unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

# PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

ÁREA DE FÍSICA APLICADA

Desenvolvimento de um sistema automatizado para coleção e classificação de material particulado em suspensão aérea

João Victor Mendes

INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS E CIÊNCIAS EXATAS

RIO CLARO - SP

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

Instituto de Geociências e Ciências Exatas

Câmpus de Rio Claro

JOÃO VICTOR MENDES

# Desenvolvimento de um sistema automatizado para coleção e classificação de material particulado em suspensão aérea

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas do Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Física Aplicada.

Orientador: Lucas Fugikawa Santos

Rio Claro - SP

2023

M538d

Mendes, João Victor
Desenvolvimento de um sistema automatizado para coleção e classificação de material particulado em suspensão aérea / João Victor Mendes. -- Rio Claro, 2023
73 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro
Orientador: Lucas Fugikawa Santos

1. Material Particulado. 2. Pólen. 3. Microscopia Digital. 4. Aprendizado de Máquina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Júlio de Mesquita Filho"

Instituto de Geociências e Ciências Exatas

Câmpus de Rio Claro

JOÃO VICTOR MENDES

# Desenvolvimento de um sistema automatizado para coleção e classificação de material particulado em suspensão aérea

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas do Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Física Aplicada.

Comissão Examinadora
Prof. Dr. Lucas Fugikawa Santos
Prof. Dr. Daniel Cesar Braz
Dr. David Sotero dos Santos Jr.

Conceito: Aprovado

Rio Claro (SP), 24 de fevereiro de 2023

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.
O presente trabalho também contou com o apoio da Oshctech Inc. em conjunto com a MITACS.
Agradeço a meus pais pelo apoio, incentivo e sempre valorizarem a educação.
Agradeço a meu orientador pelos conselhos e pelos debates de ideias que levaram a construção dessa dissertação.
Agradeço aos membros da Oshtech Inc., Peter, David, Elaine e Jim, que colaboraram com o desenvolvimento deste trabalho.
Por fim, agradeço aos meus amigos, os quais me suportaram e me suportam por tantos anos.

*ECCE HOMO*

Sim, eu sei de onde sou!
Insaciável como o fogo
Eu ardo e me consumo.
Tudo o que toco vira flama
E tudo o que deixo, carvão:
Sou fogo, não há dúvida.

Friedrich Nietzsche.

## RESUMO

Material particulado em suspensão aérea pode causar diversos problemas de saúde aos seres humanos. Em especial, pólens e fungos são responsáveis por inúmeros casos de alergia ao longo de todo o globo terrestre. Empresas como a Oshtech Inc. (Ontário, Canadá), parceira neste trabalho, realizam o monitoramento do nível destas partículas ao longo das estações, porém a contagem e classificação é feita de maneira manual. Com o objetivo de automatizar esta tarefa, este trabalho disserta sobre questões teóricas e resultados experimentais da construção de um dispositivo capaz de realizar todas as etapas deste processo, compreendendo um sistema de coleção de partículas, um sistema óptico de imageamento microscópico e um sistema de análise e transmissão dos dados obtidos. Já existem dispositivos que realizam tarefas similares, no entanto, são de alto custo e, portanto, pouco acessíveis. O custo de fabricação é levado em conta durante os processos de desenvolvimento, já que a intenção é a comercialização deste dispositivo para pequenas clínicas, ampliando o monitoramento de pólens ao longo de toda américa do norte. A contagem e a classificação destas partículas são feitas por um software de inteligência artificial (IA), o qual ainda está em desenvolvimento e aperfeiçoamento. Características de iluminação foram definidas a partir da comparação com microscópios comerciais e visando sua utilização no software de IA. A caracterização óptica foi feita através da análise da função de transferência de modulação e de análises de contraste em situações específicas, chegando à conclusão da construção de um sistema óptico de qualidade satisfatória para sua aplicação. Para que o sistema dependa o mínimo possível da interação humana e ainda assim forneça dados precisos, um algoritmo de foco automatizado está em desenvolvimento, o qual leva em consideração as intensidades dos pixels e a distribuição acumulativa deles.



**Palavras Chaves:** Material Particulado, Pólen, Microscopia Digital, Aprendizado de Máquina

## ABSTRACT

Airborne particulate material can cause several health issues to humans. Pollens and fungi are responsible for countless cases of allergy across the globe. Companies such as Oshtech Inc. (Ontario, Canda), a partner in this work, monitor the level of these particles throughout the stations, but the counting and classification is done manually. With the objective of automating this task, this work discusses theoretical issues and experimental results of the construction of a device capable of carrying out all the steps of this process, which contains a particle collection system, an optical microscopic imaging system and a system of analysis and transmission of the obtained data. There are already devices which perform similar those tasks, however, they are expensive and therefore not very accessible. The manufacturing cost is considered during the development processes, as the intention is to commercialize this device for small clinics, expanding pollen monitoring throughout North America. The counting and classification of these particles is done by artificial intelligence (AI) software, which is still under development and improvement. Illumination characteristics were defined from the comparison with commercial microscopes and aiming their use in AI software. The optical characterization was carried out through the analysis of the modulation transfer function and contrast analysis in specific situations, reaching the conclusion of the construction of an optical system of satisfactory quality for its application. For the system to depend as little as possible on human interaction and still provide accurate data, an automated focus algorithm is under development, which considers pixel intensities and their cumulative distribution.



**Keywords:** Particulate Matter, Pollen, Digital Microscopy, Machine Learning

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.A) ESTRUTURA DE UMA MATRIZ DE PIXELS ESTILO BAYERN; B) DIAGRAMA ELETRÔNICO DA COMPOSIÇÃO DO PIXEL EM UM SENSOR CMOS; C) ESQUEMATIZAÇÃO 3D DO DETECTOR DE LUZ NA ARQUITETURA CMOS. ..... 19
FIGURA 2. EXEMPLIFICAÇÃO DE SEPARAÇÃO ANGULAR DE DOIS PONTOS DE LUZ DE ACORDO COM O CRITÉRIO DE RAYLEIGHT. ..... 21
FIGURA 3. ESQUEMATIZAÇÃO DA MAGNIFICAÇÃO ÓPTICA, DIGITAL E TOTAL PARA EXEMPLIFICAR AS DIFERENÇAS NOS PLANOS ÓPTICOS. ..... 22
FIGURA 4. EXEMPLIFICAÇÃO DAS SITUAÇÕES A) E C) DE ALTO CONTRASTE E B) E D) DE BAIXO CONTRASTE. ONDE O PERFIL DE UMA ONDA QUADRADA PASSA A SE COMPORTAR COMO UMA SENÓIDE. ..... 24
FIGURA 5. A COMPOSIÇÃO DO MTF TOTAL DO SISTEMA SE DÁ DE ACORDO COM OS MTFS DE CADA COMPONENTE..... 25
FIGURA 6. ALVO IDEAL PARA CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA ÓPTICO. FONTE: EDMUND OPTICS..... 26
FIGURA 7. A) REGIÃO DA IMAGEM UTILIZADA PARA B) OBTENÇÃO DO PERFIL DE INTENSIDADE (ESF) DE UM DEGRAU PARA O CÁLCULO DA C) LSF E CONSEQUENTEMENTE O MTF..... 27
FIGURA 8. DIAGRAMA DE BLOCOS, INDICANDO A COMPOSIÇÃO DO SISTEMA E AS TAREFAS PRINCIPAIS DE CADA SUBSISTEMA. ..... 29
FIGURA 9. LENTE DE MAGNIFICAÇÃO 10X UTILIZADA NO MICROSCÓPIO CONSTRUÍDO. ..... 30
FIGURA 10. IMAGEM DO SENSOR DE IMAGEM SONY IMX291 E O ESPECTRO DE DETECÇÃO DE CADA COR RGB DOS PIXELS QUE COMPÕE O SENSOR, MOSTRANDO GRANDE SUPERPOSIÇÃO DE COMPRIMENTOS DE ONDA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO NO DETECTOR DA COR VERMELHA. ..... 31
FIGURA 11. DESIGN PARCIAL DO SISTEMA ÓPTICO, MOSTRANDO OS COMPONENTES PRINCIPAIS DE AQUISIÇÃO DE IMAGEM E AJUSTE DE FOCO..... 33
FIGURA 12. FOTOGRAFIA DO SISTEMA ÓPTICO REAL COMPLETO. MOSTRANDO OS COMPONENTES CITADOS NA FIGURA ANTERIOR E NOVOS COMPONENTES, RESPONSÁVEIS PELO MOVIMENTO DO EIXO NÃO CONSIDERADO ANTERIORMENTE. ..... 34
FIGURA 13. ESQUEMATIZAÇÃO DO PROCESSO DE FOCO AUTOMATIZADO, PARTINDO DE UMA POSIÇÃO INICIAL, ADQUIRINDO IMAGENS E AS ANALISANDO, PARA ENFIM DEFINIR A MELHOR POSIÇÃO DE FOCO. ..... 36
FIGURA 14. EXEMPLIFICAÇÃO DE A) UMA IMAGEM EM PONTO COM FOCO ADEQUADO; B) UMA IMAGEM FORA DE FOCO; C) O HISTOGRAMA DE UMA IMAGEM EM PONTO DE FOCO E; D) O HISTOGRAMA DE UMA IMAGEM FORA DO PONTO DE FOCO.37
FIGURA 15. ESQUEMATIZAÇÃO DO FLUXÔMETRO, QUE FAZ A LEITURA DO FLUXO A PARTIR DA VARIAÇÃO DE TEMPERATURA ENTRE OS DOIS PONTOS IDENTIFICADOS POR F E W. ..... 39
FIGURA 16. DESENHO DO COLETOR DE PARTÍCULAS **A)** COM TAMPA E **B)** SEM TAMPA. ITENS IDENTIFICADOS NA FIGURA: 1- ENTRADA DE AR E PARTÍCULAS; 2- JANELA PARA AQUISIÇÃO DE IMAGENS; 3- MOTOR DE PASSO PARA GIRAR A BOBINA E ENROLAR A FITA DE SILICONE; 4- FLUXÔMETRO RESPONSÁVEL PELA MEDIÇÃO DO FLUXO DE SAÍDA DE AR; 5- CATRACA CONTRA-RECUO; 6- FITA DE SILICONE PROPÍCIA PARA ADESÃO DE PÓLEN; 7- COLUNAS PARA MANTER A FITA ESTICADA E PARALELA À JANELA; 8- BOBINA LIGADA AO MOTOR DE PASSO. ..... 41
FIGURA 17. SEGUNDO MODELO DO COLETOR DE PARTÍCULAS. FOTO: AUTOR. ..... 42
FIGURA 18. PLACA DE CIRCUITO IMPRESSO RESPONSÁVEL PELA INTEGRAÇÃO DOS SISTEMAS DE CONTROLE, AQUISIÇÃO E TRANSMISSÃO DE DADOS..... 43
FIGURA 19.A) APLICAÇÃO DO MÉTODO TRADICIONAL NA ANÁLISE DE DADOS; B) MÉTODO UTILIZANDO APRENDIZADO DE MÁQUINA PARA A ANÁLISE DE DADOS. ..... 45
FIGURA 20. ETAPAS DO PROCESSO DE DETECÇÃO, ISOLAMENTO E RECONHECIMENTO DE PARTÍCULAS. ..... 49
FIGURA 21 GRÃOS DE PÓLENS DE PINHEIRO (PINACEAE). **A) E B)** O DISPOSITIVO UTILIZADO FOI O DESENVOLVIDO NESTE TRABALHO, COM MAGNIFICAÇÃO ÓPTICA DE 10X. **C), D), E) E F)** O DISPOSITIVO UTILIZADO FOI O LEICA DM2500 M, COM MAGNIFICAÇÃO ÓPTICA DE 20X E 50X RESPECTIVAMENTE. É IMPOSSÍVEL DE PRECISAR A DIMENSÃO DAS PARTÍCULAS, JÁ QUE O MODELO DO SENSOR É DESCONHECIDO, ASSIM COMO O TAMANHO DOS PIXELS. JÁ QUE A FINALIDADE DESTA FIGURA NÃO É A COMPARAÇÃO ENTRE AS RESOLUÇÕES, AS IMAGENS DE DIFERENTES MAGNIFICAÇÕES ÓPTICAS FORAM AJUSTADAS DIGITALMENTE PARA FICAREM VISUALMENTE PARECIDAS EM TAMANHO..... 51
FIGURA 22. IMAGENS OBTIDAS DE TRÊS DIFERENTES ESPÉCIES DE PÓLEN, A) E B) JOHNSON GRASS, C) E D) PINHEIRO E E) E F) RAGWEED. DUAS DIFERENTES FONTES DE LUZ ESTÃO SENDO COMPARADAS NESTAS

IMAGENS, LED BRANCO E LÂMPADA HALÓGENA. O SENSOR DE IMAGEM, A LENTE OBJETIVA, O SOFTWARE E O COMPUTADOR UTILIZADO PARA AQUISIÇÃO DA IMAGEM SÃO COMUNS EM AMBOS OS CASOS. ..... 53
FIGURA 23. ESPECTRO DE EMISSÃO DE AMBAS AS FONTES DE LUZ UTILIZADAS NO TESTE. EM VERMELHO A LÂMPADA HALÓGENA E EM AZUL O LED BRANCO ..... 54
FIGURA 24. **A) E B)** IMAGENS OBTIDAS COM OS DOIS DIFERENTES SENSORES DE IMAGEM A FIM DE CALCULAR A FUNÇÃO DE TRANSFERÊNCIA DE MODULAÇÃO DO SISTEMA ÓPTICO UTILIZADO. AS LINHAS VERMELHAS REPRESENTAM AS REGIÕES ONDE AS MEDIDAS DE INTENSIDADE FORAM REALIZADAS. **C) E D)** MTF OBTIDO APLICANDO A TRANSFORMADA DE FOURIER NA DERIVADA ESPACIAL DA ESF. NA FREQUÊNCIA ESPACIAL DE 10 LPMM, VALOR MÍNIMO PARA RESOLVER UMA PARTÍCULA DE PÓLEN, O MTF É IGUAL A APROXIMADAMENTE 0,36 E 0,45 RESPECTIVAMENTE, MOSTRANDO MELHOR DESEMPENHO ÓPTICO PARA O SENSOR SONY IMX577. ..... 55
FIGURA 25. CORTE DE PERFIL (ESF) NA COLUNA 384 DO SENSOR (SONY IMX577) ..... 57
FIGURA 26. CORTE DE PERFIL (ESF) NA COLUNA 1152 DO SENSOR (SONY IMX577). ..... 58
FIGURA 27. CORTE DE PERFIL (ESF) NA COLUNA 1536 DO SENSOR (SONY IMX577). ..... 59
FIGURA 28. CORTE DE PERFIL (ESF) NA COLUNA 3840 DO SENSOR (SONY IMX577).O CÍRCULO PONTILHADO EM VERMELHO É UM DOS EXEMPLOS DA FALTA DE PRECISÃO NOS DETALHES RESOLVIDOS EM POSIÇÕES FORA DE FOCO... 60
FIGURA 29. HISTOGRAMA DE 20 DIFERENTES IMAGENS. DEMONSTRANDO QUE AO SE DESLOCAR DA POSIÇÃO DE FOCO O NÚMERO DE PIXELS CLAROS E ESCUROS DIMINUI, ENQUANTO HÁ O AUMENTO DE PIXELS CINZAS. A IMAGEM DA MELHOR POSIÇÃO DE FOCO ESTÁ APRESENTADA NA **FIGURA 19.B).** ..... 61
FIGURA 30. FUNÇÃO ACUMULATIVA DE DISTRIBUIÇÃO DE 20 DIFERENTES IMAGENS, COM AMPLIAÇÃO NA REGIÃO DE CRUZAMENTO DAS LINHAS. A IMAGEM DA MELHOR POSIÇÃO DE FOCO ESTÁ APRESENTADA NA **FIGURA 19.B).** ..... 62
FIGURA 31. IMAGEM CEDIDA PELA OSHTECH INC. PARA OS TESTES DO SOFTWARE. UTILIZADA PARA COMPARAÇÃO DA CONTAGEM HUMANA X CONTAGEM DA MÁQUINA. CONTAGEM HUMANA: 2X MAPLE, 2X PINHEIRO E 9X BIRCH. CONTAGEM DE MÁQUINA: 11X JOHNSON GRASS, 4X MAPLE, 1X RAGWEED, 5X SAGEBRUSH E 14 RESÍDUOS (NÃO INCLUÍDOS NA CONTAGEM HUMANA). ..... 64
FIGURA 32. CONTAGEM HUMANA: 6X RAGWEED E 3X JOHNSON GRASS. CONTAGEM DE MÁQUINA: 1X CEDRO, 1X JOHNSON GRASS, 3X RAGWEED, 3X SAGEBRUSH E 13X RESÍDUOS. ..... 65
FIGURA 33. CONTAGEM HUMANA: 2X MAPLE, 1X PINHEIRO E 3X BIRCH. CONTAGEM DE MÁQUINA: 2X CEDRO, 2X JOHNSON GRASS, 2X MAPLE, 1X PINHEIRO E 7X RESÍDUOS. ..... 65
FIGURA 34. CONTAGEM HUMANA: 19X RAGWEED, 6X CEDRO E 24X JOHNSON GRASS. CONTAGEM DE MÁQUINA: 1X BIRCH, 1X CEDRO, 7X JOHNSON GRASS, 1X MAPLE, 3X PINHEIRO, 16X RAGWEED, 16X SAGEBRUSH, 1X ERRO E 15X RESÍDUOS. ..... 65

## LISTA ABREVIAÇÕES, ACRÔNIMOS E TERMOS EM INGLÊS

AGI – *Artificial General Inteligence*
ANI – *Artificial Narrow Inteligence*
ANN – *Artificial Neural* Net, Redes
ASI – *Artificial Super Inteligence*
bins – unidade binária
CCD – *Charge Coupled Device*
CD – *Conjugated Distance*
CMOS – *Complementary Metal Oxide Semiconductor*
CNN – *Convulacional Neural Net*
ESF – *Edge Spread Function*
EXIF – *Exchangable Image File Format*
IA – Inteligência Artificial
IEEE – Instituto de Engenheiros Eletrecistas e Eletrônicos
LED – *Light Emitting Diod*
lpmm – *line pairs per milimiter*
LSF – *Line Spread Function*
ML – *Machine Learning*
MOSFET – *Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor*
MTF – *Modulation Transfer Function*
NA – *Numerical Aperture*
$PM_{2.5}$ – *Particulate Matter,* Material Particulado menor que 2.5 µm
$PM_{10}$ – *Particulate Matter,* Material Particulado menor que 10 µm
RGB – *Red, Green and Blue*
SNR – *Signal-Noise Ratio*, diferença entre sinal e ruído
USB – *Universal Serial Bus*
WD – *Working Distance*

**SUMÁRIO**

**1. INTRODUÇÃO .....13**
**2. CARACTERÍSTICAS DE UM SISTEMA ÓPTICO DIGITAL .....17**
2.1. ESTRUTURA E FUNCIONAMENTO DE UM SENSOR DE IMAGEM.....17
2.2. CRITÉRIO DE RAYLEIGHT E FREQUÊNCIA NYQUIST .....20
2.3. OBJETO E IMAGEM .....22
2.4. FUNÇÃO DE TRANSFERÊNCIA DE MODULAÇÃO (MTF) .....23
2.4.1. CONTRASTE.....24
2.4.2. MÉTODO FIO DE LÂMINA (*KNIFE EDGE*) .....26
**3. PROJETO E DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA .....29**
3.1. SISTEMA ÓPTICO .....29
3.2. SISTEMA AUTOMATIZADO DE FOCO .....34
3.3. SISTEMA DE COLEÇÃO DE PARTÍCULAS .....38
3.4. COLETA E ANÁLISE DE DADOS .....43
3.5. RECONHECIMENTO DE PARTÍCULAS .....44
3.5.1. INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL E APRENDIZADO DE MÁQUINA.....44
3.5.2. TREINO E APLICAÇÃO DO MODELO.....47
**4. RESULTADOS EXPERIMENTAIS .....50**
4.1. SISTEMA DE IMAGEAMENTO (IMS) .....50
4.1.1. TESTES DE ILUMINAÇÃO .....50
4.1.2. QUALIDADE DE IMAGEM .....54
4.1.3. SISTEMA AUTOMATIZADO DE FOCO .....57
4.2. RECONHECIMENTO E CLASSIFICAÇÃO .....62
**5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS .....68**
**6. REFERÊNCIAS .....70**

# 1. INTRODUÇÃO

A exposição a partículas dispersas no ar pode causar diversos problemas de saúde atípicos em seres humanos[1]–[4]. Alergias e problemas respiratórios podem surgir como resultado da exposição a partículas como pólens, fungos, poluição (material particulado menor que 10 µm), fumaça de tabaco, dentre outros. Partículas de pólens contém proteínas não infecciosas, portanto, exposição a esta partícula deveria ser inofensiva aos seres humanos. No entanto, para alguns, pólens causam uma resposta alérgica do sistema imunológico. Em especial, tipos de pólens das espécies *ragweed*, *birch*, carvalho e grama possuem um alto potencial alérgico. Portanto o monitoramento destas partículas dispersas no ar são de interesse da saúde pública.[1],[5]

Pólens e fungos dispersos no ar podem ser coletados e analisados para vários propósitos, tais como previsões e controles agronômicos[6], [7], impactos de mudanças climáticas[8]–[11], fluxo genético[12], conservação de herança cultural[13], [14] ou alertas de saúde.[15]–[20] O monitoramento ambiental do ar para a detecção de poluentes químicos e partículas menores que 10 µm ($PM_{10}$) é feito por agências governamentais e seus dados são divulgados abertamente. No entanto, o monitoramento de partículas biológicas não o são. Sendo assim, é de interesse de empresas privadas a realização da coleta e comercialização da análise destas partículas.[21] [22]

Devido ao seu tamanho microscópico, o trabalho de análise das amostras coletadas é feito manualmente por um aerobiólogo: onde é necessário um equipamento responsável pela coleta de amostra (adesão das partículas à um substrato), em seguida, é feito o transporte deste substrato ao laboratório e então analisado em um microscópio. Empresas do ramo de tecnologia e aerobiologia estão procurando maneiras de automatizar esta tarefa[23], a fim de aumentar seus lucros e diminuir o tempo entre coleta e análise, o que atualmente pode levar de 1 a 7 dias.

Há diferentes maneiras de obter este objetivo, espectroscopia de fluorescência[24], [25], microscopia[26], holografia[27], espectroscopia Raman[28], espectroscopia de massa[29], espectroscopia de plasma induzido por laser[30], dentre outros mais.[17], [31], [32]

O método de obtenção de imagens por microscopia digital e classificação por inteligência artificial é, em geral, de menor custo, apresenta bons resultados (~80% de precisão) e o tempo entre coleta e análise pode ser reduzido a poucas horas ou até mesmo minutos[33], [34]. Tendo em vista que as três características citadas estão dentre os objetivos deste projeto, este foi o método escolhido para o desenvolvimento do dispositivo contido nesta dissertação.

