

# Classificação de Espécies de Fungos por Imagens Hiperespectrais utilizando Aprendizagem de Máquina

Adriel L. V. Mori<sup>1</sup>, Arlindo R. Galvão Filho<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Informática – Universidade Federal de Goiás (UFG)

adrielmori@discente.ufg.br, arlindogalvao@ufg.br

**Abstract.** *This work proposes the classification of four species of fungi using Hyperspectral imaging (HSI) and Machine Learning (ML). The HSI technique, which acquires spectral data quickly and non-destructively, is used to improve the identification of fungal species and automate manual processes in microbiological products. The study focuses on the differentiation of fungal species using HSI and supervised machine learning, achieving an accuracy of 97.12% with the Multilayer Perceptron (MLP) neural network classifier. The results highlight the potential of using ML and HSI in the differentiation of fungal species in clinical and microbiological environments.*

**Resumo.** *Este trabalho propõe a classificação de quatro espécies de fungos usando Hyperspectral imaging (HSI) e Machine Learning (ML). A técnica HSI, que adquire dados espectrais de forma rápida e não destrutiva, é usada para melhorar a identificação de espécies fúngicas e automatizar processos manuais em produtos microbiológicos. O estudo se concentra na diferenciação de espécies de fungos usando HSI e aprendizado de máquina supervisionado, alcançando uma acurácia de 97,12% com o classificador de rede neural Multilayer Perceptron (MLP). Os resultados destacam o potencial do uso de ML e HSI na diferenciação de espécies de fungos em ambientes clínicos e microbiológicos.*

## 1. Introdução

A tecnologia Hyperspectral Imaging (HSI) tem se destacado nos últimos anos como uma via promissora para a classificação não destrutiva e rápida de espécies de fungos. Esta técnica combina os princípios da espectroscopia e da imagem digital, permitindo a coleta de um espectro contínuo de dados de reflexão ou emissão de cada pixel numa imagem. Isso fornece um perfil espectral abrangente para cada pixel, oferecendo uma caracterização mais detalhada do objeto ou cena alvo [Gowen et al. 2015].

A vasta gama de estruturas celulares complexas, vias metabólicas e composições bioquímicas observadas em diferentes espécies de fungos contribui para a sua notável diversidade [Stahl and Klug 1996]. Consequentemente, a resposta espectral das espécies de fungos é influenciada por fatores como a composição das suas paredes celulares, a produção de pigmentos, a organização das estruturas celulares e as atividades metabólicas. Estas características partilhadas dão origem a assinaturas espectrais distintas e discerníveis que podem ser utilizadas para diferenciar e classificar espécies de fungos com precisão [Yao et al. 2005].

O uso de métodos baseados em HSI é comum na microbiologia, com aplicações variadas [Arrigoni et al. 2017], incluindo a classificação de fungos. Lu et al. [Lu et al. 2020] utilizaram HSI e Máquina de Vetores de Suporte, do inglês *Support Vector Machine* (SVM) para classificar estágios de crescimento fúngico em cereais, atingindo uma acurácia média de 98,89%. Yao et al. [Yao et al. 2008] propuseram um método não invasivo para inspecionar alimentos, identificando e diferenciando cinco isolados fúngicos patogênicos usando HSI, com uma acurácia média de 97,7%. Esta contribuição visa classificar quatro espécies de fungos distintas utilizando HSI em conjunto com várias técnicas de aprendizado de máquina. O objetivo é avaliar a capacidade de diferenciar os perfis espectrais obtidos de cada amostra fúngica. O estudo também apresenta uma comparação dos resultados de aprendizado em termos de acurácia. Espera-se que esta abordagem possa otimizar a identificação e triagem de infecções fúngicas, servindo como uma alternativa eficiente às técnicas convencionais que são demoradas e insalubres.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Preparação e Aquisição HSI das Amostras Fúngicas

