

CHARAKTERYSTYKA I ZASTOSOWANIA ZJAWISKA BIOSPECKLI W BADANIACH MATERIAŁÓW ROŚLINNYCH (artykuł przeglądowy)*

Anna Adamiak, Artur Zdunek, Andrzej Kurenda, Adam P. Kuczyński

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: a.adamiak@ipan.lublin.pl

Streszczenie. Biospeckle – zmienny w czasie interferencyjny obraz powstający na skutek rozpraszania koherentnego światła na obiektach biologicznych, coraz częściej znajduje zastosowanie w eksperymentalnych technikach niedestrukcyjnej oceny jakości owoców i warzyw. Użyteczny w praktycznej ocenie jakości parametr – aktywność biospeckli - uzyskiwany poprzez analizę obrazów za pomocą różnorodnych metod statystycznych, jest wskaźnikiem aktywności biologicznej czyli intensywności rozmaitych procesów metabolicznych. W dotychczas przeprowadzonych badaniach materiałów roślinnych z sukcesem zastosowano zjawisko biospeckli do: wykrywania uszkodzeń mechanicznych i infekcji patogenami oraz oceny stopnia rozwoju, dojrzałości lub starzenia. Aktywność biospeckli wykazuje także korelacje z parametrami jakościowymi oraz zawartością określonych substancji chemicznych w tkankach roślinnych.

Słowa kluczowe: biospeckle, jakość biomateriałów

WSTĘP

Ze względu na coraz wyższe wymagania jakościowe występujące w nowoczesnym przemyśle rolno-spożywczym, niezwykle pożądane są proste, tanie, szybkie, a przede wszystkim niedestrukcyjne metody oceny jakości świeżych owoców i warzyw. Szczególnym zainteresowaniem cieszą się dziś metody optyczne, w tym spektroskopowe w zakresie widzialnym i bliskiej podczerwieni (Kuczyński 2006, Zude i in. 2011, Mireei i in. 2010, Rutkowski i in. 2008), jednak takie zalety posiadają także systemy pomiarowe bazujące na technologii laserowej (Zerbini 2006).

Zastosowanie światła laserowego w badaniach biomateriałów opiera się na wykorzystaniu i interpretacji zjawisk, obserwowanych podczas oddziaływania

* Praca sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju z projektu NR 12 0137 10.

światła z materią: może ono zostać zaabsorbowane, wypromieniowane, odbite lub rozproszone przez próbkę (Tuchin 1993).

Doświadczenia przeprowadzane z pierwszym laserem helowo-neonowym w 1960 roku ujawniły istnienie zjawiska określanego jako „speckle” (plamki). Obiekty oświetlone wiązką światła koherentnego, nabywają specyficznego wyglądu o ziarnistej strukturze, złożonej z ciemnych i jasnych plamek (rys. 1B). Źródłem tego zjawiska jest wysoka spójność wiązki lasera. Koherentne, ale różniące się fazą fale, odbite od różnych mikroskopowych elementów powierzchni, w wyniku wzajemnej interferencji tworzą charakterystyczny rozkład intensywności (Dainty 1975).

Zjawisko speckli wykorzystano do wykrywania i pomiaru przemieszczeń w materiałach w przemyśle metalurgicznym i elektronicznym, natomiast od połowy lat 1970, speckle były także wykorzystywane w monitorowaniu aktywności materiałów biologicznych, głównie prędkości przepływu krwi w siatkówce oka i naczyniach włosnikowych (Briers 2001). W przypadku speckli otrzymanych na obiektach biologicznych, zaobserwowano dynamiczną zmienność czasowo-przestrzenną obrazów, wynikającą z właściwości optycznych żywej tkanki (Xu i in. 1995). Wiązka lasera przenikająca przez kilka warstw czynnych optycznie (ściany komórkowe, błony komórkowe, cytoplazma), oświetla jednocześnie cząstki znajdujące się wewnątrz komórek, zatem zanim ostatecznie opuści próbkę jest w niej wielokrotnie rozpraszana (Zhao i in. 1997). Jeśli cząstki wewnątrz komórek są w ruchu, speckle także ruszają się i zmieniają swój kształt. Dynamiczne wzory plamkowe (ang. dynamic speckle pattern) uzyskane na obiektach biologicznych – określane są w skrócie jako biospeckle (bioplamki) i powstają jako wynik nakładania się ruchomych speckli o różnej dynamice, oraz speckli statycznych. Biospeckle stanowią zatem nośnik informacji o biologicznej i fizjologicznej aktywności komórek (Fomin i in. 2002).

