.218817

Na Tabela 20, se apresenta a analise ANOVA (Uma Via), temos que o valor-P (0.476002), é maior que o grado de confiabilidade ($\alpha=0,05$) e o valor de F (0.933533), é menor que F crítico (2.218817), observamos que a média entre os

valores da sucularidade para diferentes áreas, são significativamente iguais, por tanto a sucularidade são significativamente constates para diferentes áreas.

Agora se apresenta a Tabela 21 dos expoentes de sucularidade em função do tempo. Este processo foi incluído neste trabalho com a finalidade de ter confiabilidade no resultado anterior, isto é, testar que o parâmetro β não muda com o tempo ou com o passar dos dias (10 dias). Trabalhou-se com a área da parte adaxial de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$. No processo de varrido pelo AFM a amostra ficou na porta amostras em um período de 10 dias, durante este procedimento só foi trocado a posição do varrido.

Tabela 21 - Sucularidade em função do tempo

Tempo (Horas)	0-50	51-100	101-150	151-200	201-250
Sucularidade	0.3223	0.3195	0.3020	0.3720	0.3128
	0.3072	0.3837	0.2794	0.3794	0.2837
	0.3126	0.3018	0.4637	0.3778	0.3324
	0.3767	0.3722	0.3124	0.3426	0.3824
	0.3998	0.4117	0.3324	0.3593	0.3349
	0.3324	0.4401	0.3508	0.3577	0.3753
	0.3164	0.4477	0.3457	0.4319	0.4197
	0.3150	0.3002	0.2968	0.4332	0.4131
	0.3873	0.4142	0.4566	0.3185	0.4120
	0.3957	0.3665	0.3677	0.3950	0.3126
	0.3427	0.3256	0.3425	0.3187	0.3116
	0.3078	0.2915	0.3077	0.3682	0.3811

❖ Trabalhou-se com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$

Na Tabela 21, manteve-se constante a área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$, porque pretendia-se determinar a dependência da sucularidade da área, e consideramos em um intervalo de tempo de 50 horas.

A continuação se apresenta a Tabela 22 com o análise estatístico ANOVA da Tabela 21, para determinar se são significativamente iguais ou não as médias para os diferentes intervalos de tempos (50 horas) de realizada a medida.

Tabela 22 - ANOVA da Tabela 25

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
0.735952	0.571441	2.539689

Na Tabela 22, de acordo ao análise ANOVA, tem-se que o valor-P (0.571441), é maior que o grau de confiabilidade ($\alpha=0,05$) e o valor de F (0.735952), é menor que F crítico (2.539689), observamos que a média da sucularidade para diferentes intervalos de tempos, são significativamente iguais, pelo tanto a sucularidade é significativamente constate para diferentes intervalos de tempos. Isto significa que a sucularidade é estacionário pelo menos para um tempo de 250 horas. Neste trabalho, as medidas no AFM foram realizadas durante um tempo menor a 250 horas.

5.4 COMPARAÇÃO ENTRE AS CARACTERÍSTICAS SUPERFICIAIS DAS FOLHAS DE *COPAIFERA SP* E *THALIA GENICULATA*

Esta parte do trabalho uma comparação dos parâmetros fractais das folhas vegetais *Copaifera sp.* e *Thalia geniculata*, foi feita. Com relação a folha de *Thalia geniculata* é bom ressaltar que a superfície da folha tem características superhidrofóbicas (FIGUEIREDO, 2015).

5.4.1 Dimensão Fractal

A continuação apresentou a Tabela 23 da dimensão fractal das folhas da Espécie Vegetal *Copaifera sp.* e *Thalia geniculata*.

Tabela 23 - Comparação de Dimensão Fractal

	<i>Copaifera sp.</i>	<i>Thalia geniculata</i>
Dimensão Fractal	2.08	2.36
	2.08	2.32
	2.16	2.32
	2.20	2.26
	2.14	2.32
	2.19	2.32
	2.11	2.28
	2.09	2.35
	2.11	2.36
	2.10	2.09
	2.12	2.17
	2.14	2.25

❖ Trabalhou-se com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$

Para fazer a comparação da dimensão fractal para as duas folhas vegetais trabalhou-se com a área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$.

A continuação se apresenta a Tabela 24 com o análise estatístico ANOVA da Tabela 23 com o objetivo de poder determinar se tem diferencia significativa entre a dimensão fractal de ambas as folhas vegetais.

Tabela 24 - ANOVA da Tabela 23

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
35.47299	5.4E-06	4.30095

De acordo a Tabela 24, se apresenta ao análise ANOVA (fator único), temos que o Valor-P (5.4E-06), é menor que o grado de confiabilidade ($\alpha=0,05$), e o valor de F (35.47299), é maior que F critico (4.30095) isso significa que a média entre os valores da dimensão fractal para a área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$, são significativamente diferentes.

Copaifera sp

$$D = 2.1268 \pm 0.0059$$

Thalia geniculata

$$D = 2.2789 \pm 0.0176$$

Este resultado já era esperado para a folha *Copaifera sp.* devido ao fato de esta ter menor rugosidade (APENDICE 4), consequentemente ela é uma superfície menos complexa.

5.4.2 Lacunaridade

A continuação apresentamos a Tabela 25 para a Lacunaridade das folhas vegetais *Copaifera sp.* e *Thalia geniculata*

Tabela 25 - Comparação dos expoentes (β)

	<i>Copaifera sp</i>	<i>Thalia geniculata</i>
Expoente de Lacunaridade (β)	0,051	0,080
	0,103	0,144
	0,090	0,176
	0,080	0,121
	0,044	0,057
	0,058	0,049
	0,059	0,123
	0,093	0,165
	0,047	0,168
	0,052	0,147
	0,076	0,198
	0,069	0,134

❖ Trabalhou-se com uma área de 25x25 μm^2

Trabalhou-se com a Tabela 25 o análise estatístico ANOVA, para assim obter a Tabela 26 para poder determinar se tem diferencia significativa entre os expoentes de lacunaridade de ambas as folhas vegetais.

Tabela 26 - ANOVA da Tabela 25

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
17,48241	0,000388	4,30095

De acordo a Tabela 26, ao análise ANOVA, se tem que o Valor-P (0,000388), é menor que o grado de confiabilidade ($\alpha=0,05$), e o valor de F (17,48241), é maior que F critico (4.30095) isso significa que a média entre os valores dos expoentes de lacunaridade, para as duas folhas (*Copaifera sp.* e *Thalia geniculata*) são significativamente diferentes.

Com os dados da Tabela 25, obtemos os seguintes resultados, onde apresentamos a média e desvio padrão.

Copaifera sp

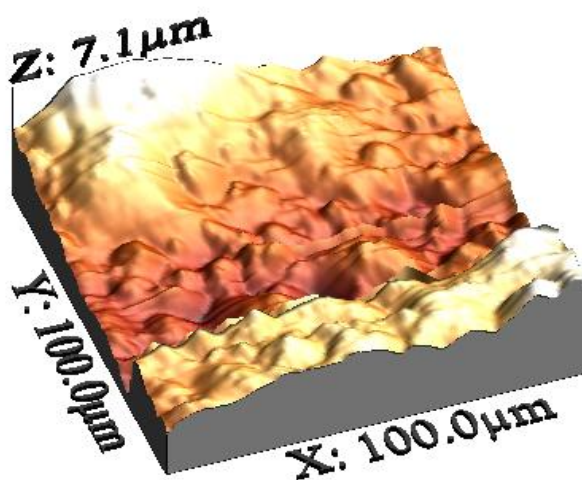
$$\beta_C = 0.0685 \pm 0.0057$$

Thalia geniculata

$$\beta_T = 0.1302 \pm 0.0136$$

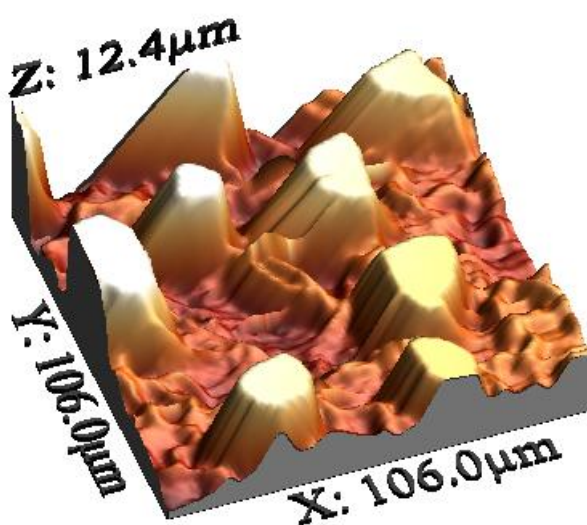
Os resultados anteriores indicam que a média do expoente de lacunaridade da *Copaifera sp.* é menor que a *Thalia geniculata*, isso significa que a superfície da *Copaifera sp.* tem menos heterogeneidade das lacunas, isto é, ela tem menos vazios na sua superfície com relação a superfície da *Thalia geniculata*, como pode ser observado de uma maneira qualitativa nas Figuras 65 e 66.

