



Universidade Católica Dom Bosco
Curso de Bacharelado em Engenharia de Computação

**Desenvolvimento de um Sistema de Visão Computacional para o
Controle Microbiano em Processos de Produção de Etanol**

Lia Nara Balta Quinta

Prof. Orientador: Dr. Hemerson Pistori
Prof. Coorientador: Eng. Kleber Padovani de Souza

*Relatório Final submetido como um dos requisitos para a
obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Com-
putação.*

UCDB - Campo Grande - MS - Novembro/2009

à minha família e amigos.

Agradecimentos

Antes de tudo gostaria de agradecer a Deus e a todo o pessoal “aí de cima” por terem me protegido e me ajudado a alcançar meus objetivos.

A minha mãe, Maria Fátima Balta Quinta, pelo mega apoio que me deu durante minha graduação. Por longas ligações nos momentos de crise, pela paciência, confiança e amor que sempre me transmitiu. A minha irmã, Luiza Mara Balta Quinta, que me ajudou a seguir em frente durante essa maratona que foi o período da graduação. Ao meu querido pai, Wolmar Roberto Quinta, que pelo pouco tempo que viveu comigo me ensinou valiosos valores que me ajudaram a me tornar a pessoa que sou hoje.

Ao meu orientador, professor Hemerson Pistori devido a enorme paciência e dedicação que teve comigo principalmente durante a iniciação científica. Pela calma ao ler os e-mails gigaaantes que eu mandava nos momentos de tensão. Por várias vezes eu cometer o mesmo erro e pelos meus momentos de certa teimosia. Por todos os ensinamentos e conhecimento a mim dedicados durante todo o período que me orientou.

A professora Marney Pascoli Cereda por toda sua dedicação para me transmitir todos os seus conhecimentos sobre fermentação. Pela paciência devido às minhas constantes falta de comunicação. Para a empresa BELT BR por ter patrocinado minha pesquisa, por valorizar a pesquisa científica e pelos equipamentos por eles fornecidos.

A professora Priscila Martins por ter me convidado para fazer iniciação científica. Por me ajudar na fase inicial do projeto. Pelas correções dos meus textos “maravilhosos” e muito bem referenciados rrsrs. Por sua amizade e pelo companheirismo que dedicou a mim. Por ter sido minha professora e minha amiga. Pelas risadas e momentos de descontração. Em suma, meu “muito obrigada”.

Ao Kleber Padovani de Souza, meu professor, coorientador, colega de pesquisa e principalmente meu amigo. Obrigada pelas longas conversas, por irritantes discussões, pelos puxões de orelha, por todos os ensinamentos que me forneceu, pela paciência, confiança e amizade. O que eu aprendi com ele creio que precisaria de muuuuuuito tempo sem essa peça rara para aprender. Não sei nem como agradecer tudo o que você fez por mim. Só posso dizer “Muito, mas muuuuuuuuito obrigada!!!”. Meu inesquecível *brother!!!*

A todo o pessoal que eu conheci no laboratório do GPEC. Especialmente aos meninos do TOPOLINO (Jonathan, Wesley e Bruno), aos meninos do DTCOURO (Willian, Ricardo, Roberto, André), ao Jaime do LARVIC e ao pessoal do SIGUS (Jéssica e Kleber). Valeu pelas conversas, pela ajuda, pelos “códigos”. Enfim, Valeu mesmo!! Obrigada a cada um de vocês.

A minha companheira de jornada Juciara Nepomuceno de Souza pelas presepadas diárias, conversas perdidas e sem finalidade, isso quando elas tinham um final (o que era muito raro rrsrsrs). As noites maldormidas, aos loongos e amargos tererés da madrugada. Aos momentos “incorpora e vai! rrsrsrs”. Ao apoio nos momentos de fraqueza, às risadas nos momentos alegres. Valeu aí, hein together!!! Valeu mesmo!!! Você ficou para sempre na minha história!!

As outras duas peças raras da minha turma, Gabriel Martins Buim (Gê) e Thaiane Lima Lopes, que me proporcionaram momentos divertidíssimos. O Gê por suas gírias “do momento”,

pelas novidades das novelas, por todas as suas “informações”, piadinhas sem graça e o seu característico shortinho curto!! rrsrs. E a Thaiane, engenheira mais patricinha que eu conheço. Essa é uma mega peça rara, nunca vi igual rrsr. Obrigada por ter me enganado várias vezes rrsr isso me tornou mais esperta! Pelas longas e divertidas histórias, pelas últimas novidades do momento, pelas risadas e pelos momentos de diversão. E não esquecendo as atualizações dos campeonatos de futebol (eu ficava até entendida do assunto!! uuaau!).

A todos os meus amigos que torceram por mim e a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação.

A todos os professores, obrigada pelos ensinamentos e pelas experiências que me trouxeram. Obrigada aos bons professores por exemplos de competência. Aos não tão bons, obrigada! pois aprendi com seus erros.

Há! Vou ser engenheira de computação!!!

Resumo

O Estado do Mato Grosso do Sul apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento da cana-de-açúcar. Essa cultura está ligada ao desenvolvimento do setor alcooleiro. Para a produção do etanol, é necessário ocorrer a fermentação do caldo da cana. Essa fermentação acontece por ação de leveduras (fermento) sobre o caldo da cana diluído com água, que é denominado mosto. Desde o processo de extração do caldo, a cana-de-açúcar é exposta à contaminações microbianas. Sobretudo bactérias atrapalham o rendimento do processo de fermentação por consumirem o açúcar sem produzirem etanol. Ao contrário das leveduras que consomem o açúcar e produzem etanol e gás carbônico. Para realizar o controle das leveduras e bactérias presentes no mosto, uma amostra, submetida a corante vital, é analisada manualmente por um especialista, que registra as quantidades existentes de cada tipo de microorganismo por contagem simples de leveduras inviáveis e viáveis. Como é uma tarefa árdua, pode levar o especialista a exaustão. Essa exaustão pode ocasionar o comprometimento dos dados coletados. Visando auxiliar o especialista surgiu o projeto BioViC, que tem o objetivo de desenvolver um produto comercial que engloba um módulo de visão computacional com um guia de instruções de utilização, um microscópio e o treinamento da equipe das usinas. Esse trabalho tem o objetivo de desenvolver o módulo de visão computacional do BioViC. Esse módulo tem o objetivo automatizar a contagem de leveduras viáveis e inviáveis em imagens microscópicas utilizando técnicas de visão computacional. Os resultados alcançados por esse módulo foram confrontados com os obtidos através da contagem humana com o intuito de avaliar o desempenho de classificação do sistema. Para os experimentos foram aplicadas técnicas de pré-processamento, segmentação de imagens, extração de atributos e reconhecimento de padrões. Nos experimentos com técnicas de reconhecimento de padrões, foram capturadas amostras de leveduras viáveis e inviáveis de uma imagem. Essas amostras foram comparadas com outras imagens a fim de verificar se estas estavam presentes nas mesmas. Nesses experimentos foi utilizado o algoritmo *template matching*. Nos experimentos com o *template matching*, a implementação da técnica ocorreu de maneira simples, ou seja, sem a utilização de métodos mais robustos. Mesmo com técnicas simples do *template matching* houve o reconhecimento de algumas leveduras. Já os experimentos com pré-processamento ocorreu a análise da imagem como um todo, não havendo a inserção de informações prévias do problema, como o conjunto de amostras existente nos experimentos com o reconhecimento de padrões. Os testes com técnicas de extração de atributos simples apresentaram bons resultados na identificação de leveduras inviáveis com o modelo de cor HSB e com o método de aprendizagem C4.5. Este projeto possui a colaboração do Sindicato da Indústria de Fabricação de Açúcar e Alcool do Mato Grosso do Sul e com a empresa Belt BR – Assessoria Empresarial Ltda, que comercializa equipamentos de captura de imagens microscópicas. Além de aperfeiçoar a metodologia clássica, visa-se também permitir a introdução das contribuições obtidas com a realização deste projeto no mercado.

Palavras-chave: fermentação, etanol, controle microbiano e visão computacional.

Conteúdo

1	Introdução	11
2	Trabalhos Correlatos	14
3	Fundamentação Teórica	16
3.1	Fermentação do etanol	16
3.1.1	Leveduras	16
3.1.2	Câmara de Neubauer	16
3.2	Visão Computacional	17
3.2.1	Imagens digitais	17
3.2.2	Pré-processamento	18
3.2.3	Segmentação de imagens	21
3.2.4	Extração de atributos	22
3.2.5	Reconhecimento de padrões	23
4	Desenvolvimento	26
4.1	Gerência de projeto	26
4.2	Projeto de sistema	26
4.2.1	Modelagem	27
4.2.2	Validação do módulo de visão computacional	28
4.3	Implementação	29
5	Experimentos, resultados e análise	31
5.1	Filtros de suavização	31
5.2	<i>Watershed</i>	32
5.3	Modelos de cor	33
5.4	<i>Template matching</i>	37
6	Considerações Finais	41
A	Diagramas de atividade do BioViC	44

Lista de Figuras

1.1	Etapas para a contagem de microorganismos.	12
1.2	Vasilhame em vidro usado em análise microbiana, denominado placas de Petri.	12
3.1	Exemplo de leveduras	17
3.2	Imagem que sofreu interferência externa	18
3.3	(a) Imagem original, (b) Imagem com aplicação de erosão e (c) Imagem com aplicação de dilatação.	19
3.4	(a) Imagem original e (b) Imagem após a aplicação do filtro de média	20
3.5	(a) Imagem original e (b) Imagem após a aplicação do filtro de mediana	21
3.6	(a) Imagem após a aplicação da técnica <i>watershed</i> e (b) Imagem com <i>oversegmentation</i>	22
3.7	(a) <i>pixel</i> na cor preta, (b) <i>pixel</i> na cor cinza e (c) <i>pixel</i> na cor branca	23
3.8	Modelo RGB com exemplo de combinações de cores.	23
3.9	Exemplo de imagem evidenciando um padrão	24
4.1	Interface inicial do sistema	27
4.2	Diagrama de caso de uso	28
4.3	Imagem com marcações realizadas através das informações obtidas com o especialista no momento da contagem visual	29
4.4	Interface gráfica para a realização do cadastro de usuário	30
4.5	Interface gráfica para a realização do cadastro de uma usina	30
4.6	Interface gráfica para a realização do cadastro de um experimento	30
4.7	Diagrama entidade relacionamento do BioViC	30
5.1	Imagens com destaque das impurezas.	31
5.2	(a) Imagem original (b) Imagem com as leveduras inviáveis(1) e viáveis (2). (c) Imagem após filtro de média	32
5.3	(a) Imagem original convertida para escala de cinza (b) Imagem após filtro de mediana	33
5.4	(a) Imagem original, (b) Imagem original em tons de cinza, (c) Imagem com <i>oversegmentation</i> , (d) Imagem segmentada por <i>watershed</i>	33
5.5	(a) Imagem original, (b) Imagem original em tons de cinza, (c) Imagem com <i>oversegmentation</i> , (d) Imagem segmentada por <i>watershed</i>	34
5.6	(a) Imagem original e (b) imagem segmentada com componente RGB.	36
5.7	(a) Imagem original e (b) imagem segmentada com o componente HSB.	36
5.8	(a) Imagem original e (b) imagem segmentada com informações sobre tons de cinza.	37
5.9	Gráfico com as informações dos componentes B e G	37
5.10	Gráfico com as informações dos componentes R e B	38
5.11	Gráfico com as informações dos componentes H e B	38
5.12	Gráfico com as informações dos componentes H e S	38

5.13	(a) Imagem original, (b) <i>Template</i> , (c) Resultado da correlação e (d) Resultado final.	39
5.14	(a) Classificação de leveduras inviáveis, (b) Classificação de leveduras viáveis.	40
6.1	(a) Imagem do microscópio analógico e (b) Imagem do microscópio digital.	42
A.1	Diagrama de atividade do caso de uso Autenticar usuário	44
A.2	Diagrama de atividade do caso de uso Cadastrar usuário	45
A.3	Diagrama de atividade do caso de uso Selecionar usina	45
A.4	Diagrama de atividade do caso de uso Cadastrar usina	46
A.5	Diagrama de atividade do caso de uso Capturar imagem	46
A.6	Diagrama de atividade do caso de uso Realizar experimento	46
A.7	Diagrama de atividade do caso de uso Gravar experimento	47
A.8	Diagrama de atividade do caso de uso Gerar relatório	47
A.9	Diagrama de atividade do caso de uso Imprimir relatório	48
A.10	Diagrama de atividade do caso de uso Alterar dados	48

Lista de Tabelas

3.1	Imagem na forma de matriz	18
3.2	Matriz original	20
3.3	Matriz após a aplicação do filtro de média	20
3.4	Matriz de exemplo	21
5.1	Matriz de confusão da segmentação por componente RGB com o algoritmo C4.5 .	35
5.2	Matriz de confusão da segmentação por componente RGB com o algoritmo K2 .	35
5.3	Matriz de confusão da segmentação por componente HSB com o algoritmo C4.5 .	35
5.4	Matriz de confusão da segmentação por componente HSB com o algoritmo K2 . .	36
5.5	Matriz de confusão da segmentação por tons de cinza com o algoritmo C4.5 . . .	36
5.6	Matriz de confusão da segmentação por tons de cinza com o algoritmo K2	36
5.7	Porcentagem de acerto dos métodos utilizados.	37

Lista de Abreviaturas

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BioViC: Visão Computacional Aplicada no Controle Microbiológico em Usinas de Álcool e Açúcar

CeTeAgro: Centro de Tecnologias para o Agronegócio

GPEC: Grupo de Pesquisa em Engenharia e Computação

ROI: *Region of Interest*

TDC: Tons de cinza

UML: *Unified Modeling Language*

USB: *Universal Serial Bus*

Capítulo 1

Introdução

Uma consequência comum do desenvolvimento econômico é a maior necessidade na produção de energia. As fontes de energia existentes no meio ambiente são consideradas fontes primárias. Nesse contexto, distinguem-se as fontes naturais permanentes (ou renováveis), como o sol, mar e o vento – e as fontes esgotáveis ou não renováveis, como o petróleo. Para atender à demanda tecnológica, as fontes primárias são transformadas em energias secundárias, gerando, por exemplo, calor e força.

No processo de transformação, além da energia resultante, gases e resíduos são gerados e emitidos ao meio ambiente. Os danos ocasionados através da emissão desses resíduos acarretam prejuízos como a chuva ácida e contaminação de rios [GA06] [Oli98]. Diante da deterioração do meio ambiente, estudos em relação às fontes alternativas de geração de energia estão sendo desenvolvidos.

Com uma preocupação recorrente em relação ao meio ambiente e com o fim das fontes de energia não renováveis, a procura por fontes alternativas de energia tornou o etanol um produto bastante requisitado. O Brasil encontrou nesse setor uma importante fonte de desenvolvimento e crescimento financeiro sem se descuidar das questões ambientais [GA06].

O Estado do Mato Grosso do Sul possui uma grande área destinada à agricultura. Em decorrência dessa característica, o Estado consegue atender à demanda de produção da cana-de-açúcar [Jun07]. Com condições para a produção de etanol e a preocupação com o meio ambiente, a qualidade do etanol tornou-se um assunto de grande relevância para pesquisadores e principalmente para as usinas de todo o Brasil.