Neste estudo, foram preparadas colônias isoladas de quatro espécies de fungos (*Aspergillus terreus*, *Candida albicans*, *Fusarium chlamydosporos* e *Penicillium spp.*) fornecidas pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, Brasil. As HSI dessas amostras foram captadas pela estação de trabalho SisuCHEMA, que opera na região do infravermelho de ondas curtas (SWIR) com um comprimento de onda de 900-2514 nm. A câmara SisuCHEMA (Specim, Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finlândia), localizada no laboratório de computação científica da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, é capaz de captar 320 pixels espaciais em 256 bandas espectrais a uma velocidade de leitura de 400 linhas por segundo. A calibração espectral foi realizada captando referências no painel branco e na corrente escura simultaneamente durante a aquisição.

### 2.2. Estudo de caso

Para aplicar uma correção de campo plano aos dados de imagem captados pela câmara espectral, é necessário conhecer a capacidade de resposta espacial da câmara em função das coordenadas do pixel [Kokka et al. 2019]. Para tal, a calibração e a correção da absorção HSI-SWIR foram efetuadas utilizando a calibração de campo plano (FFC) definida na Equação 1, conforme descrito abaixo:

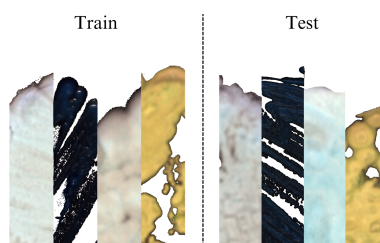
$$I_{i,j,\lambda} = -\log_{10} \left[ \left( \frac{S_{i,j,\lambda} - D_{j,\lambda}}{W_{j,\lambda} - D_{j,\lambda}} \right) \right] \quad (1)$$

onde  $j$  é uma variável de pixel do hipercubo,  $S_{x,j,\lambda}$  é a reflectância adquirida,  $W_{j,\lambda}$  é a imagem de referência branca e  $D_{j,\lambda}$  são imagens de referência escuras. Devido aos seus níveis relativamente elevados de ruído de fundo, as bandas de imagem de 900nm a 921nm e de 2357nm a 2514nm foram descartadas, obtendo-se um conjunto final de 230 bandas que foram amostradas nos comprimentos de onda SWIR.

Após a calibração e correção da imagem, a dispersão da luz, a informação de fundo e outros ruídos aleatórios podem ainda constituir um atraso. A aplicação da técnica

de pré-processamento utilizando o filtro de sinal Savitzky-Golay promove a redução do ruído, preservando os momentos de ordem superior do espectro da amostra original. Utilizando a suavização de mínimos quadrados, a técnica encontra um valor suavizado para cada ponto no espectro com base num ajuste de mínimos quadrados polinomial dentro de uma janela deslizante ponto a ponto. A variante normal padrão (SNV) é utilizada para reduzir as flutuações sistemáticas geradas devido à dispersão da luz [Savitzky and Golay 1964].

Nesta investigação, a diferenciação espectral é crucial para classificar cada pixel de amostra com base em suas características espectrais. Utilizamos algoritmos de aprendizado de máquina supervisionado, como a Árvore de Decisão (DT), Floresta Aleatória (RF), SVM e Perceptron Multicamadas (MLP). Esses algoritmos lidam eficientemente com grandes volumes de dados, identificam divisões ótimas, combinam resultados e procuram um hiperplano ótimo para uma classificação precisa [Gewali et al. 2018]. Cada espécie de fungo foi cultivada individualmente e emparelhada em placas separadas para treino e teste, sendo dispostas uma captura para treino, e outra para teste. Foram utilizados de todos os pixels HSI-SWIR da amostra de treino, como se mostra na Figura 1. Os algoritmos de aprendizado de máquina, incluindo DT, RF, SVM e MLP, foram otimizados através de uma pesquisa em grade para parâmetros específicos, como a profundidade máxima da árvore, o critério de qualidade da divisão, a força de regularização e a taxa de aprendizagem. Essa otimização visava equilibrar a adaptação aos dados de treino e a prevenção do sobreajuste, considerando o tamanho da entrada de pixels HSI.