WŁAŚCIWOŚCI I CHARAKTERYSTYKA SPECKLI

Ze względu na sposób powstawania wyróżnia się dwa podstawowe rodzaje plamek laserowych: są to speckle obrazowe (subiektywne) oraz speckle dalekiego pola (obiektywne). Speckle obrazowe można otrzymać w wyniku zastosowania układu optycznego (np. soczewki). Intensywność w danym punkcie na obrazie jest określana przez sumę algebraiczną wszystkich amplitud fal docierających do tego punktu. Jeśli wynosi ona zero, na skutek znoszenia się poszczególnych fal, na ekranie widoczna jest ciemna plamka, natomiast jeśli wszystkie docierające do danego punktu fale są zgodne w fazie, obserwowane jest maksimum intensywności. Speckle dalekiego pola powstają, kiedy rozproszone od próbki promienie padają bezpośrednio na ekran, umieszczony w pewnej odległości od obiektu, bez uprzedniego przechodzenia przez układ skupiający. Promienie pochodzące od

wszystkich elementów oświetlanego obszaru składają się na intensywność obserwowaną na otrzymanym obrazie (Briers i in. 1995).

Ważnym z praktycznego punktu widzenia parametrem jest wielkość plamki. Rozpatrując speckle w polu dalekim (obiektywne) średni ich rozmiar zależy od długości fali stosowanego lasera, średnicy oświetlanego obszaru oraz odległości obiektu od ekranu. Natomiast dla speckli obrazowych, oprócz długości fali światła laserowego średni rozmiar plamki zależy od średnicy soczewki, odległości soczewki od detektora a w przypadku złożonych układów optycznych także od wielkości przysłony. Wiadome jest, że istnieje pewien limit rozdzielczości określający najmniejszy rozmiar plamki, który może być tworzony przy pomocy soczewki. Limit ten może być wyznaczony eksperymentalnie, jednak dogodnie jest przyjąć w tym celu kryterium Rayleigha, które opiera się na wyznaczeniu promienia prążków Airyego (Cloud 2007).

Jeżeli do rejestracji obrazów speckli używa się urządzeń cyfrowych, takich jak kamera CCD, rozmiary otrzymywanych plamek odgrywają ważną rolę przy projektowaniu układu optycznego i nie powinny one być mniejsze niż rozmiar piksela kamery, ponieważ speckle mogą zostać przestrzennie uśrednione na zarejestrowanych zdjęciach, co może prowadzić do zmniejszenia kontrastu a nawet utraty obrazu. Z drugiej strony, jeśli speckle są znacznie większe niż rozmiar piksela urządzenia cyfrowego to może nastąpić zmniejszenie się rozdzielczości obrazów. Generalnie rozmiar plamki powinien być w przybliżeniu dwukrotnie większy od rozmiaru piksela kamery użytej do obrazowania (Diazdelacruz 2008).

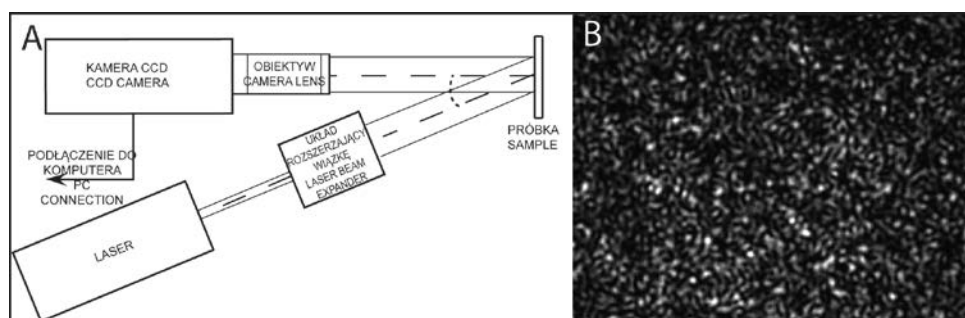
W dynamice speckli można wyróżnić dwa zasadnicze rodzaje ruchów: ruch translacyjny – speckle zmieniają położenie bez zmiany swojego kształtu, oraz ruch deformacyjny – speckle znikają i pojawiają się („mrują”) bez zauważalnego przemieszczenia. W obu tych przypadkach dynamika plamek zależy zarówno od ruchów cząstek rozpraszających światło jak i od parametrów układu optycznego, stosowanego do obrazowania (Bazulev i in. 2003).

