



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA ELÉTRICA
MESTRADO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

Adna Queiroz Sales

**Uso de redes neurais convolucionais para identificação de substâncias utilizando
imagens de sensores baseados em ressonância de plasmon de superfície**

MOSSORÓ

2024

Adna Queiroz Sales

**Uso de redes neurais convolucionais para identificação de substâncias utilizando
imagens de sensores baseados em ressonância de plasmon de superfície**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Engenharia Elétrica do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica.

Linha de Pesquisa: Sistemas de Controle e Automação.

Orientador: Leiva Casemiro Oliveira, Prof. Dr.

MOSSORÓ

2024

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

S163u Sales, Adna Queiroz.
Uso de redes neurais convolucionais para
identificação de substâncias utilizando imagens de
sensores baseados em ressonância de plasmon de
superfície / Adna Queiroz Sales. - 2024.
67 f. : il.

Orientador: Leiva Casemiro Oliveira.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Engenharia Elétrica, 2024.

1. Ressonância de plasmon de superfície. 2.
Sensor. 3. Processamento digital de imagens. 4.
Rede neural convolucional. I. Oliveira, Leiva
Casemiro , orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

Adna Queiroz Sales

**Uso de redes neurais convolucionais para identificação de substâncias aquosas
utilizando imagens de sensores baseados em ressonância de plasmon de superfície**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Engenharia Elétrica do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica.

Linha de Pesquisa: Sistemas de Controle e Automação.

Defendida em: 28/06/2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



LEIVA CASEMIRO OLIVEIRA

Data: 27/09/2024 09:19:22-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Leiva Casemiro Oliveira, Prof. Dr. (UFERSA)

Presidente

Documento assinado digitalmente



IDALMIR DE SOUZA QUEIROZ JÚNIOR

Data: 26/09/2024 14:31:22-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Idalmir de Souza Queiroz Júnior, Prof. Dr. (UFERSA)

Membro Examinador

Antonio Marcus Nogueira Lima, Prof. Dr. (UFCG)

Membro Examinador

Documento assinado digitalmente



ANTONIO MARCUS NOGUEIRA LIMA

Data: 26/09/2024 14:31:22-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

*Ao meu avô (in memoriam) e à minha mãe, por
significarem segurança e a certeza de que não
estou sozinha. Esta é uma forma mínima de
retribuir o investimento de vocês.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ser fonte de esperança de que tudo dará certo.

Agradeço à minha mãe, Maria Zuleide, por ser um exemplo de força e dignidade, e por ser responsável por meu caráter e educação.

Agradeço ao meu avô por ser a lembrança diária de amor.

Agradeço a toda a minha família, em especial, minha tia Maria Zenaide por ser uma segunda mãe; ao meu primo Jackson Luan, por servir de inspiração; e meu pai, Cezimar, pelo investimento.

Agradeço ao meu orientador, Leiva Casemiro, pela compreensão, orientação e correções. Talvez eu nunca tivesse estudado programação e não tivesse conhecido os sensores SPR, se não fosse pelo professor.

Agradeço ao professor Idalmir por ser um exemplo de pessoa e profissional, por sempre me escutar, incentivar e abrir portas para projetos como o TEMPLE.

Por fim, agradeço aos meus alunos do SENAI-RN, principalmente, os alunos da TEC-ELE-033 e TEC-ELE-074, pelo acolhimento, caronas e torcida.

“Nossas virtudes e nossos defeitos são inseparáveis, assim como a força e a matéria. Quando se separam, o homem deixa de existir.”

Nikola Tesla

RESUMO

Várias tecnologias vêm sendo propostas nas últimas décadas para realizar sensoriamento devido ao aumento da conscientização sobre o monitoramento e detecção de substâncias, à preferência por métodos não invasivos, à identificação em tempo real e à digitalização de informações. Dentre os sensores e biossensores existentes, os ópticos baseados no fenômeno físico da ressonância de plasmon de superfície (SPR, sigla em inglês para *Surface Plasmon Resonance*) são instrumentos bem estabelecidos para estudar interações moleculares em tempo real, em analitos aquosos ou gasosos. Os sensores SPR rastreiam a posição de ressonância através do valor mínimo de refletividade, obtido ao iluminar a estrutura multicamada. A luz refletida é o sinal captado por um detector de imagem, o qual gera uma imagem que pode ser utilizada diretamente para o sensoriamento ou usada para gerar curvas SPR que representam graficamente a ressonância. O presente trabalho busca apresentar um método de *deep learning* para identificar substâncias de diferentes índices de refração a partir da análise de imagens SPR. A pesquisa aqui desenvolvida utiliza do fato de que CNNs são propostas para aprender imagens e tomar decisões. Foram comparados o desempenho de 7 (sete) modelos de arquitetura de CNNs na classificação de imagens obtidas por um sensor SPR, de acordo com os índices de refração de substâncias aquosas. Para treinar, validar e testar essas arquiteturas, este trabalho criou um banco de imagens simuladas, baseadas em um modelo que relacionam o índice de refração, a posição de ressonância, distribuição pixel-ângulo e aplicação de processamento digital de imagens. Os modelos treinados foram salvos e validados com as imagens experimentais, comprovando que 5 (cinco) dos modelos sugeridos podem ser usados para classificar de forma rápida e simples imagens obtidas por sensor SPR.

Palavras-chave: Ressonância de plasmon de superfície; Sensor; Processamento digital de imagens; Rede neural convolucional.

ABSTRACT

Several technologies have been proposed in recent decades to perform sensing due to the increased awareness of substance monitoring and detection, the preference for non-invasive methods, real-time identification, and digitalization of information. Among the existing sensors and biosensors, optics based on the physics of surface plasmon resonance (SPR) are well-predicted instruments to study molecular interactions in real time, in aqueous or gaseous analytes. SPR sensors track the resonance position through the minimum reflection value, obtained by illuminating the multilayer structure. The reflected light is the signal captured by an image detector, which generates an image that can be used directly for sensing or used to generate SPR curves that graphically represent the resonance. This work aims to present a deep learning method to identify substances of different refractive indices from the analysis of SPR images. The research developed here uses the fact that CNNs are proposed to learn images and make decisions. The performance of 7 (seven) CNN architecture models in the classification of images obtained by an SPR sensor, according to the refractive indices of liquid substances, was compared. To train, validate and test these architectures, this work created a simulated image bank, based on a model that relates the refractive index, resonance position, pixel-angle distribution and application of digital image processing. The trained models were saved and validated as experimental images, proving that 5 (five) of the suggested models can be used to quickly and simply evaluate images obtained by the SPR sensor.

Keywords: Surface plasmon resonance; Sensor; Digital image processing; Convolutional neural network.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema indicando os elementos necessários para um sensor com configuração ATR-Kretschmann.	20
Figura 2 - Estrutura de um biossensor com quatro camadas.	22
Figura 3 - a) Sistema multicamadas na configuração de Kretschmann com 4 camadas. b) Ilustra a configuração das multicamadas em que (1) é o substrato óptico-prisma, (2) metal, (3) e (4) representam o analito e a amostra que o contém.	25
Figura 4 - Processo de calibração do sensor utilizando água como elemento biológico. a) Sinal do analito (Água). b) Sinal referência (Ar). c) Divisão dos dados adquiridos da Figura 4 a) pela Figura 4 b). d) Exibição da curva SPR normalizada em forma de gráfico: média das n linhas de pixels da Figura 4 c).	27
Figura 5 - Uma imagem monocromática convertida para o par de eixos (x, y).	29
Figura 6 - Exemplo de técnicas de IA.	31
Figura 7 - Ilustração de rede neural.	32
Figura 8 - Ilustração de uma rede neural convolucional.	34
Figura 9 - a) Imagem de entrada. b) Parte da matriz de pixel de a).	34
Figura 10 - Exemplos de pooling com passo da janela igual a dois.	35
Figura 11 - Fluxograma apresentando a metodologia deste trabalho.	38
Figura 12 - a) Esquema do sensor SPR baseado no PPBIO para o modo AIM. b) Fotografia da montagem experimental.	39
Figura 13 - <i>Script</i> para implementar os modelos de classificação de imagens.	44
Figura 14 - <i>Script</i> para treinar os modelos de classificação.	45
Figura 15 - <i>Script</i> para carregar modelo salvo.	45
Figura 16 - <i>Script</i> para apresentar a porcentagem correspondente a cada classe.	46
Figura 17 - Curvas SPR baseada em Fresnel para as substâncias do experimento.	47
Figura 18 - Curvas SPR baseada em Fresnel para RIU entre 1,33 e 1,35.	47
Figura 19 - Curva SPR com a relação refletividade-pixel. a) para H ₂ O. b) para PBS. c) para HIPO.	49
Figura 20 - Sequência de imagens para H ₂ O a) Imagem de Fresnel. b) Filtro Gaussian Blur com desvio de 25. c) Ruído Sal e Pimenta com percentagem de 0,01 em toda a imagem. d) Filtro Máximo com matriz 3 × 3. e) Filtro Gaussian Blur com desvio de 10.	50

Figura 21 - Sequência de imagens para PBS a) Imagem de Fresnel. b) Filtro Gaussian Blur com desvio de 25. c) Ruído Sal e Pimenta com percentagem de 0,01 em toda a imagem. d) Filtro Máximo com matriz 3×3 . e) Filtro Gaussian Blur com desvio de 10.	51
Figura 22 - Sequência de imagens para HIPO a) Imagem de Fresnel. b) Filtro Gaussian Blur com desvio de 25. C) Ruído Sal e Pimenta com percentagem de 0,01 em toda a imagem. d) Filtro Máximo com matriz 3×3 . E) Filtro Gaussian Blur com desvio de 10.	52
Figura 23 - Métricas de desempenho do modelo Xception. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.....	54
Figura 24 - Métricas de desempenho do modelo VGG19. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.	54
Figura 25 - Métricas de desempenho do modelo InceptionResNetV2. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.....	55
Figura 26 - Métricas de desempenho do modelo MobileNetV2. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.	55
Figura 27 - Métricas de desempenho do modelo DenseNet201. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.	56
Figura 28 - Métricas de desempenho do modelo NASNETLarge. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.	56
Figura 29 - Métricas de desempenho do modelo EfficientNetB7. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.	57
Figura 30-Imagens experimentais para as substâncias a) H ₂ O. b) PBS e c) HIPO.	58
Figura 31 - Comparação entre imagem experimental e imagem simulada para H ₂ O a) Em escala de cinza. b) Normalizada.	60
Figura 32 - Comparação entre imagem experimental e imagem simulada para PBS a) Em escala de cinza. b) Normalizada.	60
Figura 33 - Comparação entre imagem experimental e imagem simulada para HIPO a) Em escala de cinza. b) Normalizada.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição das camadas consideradas para simulação.....	40
Tabela 2 - Relação refletividade/pixel	41
Tabela 3 - Descrição dos filtros/ruído aplicados nas imagens de Fresnel.....	42
Tabela 4 - Modelos de arquiteturas CNNs presentes na API KERAS e indicação do parâmetro acurácia obtido com o dataset ImageNet.....	43
Tabela 5 - Dados para relação pixel-ângulo.....	48
Tabela 6 - Quantidade de imagens resultantes do PDI.....	53
Tabela 7 - Desempenho das CNNs.....	53
Tabela 8 - Porcentagem para classificação da imagem experimental de H ₂ O (RIU=1,33001).	58
Tabela 9 - Porcentagem para classificação da imagem experimental de PBS (RIU=1,33151).	59
Tabela 10 - Porcentagem para classificação da imagem experimental de HIPO (RIU=1,334501).	59

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
1.1.	Justificativa	15
1.2.	Objetivos geral e específico	17
1.2.1.	Objetivo geral.....	17
1.2.2.	Objetivos específicos	18
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1.	Sensor SPR.....	19
2.2.	Fenômeno SPR.....	22
2.3.	Modelo matemático.....	24
2.4.	Morfologia da curva SPR.....	26
2.4.1	Normalização da curva SPR.....	28
2.4.2.	Detecção do ângulo de ressonância.....	28
2.4.3.	Relação pixel-ângulo.....	28
2.5.	Processamento digital de imagem.....	29
2.6.	Rede neural convolucional.....	31
2.6.1.	Camada de entrada	34
2.6.2.	Camada convolucional	34
2.6.3.	Camada de agrupamento (<i>Pooling</i>).....	35
2.6.4.	Regularização.....	36
2.6.6.	Aprendizado por transferência (<i>Transfer learning</i>)	36
2.6.7.	Camada totalmente conectada.....	37
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1.	Geração de imagens	38
3.1.1.	Imagens experimentais.....	38
3.1.2.	Imagens simuladas	40
3.2.	Construção e treinamento das CNNs	43

3.2.1. Camada de entrada	43
3.2.2. Arquiteturas.....	43
3.2.3. Parâmetros de treinamento	44
3.3. Validação das CNNs	45
4. RESULTADOS.....	47
4.1. Imagens simuladas	47
4.2. Arquiteturas das CNN	52
4.2.1. Camada de entrada	52
4.2.2. Desempenho das CNNs.....	53
4.3. Identificação de substâncias com imagens experimentais	57
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
REFERÊNCIAS	63

1. INTRODUÇÃO

1.1. Justificativa

Durante as últimas décadas, houve um avanço significativo no desenvolvimento de sensores e biossensores ópticos para quantização de eventos de interesse químico e biológico. De acordo com Carvalho et al. (2003), uma variedade de sistemas ópticos de detecção estão sendo utilizados em sensores e biossensores, incluindo, entre outros, elipsometria, espectroscopia (luminescência, fosforescência, fluorescência e Raman), interferometria (interferometria de luz branca, interferometria modal) e a ressonância de plasma de superfície (SPR, sigla em inglês para *Surface Plasmon Resonance*).