Para a produção do etanol, a cana-de-açúcar passa pelo processo de moagem, em que o caldo é extraído. Após outras operações, ocorre a fermentação desse caldo com adição de fermento biológico de leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. A eficácia da fermentação depende de vários fatores. Uma das principais características que reduz o rendimento da fermentação é a grande concentração de açúcar no caldo. Por isso, esse caldo é geralmente diluído em água, produzindo o mosto.

No processo de colheita até a extração do caldo, a cana-de-açúcar é exposta à contaminação por bactérias. Devido à essa contaminação é necessário realizar o controle dos microorganismos presentes no mosto. Para realizar esse controle, dois métodos podem ser aplicados, sendo eles a metodologia clássica e o cultivo pela placa de Petri, recipiente cilíndrico e achatado, como ilustra a Figura 1.2, muito utilizado em laboratório de microbiologia. No cultivo realizado na placa de Petri, uma amostra do mosto é capturada e inserida na placa. Nesse experimento, são necessárias cerca de 24 horas para que ocorra o crescimento das colônias e a fermentação do mosto dura por volta de 10 horas. Desse modo a utilização da placa ultrapassa o período de fermentação. Com o intuito de realizar um controle durante o processo de fermentação existe a metodologia clássica. Metodologia esta usada nas destilarias e laboratórios de análise. A Figura 1.1 ilustra



Figura 1.1: Etapas para a contagem de microorganismos.



Figura 1.2: Vasilhame em vidro usado em análise microbiana, denominado placas de Petri.

as etapas para a realização dos dois processos para a contagem de microorganismos. Ao término da contagem dos resultados obtidos através da metodologia clássica e da placa de Petri, ambos são comparados.

Para que esse controle microbiano seja realizado, usando a metodologia clássica, a contagem de bactérias e leveduras ocorre periodicamente durante o processo de fermentação, em etapas definidas pelo especialista. Uma amostra do mosto é retirada e misturada novamente com água, a fim de reduzir a quantidade de microorganismos presentes no mosto, auxiliando na contagem.

No material diluído, é inserido o corante metileno azul, que colore, com a cor azul, as leveduras inviáveis, facilitando a contagem desses microorganismos. Adicionalmente, leveduras e bactérias podem ser diferenciadas pelo formato, dado que as leveduras apresentam forma arredondada, enquanto as bactérias apresentam forma de bastonete (como um palito). Com isso, o tipo de microorganismo e seu estado (viável ou inviável) podem ser identificados. Posteriormente, a amostra é plaqueada – ou seja, é transferida para uma placa em forma retangular – e analisada através do microscópio. Nessa análise, realiza-se a contagem manual de leveduras e bactérias por um especialista [Ant04]. Através de cálculos estatísticos, a quantidade de leveduras e bactérias é estimada por litro. Ao constatar que o número de bactérias está alto, o especialista pode realizar o tratamento desses microorganismos, a fim de controlá-los, já que eles representam os contaminantes do mosto. Esse tratamento pode ser realizado através da inserção de antibióticos no mosto.

A contagem microbiológica realizada visualmente é uma tarefa minuciosa e muito cansativa e, por esse motivo, erros na contagem podem ocorrer devido ao desgaste humano. O módulo de visão computacional do projeto BioViC possui como objetivo empregar técnicas de visão com-

putacional no tratamento das imagens microscópicas, com o intuito de contar automaticamente os microorganismos e, conseqüentemente, melhorar os resultados da metodologia clássica utilizada nas usinas de etanol. A árdua tarefa de contagem microbiana foi realizada via *software*, acarretando maior agilidade.

Com o módulo de visão computacional do BioViC, as etapas de preparação do mosto, fermentação alcoólica e plaqueamento não foram alteradas. Dois microscópios foram usados nos experimentos, um microscópio com iluminação sobre a amostra e outro com iluminação sob a mesma. No microscópio com iluminação sobre a amostra, após a amostra ser plaqueada, uma câmera foi acoplada ao microscópio, no lugar de um ocular, local no qual o especialista visualiza a amostra. Quando a imagem é capturada pelo microscópio com iluminação sob a imagem não é necessário realizar a inserção da câmera, visto que esta já está embutida no microscópio. Em ambos os casos, a câmera foi conectada a um computador. O *software* recebeu a imagem microscópica e realizou a análise dessa imagem.

Nos experimentos realizados neste módulo houve a aplicação de várias técnicas de visão computacional. Foram aplicadas técnicas de pré-processamento, como filtros de suavização, extração de atributos de cor, segmentação por *watershed* e reconhecimento de padrões através do *template matching* juntamente com medidas de similaridade.

Nos experimentos com atributos de cor houve a extração de atributos de cor *pixels a pixel* e os resultados foram usados como treinamento para algoritmos de aprendizagem de máquina. Posteriormente, novas imagens foram usadas na etapa de teste. Com os resultados, houve a classificação de grande parte das leveduras inviáveis. Nos experimentos com *template matching* foi implementada uma técnica simples para o reconhecimento de padrões. Com os resultados foram analisados o reconhecimento de algumas leveduras. Como a técnica implementada foi simples, os resultados podem ser considerados um indicativo para o aprofundamento de estudos envolvendo o *template matching* a fim de encontrar um algoritmo ou um conjunto de algoritmos que consigam reconhecer todas ou grande parte das leveduras.

O BioViC é um projeto multidisciplinar, envolvendo várias áreas do conhecimento, como biologia, computação, entre outras. Neste projeto, há parceria com o Sindicato da Indústria de Fabricação de Açúcar e etanol do Mato Grosso do Sul e com a empresa Belt BR – Assessoria Empresarial Ltda, que comercializa equipamentos de captura de imagens microscópicas.

O próximo capítulo apresenta os trabalhos relacionados com os temas estudados para o desenvolvimento deste projeto, como visão computacional e microbiologia. O terceiro capítulo contextualiza o leitor com relação a assuntos técnicos e científicos, tais como tópicos de visão computacional e biologia, para compreensão das etapas que fazem parte do desenvolvimento do módulo de visão computacional do BioViC. O quarto capítulo apresenta uma breve descrição da metodologia a ser usada. O quinto capítulo apresenta alguns experimentos realizados, os resultados e a análise desses resultados. O sexto capítulo apresenta as considerações finais deste projeto.

Capítulo 2

Trabalhos Correlatos

A análise microbiológica é um importante mecanismo para obter informações detalhadas sobre as amostras analisadas. Como citado, na fermentação alcoólica, com as informações da análise microbiológica, pode-se estimar a quantidade de microorganismos presentes no mosto. Com essa informação, é possível controlar o crescimento dos microorganismos mediante certos procedimentos, tais como a aplicação de antibióticos.

A maior preocupação com a qualidade dos produtos oferecidos resultou no aumento de normas de qualidade. Essas normas têm o objetivo de apresentar padrões de produção com o intuito de aumentar a qualidade e durabilidade dos produtos oferecidos. As empresas, procurando se adequar aos padrões e normas estabelecidos, além de se preocuparem com a confiabilidade de seus produtos, veem na análise microbiológica uma grande aliada no processo de controle de qualidade. Como a análise microbiológica é muito positiva, vários setores usam essa técnica para verificar a qualidade de seus produtos, como segue.

Ribeiro et al. [RMS⁺04] usaram a análise microbiológica para verificar a qualidade da ricota cremosa. Os experimentos foram realizados com amostras que apresentavam peso e temperaturas fixas, variando apenas os dias de estocagem dos produtos. Os resultados foram satisfatórios e mostraram, com auxílio da análise microbiológica, que a ricota apresentava condições adequadas para o consumo.

A análise da água potável da cidade de Marília-SP foi tema do estudo de Alvesa et al. [AOG04]. Nesse estudo, os autores analisaram a água distribuída à população e a água de poços artesianos. O material analisado era constituído de coliformes fecais e totais. Foram obtidas 18 amostras de água comercializada na cidade e 18 amostras de água obtida no rio e em poços artesianos. Com os estudos obtidos, foi constatado que 94,5% da água produzida em Marília estava apta para o consumo.

Tasca e Moura [TM07] aplicaram seus estudos na cidade de Cascavel-PR, analisando a farinha de trigo comercializada na região. A análise foi realizada com seis marcas do produto. Foram analisados coliformes totais, bolores e leveduras. A referência para o controle microbiológico desse estudo foi as normas estabelecidas pela ANVISA. Com a realização desse trabalho, observou-se que um maior controle nos estabelecimento precisa ser realizado.

Os trabalhos supracitados relatam a importância da análise microbiológica e sua utilização em diferentes aplicações dessa área. A partir de então, serão descritos trabalhos que apresentam soluções tecnológicas que têm sido desenvolvidas para auxiliar a análise microbiológica.

No trabalho [LSB04], foi desenvolvido um software que realiza a contagem de microorganismos com auxílio de um equipamento de apoio denominado Câmara de Neubauer (abordada em maiores detalhes posteriormente). Nos experimentos desse trabalho, foi realizada a contagem de leveduras nos materiais. Nos equipamentos, estava contido um microscópio óptico acoplado a uma câmera digital, ligada a um microcomputador que possuía uma placa de captura de imagem.

O erro percentual médio (descrito posteriormente) foi usado para medir o erro entre a contagem realizada pelo software e a contagem realizada pelo especialista. O sistema apresentou bons resultados quando as leveduras apresentavam-se separadas umas das outras.

O trabalho de Demantova et al. [DSIG01] tem como objetivo desenvolver um sistema para realizar a soma das bactérias contidas no leite. Para a contagem das bactérias, um corante alaranjado é aplicado. Com a aplicação desse corante, ocorre a fluorescência na cor verde para as bactérias inviáveis ou na cor vermelho-alaranjado para bactérias viáveis. Para a realização desses experimentos, a amostra de leite passa por um processo definido como tratamento da amostra de leite. Após esse tratamento a amostra é transferida para um microscópio. Por fim, obtém-se uma imagem com características bem definidas, como por exemplo, a presença de texturas homogêneas. Para analisar essa imagem, são utilizadas várias técnicas para processamento de imagens, tais como convolução, limiarização, abertura e limiarização automática Kapur. Segundo os autores, o sistema apresentou resultados satisfatórios.

No trabalho de Carpinelli et al., a equipe desenvolveu um sistema para realizar a contagem de colônias de células de forma automática. A tarefa de contagem é realizada por um especialista, estando sujeita a variações devido aos vários fatores já mencionados aqui. A equipe apresenta um sistema de contagem de colônias cultivadas em placas de Petri. Para a elaboração desse software, algumas das técnicas usadas foram algoritmos de crescimento de regiões, eliminação de ruído e detecção de borda. Mais informações estão disponíveis em [CFG⁺06].

Um software denominado *BioCounter 1400*¹ foi desenvolvido para a contagem de colônias de células. Essa tarefa é muito realizada em laboratórios, como por exemplo, laboratórios de comida e leite. Nesse software, a imagem sofre a aplicação de diversas técnicas de visão computacional, dentre elas a uniformização, subtração de fundo, ajuste de cor e contraste, processamento com morfologia matemática e suavização. O software também fornece diversas informações como a área, o perímetro e a densidade. Esse software é um produto que está sendo empregado em laboratórios para as mais diversas análises.

Os softwares e trabalhos que envolvem automatização da análise microbiológica citados anteriormente não foram utilizados pois realizam apenas a contagem de células e não as distinguem, ou seja, não as separam por classes. Um dos objetivos do módulo de visão computacional do BioViC é a distinção entre as classes, viáveis e inviáveis, dos microorganismos analisados.

¹<http://www.bio-equip.cn/enshow1equip.asp?equipid=2517&division=603>

Capítulo 3

Fundamentação Teórica

Para melhor compreensão do problema e dos tópicos abordados posteriormente, serão apresentados alguns conceitos sobre fermentação alcoólica e visão computacional.

3.1 Fermentação do etanol

Com concentrações de açúcares, pH e temperatura favoráveis, obtém-se o ambiente perfeito para o desenvolvimento de microorganismos [Ant04]. A fermentação do etanol é um processo pelo qual ocorre a transformação dos açúcares em etanol e gás carbônico. Essa transformação é realizada pela ação de fermentos (leveduras) que são inseridos no mosto. As bactérias interferem no processo de fermentação pelo fato de consumirem o açúcar, assim como as leveduras, porém esse açúcar é consumido como fonte de energia e não ocorre nenhuma consequência benéfica para a fermentação. É dessa maneira que a bactéria atrapalha a fermentação e por isso que o controle de ambas (leveduras e bactérias) é importante.

Para a fermentação, três etapas bem definidas são observadas, sendo elas: pré-fermentação, fermentação principal e pós-fermentação [Ant04]. A pré-fermentação é a etapa inicial do processo, na qual as leveduras são inseridas no mosto. As leveduras se multiplicam, o que aumenta a fermentação e, devido a ela, a temperatura do meio sofre aumento. Essa etapa leva cerca de 5 a 6 horas. Já na fermentação principal, o mosto apresenta características mais próximas ao etanol, devido à sua menor densidade. Nessa etapa, que dura entre 9 e 10 horas, a temperatura do meio também sofre elevação. Na etapa final, a temperatura sofre queda. Essa fase leva de 5 a 6 horas [Ant04].

3.1.1 Leveduras

As leveduras são microorganismos unicelulares sem flagelos ou outros órgãos para locomoção. Na maioria dos casos, as células das leveduras são maiores que as bactérias, porém existem leveduras menores que algumas bactérias [Ant04]. Todos os objetos com forma circular presentes na Figura 3.1 são exemplos de leveduras. As circunferências escuras representam leveduras inviáveis e as claras viáveis.

3.1.2 Câmara de Neubauer

A Câmara de Neubauer representa uma espécie de grade, que é usada como auxílio pelos especialistas na contagem visual de bactérias e leveduras. Na Figura 3.1 são ilustrados 6 pequenos quadrados divididos por linhas. Um quadrante na Câmara de Neubauer é composto por dezesseis desses quadrados, obtendo uma dimensão de 4x4 quadrados. A Câmara de Neubauer utilizada nas imagens desse projeto apresentava, no total, 20 quadrantes, sendo cinco dispostos no eixo X

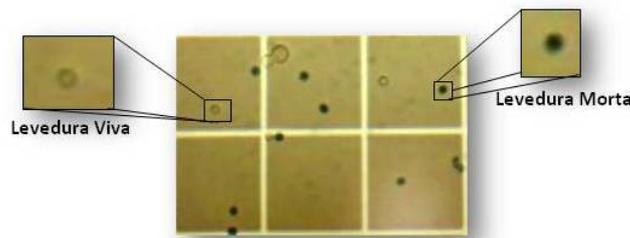


Figura 3.1: Exemplo de leveduras

e 4 no eixo Y . Como citado, uma das funções da câmara de Neubauer é orientar os especialistas no momento da contagem. Cada um desses quadrantes possui dimensões conhecidas que podem auxiliar a estimar o volume de cada câmara [LSB04].

3.2 Visão Computacional

Na área da visão computacional, são desenvolvidos algoritmos para obtenção de informações a partir de imagens, algumas vezes, buscando a automatização de tarefas geralmente associadas à visão humana. Na visão humana, os olhos capturam as imagens e posteriormente o cérebro realiza a análise e identificação de seu conteúdo. A visão computacional possui uma série de etapas para reproduzir essa tarefa realizada pelos seres humanos.