Przypuszcza się, że w przypadku materiałów biologicznych, dynamika speckli wywołana jest procesami fizjologicznymi takimi jak ruchy cytoplazmy, transport substancji przez błony, przebudowa cytoszkieletu wywołującymi ruch cząsteczek w komórkach.

UKŁAD POMIAROWY

Do obrazowania speckli najczęściej stosuje się układy pomiarowe składające się z kamery CCD wyposażonej w obiektyw, lasera oraz ekspandera wiązki. Bardzo ważne w zestawieniu układu: laser – próbka – detektor, jest dobranie odpowiednich odległości i kątów, a także wielkości przysłony stosowanej na obiektywie (w przypadku speckli obrazowych), bowiem od tych parametrów zależą roz-

miary otrzymywanych speckli. Przykładowy sposób zestawienia systemu pomiarowego przedstawiono na rysunku 1A.



Rys. 1.A. Schemat układu pomiarowego speckli, **B.** Przykładowy obraz speckli
Fig. 1.A. Scheme of speckle measuring system, **B.** Sample of speckle image

METODY ANALIZY OBRAZÓW BIOSPECKLOWYCH

Powstawanie speckli laserowych jest procesem przypadkowym i może być opisywane jedynie przy pomocy metod statystycznych oraz teorii prawdopodobieństwa (Dainty 1975). Dogodnie jest podzielić statystykę obrazów plamkowych na statystyki pierwszego i drugiego rzędu. Statystyki pierwszego rzędu charakteryzują właściwości każdego speckla z osobna. Parametrami statystycznymi pierwszego rzędu są np.: gęstość prawdopodobieństwa czy odchylenie standardowe intensywności.

Statystyki drugiego rzędu opisują jak szybko zmienia się intensywność poszczególnych pikseli w czasie i przestrzeni, dając w ten sposób informacje o rozmiarach speckli i ich rozkładzie na obrazie. Najczęściej w tym celu stosowana jest funkcja autokorelacji intensywności oraz jej transformata Fouriera – moc spektralna (Briers i in. 1995).

Wybór sposobu analizy jest określany przez charakter zarejestrowanych danych. W przypadku materiału homogenicznego, o jednolitej aktywności najlepiej jest używać statystyk pierwszego bądź też drugiego rodzaju, będą to np. funkcja autokorelacji, moment bezwładności macierzy zdarzeń czy też kontrast Briersa. W większości pozostałych przypadków, kiedy próbki nie są homogenicznymi tkankami biologicznymi wykorzystuje się techniki analizy obrazów w celu przetworzenia i interpretacji natury otrzymanych danych. Jako przykłady takich metod można podać metodę różnic uogólnionych czy też analizę kontrastu plamek laserowych LASCA (Laser Speckle Contrast Analysis) (Braga i in. 2009). Wybór metody podyktowany jest także rodzajem informacji jakie są interesujące dla

badacza oraz sposobem przedstawienia wyników, które można otrzymać jako obraz lub w postaci liczbowej.

Obrazy STS (THSP)

Czasowo Przestrzenny Obraz Plamkowy STS (Space Time Speckle pattern), zwany inaczej Historia Zmian Obrazu Plamkowego THSP (Time History of Speckle Pattern), łączy cechy przestrzenne i czasowe zmieniających się wzorów plamkowych. Traktowany jest jako obraz wtórny, bowiem otrzymywany jest z zarejestrowanej dla danej próbki serii zdjęć, a jego wymiar zależy od liczby klatek. Jedna linia z każdej klatki (najczęściej środkowa kolumna) stanowi jednostkę, element składowy nowej macierzy intensywności, o wartościach w skali szarości. Rzędy reprezentują w niej zmienność przestrzenną natomiast kolumny zawierają informacje o czasowych fluktuacjach. Zatem czasowo-przestrzenny obraz speckli odnosi się do sumarycznej aktywności badanej próbki i może służyć jako wyjściowy parametr w wielu analizach, m. in. w obliczaniu momentu bezwładności macierzy współwystąpień (Nobre i in. 2009).