A ressonância de plasmon de superfície é uma técnica de medição óptica já bastante estabelecida, empregada preferencialmente na detecção de eventos bioquímicos sem a necessidade de marcadores (HOMOLA et al., 1999). Essa técnica permite o cálculo das cinéticas de interações biomoleculares em tempo real, com um alto grau de sensibilidade. Os sensores baseados em SPR possibilitam métodos não destrutivos de análise de substâncias, produzindo informações espaciais e temporais detalhadas. Dessa forma, possibilitam o desenvolvimento de transdutores ópticos portáteis, baratos e rápidos se comparados a outras tecnologias (OLIVEIRA, 2016).

O método de sensoriamento SPR tem sido aplicado ao monitoramento de microfluidos (NEFF et al., 2006), a difusão molecular (LOUREIRO et al., 2011) e a reações catalíticas de superfície (LARSSON et al., 2009). Outros exemplos em que os sensores SPR são empregados são citados por Oliveira (2016), como: identificação de interações antígeno-anticorpo, aplicações forenses, triagem de drogas e reações enzimáticas.

O funcionamento de um sensor SPR consiste em iluminar uma estrutura multicamada sob certas condições e capturar a luz refletida. Quando um feixe de luz com ângulo e comprimento de onda definido é emitido por uma fonte de luz e incide sobre a superfície do sistema multicamada, parte da energia da luz é dispersada para excitação do fenômeno SPR, resultando em um sombreamento no feixe refletido.

Os sensores SPR rastreiam a posição de ressonância através do valor mínimo de refletividade obtido ao iluminar a estrutura multicamada. A luz refletida é o sinal captado por um detector de imagem, o qual gera uma imagem que pode ser utilizada diretamente para o sensoriamento ou para gerar de forma gráfica a ressonância, denominada curva SPR. O ângulo que produz a intensidade de luz mínima em uma curva SPR é chamado de ângulo de ressonância

e é determinado com ajuste de curva para a curva SPR em uma pequena faixa de ângulos de incidência.

Os sensores SPR surgiram como ferramenta de análise popular, usadas sem marcação para detectar mudanças no índice de refração ou espessura de uma camada absorvida sobre ou próxima ao filme, com alta sensibilidade em tempo real. No entanto, o desempenho na medição SPR ainda requer melhorias para análises de dados confiáveis e de alta velocidade (JANG et al., 2015). A escolha da estratégia de processamento do sinal, a técnica usada para extração de características da curva SPR e supressão de deficiências apresentadas pelo uso de detectores ópticos (sensores de imagem) de baixa qualidade são aspectos a serem estudadas.

A determinação precisa da mudança da profundidade da curva SPR é limitada, na prática, por fatores como ruído na detecção eletrônica e desvio da fonte de luz. Para a determinação do ângulo de ressonância de uma curva SPR, vários métodos de ajuste foram propostos e relatados na literatura. Dentre esses métodos é possível citar o método centroide, o algoritmo dinâmico de linha de base, o ajuste de curva polinomial e o método de regressão paramétrica ponderada localmente (WANG et al., 2011).

Como a precisão do sensor SPR depende da precisão da medição da posição do ângulo de ressonância, além dos métodos de ajuste de curva, são relatados algoritmos para melhorar a extração de dados da curva e para selecionar melhor a região de interesse da imagem. Em Aguiar et al. (2022), por exemplo, é proposto o processamento de imagem digital de domínio espacial, combinado com a abordagem de segmentação de dados estatísticos, para aprimorar a extração da curva SPR e, consequentemente, aumentar o desempenho em termos de sensibilidade da posição de ressonância.

Algoritmos que utilizam técnicas de Inteligências Artificial (IA) também são sugeridos com a finalidade de desenvolver ou melhorar a qualidade dos sensores SPR. Como por exemplo, Freitas et al. (2023) apresentam a inclusão de instrumentação eletrônica moderna capazes de executar algoritmos robustos baseados em técnicas de aprendizagem de máquina e aprendizado profundo para processar respostas SPR. Batista et al. (2021) usam Redes Neurais Artificiais (RNA) para remover ruídos da instrumentação do sensor, a partir da filtragem de curvas SPR, visando uma melhora no desempenho das medições SPR.

Na literatura, é possível encontrar estudos que usam as imagens obtidas pelos sensores SPR em rede neural convolucional (CNN, sigla em inglês para *Convolutional Neural Network*) para melhor detectar mudanças no índice de refração ou espessura de uma camada. Em Thadson et al. (2022), é apresentado o uso de uma CNN empregada para detecção da posição de ressonância em curvas SPR, a partir de imagens extraídas de vídeos e dados simulados para

diferentes índices de refração do ar para diferentes pressões de nitrogênio: 5 psi, 40 psi, 110 psi, 130 psi e 150 psi. Já Wu et al. (2022) usam o modelo DenseNet para classificar rapidamente diferentes concentrações de albumina sérica bovina (BSA). Wang et al. (2021) propõem processar dados de um biossensor de ressonância de plasmon de superfície localizada (LSPR, sigla em inglês para *Localized Surface Plasmon Resonance*) em imagens coloridas, que serão transferidas para o modelo de rede VGG16 para extrair características e classificar, de modo a obter informações para padronizar o processo de fabricação do biossensor.

Com base nos trabalhos citados anteriormente e no relato de Wang et al. (2021), que cada vez mais estudiosos têm aplicado algoritmos de aprendizagem profunda em vários campos, sendo a CNN uma das mais importantes nessa área, devido à sua capacidade de extrair características, podendo ser aplicada no reconhecimento de imagens e classificação de imagens, o presente trabalho realiza uma comparação do desempenho de arquiteturas de CNNs na classificação de imagens SPR, utilizando imagens de substâncias aquosas com diferentes índices de refração. A pesquisa aqui desenvolvida explora o fato de CNNs serem projetadas para aprender a partir de imagens e tomar decisões, visando identificar substâncias de diferentes índices de refração por meio da análise de imagens SPR. Assim, o trabalho propõe um método eficiente, rápido e sem necessidade de pós-processamento sofisticados, instrumentação óptica complexa e/ou métodos de ajuste de curva polinomial para detectar substâncias utilizando um sensor SPR.

As arquiteturas de CNNs analisadas são Xception, VGG19, InceptionResNetV2, MobileNetV2, DenseNet201, NASNetLarge e EfficientNetB7. Essas redes foram escolhidas por serem modelos padrões disponíveis na API Keras (2024) e por apresentarem alta precisão dentro de seus respectivos grupos. Para treinar, validar e testar essas arquiteturas, este trabalho criou um banco de imagens simuladas com base em um modelo que relaciona o índice de refração, a posição de ressonância e a distribuição pixel-ângulo. Testes com imagens obtidas experimentalmente também foram realizados a fim de validar o desempenho de classificação das redes.

1.2. Objetivos geral e específico

1.2.1. Objetivo geral

Aplicar redes neurais convolucionais para identificar substâncias de diferentes índices de refração a partir de imagens SPR.

1.2.2. Objetivos específicos

- i) Selecionar e analisar as imagens experimentais obtidas por um sensor SPR.
- ii) Gerar imagens a partir de curvas SPR teóricas com base na análise de Fresnel.
- iii) Aplicar técnicas de processamento digital de imagem nas imagens obtidas por simulação.
- iv) Comparar as imagens simuladas com imagens experimentais.
- v) Desenvolver modelos de CNNs para classificar imagens SPR com *dataset* formado por imagens simuladas.
- vi) Analisar os parâmetros dos modelos de CNNs.
- vii) Validar os modelos de CNNs usando imagens experimentais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Neste capítulo, aborda-se de forma sucinta o embasamento teórico necessário para a compreensão e elaboração da proposta do trabalho. São discutidos conceitos como a definição de sensor SPR, o fenômeno SPR, o modelo matemático, a curva SPR, o processamento digital de imagem, a inteligência artificial e as redes neurais convolucionais.

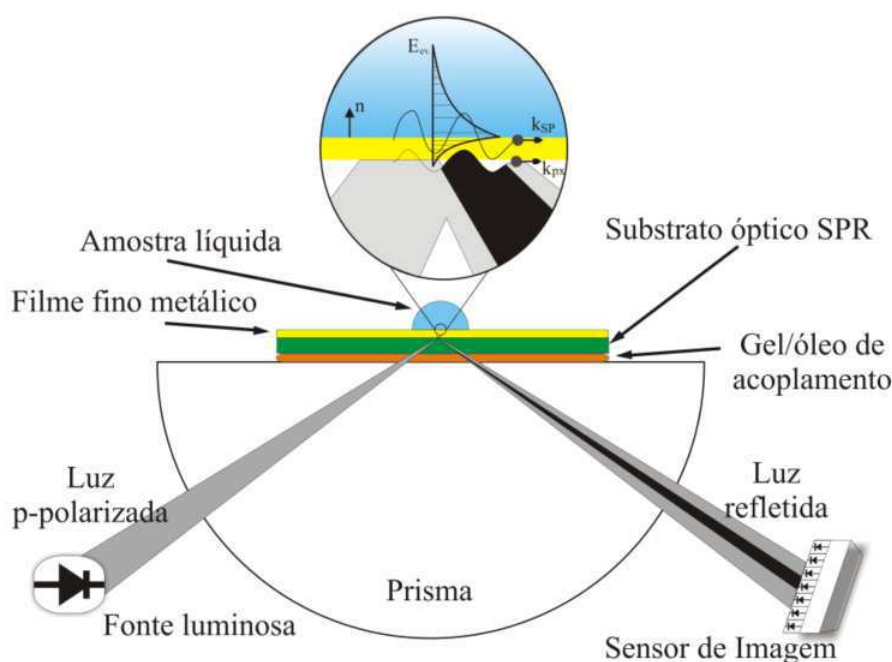
2.1. Sensor SPR

O fenômeno que ocorre quando uma luz polarizada incide sobre uma grade de difração metálica foi observado pela primeira vez por Wood (1902), que interpretou a variação na intensidade de luz difratada como uma anomalia. Posteriormente, Fano (1941) explicou o fenômeno como sendo causado pelo acoplamento de ondas eletromagnéticas à superfície da grade de difração, e Ritchie et al. (1968) descreveram a polarização da luz por grades de difração em termos de ressonância de plasmons de superfície.

Um método prático e comumente utilizado para excitar o plasmon de superfície foi inicialmente sugerido por Kretschmann (LIEDBERG et al., 1995). Nesse método, a luz incide em um vidro (prisma) acoplado a uma superfície metálica sob condições de reflexão total (ATR, sigla em inglês para *Attenuated Total Reflection*). Na estrutura proposta por Kretschmann, mostrada na Figura 1, o metal é depositado diretamente sobre o prisma. Conforme Liedberg et al. (1995), essa configuração é adequada tanto para fins de detecção de gases quanto para detecção biomolecular e pode, por exemplo, ser usada para análise de interações bioespecíficas em tempo real, sem a necessidade de moléculas marcadas.

De acordo com Oliveira (2016), a configuração sugerida por Kretschmann é amplamente utilizada em dispositivos SPR por simplificar a instrumentação do sensor e facilitar a troca da amostra em análise. Como os sensores SPR exploram as características de arranjos multicamadas de diferentes materiais, a Figura 1 indica os principais elementos que os compõem e os materiais que dão suporte aos plasmons, ou seja, um sistema multicamadas formado por substrato óptico, prisma, metal e amostra (substância).

Figura 1 - Esquema indicando os elementos necessários para um sensor com configuração ATR-Kretschmann.



Fonte: Oliveira (2016).

