

Análisis de algoritmos de clasificación espectral para la identificación de nano-partículas en suspensión de sustrato de manglares.

Rodolfo Mora-Zamora*, Andreína Garro-Vargas[†], Diego Jiménez-Vargas[†] y Karolina Villalobos[‡]

*Escuela de Ingeniería en Computación, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro Académico de Alajuela. Email: rodmora@itcr.ac.cr

[†]Colaboratorio Nacional de Alta Tecnología, Centro Nacional de Alta Tecnología, Email: cnca@cenat.ac.cr

[‡]Laboratorio Nacional de Nanotecnología, Centro Nacional de Alta Tecnología

Resumen—El estudio de nanopartículas presentes en manglares es una avenida de conocimiento que permitirá en un futuro entender mucho mejor los mecanismos de filtrado de contaminantes en el agua de manglar. El Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC) captura cientos de imágenes de nanopartículas por medio de un microscopio de fuerza atómica. A partir de estas imágenes se puede obtener una caracterización de las partículas midiendo su número, concentración, distribución de tamaño y morfología. Actualmente las mediciones se hacen de forma manual, sin embargo dado el alto número de imágenes capturadas la necesidad de automatizar parte del proceso es imperante.

Este estudio propone acelerar parte del flujo de trabajo por medio de la clasificación automatizada de partículas utilizando algoritmos de clasificación espectral disponibles en la plataforma ENVI 5.1. Los mejores resultados de clasificación, reportando precisiones de más del 92 % en la separación de partículas del fondo, los presentaron los algoritmos no supervisados K-Means e ISO-DATA.

I. INTRODUCCIÓN

En el transcurso del 2016 un equipo de investigadores del Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC) capturó múltiples muestras de sedimento del suelo en tres manglares de la costa pacífica de Costa Rica: Tamarindo, Punta Morales y Lepanto. El objetivo del estudio es determinar la presencia y características de nanopartículas encontradas en el sedimento del manglar, formadas en condiciones naturales, con el fin de entender las propiedades filtradoras que estos ecosistemas poseen. Dichas nanopartículas provienen de organismos que se encuentran en dichos ecosistemas como microorganismos, algas, animales etc [1]. Se conocen muchos estudios sobre la presencia de nanopartículas en suelos [2], [3], sin embargo aquellos que tratan sobre la existencia de nanopartículas en suelos del mangle son reducidos

y enfocados a su presencia en plantas o microorganismos [4]. El estudio de sus propiedades podría permitir en un futuro crear nuevos sistemas de purificación de agua, entre otras aplicaciones [5]. Como parte de los pasos para la caracterización de las nanopartículas es necesario identificar su estructura física y su distribución en el sedimento observado, dichas partículas son de un tamaño tan reducido que es necesario el uso de equipos especializados como el microscopio de fuerza atómica (AFM) para ser identificadas, este equipo tiene el potencial de proporcionar imágenes con mediciones precisas del número, concentración, distribución de tamaño y morfológica de cada partícula [6].

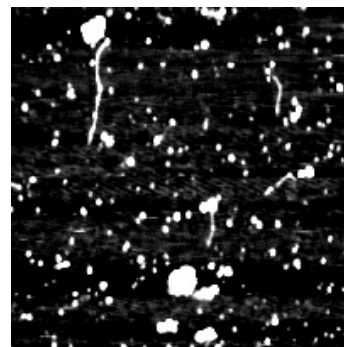


Figura 1. Imagen de suspensión de nanopartículas en manglar Recorte-Muestra 1I0002, LANOTEC (2016)

Si bien las mediciones pueden realizarse manualmente, un estudio de este tipo puede comprender cientos de imágenes, las cuales habría que analizar, consumiendo mucho tiempo de los investigadores. Por lo tanto automatizar parte del trabajo podría acelerar la investigación y ahorrar recursos significativamente. El primer paso sería determinar en la imagen cuáles píxeles corresponden a partículas y cuales no. Esta discriminación se puede alcanzar por medio de algún algoritmo de

clasificación automática, el objetivo de esta investigación es determinar cuál es el mejor algoritmo de clasificación automática, basado en píxeles, que permita extraer las partículas del fondo de la imagen y de otros elementos considerados ruido en la imagen.