Para determinados problemas, todas as etapas da visão computacional são aplicadas em sequência, porém essa não é uma regra para aplicações nessa área. Embora os conceitos mencionados em seguida estejam apresentados em sequência e relacionados, eles são independentes, sendo assim, pode haver situações em que apenas uma ou algumas etapas conseguem resolver o problema em questão com metodologias diferentes dessa apresentada.

Na etapa de pré-processamento, ocorrem processos como a redução de ruídos e o realce das imagens, geralmente, com o intuito de aumentar a qualidade da imagem para que as etapas posteriores não sofram as interferências dessas imperfeições. Com a imagem pré-processada, ocorre a segmentação, que tem como objetivo dividir a imagem de acordo com os objetos de interesse. Com os grupos de objetos segmentados (por exemplo, fundo e levedura), é necessário realizar a extração de informações que permitam a caracterização dos tipos de objetos de interesse para cada problema. Um grupo de objetos do mesmo tipo também é denominado classe. Definidas as classes de um determinado problema, quando apenas a informação do objeto específico é analisada, consegue-se identificar a qual classe essa informação pertence. Esse processo é realizado por algoritmos de reconhecimento de padrões. Uma das principais abordagens para reconhecimento de padrões é a aprendizagem supervisionada, que, a partir de exemplos previamente classificados de objetos das diferentes classes, busca inferir modelos capazes de representar e reconhecer novos objetos [GW00b, NA02].

3.2.1 Imagens digitais

Na área de visão computacional, a principal informação obtida refere-se a imagem a ser analisada. Uma imagem é composta por um conjunto de *pixels*. Cada um desses *pixels* podem fornecer uma série de informações. Dependendo do espaço de cor que esse *pixel* apresenta um conjunto diferente de dados pode ser observado.

Supondo que a Tabela 3.1 seja uma imagem na forma de matriz. Cada posição dessa matriz representa um *pixel*. Se essa imagem tivesse em tons de cinza, ou seja, com tonalidades que

variam de 0 a 255 (preto ao branco). Os valores da Tabela 3.1 representaria a tonalidade de cada *pixel*. Se a imagem estivesse no modelo de cor RGB (detalhado posteriormente), o valor presente na matriz seria decomposto em três valores, um para cada componente (R, G e B).

20	30	40
50	60	70
80	90	100

Tabela 3.1: Imagem na forma de matriz

3.2.2 Pré-processamento

Como citado anteriormente, uma das grandes contribuições do pré-processamento para o processamento digital de imagens refere-se à redução dos ruídos presentes nas mesmas e/ou intervenções externas, como iluminação [GW00b]. Esses ruídos podem ser obtidos na etapa de captura, através da interferência do ambiente. Por exemplo, na Figura 3.2 as regiões circuladas de vermelho sofreram interferência na iluminação do ambiente em que o microscópio estava localizado, já nas bordas da da imagem (que apresenta manchas roxas) houve interferência do dispositivo eletrônico.

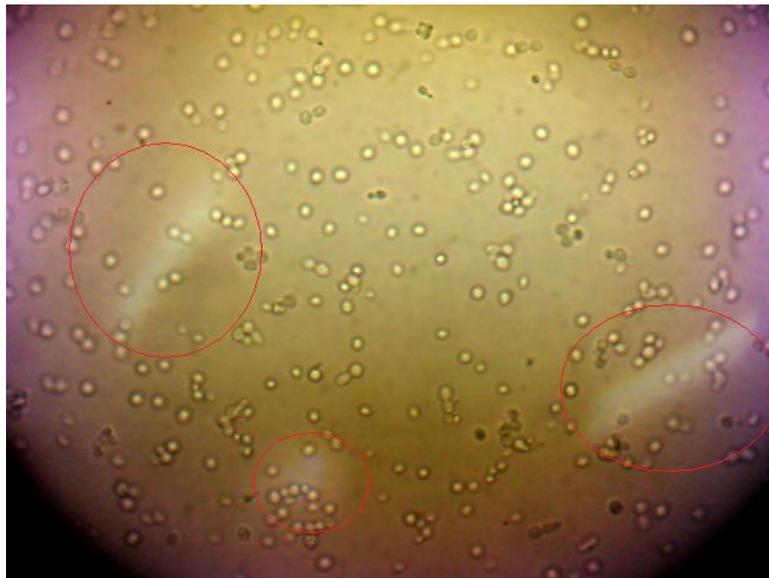


Figura 3.2: Imagem que sofreu interferência externa

A morfologia matemática pode ser utilizada como uma técnica de processamento de imagens. Ela usa como referência a teoria dos conjuntos para realizar suas operações. Essa técnica também visualiza a imagem como uma estrutura bidimensional e, em cima dessa estrutura, aplica as operações matemáticas. Caso algumas operações matemáticas sejam agrupadas, informações distintas podem ser evidenciadas, como por exemplo forma e realce de objetos.

Além de tentar suavizar as intervenções externas, há a necessidade de amenizar as impurezas existentes na imagem. Com o intuito de realizar tal tarefa, filtros de suavização podem ser aplicados com o objetivo de tentar tornar essas diferenças menos evidentes ou ausentes.

- Morfologia Matemática

Na morfologia matemática, o termo morfologia refere-se à forma, já o termo matemática diz respeito ao fato desse método utilizar conceitos da teoria dos conjuntos para obter informações de uma imagem [GW00b]. Um dos principais objetivos da morfologia matemática é obter características dos objetos por meio de informações conhecidas através de uma malha retangular denominada elemento estruturante. O elemento estruturante possui forma e tamanho totalmente conhecidos e é através desse e da imagem analisada que as informações são obtidas [SLA08] [CFFCF01].

Existem vários métodos que realizam alterações na imagem dentro da morfologia matemática. A erosão e a dilatação representam as operações mais básicas da morfologia matemática. Na erosão, os *pixels* que não atendem a um padrão estabelecido pelo elemento estruturante são descartados. Como consequência, pode-se perceber, dentre outros fatores, que visualmente há a diminuição de *pixels*. Já na dilatação, ocorre o oposto da erosão. Os *pixels* são ampliados e visualmente percebe-se a conexão de pequenos buracos e de objetos próximos.

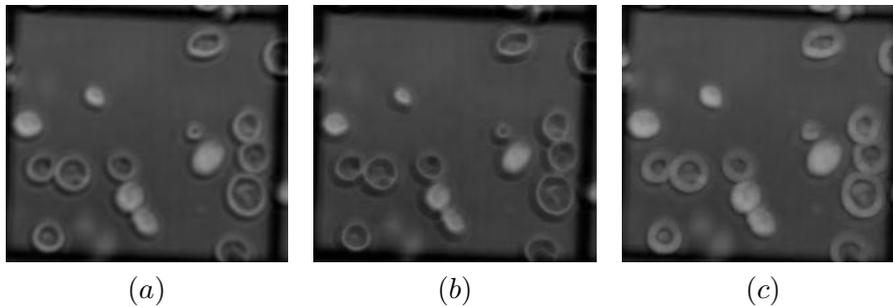


Figura 3.3: (a) Imagem original, (b) Imagem com aplicação de erosão e (c) Imagem com aplicação de dilatação.

- Filtros de suavização

Os filtros de suavização são aplicados com o intuito de realçar detalhes e reduzir ruídos em uma imagem [GW00b]. Por exemplo, nas imagens contidas no banco de imagens do BioViC, existem figuras com interferências de ruídos causados por dispositivos eletrônicos e/ou interferências causadas por impurezas. Contudo, para evitar resultados imprecisos, o ideal seria que essas interferências fossem removidas das imagens.

- Média

O filtro de média realiza uma média entre os *pixels* de uma imagem. O intuito desse método é tentar tornar a região mais “homogênea”, ou seja, com menor distinção entre os *pixels*. Uma das consequências mais comuns do filtro de média é o borramento da imagem e perda de detalhes pequenos, como traços suaves.

Para facilitar o entendimento do conceito, a Tabela 3.2 será tomada como referência. Nesse exemplo, essa tabela representa uma imagem e os valores contidos nela representam os valores dos *pixels* de uma imagem. Também para esse exemplo, o *pixel* com valor 7 é o escolhido como principal.

Ao aplicar o filtro de média nesse conjunto de dados, os valores dos *pixels* serão somados e divididos pelo número de *pixels* existentes. Sendo assim, temos os seguintes dados $(2 + 3 + 2 + 5 + 7 + 4 + 4 + 6 + 3)/9 = 4$. Após realizar a média dos dados, o valor do *pixel* será alterado, como ilustra a Tabela 3.3 [GW00a]. A Figura 3.4 (a)

ilustra uma imagem original e a Figura 3.4 (b) ilustra mesma imagem após a aplicação do filtro de média.

2	3	2
5	7	4
4	6	3

Tabela 3.2: Matriz original

2	3	2
5	4	4
4	6	3

Tabela 3.3: Matriz após a aplicação do filtro de média

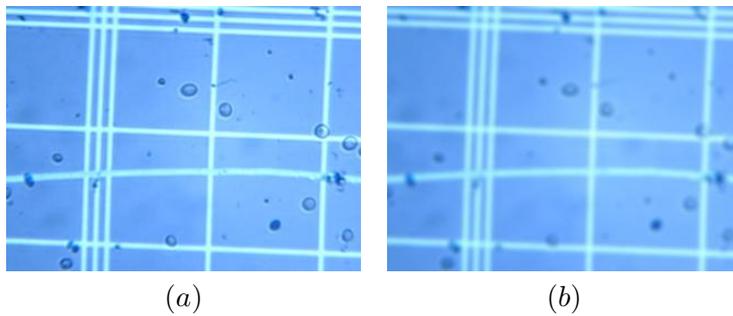


Figura 3.4: (a) Imagem original e (b) Imagem após a aplicação do filtro de média

– Mediana

O filtro de mediana é similar ao filtro de média. No entanto, a medida central utilizada é a mediana, em vez da média aritmética. Quando se deseja calcular a mediana de um *pixel* é necessário saber o valor dos *pixels* vizinhos ao ponto a ser analisado. Com as informações dos vizinhos, é necessário realizar a ordenação desses valores de forma crescente. Por exemplo, suponha que a Tabela 3.4 representa uma imagem na forma de matriz e o *pixel* com valor 50 seja o *pixel* principal. Se a mediana for calculada com um raio de um *pixel*, apenas os valores compreendidos entre essa distância e o *pixel* serão utilizados. Nesse exemplo, uma matriz com dimensões de 3X3 *pixels* será a resultante.

Os *pixels* compreendidos nessa matriz são os *pixels* (17, 14, 12, 16, 50, 12, 14, 15, 16). Para facilitar a compreensão, esses valores estão em negrito na matriz principal. Ordenando esse conjunto de valores, será obtida a seguinte sequência: 12, 12, 14, 14, 15, 16, 16, 17, 50. Para encontrar a mediana desse conjunto, basta escolher o *pixel* que está posicionado no meio dos valores existentes. Nesse exemplo, como há 9 valores no conjunto, a mediana desse conjunto é o número 15. Após o cálculo da mediana, o *pixel* com o valor 50, recebe o valor 15 [GW00b][NA02]. A Figura 3.5 (a) ilustra uma imagem original e a Figura (b) ilustra mesma imagem após a aplicação do filtro de mediana.

Com o filtro mediano o intuito de alcançar uma redução de ruídos com pouco borramento possui maiores chances de serem alcançados [GW00b].

A mediana é um filtro mais robusto quando comparado com o filtro de média. Visto que o filtro de mediana realiza a ordenação dos *pixels*, desse modo a existência de

10	12	14	13	16
10	11	17	14	12
9	14	16	50	12
8	12	14	15	16
14	11	17	18	12

Tabela 3.4: Matriz de exemplo

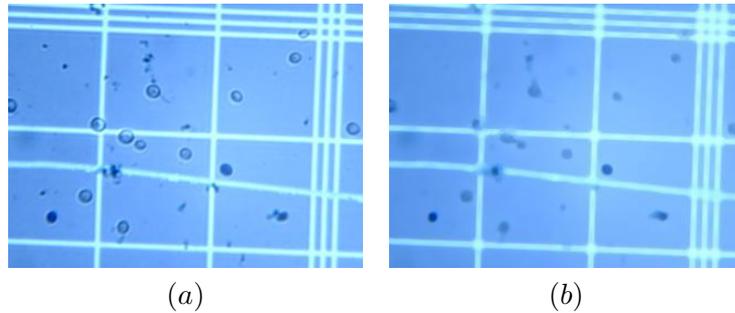


Figura 3.5: (a) Imagem original e (b) Imagem após a aplicação do filtro de mediana

ruídos que apresentam valores elevados são eliminados devido à ordenação desses *pixels*. Os *pixels* com valores elevados estarão no final da ordenação e não serão escolhidos. Já o filtro de média sofre influência dos *pixels* com valores elevados por realizar a média de todos os valores em questão.

3.2.3 Segmentação de imagens

Como citado anteriormente, na segmentação de imagens, os objetos presentes na figura são separados em grupos de acordo com suas respectivas semelhanças. Cada grupo de objeto forma uma classe [WMCst]. Para diferenciar os grupos, várias informações podem ser analisadas. Pode-se observar atributos de forma, textura, cor, entre outros. O tipo de informação a ser extraída da imagem diz respeito ao tipo de problema a ser analisado. Neste projeto, o objetivo inicial com a segmentação das imagens microscópicas é separar apenas os microorganismos. Posteriormente, esses microorganismos serão separados entre viáveis e inviáveis [eSKM01].

O *watershed* é uma técnica de segmentação que tem o objetivo de realizar a divisão de regiões distintas através de uma linha ou *watershed* que diferencia tais formas.

- *Watershed*

A segmentação por *watershed* é bastante utilizada em trabalhos de processamento de imagens e é tema frequente em livros de visão computacional[PO05][WMCst][GW00a]. A técnica visualiza a imagem de uma forma diferente. A analogia utilizada para compreender o método descreve uma imagem como um relevo topográfico. Nesse relevo, as regiões claras representam as montanhas e as escuras os vales.

Em cada vale existente no relevo, um mínimo local é encontrado de acordo com determinado critério. Nessa região, um furo é realizado e uma “inundação” é realizada. Quando águas oriundas de regiões diferentes estão próximas a se encontrarem, uma *watershed* é criada para impedir o encontro dessas regiões. Em determinado momento, será possível visualizar apenas as *watersheds* nos topos das montanhas. A Figura 3.6 (a) ilustra uma imagem após a aplicação da técnica *watershed*.

O problema encontrado ao usar esse tipo de segmentação refere-se ao fato dela ser muito sensível a ruídos. Quando a interferência de ruídos é grande, pode ocorrer a *oversegmentation*, como ilustra a Figura 3.6 (b). Se não houvesse muitos ruídos nessa Figura, o método iria distinguir apenas as leveduras.