A escolha dos materiais que irão compor a multicamada é fundamental para obtenção de uma boa resposta SPR. O tipo de metal e do material opticamente transmissivo utilizado definirão as condições de ressonância para uma determinada substância. Por isso, a caracterização da resposta SPR com os materiais escolhidos deve ser realizada previamente, a fim de verificar a qualidade do sensor a ser desenvolvido e as condições em que ele deve operar. Além disso, especificações técnicas relacionadas ao espectro de excitação, tipo de fonte de luz, tipo de detector óptico, dimensões, ângulos e geometria do caminho óptico também influenciam a viabilidade do uso de determinados materiais para compor a multicamada (OLIVEIRA, 2016).

O meio opticamente transmissivo do arranjo multicamadas, denominado de substrato óptico, é o caminho óptico percorrido pela onda eletromagnética incidente (a luz), sobre o qual o material metálico é depositado. Assim, os diferentes arranjos de materiais para o par substrato/metal define o ângulo de incidência e o comprimento de onda do acoplamento da luz incidentes com os plasmons.

Com base no esquema apresentado e nas teorias citadas, o funcionamento de um sensor SPR pode ser explicado, de acordo com Freitas (2022), da seguinte forma: quando um feixe luminoso incide sobre a superfície de um prisma com alto índice de refração, em situação ideal, parte dessa luz é absorvida pelo metal-dielétrico, e outra parte é refletida de volta para o prisma.

Isso ocorre devido o surgimento do campo evanescente e interação da energia luminosa com as ondas de plasmon de superfície. Por meio dessa interação da onda eletromagnética com os materiais, observa-se a dispersão da onda de plasmon de superfície, o que provoca uma atenuação na reflexão. Essa situação, portanto, corresponde ao fenômeno SPR e a faixa escura presente no feixe de luz refletido corresponde à transferência energia da onda luminosa incidente para a onda de plasmon de superfície. Esse efeito pode ser capturado por um sensor de imagem.

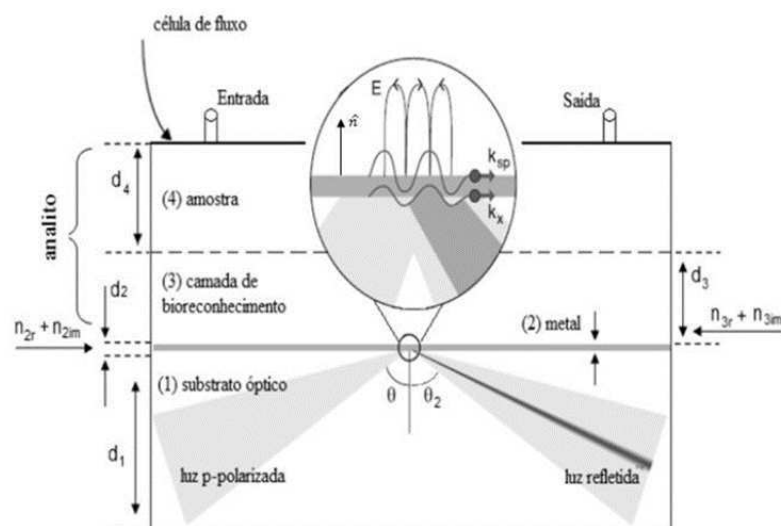
Os sensores SPR podem ser classificados de acordo com a forma como a ressonância de plasmons é identificada, podendo ser divididos, geralmente, em dois modos: interrogação angular e interrogação por comprimento de onda. No modo de interrogação angular (AIM, sigla em inglês para *Angular Interrogation Mode*), o comprimento de onda de luz incidente é fixo e o ângulo de incidência é variado. Já no modo de interrogação de comprimento de onda (WIM, sigla em inglês para *Wavelength Interrogation Mode*), o ângulo de incidência que é mantido constante, enquanto a condição de acoplamento varia conforme o comprimento de onda.

Os dispositivos que utilizam o modo de interrogação angular empregam uma fonte de luz com banda estreita de comprimento de onda, gerada por um diodo laser ou por um LED, que incide em ângulos diferentes sobre um filme metálico para excitar o efeito SPR. A luz é refletida e captada pelos fotodetectores, que a transformam em um sinal elétrico. O sinal de imagem captado pelo fotodetector é adquirido por uma unidade de processamento que, geralmente, utiliza a informação da posição do mínimo da curva SPR para calcular o índice de refração.

Uma ampliação da atuação da tecnologia SPR é o biossensor SPR, o qual consiste em um sensor SPR com uma camada de biorreconhecimento incorporada para interação com o analito de interesse presente na amostra. No ano de 1983, Leidberg e seus colaboradores desenvolveram o primeiro biossensor utilizando a tecnologia SPR, baseado na configuração de Krestchsmann para detectar gases (OLIVEIRA, 2011).

Um biossensor detecta a variação do índice de refração por meio da adesão de uma camada bioquímica ativa; qualquer alteração nessa camada é captada e verificada. Assim, a posição do mínimo da curva SPR adquirida por esses dispositivos é utilizada para calcular a espessura da camada sensível. A Figura 2 apresenta uma estrutura típica de um biossensor SPR, onde é possível observar a camada de metal (camada 2) entre o meio dispersivo (camada 1) e a camada de bioreconhecimento (camada 3) presente na amostra fluídica (camada 4).

Figura 2 - Estrutura de um biossensor com quatro camadas.



Fonte: Oliveira (2011).

2.2. Fenômeno SPR

Carvalho et al. (2003) define o efeito de ressonância de plasmon de superfície como uma oscilação da densidade de carga longitudinal, ao longo da interface de dois meios com constantes dielétricas de sinais opostos, onde um é um metal e outro, um dielétrico. Outra definição é apresentada por Pérez (2000), que menciona que Drude se referia aos metais, conforme descrito pelo método do gás de elétrons livres, que estes possuem íons positivos e um “gás de elétrons” livres. Assim, ao incidir um feixe de luz sobre o metal, os elétrons livres se movem devido à presença do campo elétrico, enquanto os íons positivos deixados para trás exercem uma força de atração sobre os elétrons, tentando trazê-los de volta às suas posições originais. Essa interação provoca a oscilação do plasmon, gerando uma onda de plasmon de superfície.

Nesse contexto, a escolha do metal a ser usado é crítica, pois ele deve apresentar um comportamento de elétrons livres. Os metais mais adequados são aqueles cuja permissividade elétrica complexa possui valores elevados e negativos para a parte real e valores baixos para a parte imaginária. Entre esses, o ouro e a prata são os mais utilizados devido ao fato de a ressonância de plasmon de superfície ocorrer no espectro de luz visível (KANSO et al., 2007).

Para que ocorra a excitação dos plasmon de superfície, isto é, a absorção da energia proveniente do feixe de luz para deslocar os elétrons, Oliveira (2011) cita que algumas condições devem ser atendidas. São elas: as ondas luminosas devem possuir polarização

transverso magnética, situação em que o campo elétrico incide paralelamente ao plano de incidência; a onda luminosa deve incidir na interface na condição de reflexão interna total; a espessura da camada metálica deve ser inferior ao comprimento de onda incidente; é necessária a conservação da energia e do momento do campo eletromagnético durante a excitação do plasmon de superfície; e o vetor do feixe luminoso incidente deve ser maior que o vetor de oscilação dos plasmons de superfície.

Uma vez que foi compreendido o fenômeno, é possível defini-lo matematicamente de acordo com as equações apresentadas por Oliveira (2011). Na Figura 1, pode-se observar a direção e o sentido do vetor de onda de plasmon, denotado por k_{sp} , o qual é dado pela Equação 1 a seguir:

$$k_{sp} = \frac{w}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_2 \epsilon_3}{\epsilon_2 + \epsilon_3}} \quad (1)$$

onde: w é a frequência da luz incidente, c é a velocidade da luz no vácuo, ϵ_2 é permissividade complexa do metal; ϵ_3 é permissividade complexa da amostra.

A Equação 1 também pode ser expressa em função do índice de refração e do comprimento de onda da luz incidente. As relações entre esses parâmetros e os apresentando anteriormente são definidas na Equação 2 e Equação 3.

$$\epsilon_j = n_j^2 = (n_{jre} + in_{jim})^2 \quad (2)$$

onde: ϵ_j é a permissividade do meio da camada j , n_j é o índice de refração do meio da camada j , n_{jre} é parte real do índice de refração do meio da camada j ; n_{jim} é parte imaginária do índice de refração do meio da camada j .

$$\frac{w}{c} = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (3)$$

onde: λ é o comprimento da onda da luz incidente.

Além do vetor k_{sp} , a Figura 1 também apresenta a componente do campo evanescente k_{px} . O fenômeno óptico-elétrico é observado quando essa componente oscila na mesma frequência e amplitude dos plasmons de superfície. Em outras palavras, quando o vetor k_{px} iguala-se ao vetor k_{sp} , pode-se afirmar que ocorreu a ressonância de plasmons de superfície. O vetor da componente do campo evanescente na direção dos plasmons é dado pela Equação 4.

$$k_{px} = \frac{w}{c} \sqrt{\epsilon_1} \sin(\theta) \quad (4)$$

onde: λ é o comprimento da onda luminosa incidente; ϵ_1 é a permissividade complexa do meio dispersivo utilizado; θ é o ângulo de incidência.

No momento da ressonância a energia transportada pelo feixe luminoso é absorvido pelos elétrons e é observada uma diminuição na intensidade da onda luminosa refletida. A partir da Equação 1, nota-se que o sensor detecta mudanças de concentração de massa na camada formada junto à superfície do sensor por meio da medição das variações do índice de refração (n_3). Isso resulta em um deslocamento do momento de ressonância, o que é indicado em uma curva SPR.

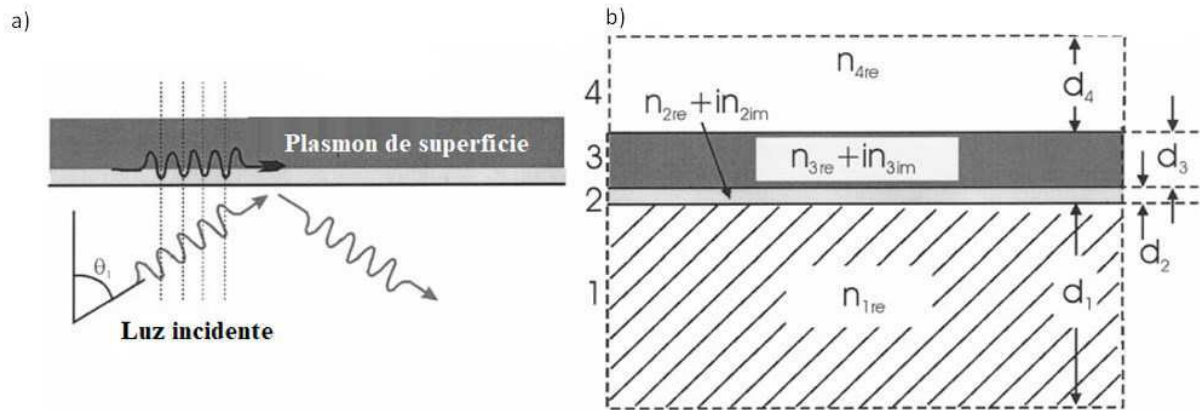
2.3. Modelo matemático

A escolha do modelo para sensores SPR depende da configuração e da aplicação. Entre os modelos analíticos mais utilizados, destacam-se aqueles baseados nas equações de Fresnel, disponíveis nas formas convencional e matricial. Além desses, existe um modelo dedicado à determinação da equação para a curva SPR assimétrica. Entretanto, esses modelos não incluem a influência do ruído sobre o sistema. É possível encontrar modelos que acrescentam a formulação matemática para o fotodetector e para a grade de difração, porém, não consideram o efeito da temperatura e aproximam o ruído existente por um ruído branco (FILHO, 2017).

O modelo matemático utilizado para analisar as excitações ópticas e as características do sensor SPR proposto neste trabalho é o conjunto de equações de Fresnel em sua representação matricial, conforme apresentado por Neff et al. (2006). O sistema de equações apresentado pelo autor abrange variações na camada sensível, tais como espessura e índice de refração da camada metálica, além do comprimento de onda da luz incidente e do ângulo de incidência da luz (OLIVEIRA, 2011).

Resumidamente, o conjunto de equações permite o cálculo dos coeficientes de reflexão e transmissão de uma onda óptica incidente sobre um conjunto de várias interfaces, com um dado ângulo incidente entre dois meios com diferentes índices de refração (complexos) (NEFF et al., 2006). As equações são aplicadas a um sistema de camadas composto por 4 (quatro) camadas, cada uma com diferentes índices de refração, conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - a) Sistema multicamadas na configuração de Kretschmann com 4 camadas. b) Ilustra a configuração das multicamadas em que (1) é o substrato óptico-prisma, (2) metal, (3) e (4) representam o analito e a amostra que o contém.