**Figura 1. Imagens à escala RGB de pares duplos de culturas fúngicas separadas para as fases de treino e teste.**

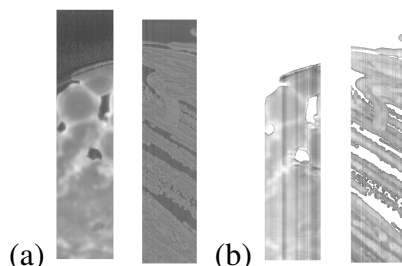
Todos os algoritmos de classificação são avaliados em termos de exatidão, conforme descrito na Equação 2 em que TP, TN, FP e FN são os verdadeiros positivos, os verdadeiros negativos, os falsos positivos e os falsos negativos, respectivamente.

$$Accuracy = \frac{TN + TP}{TP + FP + TN + FN} \quad (2)$$

### 3. Resultados e discussões

A partir dos dados coletados na SisuCHEMA, foi utilizado a técnica dos componentes principais (PCs) para enfatizar as discrepâncias de serapação dos dois primeiros componentes entre o meio de crescimento do ágar nutriente e a placa de manipulação das características espectrais por cada fungo. Sendo que, essa técnica foi aplicada somente na fase de extração de fundo como a exclusão dos pixels de fundo. Seguiu-se a aplicação do algoritmo de aprendizagem não supervisionada K-means, com k=2, em que os clusters

representam o fundo da placa e o fungo. Subsequentemente, o cluster que contém os dados fúngicos foi selecionado manualmente a partir da saída resultante, gerando o produto que contém apenas os pixels da região de interesse, como mostrado na Figura 2.

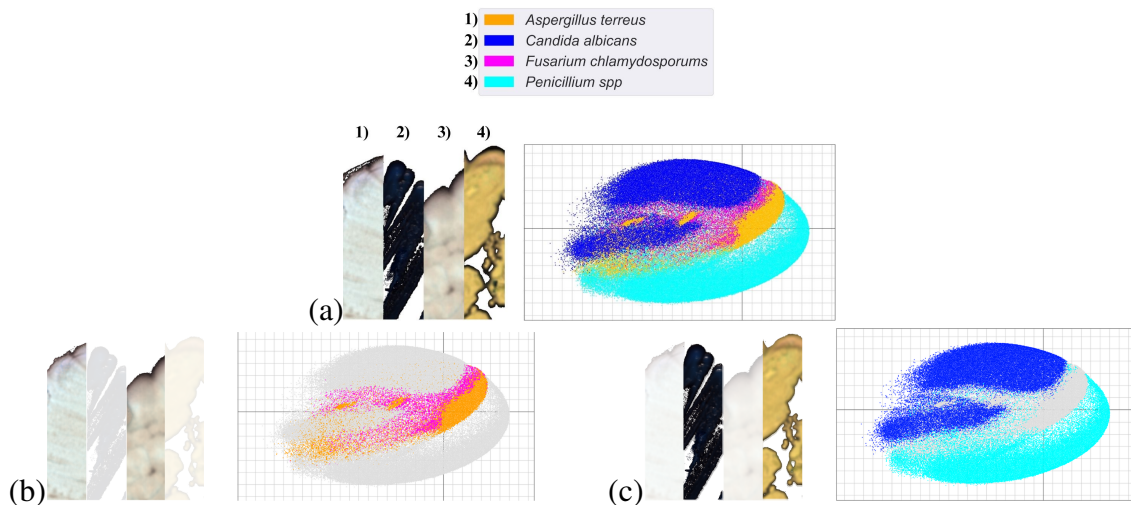


**Figura 2. (a) Duas amostras hiperespectrais em bruto, antes das técnicas de pré-processamento. (b) Capturas hiperespectrais após a remoção do fundo.**

As HSI-SWIR das quatro espécies de fungos passaram pelo processo de calibração e a correção de pseudo absorvância com FFC, bem como o processo de extração de fundo. O filtro Savitzky-Golay proposto tem um tamanho de janela de 21, e foram utilizados a primeira derivada e o polinômio de segunda ordem. Nesta abordagem, tornou-se oportuna a utilização conjunta dos filtros SNV e Savitzky-Golay. O filtro SNV ajuda a corrigir efeitos indesejados como flutuações sistemáticas geradas devido à dispersão da luz, enquanto o filtro Savitzky-Golay suaviza as curvas espectrais, reduzindo o ruído e os efeitos de linha de base.