Figura 66 - Morfologia superficial da folha *Copaifera sp*



Fonte : Autor.

Figura 67 - Morfologia superficial da folha *Thalia geniculata*



Fonte : Figueiredo.

5.4.3 Sucularidade

Na Tabela 27 se apresenta a sucularidade das folhas vegetais *Copaifera sp.* e *Thalia geniculata*.

Tabela 27 - Comparação da Sucularidade

	<i>Copaifera sp.</i>	<i>Thalia geniculata</i>
Sucularidade	0.530422	0.230728
	0.417309	0.360752
	0.292107	0.371109
	0.380829	0.369312
	0.199619	0.373833
	0.267052	0.376144
	0.325031	0.375412
	0.390255	0.370022
	0.285980	0.382107
	0.256386	0.237762
	0.503952	0.377071
	0.383793	0.246704

❖ Trabalhou-se com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$

A continuação se apresenta a Tabela 28 com o análise estatístico ANOVA da Tabela 27, para poder determinar se tem diferença significativa entre a sucularidade de ambas as folhas vegetais.

Tabela 28 - ANOVA da Tabela 27

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
0.158001	0.694834	4.30095

De acordo a Tabela 28, a análise ANOVA, se tem que o valor-P (0.694834), é maior que o grado de confiabilidade ($\alpha=0,05$), e o valor de F (0.158001), é menor que F critico (4.30095), então pode-se concluir que a média entre os valores da sucularidade para a área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$, para as duas folhas (*Copaifera sp.* e *Thalia geniculata*) são significativamente iguais.

A espécie vegetal *Copaifera sp.* tem o valor médio da sucularidade de

$$S_c = 0,352048 \pm 0,09592$$

A espécie vegetal *Thalia geniculata* tem o valor médio da sucularidade de

$$S_T = 0,339246 \pm 0,058525$$

Estatisticamente ambas as folhas têm a mesma sucularidade, então pode-se concluir que as duas folhas têm a mesma interconexão entre as bandas superficiais.

Devemos ressaltar que o aumento da sucularidade favorece o escoamento na superfície.

Tabela 29 - Comparação dos parâmetros fractais

	<i>Copaifera sp</i>	<i>Thalia geniculata</i>
Dimensão Fractal (DF)	2.1268 ± 0.0059	2.2789 ± 0.0176
Expoente de Lacunaridade (β)	0.0685 ± 0.0057	0.1302 ± 0.0136
Sucularidade(S)	$0,3520 \pm 0,0959$	$0,3392 \pm 0,0585$

Na Tabela 29 observa-se com relação à dimensão fractal, existe uma diferença significativa, isto é, o DF da folha *Thalia geniculata* é maior que a folha *Copaifera sp*. Isto pode ser verificado calculando a rugosidades das folhas e observando que a da folha *Thalia geniculata* é maior que a folha *Copaifera sp*. (APÊNDICE D). Pode-se afirmar com este resultado que o valor da DF quantifica a complexidade de uma imagem superficial, ou seja, o quão irregular um objeto é, ou quanto espaço este ocupa. Com relação ao expoente de lacunaridade, existe uma diferença significativa, isto é, o β da folha *Thalia geniculata* é aproximadamente o dobro que a folha *Copaifera sp*. Pode-se afirmar com este resultado que a lacunaridade caracteriza as superfícies foliares. A sucularidade a diferencia dos parâmetros fractais Dimensão Fractal e lacunaridade, em este caso, não existe uma diferença significativa entre as superfícies foliares. Com relação a sucularidade esperávamos que a *Thalia geniculata* tivesse maior escoamento, isto é menor sucularidade com relação *Copaifera sp*, devido a suas propriedades superhidrofóbicas, mas o cálculo da sucularidade para ambas superfícies sugere que não existe uma diferença significativa entre as superfícies foliares, isto tem relação com o fato que a rugosidades da folha da *Copaifera sp*. é aproximadamente três vezes menor do que a *Thalia geniculata*.

Neste trabalho propõe-se a introdução dos parâmetros fractais como uma medida de caracterizar a nano textura da superfície foliar, e se constatou que as matrizes de *pixels* obtidas de imagens topográficas pelo AFM apresentam resultado consistente se tratando da nano textura, já que os parâmetros fractais não mudam com o tempo assim como também com da área de trabalho e a cera na superfície (APÊNDICE C).

Com tudo, é importante observar, que estes três parâmetros fractais caracterizam completamente a textura da superfície foliar, isto é, observa-se que mesmo um parâmetro (S) para ambas as folhas tenham valores significativamente iguais, vamos ter dois parâmetros (DF e L) para ambas as folhas com diferentes valores. Isto está de acordo com a literatura, neste sentido reforça a proposta desta pesquisa de usar esta metodologia para padronizar plantas vegetais usando só a textura da superfície foliar, além disso, esta metodologia tem a vantagem da acurácia do uso da técnica de Microscopia de Força Atômica, sendo o primeiro trabalho que usa esta técnica para caracterizar texturas de superfícies foliares. Esta metodologia pode ser estendida para identificar espécies de uma mesma família de planta vegetal, como é caso da folha da *Copaifera*.

Na atualidade os estudos para verificar padrões por texturas de superfícies foliares são escassos e as que existem, são em geral metodologias a nível macroscópico e seu estudo de algumas delas fundamenta-se, por exemplo; no perímetro das folhas, o número de nervuras ou folíolos, entre outros. Estas metodologias em geral apresentam dificuldades para identificar plantas vegetais através das folhas, aumentado ainda mais, quando se requer identificar espécies de um mesmo gênero de planta, este é o caso do o gênero *Copaifera*.

Na literatura, não se tem um número exato de espécies pertencentes ao gênero *Copaifera*. Segundo Mabberley (1990), este gênero possui 30 espécies, no entanto, foram encontrados 118 registros de nomes específicos e variedades no banco de dados taxonômicos do Missouri Botanical Garden (www.tropicos.org) dessas 82 espécies consideradas válidas é dizer que existem 36 espécies que não se tem certeza de sua identificação, e 116 no International Plant Name Index (www.ipni.org), sendo 72 espécies válidas é dizer que existem 44 espécies que não se tem certeza de sua identificação. A discordância dos números exatos em relação às espécies do gênero deve estar ligada às várias sinonímias botânicas associadas a algumas espécies, reforçando a necessidade de estudos mais detalhados sobre o gênero, e uma reavaliação das espécies válidas (BARBOSA, 2009).

Os parâmetros fractais usam os dados fornecidos pela técnica de Microscopia de Força Atômica (AFM), por sua vez o AFM fornece imagens digitais em escala micro e nano e tais medições são precisas e confiáveis comparadas com uma caracterização puramente visual e qualitativa (escala macroscópica), este fato

potencializa o uso desta metodologia proposto neste trabalho, para os casos, inclusive, de sinonímias botânicas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta pesquisa foi apresentado um estudo da utilização do método de estimativa dos parâmetros fractais em análise de textura, em imagens digitais fornecido pelo AFM. Para isto utilizou-se o método de estimativa de dimensão fractal para analisar a complexidade existente na variação de intensidade dos *pixels* de uma imagem e deste modo caracterizar e quantificar a textura. Esta abordagem permitiu utilizar a dimensão fractal como uma assinatura de textura.

A lacunaridade é uma medida complementar a dimensão fractal e realiza uma análise da disposição e tamanho das lacunas no preenchimento do fractal. Embora tradicionalmente a lacunaridade apresente uma medida pontual, nesta pesquisa o método de estimativa de lacunaridade foi para caracterizar e quantificar a textura. Os resultados mostrados que o valor de lacunaridade decresce com o aumento da janela, indicando uma maior homogeneidade a maior área de superfície foliar estudada. Verifica-se que o valor do expoente β é significativamente constante para toda a superfície foliar, e isso significa que toda a superfície da folha *Copaifera sp.* tem uma textura significativamente constante respeito as lacunas.

Esta é a primeira pesquisa que se calcula a sucularidade em uma superfície. Os resultados mostram que o método de estimativa da sucularidade é muito útil como um novo recurso para integrar outras características nos processos quantificação de textura. A sucularidade é uma medida que poderia ser vista como uma evolução natural da dimensão fractal e da lacunaridade. O método fractal é simples, fácil e rápido de ser calculado.

A partir dos resultados, como considerações finais tem-se que a superfície foliar da *Copaifera sp.* tem uma textura significativamente constante. Já que os parâmetros fractais permanecem significativamente constante em toda a superfície adaxial e abaxial estudada.