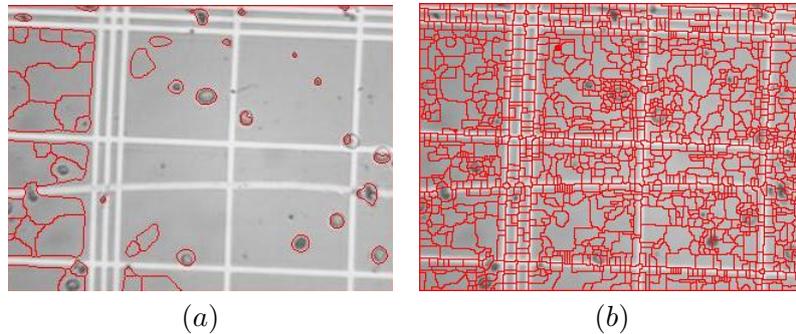


Figura 3.6: (a) Imagem após a aplicação da técnica *watershed* e (b) Imagem com *oversegmentation*.

3.2.4 Extração de atributos

Como citado nesse capítulo, a extração de atributos visa obter informações sobre um determinado objeto. Essas informações serão utilizadas para caracterizar objetos de uma mesma classe. Em uma imagem, são apresentadas diversas regiões. A etapa de segmentação irá evidenciar apenas a região de interesse, nesse caso, os microorganismos. Nesse momento, a extração de atributos irá ser aplicada. Necessita-se discriminar os objetos e caracterizá-los de acordo com as classes que eles constituem. Por exemplo, os valores obtidos pela extração de atributos para caracterizar a classe das leveduras viáveis deverá ser diferente dos obtidos para caracterizar a classe das leveduras inviáveis. Desse modo, será possível discriminar as duas classes. O tipo de característica a ser extraída está relacionada ao problema em questão, a extração pode utilizar diversos atributos como atributos de cor e textura [GW00b][RV07][SG07].

Os *pixels* de uma mesma imagem em espaços de cores diferentes podem apresentar valores distintos. Os modelos de cores caracterizam as imagens de acordo com os componentes que eles possuem. Por exemplo, o modelo RGB possui uma grande combinação de cores quando comparados aos tons de cinza. Já o modelo HSB captura informações referentes a saturação, brilho e matiz. Segue abaixo uma breve caracterização dos modelos baseados em tons de cinza, RGB e HSB.

- Modelo baseado em tons de cinza

O modelo de cores baseado em tons de cinza mais comum possui uma variação de 256 tonalidades. Devido ao fato de possuírem 8 bits para representarem as tonalidades o que resulta 256 variações. O número de bits usado para representar esse espaço de cor pode ser variado. Nesse módulo o modelo usado foi de 256 tonalidades. Essas tonalidades vão do preto, representado pelo número 0, ao branco, representado pelo número 255. A Figura 3.7 ilustra 3 *pixels*, o primeiro com valor 0, o segundo com o valor 180 e o terceiro com valor 255. As combinações abordam a cor preta e variedades de cinza até chegar na cor branca [NA02]. Para analisar uma imagem colorida com esse modelo, é necessária sua conversão para tons de cinza, que pode ser realizada por meio de cálculos matemáticos em cada *pixel*.

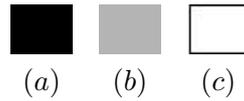


Figura 3.7: (a) *pixel* na cor preta, (b) *pixel* na cor cinza e (c) *pixel* na cor branca

- Modelo RGB de cores

O modelo RGB é um modelo baseado nas cores primárias vermelho, verde e azul. Cada uma dessas cores possui uma variação de 256 valores. Como são três componentes, esses podem ser combinados e gerar novas cores. Caso ocorram todas as combinações, poderá haver mais de 16,7 milhões de cores distintas. A Figura 3.8 ilustra um exemplo de combinação das RGB. O nome desse modelo são as iniciais dessas cores primárias (*Red*, *Green* e *Blue*) [GW00b][NA02].

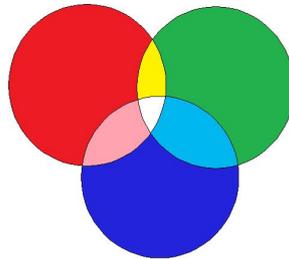


Figura 3.8: Modelo RGB com exemplo de combinações de cores.

- Modelo HSB de cores

O modelo de cor HSB (*Hue*/matiz, *Saturation*/saturação e *Brightness*/brilho) baseia-se na visão humana. Descrevendo cada um desses componentes, pode-se entender melhor como o modelo trata as informações de cor. Matiz refere-se à cor propriamente dita - como vermelho, verde e azul -, já a saturação diz respeito à vivacidade da cor e o brilho corresponde à intensidade de luz em uma cor - separando as cores em claras e escuras, por exemplo.

3.2.5 Reconhecimento de padrões

O reconhecimento de padrões refere-se à etapa de identificação de classe citada anteriormente. Por exemplo, neste trabalho, estima-se realizar o reconhecimento de duas classes: leveduras viáveis e inviáveis. Por isso, além de separarmos os objetos com a segmentação precisamos aplicar algoritmos que realizam a tarefa de reconhecer as classes desses objetos [eSKM01]. Dentre as técnicas de reconhecimento de padrões, encontra-se o *template matching*, que será conceituado em seguida.

- *Template Matching*

Em visão computacional, existem várias técnicas que realizam a detecção de objetos. Para que essa detecção seja realizada computacionalmente, é necessário que algumas características do objeto considerado alvo sejam capturadas. Cada técnica captura um tipo de informação, por exemplo, algumas capturam informações de cores e outras de forma.

O *template matching* captura o padrão (*template*) do objeto em questão. Uma série de padrões, como, por exemplo, amostras de leveduras viáveis e inviáveis, são armazenadas.

Esses padrões representam os objetos a serem detectados. Quando ocorre uma nova entrada, ou seja, quando uma nova imagem for analisada, ocorre uma varredura das amostras coletadas a fim de encontrar o padrão que realiza o casamento ou que mais se aproxima com a entrada atual. Para medir a semelhança entre os padrões, medidas de similaridade podem ser aplicadas.

Considerando sistemas que localizam olhos em imagens, como ilustra a Figura 3.9, teríamos o padrão evidenciado na imagem. Existem várias técnicas que possuem a finalidade de realizar o *template matching* invariante à rotação, escala e translação. Com essas técnicas, o posicionamento dos padrões não seria um empecilho para o bom desempenho desta. Tais técnicas não serão abordadas neste trabalho. Maiores detalhes sobre elas podem ser obtidas em [NA02].

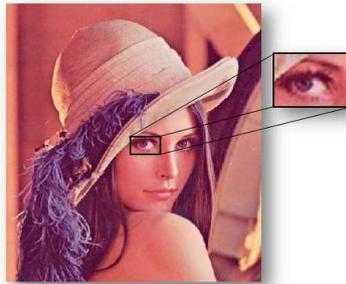


Figura 3.9: Exemplo de imagem evidenciando um padrão

Medidas de similaridade

O objetivo principal das medidas de similaridade é obter as informações sobre o grau de semelhança entre dois objetos. Para realizar tal tarefa, é calculada a distância entre esses dois objetos.

– Distância Euclidiana

Para medir a similaridade entre dois objetos utilizando a distância euclidiana são realizadas comparações entre os valores dos objetos em questão. No caso deste trabalho, os valores a serem comparados são os valores dos *pixels* da imagem. Após a comparação, um resultado é obtido e, com esse resultado, é possível verificar a semelhança entre os objetos. Quanto menor for o valor encontrado, maior será a similaridade entre o *pixel* e a classe. Por exemplo, considere duas imagens, uma denominada P e outra Q, sendo que cada uma dessas imagens possui 3 *pixels*, em tons de cinza, com os valores $P = 2, 3, 4$ e $Q = 6, 7, 8$. A distância euclidiana entre essas duas imagens é definida por: $\sqrt{(2-6)^2 + (3-7)^2 + (4-8)^2} = 64$. Usando as mesmas variáveis, P e Q, como referência e expandindo a equação para n pixels, podemos generalizar a fórmula de cálculo dessa distância, como descreve a Equação 3.1 [BSC07].

$$\sqrt{\sum_{K=1}^n (P_K - Q_K)^2} \quad (3.1)$$

– Similaridade de cosseno

O método de cálculo de similaridade por cosseno calcula o cosseno entre dois vetores. Caso a semelhança seja exata o resultado é igual a 1. Se não houver semelhança entre os objetos, o resultado é igual a 0. Caso haja alguma similaridade entre os objetos analisados, o valor resultante estará contido entre 0 e 1. Sendo A e B vetores que representam os objetos analisados, calcula-se a similaridade de cossenos pela Equação 3.2 [MMR09].

$$\cos = \frac{(A.B)}{\|A\|.\|B\|} \quad (3.2)$$

Capítulo 4

Desenvolvimento

Neste capítulo serão apresentadas as metodologias aplicadas em etapas distintas do módulo de visão computacional do projeto BioViC. Essa metodologia será utilizada para padronizar os experimentos, a validação e a inserção de informações no sistema.

4.1 Gerência de projeto

O método utilizado para a gerência de projetos do BioViC foi baseado no SCRUM. Para que ocorra uma melhor compreensão da maneira que essa gerência foi realizada, é necessário entender os conceitos básicos do SCRUM. Esse método é considerado uma metodologia ágil para gerência de projeto bastante aplicada em projetos comerciais [CJMP09].

O SCRUM reúne todos os tópicos importantes a serem abordados no projeto em um arquivo denominado *Product Backlog*. Cada tópico do *Product Backlog* é discriminado e, através deste, pequenas tarefas são criadas. Essas tarefas formam o *Sprint*, que ocorreram em prazos curtos. No SCRUM, reuniões diárias com duração de (em média) quinze minutos são realizadas. Nessas reuniões o desenvolvedor, normalmente, responde três perguntas, sendo elas: Quais são as metas para hoje? Há obstáculos? O que foi desenvolvido ontem? [CJMP09].

O BioViC usou o SCRUM como referência em relação a uma metodologia a ser seguida. No *Sprint Backlog* estão contidos todos os tópicos a serem desenvolvidos. Nos *Sprints*, uma ou mais metas do *Sprint Backlog* são discriminadas e prazos, em horas, são direcionados a cada tarefa. Nesse projeto, o *Sprint* possui duração de duas semanas. A cada semana o desenvolvedor possuía vinte horas de dedicação, o que, conseqüentemente, produziam quarenta horas de metas a serem cumpridas. No final de duas semanas, uma reunião entre o desenvolvedor e seu orientador era realizada. Nessa reunião, o orientador avalia as metas realizadas, e analisa para aprovar a finalização ou continuação de cada tarefa.

4.2 Projeto de sistema

Com o projeto do sistema, rotinas de utilização foram implantadas no *software*. Essas rotinas foram extraídas com base nas entrevistas realizadas com a especialista. As precedências das informações inseridas tornam-se importante para que haja um controle dos dados inseridos. Ao projetar um sistema, detalhes referentes a precedência de tarefas, funções a serem implementadas e os tipos de dados a serem inseridos são sanadas antes que o programador inicie o desenvolvimento dos códigos-fonte.

Ao possuir todos os dados necessários para o sistema, o desenvolvedor pode progredir com o andamento do sistema sem que haja interrupções por falta de coleta de dados a serem inseridos no sistema. No módulo de visão computacional do projeto BioViC, algumas sequências de instruções



Figura 4.1: Interface inicial do sistema

foram seguidas e os tipos de dados utilizados foram detalhados para o melhor entendimento e utilização do sistema.

Para a utilização do módulo de visão computacional do BioViC, o usuário precisa estar cadastrado no sistema e caso o usuário não esteja cadastrado, o cadastro deve ser realizado. O cadastro é necessário para haver um controle em relação ao usuário que realizou cada experimento. Após realizar o *login* no sistema, o usuário seleciona qual usina realizará tal experimento.

No momento que o usuário necessitar realizar um experimento, este precisa capturar uma amostra do mosto, realizar a diluição e o plaqueamento dessa amostra. Para os experimentos iniciais do sistema a amostra será diluída a fim de facilitar um contato inicial com a identificação de cada tipo de levedura. Com a imagem plaqueada, é realizada a captura da imagem. Essa imagem é transferida para o computador através de um cabo USB.

No computador que está instalado o módulo de visão computacional do projeto BioViC é realizada a visualização dessa imagem. Ao visualizar a imagem, o usuário pode fazer ajustes de foco e posição da câmera antes de capturá-la. Após realizar os ajustes da câmera, o usuário captura a imagem. Com a imagem capturada, o usuário pode realizar o experimento. Na etapa do experimento, algoritmos de visão computacional são aplicados para obter as quantidades de leveduras viáveis e inviáveis. Ao término do experimento, o usuário pode gravar o experimento, gerar um relatório referente ao experimento e realizar a impressão deste. Uma interface gráfica do sistema, ilustrada na Figura 4.1, foi desenvolvida para que os testes experimentais fossem realizados e para uma melhor análise quanto à usabilidade desta.

Todos as etapas supracitadas estão presentes no módulo de visão computacional do projeto BioViC. Os algoritmos de visão computacional presentes no módulo são todos os citados no na fundamentação teórica.

4.2.1 Modelagem

Para realizar a modelagem do projeto BioViC, foi utilizada a UML que é um modelo criado para o desenvolvimento da modelagem de um projeto orientado a objeto. O principal motivo para a escolha desse padrão, deve-se ao fato deste apresentar uma modelagem simples que facilita a compreensão do usuário, auxiliando na aprovação das tarefas a serem desenvolvidas. Na UML existem diversos diagramas que auxiliam na descrição de diferentes etapas do projeto[Evi00].

1. Caso de uso

O diagrama de caso de uso possui o objetivo de relatar a interação do usuário com o sistema. Esse diagrama é normalmente usado com uma linguagem simples. A escolha da simplicidade da linguagem deve-se ao fato desse diagrama ser mais voltado para o

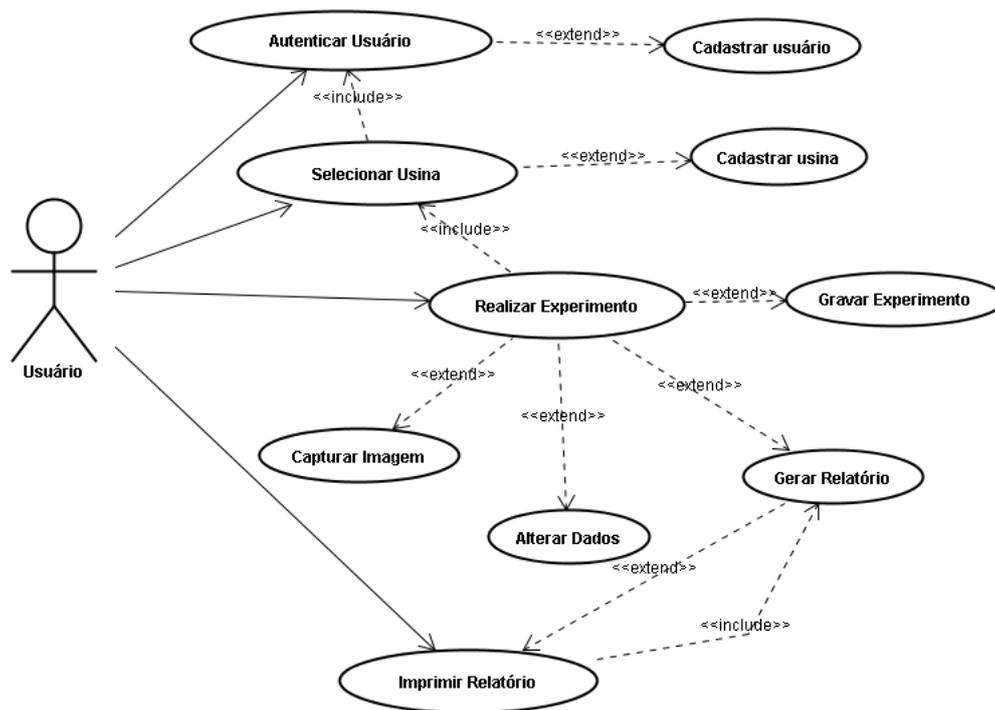


Figura 4.2: Diagrama de caso de uso

usuário final. Como é um diagrama simples, facilita o entendimento do usuário. Para o desenvolvimento deste projeto foi utilizado um diagrama de caso de uso. Neste diagrama o ator representa o usuário do sistema. Já os círculos do caso de uso, também chamados de nós, são as tarefas que o software deverá realizar.