Moment bezwładności macierzy współwystąpień

Jest miarą strukturalną, która opiera się na utworzeniu Macierzy Zdarzeń COM (Co-Occurrence Matrix) z obrazu STS. Macierz ta może być traktowana jako dwuwymiarowy histogram, a poszczególne jej wartości oznaczają liczby kolejno po sobie występujących wartości intensywności. Kiedy intensywność nie zmienia się w czasie, niezerowe wartości tej macierzy należą do jej głównej przekątnej. Jednak jeśli próbka wykazuje aktywność, wartości intensywności zmieniają się w czasie i liczba punktów leżących poza główną przekątną wzrasta a macierz kształtem przypomina chmurę. Pomiar rozproszenia wartości wokół głównej przekątnej może być wyznaczony za pomocą parametru określanego jako Moment Bezwładności (IM, Inertia Moment) ze względu na analogię do indeksu stosowanego w mechanice (Arizaga i in. 1999).

Entropia fal

Wyznaczenie entropii fal jest kolejną techniką, jaka została zaproponowana do opisu zjawiska biospeckli na podstawie obrazu THSP. W tym celu rzędy THSP dzielone są na określoną ilość okien czasowych o danej długości. Następnie oblicza się energię fal poszczególnych sygnałów oraz energię całkowitą w każdym oknie czasowym. Na podstawie względnej energii fal (stosunek energii poszczególnych sygnałów do energii całkowitej) określonego okna rzędu THSP, wylicza się wartość entropii traktowanej jako deskryptor dynamiki biospeckli

(Passoni i in. 2005). Obliczone wartości entropii odpowiadające poszczególnym pikselom na obrazach pozwalają, na identyfikację obszarów o różnym poziomie aktywności. Wyższa aktywność (jaśniejsze miejsca na obrazie) odpowiada większym wartościom entropii.

Kumulanty statystyczne

Alternatywną metodą, użyteczną do charakterystyki średniej funkcji autokorelacji jest zastosowanie kumulant statystycznych. Kumulanty stanowią znormalizowaną średnią autokorelację obrazu THSP. Duże wartości współczynników odpowiadają wysokiej aktywności obserwowanego zjawiska (Pajuelo i in. 2003).

Współczynnik korelacji wzajemnej

Zdunek i Cybulska (2011) w ocenie aktywności biospeckli zastosowali metodę korelacji wzajemnej. W metodzie tej obliczane są współczynniki korelacji wzajemnej, pomiędzy pierwszą a kolejnymi klatkami zarejestrowanego filmu. Wzrostowi wartości współczynnika korelacji odpowiada zmniejszenie aktywności biospeckli.

Metoda różnic uogólnionych

Metoda ta zwana różnicami uogólnionymi (GD, Generalized Differences), pozwala na wydzielenie obszarów o różnej aktywności i polega na przypisaniu każdemu pikselowi różnicy pomiędzy intensywnościami tego piksela na dwóch kolejnych obrazach. Różnice te są następnie sumowane dla wszystkich możliwych par. Na podstawie oceny poziomu szarości otrzymanego obrazu możliwe jest zaobserwowanie obszarów o różnym poziomie aktywności. Te fragmenty obrazu, które są ciemne, charakteryzują się niską, bądź nawet zerową aktywnością.

Metoda Fujii

Analiza danych w tej metodzie opiera się na zsumowaniu ważonych różnic pomiędzy odpowiadającymi sobie pikselami na dwóch kolejnych obrazach.

Wynikiem operacji jest obraz, który w porównaniu do wyniku otrzymanego w metodzie GD jest bardziej wyraźny (Fujii i in. 1987).

Stosunek sygnału do szumu

Metodę tę zaproponowali Konishi i Fujii (1995) i wykorzystuje ona parametr jakościowy zwany szybkością rozmywania, BR (Blur Rate), obliczany na pod-

stawie stosunku intensywności średniej i intensywności promieniowania na danym obrazie.

Analiza kontrastu speckli

Technika ta polega na obliczaniu kontrastu obrazów biospecklowych na podstawie stosunku odchylenia standardowego do wartości średniej intensywności w poszczególnych oknach obliczeniowych o wymiarach 7x7 lub 5x5 pikseli. Wybór liczby pikseli, dla których obliczany jest kontrast, jest istotny ponieważ ich zbyt mała liczba spowoduje, że statystyki będą wątpliwe, natomiast zbyt wielka ich liczba spowoduje utratę przestrzennej rozdzielczości. Obszary 7x7 lub 5x5 pikseli zostały uznane jako satysfakcjonujący kompromis (Briers i in. 1995).