Fonte: Adaptado de Neff et al. (2006).

Os diferentes meios são descritos da seguinte maneira, de acordo com Silva (2021):

- Meio 1: Prisma – material óptico com um alto índice de refração n_{1re} e uma espessura d_1 , tido como sendo infinito;
- Meio 2: Metal – película fina de metal, com um índice de refração complexo conhecido n_2 . A espessura d_2 é muito menor que o comprimento de onda da luz incidente;
- Meio 3: Analito – camada líquida, normalmente uma solução aquosa com um conhecido índice de refração n_3 , cuja espessura d_3 é considerada como infinita.
- Meio 4: Representa o analito e a amostra que o abrange.

O comportamento da onda eletromagnética em um sensor SPR de N camadas ou meios é descrito em cada meio de acordo com a Equação 5 e a Equação 6. O feixe de luz que incide passa por inúmeras reflexões até atingir a última camada, portanto, todas as camadas devem ser levadas em consideração no cálculo de refletividade e transmissão total.

$$q_j = \frac{\sqrt{n_j^2 - (n_1 \sin(\theta_1))^2}}{n_j} \quad (5)$$

$$\beta_j = \frac{w}{c} d_j \sqrt{n_j^2 - (n_1 \sin(\theta_1))^2} \quad (6)$$

onde: q_j é a absorvância; β_j é a admitância; θ_j é o ângulo de incidência da luz que se propaga no meio j ; d_j é a espessura da camada j .

A matriz de transferência da onda propagando-se do meio j para o meio $j + 1$ é expressa pela Equação 7.

$$M_j = \begin{bmatrix} \cos(\beta_j) & -(i \operatorname{sen}(\beta_j))/q_j \\ -iq_j \operatorname{sen}(\beta_j) & \cos(\beta_j) \end{bmatrix} \quad (7)$$

A partir da Equação 7, ou seja, da matriz individual aplicada para cada interface entre os meios, é possível calcular a transferência total de acordo com a Equação 8.

$$M_{total} = \prod_{j=1}^{j=N-1} M_j = \begin{bmatrix} m_{11} & m_{12} \\ m_{21} & m_{22} \end{bmatrix} \quad (8)$$

Uma vez aplicada a Equação 5 à Equação 8, é possível obter os valores dos coeficientes de reflexão e de transmissão, conhecidos como coeficiente de Fresnel, conforme a Equação 9 e a Equação 10, respectivamente.

$$r = \frac{(m_{11} + m_{12}q_n)q_1 - (m_{21} + m_{22}q_n)}{(m_{11} + m_{12}q_n)q_1 + (m_{21} + m_{22}q_n)} \quad (9)$$

$$t = \frac{2q_1}{(m_{11} + m_{12}q_n)q_1 + (m_{21} + m_{22})q_n} \quad (10)$$

onde: r é coeficiente de reflexão; t é coeficiente de transmissão.

2.4. Morfologia da curva SPR

O detector de imagem captura a luz refletida e gera uma imagem que pode ser utilizada para representar graficamente a curva SPR. A posição de ressonância e a forma da curva SPR variam com mudanças nas propriedades ópticas da interface do metal-dielétrico. Essas mudanças são relacionadas a variações no índice de refração do analito n_3 ou à presença de uma camada fixada sobre a superfície de ouro (NEFF et al., 2006).

Quando ocorre o mínimo de refletividade representado por uma região escura na imagem, a condição de ressonância é definida (também denominada de posição/ângulo de ressonância θ_{RES}), conforme ilustrado na Figura 4a. Essa condição depende do índice de refração e da espessura da camada sensível, sendo comum assumir um dos parâmetros conhecidos para calcular o outro. Ao determinar o valor mínimo da curva SPR, pode-se calcular o valor FWHM (sigla em inglês para *Full Width at Half Maximum*), também chamado de ponto médio entre o valor máximo e mínimo da curva SPR, local onde os valores C_R e C_L são estimados (ver Figura 4b).

Além dos parâmetros apresentados anteriormente, Filho (2017) descreve a largura e a assimetria da curva SPR, as quais são calculadas de acordo com a Equação 11 e Equação 12, respectivamente.

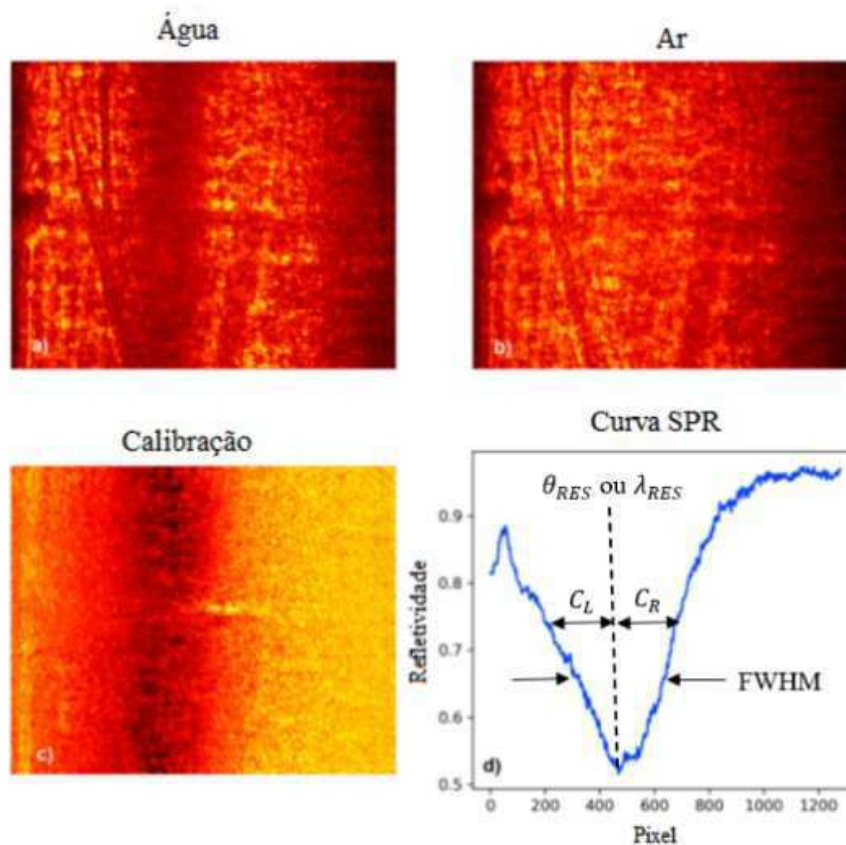
$$L = C_R + C_L \quad (11)$$

$$A = C_R/C_L \quad (12)$$

onde: L é largura; A é a assimetria; C_R é a distância entre o mínimo da curva e a borda direita, em graus; C_L é a distância entre o mínimo da curva e a borda esquerda, em graus.

A largura L da curva depende da espessura e da permissividade complexa do filme de metal que compõe o sensor. O valor de L também pode ser utilizado, em conjunto com a variação do ângulo de ressonância, para estimar o valor do índice de refração e da espessura da camada sensível.

Figura 4 - Processo de calibração do sensor utilizando água como elemento biológico. a) Sinal do analito (Água). b) Sinal referência (Ar). c) Divisão dos dados adquiridos da Figura 4a pela Figura 4 b. d) Exibição da curva SPR normalizada em forma de gráfico: média das n linhas de pixels da Figura 4c.



Fonte: Adaptado de Freitas (2022).

2.4.1 Normalização da curva SPR

A normalização da curva SPR é realizada através de um processo chamado de calibração do instrumento, utilizado para compensar a distribuição espectral desigual da luz no sistema (PILIARIK et al., 2009). De acordo com esse processo, a curva SPR é obtida pelo quociente entre o sinal do analito e o sinal de referência, conforme mostrado na Equação 13 e ilustrado na Figura 4c. O sinal de referência é obtido quando a célula de fluxo está vazia, portanto, o sinal corresponde ao ar.

$$Curva\ SPR = \frac{S_{analito}}{S_{ar}} \quad (13)$$

onde: $S_{analito}$ é o sinal do analito; S_{ar} é o sinal de referência, no caso, do ar.

2.4.2. Detecção do ângulo de ressonância

A precisão do índice de refração está diretamente relacionada à qualidade do sinal da imagem adquirida e à escolha do método de obtenção do ângulo de ressonância. Fatores como ruído, variação de luz e o sistema de captura de luz restringem a exatidão da variação do ângulo de ressonância. Para minimizar a influência de ruídos existentes na curva SPR e otimizar a procura pelo ângulo de ressonância, Freitas (2022) cita alguns algoritmos como caça ao mínimo, primeiro momento, interpolação polinomial e aproximação lorentiziana. Dentre os algoritmos, o trabalho usa como base o caça ao mínimo, que consiste em um algoritmo simples que busca o menor valor da curva SPR.

2.4.3. Relação pixel-ângulo

Para obter a resposta do sensor em termos do ângulo, é necessário realizar a correspondência entre os pixels da câmera e os valores que correspondem de ângulo. De acordo com Oliveira et al. (2015), para obter o espectro angular, primeiro deve-se observar na imagem correspondente à célula úmida (na presença do analito) o número do pixel em que ocorre a ressonância. Em seguida, são coletados os ângulos máximo e mínimo, além dos limites geométricos da instrumentação do sensor. Após obtenção desses valores, pode-se aplicar a equação de regressão de rotina correspondente.

2.5. Processamento digital de imagem

Conforme Gonzalez e Woods (2009), a área de processamento digital de imagens vem evoluindo continuamente ao longo dos anos, com um aumento significativo de estudos envolvendo morfologia matemática, redes neurais, processamento de imagens, compreensão de imagens, reconhecimento de imagens e sistemas de análise de imagens baseados em conhecimento.

O processamento digital de imagens (PDI) é um conjunto de técnicas que utiliza operações matemáticas para alterar os pixels de imagens digitais. Em geral, o objetivo do PDI é a modificação da imagem para facilitar sua visualização e/ou sua preparação para ser analisada pelo computador em um procedimento de análise digital de dados. Dentre as técnicas é possível citar a aplicação de filtros e aplicação ou remoção de ruídos.

Neste contexto, é possível definir uma imagem como a representação visual de algo. Mas especialmente, o termo imagem monocromática refere-se à função bidimensional de intensidade da luz $f(x, y)$, onde x e y denotam as coordenadas espaciais e o valor de f em qualquer ponto (x, y) é proporcional ao brilho (ou escala de cinza) da imagem naquele ponto (Gonzalez & Woods, 2009). A Figura 5 apresenta um modelo digitalizado de uma imagem em escala de cinza, na qual é destacada a origem $f(0,0)$ localizada no canto superior esquerdo.

Figura 5 - Uma imagem monocromática convertida para o par de eixos (x, y) .



Fonte: Filho e Neto (1999).

Uma imagem digital é composta por um número finito de elementos, cada um com localização e valor específicos. Esses elementos são chamados de pixels e corresponde ao menor elemento de uma imagem digital. Cada pixel apresenta um modelo de cor em coordenadas discretas dessa matriz, representando a quantidade de cor baseado em um modelo de cor. Os modelos de cor são sistemas para padronizar a recuperação visual de cor da imagem digital. No caso deste trabalho, na etapa de geração de imagens, o modelo utilizado é o de escala de cinza, que corresponde a 1 (uma) matriz de pixels com valores inteiros entre 0 e 255, onde 0 representa preto e 255 o branco. Já na etapa de inserção de dados nas CNNs, as imagens são transformadas em escala RGB (sigla em inglês para *Red, Green and Blue*), onde suas cores passam a serem definidas em 3 (três) matrizes de pixels com valores que determinam a quantidade de vermelho, verde e azul que as compõem.

Como uma imagem pode ser contínua em relação às coordenadas x e y , bem como em relação à amplitude, para convertê-la ao formato digital, é necessário fazer a amostragem da função em ambas as coordenadas e na amplitude. A digitalização dos valores de coordenadas é chamada de amostragem, enquanto a digitalização dos valores de amplitude é chamada de quantização. No caso das imagens digitais, essa representação visual é obtida por amostragem e quantização. Na amostragem, são definidas as dimensões de altura e largura da imagem, e na quantização, é dimensionado a intensidade dos valores dos pixels.

Considerando que os conceitos básicos de PDI foram apresentados, a seguir são apresentadas de forma sucinta as técnicas usadas neste trabalho de acordo com a documentação das bibliotecas Pillow (2024) e OpenCv (2024).