É necessário encontrar o modelo que mais se adequa às necessidades do projeto que está sendo desenvolvido. Em determinados projetos, apenas um conjunto de diagramas é capaz de representar a modelagem do sistema. No BioViC, foram usados um diagrama de caso de uso e cada nó contido no diagrama de caso de uso foi detalhado através de um diagrama de atividade.

O Caso de uso do BioViC foi desenvolvido com base nas entrevistas realizadas com a especialista, um dos membros do projeto e responsável pela equipe de microbiologia. Reuniões foram realizadas no esquema de perguntas e respostas.

2. Diagrama de Atividade

O diagrama de atividade descreve os passos realizados pelo usuário para a execução das tarefas oferecidas pelo software[Evi00]. No BioViC, cada nó do caso de uso foi descrito através de um diagrama de atividade. Com este diagrama, o usuário pode perceber com mais clareza quais serão os passos realizados para a execução de cada tarefa. Os diagramas de atividade de cada caso de uso do projeto BioViC estão disponíveis no anexo A.

4.2.2 Validação do módulo de visão computacional

Para a realização dos testes iniciais nesse módulo, as imagens capturadas no laboratório CeTe-Agro foram marcadas manualmente. As informações sobre o número de leveduras presentes na imagem foram fornecidas pelo especialista e foram usadas como referência para a comparação

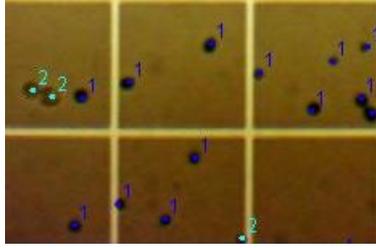


Figura 4.3: Imagem com marcações realizadas através das informações obtidas com o especialista no momento da contagem visual

com os resultados dos experimentos. Em algumas imagens do projeto as leveduras foram marcadas utilizando o *plugin* do ImageJ denominado *Cell Counter*. Esse *plugin* realiza a distinção de grupos ou classes através de uma numeração, essa distinção é realizada após o usuário clicar na região que deseja realizar a marcação. A Figura 4.3 ilustra uma imagem após a aplicação deste *plugin*. Nos experimentos havia apenas duas classes, o número um representa as leveduras inviáveis e o dois as viáveis.

A utilização do *plugin* é interessante quando o número de imagens capturadas é pequeno. Quando um experimento grande é acompanhado, a utilização do *plugin* torna-se inviável devido ao tempo usado para a realização das marcações. Posteriormente, foi requisitado ao especialista auxílio em relação às definições sobre as classes das leveduras. Com esse auxílio do especialista, a marcação das imagens tornou-se mais simples.

As informações sobre o número de microorganismos viáveis e inviáveis foram obtidos com os especialistas e comparados com os resultados do módulo de visão computacional do projeto BioViC. O erro quadrático médio, também usado por [LSB04] et al., foi empregado. Para realizar o cálculo do erro de cada experimento, o erro obtido para cada amostra foi calculado e a média desses erros é o erro do experimento em questão. Ainda na etapa de validação, durante a realização dos experimentos e com os resultados estimados foi atribuído um erro a este módulo. Esse valor será de grande valia para o especialista já que este é uma importante referência estatística podendo ser importante na análise do resultado apresentado pelo *software*.

O erro quadrático é a diferença entre o valor estimado do valor real elevado ao quadrado. Já o erro quadrático médio utiliza o mesmo cálculo do erro quadrático adicionando a média dos valores calculados.

4.3 Implementação

Para o desenvolvimento deste projeto foi utilizada a linguagem JAVA de programação, devido ao fato desta linguagem ser multiplataforma. O banco de dados escolhido foi o *MYSQL*, por causa da agilidade de consulta já que trabalhamos com um conjunto pequeno de dados.

Foi implementado o cadastro de usuário, que permite armazenar informações sobre o usuário que está realizando o experimento, como ilustra a Figura 4.4. Nessa interface, é necessário realizar a inserção dos dados login e senha, além do cargo que o usuário ocupa na empresa.

Outro conjunto de dados interessante são as informações referentes às usinas nas quais o *software* está sendo utilizado. Essas informações abrangem localização, nome e senha de cadastro, o que traz mais segurança aos dados inseridos, já que apenas os usuários cadastrados conseguirão realizar um experimento. Desse modo, todos os dados inseridos serão ligados ao usuário que realizou o experimento.

Já a interface de experimento apresenta campos para realizar a inserção de informações referentes ao experimento em si. Essas informações englobam a temperatura do mosto e número

Figura 4.4: Interface gráfica para a realização do cadastro de usuário

Figura 4.5: Interface gráfica para a realização do cadastro de uma usina da dorna, recipiente que o mosto é fermentado, que o experimento está sendo realizado.

da dorna, recipiente que o mosto é fermentado, que o experimento está sendo realizado.

Figura 4.6: Interface gráfica para a realização do cadastro de um experimento

Todos os campos visualizados nas imagens supracitadas são de preenchimento obrigatório. Dessa maneira, o usuário não poderá realizar a inserção de dados incompletos. Ao finalizar um experimento, todos esses dados mencionados anteriormente e os resultados obtidos serão armazenados em um relatório. O diagrama entidade-relacionamento desenvolvido como base para a implementação do projeto está disponível na Figura 4.7

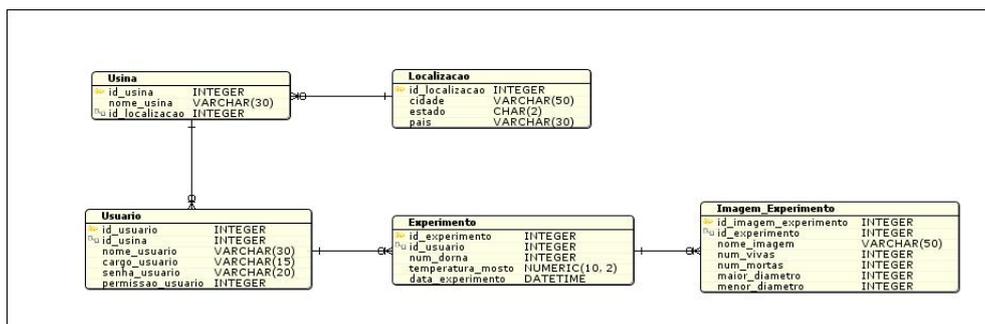


Figura 4.7: Diagrama entidade relacionamento do BioViC

Capítulo 5

Experimentos, resultados e análise

Uma série de experimentos foi realizada com os algoritmos supracitados. Esses experimentos englobaram algoritmos de suavização, segmentação de imagens, extração de atributos e reconhecimento de padrões. Os experimentos que usaram filtros de suavização foram realizados a fim de atenuar os ruídos e as pequenas impurezas presentes na imagem. Já os experimentos com *watershed* tinham a intenção de demarcar a imagem através de linhas as regiões contendo leveduras ou as leveduras em si. A extração simples de atributos de cor com adição de aprendizagem de máquina possuía o objetivo de caracterizar as classes de acordo com a tonalidade dos *pixels* das amostras, já que a amostra do mosto sofre inserção de corante antes de ser plaqueada. Com o *template matching* o objetivo era reconhecer os microorganismos, leveduras viáveis e inviáveis, com base nos resultados de técnicas de medidas de similaridade. Os experimentos, resultados e análise resultados serão analisados nas seções seguintes.

Segundo os especialistas do CeTeAgro, existem impurezas no caldo e mosto. Essas impurezas apresentam-se de diferentes formas: algumas são com formas arredondadas e outras com formatos irregulares. Na Figura 5.1 (a) e (b) pode-se observar essas impurezas evidenciadas através de círculos da cor amarela.

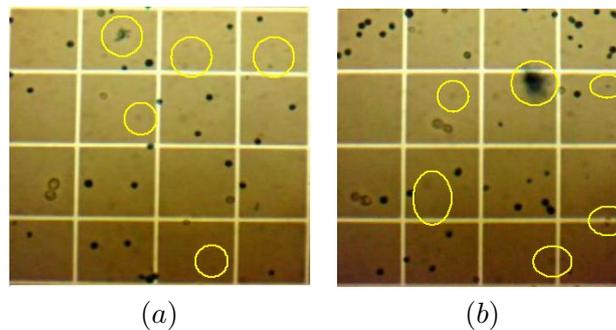


Figura 5.1: Imagens com destaque das impurezas.

5.1 Filtros de suavização

Para os experimentos, foram usadas imagens de leveduras capturadas no CeTeAgro. Como citado anteriormente, no momento da captura de amostras, algumas imagens tiveram os microorganismos evidenciados através de uma marcação manual utilizando um *plugin* do ImageJ. As marcações foram usadas como base para os experimentos devido ao fato da imagem apresentar regiões que deverão ser desconsideradas como sujeira e aglomerações de leveduras. Sendo assim,

apenas as leveduras foram evidenciadas. A marcação é importante para que ocorra a comparação entre os resultados apresentados pelas técnicas e pela análise visual.

Como mencionado anteriormente os experimentos que usaram filtros de suavização foram aplicados a fim de atenuar ou eliminar as impurezas e interferências externas presentes nas imagens. Para os experimentos foram utilizadas imagens contendo leveduras viáveis e inviáveis a fim de verificar se com a aplicação do filtro alguma das classes, viáveis e inviáveis, sofreria alguma interferência a ponto de descaracterizá-la.

Para os experimentos foram usados *plugins* de média e mediana presentes no ImageJ. Na ferramenta ImageJ desenvolvida na linguagem Java de programação e voltada para a área de processamento de imagens, estão contidos códigos livres. Vários trabalhos utilizaram essa ferramenta como base para a realização de seus testes, dentre eles pode-se citar [SLA08] e [Lag06].

A Figura 5.2 (a) ilustra a imagem original. A Figura 5.2 (b) ilustra a imagem original com as marcações das leveduras viáveis e inviáveis. Nos experimentos, usando filtro de média, foi usado um raio de 2 *pixels*. De forma experimental, a escolha do valor do raio deve-se ao fato deste ser um número que apresenta pequena suavização sem muita perda na imagem. O ambiente que as imagens foram capturadas não apresentava controle de iluminação, este pode ser um dos motivos para a presença de interferências externas relacionadas à iluminação estarem presentes nas imagens.

Os resultados com o *plugin* de média apresentaram uma pequena redução de ruídos mesmo com uma pequena variação de raio. Não foram apresentadas distorções nas leveduras inviáveis, porém nas leveduras viáveis houve um borramento na borda na levedura fazendo com que a mesma perdesse parte do contorno. Em algumas leveduras, o borramento faz com que a mesma ficasse semelhante a uma sujeira. A Figura 5.2 (c) ilustra o resultado da aplicação do filtro de mediana com evidência nas leveduras viáveis.

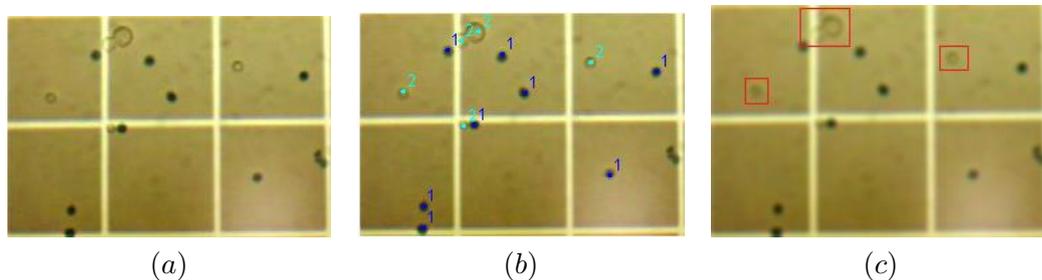


Figura 5.2: (a) Imagem original (b) Imagem com as leveduras inviáveis(1) e viáveis (2). (c) Imagem após filtro de média

Os experimentos com filtros de mediana também foram realizados com os parâmetros obtidos de maneira experimental. A Figura 5.3 foi filtrada com máscara de 2X2 *pixels*. O filtro mediano apresentou um melhor resultado em relação ao filtro de média no que diz respeito ao borramento da imagem. Porém, uma parcela significativa dos ruídos presentes na imagem original não foram totalmente filtrados. As imagens foram convertidas para escala de cinza com o intuito de facilitar a visualização do resultado do filtro.

5.2 Watershed

Nos experimentos usando a técnica *watershed* foram usadas imagens com a presença de leveduras viáveis e inviáveis. Essas imagens foram capturadas de microscópios distintos, sendo um com iluminação sob a amostra, como ilustra a Figura 5.4 (a), e outro com iluminação sobre essa

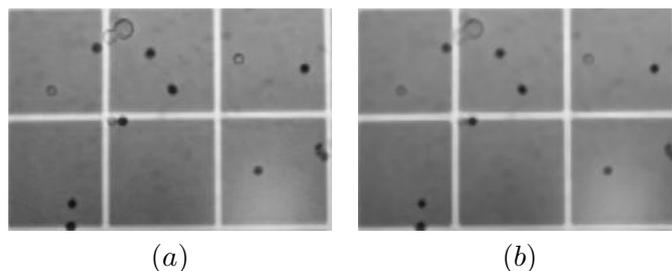


Figura 5.3: (a) Imagem original convertida para escala de cinza (b) Imagem após filtro de mediana

amostra, como pode ser visto na Figura 5.5 (a). Além das imagens terem sido capturadas em microscópios diferentes, a Figura 5.4 (a) foi capturada sem a câmara de Neubauer e a 5.5 (a) foi capturada com a presença da câmara.

Para essa segmentação, a imagem precisou ser convertida para tons de cinza, como mostram as Figuras 5.4 (b) e 5.5 (b). Posteriormente, a técnica foi aplicada. As Figuras 5.4 (c) e 5.5 (c), ilustram os resultados da segmentação. Como nenhum filtro de suavização foi aplicado e como a técnica é muito sensível a ruídos ocorreu a *oversegmentation*.