Apesar da existência de patentes de dispositivos com os mesmos princípios de funcionamento[17], [26], [35] o dispositivo em criação aqui, desenvolvido em parceria com a empresa canadense Oshtech Inc., visa ter custo de produção, aquisição e manutenção relativamente baixos comparado a outros, ampliando assim os pontos de monitoramento, em especial, na américa do norte. Além da não necessidade de um aerobiólogo presente para a contagem e análise, procuramos reduzir ao máximo a necessidade da interação humana, fazendo com que o dispositivo possa atuar por semanas (até meses) sem que seja necessário a intervenção humana, seja para trocar a fita de amostragem, seja para coleta de dados ou seja para manutenção rotineira. [36] Dentre as espécies cujos polens são alergênicos (podem causar reação alérgica) mais presentes na região canadense estão: *ragweed (Ambrosia), alder (Alnus), mugwort (Artemisia), birch (Betula), goosefoots (Chenopodiaceae), hazel (Corylus), grass (Poaceae)* e *oak (Quercus).*[1] Sendo um trabalho feito em parceria com uma empresa canadense, foram escolhidos polens de algumas destas espécies para realizar as análises, já que são de maior interesse para a aplicação e de maior conhecimento dos especialistas (aerobiólogos) da empresa.

O dispositivo Poleno (Swisens AG, Horw, Suíça) utiliza fluorescência (excitação em 280 e 365 nm) e imagens holográficas para a coleta das imagens e rede neural convolucional (métodos de aprendizado de máquina/inteligência artificial) para a identificação das partículas. Também armazena os dados de fluorescência e as imagens para conferência humana, caso desejado, facilitando o trabalho de aerobiólogos que não desejam atualizar seus métodos de análises[37]. Os dispositivos BAA500 (Helmut Hund GmbH, Wetzlar, Alemanhã) [17] e o PollenSense™[35] são alguns dos dispositivos mais semelhantes ao deste trabalho, já que ambos utilizam métodos de microscopia óptica e inteligência artificial para coleta e análise de dados.

Apesar do BAA500 apresentar alta taxa de reconhecimento (>70%) para alguns tipos de pólens, ele necessita manutenção com grande frequência, grandes dimensões (~ 0.8 x 0.5 x 1.80 m) e possui alto custo de aquisição. Por outro lado, o PollenSense, com mecanismos ópticos simples e teoricamente eficientes, foi introduzido a pouco no mercado, com valor mínimo de US$3500 (dispositivo de menor valor dentre os citados neste trabalho), porém sendo necessário a aquisição do *software* de reconhecimento de partículas à parte. E tal *software* de reconhecimento não possui eficiência comprovada em artigos até o momento.[26]

Nesta dissertação serão discutidos o design do sistema de coleção, tecnologia eletrônica embarcada para controle e aquisição de dados, resultados parciais do algoritmo de aprendizado de máquina responsável pelo reconhecimento e classificação das partículas e os aspectos ópticos, tais como funcionamento dos elementos ópticos, caracterização óptica, utilização de imagens e *software* para melhoria, adaptação e calibração do sistema. Como um dos objetivos é a redução do custo de produção e de comercialização, o custo dos itens fora levado em consideração durante decisões executivas no design. Um método automatizado de foco do sistema, não disponível em literatura ou *website*, está sendo desenvolvido pelo autor desta

dissertação e, seus princípios de funcionamento serão detalhados com minúcia, assim como os resultados parciais obtidos.

Este trabalho tem em seu principal escopo a coleção, quantificação e classificação de pólens, no entanto, o sistema desenvolvido aqui pode ser ampliado e ajustado para detecção de outros materiais em suspensão aérea, como por exemplo, fungos e resíduos minerais.

# 2. CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA ÓPTICO DIGITAL

## 2.1. ESTRUTURA E FUNCIONAMENTO DE UM SENSOR DE IMAGEM

Os componentes detectores de luz do sensor de imagem utilizado neste trabalho são encontrados comercialmente e utilizam a tecnologia de fabricação pelo método CMOS (*complementary oxide-metal-semiconductor*) que é baseada em matrizes que utilizam circuitos com transistores de efeito de campo conhecidos como MOSFETs (*metal-oxide-semiconductor field effect transistor*). Por isso este tipo de dispositivo é comumente chamado de sensor CMOS. Assim como seu "concorrente" no quesito de detecção de luz, o CCD (*charge-coupled devices*), o funcionamento do CMOS é por efeito fotoelétrico, porém, esse tipo de dispositivo consome menos energia, responde mais rapidamente e funciona com um único valor de tensão, enquanto o CCD utiliza 5 níveis diferentes de tensão. Sensores do tipo CCD são fabricados de maneira que os pixels compõem uma matriz passiva, onde ao final de cada fileira (linha) há um amplificador e o sinal é lido fileira por fileira, resultando em uma maior sensibilidade à luz, já que a única função da matriz de pixels é transformar o sinal luminoso em elétrico. Por outro lado, nos sensores do tipo CMOS a matriz de pixels é ativa, e os valores são lidos um a um, tornando-a menos sensível a baixas intensidades luminosas, já que o tamanho da área ativa afeta diretamente na detecção da quantidade de luz incidente. Sensores do tipo CCD possuem maior razão entre sinal e ruído (SNR, *signal noise ratio*), tornando-os ideais para aplicações onde há baixa intensidade do sinal medido, já que o ruído afeta diretamente nos valores medidos. No entanto, com o avanço da tecnologia, em especial a intensa evolução tecnológica dos smartphones, os sensores CMOS tem dominado o mercado de câmeras portáteis, celulares e microscópios digitais, pois tem menor consumo de energia, melhor correção de exposição à luz, conversão de sinal (analógico-digital) mais rápida e facilmente podem ter razão entre sinal e ruído superiores a 40 dB. Um sensor do tipo CCD utilizado por câmeras analógicas com

resolução de 752 x 582 pixels (como, por exemplo, o Sony 409AL) pode ser adquirido pelo valor de USD 21,60, enquanto um sensor do tipo CMOS (por exemplo, o Sony IMX291) com resolução quatro vezes maior (1920 x 1080), no mesmo fornecedor, pode ser adquirido por um valor similar ao do sensor CCD citado.

O sensor CMOS pode ser imaginado como uma matriz com n-colunas e m-linhas, onde cada elemento é chamado de pixel (*picture elements*) e possui dimensões de poucos nanômetros. No padrão Bayer, um pixel é composto por quatro detectores de luz, sendo um vermelho, dois verdes e um azul, assim como pode ser visto em destaque na figura **1.A)**. Existem outros padrões, com diferentes componentes e ordenamento, porém este padrão é amplamente utilizado por ser baseado no funcionamento do olho humano. Outros padrões de matrizes podem conter sensores das cores amarela (Y), magenta (M), ciana (C) e também verde (G).

Cada componente do detector de luz é formado por três transistores de suporte (reset, amplificador e seletor de linha), cujo diagrama eletrônico está representado na figura 1.B), e uma camada detectora de luz, chamada de pixel ativo (ou camada ativa), representada na cor amarela na **figura 1.C).** Acima desses componentes há uma camada filtro para a banda de comprimentos de onda desejados e uma microlente.

Como mencionado anteriormente, quanto maior a área da camada ativa do pixel, maior a quantidade de fótons captados e, consequentemente, melhor a sensibilidade do sensor. Porém, tratando-se de microscopia, desejamos resolver partículas micrométricas e, por critérios físicos que serão discutidos nos próximos tópicos, nem sempre o sensor de maior pixel é o ideal. Além do tamanho do pixel, outras características são levadas em conta na hora da escolha de um sensor ideal, tais como taxa de atualização, resolução, tamanho físico total do sensor, relação sinal-e-ruído (SNR) e custo.

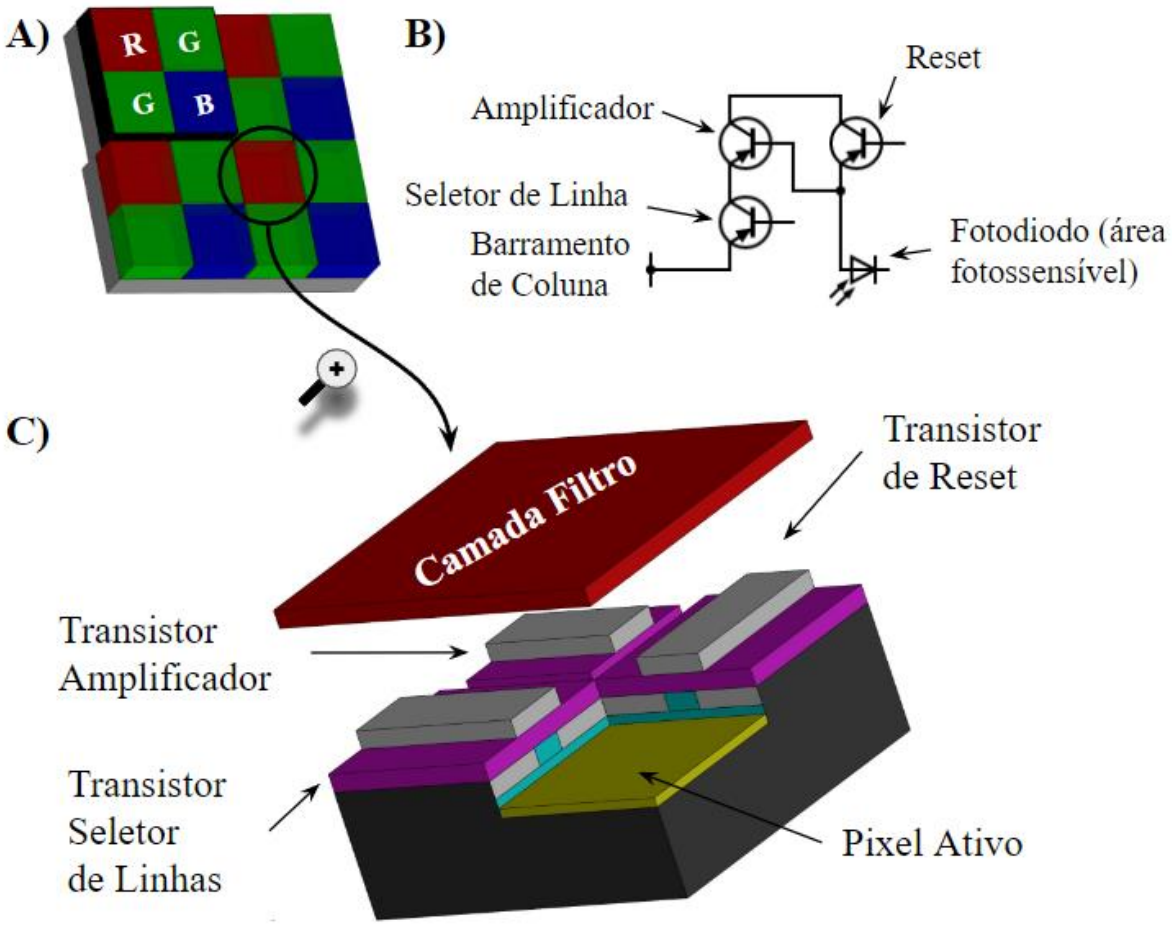



*Figura 1.A) Estrutura de uma matriz de pixels estilo Bayern; B) Diagrama eletrônico da composição do pixel em um sensor CMOS; C) Esquematização 3D do detector de luz na arquitetura CMOS.*

Após a leitura do sinal analógico de cada pixel, o circuito integrado ao sensor faz a conversão para um sinal digital, atribuindo um conjunto discreto de níveis compostos por valores binários (bits) para o valor de intensidade luminosa incidente. Atualmente, é comum encontrar comercialmente conversores analógicos/digitais que utilizam um padrão de 8-bits, que pode comportar até 256 ($2^8$) níveis discretos de sinal. E este sinal digital pode ser então enviado pela porta serial universal (USB) conectada a um computador ou outros dispositivos. O sinal digital enviado contém uma lista de valores, compondo uma matriz, onde cada elemento desta matriz são os valores de intensidade RGB (Vermelho, Verde e Azul) de cada pixel, os quais variam de 0 a 255 no caso de um sensor 8-bits. Junto aos valores da matriz, as informações enviadas ou salvas pelo circuito eletrônico do sensor de imagem podem conter também informações extras, tais como localização, data, hora e detalhes da óptica do sistema (número F, ISO, tempo

de exposição, resolução etc.) Estas informações extras são conhecidas como EXIF (*Exchangeable Image File*) ou meta-dados e estão armazenadas nos primeiros bytes do arquivo.

## 2.2. CRITÉRIO RESOLUÇÃO DE RAYLEIGH E TEOREMA DA AMOSTRAGEM DE NYQUIST-SHANNON

O critério de resolução de Rayleigh é um indicativo dos limites teóricos de resolução dos elementos de um equipamento óptico. Consideremos duas fontes emissoras de luz como, por exemplo LEDs: sua intensidade luminosa obedecerá a uma distribuição gaussiana em relação à posição angular destes pontos. Pelo critério de resolução de Rayleigh, um elemento óptico (como, por exemplo, uma lente) poderá resolver estes dois pontos, caso a separação mínima entre eles seja onde o máximo do padrão de difração de uma fonte coincida com o mínimo do padrão da outra. A **figura 2** exemplifica duas situações: **a)** onde duas fontes de luz estão no limite de resolução de Rayleigh da lente; e **b)** onde sua separação é inferior ao limite de Rayleigh e, portanto, não podem mais ser distinguidas opticamente. [38]–[40]

Matematicamente esta separação angular Δθ, pode ser calculada segundo a seguinte equação:

$$\Delta\theta = \mathbf{1.22}\,\frac{\lambda}{D} \qquad \textbf{(1)}$$

onde **λ** é o comprimento de onda da luz emitida e **D** é o diâmetro da pupila de entrada da lente. Com esta informação e sabendo a distância focal **f** da lente é possível também calcular a distância mínima $\mathbf{d_{min}}$ entre o máximo destas fontes para que elas sejam resolvidas:

$$d_{min} = 2f.\tan(\Delta\theta) \qquad \textbf{(2)}$$

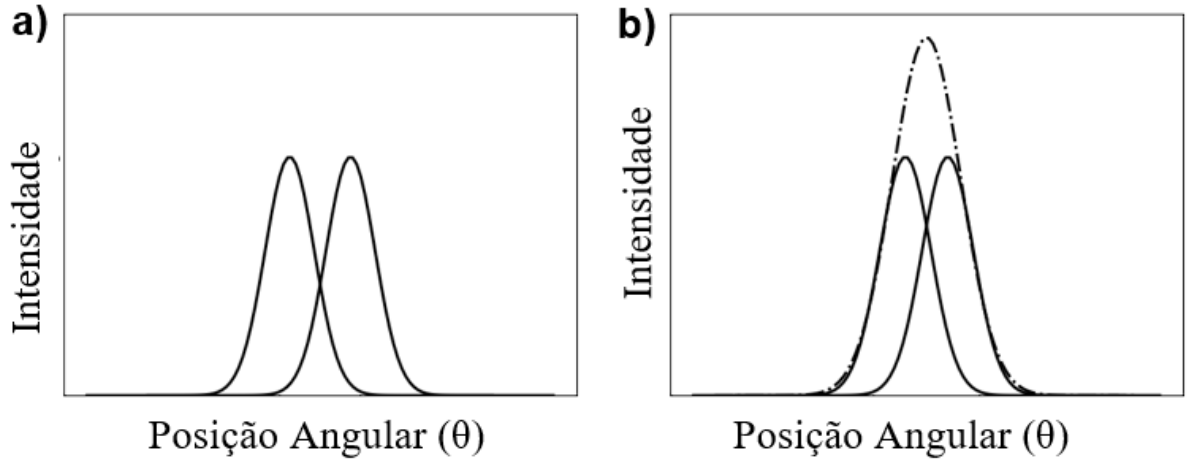



*Figura 2. Exemplificação de separação angular de dois pontos de luz de acordo com o critério de Rayleight.*

Discorremos até então sobre as limitações impostas pela lente ao sistema, porém é necessário também conhecer as limitações teóricas impostas pelo sensor de imagem utilizado. Para tal, é comumente empregado o cálculo da frequência de corte de Nyquist (vinda do Teorema de Amostragem de Nyquist-Shannon) do sistema, a qual descreve o número máximo de ciclos que um sensor digital pode amostrar (comumente é tratado por ciclos, mas pode-se também utilizar o número de linhas por milímetro), este número é inversamente proporcional ao tamanho do pixel **ps** do sistema, ou seja:

$$f_{Nyquist} = \frac{1}{2.ps} \tag{3}$$

Frequências espaciais acima deste limite causarão um efeito chamado aliasing, onde o sensor não é capaz de resolver corretamente a imagem, aparecendo distorções cromáticas. [41] Neste caso, a imagem não seria composta pelos padrões dos objetos e sim interseções destes padrões (ou cores). Este efeito era extremamente comum de ser observado em televisões de baixa resolução (também em cenas filmadas com câmeras de baixa resolução), onde listras estampadas em camisas pareciam se misturar ou até se curvar.

## 2.3. Objeto e Imagem

Em óptica é comum o uso dos termos **objeto** e **imagem**, sendo imagem uma projeção distorcida do objeto, formada pela luz após passar por um ou mais elementos ópticos. Ambos possuem seus respectivos planos ópticos, o plano físico onde o objeto se encontra e o plano físico onde a imagem é formada. Em diferentes momentos será referido sobre esses planos ópticos e suas dimensões físicas, tais como área do sensor ou área de amostragem, frequência espacial do objeto ou da imagem etc. A fim de esclarecer a linha de raciocínio, é sugerido que tenha em mente as relações estabelecidas na **figura 3**, que apesar de simples, podem ocorrer confusão durante a transição entre planos referidos. A magnificação óptica pode ser constante (por exemplo, 10x), no entanto, a magnificação digital pode variar de acordo com o tamanho e a resolução do monitor. Dependendo da relação entre o tamanho do pixel do sensor óptico e o tamanho do pixel do monitor que exibirá a imagem. Além de possíveis distorções e ampliações digitais que podem ser realizadas pelo computador exibido. Mas isso não afeta as análises das imagens, já que, para os algoritmos utilizados importam apenas as informações capturadas pelo sensor e não os dados exibidos no monitor.

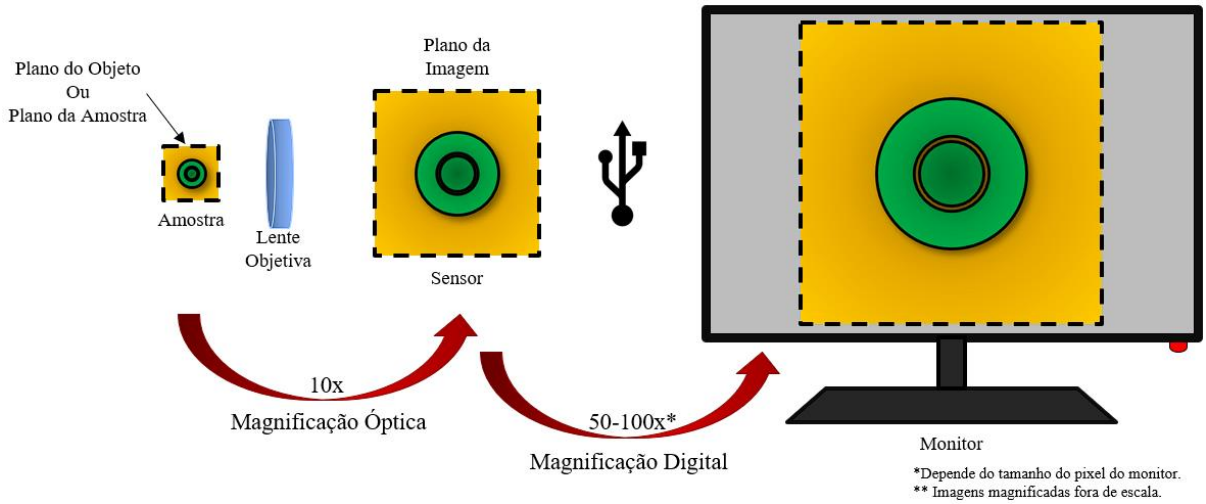



*Figura 3. Esquematização da magnificação óptica, digital e total para exemplificar as diferenças nos planos ópticos.*

## 2.4. Função de Transferência de Modulação (MTF) Óptica

As limitações impostas pelo critério de resolução de Rayleigh e a frequência de corte de Nyquist são de fundamental importância para definir os limites da resolução espacial de um sistema óptico digital. No entanto, de uma perspectiva prática, é necessário um método experimental capaz de mensurar os limites reais do sistema. O MTF (*modulation transfer function*) de um sistema óptico é amplamente empregado como uma forma de quantificar a qualidade da imagem formada.

A função de transferência de modulação óptica, como o próprio nome sugere, representa a capacidade dos componentes ópticos (por exemplo, uma lente objetiva) de transferir o contraste do objeto à imagem a uma determinada frequência.

Quanto maior a frequência espacial, menor será o espaçamento das linhas, e consequentemente menor será o valor do MTF. De maneira rigorosa, o MTF de um sistema óptico ideal (sem aberrações) seria como descrito na equação 4:

$$MTF\ (\xi) = \frac{2}{\pi}(\varphi - \cos\varphi\,.\,\sin\varphi) \tag{4}$$

onde ξ é a frequência espacial e φ descrito na equação 5:

$$\varphi = \cos^{-1}\left(\frac{\xi}{\xi_c}\right) \tag{5}$$

sendo $\xi_c$ a menor frequência espacial que o sistema pode resolver e descrito pela equação 6:

$$\xi_c = \frac{1}{\lambda.\left(f/_{\#}\right)} \tag{6}$$

com λ representando o comprimento de onda da luz utilizada e f/#, a razão entre a distância focal e o diâmetro da pupila D.

O valor do MTF é normalizado entre 0 e 1, significando que ao atingir o valor 0, o sistema não possui nenhuma informação sobre os níveis de intensidade luminosa.

Sendo o contraste um dos fatores fundamentais na definição e aplicação da transferência óptica, a seguir será discutida sua definição e também maneiras simplificadas de se obter os valores de MTF.