- Gaussian Blur: Filtro que desfoca a imagem a partir da convolução sequencial de operadores/kernel que se aproximam de uma função gaussiana. Como parâmetro de entrada, é solicitado o raio, ou seja, o desvio padrão do kernel gaussiano.
- Filtro máximo: Processo de convolução no qual, para cada posição do operador/kernel, o valor do pixel é substituído pelo valor máximo dos pixels dentro da janela/máscara do kernel. O parâmetro de entrada, portanto, é o tamanho do kernel.
- Ruído Sal e Pimenta: Perturbação aleatória que adiciona pixels “escuras” nas regiões “claras” e pixels “claros” nas regiões “escuras”. Dessa forma, o parâmetro a ser determinado é a porcentagem de pixels aleatórios escolhidos para serem modificados. É importante ressaltar que esse filtro só pode ser adicionado em imagens em escala de cinza, como as utilizadas neste trabalho.

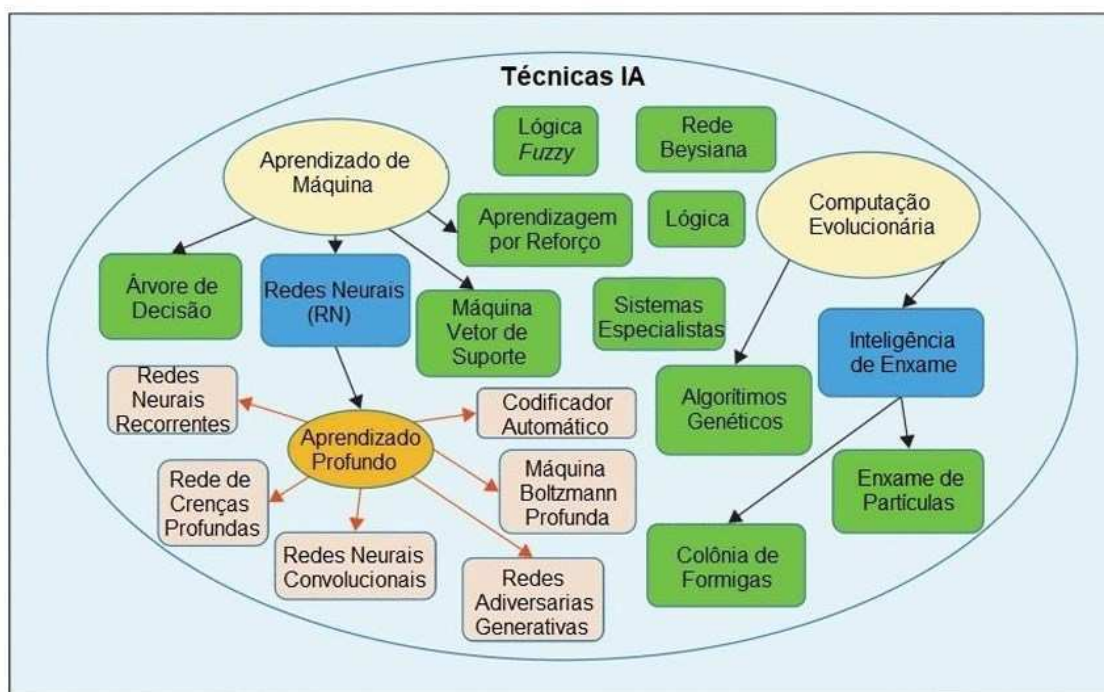
2.6. Rede neural convolucional

A Inteligência Artificial é o campo do conhecimento em que se estudam sistemas capazes de reproduzir/mimetizar algumas das atividades mentais humanas (NILSSON, 1986). Ou seja, conforme Nascimento Jr. e Yoneyama (2000), a IA busca prover máquinas com a capacidade de realizar algumas atividades mentais do ser humano e, em geral, são máquinas com algum recurso computacional e de variadas arquiteturas.

Com o desenvolvimento da área de IA e da Aprendizagem de Máquina, as máquinas tornaram-se capazes de realizar atividades que envolvam sensopercepção (tato, audição e visão), capacidades intelectuais (aprendizado de conceitos e de juízos, raciocínio dedutivo e memória), linguagem (verbais e gráficas) e atenção (decisão no sentido de concentrar as atividades sobre um determinado estímulo). Além disso, a IA oferece ferramentas totalmente desacopladas da estrutura do sistema; dessa forma, não é exigida a modelagem preliminar do sistema.

A Figura 6 apresenta algumas das técnicas de IA mais comuns. Dentre essas técnicas, a rede neural, que faz parte da categoria de aprendizado profundo, é a técnica utilizada neste estudo.

Figura 6 - Exemplo de técnicas de IA.



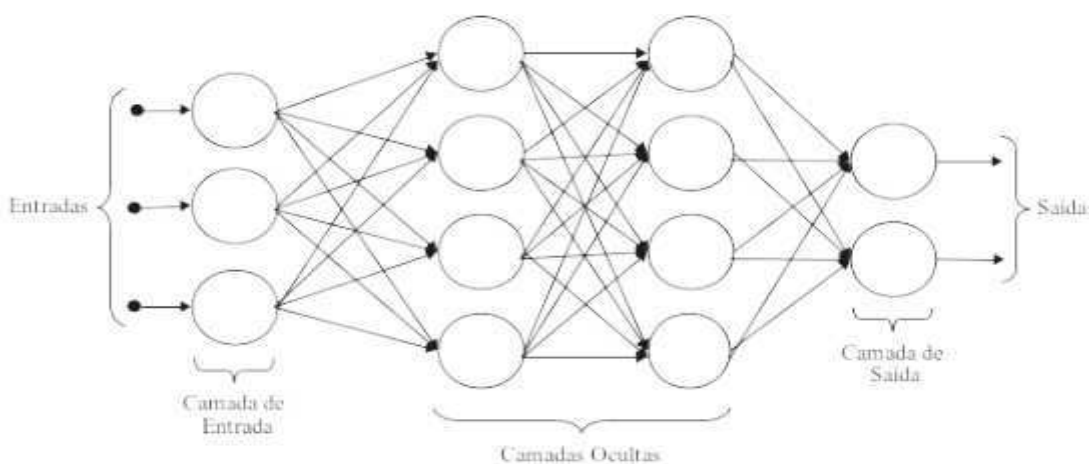
Fonte: Santos (2023).

Haykin (2001) oferece a seguinte definição de uma rede neural vista como uma máquina adaptativa: “Uma rede neural é um processador maciçamente paralelamente distribuído constituído de unidades de processamento simples, que têm a propensão natural para armazenar conhecimento experimental e torná-lo disponível para o uso. Ela se assemelha ao cérebro em dois aspectos: 1 - O conhecimento é adquirido pela rede a partir de seu ambiente através de um processo de aprendizagem. 2 - Forças de conexão entre neurônios, conhecidos como pesos sinápticos, são utilizados para armazenar o conhecimento adquirido.”

De uma maneira geral, as redes neurais artificiais são algoritmos adequados para realizar o reconhecimento de padrões para se identificar ou classificar objetos. Essas constituem uma das ferramentas de aprendizagem de máquina (ML, sigla em inglês para *Machine Learning*) mais utilizadas atualmente. A ML é um paradigma da inteligência artificial que permite o aprendizado diretamente a partir de dados e não através de recursos de programação explícita.

Ferreira (2020) apresenta uma rede neural como uma combinação de várias camadas de processamento que fazem uso de elementos simples que trabalham em paralelo, tal como ocorre no sistema nervoso biológico. Dessa forma, a sua arquitetura básica consiste em uma camada de entrada, uma ou mais camadas ocultas e uma camada de saída. As camadas, por sua vez, apresentam-se interconectadas através de nós ou neurônios, onde cada camada faz uso da saída da camada anterior como entrada, conforme ilustrado na Figura 7.

Figura 7 - Ilustração de rede neural.



Fonte: Ferreira (2020).

O uso de redes neurais oferece as seguintes propriedades úteis e capacidades: não-linearidade, mapeamento de entrada-saída, adaptabilidade, resposta a evidências, informação contextual, tolerância a falhas, uniformidade de análise e projeto. Uma rede neural extrai seu

poder computacional através, primeiro, de sua estrutura maciçamente paralelamente distribuída e, segundo, de sua habilidade de aprender e, portanto, de generalizar (HAYKIN, 2001). A generalização se refere ao fato de a rede neural produzir saídas adequadas para entradas que não estavam presentes durante o treinamento (aprendizagem).

Dentre as redes neurais existentes, há as que operam com duas ou três camadas ocultas conectadas entre si, conhecidas como redes neurais superficiais e as de aprendizagem profunda que podem ter até dezenas de camadas ocultas. As redes neurais profundas, conhecidas pelo termo *deep learning*, têm sido aplicadas com sucesso para resolver diversos problemas difíceis, através do seu treinamento de forma supervisionada com um algoritmo baseado na regra de aprendizagem por correção de erro.

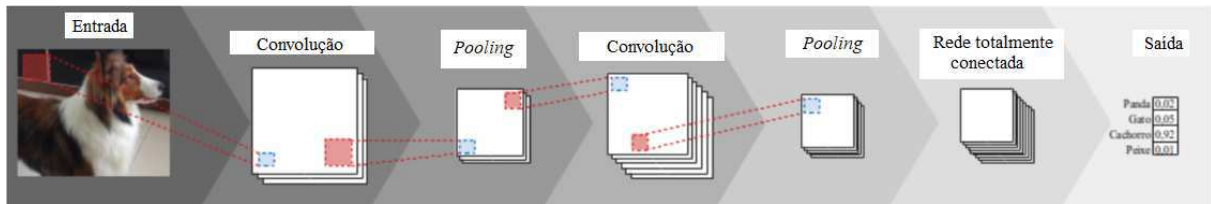
As redes de múltiplas camadas possuem características como: o modelo de cada neurônio da rede inclui uma função de ativação não-linear, exibe alto grau de conectividade e contém uma ou mais camadas de neurônios ocultos, que não são parte da entrada ou da saída da rede. Através da combinação dessas características, juntamente com a habilidade de aprender da experiência através de treinamento, a rede neural profunda deriva seu poder computacional.

Ao longo das últimas décadas, a *deep learning* foi considerada uma das ferramentas mais poderosas e tornou-se muito popular na literatura por ser capaz de lidar com uma enorme quantidade de dados e por superar o desempenho dos métodos clássicos em diferentes campos, especialmente no reconhecimento de padrões. Uma das redes neurais profundas mais populares é a rede neural convolucional, a qual leva esse nome da operação matemática linear entre matrizes, denominada de convolução.

A CNN se apresenta como um algoritmo especialmente desenvolvido para trabalhar com imagens, sendo essa a principal característica que a tornou objeto de estudo deste trabalho. Além disso, por se tratar de um método de aprendizado profundo, a CNN pode usar os dados originais como entrada para identificar as características incorporadas e executar o reconhecimento de padrões dentro da estrutura da rede, sem a necessidade de extração explícitas ou artesanais de características; portanto, as características são reconhecidas automaticamente, evitando a interferência de fatores humanos (WANG et al., 2016).

A rede neural convolucional é uma arquitetura construída como uma série de camadas/estágios, onde cada fase tem uma função diferente, e cada função é concluída automaticamente dentro do algoritmo. Essas camadas são ilustradas na Figura 8 e descritas a seguir, de acordo com Albawi et al. (2017), Ferreira (2020) e Santos (2023) .

Figura 8 - Ilustração de uma rede neural convolucional.



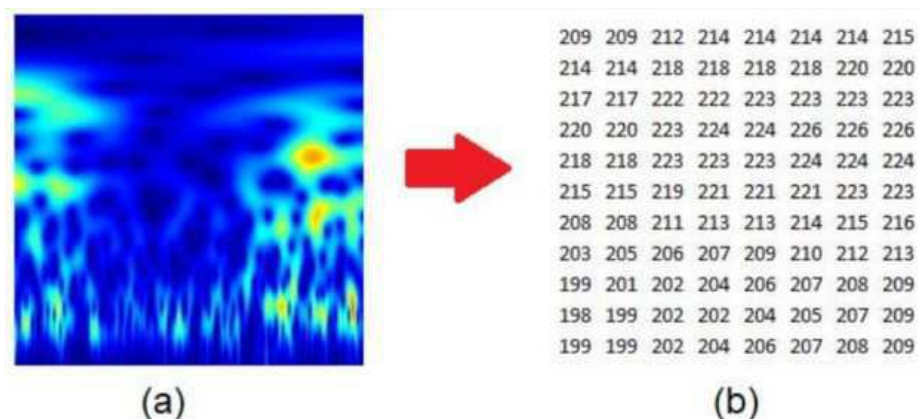
Fonte: Ferreira (2020).