Nos experimentos foi usado um *plugin* do ImageJ¹. Esse *plugin* permite que a imagem seja suavizada e que a faixa de *pixels* a ser analisada na imagem seja limitada pelo usuário. Com essas possibilidades de variações de parâmetros novos experimentos foram realizados com o intuito de obter melhores resultados. Na Figura 5.4 (d) foi aplicada uma suavização com raio igual a seis e com a variação de *pixels* de 0 – 200. Já na Figura 5.5 (d) foi aplicada suavização com raio igual a três e variação de *pixels* de 40 – 170.

Como pode-se perceber na imagem 5.4 (d) ocorreu a criação da *watershed* englobando as regiões com leveduras. Porém não ocorreu a segmentação da região circular em si. Já na Figura 5.5 (c) o resultado foi um pouco melhor em relação a Figura anterior. Ocorreu a segmentação da região circular de algumas leveduras.

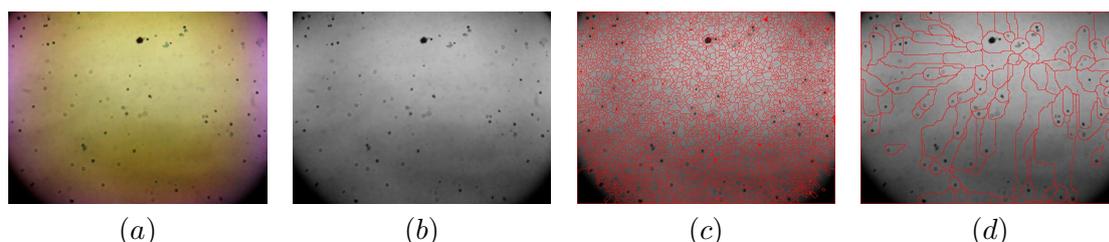


Figura 5.4: (a) Imagem original, (b) Imagem original em tons de cinza, (c) Imagem com *oversegmentation*, (d) Imagem segmentada por *watershed*

5.3 Modelos de cor

Como mencionado anteriormente, nas amostras de leveduras é adicionado o corante azul de metileno. Com a inserção desse corante as leveduras são distinguidas por cor. Analisando essa informação, experimentos foram realizados com algoritmos de extração de atributos simples, baseado em cores e tons de cinza e aprendizagem de máquina. Para os experimentos, foram

¹<http://bigwww.epfl.ch/sage/soft/watershed/>

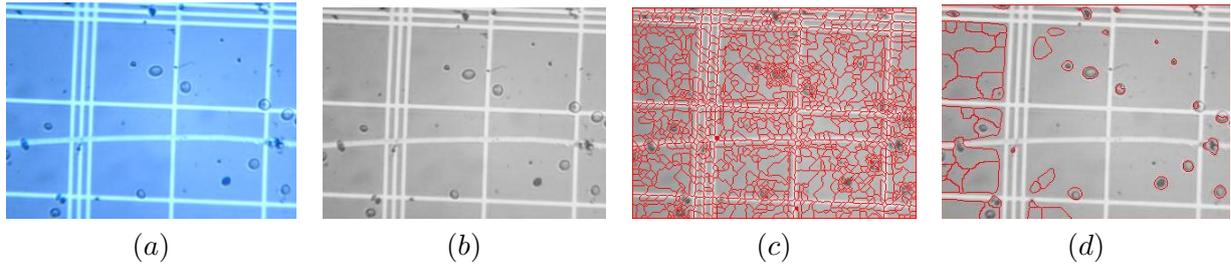


Figura 5.5: (a) Imagem original, (b) Imagem original em tons de cinza, (c) Imagem com *over-segmentation*, (d) Imagem segmentada por *watershed*

usadas nove imagens com dimensões de 312×314 *pixels*. Dessas nove imagens, foram obtidas amostras das classes fundo e levedura. Dessas amostras, foram extraídos os tons de cinza, os componentes HSB e RGB de cada *pixel*. Com as informações extraídas, foi criado um arquivo arff (*Attribute-Relation File Format*), que armazena as informações obtidas e as relaciona com classes as quais elas pertencem.

O arquivo arff é um tipo de extensão que é reconhecido pelo software Weka (*Waikato Environment for Knowledge Analysis*). O Weka possui um conjunto de algoritmos de aprendizagem de máquina, sendo que alguns desses foram utilizados nesse trabalho. Como para este problema foi possível a obtenção de informação sobre a classificação dos objetos de interesse na imagem, foram utilizados algoritmos de aprendizagem supervisionada.

Para os experimentos, foram utilizados os algoritmos K2 [CD92] e o C4.5 [Qui96], com os parâmetros *default*, ou seja, com as configurações originais dos algoritmos, sem variações de parâmetros. O primeiro induz modelos baseados em Redes Bayesianas e o segundo em Árvores de Decisão. Foram utilizadas quatro imagens para o treinamento e cinco para os testes. Foram extraídas amostras das classes fundo e leveduras. Com essas amostras foram extraídas informações em relação à tonalidade dos *pixels* utilizando os modelos propostos neste trabalho. No treinamento, os algoritmos de aprendizagem foram treinados com as informações contidas no arff. Finalizado o treinamento, foram extraídas características das imagens de teste. As características extraídas seguiram a mesma metodologia da extração das imagens de treinamento. Foram extraídas informações *pixel a pixel* das imagens de teste e essas informações foram inseridas nos algoritmos de aprendizagem e classificadas de acordo com a classe pertencente.

Nos experimentos, foram utilizadas 50498 amostras de leveduras e 75737 amostras de fundo. Nas imagens usadas para o treinamento, foi observado que as leveduras inviáveis conseguiram ser segmentadas em maior quantidade quando comparadas às leveduras viáveis. Também foi constatado que os métodos de segmentação usando os componentes RGB e HSB apresentaram dados semelhantes em relação à matriz de confusão. Como mencionado anteriormente, as amostras foram classificadas pelos dois algoritmos mencionados. Na etapa de classificação, as amostras tinham que ser classificadas nas classes corretas, porém foram detectados alguns erros na classificação dessas amostras. Por exemplo, na Tabela 5.1 a primeira coluna refere-se à classe das leveduras e a segunda à classe fundo. Na primeira coluna e na primeira linha estão as classificações corretas para a classe leveduras e na segunda coluna e primeira linha estão o número de leveduras classificadas incorretamente, ou seja, classificadas como fundo. O mesmo raciocínio é realizado para as outras Tabelas. As Tabelas 5.1, 5.3 e 5.5 apresentam os resultados obtidos com o algoritmo C4.5 e as Tabelas 5.2, 5.4 e 5.6 apresentam os resultados obtidos com o algoritmo K2.

Nos experimentos utilizando informações sobre o tom de cinza dos *pixels*, foi detectado uma maior confusão em relação à classificação dos atributos, como mostram as Tabelas 5.5 e 5.6. Esse

fato pode ser justificado pela presença de informações com tonalidades semelhantes, como por exemplo regiões mais claras, como as linhas da câmara de Neubauer com as leveduras viáveis. Como apenas uma informação sobre o *pixel* das imagens são analisados, esse tipo de confusão torna-se ainda maior, visto que nesse modelo o número de variações de tonalidades é inferior quando comparados aos outros modelos propostos neste trabalho.

Os resultados dos experimentos realizados foram analisados de diferentes maneiras. A análise foi realizada através de matriz de confusão, porcentagem de acerto e de forma visual através da alteração da coloração do *pixel* da imagem de acordo com a classe definida pelos algoritmos. Cada classe possuía uma cor, verde para fundo e vermelho para leveduras.

Método de Aprendizagem	a	b	classe
C4.5	50314	184	a=levedura
C4.5	2026	73711	b=fundo

Tabela 5.1: Matriz de confusão da segmentação por componente RGB com o algoritmo C4.5

Método de Aprendizagem	a	b	classe
K2	34952	15546	a=levedura
K2	5138	70599	b=fundo

Tabela 5.2: Matriz de confusão da segmentação por componente RGB com o algoritmo K2

Método de Aprendizagem	a	b	classe
C4.5	50310	188	a=levedura
C4.5	1927	73810	b=fundo

Tabela 5.3: Matriz de confusão da segmentação por componente HSB com o algoritmo C4.5

A porcentagem de acerto foi fornecida pelo Weka assim como a matriz de confusão. Essa porcentagem refere-se ao número de amostras certas classificadas pelos dois algoritmos usados nesse experimento para os modelos de cor HSB, RGB e tons de cinza (TDC). A Tabela 5.7 apresenta a porcentagem de acerto obtida através dos algoritmos de aprendizagem de máquina resultante dos experimentos de cada componentes HSB, RGB e tons de cinza. Com esses resultados, foi observado que o algoritmo C4.5 apresentou uma melhor porcentagem de acerto. O resultado visual obtido através da segmentação das imagens de teste foi obtido através do algoritmo C4.5 devido à melhor classificação da análise anterior.

Ao realizar a comparação dos resultados dos métodos RGB e HSB, observa-se que, nos diferentes tipos de dados apresentados, os componentes HSB apresentam melhor resultado. Esses experimentos foram realizados utilizando validação cruzada com dez dobras. Nos experimentos, estavam contidos dados obtidos das amostras das classes presentes nas imagens de treinamento.

Já o resultado visual ilustrado nas Figuras 5.6, 5.7 e 5.8 e foram obtidos através do classificação das imagens de teste. Nessas imagens houve a classificação das classes leveduras e fundo. A classe leveduras recebeu a cor vermelha e a classe fundo a cor verde. Para essa classificação, foram extraídas informações de cada *pixel* da imagem e essas informações foram inseridas nos algoritmos de aprendizagem para serem classificadas.

Como os componentes de cor apresentaram maior confusão, na análise visual foi observada a distribuição das classes de acordo com os atributos em questão. Essa análise foi realizada com o intuito de conseguir identificar a origem da confusão apresentada. As Figuras 5.9, 5.10, 5.11 e 5.12 apresentam os gráficos da distribuição de pares de componentes dos modelos RGB e HSB que apresentaram intersecção de valores. Nos gráficos, os dados com cor vermelha representam a

Método de Aprendizagem	a	b	classe
K2	40873	9625	a=levedura
K2	2287	73450	b=fundo

Tabela 5.4: Matriz de confusão da segmentação por componente HSB com o algoritmo K2

Método de Aprendizagem	a	b	classe
C4.5	32708	17790	a=levedura
C4.5	4550	71187	b=fundo

Tabela 5.5: Matriz de confusão da segmentação por tons de cinza com o algoritmo C4.5

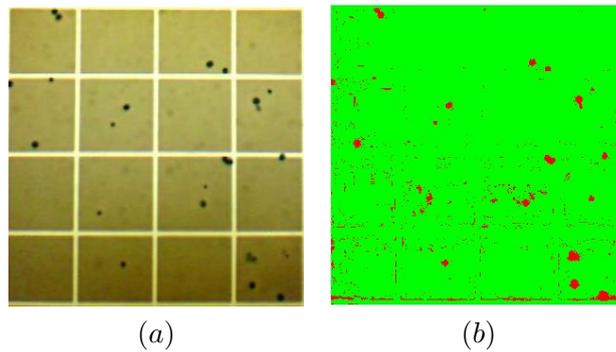


Figura 5.6: (a) Imagem original e (b) imagem segmentada com componente RGB.

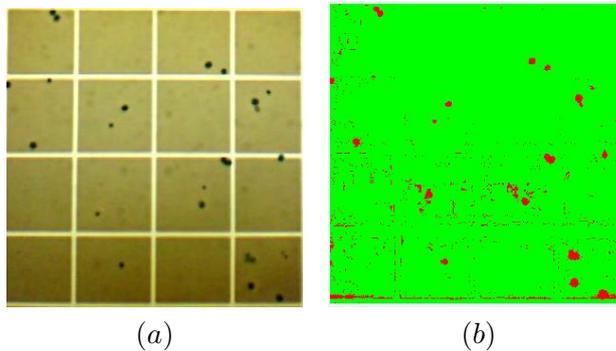


Figura 5.7: (a) Imagem original e (b) imagem segmentada com o componente HSB.

classe fundo e azul as leveduras. Pode-se observar que o erro está nas regiões de intersecção entre esses pontos. Possivelmente foram nessas regiões que o erro na classificação das classes ocorreu.

Método de Aprendizagem	a	b	classe
K2	33508	16990	a=levedura
K2	5545	70192	b=fundo

Tabela 5.6: Matriz de confusão da segmentação por tons de cinza com o algoritmo K2

Método de segmentação	C4.5	K2
TDC	82,30%	82,14%
RGB	98,25%	83,61%
HSB	98,32%	90,56%

Tabela 5.7: Porcentagem de acerto dos métodos utilizados.

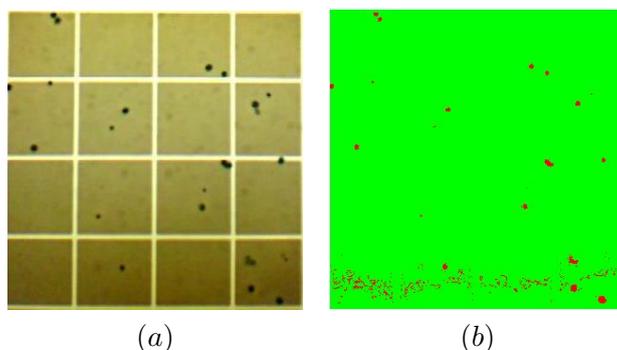


Figura 5.8: (a) Imagem original e (b) imagem segmentada com informações sobre tons de cinza.

5.4 *Template matching*

O *Template matching* realiza o casamento dos padrões estabelecidos. Como as classes, leveduras e fundo, são conhecidas essa técnica foi aplicada. Para os experimentos iniciais foi utilizado um *plugin* do ImageJ. Esses testes foram realizados a fim de detectar se a técnica seria interessante para a classificação das leveduras.