### 2.4.1. CONTRASTE

O contraste **C** da imagem formada por um sistema óptico pode ser definido pela razão da diferença entre o maior e o menor nível de intensidade **I** de luz pela soma dos mesmos[42]:

$$C = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \quad (7)$$

Suponha um objeto composto por linhas brancas e pretas intercaladas, assim como na **figura 4.A)**, uma análise da intensidade de uma secção transversal mostraria uma onda quadrada, como exemplificado em **figura 4.C)**. No entanto, um sistema óptico real não é capaz de reproduzir fielmente este objeto, portanto a imagem detectada será distorcida, onde a transição do preto ao branco não será tão nítida, havendo um espectro intermediário (tons de cinza), **figura 4.B)**, e a intensidade da secção transversal será semelhante à uma senóide, exemplificado de forma exagerada na **figura 4.D)** para facilitar a visualização do fenômeno.[43], [44]

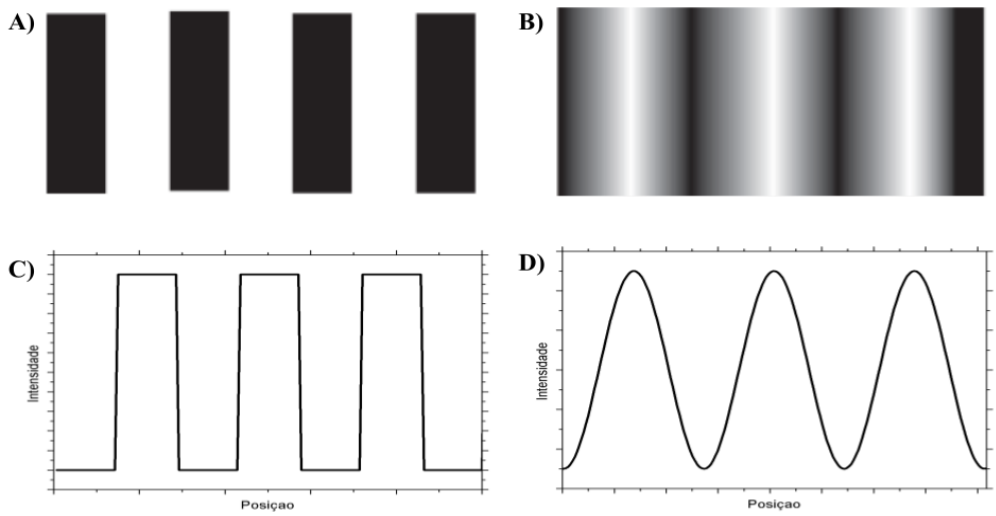



*Figura 4. Exemplificação das situações A) e C) de alto contraste e B) e D) de baixo contraste. Onde o perfil de uma onda quadrada passa a se comportar como uma senóide.*

O MTF determina quão fiel é a imagem reproduzida do objeto. Uma maneira simples de calculá-lo à uma dada frequência espacial **s** é calculando a razão do contraste da imagem pelo contraste do objeto:

$$\boldsymbol{MTF}(\boldsymbol{\xi}) = \frac{\boldsymbol{C_{imagem}}}{\boldsymbol{C_{objeto}}} \tag{8}$$

Portanto o MTF pode ser utilizado para a determinação dos limites de resolução de um sistema óptico. Cada componente do sistema (sensor, lentes etc.) possui seu próprio MTF e pode ser calculado separadamente. O MTF de um sistema óptico é o resultado do produto dos MTFs de cada componente, como exemplificado na **figura 5**. Usualmente o interesse está no MTF do sistema por completo, portanto, somente o MTF do sistema é medido.[45]

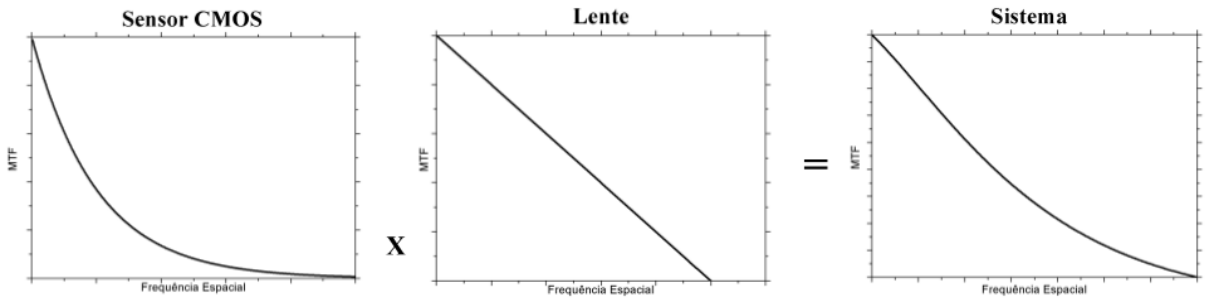



*Figura 5. A composição do MTF total do sistema se dá de acordo com os MTFs de cada componente.*

Há métodos experimentais que podem gerar uma função do MTF(ξ) em função da frequência espacial ξ, não sendo necessária a medição ponto a ponto. Para caracterizar o sistema, são utilizadas imagens obtidas de alvos projetados para tal finalidade, onde há variação na frequência espacial em diferentes dimensões, além de diferentes regiões de contraste claro-escuro. O Instituto de Engenharia Elétrica e Eletrônica (IEEE) projetou o alvo ilustrado na **figura 6**, um dos modelos ideais para o teste de MTF em microscópios, já que nele tem-se diferentes frequências espaciais em diferentes regiões da imagem. Assim como pontos que atuam como fontes de luz pontuais, também muito utilizadas para cálculos de MTF.

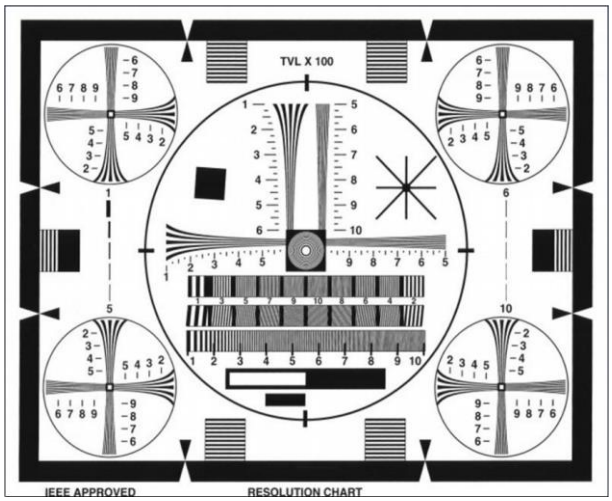



*Figura 6. Alvo ideal para caracterização de um sistema óptico. Fonte: Edmund Optics.*

### 2.4.2. MÉTODO FIO DE LÂMINA (*KNIFE EDGE*)

Para a caracterização deste sistema óptico o método escolhido foi o método *Knife-Edge*[42], onde o objeto cuja imagem será reproduzida é a borda de uma lâmina afiada, sendo posicionada em frente à uma fonte de luz, portanto, a região onde houver a lâmina não estará iluminada e a outra região estará, formando o padrão ilustrado na **figura 7.A)**, sendo a linha vermelha a linha de pixels cujos valores serão computados. Por este sistema tratar objetos microscópicos, o contraste foi produzido por um fotolito onde o padrão claro-escuro se repete constantemente, em diferentes dimensões. No entanto, devido aos altos custos dos alvos no padrão IEEE, mencionados anteriormente, o fotolito em questão não pode reproduzir as diferentes frequências espaciais necessárias. Por isto este método conhecido como *Knife-Edge* foi utilizado.

Esta é uma análise unidimensional, onde após a captura da imagem, será selecionada uma ou mais linha(s) de pixels para análise de intensidade luminosa *versus* posição, conhecida como ESF (*Edge Spread Function*), **figura 7.B)**. Como dito anteriormente, uma imagem ideal

reproduziria a transição como um degrau, indo diretamente do valor zero ao valor máximo (ou vice-versa), sem valores intermediários. Resultando em uma situação de contraste ideal.[45]

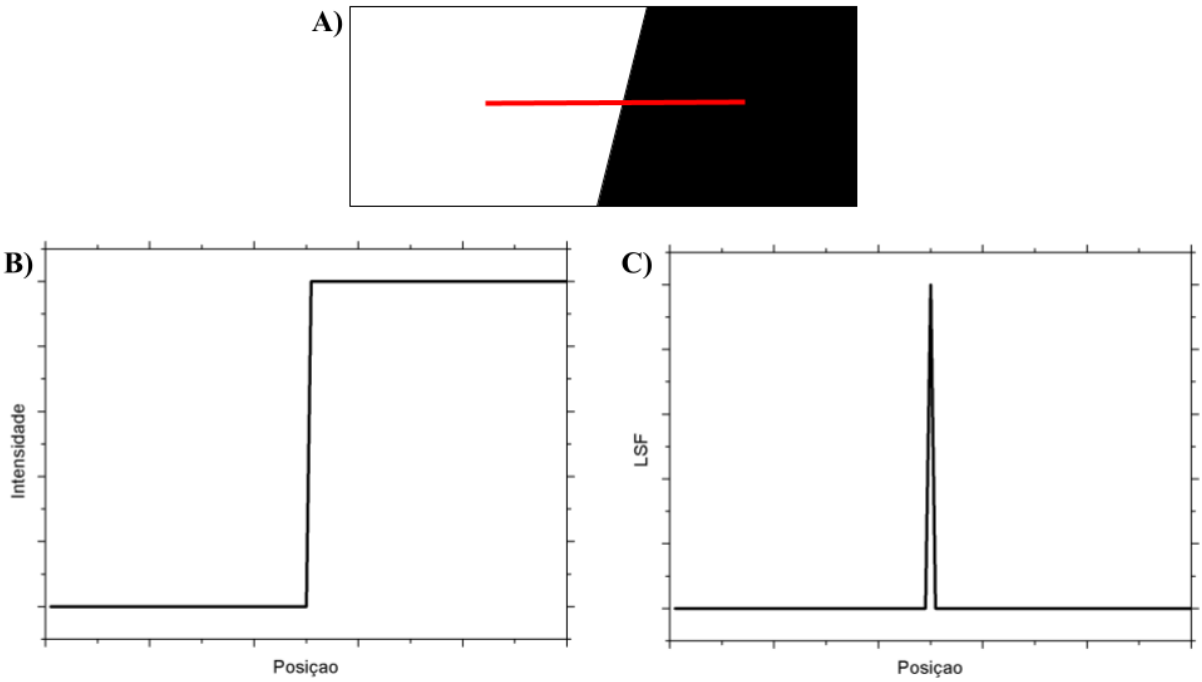



*Figura 7. A) Região da imagem utilizada para B) obtenção do perfil de intensidade (ESF) de um degrau para o cálculo da C) LSF e consequentemente o MTF.*

No entanto, em uma situação real, a transição claro-escuro (ou escuro-claro) não é tão abrupta, apresentando uma curva suavizada, que se estende espacialmente.

A distribuição da intensidade em um degrau, tal como o descrito na ESF (x), é esperada que seja dada por:

$$I(x) = 0 \text{ entre } -\infty \text{ e } 0$$

$$I(x) = 1 \text{ entre } 0 \text{ e } +\infty$$

E como a LSF (x) é a representação de um delta de Dirac, temos a relação:

$$ESF(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} \partial(x_i)\, LSF\ (x - x_i)\, dx \tag{9}$$

$$LSF(x) = \frac{d}{dx} ESF(x) \tag{10}$$

E, ao aplicar a transformada de Fourier na LSF, obtemos então o MTF (ξ):

$$MTF(\boldsymbol{\xi}) = |\mathscr{F}\{LSF(x)\}| = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{+\infty} LSF\ (x) e^{i2\pi s x}\, dx \tag{11}$$

A função de espalhamento de linha (LSF), **figura 7.C)**, nos diz quão rápida é a transição claro-escuro, quanto mais estreito o pico, maior é a fidelidade da imagem ao objeto. Aplicando a transformada de Fourier na LSF(x), obtemos o MTF($\boldsymbol{\xi}$) em função da frequência espacial em lpmm (*line pairs per millimeter*). [42]

Como já dito anteriormente, o MTF é uma quantificação dos limites de resolução de um sistema óptico. Como sabemos que a faixa de tamanho das partículas que desejamos detectar é entre 10 e 100 µm, precisamos que nossa óptica seja capaz de resolver pelo menos 20 lpmm, com MTF maior ou igual à 0.1, para que nosso sistema consiga capturar pólens e outras partículas com uma resolução adequada para reconhecimento (tanto por olhos humanos, como por *software*).

# 3. PROJETO DE DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA

A construção do sistema como um todo foi dividida em três partes, que foram desenvolvidas e testadas paralelamente, denominadas: **i)** sistema de aquisição de imagem (ou sistema óptico), **ii)** sistema de coleção de partículas e **iii)** sistema de processamento e transmissão de dados. A **figura 8** contém um digrama esquemático de blocos, indicando as tarefas principais de cada subsistema, que juntos formam o sistema desenvolvido neste trabalho.

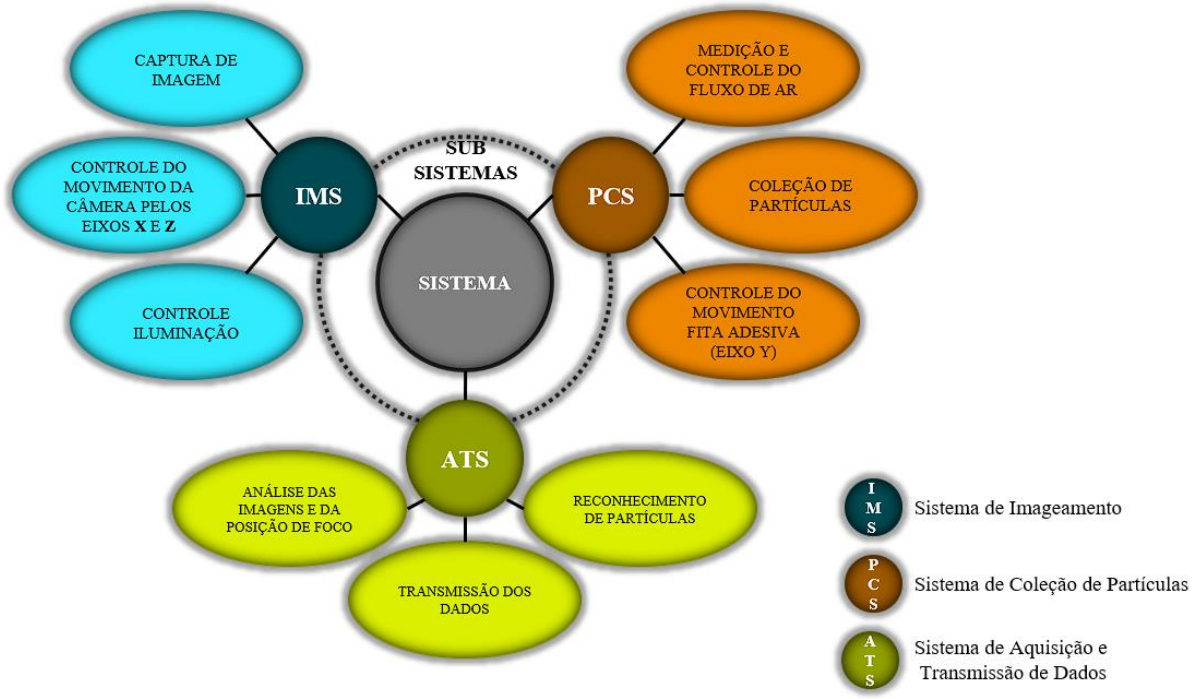



*Figura 8. Diagrama de Blocos, indicando a composição do sistema e as tarefas principais de cada subsistema.*

## 3.1. SISTEMA ÓPTICO

O sistema óptico é composto por uma lente convergente (objetiva de microscópio) e um sensor CMOS conectados por um tubo desenhado e manufaturado baseado nas especificações dos componentes.

A lente objetiva (marca desconhecida), **figura 9**, pode ser montada para obter uma magnificação (M) igual a 10, possui uma abertura numérica (NA) de 0,25, uma distância focal

(f) de 16,1 mm, uma distância de funcionamento (WD) de 5,84 mm e uma distância conjugada (distância da amostra até o sensor, CD) de 195 mm.




*Figura 9. Lente de magnificação 10x utilizada no microscópio construído.*

Dois diferentes sensores de imagem foram testados. Em um primeiro momento utilizamos o sensor Sony IMX291, **figura 10**, cujo pixel mede 2.9 x 2.9 µm, resultando em uma frequência de Nyquist de 172 lpmm, com uma resolução de 1920 x 1080 px (2 MP) e área sensível igual à 3,13 x 5,56 mm, adquirido pelo valor de US$26,90. Como mencionado anteriormente, o sensor é formado por uma matriz RGB, onde cada componente é responsável pela detecção de uma certa faixa de comprimentos de onda, representada por uma das três bandas de cor: vermelho, verde e azul. Ainda na **figura 10**, contém a resposta relativa do sensor, retirada de seu manual, a qual mostra a banda de comprimentos de onda detectada por cada componente. Observa-se uma superposição do espectro na região do infravermelho (IR) no componente vermelho, o que torna necessária a utilização de um filtro corta-banda na região do IR. O filtro utilizado é da marca Svbony e permite a passagem da banda compreendida entre 420 e 680nm, segundo os dados fornecidos em seu manual, e está inserido próximo ao sensor de imagem.

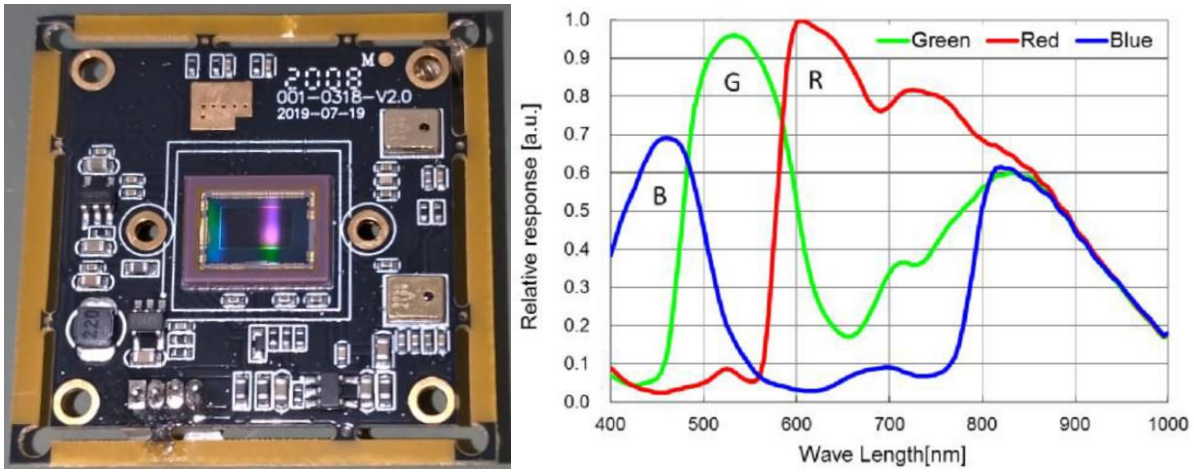



*Figura 10. Imagem do sensor de imagem Sony IMX291 e o espectro de detecção de cada cor RGB dos pixels que compõe o sensor, mostrando grande superposição de comprimentos de onda na região do infravermelho no detector da cor vermelha.*

Este sensor é capaz de registrar 30 quadros por segundo (*frames per second*, fps) se utilizado na resolução 640 x 480 px (480p @30fps) e 5 fps se filmando na resolução máxima de 1920 x 1080 px (1080p @5fps). Devido a esta característica, considerando que a frequência de Nyquist depende do tamanho do pixel e que uma área maior poderia ser capturada em uma mesma imagem caso o sensor tivesse maiores dimensões, optou-se pela substituição desse modelo (Sony IMX291) pelo modelo Sony IMX577.

O sensor de imagem Sony IMX577, segundo seu manual, possui resolução de 3840 x 3040 px (12 MP), popularmente conhecida como 4k, onde cada pixel mede 1,55 x 1,55 µm, possuindo, portanto, uma frequência de Nyquist igual a 322 lpmm, e área sensível de 5,95 x 4,71 mm. Além de ter maior resolução e maior área sensível ele também é capaz de capturar 60 fps mesmo na resolução máxima (4K @60fps) ou 240 fps na resolução 1920 x 1080 px (1080p @240fps. Portanto, seu custo de aproximadamente US$ 200 apesar de elevado, é justificado. Como a fabricante utiliza tecnologias similares na produção de ambos, o espectro de detecção de cada componente RGB é o mesmo do sensor Sony IMX291, que pode ser consultado na **figura 9**. Mas este sensor está conectado a um módulo que já contêm o filtro infravermelho nos comprimentos de ondas adequados. Para melhor entendimento, a comparação item a item das características desses sensores é exibida na **tabela 1.**

*Tabela 1. Comparação entre as características dos sensores de imagem utilizados.*

| CARACTERÍSTICAS DOS SENSORES DE IMAGEM | SONY IMX291 | SONY IMX577 |
|---|---|---|
| Diagonal (pol.) | 1/2.8” | 1/2.3” |
| SNR (dB) | > 50 | > 42 |
| Tamanho do Pixel (µm) | 2,9 | 1,55 |
| Taxa de amostragem (fps) | 480p @30fps<br>1080p @5fps | 1080p @240fps<br>4K @60fps |
| Frequência de Nyquist (lpmm) | 172 | 322 |
| Resolução Máxima (px) | 1920 x 1080 (2 MP) | 3840 x 3040 (12 MP) |
| Área sensível (mm) | 5,56 x 3,13 | 5,95 x 4,71 |
| Valor (US$) | 26,90 | 196,00 |

Para ajuste de foco é utilizado um parafuso micrométrico, cujo deslocamento máximo é de 25 mm, conectado a um motor de passo Nema17, capaz de suportar torque de até 4,2 Kgf.cm.

A estrutura atual do sistema está representada na **figura 11.A)**, na qual estão indicados os componentes ópticos internos mencionados anteriormente. Este modelo é feito em alumínio 6063-T5 e os componentes do caminho óptico (tubo, peças de encaixe do filtro e do sensor) possuem pintura interna em preto fosco, para evitar a propagação de luz difusa (a qual não possui participação na formação da imagem, porém gera ruído no sensor). Na **figura 11.B),** contém uma representação dos componentes de movimento do sistema: um motor de passo Nema17, um parafuso micrométrico adaptado de um micrômetro e uma plataforma de integração entre o parafuso micrométrico, o sistema óptico e a guia linear inferior (não inclusa na imagem) que os sustenta. Este parafuso micrométrico possui avanço de 500 µm por

revolução, enquanto o motor de passo possui um passo mínimo de 1,8º, sendo assim, cada passo do motor possui avanço de 2,5 µm. Todo o controle é feito de forma digital, através de um circuito embarcado, controlado por uma Raspberry Pi 4B+, a partir de um software escrito na linguagem Python 3, capaz de mover os motores, capturar as imagens em tempo real e armazenar capturas.