ZASTOSOWANIA BIOSPECKLI W BADANIACH MATERIAŁÓW ROŚLINNYCH

Układy pomiarowe stosowane w obrazowaniu plamek laserowych są stosunkowo proste, nie wymagają kosztownych urządzeń oraz można je przystosować do danego rodzaju próbki. Zdolność zjawiska biospeckli do odwzorowywania pewnych procesów metabolicznych tworzy możliwość ich zastosowania w obrazowaniu właściwości biomateriałów, zarówno pod kątem ich oceny jakościowej jak i badań naukowych (Braga i in. 2009, Zdunek i in. 2007). W literaturze tematu można odnaleźć wiele przykładów zastosowań zjawiska biospeckli w ocenie parametrów biologicznych i jakościowych materiałów roślinnych. Głównymi kierunkami badań, szczególnie w przypadku roślin użytkowych są: wykrywanie uszkodzeń mechanicznych i infekcji patogenami, ocena stopnia rozwoju, dojrzałości lub starzenia, korelacja aktywności z parametrami jakościowymi np. z jędrnością, kwasowością, zawartością cukrów i skrobi.

Pajuelo i inni (2003) wywoływali w jabłkach niewykrywalne wizualnie uszkodzenia mechaniczne przez opuszczenie z wysokości 20 cm na próbkę stalowej kulki. Następnie przy wykorzystaniu biospeckli przeprowadzili analizy ilościowe i jakościowe w celu wykrycia zmian, jakie nastąpiły w wyniku uderzenia. Z przebiegu krzywych autokorelacji stwierdzili, że owoce charakteryzowały się większą aktywnością biospeckli przed wywołaniem w nich uszkodzenia, oraz wartości otrzymanych momentów bezwładności malały proporcjonalnie do stopnia brązowienia.

Metoda biospeckli stosowana była również do badania nasion fasoli. Przeprowadzone doświadczenia miały na celu rozróżnienie nasion żywotnych od nieżywotnych oraz zbadanie wpływu wilgotności nasion na pomiary IM (Braga i in. 2003). Wyniki eksperymentu wykazały znaczącą zależność wartości IM od wil-

gotności próbek, jednak na podstawie tych pomiarów nie było możliwe rozróżnienie nasion pod względem ich żywotności.

W kolejnej pracy (Braga i in. 2005) badano ziarna fasoli zainfekowane grzybami oraz zdrowe. Do określenia aktywności badanych próbek posłużono się metodą Fujii, IM oraz różnic uogólnionych. Stwierdzono znaczące różnice w otrzymanych parametrach w zależności od tego czy była to próbka z rozwijającą się chorobą grzybową czy materiał kontrolny.

Rabelo i in. (2005) użyli biospeckli do oceny jakości pomarańczy. Zastosowali funkcje autokorelacji i zmodyfikowaną macierz zdarzeń jako indykatory aktywności biospeckli, które zostały porównane z parametrami jakościowymi: zawartością ekstraktu, kwasowością. Dodatkowo badano pomarańcze zebrane w różnym czasie. Wynikiem doświadczenia było uzyskanie znaczących różnic aktywności biospeckli dla parametrów jakościowych dla różnych terminów zbioru.

Perspektywiczne wyniki uzyskano także w przypadku oceny jakości jabłek. Wykazano spadek aktywności biospeckli tych owoców podczas przechowywania (Zdunek i in. 2007), korelację aktywności z zawartością skrobi i kwasowością (Zdunek i Cybulska 2011) oraz zawartością chlorofilu (Zdunek i Herppich 2012).

W innym eksperymencie stwierdzono, że biospeckle stanowią użyteczną metodę do analizy procesów biologicznych jakie zachodzą w czasie dojrzewania pomidora (Romero i in. 2009). W miarę dojrzewania pomidorów wartości aktywności biospeckli wzrastały co wiązano ze spadkiem zawartości chlorofilu.