Os experimentos foram realizados com o *plugin* denominado *Create Template*. O *plugin* permite a criação de quatro tipos de *templates* e posteriormente realiza a correlação do *template* criado com a imagem. A Figura 5.13 (a) ilustra a imagem original e a 5.13 (b) o *template* para esse experimento. A correlação resulta em uma imagem, como ilustra a Figura 5.13 (c). Nessa correlação são evidenciados os pontos considerados alvos para a detecção. Com o resultado da correlação, operações são aplicadas e as regiões de interesse são encontradas, como mostra a Figura 5.13 (d). Nos experimentos realizados com esse *plugin* ocorreram alguns falsos/positivos

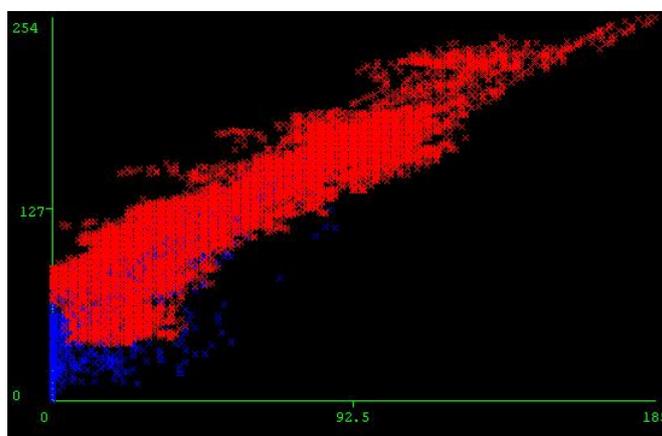


Figura 5.9: Gráfico com as informações dos componentes B e G

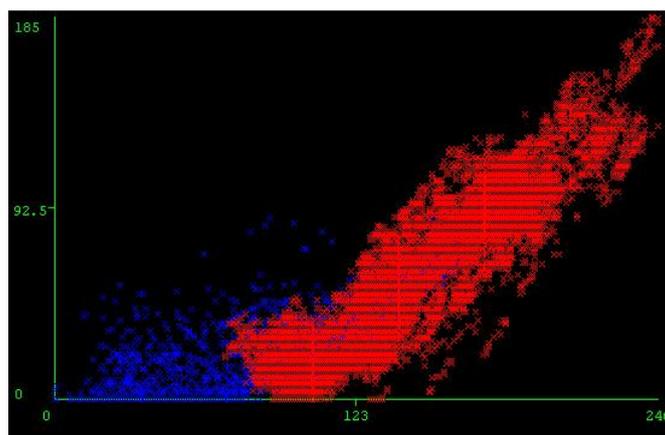


Figura 5.10: Gráfico com as informações dos componentes R e B

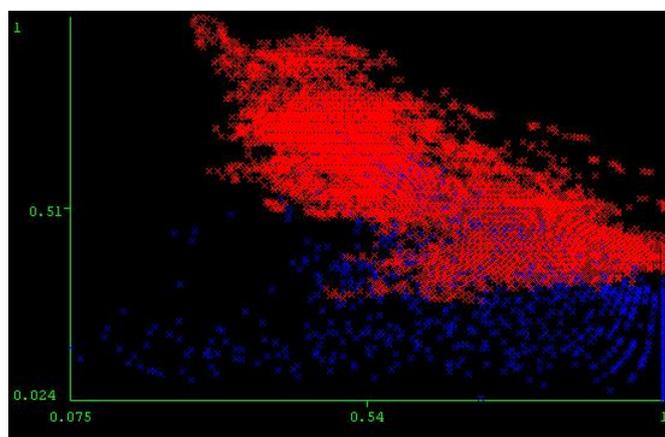


Figura 5.11: Gráfico com as informações dos componentes H e B

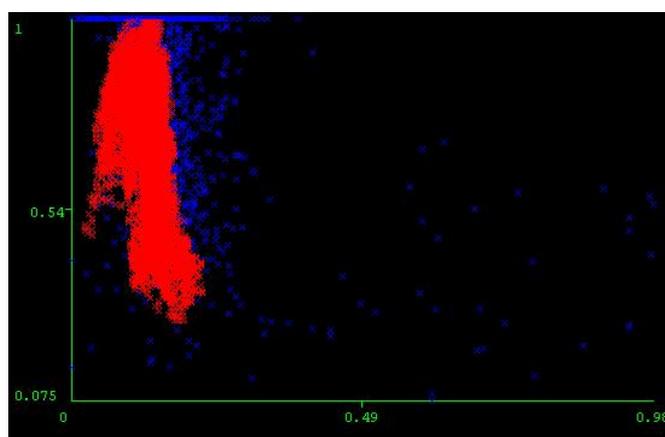


Figura 5.12: Gráfico com as informações dos componentes H e S

e falsos/negativos como ilustra a Imagem 5.13 (d). Esses falsos/positivos referem-se as regiões que o *plugin* marcou como levedura, mas pertencia ao fundo da imagem. Já os falsos/negativos são as regiões que apresentam leveduras e que as mesmas não foram encontradas.

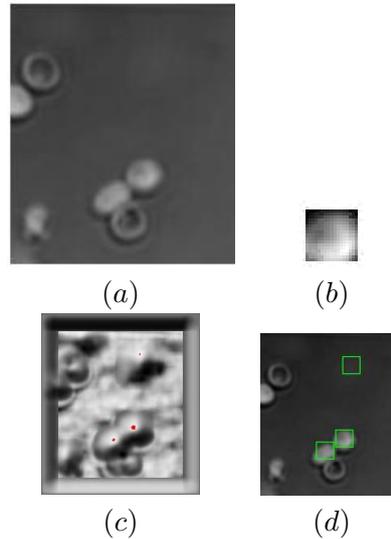


Figura 5.13: (a) Imagem original, (b) *Template*, (c) Resultado da correlação e (d) Resultado final.

Com o *plugin* pode-se observar que o mesmo realiza o casamento de apenas um *template* o que não é muito interessante quando tratamos de leveduras com formatos circulares que apresentam deformações. Analisando este tipo de microorganismos, uma base de treinamento com poucas variações possivelmente não conseguiria caracterizar uma classe. Como o projeto possui uma grande variedade de leveduras, foi implementado o *template matching* que permite a utilização de um maior número de *templates* e não apenas um como no *plugin Create a Template*.

Como analisado anteriormente o *template matching* pode realizar o casamento das leveduras (*templates*) capturados nas imagens do projeto. Para medir a semelhança entre as classes foram aplicadas a distância euclidiana e similaridade de cosseno.

A implementação realizada capturava um *template*, realizava a varredura da imagem e a cada deslocamento de X e Y , extraía um *template* da imagem original com as mesmas dimensões do *template* original. Com os dois *templates* do mesmo tamanho, as medidas de similaridade foram aplicadas.

Os *templates* originais foram capturados de maneira manual, desse modo a dimensão desses *templates* não estavam uniformes. Ao aplicar as medidas de similaridade, houve a necessidade de estabelecer um limiar usado como referência para o resultado obtido das medidas de similaridade. Para definir esse limiar as leveduras da mesma classe foram comparadas entre si. Para essa comparação a dimensão das leveduras deveriam ser iguais. Por isso, os *templates* foram redimensionados. Como não era conhecido a dimensão que seria mais interessante para o problema, foram estabelecidas três dimensões. Esses valores foram obtidos com a ordenação dos *templates* de forma crescente. Com as dimensões ordenadas, foram capturadas a menor, maior e média dimensão. Com esses valores os grupos foram criados e redimensionados.

Com o maior e menor valor das distâncias obtidas com a comparação das amostras, o limiar foi estimado capturando uma porcentagem da diferença entre os resultados máximos e mínimos. Para esses experimentos foram capturadas 50 amostras de leveduras viáveis e 52 amostras de leveduras inviáveis.

Quando um *template* é comparado a uma imagem, este realiza uma varredura nas imagens variando um *pixel* no eixo X e um *pixel* no eixo Y . Os valores do deslocamento dos eixos foram estimados experimentalmente. Ao analisar uma imagem, a cada posição dessa imagem, um *template* com as dimensões do *template* original é extraído. O *template* extraído possui as mesmas dimensões do *template* original. Com os dois *templates* é calculada a medida de similaridade entre eles. Os experimentos foram realizados com as imagens em tons de cinza e com modelos de cores RGB.

O limiar foi usado como referência para os experimentos com uma imagem real, ou seja, sem marcações. O valor do limiar que classificava qual *template* seria pertencente a classe levedura inviável ou viável. Se o valor obtido da comparação entre os dois *templates* atuais apresentassem resultado dentro do limiar proposto, eram considerados como pertencentes à classe em questão. O mesmo raciocínio foi seguido para os experimentos usando *templates* com componentes RGB. A distinção diz respeito ao cálculo de três diferenças e três limiares para cada *template*, já que foram analisados três componentes, sendo eles o R, G e B. Por exemplo, o componente R(*red*) do modelo de cor RGB do *template* original foi comparado com o componente R do novo *template* criado da imagem a ser analisada.

O resultado obtido apresenta a classificação de algumas leveduras e a presença de alguns falsos/positivos e falsos/negativos, as Figuras 5.14 (a) e (b) ilustram as imagens após a classificação. Na Figura 5.14 (a) mostra uma imagem com o reconhecimento de leveduras inviáveis. Os círculos amarelos são leveduras que não foram classificadas, os círculos vermelhos são das regiões marcadas incorretamente e os quadrados pretos são das células marcadas corretamente. A Figura 5.14 (b) mostra o reconhecimento de leveduras viáveis, seguindo a mesma legenda usada para as leveduras inviáveis.

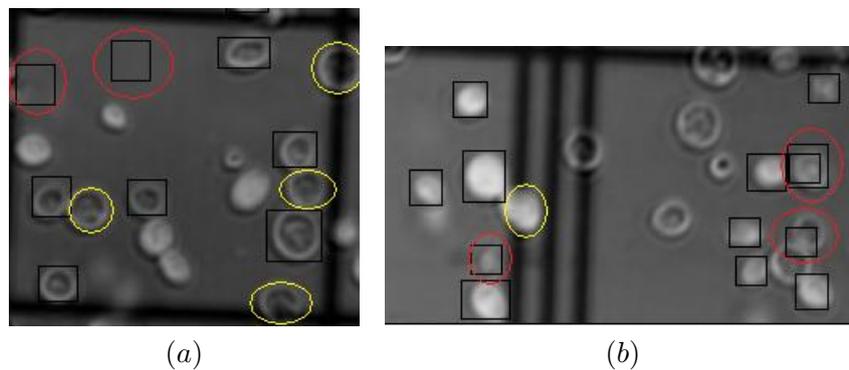


Figura 5.14: (a) Classificação de leveduras inviáveis, (b) Classificação de leveduras viáveis.

Capítulo 6

Considerações Finais

A análise microbiológica realizada durante a fermentação alcoólica ajuda os especialistas a manterem um controle entre o crescimento da população de bactérias e leveduras. Para realizar o controle microbiano, a contagem é feita de forma visual, esse trabalho além de ser exaustivo está muito sujeito à subjetividade humana.

Diante desse problema, surgiu o módulo de visão computacional do projeto BioViC, que tem como intuito desenvolver um sistema baseado em visão computacional que realize a contagem microbiológica. Para abordar esse problema, conceitos de processamento de imagens foram estudados a fim de encontrar a técnica que mais atenderá as necessidades desse problema.

Como este trabalho envolve áreas distintas, as informações referentes as classes encontradas na imagem como levedura, fundo e impureza foi obtida com certa facilidade. Por parte da equipe que desenvolveu o módulo de visão computacional do projeto BioViC, inicialmente, havia uma certa dificuldade de encontrar o número de leveduras marcadas pelos especialistas. Posteriormente, foi analisado que as leveduras se movimentam, sendo assim, no período entre a contagem dos microorganismos e a captura da imagem o número de leveduras encontrado poderia não ser o mesmo contado pelo especialista, porém a discrepância não poderia ser muito grande.

Na etapa inicial do projeto as imagens foram capturadas com um microscópio com iluminação sob a amostra. Nesse microscópio as leveduras eram muito pequenas, devido ao fato de estar presente na imagem o quadrante inteiro. Além do fato das imagens apresentarem uma coloração que tornava difícil a detecção de algumas viáveis. Já no microscópio com iluminação sobre a amostra, o quadrante era visualizado através de quatro imagens, cada uma com quatro campos de pequenos quadrados. Além dessa aproximação, a cor da imagem resulta numa melhor distinção entre os objetos. As Figuras 6 (a) e (b) ilustram uma imagem capturada pelo microscópio com iluminação sob e sobre a amostra, respectivamente. Para tentar amenizar os ruídos presentes na imagem capturada pelo microscópio com iluminação sob a amostra, foram aplicados filtros de suavização.

Os filtros conseguiram atenuar os ruídos, porém distorceram as imagens de algumas leveduras viáveis fazendo com que elas fossem confundidas com ruídos. A fim de tentar discriminar as leveduras do fundo da imagem foi aplicado a segmentação por *watershed*. Para a aplicação dessa segmentação foi necessário realizar a suavização da imagem para tentar impedir a ocorrência de *oversegmentation*.

Analisando a coloração das imagens foi aplicada a extração de atributos simples de cor. Os resultados foram interessantes para a classificação de leveduras inviáveis. Porém a classificação de leveduras viáveis tornou-se um problema. Com os resultados obtidos com atributos de cor, observou-se que o método de aprendizagem de máquina C4.5 apresentou a melhor taxa de acerto, de 98,32%, com o espaço HSB. Porém houve dificuldade na classificação de leveduras viáveis.

Com os testes realizados com um *plugin* do ImageJ foi observado que o *template matching*

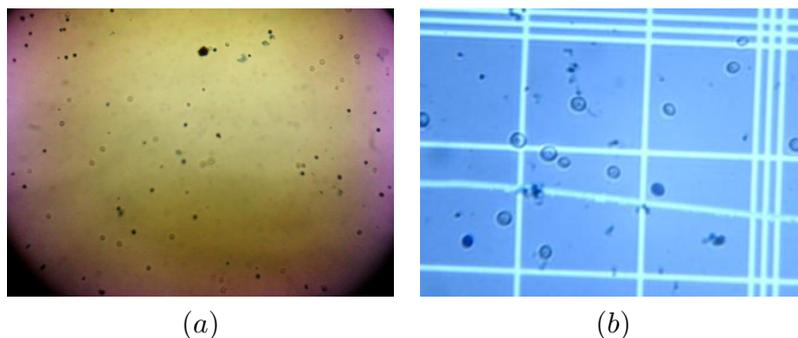


Figura 6.1: (a) Imagem do microscópio analógico e (b) Imagem do microscópio digital.

poderia ser uma técnica interessante para o reconhecimento das classes em questão. Como o *plugin* não permite a análise de vários *templates*, foi desenvolvido um algoritmo que realiza esse casamento de padrões e mede a semelhança entre os *templates* através da aplicação de medidas de similaridade. Os resultados foram, de certa forma, interessante para esse problema. Ao estudar o *template matching* foi observado que ele apresenta uma série de “ramificações”. No projeto o *template matching* foi implementado de maneira bem simples, ou seja, sem a aplicação de técnicas mais sofisticadas e foi observado o reconhecimento de algumas leveduras. Esses resultados foram importantes para que a linha de pesquisa para encontrar a técnica ou o conjunto de técnicas para serem aplicadas no reconhecimento de leveduras seja focado no uso do *template matching*.

Pretende-se dar continuidade ao desenvolvimento deste projeto. Uma etapa que deverá ser melhorada diz respeito à aquisição de imagens. Na etapa de captura foi observado que algumas imagens não são interessantes para este módulo, devido ao fato delas apresentarem um grande borramento que possivelmente é proveniente do momento de captura.

A imagem visualizada pelo microscópio e pelo computador apresenta uma diferença significativa no que diz respeito ao distinção das classes viáveis e inviáveis. Outra característica interessante na captura de imagens diz respeito ao ajuste de foco feito pelo especialista. Nas capturas iniciais, o mesmo especialista realizava o manuseio do microscópio e posteriormente outros especialistas fizeram parte do processo de captura. O ajuste de foco é realizado a fim de facilitar o reconhecimento visual do especialista. Com a mudança dos especialistas acarretou em uma certa dificuldade no reconhecimento visual por parte do desenvolvedor e a maior variedade de *templates* a ser criado.

Com este trabalho foi observado um avanço significativo em relação ao módulo de visão computacional do projeto BioViC. A documentação e o módulo de sistema de informação foram implementados. Técnicas de diferentes subáreas da visão computacional foram testadas. Com esses testes a técnica do *template matching* apresentou bons resultados no reconhecimento de leveduras viáveis e inviáveis. A segmentação por *watershed* conseguiu separar a maioria das leveduras em bacias, o que pode facilitar no reconhecimento destas, já que apenas as bacias serão varridas.