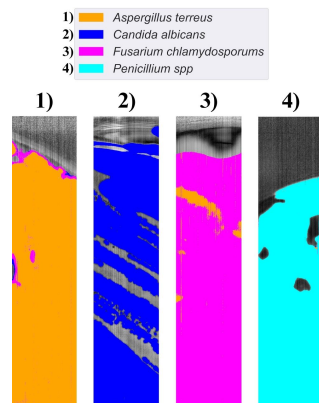
Após o pré-processamento dos dados HSI de fungos adquiridos, os píxeis HSI-SWIR resultantes das amostras de treino foram utilizados como entrada para os modelos de classificação propostos. Assim, utilizou-se o método de busca em grade, permitindo a identificação de configurações ótimas. A acurácia global dos modelos teve média superior a 97%. A acurácia mais baixa para *Candida albicans* foi de 99,38% ao usar o classificador DT, o que era esperado, pois é a única espécie de levedura no conjunto de dados amostrado dentro do grupo Fungi [Sibirny 2017]. O desempenho médio relativamente baixo do classificador DT pode ser atribuído à sua simplicidade em comparação com a complexidade dos dados HSI, uma vez que não tem a robustez necessária para lidar com entradas tão grandes. Por outro lado, os modelos RF, SVM e MLP mostraram melhores capacidades para captar relações não lineares complexas nos dados. Entre estes classificadores, o modelo MLP teve um melhor desempenho. A sua eficácia depende das várias configurações testadas, identificando a configuração ótima de três camadas ocultas com 236, 128 e 64 neurónios, taxa de aprendizagem calculada de forma adaptativa utilizando o algoritmo Adam [Sibirny 2017] como otimizador, ao longo de 300 épocas. Embora o MLP tenha alcançado uma maior acurácia média em comparação com outros classificadores, o desempenho variou quando avaliou espécies de fungos individuais, provavelmente devido à parametrização da taxa de aprendizagem, que visava encontrar um equilíbrio entre ajustar bem os dados e evitar o sobreajuste.

Os modelos classificadores demonstraram vários graus de sucesso na distinção entre as espécies de fungos, com *Candida albicans* e *Penicillium spp* sendo mais facilmente discerníveis, enquanto *Fusarium chlamydosporums* e *Aspergillus terreus* apresentaram um desafio. Esta observação é suportada pela Figura 4, representando os espectros médios de cada espécie após as etapas de pré-processamento, incluindo remoção de fundo e filtra-



**Figura 3. (a) Amostras de treinamento em PCs para quatro espécies estudadas. (b) Pixels HSI-SWIR para as espécies *Aspergillus terreus* e *Fusarium chlamyosporums* no gráfico de PCs. (c) Pixels HSI-SWIR para as espécies *Candida albicans* e *Penicillium spp* no gráfico de PCs.**

gem de sinal. A natureza distintiva do espectro *Penicillium spp* em comprimentos de onda acima de 1800 nm, está associada ao alongamento O-H e C-O, que são indicativos de carboidratos. A presença de uma estrutura CONH (ligação peptídica) é inferida a partir do comprimento de onda próximo a 2000 nm, potencialmente atribuída a proteínas. Por outro lado, o espectro *Candida albicans* desvia-se dos demais dentro da faixa de 920 a 1400 nm e 2100 nm, caracterizada pela banda de deformação C-H-CH<sub>3</sub> [Kingma and Ba 2014].