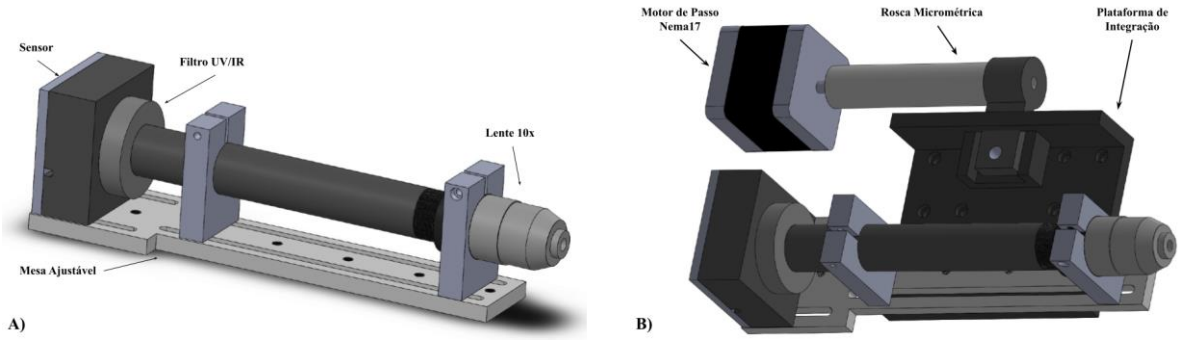



*Figura 11. Design parcial do sistema óptico, mostrando os componentes principais de aquisição de imagem e ajuste de foco.*

O sistema necessita de movimentação em três dimensões. Como a fita de silicone coletora[46], onde o ar impacta, já se move em uma dimensão (definida como eixo y), é necessária a movimentação do sistema óptico em mais uma dimensão, por esse motivo fora adicionado mais um motor, que se desloca na direção x, como pode ser visto no equipamento montado (sem as conexões eletrônicas) na **figura 12**. A movimentação na direção x não necessita tanta resolução quanto na direção z, portanto a rosca não precisa ser micrométrica. Como o campo visual, com magnificação 10x, é igual a 628 x 471 µm (ver tabela 1), o passo pode ser de dezenas ou até centenas de micrometros e ainda assim o dispositivo ser capaz de se deslocar entre diferentes regiões de maneira gradual, sem necessariamente deixar regiões não varridas. Por isso foi utilizada uma barra roscada comum de três helicoides, com deslocamento de 8 mm por revolução, ou 40 µm por passo de 1,6º.

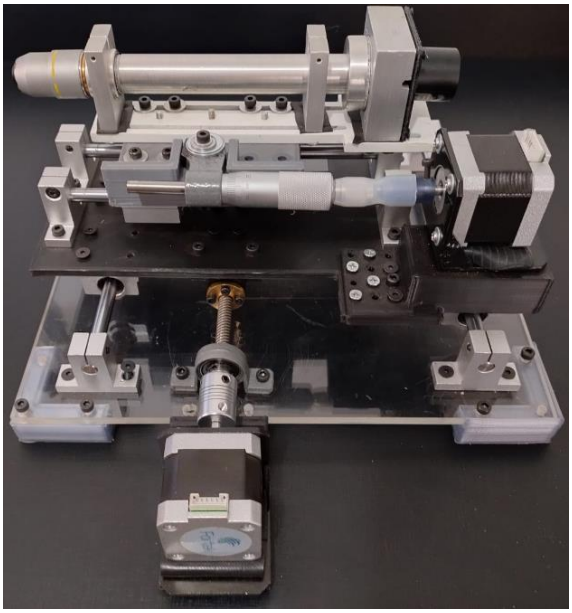


*Figura 12. Fotografia do sistema óptico real completo. Mostrando os componentes citados na figura anterior e novos componentes, responsáveis pelo movimento do eixo não considerado anteriormente.*

A iluminação da amostra é feita por 16 LEDs brancos de alto brilho (temperatura de 8000K), cada um com luminosidade de até 8000 mcd (ajustável para melhor efetividade). Os LEDs estão posicionados a uma distância de 5cm da fita de silicone (a qual o pólen se adere) e a luz é transmitida através da amostra até a lente objetiva do sistema óptico.

## 3.2. SISTEMA AUTOMATIZADO DE FOCO

Como o objetivo geral do trabalho é construir um dispositivo que necessita de (pouca) interação humana apenas para manutenção e calibração, é necessário que todos os procedimentos de operação sejam feitos de maneira automatizada. O que inclui o ajuste do foco para melhor qualidade de imagem, com maior nitidez. Dispositivos já citados anteriormente que utilizam microscopia óptica na região visível procuram resolver este problema adotando medidas engessadas como por exemplo manter o sistema  fixo em um ponto previamente definido[26]

ou então fazer a análise em posições pré-determinadas[17], [47] e contar com a sorte de não ter ocorrido nenhuma perturbação no sistema que tenha alterado sua posição, já que, deslocamentos micrométricos afetam drasticamente a resolução de uma partícula.

Para tal, desenvolvemos um método de focalização automatizado que procura otimizar o foco da imagem a partir de medidas do valor intensidade dos pixels *versus* posição do sensor.

Como já definido anteriormente, o contraste depende dos valores de maior e de menor intensidade contidos na imagem. Em um sistema 8-bits perfeito, e considerando apenas regiões brancas e pretas, estes valores seriam $I_{min}$ igual a 0 (preto) e $I_{max}$ igual a 255 (branco). Mas apenas isto não garante a melhor qualidade de imagem possível, pois estamos apenas olhando para os extremos. Ao utilizar o termo nitidez, dizemos sobre a transição entre dois pontos de referência (ou entre os limites externos de uma partícula e o fundo, *background*), quanto mais direta a transição entre os dois pontos, mais nítida a imagem estará.

Ao ler os valores de intensidade dos pixels da imagem podemos graficar a quantidade de pixels de cada intensidade contidos na imagem, independentemente de sua posição, gerando um histograma de número de pixels *versus* intensidade do pixel. Para uma boa qualidade de imagem, espera-se que haja maior número de pixels em ambos os extremos do histograma e pouca quantidade no centro. Isso representa um rápido degrau de transição, ou seja, uma imagem mais nítida.

Sabendo que o foco de uma imagem pode ser ajustado a partir do deslocamento do sensor, da lente objetiva ou do sistema como um todo, podemos realizar a medida descrita no parágrafo anterior para diferentes posições do sistema óptico (sensor e lente objetiva) e compará-las entre si. Estes procedimentos, que serão descritos a seguir e exemplificados na **figura 13,** foram feitos de maneira automatizada.

Para esta comparação, adotamos um método de análise pelo histograma das imagens, de acordo com o que foi dito anteriormente. Este método consiste em primeiro momento, partindo de um ponto conhecido $\mathbf{z_0}$ (perpendicular ao plano da amostra), capturar 20 imagens em diferentes posições do eixo de captura, sendo 1 no ponto inicial, 9 deslocadas em -a.Δz e 9 deslocadas em +a.Δz, onde **a** varia entre 0 e 9 e Δz é um valor constante. O ponto $z_0$ para calibração é definido pelo usuário, utilizando a visualização da imagem para estabelecer o ponto aproximado de melhor nitidez. Em seguida, é feita separação do histograma de cada imagem, obtida em um determinado ponto $\mathbf{z_i}$ do sistema, em subdivisões (escolhemos utilizar 3), fazendo a contagem do número de pixels em cada uma delas e comparando-as entre si.

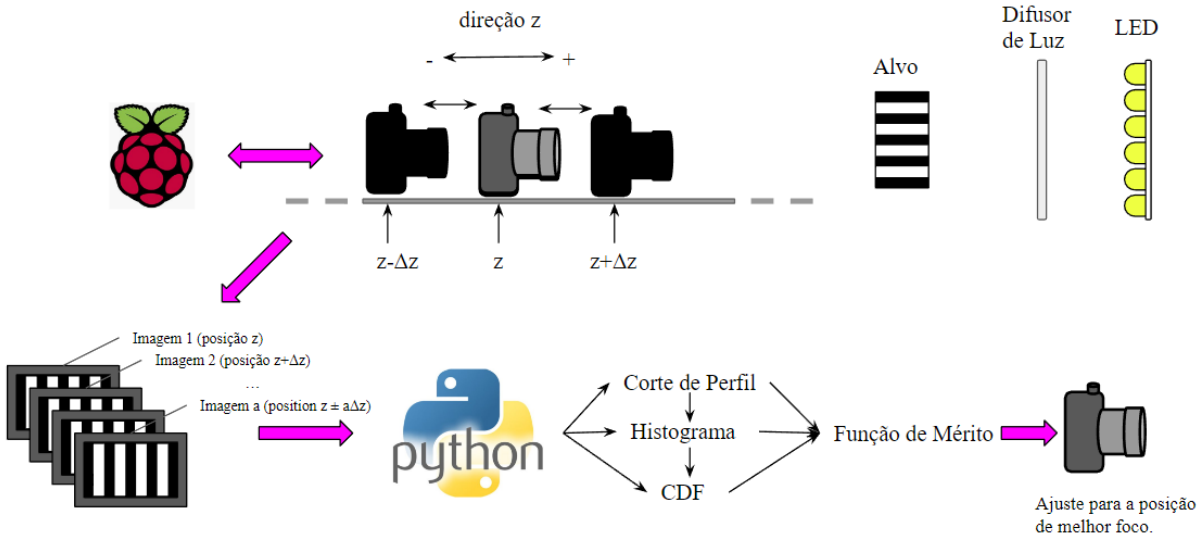



*Figura 13. Esquematização do processo de foco automatizado, partindo de uma posição inicial, adquirindo imagens e as analisando, para enfim definir a melhor posição de foco.*

Na **figura 14**, contém uma situação hipotética, onde há duas imagens A) e B) e seus respectivos histogramas, C) e D). As três subdivisões estão representadas pelos nomes Região 1, 2 e 3. O objetivo é que haja o maior número possível de pixels nas regiões extremas e o menor número possível na região interna, matematicamente podemos dizer que desejamos:

$$R_1 > R_2 < R_3 \tag{12}$$

Onde as regiões são descritas por:

$$R_1(z_i) = \sum_{j=0}^{I_1} n(I_j) \quad (13)$$

$$R_2(z_i) = \sum_{j=I_1}^{I_2} n(I_j) \quad (14)$$

$$R_3(z_i) = \sum_{j=I_2}^{I_3} n(I_j) \quad (15)$$

sendo n(I) o número de pixels de intensidade I e $\mathbf{z_i}$ a posição de captura da imagem.

Para o caso de calibração do sistema, onde sabemos que a quantidade de pixels claros e escuros são aproximadamente iguais, podemos utilizar um método para a otimização do foco a partir de dois parâmetros. O primeiro é realizado com apenas uma imagem, onde é calculado o valor da função:

$$F(z_i) = \frac{\sum_{I_1}^{I_2} n(I_j)}{\sum_{I_0}^{I_1} n(I_j) + \sum_{I_2}^{I_3} n(I_j)} \quad (16)$$

onde $F(z_i)$ é a comparação entre as intensidades nas regiões externas ($R_1$, $R_3$) e internas ($R_2$), ou seja, a minimização desta função, indica valores de imagens mais nítidas.

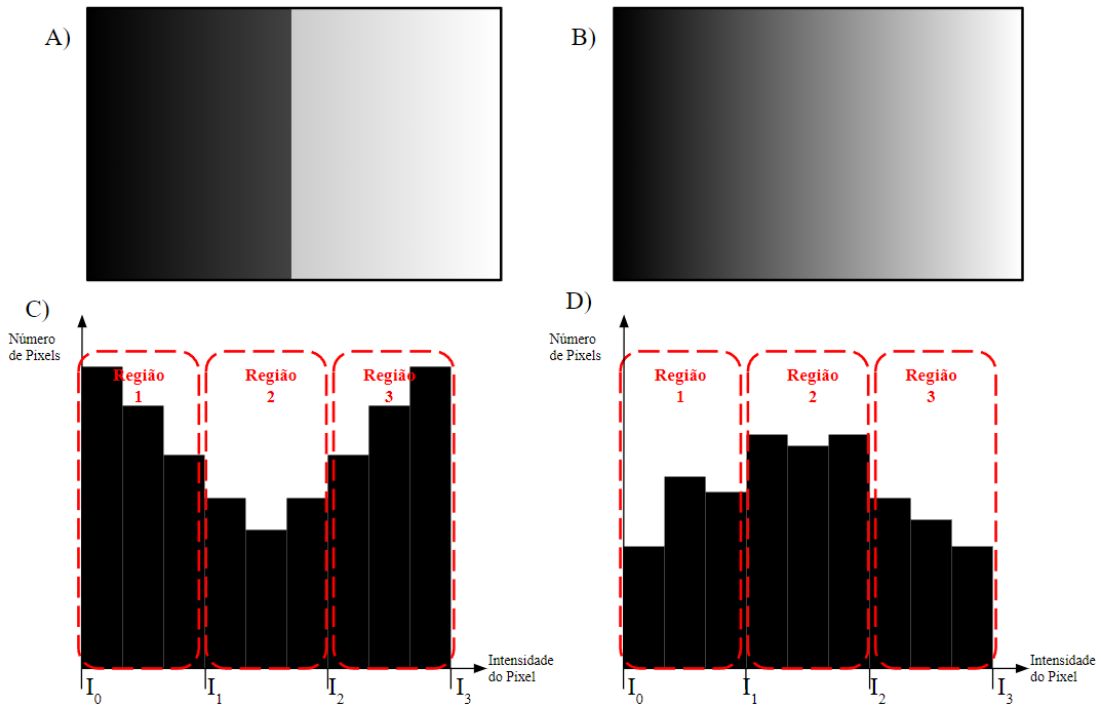



*Figura 14. Exemplificação de A) uma imagem em ponto com foco adequado; B) uma imagem fora de foco; C) o histograma de uma imagem em ponto de foco e; D) o histograma de uma imagem fora do ponto de foco.*

Em seguida, comparamos estes dados com os obtidos a partir da mesma análise da anterior (deslocada em -Δz) e da imagem seguinte (deslocada em +Δz):

$$G(z_i, z_i + \Delta z) = \frac{F(z_i)}{F(z_i+\Delta z)} \quad (17)$$

$$G(z_i, z_i - \Delta z) = \frac{F(z_i)}{F(z_i-\Delta z)} \quad (18)$$

Novamente, o ponto $z_i$ onde ambas as funções $\mathbf{G(z_i,z_i+\Delta z)}$ e $\mathbf{G(z_i,zi-\Delta z)}$ atingirem os valores mínimos, sabemos que é o ponto onde a imagem estará mais nítida.

É importante salientar que todas as imagens contêm o mesmo número de pixels, afinal, foram obtidas pelo mesmo sensor, portanto, a integral deste gráfico sempre será igual.

### 3.3. SISTEMA DE COLEÇÃO DE PARTÍCULAS

O ar adentra o sistema a partir de orifícios cujo diâmetro e largura são planejados visando o material a ser coletado. Podendo ter um trajeto direto até a região de impacto (região de coleção de partículas) ou trajetos circulares, os quais facilitam a seleção de partículas de acordo com seu tamanho.

Para a coleta de partículas são utilizadas lâminas de microscopia com material aderente em sua superfície, podendo ser graxa de alto vácuo ou fitas adesivas projetadas para tais fins.

O fluxo de ar, gerado por um exaustor localizado na saída do sistema, que passa dentro do sistema e impacta na região de coleção de partículas é de extrema importância, consequentemente, seu controle também o é. Como parte da funcionalidade do sistema é sobre a contagem de níveis de partículas no ar (capturadas pelo sistema), é importante saber o volume de matéria que circulou pelo sistema em um determinado espaço de tempo[48]. Além do que, o fluxo determina o tamanho das partículas a serem coletadas.[49], [50]

Sendo assim, o sistema possui um fluxômetro para medição precisa do fluxo e um sistema de exaustão, programado para autoajuste no valor de fluxo desejado (neste caso em particular, 10 slm) a partir das medições do fluxômetro.

O equipamento utilizado para leitura de fluxo no sistema é o Sensirion SFM3400-D, comprado pelo valor de US$45,00, capaz de medir o fluxo bidirecionalmente de -33 a 33 slm (*standard litres per minute*), o sinal indica a direção do fluxo. O princípio de funcionamento deste sensor é conhecido como “Sensor de Fluxo de Massa Térmica”, onde no caminho em que o ar flui há dois sensores de temperatura, indicados por W e F, na **figura 15** e um aquecedor (fornecendo calor constante) entre eles. A partir da diferença de temperatura entre os sensores é possível determinar o volume de massa **m** que atravessou pelo sensor de acordo com a equação (15). Este sensor em específico é calibrado apenas para massa de ar e $N_2$.

$$m = \frac{5}{4} \frac{K.q}{(T_W - T_F)C_P} \tag{15}$$

onde $\mathbf{T_W}$ é a temperatura após aquecimento, $\mathbf{T_F}$ a temperatura antes de aquecida, $\mathbf{C_P}$ o calor específico do fluído, **q** a taxa de calor elétrico e **k** um coeficiente de medição. O sensor envia sinal analógico que é lido por um Arduino Nano e o valor em litros por minuto é calculado a partir de uma equação de conversão fornecida pelo fabricante, pelo manual do produto.

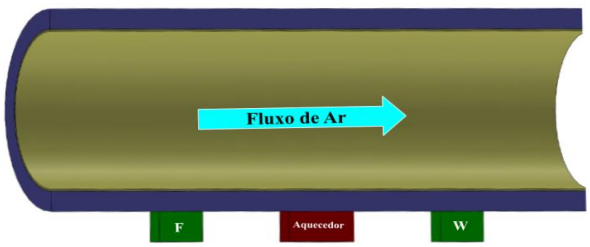



*Figura 15. Esquematização do fluxômetro, que faz a leitura do fluxo a partir da variação de temperatura entre os dois pontos identificados por F e W.*

O projeto do sistema de coleção de partículas (PCS) pode ser visto na **figura 16.A)** fechado e **16.B)** aberto, estão indicados 8 diferentes componentes, sendo eles: 1- entrada de ar e partículas; 2- janela para aquisição de imagens; 3- motor de passo para girar a bobina e enrolar a fita de silicone; 4- fluxômetro responsável pela medição do fluxo de saída de ar; 5- catraca contra-recuo; 6- fita de silicone propícia para adesão de pólen; 7- colunas para manter a fita esticada e paralela à janela; 8- bobina ligada ao motor de passo. As funções e especificações dos componentes serão descritas nos parágrafos a seguir.

A área de impacto de ar e partículas na fita é de 2 x 20 mm, este valor é igual ao de coletores comerciais, como por exemplo o "Seven-day Recording Volumetric Spore Trap",[51] da Burkard Manufacturing Co Ltd, utilizado atualmente pela empresa parceira deste projeto, Oshtech Inc. O motor de passo é programado para que a fita avance 2 milímetros por hora, como a janela para a aquisição de imagens está a cerca de 40 mm da área de impacto, o tempo entre o impacto da partícula e sua detecção pela câmera é cerca de 20 horas, sendo assim, as medidas serão sempre relativas às partículas depositadas 20 horas atrás.

O fluxômetro é utilizado na saída para que não haja grande estrangulamento antes da região de impacto e para redução de partículas dispersas no ar que passa em seu interior, prolongando assim a vida útil e precisão do mesmo. Como o sistema é hermeticamente selado, exceto pela região designada para entrada de ar, é justo pressupor que o valor medido pelo fluxômetro é igual ao fluxo de ar na entrada.

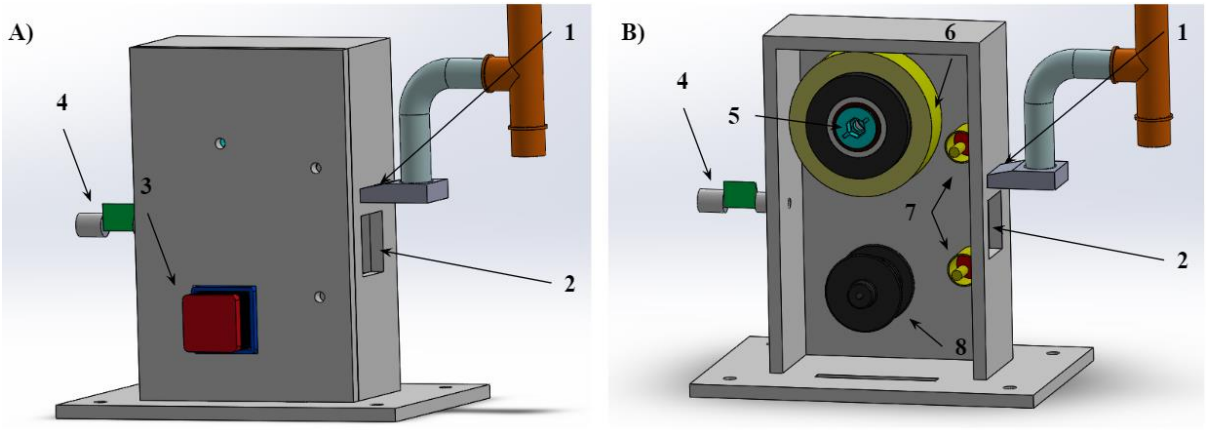



*Figura 16. Desenho do coletor de partículas **A)** com tampa e **B)** sem tampa. Itens identificados na figura: 1- entrada de ar e partículas; 2- janela para aquisição de imagens; 3- motor de passo para girar a bobina e enrolar a fita de silicone; 4- fluxômetro responsável pela medição do fluxo de saída de ar; 5- catraca contra-recuo; 6- fita de silicone propícia para adesão de pólen; 7- colunas para manter a fita esticada e paralela à janela; 8- bobina ligada ao motor de passo.*

É importante que a fita esteja sempre tracionada, tanto para o impacto quanto para aquisição de imagens. Como nosso sistema possui apenas um motor de passo localizado ao final do trajeto, responsável pelo movimento da fita através da bobina, utilizamos uma catraca contra-recuo CSK20 na origem da mesma, cujo valor de compra foi de aproximadamente US$45,50 (considerando a taxa de conversão US$1,00 = R$5,50.) Esta catraca contra-recuo é um rolamento que permite o movimento em apenas uma direção, sem folgas perceptíveis, mantendo a fita sempre tracionada. A fita, ao sair da posição inicial, passa por duas colunas, localizadas antes do ponto de impacto e após o ponto de imageamento, para garantir que a fita de silicone esteja sempre paralela em relação a ambos os pontos. As colunas possuem rolamentos livres para oferecer a menor resistência possível ao movimento da fita. A caixa de acrílico que comporta este sistema foi projetada e cortada a laser, seu valor foi de aproximadamente US$84,50.