Las imágenes del AFM tienen poca complejidad espectral (se componen de una sola banda de información y por lo tanto se pueden representar en escala de grises), lo cual puede causar problemas con algunos algoritmos de clasificación. El tamaño de las imágenes es de aproximadamente 200x200 píxeles, por lo que su clasificación demanda pocos recursos computacionales, pero la falta de detalle puede impactar negativamente el resultado. En la figura 1 aprecia la complejidad espectral y la distribución de partículas en una de las imágenes usadas en las pruebas.

II. METODOLOGÍA

II-A. Captura de las imágenes

Las imágenes de AFM se producen cuando la punta del microscopio mapea la superficie de la muestra. La aguja oscila constantemente, de arriba a abajo, sobre la muestra, cuando la aguja entra en contacto con la muestra vuelve a subir, cambiando la amplitud de la oscilación. Los cambios en la amplitud revelan la altura de la muestra en ese punto y son representados como cambios en la tonalidad de la imagen (donde blanco es el punto más alto de la muestra y negro la posición más baja). Esta escala revela la **topografía** o rugosidad de la muestra. Las imágenes de **fase** se producen cuando se guarda la frecuencia de la oscilación, no su amplitud. La frecuencia cambia según el material de la muestra. Por lo tanto las imágenes de fase dan información sobre los materiales que componen una muestra, con lo cual se puede realizar un mapeo químico de la superficie del material para detectar los diferentes compuestos de esta.

La imagen topográfica muestra algunas características correspondientes a la rugosidad superficial, en este caso brinda una noción sobre el tamaño y forma de las partículas. Por otro lado la imagen de fase permite una resolución inequívoca de los diferentes componentes del material [7], [8], [9].

II-B. Pruebas de clasificación

Para determinar cuáles algoritmos dan mejores resultados y cuáles condiciones de capturas de imágenes tienen mayor precisión de clasificación, es necesario realizar pruebas exhaustivas de varios algoritmos. En una prueba preliminar se escogieron algoritmos basados en píxeles de la familia disponible en el software ENVI

versión 5.1 (Exelis Visual Information Solutions, Boulder, Colorado)[10]. Específicamente se seleccionaron los siguientes algoritmos:

- No Supervisados
 - K-Medias
 - ISO-Data
- Supervisados
 - Mínima distancia
 - Distancia de Mahalanobis
 - Redes neurales
 - Máquinas de soporte vectorial

Dado que las imágenes sólo cuentan con una banda de información, los algoritmos Codificación binaria y Asignador de ángulo espectral no pudieron aplicarse ya que se requieren múltiples bandas para calcular los conjuntos de entrenamiento. El algoritmo Máxima verosimilitud no se pudo aplicar debido a un error de ejecución también atribuido a la baja complejidad espectral de las imágenes. Por último el algoritmo Paralelepípedo fue descartado debido a su baja tolerancia para incluir muestras que no hayan sido representadas en el conjunto de entrenamiento.

Por cada algoritmo se probaron distintos parámetros de ajuste con distintas imágenes de 2 grupos:

- Imágenes de topografía
- Imágenes de cambio de fase

En total se clasificaron 14 imágenes de suspensión de partículas, todas capturadas con el AFM de LANOTEC. Se obtuvo 1255 clasificaciones usando 6 diferentes algoritmos con distintas parametrizaciones cada uno.

II-C. Depuración y validación

Una vez obtenidas las clasificaciones, se analizaron los resultados visualmente y se detectó que las imágenes de fase producían ruido excesivo en el resultado clasificado, producto de los artefactos típicos de la representación de la imagen. El ruido produce problemas de sobresegmentación que afectan el conteo de partículas. Por esta razón se decidió descartar todas las clasificaciones producto de imágenes de fase.