**Figura 4. Representação pixel a pixel dos valores de saída do melhor modelo classificador no resultado de precisão para as amostras de teste.**

Os espectros médios de *Fusarium chlamyosporums* e *Aspergillus terreus* exibem semelhança em toda a faixa de comprimento de onda. Esta observação alinha-se com a distribuição das amostras de fungos no plano euclidiano, a Figura 3c demonstra uma separação distinta entre os pixels HSI-SWIR das amostras de treinamento para *Candida albicans* e *Penicillium spp*, enquanto para *Fusarium chlamyosporums* e *Aspergillus terreus*, sobreposição significativa é observada em quase todas as distribuições, evidenciado na Figura 3b. Essa semelhança pode ser atribuída à semelhança bioquímica entre as membranas plasmáticas dessas espécies, incluindo sua composição de proteínas, carboidratos

e água [Williams et al. 2012].

#### 4. Conclusão

Em conclusão, este trabalho explorou a classificação de quatro espécies de fungos (*Aspergillus terreus*, *Candida albicans*, *Fusarium chlamydosporum* e *Penicillium spp*) usando HSI e aprendizado de máquina. O HSI permitiu a coleta rápida e não destrutiva de dados espectrais. Vários algoritmos de aprendizado de máquina foram comparados, com o Multi-layer Perceptron (MLP) alcançando a maior precisão de 97,12%. Os resultados sugerem que a combinação de HSI-SWIR e aprendizado de máquina pode otimizar a identificação e triagem de infecções fúngicas, oferecendo uma alternativa às técnicas convencionais que são demoradas e insalubres.

#### Referências

- Arrigoni, S., Turra, G., and Signoroni, A. (2017). Hyperspectral image analysis for rapid and accurate discrimination of bacterial infections: A benchmark study. *Computers in Biology and Medicine*, 88:60–71.
- Gewali, U. B., Monteiro, S. T., and Saber, E. (2018). Machine learning based hyperspectral image analysis: a survey. *arXiv preprint arXiv:1802.08701*.
- Gowen, A. A., Feng, Y., Gaston, E., and Valdramidis, V. (2015). Recent applications of hyperspectral imaging in microbiology. *Talanta*, 137:43–54.
- Kingma, D. P. and Ba, J. (2014). Adam: A method for stochastic optimization. *arXiv preprint arXiv:1412.6980*.
- Kokka, A., Pulli, T., Honkavaara, E., Markelin, L., Kärhä, P., and Ikonen, E. (2019). Flat-field calibration method for hyperspectral frame cameras. *Metrologia*, 56(5):055001.
- Lu, Y., Wang, W., Huang, M., Ni, X., Chu, X., and Li, C. (2020). Evaluation and classification of five cereal fungi on culture medium using visible/near-infrared (vis/nir) hyperspectral imaging. *Infrared Physics & Technology*, 105:103206.
- Savitzky, A. and Golay, M. J. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical chemistry*, 36(8):1627–1639.
- Sibirny, A. A., editor (2017). *Biotechnology of yeasts and filamentous fungi*. Springer.
- Stahl, P. D. and Klug, M. J. (1996). Characterization and differentiation of filamentous fungi based on fatty acid composition. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(11):4136–4146.
- Williams, P. J., Geladi, P., Britz, T. J., and Manley, M. (2012). Growth characteristics of three fusarium species evaluated by near-infrared hyperspectral imaging and multivariate image analysis. *Applied microbiology and biotechnology*, 96:803–813.
- Yao, H., Hruska, Z., DiCrispino, K., Brabham, K., Lewis, D., Beach, J., Brown, R. L., and Cleveland, T. E. (2005). Differentiation of fungi using hyperspectral imagery for food inspection. In *2005 ASAE Annual Meeting*, page 1. American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- Yao, H., Hruska, Z., Kincaid, R., Brown, R. L., and Cleveland, T. E. (2008). Differentiation of toxigenic fungi using hyperspectral imagery. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 2:215–224.