Este primeiro modelo fora construído e testado. A partir destes testes de utilização foram identificadas falhas e então feitas alterações, tais como:

- Adicionado LEDs internos com o objetivo de iluminar a amostra coletada;
- Adicionada bomba de exaustão anexada à estrutura;

- Redução da espessura das laterais;
- Substituição do motor de passo responsável pelo movimento da bobina, trocando um motor cujo torque era 4,2 N.m para um motor com torque de 13 N.m;
- Base para acoplamento do microscópio anexada à estrutura;
- Adicionado o fluxômetro no interior do coletor;
- Modificação do sistema de selagem e fixação.

Além destes fatores de maior impacto, houve outras alterações tais como adição de conexões elétricas para operação do fluxômetro e dos LEDs e aumento no tamanho total da estrutura para acomodação dos itens adicionados. Na **figura 17**, à direita há o modelo 3D do subsistema de coleção de partículas, feito antes da construção do mesmo, e à esquerda pode ser visto a fotografia deste segundo modelo de coletor de partículas em suspensão aérea.

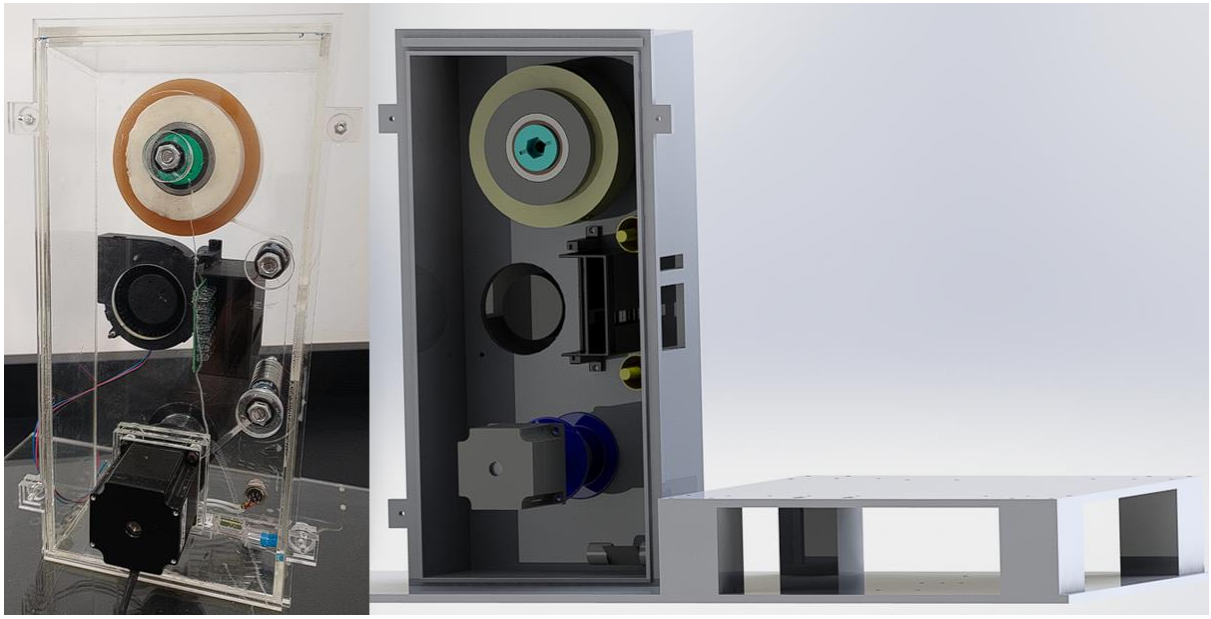


*Figura 17. Segundo modelo do coletor de partículas. Foto: autor.*

Junto a este novo modelo, fora projetada uma placa de circuito impresso, **figura 18**, responsável pela integração dos sistemas de aquisição e transmissão de dados, e pelo controle eletrônico de todo o sistema de coleção e de imageamento. Esta placa eletrônica faz também a

conexão com o microcomputador (Raspberry Pi 4B+) utilizado para programação dos códigos e controles e de visualização das imagens.

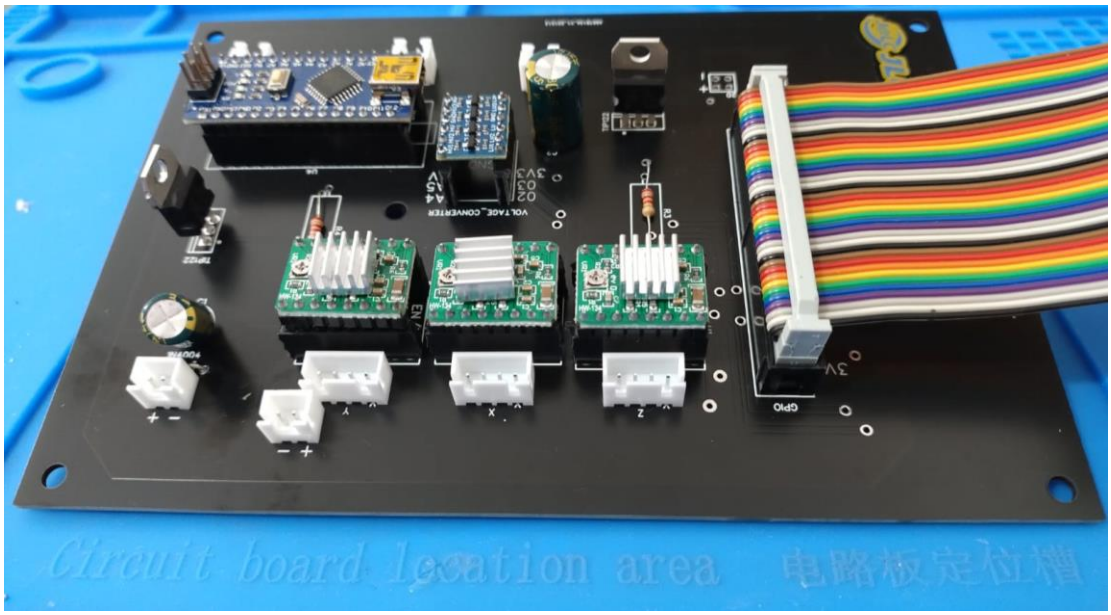



*Figura 18. Placa de Circuito Impresso responsável pela integração dos sistemas de controle, aquisição e transmissão de dados*

### 3.4. COLETA E ANÁLISE DE DADOS

As imagens são obtidas a partir de um script desenvolvido em Python 3, utilizando-se da biblioteca desenvolvida pela Intel, e de código aberto, de Visão Computacional (OpenCV 2, *Computer Vision II*). Algumas funções foram adicionadas ao script para facilitar as análises, tais como: isolar os canais de cores (R, G ou B), aumentar ou diminuir a resolução e a taxa de quadros, capturas sequenciais de imagens, escala no plano do objeto e cálculo do tamanho dos objetos na imagem.

Para auxílio em contagem de pixel, obtenção dos valores de intensidade das linhas de pixels (ESF(x)) e pequenas manipulações da imagem é utilizado o software ImageJ, um software de fonte aberta (livre para uso e expansão) desenvolvido em Java, no *National Institutes of Health* (NIH). Dentro deste software, também existem plugins para o cálculo da LSF e do MTF.

## 3.5. RECONHECIMENTO DE PARTÍCULAS

### 3.5.1. Inteligência Artificial e Aprendizado de Máquina

O início das teorias e técnicas de inteligência artificial (IA) são datadas da década de 50. Em 1950 Alan Turing, pai da ciência da computação, em seu trabalho **revolucionário** "*COMPUTING MACHINERY AND INTELLIGENCE*" iniciou a discussão sobre o assunto, introduzindo também o teste que hoje leva seu nome, Teste de Turing, cujo objetivo seria avaliar se uma máquina (computador) é capaz de imitar seres humanos, ou seja, agir e pensar racionalmente[52].

O termo IA foi introduzido na comunidade científica por John McCarthy, em 1955, enquanto professor do *Dartmouth College.* No entanto, a popularização desta tecnologia ocorreu na última década devido à evolução da capacidade computacional de computadores domésticos e a disponibilização gratuita de algoritmos de IA por parte de grandes empresas do ramo computacional.

*Software*s de inteligência artificial podem ser classificados como *weak* (fraca) ou *strong* (forte). As inteligências artificiais fracas são chamadas de ANI (*Artificial Narrow Intelligence*) que são IAs programadas para uma função específica, como por exemplo jogar xadrez, diagnósticos médicos, direção de veículos autônomos ou reconhecimento de padrões. Inteligências artificiais fortes, que são teóricas, podem ser classificadas em AGI (*Artificial General Intelligence*) ou ASI (*Artificial Super Inteligence*), sendo a primeira uma inteligência equiparável à inteligência humana e a segunda uma inteligência que supera a inteligência humana e, portanto, teriam sucesso no Teste de Turing. [53]

O aprendizado de máquina (abreviado por ML, *Machine Learning*), uma subdivisão da inteligência artificial, é a ciência que visa programar computadores para que aprendam através das informações fornecidas a ele. Estes algoritmos são criados com objetivos definidos, sendo alguns deles:

- Regressão, que consiste em estimar um valor de uma característica do objeto baseado em outros valores das outras características do objeto;
- Classificação, que é descobrir a qual classe um objeto pertence baseado em suas características;
- Previsão, que consiste em prever valores futuros baseados nas variações dos valores;
- Agrupamento, que é agrupar dados (ou objetos) com base nas características (valores) comuns.

Sendo os dois primeiros (Regressão e Classificação) feitos por algoritmos de aprendizado de máquina de maneira supervisionada e os dois últimos (Previsão e Agrupamento) feitos de maneira não-supervisionada[54]–[56]. Este aprendizado é baseado em análises estatísticas e múltiplas iterações dos dados, enquanto o método tradicional possui regras de análises estáticas. No método tradicional (não "inteligente") de programação, representado na **figura 19 A)**, o programador seria o responsável pela introdução das regras de análise de um determinado conjunto de dados, enquanto nos métodos de ML, **figura 19 B)**, o próprio *software* seria o responsável pela definição das regras de análise (estabelecimento dos parâmetros de correlações) dos dados após o devido treino.

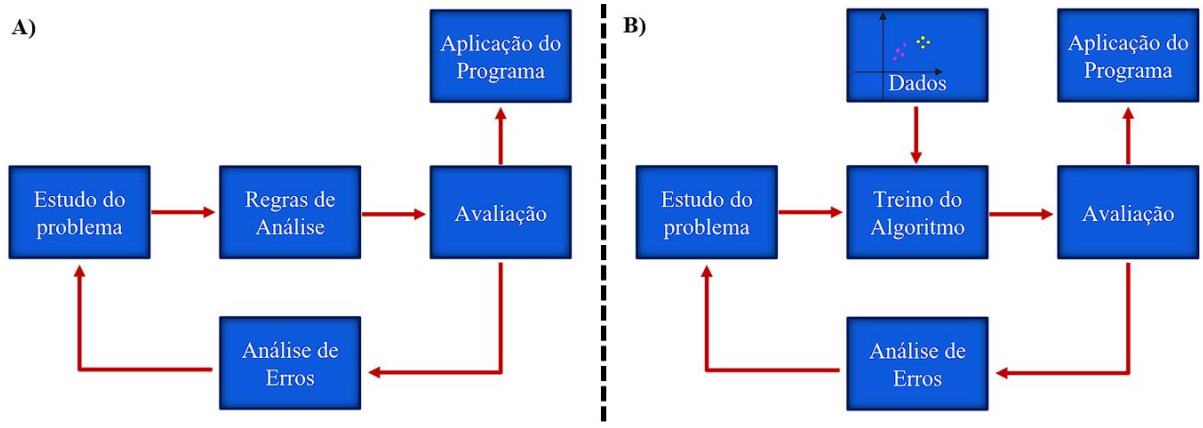



*Figura 19.A) Aplicação do Método Tradicional na Análise de Dados; B) Método utilizando Aprendizado de Máquina para a análise de dados.*

Os algoritmos de ML podem ser divididos em diferentes características, sendo elas:

- Supervisionada ou não supervisionado (existe também os métodos semi-supervisionado, aprendizado por reforço, etc. porém fogem ao escopo deste trabalho);
- Aprendizado *online* versus *batch*;
- *Instance* ou *model-based*, onde a partir dos dados de cada classe o algoritmo cria um modelo que representa o aprendizado sobre os dados de treinamento.

No desenvolvimento de algoritmos de aprendizado supervisionado, o programador fornece dados "etiquetados" para o treinamento, i.e., especifica para o programa a qual classe aquele dado pertence, fornecendo à análise o dado de entrada e de saída, para que o software calcule os coeficientes da função de mediação. Enquanto no não-supervisionado cabe ao próprio algoritmo correlacionar e separar os dados em diferentes classes (divisão em clusters) a partir de diferenças definidas pelo próprio algoritmo durante o treino. O aprendizado não supervisionado é de grande valia em aplicações de *Big Data*, onde o volume de dados é tão grande que se torna impossível para um ser humano os classificar em toda sua completude.

O treino e aprendizado destes algoritmos pode ser totalmente feito antes da utilização (*batch*) ou enquanto o software está em operação (*online*). Neste modo, *online*, o software reutiliza as informações classificadas para aperfeiçoamento das regras de classificação/regressão, fazendo com que esta opção se torne inviável caso o conjunto de dados seja massivo, além da capacidade de processamento do computador.[53]

O desenvolvimento e aplicação de ML não está livre de erros e imprecisões.[57] Como dito anteriormente, o treino assim como as decisões são baseadas em estatísticas e probabilidades de correlação, não atingindo exatidão completa em suas decisões (classificações, previsões etc.). Além disso, podem conter erros no código dos algoritmos ou erros provenientes dos dados fornecidos para o aprendizado, como por exemplo um conjunto de dados (*dataset*) pequeno ou ruidoso. Por isso, o fator humano não é desprezível ou substituível durante o aprendizado ou durante sua aplicação. Uma situação possível de ocorrência é a confusão de causalidade com

casualidade. O pensamento crítico é fundamental para a diferenciação destes casos, e como estes algoritmos são de inteligência artificial "fraca" (ANI), não possuem tal habilidade. Além destes, outros fatores podem ocasionar imprecisões na atuação dos modelos, como por exemplo o chamado *overfitting*, em que o modelo atua muito precisamente nos dados fornecidos para treino e validação, porém é incapaz de generalizar o modelo e, portanto, reconhecer e classificar itens fora do conjunto fornecido. Assim como o *underfitting*¸ na qual há poucos dados fornecidos ao modelo e o modelo gerado se torna incapaz de classificar os itens do conjunto, situação oposta à anteriormente explanada.

Dentro dos possíveis métodos de ML estão contidas as Redes Neurais Artificiais (ANN, *Artificial Neural Network*), as quais são as responsáveis pelo aprendizado do algoritmo e criação dos modelos a serem utilizados para a atribuição das classes aos dados.

### 3.5.2. Treino e Aplicação do Modelo

Neste trabalho, o algoritmo de IA será utilizado para o reconhecimento e classificação de partículas em suspensão aérea, com atenção especial à grãos de pólens. Tal algoritmo passou por treino supervisionado, onde foram fornecidas imagens rotuladas de pólens das principais espécies presentes na região de London (Ontário, Canadá), fornecidas e rotuladas pela empresa parceira Oshtech Inc., a qual possui vasta experiência profissional no ramo de classificação de pólens e fungos dispersos no ar. Além das amostras de grãos de pólens, serão fornecidas partículas de classificação não relevantes, tais como resíduos minerais, e foram rotuladas como resíduos. Para o treino, fora utilizada as imagens isoladas dos polens, com tamanho formatado (esticado ou comprimido) para fins de comparação, ou seja, todos as imagens de grãos possuíam o mesmo número de pixels. Após o treino, o algoritmo criou modelos nos quais se

baseou para as tomadas de decisões (classificações). Estes modelos são lotes estáticos enquanto operando, ou seja, não tem aprendizado *online*, todo aprendizado é supervisionado.

O algoritmo foi escrito na linguagem de programação Python 3 e dentro dele, foram utilizadas as bibliotecas de ML Scikit-Learn e Tensorflow, desenvolvida pela empresa Google. O código é complementado por bibliotecas numéricas e científicas tais como NumPy e SciPy, além da biblioteca de computação visual, OpenCV, desenvolvida pela Intel.

O software de reconhecimento atua nas imagens capturadas (ou fornecidas) fazendo uma varredura na imagem linha a linha, da esquerda para a direita, procurando transições de cores ou intensidades luminosas. Já que o fundo (*background*) é quase uniforme e monocromático e ao encontrar uma transição de coloração, o software entende que naquela região se encontra uma partícula e então inicia o processo de isolamento dela. Para isolar a partícula, o software varre novamente a região onde a partícula supostamente se encontra, procurando as "bordas" dela, que são caracterizadas pelas transições de cor e/ou intensidade, como mencionado anteriormente. A **figura 20** ilustra este processo em três etapas: varredura de linha, isolamento (segmentação) da partícula e por fim, comparação da partícula com os modelos de grãos de pólens treinados (gerando as probabilidades de compatibilidade com cada espécie conhecida pelo algoritmo). A classificação se dá de acordo com a probabilidade, sendo a partícula classificada pela maior das probabilidades. Até o momento, o software não é capaz de realizar a separação e o reconhecimento de partículas sobrepostas e, portanto, o software fora treinado para rotular tais situações apenas como "erro", o que precisará ser revisado em uma versão posterior do software.

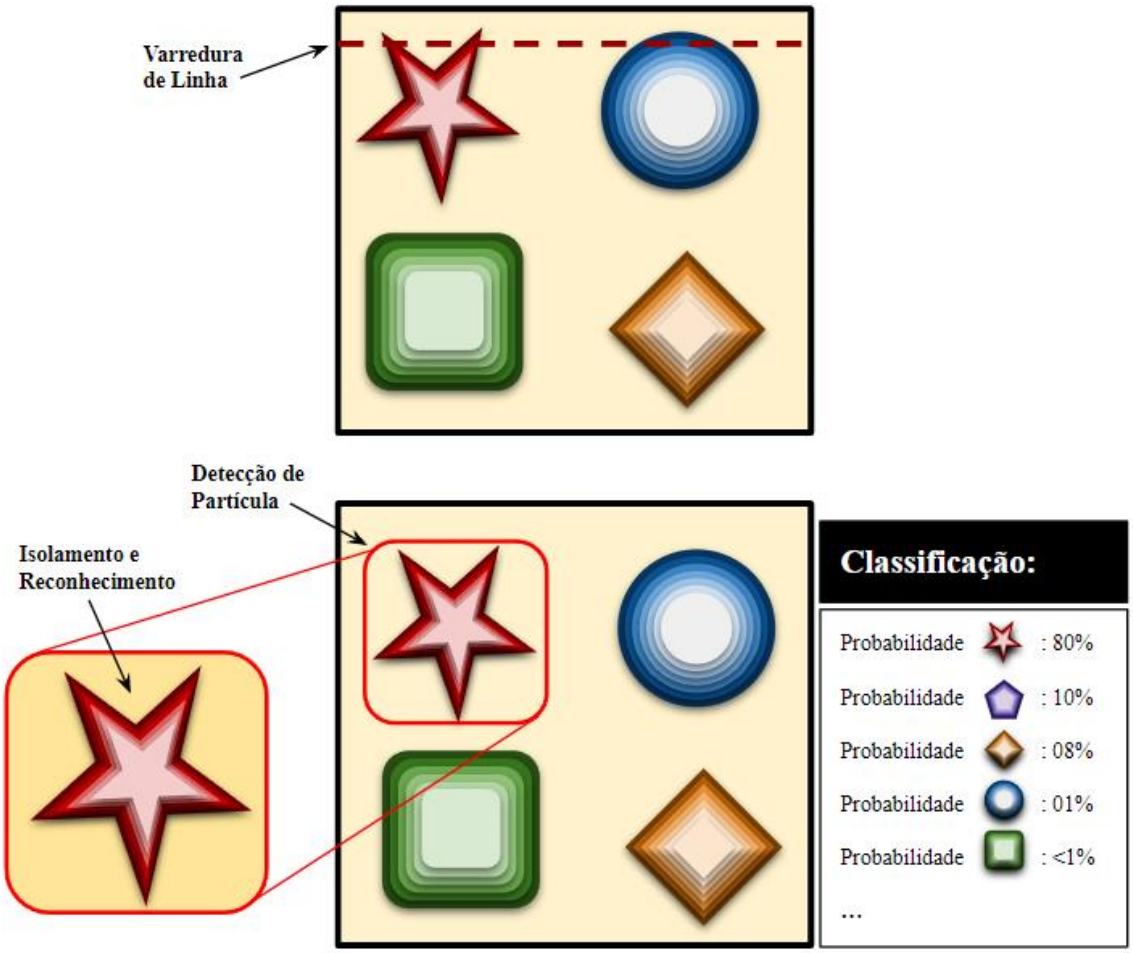



*Figura 20. Etapas do processo de detecção, isolamento e reconhecimento de partículas.*

# 4. RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Aqui serão discutidos resultados de testes realizados para tomadas de decisões de maneira empírica, a fim de otimizar o sistema, como por exemplo método de iluminação, diferença e vantagens entre os sensores, relativos ao sistema de imageamento e resultados preliminares dos algoritmos de reconhecimento e de autofoco, os quais auxiliam a identificar falhas e melhorias necessárias para aplicação in situ.

## 4.1. SISTEMA DE IMAGEAMENTO (IMS)

O referido sistema de imageamento é um sistema embarcado composto pelo microscópio (sensor, lente e estrutura metálica) cujo movimento é controlado por motores de passo e roscas micrométricas e pelo sistema de iluminação (leds, difusores e condensadores). Ambos controlados pelo microcomputador Raspberry Pi 4B+. Algum dos testes foram realizados em outros computadores pela questão de limitada capacidade de processamento de dados da Raspberry Pi.

### 4.1.1. TESTES DE ILUMINAÇÃO

Uma das primeiras questões quanto à composição do sistema foi em relação ao método de iluminação mais adequado, iluminação por reflexão ou transmissão. Para responder tal questão foram feitos testes na espécie pinheiro (*Pinaceae*) com ambos os métodos e analisados os prós e contras, do ponto de vista computacional. Para fins de comparação com modelos de microscópios comerciais, os testes foram repetidos em duas diferentes magnificações (20x e 50x) no modelo DM2500 M (Leica Microsystems), com sensor de imagem da fabricante

Clemex e modelo desconhecido (consequentemente, o tamanho do pixel também é desconhecido, não sendo possível o cálculo do tamanho exato do pólen). As imagens adquiridas são apresentadas na **figura 21** e como maior ponto de diferença entre ambos os métodos de iluminação pode ser apontado maiores detalhes superficiais nas imagens iluminadas por reflexão e maior contraste nas imagens iluminadas por transmissão.