Una vez depurado el conjunto de clasificaciones se aplicó la validación de las imágenes restantes utilizando la técnica de matriz de confusión con el objetivo de detectar los errores de omisión y comisión. Para esta validación se tomaron conjuntos de puntos potencialmente problemáticos, como puntos en los bordes de los objetos de interés, y muestras altamente representativas de la clase deseada, como puntos del interior de los objetos de interés. En la figura 2 se aprecian algunos ejemplos de puntos tomados para el conjunto de validación.

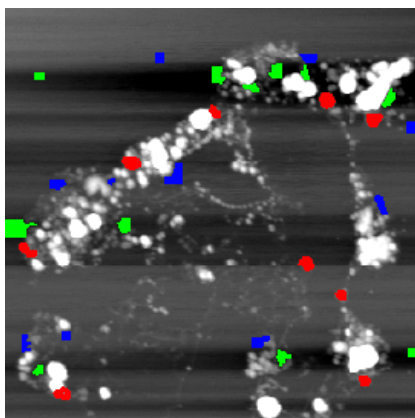


Figura 2. Regiones de interés para validación en la imagen Recorte 310007. El color verde representa el fondo de la imagen, el color rojo representa partículas de interés y el azul comportamientos que no son de interés

En la matriz de confusión las columnas representan los valores verdaderos, mientras que las filas corresponden a los valores clasificados, de esto se obtiene que la diagonal de la matriz contiene los valores que fueron clasificados correctamente. Al recorrer las columnas de la matriz se encuentran aquellos píxeles que pertenecen a una clase, pero fueron clasificados en otra, los cuales se llaman falsos negativos. Por otra parte si se recorren las filas de la matriz se obtienen los falsos positivos, que son los píxeles que fueron clasificados en una clase específica, pero en realidad pertenecen a otra [11].

A partir de la matriz de confusión se pueden obtener tres medidas de precisión. La primera de estas medidas es la precisión general, la cual se define como la suma de los verdaderos positivos entre el total de píxeles clasificados. Las otras dos medidas corresponden al cálculo del error por omisión y el error por comisión. El error por omisión se obtiene a partir de la suma de los falsos negativos, entre el total de píxeles verdaderos. Además, el error por comisión corresponde a la razón de el total de falsos positivos entre el total de píxeles clasificados [11].

III. RESULTADOS

Para cada algoritmo se buscó la combinación de parámetros con mejor precisión promedio a través de todas las imágenes, destacada como la parametrización ideal para dicho algoritmo. En el cuadro I se puede apreciar el promedio de la precisión general de cada algoritmo de clasificación con la mejor parametrización disponible. A partir de estos resultados se puede determinar que los algoritmos K-Medias y ISO-Data tienen mejor rendimiento con los parámetros descritos.

La figura 3 ilustra el resultado de una de las mejores clasificaciones con K-Means, usando la parametrización

Algoritmo	Precisión	Parámetros
K-Medias	92,72 %	C:2, I:10
ISO-Data	92,27 %	C:2-10, I:2
Mínima distancia	85,86 %	MDE: none, MSD: 5
Dist. de Mahalanobis	83,75 %	MDE: 100
Redes neurales	88,66 %	A: Logistic, HL: 1, I:1000
SVM	85,55 %	K: Radial Basis Function

Cuadro I

COMPARACIÓN DE CADA ALGORITMO CON LA PARAMETRIZACIÓN QUE REPORTÓ EL MEJOR PROMEDIO DE PRECISIÓN GENERAL EN LA CLASIFICACIÓN

Acrónimo	Significado
C	Cantidad de clases
I	Iteraciones
A	Método de activación
HL	Cantidad de capas ocultas
K	Kernel type
MSD	Máxima desviación estándar
MDE	Máxima distancia de error

Cuadro II

SIMBOLOGÍA DE LAS PARAMETRIZACIONES REPRESENTADAS EN EL CUADRO I

seleccionada, en contraste con la imagen original respectiva.