W ostatnim czasie metodę dynamicznych plamek laserowych zastosowano w celu ilościowego pomiaru aktywności biologicznej korzeni roślin (Braga i in. 2009). Stwierdzono, że przy pomocy biospeckli możliwe jest pokazanie zarysów badanych korzeni kawy (*Coffea arabica*) oraz eukaliptusa (*Eucalyptus grandis*) rosnących na podłożu żelowym oraz zobrazowanie obszarów o różnej aktywności biologicznej w obrębie samych korzeni. Analiza wzorów biospeckli przy pomocy metody GD, pozwoliła na wyraźne rozróżnienie sygnałów otrzymanych dla tkanek oraz żelu. Autorzy zastosowali również transformację falek w odniesieniu do zarejestrowanej dla korzenia kawy serii zdjęć, w celu filtracji wpływu medium żelowego (Braga i in. 2009).

PODSUMOWANIE

Fizyczne podstawy zjawiska speckli są dobrze poznane. Odmienna sytuacja występuje w przypadku rejestracji tego zjawiska na obiektach biologicznych. Obecnie trwają intensywne prace nad określeniem, jakie procesy biologiczne odpowiadają za aktywność biospeckli, co w przyszłości pozwoli na szerokie wykorzystanie tego zjawiska w ocenie jakości materiałów roślinnych zarówno pod kątem uszkodzeń i chorób jak również zawartości określonych składników che-

micznych. Ważną częścią prowadzonych obecnie badań jest rozwój metod statystycznej analizy obrazów umożliwiających wielostronne zastosowanie zjawiska dynamicznych wzorów plamkowych również dla materiałów biologicznych. Przedstawione powyżej przykłady eksperymentalnych zastosowań tego zjawiska stanowią obiecujący początek na przyszłej drodze badań biomateriałów z wykorzystaniem biospeckli.

PIŚMIENNICTWO

- Arizaga R., Trivi M., Rabal H., 1999. Speckle time evolution characterization by the co-occurrence matrix analysis. *Optics & Laser Technology*, 31, 163-169.
- Bazulev N., Fomin N., Fuentes N., Hirano T., Lavinskaya E., Martemianov S., Mizukaki T., Nakagawa A., Rubnikovich S., Saulnier J.B., Takayama K., Tuhault J.L., 2003. Laser monitor for soft and hard biotissue analysis using dynamic speckle photography. *Laser Physics*, 13(5), 786-795.
- Braga R.A., Dal Fabro I.M., Borem F.M., Rabelo G., Arizaga R., Rabal H.J., Trivi M., 2003. Assessment of Seed Viability by Laser Speckle Techniques. *Biosystems Engineering*, 86(3), 287-294.
- Braga R.A., Dupuy L., Pasqual M., Cardoso R.R., 2009. Live biospeckle laser imaging of root tissues. *Eur. Biophys J*, 38, 679-686.
- Braga R.A., Rabelo G.F., Granato L.R., Santos E.F., Machado J.C., Arizaga R., Rabal H.J., Trivi M., 2005. Detection of fungi in beans by the laser biospeckle technique. *Biosystem Engineering*, 91(4), 465-469.
- Briers J.D., 2001. Laser Doppler, Speckle and Related Techniques. *Physiol. Meas.*, 22, R35-R66.
- Briers J.D., Richards R., He X.W., 1995. Capillary blood flow monitoring using laser speckle contrast analysis (LASCA). *Journal of Biomedical Optics*, 4(1), 164-175.
- Cloud G., 2007. Optical methods in experimental mechanics: Part 27: Speckle size estimates. *Experimental Techniques*, 30 (3), 19-22.
- Dainty J.C., 1975. Laser speckle and related phenomena. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- Diazdelacruz J.M., 2008. Adaptive aperture defocused digital speckle photography. *Applied. Opt.* 46(24), 6105-6112.
- Fomin N., Fuentes C., Saulnier J.B., Tuhault J.L., 2002. Digital speckle photography applied to in vivo blood micro circulation monitoring. In: *Optical methods for data processing in heat and fluid flow* (Eds Greated C., Cosgrove J., Buick J. M.). Professional Engineering Publishing Limited. Suffolk. UK.
- Fujii H., Nohira K., Yamamoto Y., Ikawa H., Ohura T., 1987. Evaluation of blood flow by laser speckle image sensing. Part 1. *Appl. Opt.* 25, 5321-5325.
- Konishi N., Fujii H., 1995. Real time visualization of retinal microcirculation by laser flowgraphy. *Opt. Eng.*, 34, 753-757.
- Kuczyński A.P., 2006. Studia nad dynamiką brązowienia i jej wykorzystaniem w ocenie świeżości mięszu jabłek. *Acta Agrophysica, Rozprawy i Monografie*, 5, 138.
- Mireei S.A., Mohtasebi S.S., Massudi R., Refiee S., Arabanian A.S., 2010. Feasibility of near infrared spectroscopy for analysis of date fruits. *Int. Agrophysics*, 24, 351-356.
- Nobre C.M.B., Braga Junior R.A., Costa A.G., Cardoso A.G., da Silva W.S., Safadi T., 2009. Biospeckle laser spectral analysis under inertia moment, entropy and cross-spectrum methods. *Optics Communications*, 282, 2236-2242.
- Pajuelo M., Baldwin G., Rabal H., Cap N., Arizaga R., Trivi M. 2003. Bio-speckle assessment of bruising in fruits. *Optics and Lasers in Engineering*, 40, 13-24.