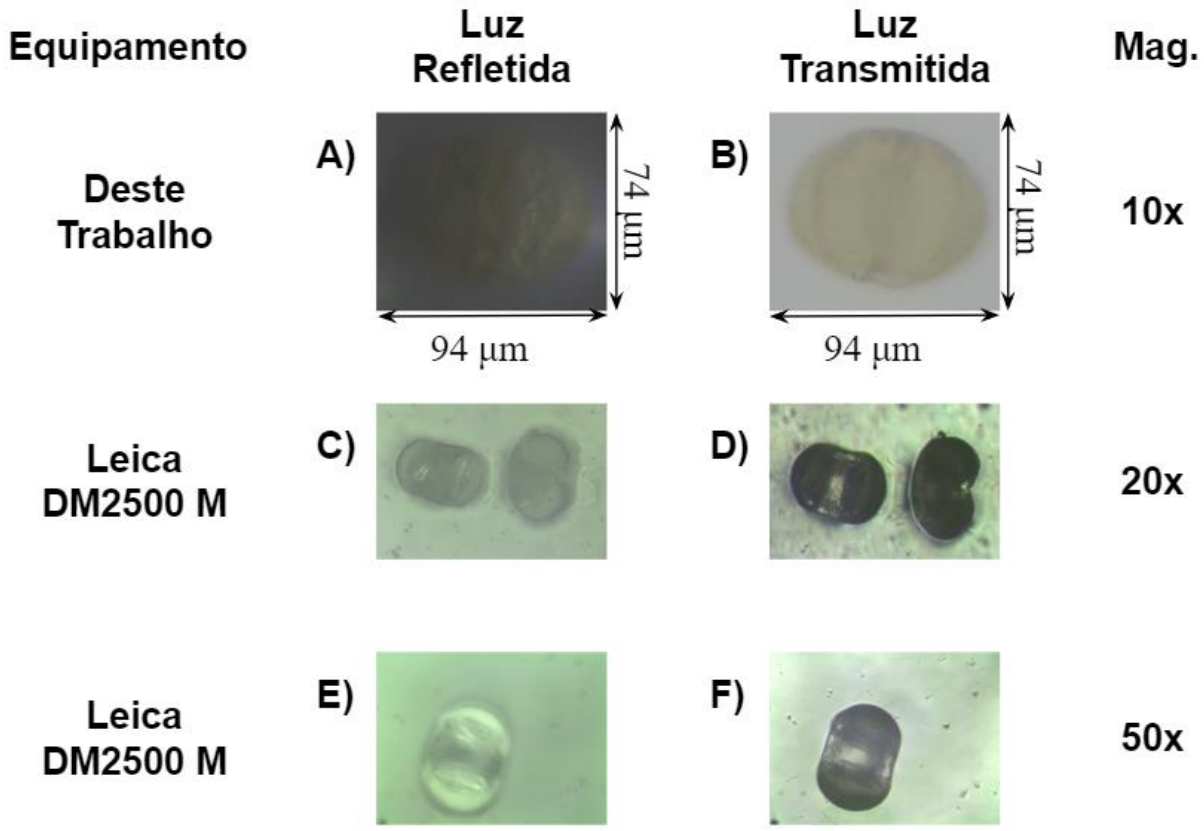



*Figura 21 Grãos de pólens de pinheiro (Pinaceae).* ***A) e B)*** *O dispositivo utilizado foi o desenvolvido neste trabalho, com magnificação óptica de 10x.* ***C), D), E) e F)*** *O dispositivo utilizado foi o Leica DM2500 M, com magnificação óptica de 20x e 50x respectivamente. É impossível de precisar a dimensão das partículas, já que o modelo do sensor é desconhecido, assim como o tamanho dos pixels. Já que a finalidade desta figura não é a comparação entre as resoluções, as imagens de diferentes magnificações ópticas foram ajustadas digitalmente para ficarem visualmente parecidas em tamanho.*

Os detalhes superficiais mais evidentes são de certo interessantes ao olho humano, no entanto, o código escrito para separar as partículas é feito de maneira a procurar contraste e então isolar as partículas de acordo, para então, procurar detalhes que as diferencie. Já que o contraste obtido por luz refletida é muito pequeno, fica claro que o método de iluminação por transmissão é de maior interesse ao sistema que tem como base a visão computacional.

Assim que definido o método de iluminação mais adequado, passamos para o teste de qual tipo de fonte de luz seria mais eficiente, novamente, do ponto de vista computacional. Para obter esta resposta foram testados três pólens, *Johnson grass* (*Sorghum halepense*), pinheiro (*Pinaceae*) e *ragweed* (*Ambrosia*), sobre dois tipos diferentes de fontes de luz, LED branco e lâmpada halógena. Para o uso da lâmpada halógena um segundo equipamento foi utilizado, um microscópio comercial da marca Rossbach e modelo desconhecido. Porém com o mesmo sensor de imagem (Sony IMX291) e a mesma lente objetiva 10x (marca desconhecida) do equipamento construído neste trabalho, assim como software e computador. A **figura 22** exibe grãos das espécies mencionadas anteriormente, obtidas com ambos os equipamentos.

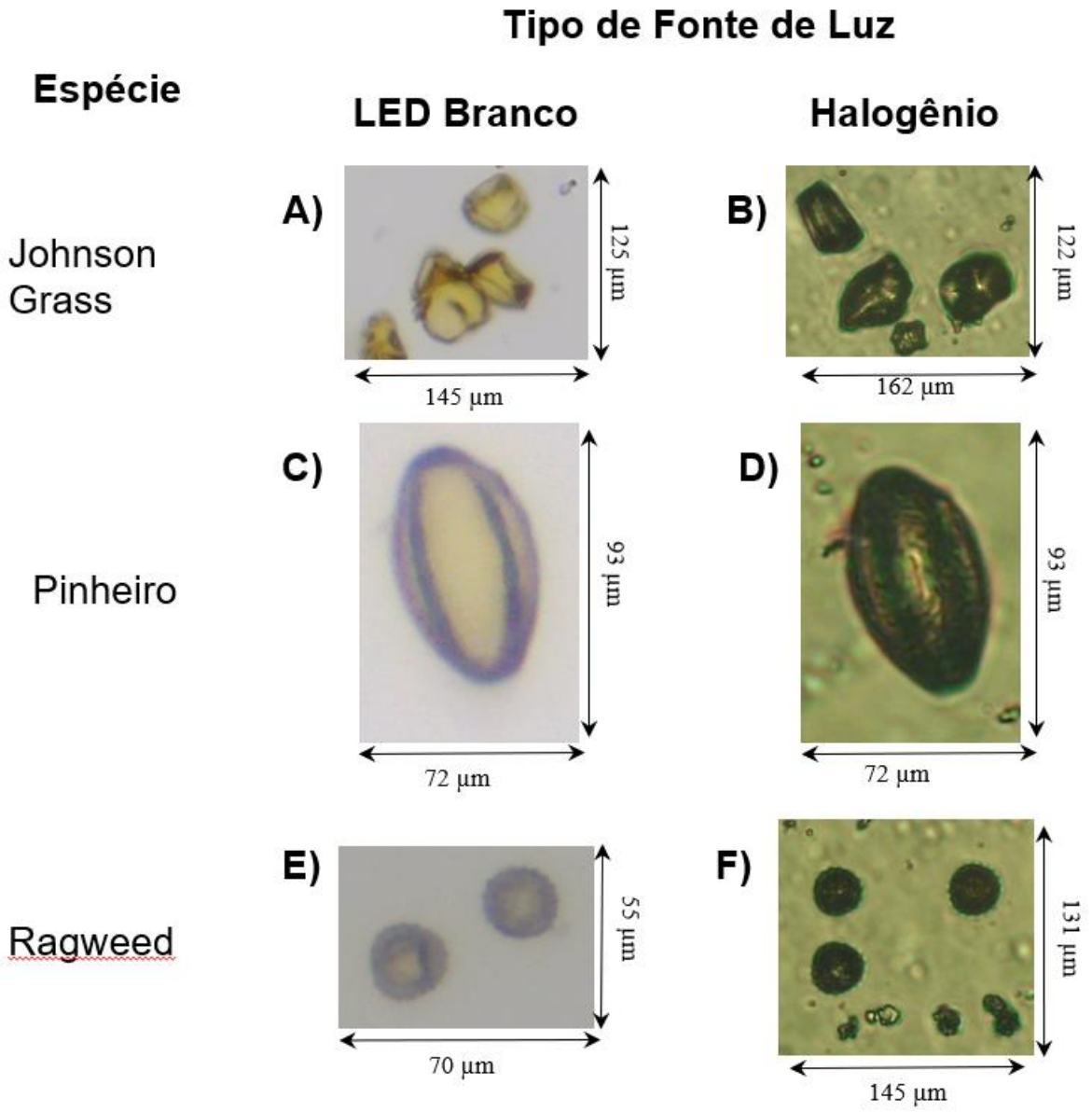



*Figura 22. Imagens obtidas de três diferentes espécies de pólen, A) e B) johnson grass, C) e D) pinheiro e E) e F) ragweed. Duas diferentes fontes de luz estão sendo comparadas nestas imagens, LED branco e lâmpada halógena. O sensor de imagem, a lente objetiva, o software e o computador utilizado para aquisição da imagem são comuns em ambos os casos.*

Apesar de parecer interessante a iluminação por lâmpada de halógena, já que há um contraste visivelmente maior, há dois fatores negativos que impedem sua escolha. Primeiramente, vê-se a luz difratada ao redor das partículas, o que atrapalha a transição claro-escuro utilizada pelo software para a detecção de partículas. Em segundo ponto, os detalhes obtidos com o LED branco são de fundamental importância para que o software realize o reconhecimento dos detalhes superficiais e internos, levando em conta que os grãos de pólen são translúcidos. O

efeito de difração obtido ao utilizar lâmpada halógena pode ser explicado ao se analisar o espectro de emissão de ambas as fontes de luz. Na **Figura 23** há ambos os espectros (lâmpada halógena e LED branco) normalizados, obtidas com o espectrômetro USB2000+, Ocean Optics, onde é possível notar que a lâmpada halógena possui largo espectro de emissão e localizado em maiores comprimentos de onda (com o pico de iluminação em 610 nm) e se estendendo a comprimentos de onda na faixa de infravermelho. Enquanto os LEDs brancos possuem picos de intensidade no azul (450 nm) e no verde (550 nm), tendo pouca intensidade em maiores comprimentos de onda. Tendo em vista que o contraste entre o fundo e as partículas, com esta fonte de luz (LED Branco), é suficiente para que o software reconheça e isole as partículas, esta fonte foi a selecionada para ser utilizada.

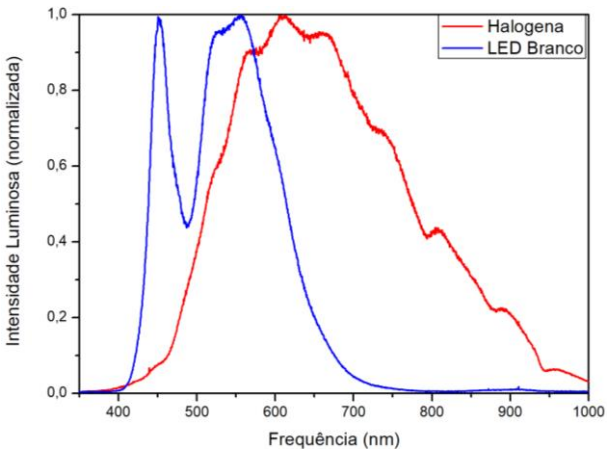



*Figura 23. Espectro de Emissão de ambas as fontes de luz utilizadas no teste. Em vermelho a lâmpada halógena e em azul o LED branco*

### 4.1.2. Qualidade de imagem – MTF

Para caracterização do sistema óptico em geral (lentes, sensores ópticos, filtro-UV, LEDs) foi obtida a função de transferência de modulação (MTF) pelo método de *Knife Edge*. Para tal propósito, alvos com padrões quadrados foram utilizados. Os alvos em questão possuíam diferentes frequências espaciais, **figura 24.A):** cada quadrado possui lado igual a 50 micrometros, enquanto no item **24.B)** cada barra é igual a 50 micrômetros. As linhas vermelhas indicam os conjuntos de pixels utilizados para obtenção do ESF em diferentes regiões da área

de amostragem, obtendo assim a função degrau suavizada para cada conjunto de pontos, e posteriormente o cálculo do MTF destes pontos a partir das equações (7) e (8), **figura 24.C) e 24.D)**. As figuras em **24.A)** e **24.C)** são relativas à imagem obtida com o sensor de imagem Sony IMX291 (2MP), cuja área da amostra é de 556 x 313 µm e as figuras em **23.B)** e **23.D)** são relativas à imagem obtida com o sensor Sony IMX577 (12MP), e área de amostra igual a 595 x 471 µm. Lembrando que como mencionado anteriormente, a magnificação é igual a 10x e o método de iluminação é por transmissão.

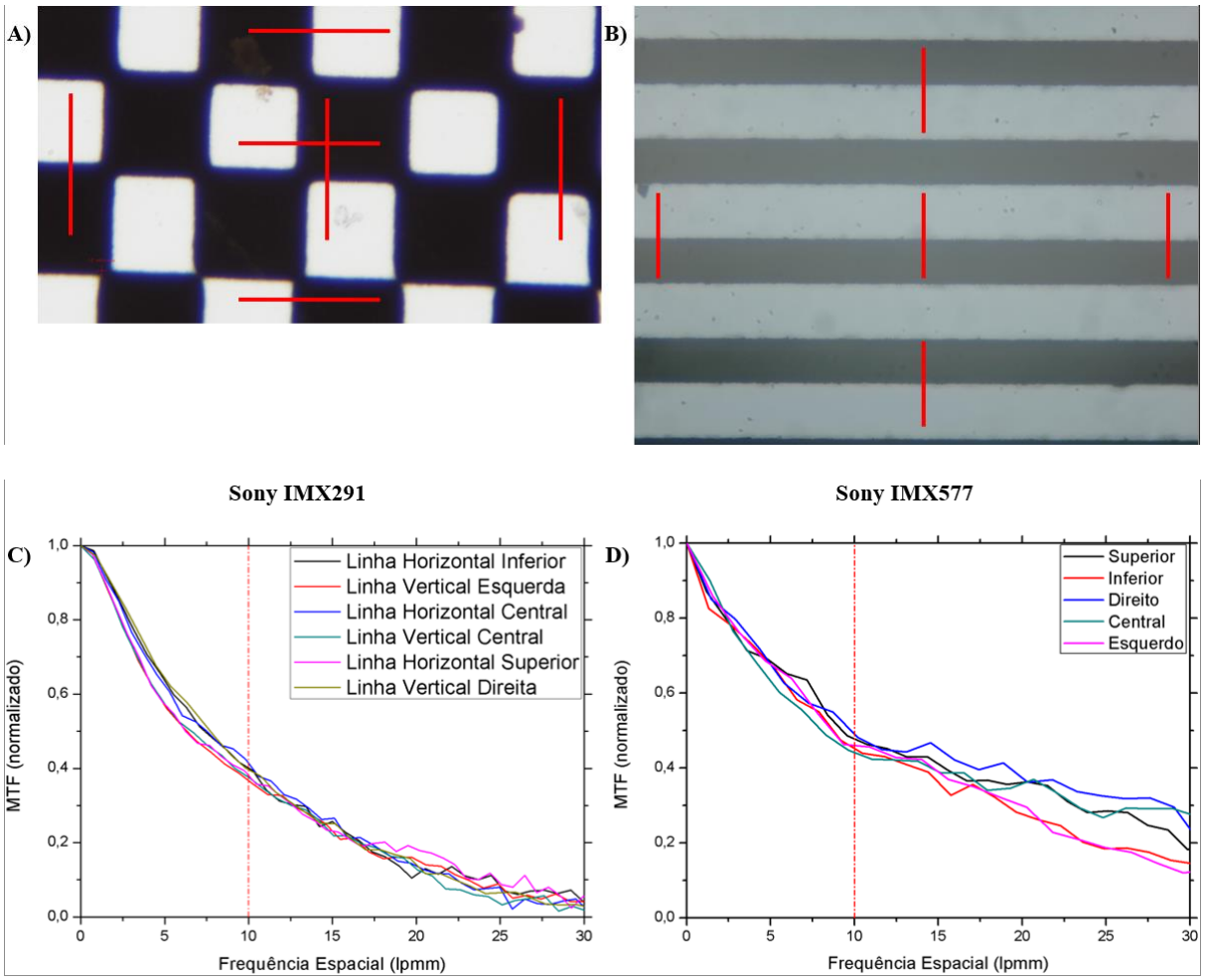



*Figura 24. **A) e B)** Imagens obtidas com os dois diferentes sensores de imagem a fim de calcular a função de transferência de modulação do sistema óptico utilizado. As linhas vermelhas representam as regiões onde as medidas de intensidade foram realizadas. **C) e D)** MTF obtido aplicando a transformada de Fourier na derivada espacial da ESF. Na frequência espacial de 10 lpmm, valor mínimo para resolver uma partícula de pólen, o MTF é igual a aproximadamente 0,36 e 0,45 respectivamente, mostrando melhor desempenho óptico para o sensor Sony IMX577.*

Cada aplicação óptica tem um contraste mínimo necessário para funcionamento adequado. No caso aqui apresentado, o propósito do sistema óptico é adquirir imagens adequadas para que o software seja capaz de realizar o reconhecimento das partículas. Adotamos como requisito mínimo, um MTF de 0,10 (próximo ao limiar humano de resolução). O tamanho de um grão de pólen pode variar de 10 a 100 µm, sendo assim, a resolução mínima para o sistema é de 10 lpmm. Como podemos ver nos gráficos apresentados na **figura. 23.C)** e **23.D)**, em uma resolução espacial de 10 lpmm, temos o contraste entre 0.36 e 0.45. Valores de MTF suficientes para nossos propósitos, mas apresentando uma clara diferença de precisão entre os sensores de imagem. O sensor IMX577 foi escolhido para ser utilizado pois além de melhor precisão, possui maior área de imageamento e resolução consideravelmente maior, nos permitindo assim resolver mais detalhes das partículas.

### 4.1.3. Sistema Automatizado de Foco

As **figuras 25 a 28** representam as intensidades dos pixels em função da distância, em pixels, em diferentes cortes lineares da imagem obtida do alvo e em 19 diferentes posições de foco ($\Delta z$), utilizando o método dissertado no tópico 3.2. Este tipo de medida pode ser utilizado para ajustar o plano da amostra ou então analisar a uniformidade da iluminação e identificar falhas em geral. Portanto as imagens a seguir serão utilizadas para a discussão destas situações indesejadas e como corrigi-las.

Destacado como um arco tracejado vermelho na **figura 25**, pode se observar, baseado na intensidade dos pixels, que no momento a iluminação não está uniformemente distribuída pela

amostra, estando mais intensa e uniforme no centro e lateral esquerda da imagem. Porém, ao se observar as imagens seguintes, veremos que este comportamento também se altera.

Podemos observar também que imagens obtidas em torno do ponto de melhor foco, i.e., z = 0 µm o padrão de degrau se comporta de maneira mais fiel ao objeto, ou seja, se aproxima de uma onda quadrada, enquanto para maiores deslocamentos a onda passa a ter cada vez mais o comportamento de uma senoide, resultando na perda de resolução e precisão em bordas e detalhes. A posição de melhor foco destas imagens está apresentada na **figura 24.B)**.

Ainda observando a **figura 25** e sua curvatura, com a ajuda das linhas tracejadas em vermelho, fica claro que o maior impacto da não uniformidade da iluminação é nas regiões escuras (ou nos vales). As linhas tracejadas são idênticas, porém enquanto a linha na região inferior se aproxima da curvatura dos vales, a da região superior se afasta dos picos das ondas.

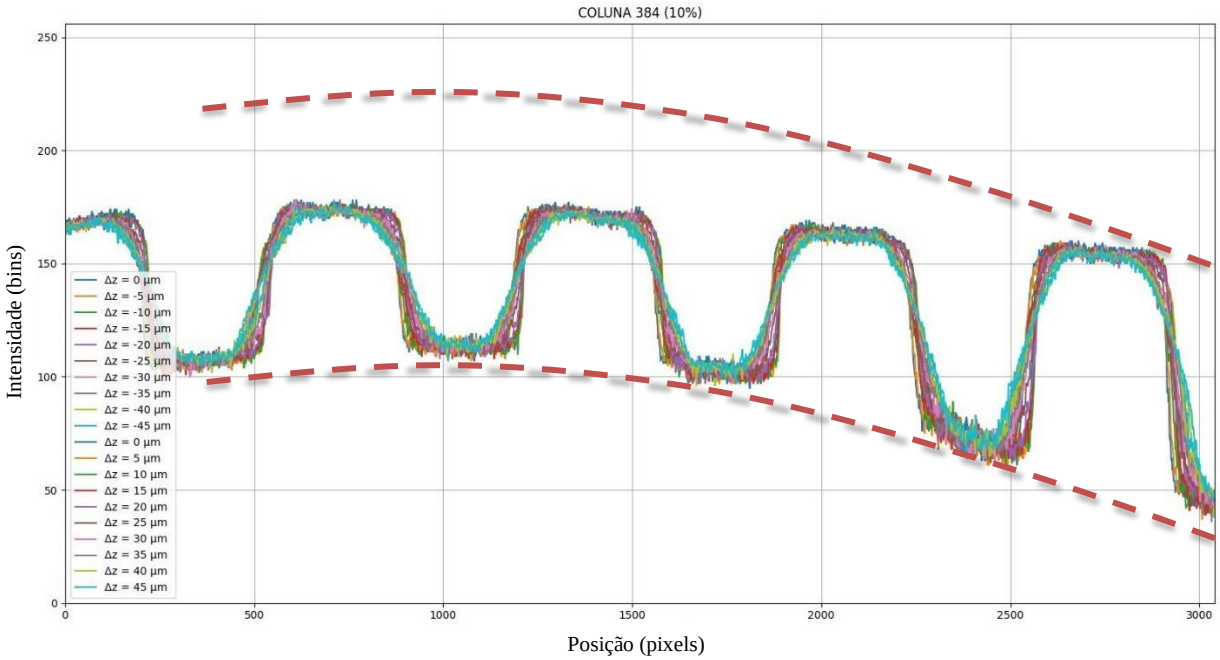



*Figura 25. Corte de perfil (ESF) na coluna 384 do sensor (Sony IMX577).*

Destaca-se na imagem a seguir, **figura 26**, regiões circuladas em vermelho, em que há uma discrepância entre as medidas feitas em Δz próximos a região central e Δz extremos, a

deformidade ultrapassa 90 pixels na posição, o equivalente a aproximadamente 14 µm de imprecisão nas posições destacadas.