2.6.1. Camada de entrada

A camada de entrada contém os dados ou imagens a serem processados. Quando a entrada é uma imagem colorida, a camada é representada em termos de 3 dimensões, ou seja, largura, comprimento e altura, onde comumente é denotado como largura, altura e profundidade, que são pixels para uma imagem na forma de uma matriz. Por exemplo, se a entrada for $(227 \times 227 \times 3)$, então largura é de 227 pixel, a altura é de 227 pixel e a profundidade é de 3. A profundidade 3 é usada principalmente para representar imagens coloridas na forma de RGB e é a profundidade padrão indicada pela API KERAS (2024).

A Figura 9 mostra um exemplo de uma imagem 227×227 (falha na pista interna de um rolamento) e parte de sua matriz de pixels.

Figura 9 - a) Imagem de entrada. b) Parte da matriz de pixel da Figura 9a.



Fonte: Santos (2023).

2.6.2. Camada convolucional

A camada convolucional é a principal característica da CNN e é responsável por extrair recursos relevantes da imagem de entrada, como borda, texturas e outras características úteis

para a classificação ou identificação da imagem. A convolução viabiliza, então, a redução da imagem a um formato mais fácil de ser processado e procura preservar as características essenciais da imagem.

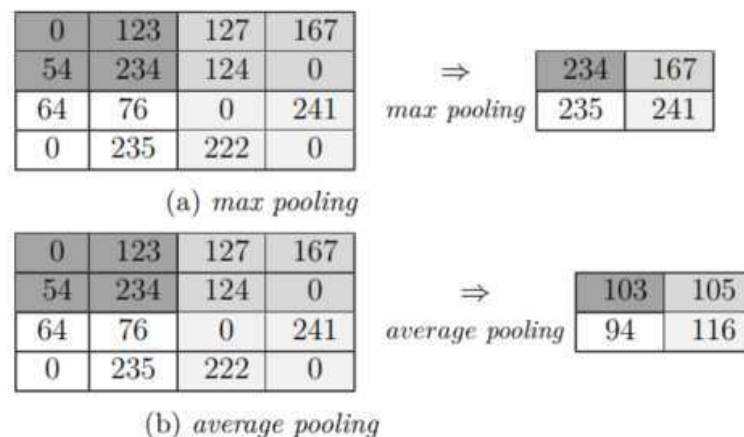
A camada convolucional aplica um número especificado de filtros de convolução à imagem. Para cada sub-região, a camada executa um conjunto de operações matemáticas para produzir um único valor no mapa de recursos de saída. Nessa camada, aplica-se uma função de ativação. Existem três tipos de função de ativação que são normalmente utilizados: a ReLU (do inglês *Rectified Linear Unit*), a sigmoide e a tangente hiperbólica.

2.6.3. Camada de agrupamento (*Pooling*)

Assim como as camadas de convolução, as camadas de *pooling* são responsáveis por promover a redução do domínio espacial. O agrupamento espacial (também chamado de subamostragem ou redução da resolução), definido por um tamanho de filtro, passo e uma operação de redução, reduz a dimensionalidade de cada mapa de características, retendo as informações mais importantes e reduzindo o número de parâmetros do modelo. Portanto, acelera os cálculos, reduz a chance de *overfitting* e melhora a eficiência da rede. Além disso, essas camadas permitem extrair características que são invariantes à translação, escala e rotação, o que favorece o processo de treinamento eficaz do modelo.

Os principais tipos de *pooling* que podem ser aplicados são o *max* e o *average*, os quais são exemplificados na Figura 10 **Erro! Fonte de referência não encontrada.** a seguir.

Figura 10 - Exemplos de *pooling* com passo da janela igual a dois.



Fonte: Ferreira (2020).

2.6.4. Regularização

O sobreajuste (*overfitting*) é um problema de treinamento frequente em algoritmos de ML. Ele ocorre quando modelos excessivamente complexos acabam por ser influenciados por ruídos durante a etapa de treinamento. Contudo, um modelo sobreajustado não irá generalizar bem para uma base de teste desconhecida e com um volume menor.

Objetivando mitigar o problema do sobreajuste, vários métodos de regularização foram propostos, como:

- Decaimento de pesos: este método propõe a penalização dos pesos de valor elevado.
- Parada antecipada: a ideia proposta por este método é fazer uso de um conjunto de validação independente durante o processo de treinamento para avaliar o desempenho da rede. Quando o erro no conjunto de dados de validação começa a aumentar, o treinamento é simplesmente interrompido.
- Expansão artificial da base: este método propõe que os dados de treinamento sejam artificialmente expandidos através do acréscimo aleatório de dados com escalas e rotações variadas, visto que tais variações podem não estar bem representadas no conjunto de dados de treinamento. É importante ressaltar que as redes neurais normalmente devem promover o reconhecimento de padrões invariantes à escala e a rotação.
- Descarte (*Dropout*): este método é um dos mais utilizados; ele preconiza o descarte aleatório de certos neurônios durante o processo de treinamento a fim de reduzir o sobreajuste. Assim, a cada iteração de treinamento, os neurônios individuais e suas conexões são descartadas da rede.

2.6.6. Aprendizado por transferência (*Transfer learning*)

O *transfer learning* é uma técnica que reutiliza um modelo pré-treinado em um novo problema. Isto é, usa-se uma rede neural treinada em outro conjunto de dados, geralmente maior, e personalizar esse modelo para uma determinada tarefa. De acordo com a TensorFlow (2024), a intuição por trás do aprendizado de transferência para classificação de imagens é que, se um modelo for treinado em um conjunto de dados grande e geral o suficiente, esse modelo servirá efetivamente como um modelo genérico do mundo visual. Assim, é possível aproveitar esses mapas de recursos aprendidos sem precisar começar do zero treinando um novo.

No contexto de CNNs, o *transfer learning* é comumente aplicado ao reutilizar os pesos de redes neurais treinadas para o conjunto de dados ImageNet e adaptá-los para um domínio específico com conjunto de dados menores. Dessa forma, uma arquitetura de rede neural treinada para o *dataset* ImageNet tem suas primeiras camadas especializadas em encontrar padrões genéricos, enquanto as últimas, utilizando os padrões identificados pelas camadas anteriores, encontram padrões específicos para cada classe do conjunto de dados do novo problema. Logo, a técnica consiste em “congelar” as primeiras camadas e substituir as últimas camadas por outras relativas a outras classes, permitindo reduzir o tempo de treinamento e aumentar a acurácia dos novos modelos.

2.6.7. Camada totalmente conectada

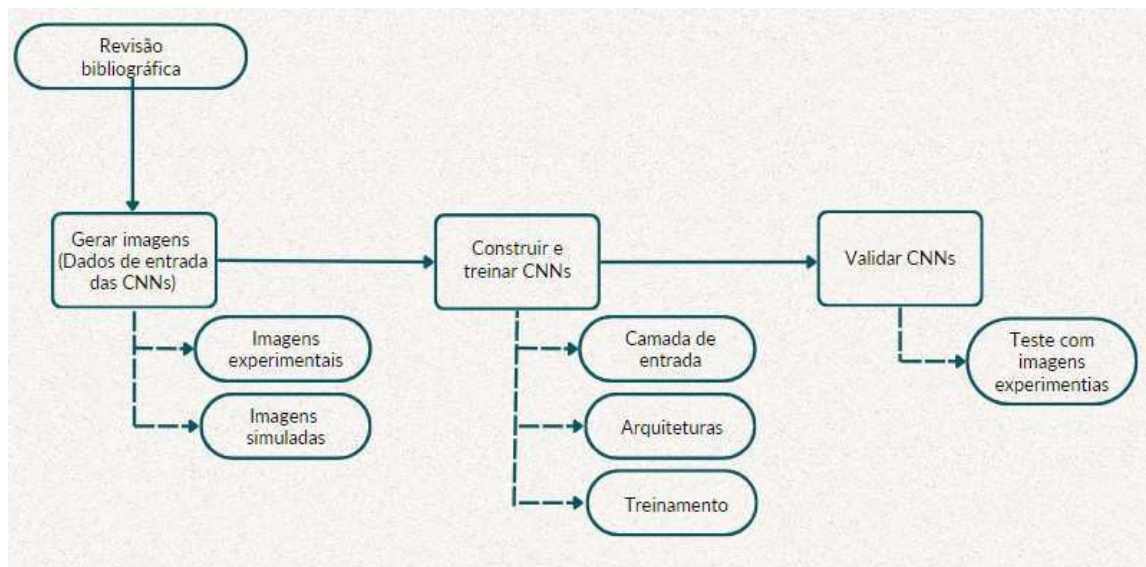
A camada totalmente conectada, ou densa, realiza a classificação das características extraídas pelas camadas convolucionais e reduzidas pela *pooling*. Essa camada é responsável por atribuir probabilidades a cada uma das classes existentes no modelo, com a soma de todas as probabilidades igual a 1.

Para problemas de classificação, como o sugerido neste trabalho, a última camada totalmente conectada combina as características, usando uma função de ativação (softmax, por exemplo) na camada de saída para classificar os dados de entrada. Assim o tamanho da última camada totalmente conectada da rede é igual ao número de classes (saídas) do conjunto de dados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para atingir os objetivos propostos, uma sequência de etapas foi definida. Neste capítulo, as etapas que possibilitaram o desenvolvimento e validação das redes serão descritas, e um fluxograma da metodologia deste trabalho é apresentado na Figura 11.

Figura 11 - Fluxograma apresentando a metodologia deste trabalho.



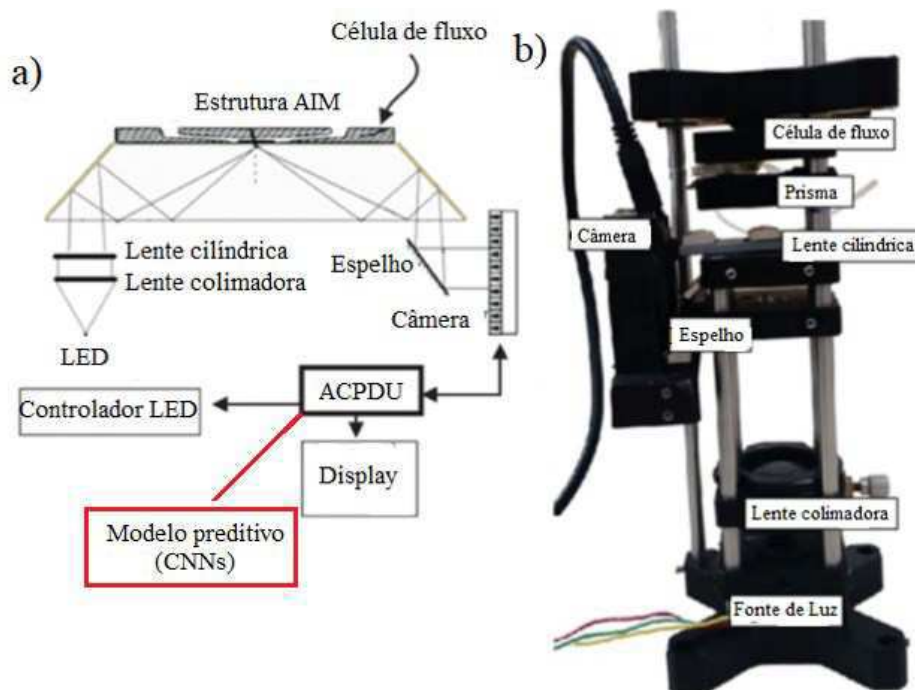
Fonte: Autoria própria (2024).

3.1. Geração de imagens

3.1.1. Imagens experimentais

A primeira etapa do projeto foi definir quais imagens seriam usadas como base do estudo, isto é, qual o sensor SPR será utilizado para obter as imagens SPR e, conseqüentemente, servir de base para geração de imagens simuladas. A configuração experimental usada neste trabalho para a obtenção das imagens SPR é mostrada na Figura 12, a qual corresponde a um sensor baseado em PPBIO (Prisma Polimérico para Aplicações Biológicas) para o modo AIM e com uma câmera CMOS. De uma forma geral, o equipamento é constituído de fonte de luz, conjunto óptico, transdutor, circuitos eletrônicos para condicionamento de sinais, fotodetector, unidade de processamento e interface com o usuário.

Figura 12 - a) Esquema do sensor SPR baseado no PPBIO para o modo AIM.
b) Fotografia da montagem experimental.



Fonte: Adaptado de Aguiar et al. (2022).

Um dos principais componentes a ser definido na estrutura do sensor SPR é o prisma que será usado. Para o projeto, foi determinado o uso do Prisma Polimérico para Aplicações Biológicas (PPBIO) desenvolvido por Moreira (2010), por ser elemento promissor que apresenta solução para os problemas relacionados à rotação de incidência de feixes luminosos de entrada baixa.