Na superfície foliar da *Copaifera sp.* as cutículas e papilas são as responsáveis de gerar as rugosidades, buracos, interconexões.

Os parâmetros fractais precisam do ponto máximo, mínimo, e a interconexão dos buracos das bandas e estes pontos são fornecidos pela cutícula e papilas, tanto na parte adaxial ou abaxial.

Os parâmetros fractais significativamente não dependem da área, cera, e tempo e isto se deve a que estes medem estatisticamente a nano textura foliar e só precisa do ponto maior, ponto menor e a interconexão dos buracos entre as bandas, então se a superfície foliar muda com o tempo de tamanho ou tem uma camada de cera a diferença de tamanho entre ponto máximo e mínimo permanecem estatisticamente constantes e, assim, também os parâmetros fractais.

Este trabalho propôs a introdução dos parâmetros fractais como uma medida de caracterizar a nano textura da superfície foliar, em outras palavras, pode-se concluir que os parâmetros fractais para análise de nano textura superficial é consistente.

REFERÊNCIAS

- ADDISON, PAUL S., **Fractals and Chaos an Illustrated Course**, Institute of Physics Publishing, Bristol and Philadelphia, 1997.
- ALLAIN. C.; CLOITRE M. Characterizing the lacunarity of random and deterministic fractal. **Physical Review**, v. 44, n. 6, p. 3552-3558, setembro 1991.
- ALVES, L. M. **Modelagem e simulação do campo contínuo com irregularidades: Aplicações em Mecânica da Fratura com Rugosidade**. Paraná: Universidade Federal do Paraná. 98-145, 2011.
- AMANDA, A. LEAF ARCHITECTURE WORKING GROUP et al. **Manual of leaf architecture:-morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous angiosperms**. Smithsonian Institute: Washington, DC. 67 pp.+ CD-ROM. Jodrell, 1999.
- ARMATAS, G. S.; KOLONIA, K. M.; POMONIS, P. J. Morphometry of porous solids: lacunarity, fractal dimensions, connectivity, and some topological similarities with neurons. **Langmuir**, v. 18, n. 26, p. 10421-10429, 2002.
- ASHHAB, M., SALAPAKA, M. V., DAHLEH, M., MEZIĆ, I. **Dynamical analysis and control of microcantilevers**. Elsevier Science, USA, v. 35, p. 1663-1670, oct. 1999.
- ASSIS, L. M. D., ZAVAREZE, E. D. R., PRENTICE-HERNÁNDEZ, C., SOARES, L. A. D. S. Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Braz. J. Food Technol**, Rio Grande, v. 15, n. 2, p. 99-109, jun. 2012.
- BACKES, A. R. **Estudos de métodos de análise de complexidade em imagens**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.
- BACKES, A. R., CASANOVA, D., BRUNO, O. M. Identificação de plantas por análise de textura foliar. **Learning and Nonlinear Models**, v. 9, n. 2, p. 84-90, 2011.
- BARBOSA, A. G. S. **Estudo de microestruturas magnéticas por Microscopia de Força Atômica**. Belo Horizonte: Comissão Nacional de Energia Nuclear. Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, 2010.
- BARBOSA, K. D. S. **Distribuição das espécies do gênero *Copaifera* L. na Amazônia Legal e aspectos morfológicos de *C. Multijuga* Hayne da Reserva de**

Desenvolvimento Sustentável do Tupé, Manaus-Am. Diversidade Biológica e Sociocultural do Baixo Rio Negro, Manaus, v. 2, p. 135-142, 2009.

BARBOSA, L. G. D. M. D. S. **Análise de nanocompósitos poliméricos por microscopia de força atômica.** Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

BARROS FILHO, M. N. M. **As múltiplas escalas da diversidade intra-urbana: uma análise de padrões socioespaciais no Recife (Brasil).** 2006. 296 f. 2006. Tese de Doutorado. Departamento de Arquitetura e Urbanismo, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

BRAGA, P. C.; RICCI, D. **Atomic force microscopy: biomedical methods and applications.** Springer Science & Business Media, 2004.

BRUNEAU, A., FOREST, F., HERENDEEN, P. S., KLITGAARD, B. B., LEWIS, G. P. Phylogenetic relationships in the Caesalpinioideae (Leguminosae) as inferred from chloroplast trnL intron sequences. **Systematic Botany**, v. 26, n. 3, p. 487-514, 2001.

BURTON, Z.; BHUSHAN, B. Surface characterization and adhesion and friction properties of hydrophobic leaf surfaces. **Ultramicroscopy**, v. 106, n. 8, p. 709-719, 2006.

CARMEN, N. A.; MARIN, A. Fractal analysis of endemic plants from Romanian Carpathians. **Farmacía**, v. 59, n. 4, p. 561-572, 2011.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, 1039 p, 2003.

CARVALHO, V. F. P. Formação e caracterização de cristais de proteínas usando métodos de filmes finos. 2013.

CASANOVA, D. **Identificação de espécies vegetais por meio da análise de textura foliar.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2008.

CASANOVA, D.; DE MESQUITA S.; JUNIOR, J. J.; BRUNO, O. M. Plant leaf identification using Gabor wavelets. **International Journal of Imaging Systems and Technology**, v. 19, n. 3, p. 236-243, 2009.

COJOCARU, J. I. R.; POPESCU, D.; NICOLAE, I. E. Texture classification based on succolarity. In: **Telecommunications Forum (TELFOR), 2013 21st.** IEEE, p. 498-501, 2013.

COSTA, C. S. D. **Avaliação quantitativa e qualitativa da rugosidade superficial de resinas compostas com nanopartículas submetidas a diferentes métodos de polimento.** Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2013.

COSTA, J. A. S. **Estudos taxonômicos, biossistemáticos e filogenéticos em *Copaifera L.* (Leguminosae –Detarieae) com ênfase nas espécies do Brasil**

Extra-Amazônico.Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2007.

COELHO, R. C.; COSTA, L. F. The box-counting fractal. dimension: Does it provide an accurate subsidy for experimental shape characterization? if so, how to use it. **Anais do Sibgrapi**, v. 95, p. 183-191, 1995.

COSTA, C. S. D. **Avaliação quantitativa e qualitativa da rugosidade superficial de resinas compostas com nanopartículas submetidas a diferentes métodos de polimento.** Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2013.

COSTA-MACHADO, Ana Rita de Mello. **Obtenção de produtos a partir das folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf.: otimização da extração e secagem em spray dryer utilizando planejamentos experimentais.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.2011.

COSTA, L. D. F., BARBOSA, M. S., MANOEL, E. T. M., STREICHER, J., MÜLLER, G. B. Mathematical characterization of three-dimensional gene expression patterns. **Bioinformatics**, v. 20, n. 11, p. 1653-1662, 2004.

COSTA, L. D. F. D., CESAR JR, R. M. **Shape analysis and classification: theory and practice.** CRC Press, Inc., 2000.

CRUZ, T. G. D. S. **Leis de Escala e Dimensão Fractal em Filmes Finos: Microscopia de Força Atômica e Técnicas Eletroquímicas.** Campinas: Universidade Estadual de Campinas, p. 13-24, 2002.

CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D.W. **Anatomia Vegetal: uma abordagem aplicada.** Artmed Editora , 2011.

DEDAVID, B. A.; CARMEM I. G.; MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura:** aplicações e preparação de amostras materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.

DOUGHERTY, G.; HENEERY, G.M.. Fractal signature and lacunarity in the measurement of the texture of trabecular bone in clinical CT images. **Medical Engineering & Physics-ELSEVIER**, v. 23, p. 369–380, 2001.

DWYER, J. D. The tropical american genus *Tachigalia* Aubl.(Caesalpinaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 41, n. 2, p. 223-260, 1954.

EBERT, D. S.**Texturing and Modeling: A procedural Approach.** Academic Press, oct. 1994.

EGAN, W. J.; LAURI, G. Prediction of intestinal permeability. **Advanced drug delivery reviews**, v. 54, n. 3, p. 273-289, 2002.

Einstein, A. J., Wu, H. S., Gil, J. Self-affinity and lacunarity of chromatin texture in benign and malignant breast epithelial cell nuclei. **Physical Review Letters**, v. 80, n. 2, p. 397, 1998.

ENSIKAT, H.J.; BOESE, M.; MADER, W.; BARTHLOTT, W.; KOCH, K. Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. **Chemistry and Physics of Lipids**.v.144, p.45–59, 2006.

FARIA, A. A. P. **Aspectos Fractais em Sistemas Complexos**. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, p. 26-36, 2002.

FAVARETTO, A. B. **Estimativa do expoente de Hurst de séries temporais de chuvas do estado de São Paulo usando as transformadas de Fourier, wavelets e análise r/s**. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, p. 25-38, 2004.