Como trabalhos futuros, também pretende-se relizar a implementação de técnicas mais sofisticadas no *template matching*, como por exemplo técnicas invariante a rotação, escala e translação. Pretende-se também realizar a contagem de bactérias viáveis e não viáveis. Experimentos que confrontem o erro obtido pelo módulo e pelo especialista serão realizados.

Estima-se realizar experimentos com um maior conjunto de técnicas de extração de atributos, a fim de conseguir caracterizar as classes de acordo características presente em cada classe. No que diz respeito ao módulo de sistemas de informação, pretende-se realizar testes de qualidade de *software*. Além de desenvolver uma documentação mais detalhada em relação ao projeto

implementado.

O impacto estimado com o desenvolvimento do BioViC diz respeito a automatização da contagem de leveduras. Com essa automatização o processo de contagem microbiológica pode ser realizado sem um desgaste muito grande do especialista. Haverá a participação deste especialista na etapa de captura do mosto, plaqueamento e ajuste da câmara no microscópio.

O desenvolvimento do módulo de visão computacional do BioViC terá continuidade. Estima-se que no mês de março técnicas mais robustas do *template matching* estarão presentes no projeto.

Anexo A

Diagramas de atividade do BioViC

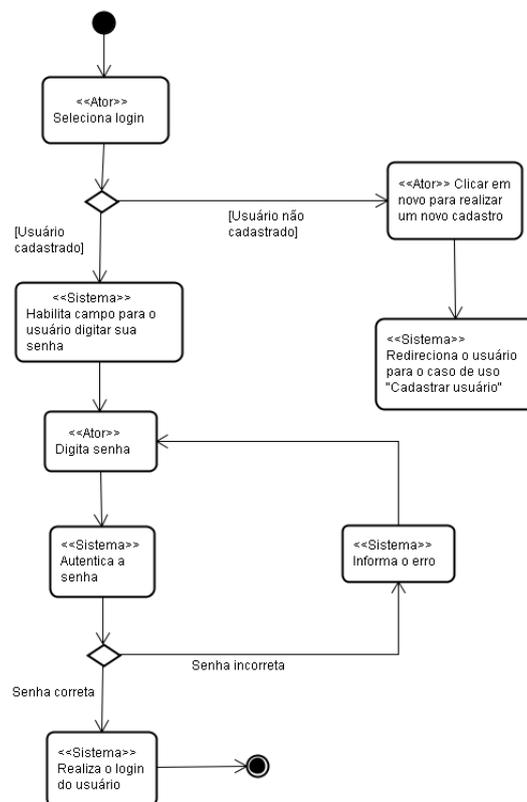


Figura A.1: Diagrama de atividade do caso de uso Autenticar usuário

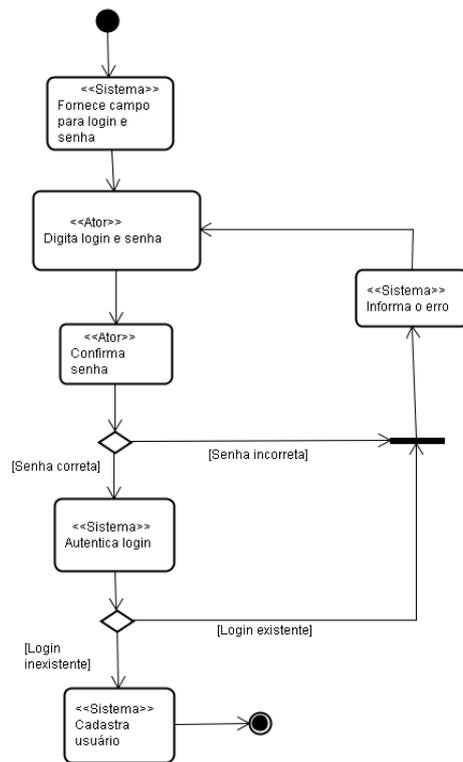


Figura A.2: Diagrama de atividade do caso de uso Cadastrar usuário

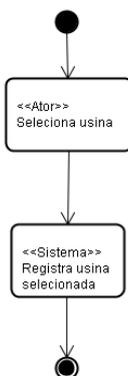


Figura A.3: Diagrama de atividade do caso de uso Selecionar usina

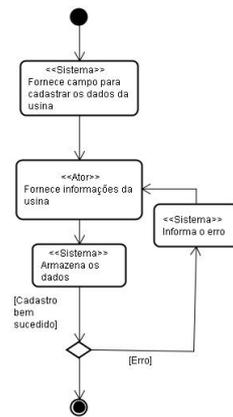


Figura A.4: Diagrama de atividade do caso de uso Cadastrar usina

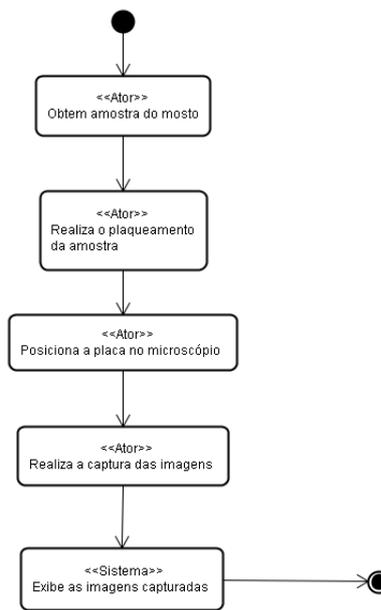


Figura A.5: Diagrama de atividade do caso de uso Capturar imagem

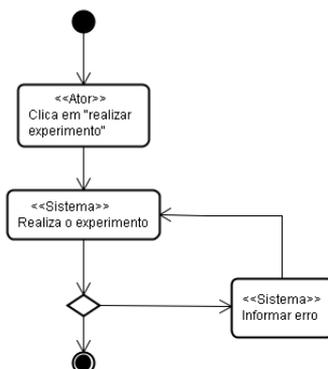


Figura A.6: Diagrama de atividade do caso de uso Realizar experimento

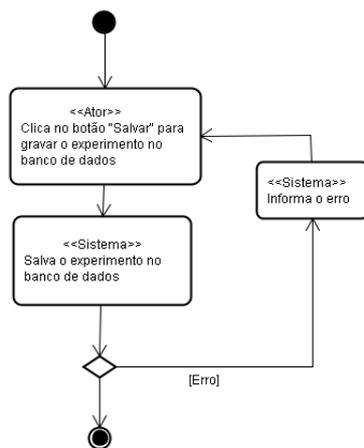


Figura A.7: Diagrama de atividade do caso de uso Gravar experimento

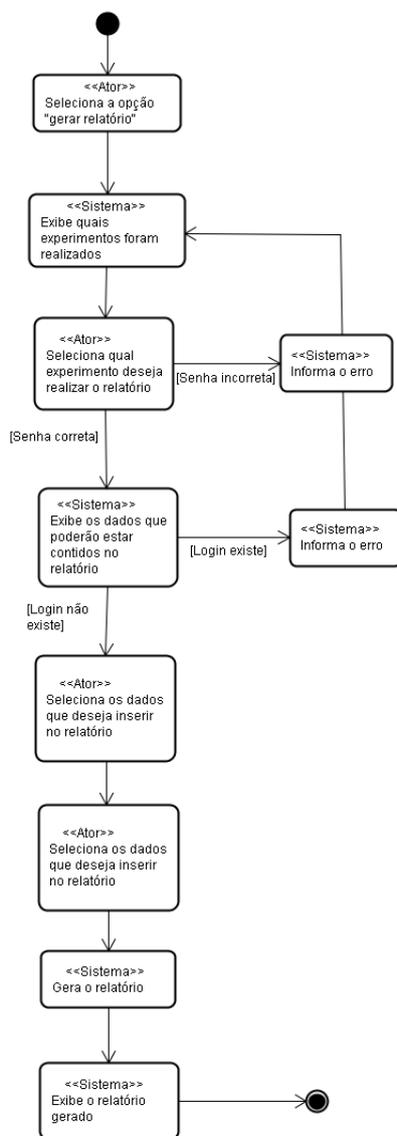


Figura A.8: Diagrama de atividade do caso de uso Gerar relatório

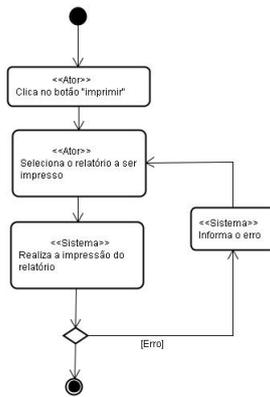


Figura A.9: Diagrama de atividade do caso de uso Imprimir relatório

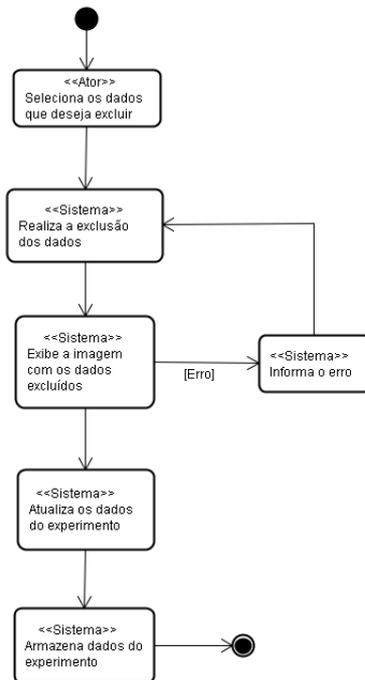


Figura A.10: Diagrama de atividade do caso de uso Alterar dados

Referências Bibliográficas

- [Ant04] S. R. C. Antonini. Métodos de análises e monitoramento microbiológico em laboratório de destilaria. Apostila para o curso de treinamento ministrado nas unidades de Iguatemi-PR, no período de 19 a 21 de fevereiro de 2004, e de Ivaté-PR, no período de 16 a 18 de fevereiro de 2004, pertencentes à Usina de Açúcar Santa Terezinha Ltda., 2004.
- [AOG04] N. C. Alvesa, A. C. Odorizzia, and F. C. Goulartb. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, marília, sp. *Scientific Electronic Library Online*, october 2004.
- [BSC07] R. O. Borges, R. A. A. Silva, and S. S. Castro. Utilização da classificação por distância euclidiana no mapeamento dos focos de arenização no setor sul da alta bacia do rio araguaia. In *XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, 2007.
- [CD92] Gregory F. Cooper and Tom Dietterich. A bayesian method for the induction of probabilistic networks from data. In *Machine Learning*, pages 309–347, 1992.
- [CFFCF01] F. Pinagé J. M. Aguiar. C. F. F. C. Filho, M. G. F. Costa. Quantificação automática da rigidez da borda da gota de sangue periférico em imagens de microscopia ótica. Maio 2001.
- [CFG+06] U. B. M. Carpinelli, P. L. Fiori, B. Golosio, A. Marras, G. L. Masala, and P. Oliva. A new automatic system of cell colony counting. In *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Tecnology*, volume 15, october 2006.
- [CJMP09] H. Cisneiros, M. S. Jacob, S. Mazza, and T. Pereira. Modelo de desenvolvimento ágil scrum. FIAP - Faculdade de Informática e Administração Paulista - <http://www.devin.com.br/arquivos/SCRUM.pdf>, 2009.
- [DSIG01] P. Demantova, D. G. Sakamoto, S. O. Ioshii, and H. R. Gamba. Automatic quantitation of cell colonies on petri dishes by computerized image analysis. 2001.
- [eSKM01] L. Lucchese e S. K. Mitra. Color image segmentation: A state-of-the-art survey, 2001.
- [Evi00] Paul Evitts. *A UML Pattern Language*. Macmillan Technical Publishing, 2000.
- [GA06] M. A. Guadagnini and M. S. S. Almeida. Fontes alternativas de energia uma visão geral. Pós Graduação Executiva em Meio Ambiente, 09 agosto de 2005 / 01 agosto de 2006, 14ª Turma, COPPE/UFRJ., 2006.
- [GW00a] R. C. Gonzalez and R. E. Woods. *Machine Vision Algorithms in Java - Techniques and Implementation*. first edition, 2000.

- [GW00b] R. C. Gonzalez and R. E. Woods. *Processamento de Imagens Digitais*. primeira edition, 2000.
- [Jun07] C. F. Junior. Efeitos de três concentrações de fermento (*saccharomyces cerevisiae*) na produção de etanol de caldo de cana (*sacharum officinarum*). Qualificação de Bacharel em Engenharia Agrônômica na Universidade Católica Dom Bosco Campo Grande - MS - Brasil, 2007.
- [Lag06] F. Lagemann. Análise de imagens microscópicas de revestimento compositório. Qualificação de Bacharel em Ciência da Computação no Centro Universitário Feevale, 2006.
- [LSB04] A. C. Lucarini, L. A. Silva, and R. A. C. Bianchi. Um sistema para a contagem semi-automática de microorganismos. *Pesquisa & tecnologia da FEI*, (26), 2004.
- [MMR09] R. M. Marcacini, M. F. Moura, and S. O. Rezende. Uma abordagem para seleção de grupos significativos em agrupamento hierárquico de documentos. *ENIA*, 2009.
- [NA02] M. S. Nixon and A. S. Aguado. *Feature Extraction & Image Processing*. Primeira edition, 2002.
- [Oli98] G. B. Oliveira. Energia, desenvolvimento e meio ambiente. *XXVI Congresso Brasileiro de Economia, Volume 3, Vitória: ANPEC*, 1998.
- [PO05] G. Peccini and M. C. Ornellas. Segmentação de imagens por watersheds: Uma implementação utilizando a linguagem java. [*REIC*] - *Revista Eletrônica de Iniciação Científica ANO V*, (IV), 2005.
- [Qui96] J. R. Quinlan. Improved use of continuous attributes in C4.5. *Journal of Artificial Intelligence Research*, 4:77–90, 1996.
- [RMS⁺04] A. C. Ribeiro, S. C. Marques, A. F. Sodr e, L. R. Abreu, and R. H. Piccoli. Controle microbiológico da vida de prateleira de ricota cremosa. *Scientific Electronic Library Online*, 2004.
- [RV07] R. C. B. Rodrigues and R. H. R. Viana. Máquinas de vetores de suporte aplicadas   classifica o de defeitos em couro bovino. Qualifica o de Bacharel em Engenharia de Computa o na Universidade Católica Dom Bosco Campo Grande - MS - Brasil, 2007.
- [SG07] J. A. Silva and W. N. Gonçalves. Modelos ocultos de markov aplicados na identifica o de comportamento de animais. Qualifica o de Bacharel em Engenharia de Computa o na Universidade Católica Dom Bosco Campo Grande - MS - Brasil, 2007.
- [SLA08] E. A. Silva, F. Leonardi, and G. A. Alberti. Aplica o de técnicas de morfologia matemática e pdi na extra o de drenagem em imagens digitais. 2008.
- [TM07] A. C. O. Tasca and A. C. Moura. Análise microbiológica da farinha de trigo (*triticum aestivum* l.) comercializada no município de cascav l - pr. Qualifica o de Bacharel em Ciências Biológicas na Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel/PR - Brasil, 2007.
- [WMCst] Q. Wu, F. A. Merchant, and K. R. Castleman. *Microscope Image Processing*. 2008, edition = First.