Com uma geometria trapezoidal bastante simples, o prisma polimérico não necessita de elementos internos, como grades de difração ou elementos eletro-ópticos integrados. Suas superfícies laterais são espalhadas para refletir a luz incidente, além de uma camada metálica depositada na base superior, dispensando a utilização de gel ou óleo para acoplamento, conforme SILVA (2021). O prisma, com uma altura menor que 3 mm, possui duas superfícies paralelas que permitem um trajeto óptico para os raios luminosos, os quais entram e saem perpendicularmente à base inferior do prisma, como mostrado na Figura 12.

Para os experimentos foi utilizado um sensor com vidro BK7 PPBIO (BK7 SCHOTT com índice de refração de 1,52 a 670 nm), coberto com uma fina camada de ouro de 50 nm utilizando o Sputtering DC Cryofox Explorer 600LT da Polyteknik. A estrutura no modo AIM oferece uma faixa angular de 62° a 73°, ideal para medir substâncias aquosas.

O sensor possui uma lente cilíndrica LJ190OL1 (para focalização), uma lente esférica plano-convexa LA1951 (para colimação dos feixes de luz) e um diodo laser de $670 \pm 10 \text{ nm}$ L670P005, todos comercializados pela Thorlabs. O sistema de detecção óptica usa uma câmera CMOS bidirecional (DCC1645C, Thorlabs), que apresenta uma profundidade de bits de 10 bits, resolução de 1280×1024 pixels e tamanho dos pixels $3,6 \mu\text{m}$.

Para a obtenção das imagens, foram utilizadas as seguintes substâncias: água deionizada e desgaseificada (H_2O) com resistência elétrica de $18,7 \text{ M}\Omega/\text{cm}$, obtida com o sistema Milipore Direct Q3; além de soluções de PBS (solução salina tamponada com fosfato) e hipoclorito (HIPO). De acordo com Aguiar et al. (2022), essas substâncias têm os seguintes índices de refração (RIU): $\text{H}_2\text{O} = 1,33001$, $\text{PBS} = 1,33151$ e $\text{HIPO} = 1,34501$.

3.1.2. Imagens simuladas

Após a etapa de definição de quais imagens experimentais seriam usadas como base para geração de imagens simuladas, iniciou-se o processo de simulação. Um código em Python foi desenvolvido para gerar curvas SPR em condições ideais para diferentes índices de refração. Nesta etapa, o conjunto de dados foi simulado usando as equações de Fresnel e o método de matriz de transferência, conforme apresentados anteriormente. Para a modelagem, foi considerado um sensor no modo AIM com variação angular de 62° a 73° (espaçamento uniforme de 1280), e com comprimento de onda de onda semelhante ao utilizado no modelo experimental, além de 4 (quatro) camadas, que são descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Descrição das camadas consideradas para simulação.

Camada	Material	Índice de refração	Espessura
1	Vidro BK7	$1,51 + i0$	3 mm
2	Ouro	$0,13 + i4,20$	50 nm
3	Substância a ser analisada	$1,33 + i0$ a $1,35 + i0$ (incremento de 5×10^{-3})	100 nm
4	Água	$1,33 + i0$	1 cm

Fonte: Autoria própria (2024).

Os índices de refração das substâncias analisadas, utilizadas para gerar o banco de imagens das redes neurais, estão mostrados na Tabela 1. Além disso, curvas SPR também foram desenvolvidas para os RIU das substâncias empregadas no experimento, a fim de analisar os dados obtidos por simulação.

As imagens experimentais escolhidas foram usadas para estabelecer a relação pixel-ângulo, permitindo, assim, a transformação da curva SPR refletividade-ângulo em curva SPR refletividade-pixel. Os dados obtidos das curvas SPR com a relação refletividade-pixel possibilitaram a geração de imagens com dimensão de 1280×1024 pixels. As imagens criadas diretamente desse processo foram denominadas de “imagens de Fresnel” e seguem 4 (quatro) padrões de escala de cinza diferentes mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Relação refletividade/pixel

Refletividade	Valor do pixel (escala de cinza)			
	Padrão 1	Padrão 2	Padrão 3	Padrão 4
[0,0; 0,2]	5	0	10	15
(0,2; 0,4]	22	22	32	20
(0,4; 0,6]	44	54	64	40
(0,6; 0,8]	66	100	128	60
(0,8; 1,0]	100	115	170	100

Fonte: Autoria própria (2024).

Como as imagens de Fresnel obtidas são visualmente diferentes das imagens experimentais, foram adicionados ruído e técnicas de processamento de imagens para generalizar e imitar respostas experimentais. No código, que usa as bibliotecas Pillow e OpenCV, foram aplicados o filtro Gaussian Blur, filtro Máximo, ruído Sal e Pimenta e o filtro Gaussian Blur, nesta ordem.

Assim como as imagens de Fresnel são geradas com 4 (quatro) conjuntos diferentes (ver Tabela 2) para aumentar a quantidade total de imagens, diferentes parâmetros para aplicação dos filtros e ruído também foram utilizados. Isso possibilitou a obtenção de imagens visualmente semelhantes às experimentais e de imagens que gerem curvas semelhantes às obtidas a partir das imagens experimentais. Os parâmetros aplicados nas imagens de Fresnel são apresentados na Tabela 3.

Na Tabela 3, é possível observar a especificação de 10 (dez) conjuntos de parâmetros. Essas especificações foram repetidas 3 (três) vezes, variando a aplicação do ruído sal e pimenta na região da imagem que indica a ressonância, ou seja, na região que apresenta pixels de menores valores. Ao aplicar o ruído em toda a imagem, foi possível notar que ela mesma se tornava visivelmente diferente da imagem experimental.

As diferentes situações de aplicação desse ruído foram implementadas no código de geração de imagens. Na primeira situação, denominada de “ruído total”, foi possível adicionar pixels com valor 0 ou 255 em toda a imagem. Na segunda situação, chamada de “ruído com

faixa total”, foi possível adicionar 0 ou 255 apenas nos pixels com valores superiores a 15, preservando assim a faixa mais escura da imagem. Por fim, o “ruído com faixa parcial” foi implementado para permitir a adição de pixels com valores de 0 ou 255 nos pixels com valores maiores que 15, e pixels com valores de 0 ou 127 nos pixels menores que ou iguais a 15.

Tabela 3 - Descrição dos filtros/ruído aplicados nas imagens de Fresnel.

PDI 1		PDI 2	
Filtro/Ruído	Parâmetro	Filtro/Ruído	Parâmetro
Gaussian Blur	50	Gaussian Blur	50
Sal e pimenta	0,01	Sal e pimenta	0,01
Máximo	3	Máximo	3
Gaussian Blur	10	Gaussian Blur	2
PDI 3		PDI 4	
Filtro/Ruído	Parâmetro	Filtro/Ruído	Parâmetro
Gaussian Blur	50	Gaussian Blur	50
Sal e pimenta	0,01	Sal e pimenta	0,01
Máximo	5	Máximo	5
Gaussian Blur	10	Gaussian Blur	2
PDI 5		PDI 6	
Filtro/Ruído	Parâmetro	Filtro/Ruído	Parâmetro
Gaussian Blur	50	Gaussian Blur	50
Sal e pimenta	0,015	Sal e pimenta	0,015
Máximo	3	Máximo	3
Gaussian Blur	10	Gaussian Blur	2
PDI 7		PDI 8	
Filtro/Ruído	Parâmetro	Filtro/Ruído	Parâmetro
Gaussian Blur	25	Gaussian Blur	25
Sal e pimenta	0,01	Sal e pimenta	0,01
Máximo	3	Máximo	3
Gaussian Blur	10	Gaussian Blur	2
PDI 9		PDI 10	
Filtro/Ruído	Parâmetro	Filtro/Ruído	Parâmetro
Gaussian Blur	25	Gaussian Blur	25
Sal e pimenta	0,01	Sal e pimenta	0,01
Máximo	5	Máximo	5
Gaussian Blur	10	Gaussian Blur	2

Fonte: Autoria própria (2024).

3.2. Construção e treinamento das CNNs

3.2.1. Camada de entrada

Um *script* em Python, utilizando a biblioteca TensorFlow, foi desenvolvido para selecionar os dados a serem usados pelos modelos de CNN e transformá-los em formato “.h5”. O conjunto de 600 (seiscentas) imagens simuladas, sendo 120 (cento e vinte) imagens por classe de acordo com os valores dos RIU, foi dividido aleatoriamente de forma que 80% foram para treinamento, 10% para validação e 10% para teste.

O código também realiza o corte das 100 primeiras e das últimas 280 colunas de pixels, resultando em imagens com dimensão de 900×1024 pixels. Em seguida, as imagens são redimensionadas para 224×224 pixels e convertidas de escala de cinza para RGB. Dessa forma, a dimensão e o número de canais do conjunto de dados passam a seguir o formato padrão dos parâmetros de entrada das redes que foram desenvolvidas.

3.2.2. Arquiteturas

Neste trabalho, foram desenvolvidos 7 (sete) modelos para a classificação de imagens SPR. Para isso, foi utilizado o *framework* TensorFlow e arquiteturas de aprendizado profundo disponíveis na API Keras. As 7 (sete) arquiteturas foram selecionadas por apresentarem os maiores valores de acurácia dentro do grupo a que pertencem, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Modelos de arquiteturas CNNs presentes na API Keras e indicação do parâmetro acurácia obtido com o *dataset* ImageNet.

Modelo	Top-1 Accuracy (%)
Xception	79,0
VGG19	71,3
InceptionResNetV2	80,3
MobileNetV2	71,3
DenseNet201	77,3
NASNETLarge	82,5
EfficientNetB7	84,3

Fonte: Adaptado de API Keras (2024).

Para implementar as redes, foi utilizado o trecho de código apresentado na Figura 13. Todos os modelos receberam os mesmos parâmetros, que podem ser descritos da seguinte forma: imagens de entrada com dimensão 224×224 e 3 canais de cores, pesos do pré-treinamento do ImageNet, exclusão da camada totalmente conectada e “congelando” dos pesos das primeiras camadas. O treinamento das arquiteturas com essas especificações foi determinado para aplicar a técnica de *transfer learning*, reutilizando os pesos das primeiras camadas das redes previamente treinadas no conjunto de dados do ImageNet. A Figura 13 ilustra o trecho de código em que é possível escolher o tipo de CNN, indica os pesos de origem e informa que a rede será retreinada parcialmente para o novo problema (*transfer learning*).

Figura 13 - *Script* para implementar os modelos de classificação de imagens.



```
base = keras.applications.ModeloDeClassificação(input_shape=(224,224,3),weights="imagenet", include_top=False)
```

Xception
VGG19
InceptionResNetV2
MobileNetV2
DenseNet201
NASNetLarge
EfficientNetB7

```
for layer in base.layers:  
    layer.trainable = False
```

Fonte: Autoria própria (2024).

Como a camada totalmente conectada não foi incluída inicialmente, essa foi adicionada posteriormente. Em todos os modelos, a arquitetura foi finalizada com uma camada densa de classificação contendo 5 (cinco) neurônios, correspondentes às 5 (cinco) classes, e utilizando a função de ativação Softmax.

3.2.3. Parâmetros de treinamento

O treinamento dos modelos, ilustrado na Figura 14, foi configurado com o algoritmo Adam para ajustar os pesos com taxa de aprendizado padrão de 0,001. A função de perda escolhida foi SparseCategoricalCrossentropy, a métrica de avaliação de desempenho foi a Accuracy e o

tamanho de lote foi de 32 por ser o padrão. O número de épocas determinado para a etapa de treinamento foi de 10 épocas para garantir um processamento rápido com tempo inferior a 30 min.

Figura 14 - *Script* para treinar os modelos de classificação.

```
model.compile(  
    optimizer= tf.keras.optimizers.Adam(0.001),  
    loss = tf.keras.losses.SparseCategoricalCrossentropy(),  
    metrics = ['accuracy']  
)
```

Fonte: Autoria própria (2024).

3.3. Validação das CNNs

A etapa final consiste em testar os modelos desenvolvidos e treinados para classificar as imagens experimentais de acordo com o índice de refração correspondente. Uma vez que as redes foram treinadas, validadas e testadas com imagens simuladas, os modelos de CNNs gerados foram então embarcados no sensor, para classificar os dados experimentais.

Nessa fase, cada imagem experimental foi processada por cada modelo de rede salva em formato “.h5”, permitindo obter a probabilidade que cada arquitetura calculava para classificar a imagem em uma das 5 (cinco) classes. O *script* em Python, que utiliza principalmente a biblioteca TensorFlow, tem seu trecho inicial apresentado na Figura 15 e o trecho final mostrado na Figura 16.