FEDER, J. **Fractals**. New York: Plenum Press, 1988.

FERNANDES, J. A. **Fractais: uma nova visão da matemática**. Lavras: Centro Universitário de Lavras, 2007.

FERREIRA, A. A. P.; YAMANAKA, H. Microscopia de força atômica aplicada em imunoensaios. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 137, 2006.

FERREIRA, M. **Técnicas de nanocaracterização: Coleção nanociência e nanotecnologia: princípios e aplicações**. Brasil: Elsevier Brasil, v. 3, 2014.

FERREIRA, M. R. **Autômato celular com probabilidades de transição dependentes da altura para o estudo do crescimento de superfícies**. Belo Horizonte: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, p. 29-53, 2009.

FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989.

FILHO, M. N. B.; SOBREIRA, F. J. A. Accuracy of lacunarity algorithms in texture classification of high spatial resolution images from urban areas. **The International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences**, Beijing, v. 37, p. 417-422, 2008.

FILHO, P. L. D. P. **Reconhecimento de espécies florestais através de imagens macroscópicas**. Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2012.

FILHO, R. B.; LUIZ HENRIQUE CAPPARELLI MATTOSO. Estudo de Polímeros por Microscopia de Força Atômica. **Embrapa Instrumentação Agropecuária**, São Carlos-SP-Brasil, v. 53, p. 1-4, set. 2003.

FLORINDO, J. B. **Descritores fractais aplicados á análise de textura**. São Carlos: Universidade de São Paulo, p. 236, 2013.

GARCÍA, R.; PÉREZ, R. Dynamic atomic force microscopy methods. **Surface Science Reports**. n. 47, p. 197-301, 2002.

GEFEN, Y., MEIR, Y., MANDELBROT, B. B., AHARONY, A. Geometric implementation of hypercubic lattices with noninteger dimensionality by use of low lacunarity fractal lattices. **Physical Review Letters**, v. 50, n. 3, p. 145, 1983.

GÖERGEN, L. C. DE SOUZA, G. R. C., CAMARGO, L. P., REGINATTO, L. A., LUIZ, S. P. F., DA CRUZ, S. T. D., PEREIRA, R. S. Caracterização espectral de folhas e influência do tempo após a coleta de folhas na reflectância de *Erythrina cristagalli* L. **ResearchGate**, Belo Horizonte, p. 2753- 2759, abr. 2009.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital Image Processing**. 3. ed. [S.l.]: Pearson, 2007.

GULICK D. **Encounters with Chaos**. McGraw-Hill International Editions - Mathematics and Statistics Series, 1992.

HARALICK, R. M. **Statistical and Structural Approaches to Texture**. Proceedings of the IEEE, v. 67, n. 5, p. 786-804, 1979.

HASHEMI, N.; H DANKOWICZ; M. R., P. The nonlinear dynamics of tapping mode atomic force microscopy with capillary force interactions. **Journal of Applied Physics**, USA, v. 103, n. 9, 2008.

HAWKINS, J. K. Textural properties for pattern recognition. **Picture processing and psychopictorics**, p. 347-370, 1970.

HERRMANN, P. S., DA SILVA, M. A., BERNARDES, R., JOB, A. E., COLNAGO, L. A., FROMMER, J. E., MATTOSO, L. H. Microscopia de varredura por força: uma ferramenta poderosa no estudo de polímeros. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v. 97, p. 51-61, 1997.

HOWLAND, R.; BENATAR, L. **APratical Guide to Scanning Probe Microscopy**, Park Scientific Instruments, 1996.

ISRAELACHVILI, J. N. **Intermolecular and Surface Forces**. Third Edition. ed. [S.l.]: [s.n.], p. 107-127, 2011.

JANDT, K. D. Developments and perspectives of scanning probe microscopy (SPM) on organic materials. **Materials Science and Engineering. Reports**, Lausanne, v. 21, p. 221-295, 1998.

JUNIOR, J. J. D. M. S. **Novos métodos de análise de texturas baseados em modelos gravitacionais simplificados e caminhos mais curtos em grafos**. Ceará: Universidade Federal de Ceará, 2013.

JUNIOR, J. J. S.; BACKES, A. R. Shape classification using line segment statistics. **Information Sciences**, v. 305, p. 349-356, 2015.

SÁ JUNIOR, J. J. D. M., BACKES, A. R., ROSSATTO, D. R., KOLB, R. M., BRUNO, O. M. Measuring and analyzing color and texture information in anatomical leaf cross sections: an approach using computer vision to aid plant species identification. **NRC Research Press**, São Paulo, v. 89, n. 7, p. 467-479, jul. 2011.

KADI, A.; OMAR S. Texture measures combination for improved meningioma classification of histopathological images. **Pergamon**, v. 43, n. 6, p. 2043-2053, 2010.

KELLER, J. M.; CHEN, S.; CROWNOVER, R. M. Texture Description and Segmentation through Fractal Geometry. **Computer Vision**, Graphics, and Image Processing, n. 45, p. 151-166, 1989.

KESTENBAC, H.J.; BOTA FILHO W.J. **Microscopia Eletrônica Transmissão e Varredura**. São Paulo: ABM, 1994.

LANGE, G. D.; MARKS, W. B. Fractal methods and results in cellular morphology—dimensions, lacunarity and multifractals. **Journal of neuroscience methods**, v. 69, n. 2, p. 123-136, 1996.

LÉONARD, J. Notulae systematicae IV (Caesalpiniaceae-Amherstieae africanae americanaeque). **Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles**, v. 19, n. Fasc. 4, p. 383-408, 1949.

LÓPEZ, E. A.; SANTIAGO D. S. El microscópio de fuerza atómica: métodos y aplicaciones. **Revista 28 de la Universidad del Valle de Guatemala**, Guatemala, p. 14-23, 2014.

LUCENA, L. R. **Análise de lacunaridade de fenômenos agroambientais**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2015.

LUCENA, L. R. R.; STOSIC, T. Utilização de lacunaridade para detecção de padrões de imagens de retinas humanas. **Revista da Estatística da Universidade Federal de Ouro Preto**, v. 3, p. 789-793, 2014.

LUCENA, L. R. R.; CAMPOS, A. C. P. Análise de lacunaridade da precipitação de bacias hidrográficas do estado de São Paulo. **Biomatemática**, São Paulo, v. 24, p. 1-8, 2014. ISSN 1679-365X.

MACEDO, M., LIMA, L., SIMÃO, R. Calculo da rugosidade e dimensão fractal de materiais nano-estruturados. **CBPF-Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas**, Rio de Janeiro, p. 25, jan. 2011.

MACEDO, M. D. O. C., DE MACÊDO, H. R. A., BARBOSA, J. C. P., PEREIRA, M. R., JÚNIOR, C. A. Perfil da molhabilidade em membranas de quitosana tratadas por plasma de hidrogênio. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos-REMAP**, Rio Grande do Norte, v. 5, n. 3, p. 12-16, dez. 2010. ISSN 1809-8797.

MANDELBROT, B. B. **The Fractal Geometry of Nature**. American Journal of Physics, v. 51, n. 3, p. 468, feb. 1983. ISSN 10.1119/1.13295

MANDELBROT, B. B., PIGNONI, R. **The Fractal Geometry of Nature**. W.H. Freeman&Company, n. 19, 2000.

MANDELQUIST, A.; ALMQVIST, N.; FREDRIKSSON, S. Influence of tip geometry on fractal analysis of atomic force microscopy images. **Applied Physics A: Materials Science & Processing**, v. 66, p. S891-S895, 1998.

MALISKA, A.M, Apostila Microscopia Eletrônica de Varredura – Universidade Federal de Santa Catarina – Departamento de Engenharia Mecânica – **LABMAT**, 1995.

MARTINS, A. S. Separação em duas ou mais classes utilizando o classificador polinomial. Uberlândia: **Universidade Federal de Uberlândia**, 2013.

MÁXIMO, O. A.; A. M. SAAD; H. H. KUX. Estimativa do teor de água no solo utilizando dados de radar de abertura sintética. **Revista Bras. Ci. Solo**, São José dos Campos, v. 23, p. 745-752, 1999.

MELO, R. H. C. D. **Using fractal characteristics such as fractal dimension, lacunarity and succolarity to characterize texture patterns on images**. Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense, 2007.

MELO, R. H. C.; CONCI, A. Succolarity: Defining a method to calculate this fractal measure. In: **Systems, Signals and Image Processing, 2008. IWSSIP 2008. 15th International Conference on**. IEEE, 2008. p. 291-294.

MESQUITA, J. J. D.; SÁ JUNIOR. **Novos métodos de análise de texturas baseados em modelos gravitacionais simplificados e caminhos mais curtos em grafos**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2013.

MEYER, E. Atomic Force Microscopy. **Progress in Surface Science**, U.S.A, v. 41, p. 3-49, 1992. ISSN 0079-6816/92.