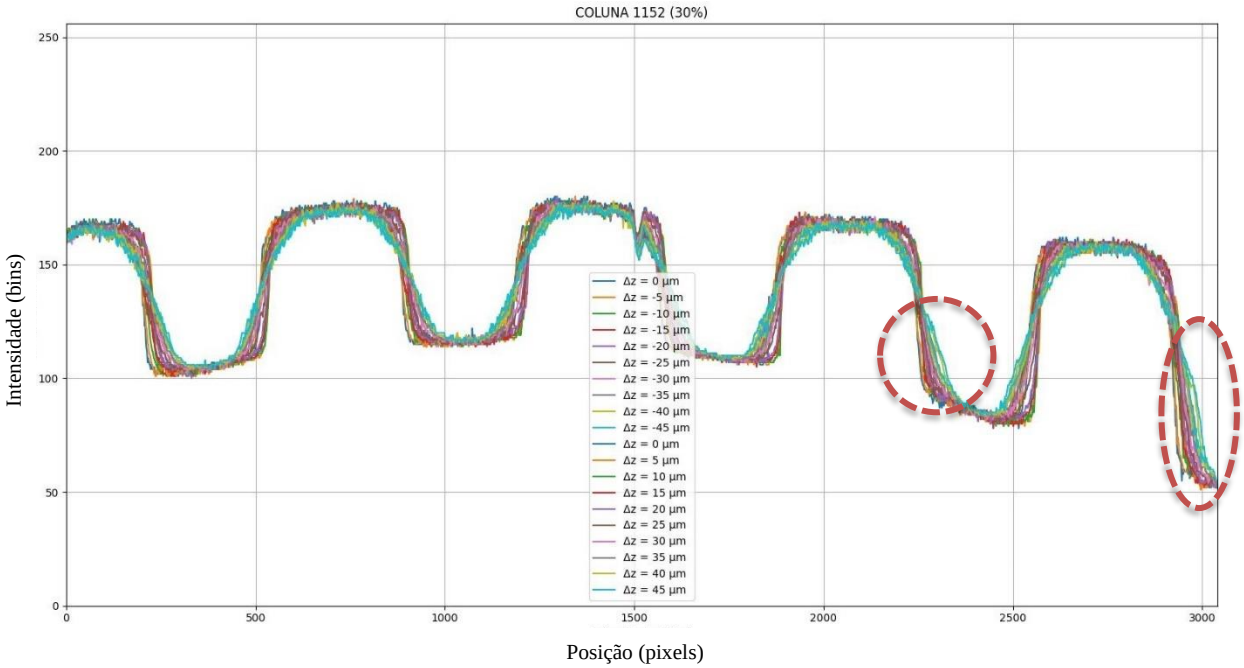



*Figura 26.* Corte de perfil (ESF) na coluna 1152 do sensor (Sony IMX577).

A próxima questão a ser discutida é a amplitude das ondas. Na **figura 27** há três setas duplas vermelhas idênticas, indicando transições de valores máximos e mínimos locais (ignorando a curvatura geral). É esperado que esta amplitude seja maior, se aproximando de 256 bins, no entanto, está próxima de apenas 65 bins. Há reflexões luminosas dentro do tubo (entre a lente objetiva e o sensor de imagem) e estes raios, apesar de não serem responsáveis pela formação de imagem, chegam ao sensor gerando interferência na leitura. A interferência de luz refletida internamente por si só não seria o suficiente para gerar tal variação na amplitude, porém os sensores modernos têm um autoajuste de detecção para evitar saturação e a soma destes dois fatores causam esta redução de amplitude observada.

Para evitar este tipo de luz espalhada, é utilizado um limitador, localizado próximo a lente objetiva, que permite a propagação de raios de luz apenas com o ângulo de entrada desejado. Porém, identificamos que ainda há raios de luz causando a interferência. Sendo assim, será

inserido um número maior de limitadores, distribuídos ao longo do tubo, a fim de bloquear estes raios.

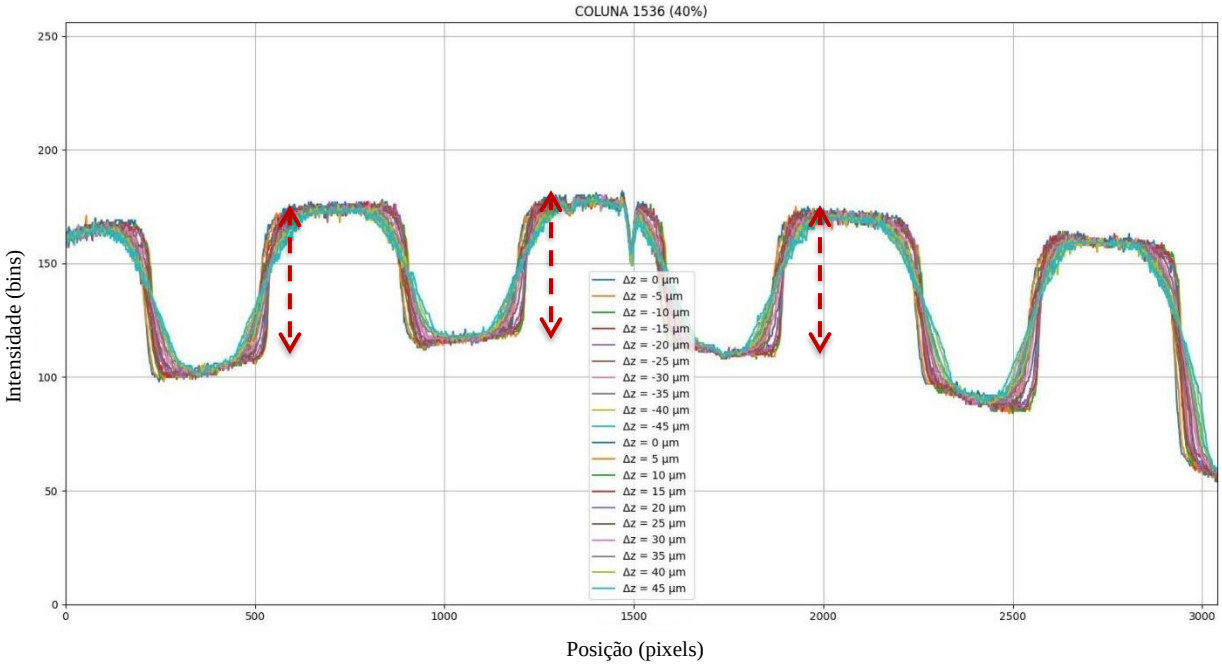



*Figura 27.* Corte de perfil (ESF) na coluna 1536 do sensor (Sony IMX577).

Por diversas vezes foi comentado sobre o impacto de posições **z** mais distantes do ponto de foco e seu efeito na qualidade de imagem, então se torna necessário o conhecimento da precisão mínima na posição. O passo (**Δz**) mínimo possível para nosso sistema é 2,5 µm, e ainda assim as medidas apresentadas foram deslocadas em duas vezes este valor, 5 µm, pois em primeiro momento foi notado que pequenos deslocamentos em torno do ponto central pouco afetam a qualidade da imagem. Na **figura 26** por exemplo, observa-se que medidas obtidas próximas ao ponto central, em especial as deslocadas em +5 +10 e +15 µm (representada em linhas laranja, verde e vermelho, respectivamente), possuem forma (quadrada) muito similar ao ponto inicial, inclusive em resolução de vales e pequenos detalhes contidos nas imagens.

A informação de que pequenas oscilações em torno do ponto de melhor foco ainda fornecem imagens com qualidade satisfatória é de grande valia para o quesito de planejamento de funcionamento. Pois podemos ajustar o deslocamento durante o processo de autofoco para 5 ou até 7,5 µm e varrer uma maior distância com menos imagens analisadas, otimizando a

quantidade de dados analisadas e, consequentemente, o tempo de processamento. Além de que, possíveis imprecisões no cálculo da função de mérito (i.e., definição do ponto de melhor foco) serão menos punitivas para a utilização da imagem no sistema de reconhecimento de padrões. Na **figura 27** está circulado com traços vermelhos regiões onde haviam pequenas manchas na imagem. Este tipo de imperfeição é interessante para observar a perca de qualidade em detalhes ocorrida quando a imagem não está na melhor posição de foco. O perfil das posições mais distantes da posição ideal não são capazes de detectar o vale (região escura) contido na imagem, reforçando a necessidade da posição adequada do microscópio para o imageamento.

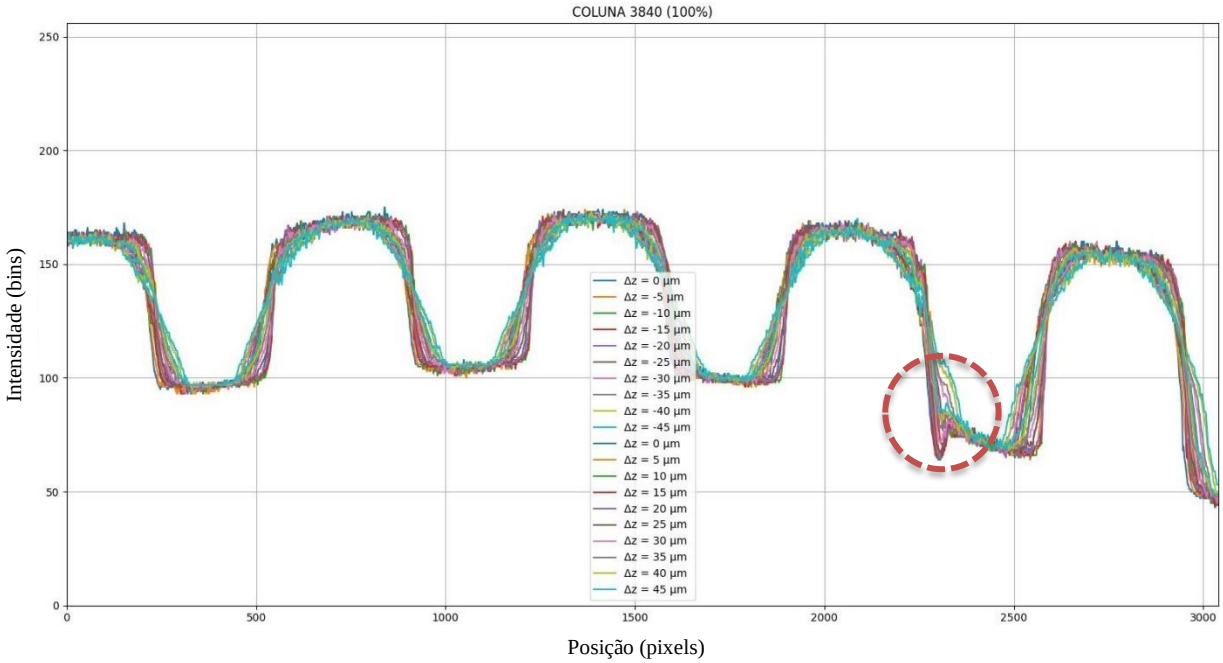



*Figura 28.* Corte de perfil (ESF) na coluna 3840 do sensor (Sony IMX577).O círculo pontilhado em vermelho é um dos exemplos da falta de precisão nos detalhes resolvidos em posições fora de foco.

O histograma de intensidade dos pixels da **figura 29** mostra a distribuição dos pixels de acordo com a sua intensidade. Assim como discutido anteriormente, pode ver claramente como essa distribuição é afetada pela posição **z** da câmera. Posições mais próximas de z = 0 tem uma concentração consideravelmente maior de pixel nas extremidades (claros e escuros) enquanto as posições mais afastadas têm uma distribuição mais uniforme ao longo do histograma, com um número muito maior de pixels na região cinza, corroborado pela Função Acumulativa de

Distribuição (CDF, *Cumulative Distribution Function)* normalizada, presente na **figura 30**. Como o nome sugere, esta função nos mostra como se dá a distribuição acumulada dos pixels ao longo de todas as intensidades. A região onde há o cruzamento das diversas curvas foi ampliada na **figura 30**, este ponto está sendo estudado para o estabelecimento de uma função de mérito e, consequentemente, definição **automatizada** do ponto de melhor foco para qualquer imagem.

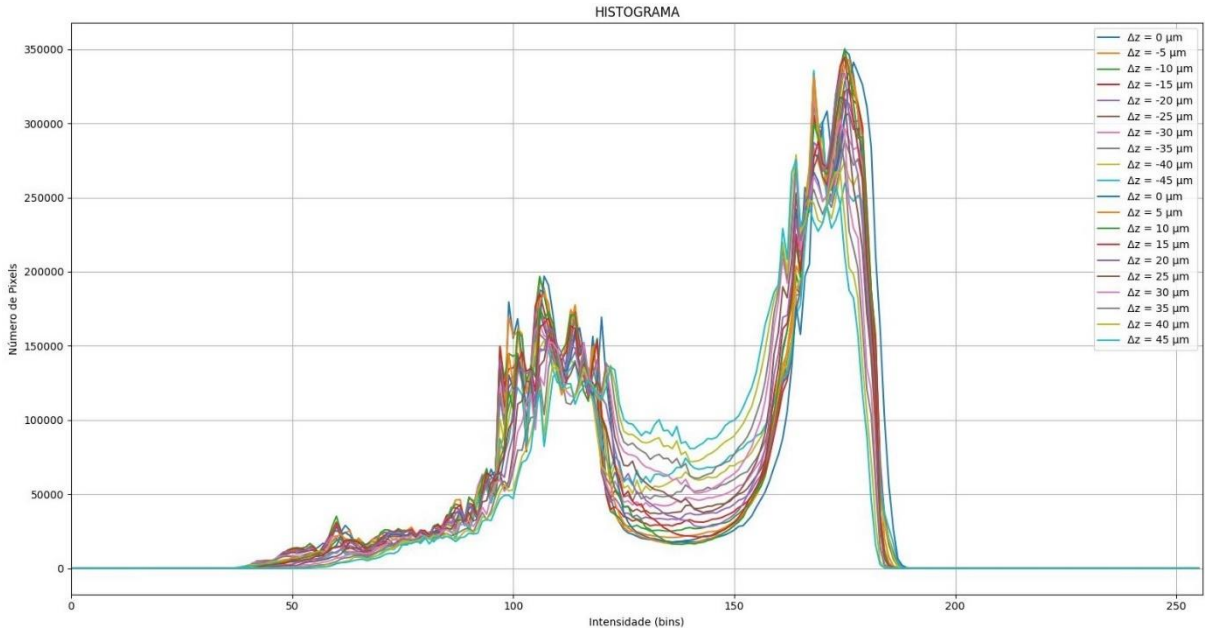



*Figura 29. Histograma de 20 diferentes imagens. Demonstrando que ao se deslocar da posição de foco o número de pixels claros e escuros diminui, enquanto há o aumento de pixels cinzas. A imagem da melhor posição de foco está apresentada na* ***figura 19.B).***

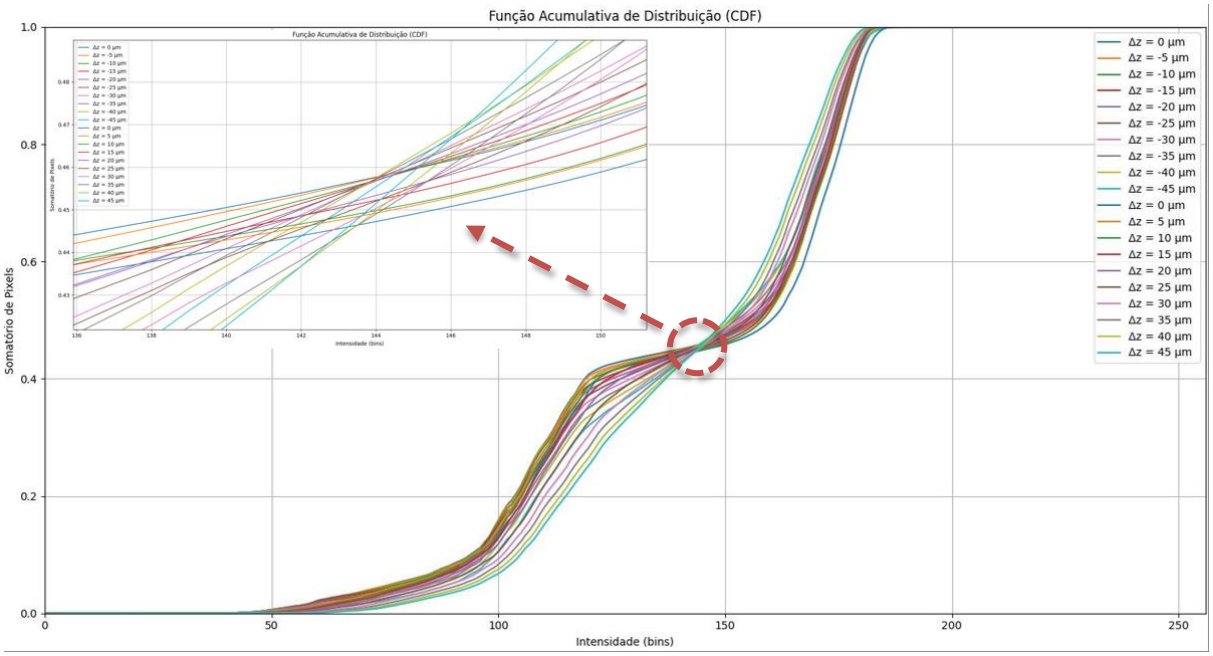



*Figura 30. Função Acumulativa de Distribuição de 20 diferentes imagens, com ampliação na região de cruzamento das linhas. A imagem da melhor posição de foco está apresentada na* ***figura 19.B).***

Até o momento a função de mérito não foi obtida de maneira generalizada, abordagens complementares estão sendo estudadas.

## 4.2. RECONHECIMENTO E CLASSIFICAÇÃO

Após as etapas de coleta de partículas em suspensão aérea e aquisição de imagem microscópicas destas partículas, vem os processos de reconhecimento e classificação das partículas presentes nas imagens obtidas. Para tal finalidade, foi desenvolvido (e está sendo aprimorado) um software que emprega de aprendizado de máquina.

O software está sendo treinado para reconhecer e classificar sete diferentes tipos de pólens (*birch*, cedro, *johnson grass*, *maple*, pinheiro, *ragweed* e *sagebrush*), resíduos dispersos no ar

(exemplo: minerais) e erros. Os erros se dão quando o corpo de dois ou mais pólens se sobrepõem, tornando impossível a classificação dos mesmos pelo método utilizado. Neste caso é necessário passar a imagem por um tratamento secundário que demanda muito tempo de processamento. Portanto fora decidido ignorar estas partículas em um primeiro instante. Situações em que uma partícula está semi-inteira no campo visual ou fora do foco do sistema óptico, o sistema a classifica como resíduo, pois desta maneira garantimos que a mesma partícula não será contada duas vezes em duas profundidades de foco ou dois campos visuais diferentes.

*Tabela 2. Precisão no reconhecimento avaliado pelo próprio software.*

| Espécie/ Tipo | Número de Pacotes Testados | Precisão |
|---|---|---|
| Birch | 7 | 78,50% |
| Cedro | 7 | 66,67% |
| Johnson grass | 6 | 54,69% |
| Maple | 3 | 54,84% |
| Pinheiro | 2 | 66,13% |
| Ragweed | 18 | 93,49% |
| Sagebrush | 8 | 34,36% |
| Resíduos | 35 | 93,49 |
| Erro | 12 | 62,85 |

No entanto, os dados da tabela 2 não são uma representação real da precisão do software. Em uma análise mais minuciosa, através da comparação das classificações feitas pelo software e manualmente, percebeu-se que o software muitas vezes reconhece erroneamente a espécie/tipo de partícula. Em especial, muitas partículas que seriam classificadas como resíduos ou pólens de menor tamanho, são classificadas como ragweed. Em uma análise mais atenta, procurando

exatamente esses tipos de “vício” do programa, percebeu-se que esse erro em questão é devido a grande quantidade de amostras de ragweed em comparação com os outros tipos de pólens, fazendo com que o software fique mais propenso a classificar algo como ragweed. Mas esta imprecisão não afeta unicamente a classificação como ragweed. As figuras a seguir contém as comparações. A **figura 31** contém apenas pólens de maple, pinheiro e birch, no entanto, o software reconhece espécies adicionais: *johnson grass*, *ragweed* e *sagebrush*. Erros semelhantes ocorrem também nas **figuras 32, 33 e 34**, valores obtidos pela contagem humana e pela contagem de máquina estão especificados nas respectivas legendas e na **tabela 3**, a qual faz a comparação de todas as medidas e aponta a precisão percentual para cada medida. A precisão média é igual a 22,82%. Claramente o fato de que o software reconheceu muitos resíduos como determinadas espécies afetou de maneira significativa sua precisão.