Para garantizar que los resultados dependen del algoritmo utilizado se sometieron las precisiones generales a una prueba de Análisis de Varianza, pero ni la variable, ni sus transformaciones, presenta distribución normal, por lo que se aplicó el homólogo Kruskal-Wallis para contrastar [12]. La prueba de ANOVA obtuvo el valor-p 2×10^{-16} , mientras que la prueba de Kruskal-Wallis obtuvo el valor-p $2,2 \times 10^{-16}$.

Ambas pruebas demuestran con alta significancia que la precisión obtenida depende del algoritmo aplicado. La prueba de comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis además arroja que los resultados entre las clasificaciones de K-Medias e ISO-Data no son diferenciables, por lo que ambos algoritmos pueden aplicarse indistintamente.

IV. CONCLUSIONES

Las imágenes de suspensión de nanopartículas capturadas con AFM pueden clasificarse usando algoritmos automáticos basados en píxeles. Por lo tanto es posible automatizar parte del proceso de caracterización de las partículas.

Los algoritmos K-Medias (con 2 clases y 10 iteraciones) y ISO-Data (con 2 a 10 clases y 2 iteraciones) obtuvieron los mejores resultados de clasificación, 92.72 % y 92.27 % respectivamente.

Las imágenes de topografía de la muestra son ideales para la aplicación de los algoritmos descritos en este

trabajo. Las imágenes de cambio de fase producen clasificaciones con ruido que no es posible procesar, por lo sus resultados fueron descartados.