MORALES, L. F. G.; RUTH H.; FERNANDES, L.A.D. A Técnica de Difração de Elétrons Retro-Espalhados (EBSD) em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e sua Aplicação no Estudo de Rochas Deformadas. **Revista Pesquisas em Geociências**, Porto Alegre, v. 34, n. 1, p. 19-34, 2007.

MOREAU, A. L. D. **Microscopia de Força Atômica em Materiais Biológicos: Biossensores e Nanoferramentas**. Campinas Universidade Estadual de Campinas, 2011.

MOREIRA, MAURÍCIO ALVES. **Fundamentos do Sensoriamento Remoto e metodologias de aplicação**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003.

NAGATANI, T.; SAITO S.; SATO, M.; YAMADA, M. Development of an ultra high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in-lens system. **Scanning Microscopy**. v.11, p. 901-909, 1987.

NASCIMENTO, A. M. R. D. **Interações sólido-líquido e sua importância no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata.** Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2011.

NASCIMENTO, M. E. D. **Caracterização anatômica em diferentes ambientes e óleos essenciais de cinco espécimes de *Copaifera langsdorffii* Desf.** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2014.

N'DIAYE, M., DEGERATU, C., BOULER, J. M., CHAPPARD, D. Biomaterial porosity determined by fractal dimensions, succolarity and lacunarity on microcomputed tomographic images. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 4, p. 2025-2030, 2013.

NUNES, R. S. R. **Geometria Fractal e aplicações.** Porto: Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2006.

PARAISO, R. L. M. **Determinação de solubilidade e permeabilidade de fármacos conforme o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCs).** São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas; Universidade de São Paulo, 2012.

PARTICHELI, M. J. **Estrutura e molhabilidade de filmes finos de carbono amorfo hidrogenado expostos a radiação.** Joinville: Universidade do Estado de Santa Catarina, 2015.

PAULO, S. A.; GARCIA, R. Unifying theory of tapping-mode atomic-force microscopy. **Physical Review B**, v. 66, n. 4, p. 041406, 2002.

PERSSON, B.N.J., Theory of rubber friction and contact mechanics. **The Journal of Chemical Physics**, v. 115, n. 8, 2001.

PITHAN, S. L. D. S. **Caracterização de Imagens de Microscopia de Força Atômica Utilizando Processamento de Imagens.** Minas Gerais: Universidade Federal de Ouro Preto, 2011.

PLOTNICK, R. E.; GARDNER, R. H. Lacunarity analysis: A general technique for the analysis of spatial patterns. **Physical Review E**, Chicago, v. 53, n. 5, maio 1996.

PLOTZE, R. **Visão artificial e morfometria na análise e classificação de espécies biológicas.** São Carlos: Universidade São Paulo, 2009.

RESENDE, H. F. V. D. **Formação de Padrões em Meios Granulares Densos.** Ouro Preto: Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais da REDEMAT, 2008.

RIAÑO-ROJAS, J. C., PARRA, E. R., ORTÍZ, F. P., FLORES, J. O. Obtención de Propiedades Morfológicas de Materiales por Medio de Procesamiento Digital de Imágenes. **Revista de Física**, Bogotá-Colombia, v. 36, p. 34-45, 2008.

RIBEIRO, I. R. B. **Estudo da rugosidade de filmes finos de Telureto de Cádmio crescidos por epitaxia de paredes quentes**. Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, 2008.

RIVERA HENAO, E.; LÓPEZ, V. R. Geometría fractal y transformada de Fourier. **Scientia et technica**, v. 2, n. 48, p. 269-274, 2011.

RODRIGUES, E. P. **Lacunaridade para caracterização de formas de dimensão finita**. São Carlos: Universidade São Paulo, 2004.

RODRIGUEZ, L. K. J. **Determinación de propiedades efectivas en monolitos tipo espuma empleando el concepto de lagunaridad**. Bucaramanga: Universidad Industrial Santander, 2010.

ROSOLEM, C. A. **Recomendação e aplicação de nutrientes via foliar**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002.

RÜTZEL, S.; LEE, S. II; RAMAN, A. Nonlinear dynamics of atomic–force–microscope probes driven in lennard–jones potentials. In: **Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**. The Royal Society, p. 1925-1948, 2003.

MYINT, S. W.; MESEV, V.; LAM, N. Urban textural analysis from remote sensordata: Lacunarity measurements based on the diferencial box counting method. **Geographical Analysis**, p. 371–390, 2006.

SÁ JUNIOR, J. J. D. M. **Identificação de espécies vegetais por meio de análise de imagens microscópicas de folhas**. Universidade de São Paulo. São Carlos, 2008.

SANTOS, A. L. P. D. Análise da lacunaridade do regime pluviométrico de Piracicaba. **Revista de Estatística UFOP**, v. 3, n. 59, 2014.

SILVA, L. D. D. **Síntese verde, caracterização e atividade biológica de nanopartículas de prata obtidas utilizando extratos de Hancornia speciosa Gomes -Apocynaceae (mangabeira)**. Brasília: Instituto de Ciências Biológicas; Universidade de Brasília, 2014.

SILVA, M. R. D. Silício: estudo de suas características e do seu parâmetro de rede utilizando o programa wien2k. **XXVIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção**, Rio de Janeiro, p. 1-12, out. 2008.

SILVA, N. R. D. **Reconhecimento de padrões heterogêneos e suas aplicações em biologia e nanotecnologia**. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2015.

SKLANSKY; J. **Image Segmentation and Feature Extration**. **IEEE Transactions on System, Man and Cybernectics**, v. 13, n. 5, p. 907-916, 1978.

SMITH, T.G; G.D., L. B.; W.B. Fractal methods and results in cellular morphology - dimensions, lacunarity and multifractals. **Journal of Neuroscience Methods-ELSIEVER**, U.S.A., v. 69, p. 123- 136, maio 1996.

TAPPIN, M. R. R. Análise química quantitativa para a padronização do óleo de copaíba por cromatograma em fase gasosa de alta resolução. **Química Nova**, v. 27(2), p. 236–240, 2004.

TRICOT, C. **Curves and Fractal Dimension**. New York: Springer-Verlat, v. 2, 1995.

TUCERYAN, M.; ANIL K. JAIN. **Texture analysis. Book Handbook of pattern recognition & computer vision**, USA, p. 235-276, 1993.

TUSSET, A. M.; BALTHAZAR, J. M. Microscopia de Força Atômica: Controle de uma Microviga Modelada Matematicamente com Comportamento Não-Linear e sob a ação de Amortecimento Hidrodinâmico. **Proceedings of the 9th Brazilian Conference on Dynamics Control and their Applications**, p. 363-370, jun. 2010. ISSN ISSN 2178-3667.

VAZQUEZ, I. A. **Aplicación del análisis de textura de imágenes para la caracterización cuantitativa de superficies biológicas**. México: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, 2011.

VEIGA JUNIOR; PINTO, A. C.O gênero Copaifera L. **Quim. Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 273-286, jul., 2002.

VOGT, M.; KUNATH, K.; DRESSMAN, J.B. Dissolution enhancement of fenofibrate by micronization, cogrinding and spray-drying: comparison with commercial preparations.**European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**,v. 68, p. 283–288, maio 2008.

WIESENGANGER, R. **Scanning probe microscopy and spectroscopy**. Great Britain: Canbridge University Press, 1994.

WORCESTER, D. L.; R.G., M.; P.J., B. Atomic Force Microscopy of Purple Membranes. **Journal of Microscopy**, v. 152, n. 3, p. 817–821, dec. 1988.

XIE, S., CHENG, Q., LING, Q., LI, B., BAO, Z., FAN, P. Fractal and multifractal analysis of carbonate pore-scale digital images of petroleum reservoirs. **Marine and Petroleum Geology**, v. 27, n. 2, p. 476-485, 2010.

YAGASAKI, K. Nonlinear Dynamics of Vibrating Microcantilevers in Tapping-Mode Atomic force microscopy. **Physical Review B**, Gifu-Japan, v. 70, 15 dec. 2004.

YANG, H., WANG, Y., LAI, S., AN, H., LI, Y., CHEN, F. Application of atomic force microscopy as a nanotechnology tool in food science. **Journal of food science**, v. 72, n. 4, p. R65-R75, 2007.

ZHANG, W. M., MENG, G., ZHOU, J. B., CHEN, J. Y. Nonlinear dynamics and chaos of microcantilever-based TM-AFMs with squeeze film damping effects. **Sensors**, v. 9, n. 5, p. 3854-3874, 2009.