- Passoni I., Dai Pra A., Rabal H., Trivi M., Arizaga R., 2005. Dynamic speckle processing using wavelets based entropy. *Optics Communications*, 246, 219-228.
- Rabelo G.F., Braga Junior R.A., Fabbro I.M.D., Trivi M.R., Rabal H.J., Arizaga R., 2005. Laser speckle techniques in quality evaluation of orange fruits. *R. Bras. Eng. Agric. Ambiental, Campina Grande*, 9 (4), 570-575.
- Romero G.G., Martinez C.C., Alanis E.E., Salazar G.A., Broglia V.G., Alvarez L., 2009. Bio-speckle activity applied to the assessment of tomato fruit ripening. *Biosystems Engineering*, 103, 116-119.
- Rutkowski K.P., Michalczyk B., Konopacki P., 2008. Nondestructive determination of 'Golden Delicious' apple quality and harvest maturity. *J. Fruit Orn. Plant Res.*, 16, 39-52.
- Tuchin V.V., 1993. Laser and fiber optics in biomedicine. *Laser Physics*, 3(4).
- Xu Z., Joenathan C., Khorana B.M., 1995. Temporal and spatial properties of the time – varying speckles of botanical specimens. *Optical Engineering*, 34(5), 1487-1502.
- Zdunek A., Cybulska J., 2011. Relation of biospeckle activity with quality attributes of apples. *Sensors*, 11, 6317-6327.
- Zdunek A., Muravsky L., Frankevych L., Konstankiewicz K., 2007. New nondestructive method based on spatial-temporal speckle correlation technique for evaluation of apples quality during shelf-life. *Int. Agrophysics*, 21(3), 305-310.
- Zdunek A., Herppich W.B., 2012. Relation of biospeckle activity with chlorophyll content in apples. *Post-harv. Biol. Tech.*, 64, 58-63.
- Zerbini P.E., 2006. Emerging Technologies for non-destructive quality evaluation of fruit. *J. Fruit Orn. Plant Res.*, 14(2), 13-23.
- Zhao Y., Wang J., Wu X., Williams F.W., Schmidt R.J., 1997. Point-wise and Whole-field Laser Speckle Intensity Fluctuation Measurements Applied to Botanical Specimens. *Optics and Lasers in Engineering*, 28, 443-456.
- Zude M., Pflanz M., Spinelli L., Dosche C., Torricelli A., 2011. Non-destructive analysis of anthocyanins in cherries by means of Lambert-Beer and multivariate regression based on spectroscopy and scatter correction using time-resolved analysis. *J. Food Eng.*, 103(1), 68-75.

CHARACTERISTICS AND APPLICATION OF BIOSPECKLE PHENOMENON IN THE STUDY OF PLANT MATERIALS (a review)

Anna Adamiak, Artur Zdunek, Andrzej Kurenda, Adam P. Kuczyński

Institute of Agrophysics PAS, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland
e-mail: a.adamiak@ipan.lublin.pl

Abstract. Biospeckle – variable in time, interferential image, formed by scattering of coherent light on biological objects, more often is used in experimental, non-destructive techniques for quality evaluation of fruits and vegetables. Useful in the practical evaluation of quality parameter – biospeckle activity – obtained by application of various statistical methods of image analysis, is an indicator of biological activity or intensity of various metabolic processes. In previous studies of plant materials, biospeckle phenomenon has been successfully applied in detecting mechanical damage, infection by pathogens and evaluation of the stages of development, maturity and senescence. Biospeckle activity also shows the correlation of the quality parameters and content of certain chemicals in plant tissues.

Keywords: biospeckle, biomaterials quality