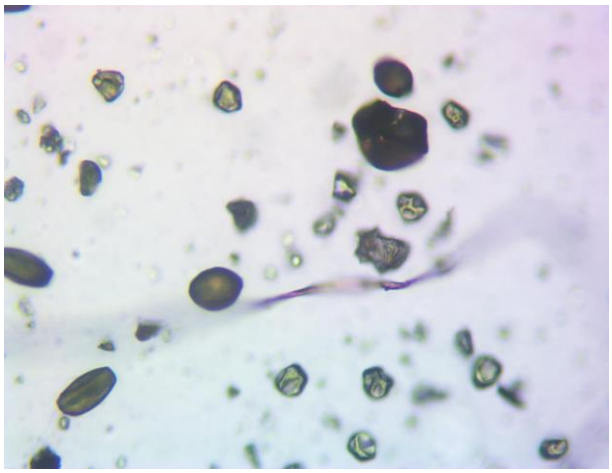


*Figura 31. Imagem cedida pela Oshtech Inc. para os testes do software. Utilizada para comparação da contagem humana x contagem da máquina. Contagem Humana: 2x maple, 2x pinheiro e 9x birch. Contagem de Máquina: 11x johnson grass, 4x maple, 1x ragweed, 5x sagebrush e 14 resíduos (não incluídos na contagem humana).*

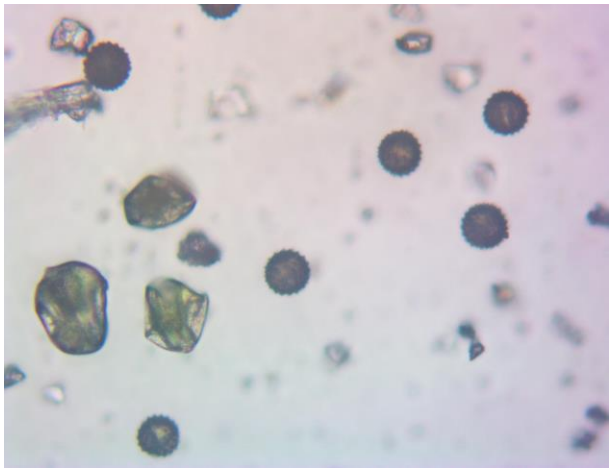


*Figura 32. Contagem Humana: 6x ragweed e 3x johnson grass. Contagem de Máquina: 1x cedro, 1x johnson grass, 3x ragweed, 3x sagebrush e 13x resíduos.*

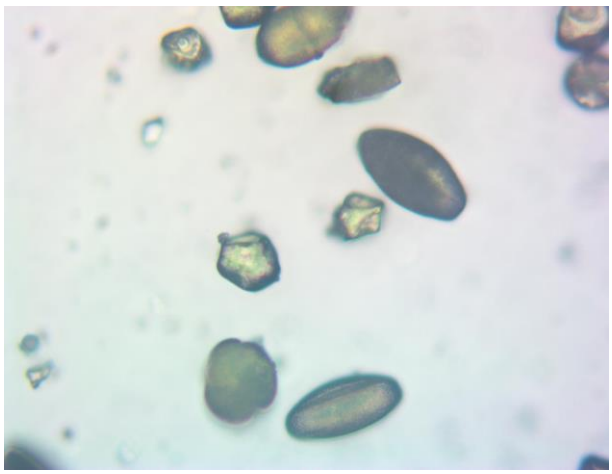


*Figura 33. Contagem Humana: 2x maple, 1x pinheiro e 3x birch. Contagem de Máquina: 2x cedro, 2x johnson grass, 2x maple, 1x pinheiro e 7x resíduos.*

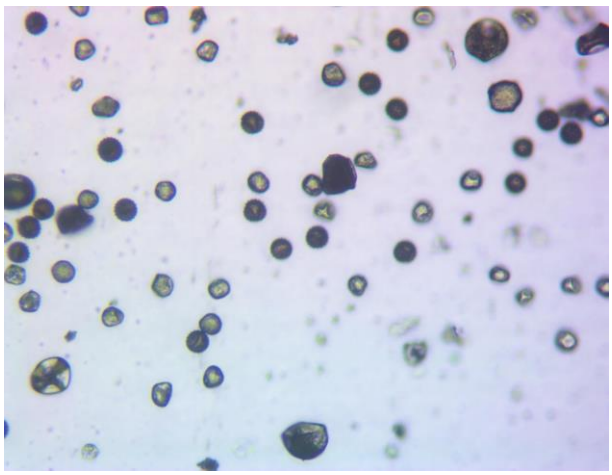


*Figura 34. Contagem Humana: 19x ragweed, 6x cedro e 24x johnson grass. Contagem de Máquina: 1x birch, 1x cedro, 7x johnson grass, 1x maple, 3x pinheiro, 16x ragweed, 16x sagebrush, 1x erro e 15x resíduos.*

*Tabela 3. Tabela de contagem humana e de máquina para as imagens das figuras 33 a 36*

| Figura | Espécie/Tipo | Contagem Humana | Contagem de Máquina | Erro Absoluto | Precisão |
|---|---|---|---|---|---|
| **31** | Maple | 2 | 4 | 2 | 50% |
| **31** | Pinheiro | 2 | 0 | 2 | 0% |
| **31** | Birch | 9 | 0 | 9 | 0% |
| **31** | Johnson Grass | 0 | 11 | 11 | 0% |
| **31** | Ragweed | 0 | 1 | 1 | 0% |
| **31** | Sagebrush | 0 | 5 | 5 | 0% |
| **32** | Ragweed | 6 | 3 | 3 | 50% |
| **32** | Johnson Grass | 3 | 1 | 2 | 33% |
| **32** | Cedro | 0 | 1 | 1 | 0% |
| **32** | Sagebrush | 0 | 3 | 3 | 0% |
| **33** | Maple | 2 | 2 | 0 | 100% |
| **33** | Pinheiro | 1 | 1 | 0 | 100% |
| **33** | Birch | 3 | 0 | 3 | 0% |
| **33** | Cedro | 0 | 2 | 2 | 0% |
| **33** | Johnson Grass | 0 | 2 | 2 | 0% |
| **34** | Ragweed | 19 | 16 | 3 | 82% |
| **34** | Cedro | 6 | 1 | 5 | 16% |
| **34** | Johnson Grass | 24 | 7 | 17 | 71% |
| **34** | Birch | 0 | 1 | 1 | 0% |
| **34** | Maple | 0 | 1 | 1 | 0% |
| **34** | Sagebrush | 0 | 16 | 16 | 0% |
| **34** | Pinheiro | 0 | 3 | 3 | 0% |

Ao identificar esses problemas, alternativas para solucionar tais situações estão sendo estudadas, como por exemplo, equilibrar o número de partículas utilizadas para o treino. No momento, por questões de disponibilidade, há mais amostras de alguns certos tipos de pólens. A primeira medida a ser tomada é balancear o número de partículas utilizadas pela espécie que possui menor número de exemplos, para corrigir o erro cometido por “vício” do software.

É necessária a aquisição de um grande número de imagens para que o software seja eficiente. Quanto maior o banco de dados utilizado, maior a precisão do software, já que o modelo empregado terá mais dados para o reconhecimento. Essa parte ainda precisa ser melhorada e prevemos continuar trabalhando nela. Na literatura, um trabalho já mencionado anteriormente, do autor Nam Cao[26] relata precisão de aproximadamente 90%, com 1077 amostras contendo o total de 9059 grãos de pólens, que foram distribuídos entre banco de dados de treino (50,4%), validação (15,2%) e análise (34,4%). O atual banco de dados deste trabalho contém cerca de 450 grãos de pólens, tornando justificável a baixa precisão.

De acordo com a literatura, no quesito visão computacional, a precisão mínima necessária para considerar o software funcional é de 50%[58]. Este valor foi superado segundo a autoavaliação do software, porém é um resultado conflitante com a análise manual (humana) de poucas amostras, o objetivo agora é procurar o aperfeiçoamento, correção de vícios e a validação manual em mais amostras.

Após aprofundamento dos estudos, uma alternativa para o aperfeiçoamento do software seria a aplicação do método de Redes Neurais Convulacionais (CNN, *Convulational Neural Network*) conhecido como VGG16, o qual se mostrou eficaz em estudos recentes (2021) para o reconhecimento e classificação de polens[55].

## 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURA

O sistema se mostra promissor, principalmente o subsistema óptico, o qual necessita ajustes, mas se mostra como uma opção viável e mais barata em relação a modelos de microscópios comerciais, como por exemplo o PollenSense, cujo custo do equipamento (sem software de reconhecimento) é de US$ 3500. O objetivo primário deste dispositivo é a captura e classificação de pólens, abundantes na primavera e no verão. Mas desde o início do projeto, havia também a intenção da utilização do dispositivo nas outras duas estações seguintes, para a captura e detecção de fungos, e este objetivo fará parte da etapa seguinte.

Maior estudo necessita ser realizado na parte computacional de inteligência artificial e aprendizado de máquina para a melhoria do software em questão de precisão e otimização do tempo de processamento.

A **tabela 4** contém o valor aproximado de fabricação do protótipo do sistema, o qual se aproxima de 900 dólares. A procura de novos fornecedores e prestadores de serviço se iniciou para que este custo seja reduzido, principalmente na estrutura de alumínio do sistema de imageamento.

*Tabela 4. Tabela de valores dos componentes utilizados na construção deste protótipo.*

| Item | Valor (US$) |
|---|---|
| Raspberry Pi 4B | 47,75 |
| Arduino Nano* | 16,35 |
| CMOS Sony IM577 | 196,00 |
| Lente Objetiva 10x | 40,48 |
| Fluxômetro Sensirion SFM3400-D | 45,00 |
| Catraca Contra-Recuo CSK20* | 45,50 |

| | |
|---|---|
| 2x Motor de Passo Nema17* | 26,45 |
| Caixa Acrílica* | 84,50 |
| Bomba Hidráulica 10 L/min* | 66,42 |
| Estrutura de Alumínio do IMS | 245,46 |
| Itens de Menor Valor(aproximado)** | 45,00 |
| **Total:** | **858,45** |

*valor de conversão US$1,00 = R$5,50. **Itens com valor unitário menor que US$10,00.

A otimização do software está sendo trabalhada de maneira intensiva e, para um futuro próximo está previsto, além de melhorias no sistema de iluminação, a fabricação com as correções e melhorias no design do sistema de coleção e testes em campo do sistema como um todo.

O sistema de transmissão por WiFi e possíveis integrações a bancos de dados internacionais[59] ainda não foi iniciada. Por questões práticas, estes recursos foram decididos ser analisados posteriormente, já que primeiramente é necessário estabelecer a capacidade computacional da Raspberry Pi antes de definir quais processos serão feitos nela e quais serão feitos em nuvem.

Propostas de negócios com a parceira Oshtech Inc. ainda estão sendo estudadas. Para a continuidade do trabalho, será necessário financiamento de órgãos governamentais, tais como a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), ou investidores anjos. Estas possibilidades estão sendo avaliadas, assim como a criação de uma Startup, tendo como primeiro produto o sistema que está em desenvolvimento neste trabalho.

## 6. REFERÊNCIAS


[1] C. Sierra-Heredia *et al.*, 'Aeroallergens in Canada: Distribution, public health impacts, and opportunities for prevention', *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, vol. 15, no. 8, 2018, doi: 10.3390/ijerph15081577.

[2] R. N. McInnes *et al.*, 'Mapping allergenic pollen vegetation in UK to study environmental exposure and human health', *Sci. Total Environ.*, vol. 599–600, no. May, pp. 483–499, 2017, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.04.136.

[3] K. Bastl, U. Berger, and M. Kmenta, 'Evaluation of Pollen Apps Forecasts:The Need for Quality Control in an eHealth Service', *J. Med. Internet Res.*, vol. 19, no. 5, pp. 1–8, 2017, doi: 10.2196/jmir.7426.

[4] V. Razmovski, T. J. O'Meara, D. J. M. Taylor, and E. R. Tovey, 'A new method for simultaneous immunodetection and morphologic identification of individual sources of pollen allergens', *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 105, no. 4, pp. 725–731, 2000, doi: 10.1067/mai.2000.105222.

[5] C. Geller-Bernstein and J. M. Portnoy, 'The Clinical Utility of Pollen Counts', *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, vol. 57, no. 3, pp. 340–349, 2019, doi: 10.1007/s12016-018-8698-8.

[6] H. Garcia-Mozo, 'The use of aerobiological data on agronomical studies', *Ann. Agric. Environ. Med. AAEM*, vol. 18, pp. 1–6, Jun. 2011.

[7] J. Oteros *et al.*, 'Better prediction of Mediterranean olive production using pollen-based models', *Agron. Sustain. Dev.*, vol. 34, pp. 685–694, Jul. 2014, doi: 10.1007/s13593-013-0198-x.

[8] M. Smith *et al.*, 'Geographic and temporal variations in pollen exposure across Europe', *Allergy*, vol. 69, May 2014, doi: 10.1111/all.12419.

[9] B. Tommaso, F. Orlandi, C. Sgromo, B. Romano, and M. Fornaciari, 'Evidences of olive pollination date variations in relation to spring temperature trends', *Aerobiologia*, vol. 25, pp. 227–237, Dec. 2009, doi: 10.1007/s10453-009-9128-4.

[10] N. Aboulaich *et al.*, 'Effect of meteorological parameters on Poaceae pollen in the atmosphere of Tetouan (NW Morocco)', *Int. J. Biometeorol.*, vol. 57, no. 2, pp. 197–205, 2013, doi: 10.1007/s00484-012-0566-2.

[11] G. D'Amato *et al.*, 'Meteorological conditions, climate change, new emerging factors, and asthma and related allergic disorders. A statement of the World Allergy Organization', *World Allergy Organ. J.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–2, 2015, doi: 10.1186/s40413-015-0073-0.

[12] Y. Kwon, D.-S. Kim, and K.-O. Yim, 'Herbicide-resistant genetically modified crop: Assessment and management of gene flow', *Weed Biol. Manag. - WEED BIOL MANAG*, vol. 1, pp. 96–107, Jun. 2001, doi: 10.1046/j.1445-6664.2001.00022.x.

[13] L. Ruga, B. Tommaso, F. Orlandi, B. Romano, and M. Fornaciari, 'Analysis of the potential fungal biodeteriogen effects in the "Doctorate Library" of the University of Perugia, Italy', *Grana*, vol. 47, pp. 60–69, May 2008, doi: 10.1080/00173130801916624.

[14] G. M. Volk, 'Chapter 25 : Collecting pollen for genetic resources conservation', *Natl. Cent. Genet. Resour. Preserv.*, pp. 1–10, 2011.

[15] D. Barber *et al.*, 'Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: A molecular epidemiological study', *Allergy*, vol. 63, pp. 1550–8, Dec. 2008, doi: 10.1111/j.1398-9995.2008.01807.x.

[16] A. Pauling, R. Gehrig, and B. Clot, 'Toward optimized temperature sum parameterizations for forecasting the start of the pollen season', *Aerobiologia*, vol. 30, Mar. 2014, doi: 10.1007/s10453-013-9308-0.

[17] J. Oteros *et al.*, 'Automatic and online pollen monitoring', *Int. Arch. Allergy Immunol.*, vol. 167, no. 3, pp. 158–166, 2015, doi: 10.1159/000436968.

[18] R. García-Almaraz *et al.*, 'Prevalence and risk factors associated with allergic rhinitis in Mexican school children: Global Asthma Network Phase I', *World Allergy Organ. J.*, vol. 14, no. 1, 2021, doi: 10.1016/j.waojou.2020.100492.

[19] T. P. Miller and C. R. Zeiss, ‘Allergic rhinitis’, *Allergy Proc.*, vol. 14, no. 2, p. 116, 1993, doi: 10.2500/108854193778812198.
[20] D. Voukantsis, U. Berger, F. Tzima, K. Karatzas, S. Jaeger, and K. C. Bergmann, ‘Personalized symptoms forecasting for pollen-induced allergic rhinitis sufferers’, *Int. J. Biometeorol.*, vol. 59, no. 7, pp. 889–897, Jul. 2015, doi: 10.1007/s00484-014-0905-6.
[21] J. T. M. Buters *et al.*, ‘Pollen and spore monitoring in the world’, *Clin. Transl. Allergy*, vol. 8, no. 1, pp. 1–5, 2018, doi: 10.1186/s13601-018-0197-8.
[22] J. M. Maya-Manzano, M. Smith, E. Markey, J. H. Clancy, J. Sodeau, and D. J. O´Connor, ‘Recent developments in monitoring and modelling airborne pollen, a review’, *Grana*, pp. 1–19, 2020, doi: 10.1080/00173134.2020.1769176.
[23] EAS QC Working Group *et al.*, ‘Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis’, *Aerobiologia*, vol. 30, no. 4, pp. 385–395, Dec. 2014, doi: 10.1007/s10453-014-9335-5.
[24] V. Agranovski, Z. Ristovski, M. Hargreaves, P. J. Blackall, and L. Morawska, ‘Performance evaluation of the UVAPS: influence of physiological age of airborne bacteria and bacterial stress’, *J. Aerosol Sci.*, vol. 34, no. 12, pp. 1711–1727, Dec. 2003, doi: 10.1016/S0021-8502(03)00191-5.
[25] B. Crouzy, M. Stella, T. Konzelmann, B. Calpini, and B. Clot, ‘All-optical automatic pollen identification: Towards an operational system’, *Atmos. Environ.*, vol. 140, pp. 202–212, 2016, doi: 10.1016/j.atmosenv.2016.05.062.
[26] N. Cao, M. Meyer, L. Thiele, and O. Saukh, ‘Automated Pollen Detection with an Affordable Technology’, *EWSN 20 Proc. 2020 Int. Conf. Embed. Wirel. Syst. Netw. Proc. 2020 Int. Conf. Embed. Wirel. Syst. Netw.*, pp. 108–119, 2020.
[27] E. Sauvageat *et al.*, ‘Real-time pollen monitoring using digital holography’, *Atmospheric Meas. Tech.*, vol. 13, no. 3, pp. 1539–1550, 2020, doi: 10.5194/amt-13-1539-2020.
[28] J. De Gelder, K. De Gussem, P. Vandenabeele, and L. Moens, ‘Reference database of Raman spectra of biological molecules’, *J. Raman Spectrosc.*, vol. 38, no. 9, pp. 1133–1147, Sep. 2007, doi: 10.1002/jrs.1734.
[29] M. Brands *et al.*, ‘Characterization of a Newly Developed Aircraft-Based Laser Ablation Aerosol Mass Spectrometer (ALABAMA) and First Field Deployment in Urban Pollution Plumes over Paris During MEGAPOLI 2009’, *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 45, no. 1, pp. 46–64, Jan. 2011, doi: 10.1080/02786826.2010.517813.
[30] M. Z. Martin, M.-D. Cheng, and R. C. Martin, ‘Aerosol Measurement by Laser-Induced Plasma Technique: A Review’, *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 31, no. 6, pp. 409–421, Dec. 1999, doi: 10.1080/027868299303968.
[31] J. A. Huffman *et al.*, ‘Real-time sensing of bioaerosols: Review and current perspectives’, *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 54, no. 5, pp. 465–495, 2020, doi: 10.1080/02786826.2019.1664724.
[32] J. Buters, C. Schmidt-Weber, and J. Oteros, ‘Next-generation pollen monitoring and dissemination’, *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 73, no. 10, pp. 1944–1945, 2018, doi: 10.1111/all.13585.
[33] S. Ruske *et al.*, ‘Evaluation of machine learning algorithms for classification of primary biological aerosol using a new UV-LIF spectrometer’, *Atmospheric Meas. Tech.*, vol. 10, no. 2, pp. 695–708, 2017, doi: 10.5194/amt-10-695-2017.
[34] S. Ruske, D. O. Topping, V. E. Foot, A. P. Morse, and M. W. Gallagher, ‘Machine learning for improved data analysis of biological\hack\break aerosol using the WIBS’, *Atmospheric Meas. Tech.*, vol. 11, no. 11, pp. 6203–6230, 2018, doi: 10.5194/amt-11-6203-2018.
[35] ‘Lucas, R., L. Bunderson, N. Allan, and K. Lambson. 2018. Automated airborne particulate matter collection, imaging, identification, and analysis. US Patent WO2016073745A3, filed November 5, 2015, and issued September 29, 2016’.
[36] J. Oteros *et al.*, ‘Building an automatic pollen monitoring network (ePIN): Selection of optimal sites by clustering pollen stations’, *Sci. Total Environ.*, vol. 688, pp. 1263–1274, 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.06.131.

[37] B. E. Swanson and J. A. Huffman, ‘Pollen clustering strategies using a newly developed single-particle fluorescence spectrometer’, *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 54, no. 4, pp. 426–445, 2020, doi: 10.1080/02786826.2019.1711357.
[38] E. Hecht, *Optics*. 2016.
[39] J. A. Als-Nielsen and D. F. McMorrow, *Elements of Modern X-ray Physics*, 2nd ed. Wiley, 2001.
[40] J. M. Geary, *Introduction to lens design : with practical ZEMAX examples*. Willmann-Bell, 2002. [Online]. Available: http://gen.lib.rus.ec/book/index.php?md5=d3b2f47d75e74ca9f8b42bdbee809e55
[41] K. Harding, *Handbook of optical dimensional metrology*. 2016, p. 506.
[42] T. L. Williams, *Optical transfer function of imaging systems*. in Optics and optoelectronics series. Bristol: Institute of Physics Publ, 1999.
[43] Optikos Corporation, ‘How to Measure MTF and other Properties of Lenses’, *Audubon*, pp. 1–64, 1999.
[44] W. J. Smith, *Modern optical engineering: the design of optical systems*, 3rd ed. New York: McGraw Hill, 2000.
[45] S. N. Ahmed, ‘7 - Position-sensitive detection and imaging’, in *Physics and Engineering of Radiation Detection (Second Edition)*, S. N. Ahmed, Ed., Elsevier, 2015, pp. 435–475. doi: 10.1016/B978-0-12-801363-2.00007-3.
[46] 3M Industrial Adhesives and T. Division, ‘3M Industrial Adhesives and Tapes - Design and Production Guide’, no. October, 2019, [Online]. Available: www.3M.com/assemblysolutions
[47] J. Oteros *et al.*, ‘An operational robotic pollen monitoring network based on automatic image recognition’, *Environ. Res.*, vol. 191, no. March, 2020, doi: 10.1016/j.envres.2020.110031.
[48] G. K. Zewdie, D. J. Lary, X. Liu, D. Wu, and E. Levetin, ‘Estimating the daily pollen concentration in the atmosphere using machine learning and NEXRAD weather radar data’, *Environ. Monit. Assess.*, vol. 191, no. 7, 2019, doi: 10.1007/s10661-019-7542-9.
[49] J. Boulter, D. Cziczo, A. Middlebrook, D. Thomson, and D. Murphy, ‘Design and performance of a pumped counterflow virtual impactor’, *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 40, no. 11, pp. 969–976, Nov. 2006, doi: 10.1080/02786820600840984.
[50] B. T. Chen and H. C. Yeh, ‘An improved virtual impactor: Design and performance’, *J. Aerosol Sci.*, vol. 18, no. 2, pp. 203–214, 1987, doi: 10.1016/0021-8502(87)90056-5.
[51] V. Razmovski, T. O’meara, M. Hjelmroos, G. Marks, and E. Tovey, ‘Adhesive tapes as capturing surfaces in Burkard sampling’, *Grana*, vol. 37, no. 5, pp. 305–310, 1998, doi: 10.1080/00173139809362683.
[52] A. M. Turing, ‘COMPUTING MACHINERY AND INTELLIGENCE’, 1950.
[53] A. Géron, *Hands-on machine learning with Scikit-Learn and TensorFlow : concepts, tools, and techniques to build intelligent systems*. p. 551.
[54] S. V. Mahadevkar *et al.*, ‘A Review on Machine Learning Styles in Computer Vision—Techniques and Future Directions’, *IEEE Access*, vol. 10, pp. 107293–107329, 2022, doi: 10.1109/ACCESS.2022.3209825.
[55] M. Polling *et al.*, ‘Neural networks for increased accuracy of allergenic pollen monitoring’, *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 11357, May 2021, doi: 10.1038/s41598-021-90433-x.
[56] J. Friedman, T. Hastie, and R. Tibshirani, ‘The Elements of Statistical Learning Preface to the Second Edition’, 2008.
[57] H. Kaur, H. S. Pannu, and A. K. Malhi, ‘A Systematic Review on Imbalanced Data Challenges in Machine Learning: Applications and Solutions’, *ACM Comput. Surv.*, vol. 52, no. 4, pp. 1–36, Jul. 2020, doi: 10.1145/3343440.
[58] M. Everingham, L. Van Gool, C. K. I. Williams, J. Winn, and A. Zisserman, ‘The Pascal Visual Object Classes (VOC) Challenge’, *Int. J. Comput. Vis.*, vol. 88, no. 2, pp. 303–338, Jun. 2010, doi: 10.1007/s11263-009-0275-4.
[59] A. Kurganskiy *et al.*, ‘Incorporation of pollen data in source maps is vital for pollen dispersion models’, *Atmospheric Chem. Phys.*, vol. 20, no. 4, pp. 2099–2121, 2020, doi: 10.5194/acp-20-2099-2020.