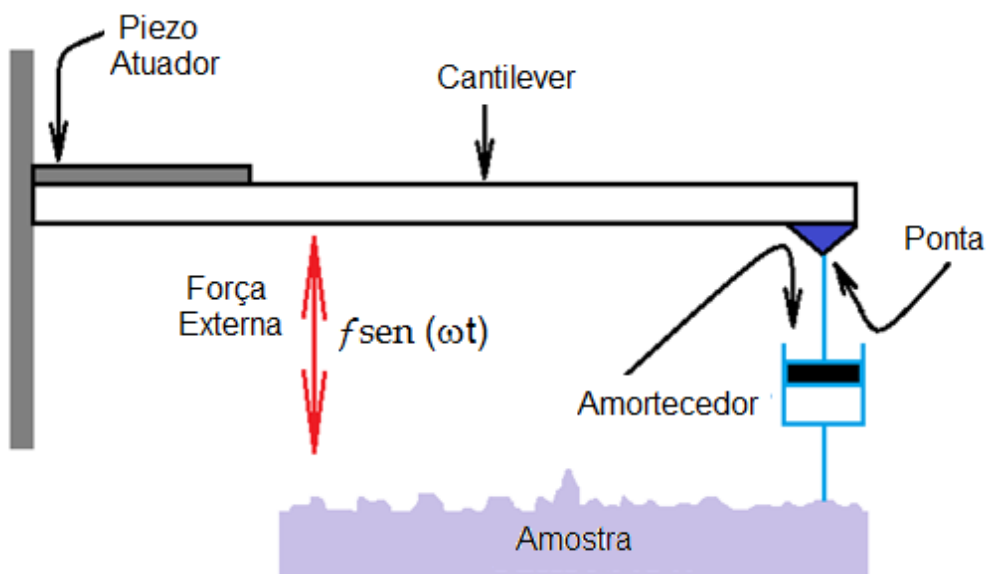
ZHANG, Y.; ZHAO, Y. P. Nonlinear dynamics of atomic force microscopy with intermittent contact. **Chaos, Solitons & Fractals**, v. 34, n. 4, p. 1021-1024, 2007.

ZHAO, X., DANKOWICZ, H. Characterization of intermittent contact in tapping-mode atomic force microscopy. **Journal of computational and nonlinear dynamics**, v. 1, n. 2, p. 109-115, 2006.

APÊNDICE A - Modelo Matemático do AFM no Modo Tapping

Na Figura 15. pode-se observar o modelo do cantiléver no modo tapping em AFM. A base do cantiléver é excitada por um atuador piezelétrico gerando um deslocamento $f_{sen}(\omega t)$, este modelo corresponde ao Movimento Harmônico Forçado Amortecido.

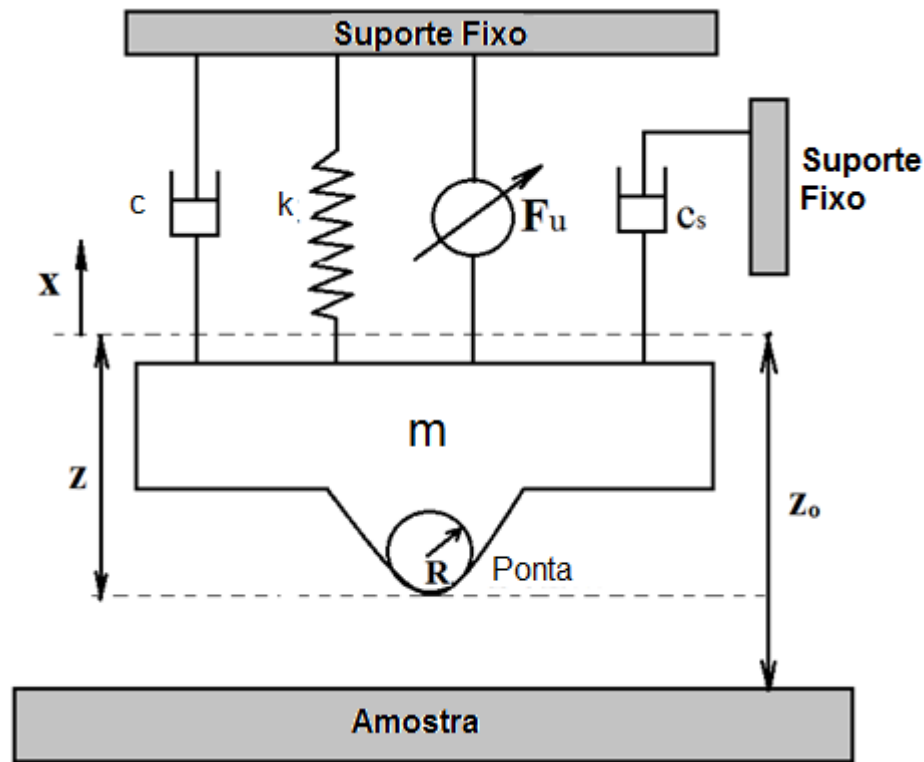
Figura 15 - Modelo Matemático de um AFM no Modo Tapping



Fonte: TUSSET, A. M.; BALTHAZAR, J. M-2010.

Conforme (ZHANG, et al. 2009), quando considera-se apenas o primeiro modo de vibrar o raio de ação do AFM pode ser modelado como um sistema massa-mola-amortecedor, conforme o mostrado na Figura 16. A ponta é modelado como se fosse uma esfera de raio R , e a distância entre a amostra e o cantiléver por Z_0 que é a distância entre a posição de equilíbrio do cantiléver e a amostra, quando apenas a gravidade atua sobre ela. A posição cantiléver é dada por x , medido a partir da posição de equilíbrio. Na Figura 16, pode-se observar o modelo do AFM cantiléver vibrando perto da superfície da amostra, sendo acrescentado o componente $F_u = f_{sen}(\omega t)$, que representa a força de controle que pode ser introduzida para controlar o deslocamento do cantiléver.

Figura 16 - Representação do modelo de AFM através de um sistema massa-mola-amortecedor



Fonte : Tusset e Balthazar (2010).

Conforme (RUTZEL, et al., 2003) a interação entre a ponta do cantilêver e a superfície da amostra pode ser modelada como a interação entre uma esfera e uma superfície plana. Esta interação pode ser modelada como:

$$U(x, z_0) = \frac{C_1 R}{1260(z_0 + x)^7} - \frac{C_2 R}{6(z_0 + x)} \dots \dots \dots (19)$$

Sendo $U(x, z_0)$ o potencial Lennard-Jones (LJ).

Onde C_1 é a constante de Hamaker para o potencial atrativo e C_2 é a constante de Hamaker para o potencial repulsivo. Sendo

$$C_1 = \pi^2 \rho_1 \rho_2 I_1 ,$$

$$C_2 = \pi^2 \rho_1 \rho_2 I_2 ,$$

Sendo ρ_1 e ρ_2 a densidade dos componentes que estão interagindo, e I_1 e I_2 são constantes da interação.

Quando o cantiléver está próximo da amostra, além da força da mola acrescentam-se a Força atrativa de Van Der Waals que é proporcional ao inverso do quadrado da distância entre a ponta do cantiléver e a amostra e a Força de repulsão é igual a oitava potência inversa da distância entre a ponta e a amostra. Estas forças podem ser representadas como a soma das forças atrativas e repulsivas, e é expressa como:

$$F = -\frac{\partial U}{\partial (x+z_0)} = \frac{C_1 R}{180(z_0+x)^8} - \frac{C_2 R}{6(z_0+x)^2} \dots\dots\dots(20)$$

Para que o AFM inicie e se mantenha em movimento oscilatório (Modo Tapping), o cantiléver é excitado por uma força harmônica $f \sin \omega t$, e o contato ponta amostra gera a força F , tal força F é a força de Van Der Waals, que são forças atrativas e repulsivas, é dizer que quando a ponta se aproxima a força é repulsiva e quando se afasta a força é atrativa.

No modo Tapping a sonda toca a superfície da amostra no ponto de máxima amplitude de oscilação. O contato entre ponta e amostra é bastante delicado, sendo este modo de operação indicado para amostras frágeis.