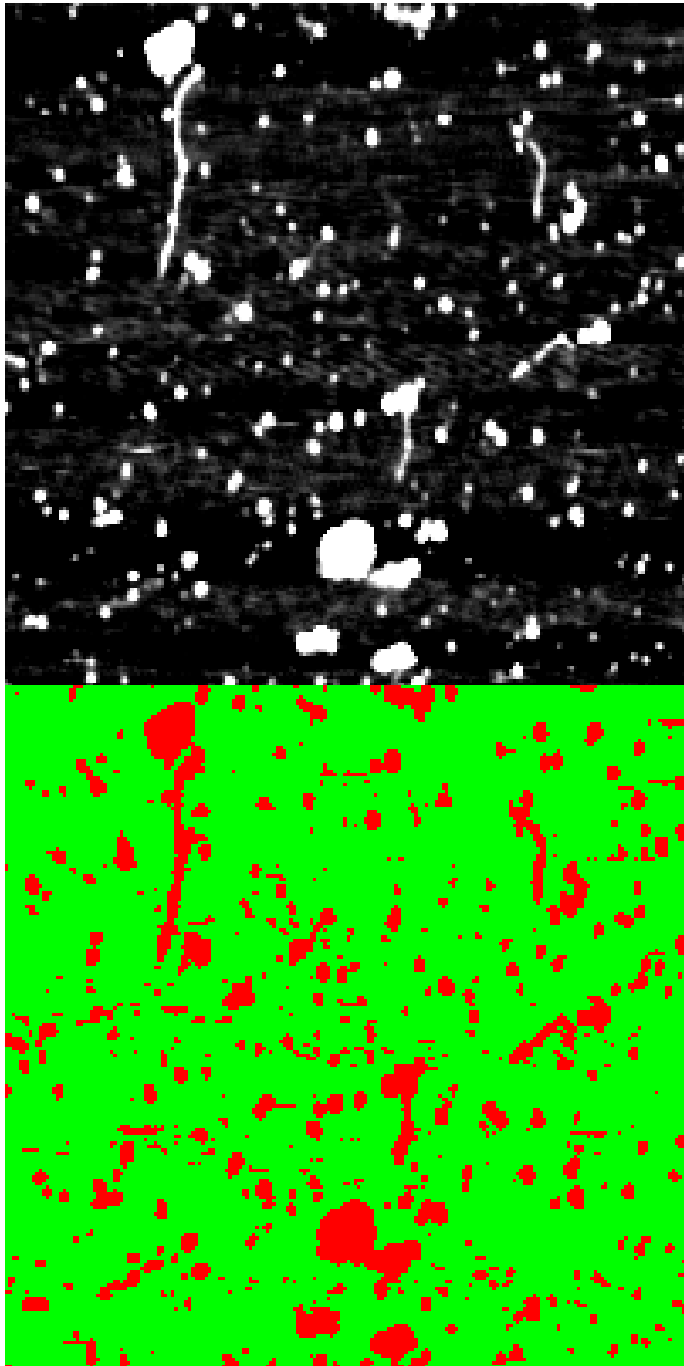


Figura 3. Superior: Imagen original Recorte-Muestra 1—0002, LANOTEC (2016). Inferior: Clasificación obtenida con la mejor parametrización del algoritmo K-Means, con precisión general 95.67 %

V. AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo agradecemos al LANOTEC por suministrar las imágenes y toda la colaboración

brindada durante la redacción del artículo, y al Laboratorio PRIAS por brindarnos el software especializado, así como por asesorarnos en aspectos técnicos de su uso.

VI. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS

- [1] N. Asmathunisha and K. Kathiresan, "A review on biosynthesis of nanoparticles by marine organisms," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 103, pp. 283–287, 2013.
- [2] G. Zhang, "Soil nanoparticles and their influence on engineering properties of soils," in *Advances in Measurement and Modeling of Soil Behavior*, 2007, pp. 1–13.
- [3] B. K. Theng and G. Yuan, "Nanoparticles in the soil environment," *Elements*, vol. 4, no. 6, pp. 395–399, 2008.
- [4] K. Kathiresan, S. Manivannan, M. Nabeel, and B. Dhivya, "Studies on silver nanoparticles synthesized by a marine fungus, penicillium fellutanum isolated from coastal mangrove sediment," *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, vol. 71, no. 1, pp. 133–137, 2009.
- [5] M. Soto, "Nanoestructuras de manglar inspirarán purificadores de agua," *La Nación*, vol. 4, no. 2, pp. 201–213, Jan. 2017. [Online]. Available: http://www.nacion.com/vivir/ciencia/Nanoestructuras-manglar-inspiraran-purificadores-agua_0_1609239073.html
- [6] M. Baalousha, A. Prasad, and J. Lead, "Quantitative measurement of the nanoparticle size and number concentration from liquid suspensions by atomic force microscopy," *Environmental Science: Processes & Impacts*, vol. 16, no. 6, pp. 1338–1347, 2014.
- [7] S. Magonov, V. Elings, and M.-H. Whangbo, "Phase imaging and stiffness in tapping-mode atomic force microscopy," *Surface science*, vol. 375, no. 2-3, pp. L385–L391, 1997.
- [8] M. C. Coen, G. Dietler, S. Kasas, and P. Gröning, "Afm measurements of the topography and the roughness of ecr plasma treated polypropylene," *Applied surface science*, vol. 103, no. 1, pp. 27–34, 1996.
- [9] N. A. Burnham and R. J. Colton, "Measuring the nanomechanical properties and surface forces of materials using an atomic force microscope," *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, vol. 7, no. 4, pp. 2906–2913, 1989.
- [10] M. Galloy. (2017) Classification (using envi). [Online]. Available: <https://www.harrisgeospatial.com/docs/Classification.html>
- [11] (2017) Calculate confusion matrices (using envi). [Online]. Available: <https://www.harrisgeospatial.com/docs/CalculatingConfusionMatrices.html>
- [12] W. H. Kruskal and W. A. Wallis, "Use of ranks in one-criterion variance analysis," *Journal of the American Statistical Association*, vol. 47, no. 260, pp. 583–621, Dec. 1952. [Online]. Available: <http://www.jstor.org/stable/2280779>