Uma maneira de obter a lei de movimento de um sistema oscilatório é diante a equação de Lagrange, onde trabalha com a energia cinética (T) e energia potencial (V)

O Lagrangeano este definido como:

$$L = T - V$$

Sendo a energia cinética (T) e a energia potencial (V), respectivamente do sistema. Equações do movimento para a coordenada x , considerando forças não conservativas está dado por:

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\partial L}{\partial \dot{x}_i} \right) - \frac{\partial L}{\partial x_i} = Q_i \dots\dots\dots(21)$$

Onde: Q_i = são as forças não conservativas

$$T = \frac{1}{2} m \dot{x}^2$$

$$V = \frac{1}{2} k_l x^2 + \frac{1}{4} k_{nl} x^4$$

$$Q_i = F + f \sin(\omega t)$$

Aplicando (4) em (5), (6), (7) e (8) obtêm-se:

$$m\ddot{x} + c\dot{x} + k_l x + k_{nl} x^3 = \frac{C_1 R}{180(z_0 + x)^8} - \frac{C_2 R}{6(Z_0 + x)^2} + f \sin(\omega t)$$

Sendo x o deslocamento da ponta do cantiléver, considerando-se a posição de equilíbrio na ausência de forças externas, $\dot{x}$ a velocidade de deslocamento, $\ddot{x}$ a aceleração, m a massa do cantiléver, k_l o coeficiente de rigidez linear da mola, k_{nl} o coeficiente de rigidez não linear da mola e c o coeficiente de amortecimento.

$$m\ddot{x} + c\dot{x} + k_l x + k_{nl} x^3 = \frac{C_1 R}{180(z_0 + x)^8} - \frac{C_2 R}{6(Z_0 + x)^2} + f \sin(\omega t)$$

Realizando as seguintes substituições em (10):

$$\tau = \omega_1 t, \quad X = \frac{x}{z_s}, \quad \dot{X} = \frac{\dot{x}}{\omega_1 z_s},$$

$$a = \frac{z_0}{z_s}, \quad c = \frac{k_{nl}}{k_{at}} Z_s^2, \quad d = \frac{4}{27},$$

$$e = \frac{2}{405} \left(\frac{a}{z_s} \right)^6, \quad g = \frac{f_0}{k_{at} z_s}, \quad \Omega = \frac{\omega}{\omega_1},$$

$$r = \frac{1}{Q}$$

A equação (10) fica da seguinte forma adimensional:

$$\ddot{X} + r\dot{X} + cX^3 = -\frac{d}{(a + X)^2} + \frac{e}{(a + X)^8} + g \sin \Omega \tau$$

Considerando os valores dos parâmetros:

$$\Omega = 1; \quad r = 0.5; \quad b = 1;$$

$$c = 0.35; \quad d = 4/27; \quad e = 0.0001;$$

$$g = 0.2;$$

$$p = 0.005 \text{ e}$$

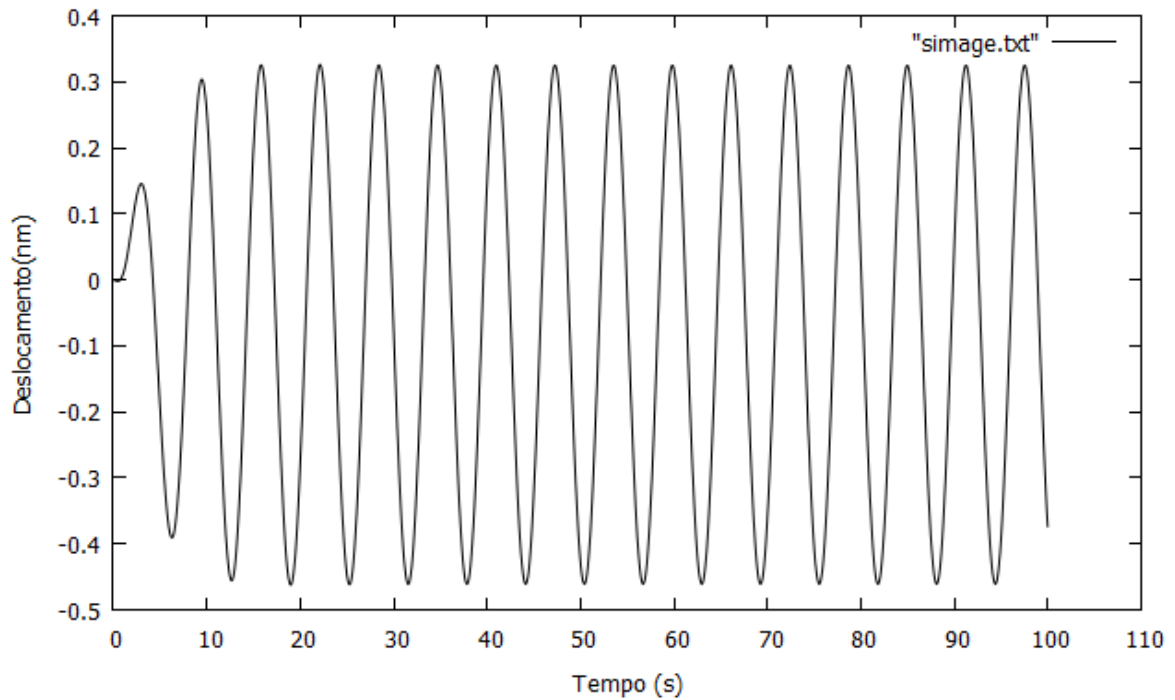
$$a = 1.6,$$

O deslocamento pode ser observado na Figura 17, que se obteve da solução numérica da equação (11), tal solução foi realizada em o programa FORTRAN 77, e a gráfica no software livre Gnuplot 5.0 Patchlevel 3.

Tabela 2 - Parâmetros de silício Modo Tapping e mostra de silício usado na simulação numérica

Descrição	Valor nominal
❖ Comprimento	150 μm
❖ Largura	27 μm
❖ Espessura	2,8 μm
❖ Raio da ponta	10nm
✓ Densidade do material	2329 kg/m^3
➤ Módulo de Young	130 GPa
❖ Rigidez à flexão	7,4 N/m
❖ Frequência ressonância	160kHz
▪ Fator de qualidade	100
▪ Constante de Hamaker (repulsivo)	$1,3596 \times 10^{-70} \text{ J.m}^6$
○ Constante de Hamaker (atrativo)	$19 \times 10^{-20} \text{ J}$
❖ http://www.nanosensors.com/PointProbe-Plus-Non-Contact-Soft-Tapping-Mode-afm-tip-PPP-NCST .	
✓ SILVA, M. R. D -2008	
➤ http://silicon.mhopeng.ml1.net/Silicon/	
○ https://es.wikipedia.org/wiki/Nanohilo#Nanohilos_de_Silicio	
▪ RÜTZEL, S.; SOO IL LEE; ARVIND RAMAN-2003.	

Figura 17 - Movimento Oscilatório da Ponta do AFM.



Fonte : autor.

De acordo com a Figura 17, tem-se que quando começa o movimento oscilatório a amplitude vai aumentando até alcançar a amplitude máxima no tempo de 15 segundos aproximadamente, e a partir de então permanece constante a amplitude. Isto demonstra que o AFM, é relativamente estável na aquisição de dados, e neste trabalho se iniciou a aquisição de dados depois dos 15 segundos, já que de acordo ao análises teórico precisava de 15 segundos para sua estabilidade o cantilever depois de iniciar seu movimento.

APÊNDICE B - Dedução matemática da Lacunaridade

Para $k=1, 2, \dots$, o momento de ordem k da variável M é definido por $E(M^k)$, desde que essa quantidade exista. Então o momento de ordem K é definido como,

$$\mu_k = E(M^k)$$

Se $E(M^k) < \infty$, para el caso discreto temos;

$$\mu_k = E(M^k) = \sum_{i=1}^{\infty} m_i^k Q(m_i)$$

A Função Geratriz de Momentos $Z_x(t)$ da variável aleatória M é definida para todos os valores de $t \in \mathbb{R}$ como

$$Z_m(t) = E(e^{tM}) = \sum_x e^{tM} Q(M)$$

Se M é uma variável aleatória discreta com função de probabilidade $Q(M)$

Chama-se de Função Geratriz de Momentos porque todos os momentos de M podem ser obtidos pelo cálculo sucessivo da derivada de $Z_m(t)$ e avaliando esta em

$$t = 0$$

Série de Maclaurin: $e^m = \sum_{k=0}^{+\infty} \frac{m^k}{k!}$ (converge para todo $m \in \mathbb{R}$). Logo,

$$e^{tM} = \sum_{k=0}^{+\infty} \frac{(tM)^k}{k!}$$

Portanto,

$$\begin{aligned} Z_x(t) = E(e^{tM}) &= E\left(\sum_{k=0}^{+\infty} \frac{(tM)^k}{k!}\right) \\ &= 1 + tE(M) + \frac{t^2}{2!}E(M^2) + \frac{t^3}{3!}E(M^3) + \frac{t^4}{4!}E(M^4) + \dots \\ &\quad + \frac{t^n}{n!}E(M^n) + \dots \end{aligned}$$

Portanto,

$$\begin{aligned} Z'_m(t) &= E(M) + tE(M^2) + \frac{t^2}{2!}E(M^3) + \frac{t^3}{3!}E(M^4) + \frac{t^4}{4!}E(M^5) + \dots \\ &\quad + \frac{t^{n-1}}{(n-1)!}E(M^n) + \dots \end{aligned}$$

Os momentos de primeira ordem estimam propriedades dos valores individuais dos pixels, ignorando sua interação espacial com a vizinhança, o momento não centrado de primeira ordem; é

$$Z'_m(0) = Z_1 = E(M) = \sum_x M \cdot Q(M)$$

Desta forma, estatísticas de primeira ordem analisam a distribuição dos níveis de cinza, mas não proveem nenhuma informação sobre as posições relativas dos vários níveis de cinza na imagem. Assim, com esta análise não é possível saber, por exemplo, se os níveis de cinza mais baixos estão aglomerados em determinada região ou, se eles intercalados com altas intensidades dos níveis de cinza.

Os Momentos de segundo ordem. Estimam propriedades do relacionamento espacial entre dois pixels, baseando-se na probabilidade de encontrar um par de

pixels de níveis de cinza na imagem que estejam a uma distância do momento não centrado ordem 2; é

$$Z_x''(0) = Z_2 = E(M^2) = \sum_x M^2 \cdot Q(M)$$

$$L(r) = \frac{Z_2}{[Z_1]^2}$$

$$Z_2 = \sum_M M^2 \cdot Q(M, r)$$

$$Z_1 = \sum_M M \cdot Q(M, r)$$

$$L(r) = \frac{\sum_M M^2 \cdot Q(M, r)}{[\sum_M M \cdot Q(M, r)]^2}$$

APÊNDICE C - Dependência dos parâmetros fractais com a cera

Dimensão Fractal

A continuação apresenta-se os resultados das medições na superfície adaxial, abaxial (com e sem cera) da folha vegetal *Copaifera sp.*, tal como mostra na Tabela 15

Tabela 15 - Dependência da Dimensão Fractal com a cera

	Adaxial com cera	Adaxial sem cera	Abaxial com cera
Dimensão Fractal	2.08	2.15	2.19
	2.08	2.10	2.15
	2.16	2.10	2.11
	2.10	2.18	2.08
	2.08	2.05	2.10
	2.19	2.12	2.06
	2.11	2.17	2.06
	2.09	2.08	2.07
	2.11	2.05	2.19
	2.08	2.11	2.10

	2.10	2.09	2.14
	2.14	2.05	2.09

❖ Trabalhou-se com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$

Nesta pesquisa foi escolhida uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$, devido ao fato da comprovação que não existe diferença significativa nas medias da dimensão fractal para diferentes áreas obtive-se 12 dados na zona Adaxial (com cera e sem cera) e abaxial (com cera).

A continuação se apresenta as análises estatísticas de ANOVA, onde o valor -P, F e F critico, já que com estes valores se pode determinar a diferencia significativa entre as medias (Adaxial com cera, adaxial sem cera, abaxial com cera).

Tabela 16 - ANOVA (Uma Via) da Tabela 15

F	Valor-P	F crítico
0.10329	0.90215	3.28492

De acordo com analise ANOVA (Uma Via), o valor-P (0.90215) é maior que o grado de confiabilidade ($\alpha=0,05$) e o valor de F (0.10329) é menor que F critico (3.28492). Portanto a média dos valores da Dimensão Fractal da superfície adaxial, abaxial, com cera, sem cera, são significativamente iguais. Com isso concluímos que não existe dependência da Dimensão Fractal com a cera.

Lacunaridade

Na Tabela 21 é apresentada a dependência de β com a cera. Este procedimento foi com o objetivo também de verificar se este parâmetro tem uma dependência com a cera ou não, para isto trabalhamos na parte adaxial com cera e sem cera, e na parte abaxial só trabalhamos com cera, tal como se mostra na Tabela 21.

Tabela 21 - Dependência do expoente de Lacunaridade com a Cera

	Adaxial com cera	Adaxial sem cera	Abaxial com cera
Lacunaridade (Modulo)	0,133	0,060	0,049
	0,103	0,049	0,033
	0,090	0,050	0,127
	0,080	0,050	0,093
	0,044	0,152	0,070
	0,058	0,082	0,049

	0,059	0,159	0,046
	0,123	0,037	0,049
	0,047	0,040	0,118
	0,052	0,035	0,073
	0,076	0,193	0,070
	0,069	0,053	0,127
❖ Trabalhou-se com uma área de 25x25 μm^2			

Trabalhou-se com uma área de 25x25 μm^2 , isto é por que já verificou-se que não existe diferença significativa das médias dos expoentes de lacunaridade para as diferentes áreas.

A continuação apresentou-se o resultado de análise estatístico de ANOVA-Uma Via, trabalhou-se com Uma Via, por que todos os dados tem uma única variável dependente que é o expoente de lacunaridade.

Tabela 22 - ANOVA da Tabela 21

F	valor-P	F crítico
0.03906	0.96174	3.28492

De acordo com a análise ANOVA (fator único), o valor-P (0.961737), é maior que o grau de confiabilidade ($\alpha=0,05$), e o valor de F (0.03906), é menor que F crítico (3.284918) isso significa que a média entre os valores dos expoentes de lacunaridade são significativamente iguais, pelo tanto o expoente de lacunaridade é constante em qualquer parte da folha (adaxial e abaxial), e não tem uma dependência da cera, e isso é devido a que a superfície contém pouca cera, tal como se mostra na seguinte Figura 61 da *Copaifera sp* feita por MEV.

Sucolaridade

A continuação se vai a determinar a dependência da cera na sucularidade, para isto trabalhamos na parte adaxial com cera e sem cera, e na parte abaxial só trabalhamos com cera, tal como se mostra na Tabela 27.

Tabela 27 - Dependência da Sucularidade da cera

	Adaxial com cera	Adaxial sem cera	Abaxial com cera
suc lar i d a d e	0.3138	0.3128	0.3620
	0.2837	0.3494	0.3794

	0.3424	0.3815	0.3678
	0.3824	0.3442	0.3426
	0.3349	0.3701	0.3593
	0.3653	0.3547	0.3577
	0.4197	0.3072	0.4319
	0.4131	0.3737	0.4332
	0.4120	0.2794	0.3685
	0.3226	0.3794	0.3450
	0.3116	0.3250	0.3587
	0.3711	0.3341	0.3612

❖ Trabalhou-se com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$

Trabalhamos com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$, isto é por que já comprovamos que não existe diferença significativa das médias da sucularidade.

A continuação apresentou o resultado de análise estatístico de ANOVA, trabalhamos com Uma Via, por que todos os dados tem uma única variável dependente que é a sucularidade.

Tabela 28 -ANOVA da Tabela 27

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
2.019758	0.148766	3.284918

De acordo com a análise ANOVA, temos que o Valor-P (0.148766), é maior que o grau de confiabilidade ($\alpha=0,05$) e o valor de F (2.019758), é menor que F crítico (3.284918), observamos que a média da sucularidade na parte adaxial e abaxial (com cera e sem cera) são significativamente iguais.

APÊNDICE D - Rugosidade (RMS)

Em esta parte do trabalho sei vai a fazer uma comparação da rugosidade entre a folha vegetal *Copaífera sp* e *Thalia geniculata*, para comparar e tal comparação serva para análise dos parâmetros fractais.

Tabela 29 - Comparação de rugosidade (RMS)

	<i>Thalia geniculata</i>	<i>Copaífera sp.</i>
Rugosidade (μm)	2.361	0.5842
	1.305	0.2763
	1.524	0.2709
	2.262	0.9223
	1.317	0.8114
	1.307	0.2903
	1.987	0.4958
	2.651	0.4304
	0.462	0.3242
	0.489	0.2251
	1.160	0.4188
	2.976	0.3224
Media	1.650	0.4477

❖ Trabalhou-se com uma área de $25 \times 25 \mu\text{m}^2$

Observa-se na Tabela 29 que a rugosidade da *Copaifera sp.* é aproximadamente a metade da rugosidade da *Thalia geniculata* para a área de 25x25 μm^2 .

A continuação se apresenta na tabela 30 o análise de variação ANOVA, para poder determinar se tem diferencia significativa entre as rugosidades de ambas as folhas vegetais.

Tabela 30 - ANOVA da Tabela 23

<i>F</i>	<i>Valor-P</i>	<i>F crítico</i>
24.89702	5.4E-05	4.30095

De acordo ao análise ANOVA, temos que o valor-P (5.4E-05), é menor que o grado de confiabilidade ($\alpha=0,05$) e o valor de *F* (24.89702) é maior que *F* critico (4.30095) isso significa que a média entre os valores da rugosidade para a área de 25x25 μm^2 , são significativamente diferentes.

Copaifera sp

$$R_{rms} = 0.4477 \pm 0.0496 \mu\text{m}$$

Thalia geniculata

$$R_{rms} = 1.6501 \pm 0.6470 \mu\text{m}$$

De acordo com os resultados mostrados em que a rugosidade da folha *Copaifera sp.* é aproximadamente a metade quando comparada com a folha *Thalia geniculata*.