Figura 15 - *Script* para carregar modelo salvo.

```
model = tf.keras.models.load_model('ModeloDeClassificação.h5')
```

Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 16 - *Script* para apresentar a porcentagem correspondente a cada classe.

```
resp = model.predict(numpy_array2)
print(resp[0][0], " : ", resp[0][1], " : ", resp[0][2], " : ", resp[0][3], " : ",
      resp[0][4])

x = []
x.append(str(Decimal(resp[0][0]*100).quantize(Decimal('0.00'), rounding= ROUND_DOWN)))
x.append(str(Decimal(resp[0][1]*100).quantize(Decimal('0.00'), rounding= ROUND_DOWN)))
x.append(str(Decimal(resp[0][2]*100).quantize(Decimal('0.00'), rounding= ROUND_DOWN)))
x.append(str(Decimal(resp[0][3]*100).quantize(Decimal('0.00'), rounding= ROUND_DOWN)))
x.append(str(Decimal(resp[0][4]*100).quantize(Decimal('0.00'), rounding= ROUND_DOWN)))
```

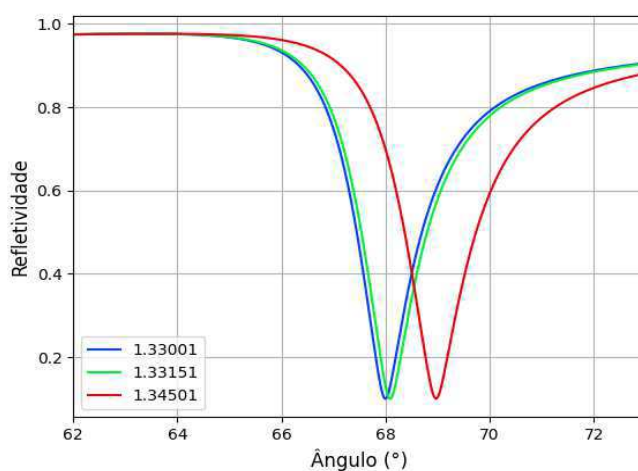
Fonte: Autoria própria (2024).

4. RESULTADOS

4.1. Imagens simuladas

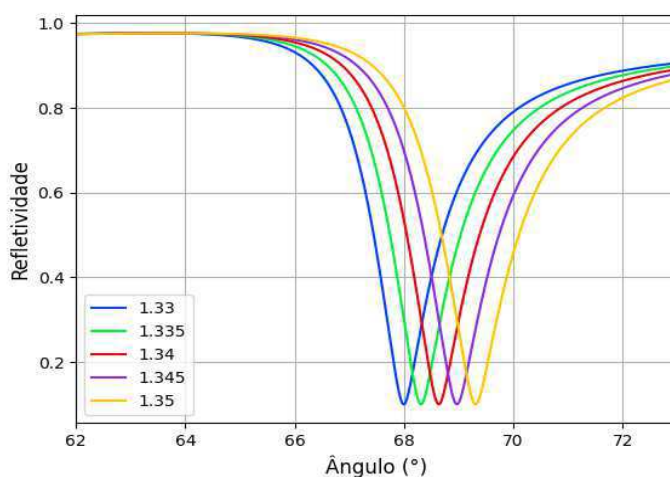
A etapa de obtenção das imagens simuladas iniciou-se com a geração das curvas SPR por meio de um *script* em Python, utilizando as equações de Fresnel e método da matriz de transferência. As primeiras curvas obtidas foram para os índices de refração das substâncias do experimento, conforme mostrado na Figura 17. Em seguida, foram geradas as curvas SPR simuladas para os RIU de 1,33 a 1,35, com incremento de 5×10^{-3} , apresentadas na Figura 18.

Figura 17 - Curvas SPR baseada em Fresnel para as substâncias do experimento.



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 18 - Curvas SPR baseada em Fresnel para RIU entre 1,33 e 1,35.



Fonte: Autoria própria (2024).

As curvas SPR com a relação refletividade-ângulo foram, então, transformadas em curvas refletividade-pixel usando a relação pixel-ângulo. A relação pixel-ângulo da Equação 14, utilizada neste estudo, foi obtida a partir dos dados apresentados na Tabela 5. Aguiar et al. (2022) forneceram os valores angulares, enquanto a localização da coluna da imagem com a menor média de valor de pixel foi obtida por meio de um *script* em Python.

$$p(\theta) = -219,64 \times \theta + 15454 \quad (14)$$

onde: θ é o ângulo; p é pixel.

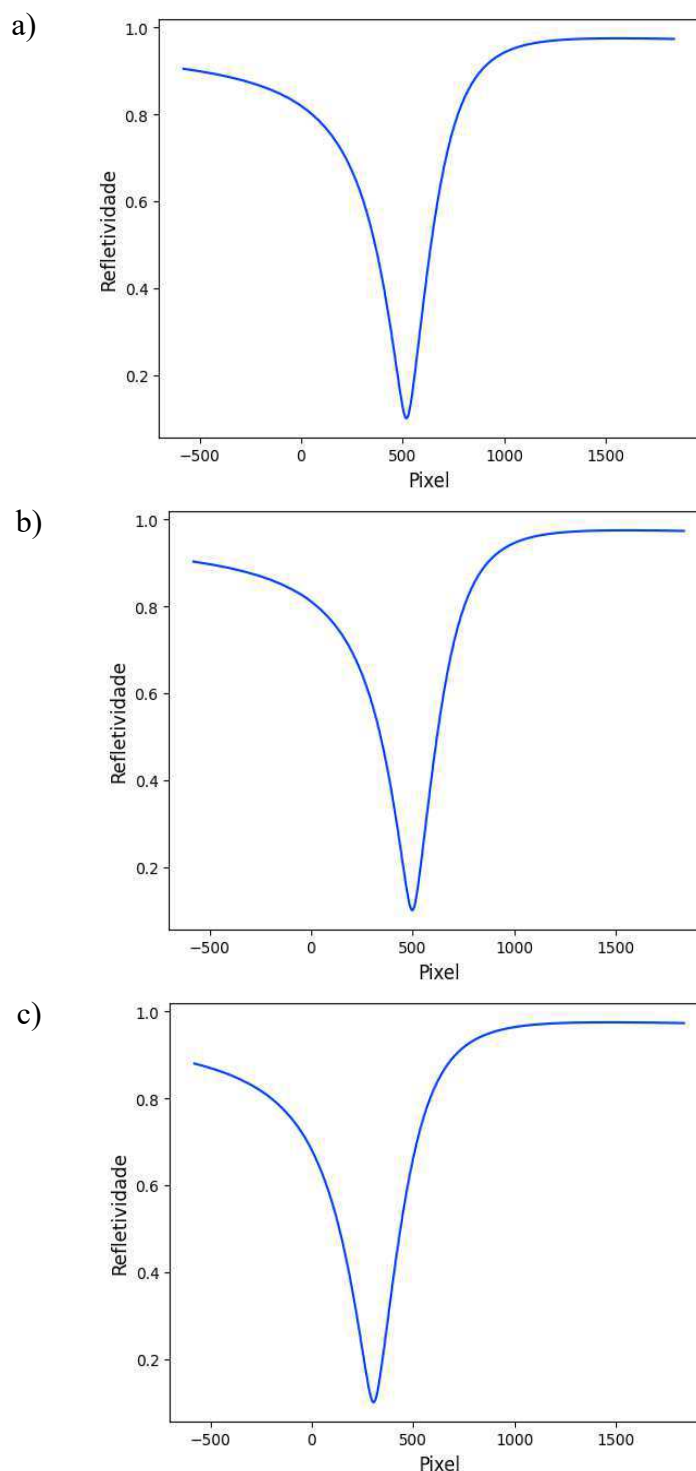
Tabela 5 - Dados para relação pixel-ângulo.

Substância	Ângulo (°)	Pixel
H ₂ O	67,994	542
PBS	68,089	475
HIPO	68,966	309

Fonte: Autoria própria (2024).

A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** apresenta as curvas SPR com a relação refletividade-pixel para cada substância do experimento. As curvas demonstram que o índice de refração utilizável é limitado, uma vez que a geração de imagens se baseia na localização de pixels a partir do pixel 0, não permitindo pixels negativos. Vale ressaltar que, a partir desse momento, os resultados apresentados referem-se às substâncias do experimento de forma individual. Isso ocorre porque esses resultados possibilitam a comparação entre a simulação e o experimento.

Figura 19 - Curva SPR com a relação refletividade-pixel. a) para H_2O . b) para PBS. c) para HIPO.

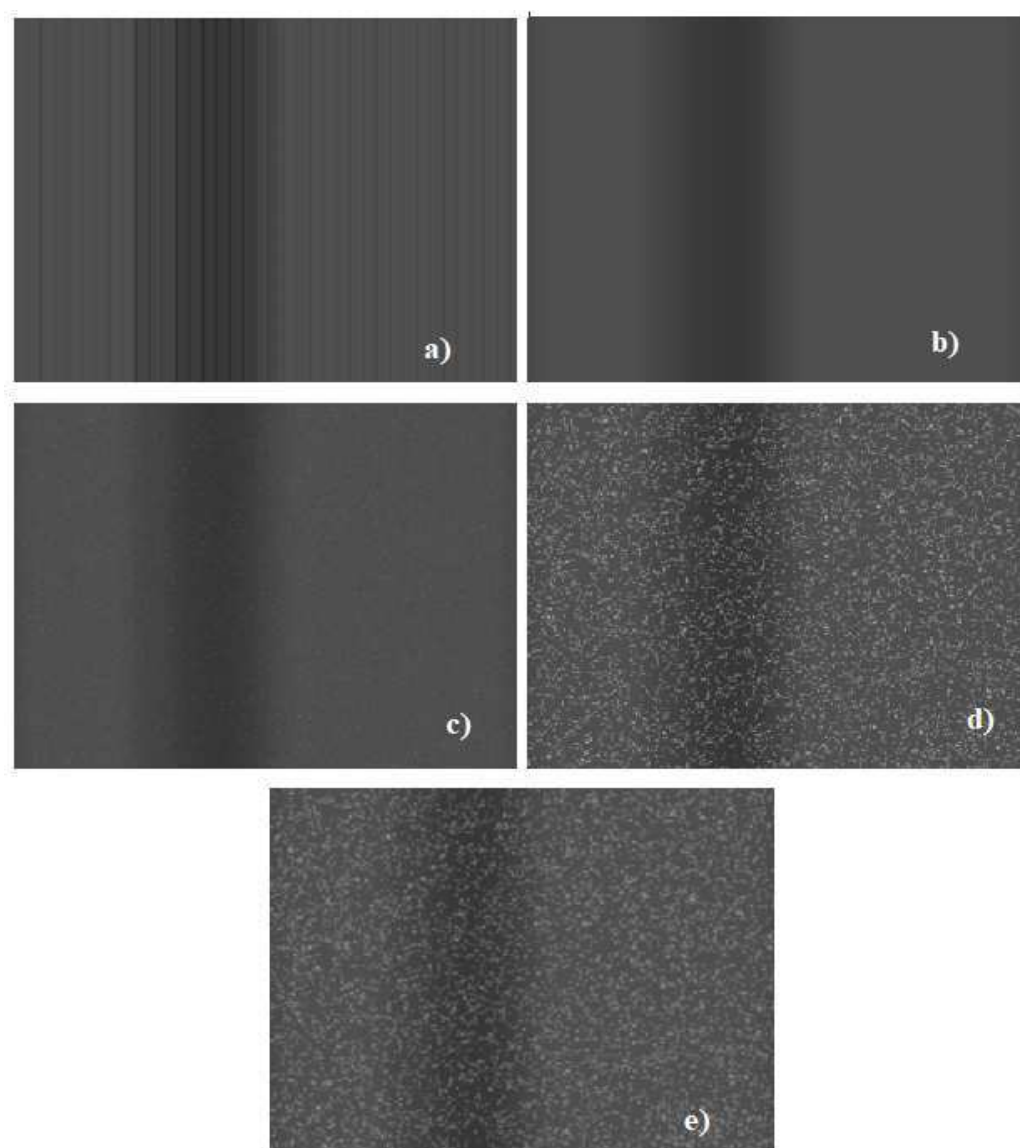


Fonte: Autoria própria (2024).

De posse das curvas SPR, a próxima etapa foi a geração e processamento de imagens, que pode ser descrita como um processo de geração das imagens de Fresnel e aplicação de filtros e ruído. A sequência de imagens geradas para cada RIU das substâncias do experimento,

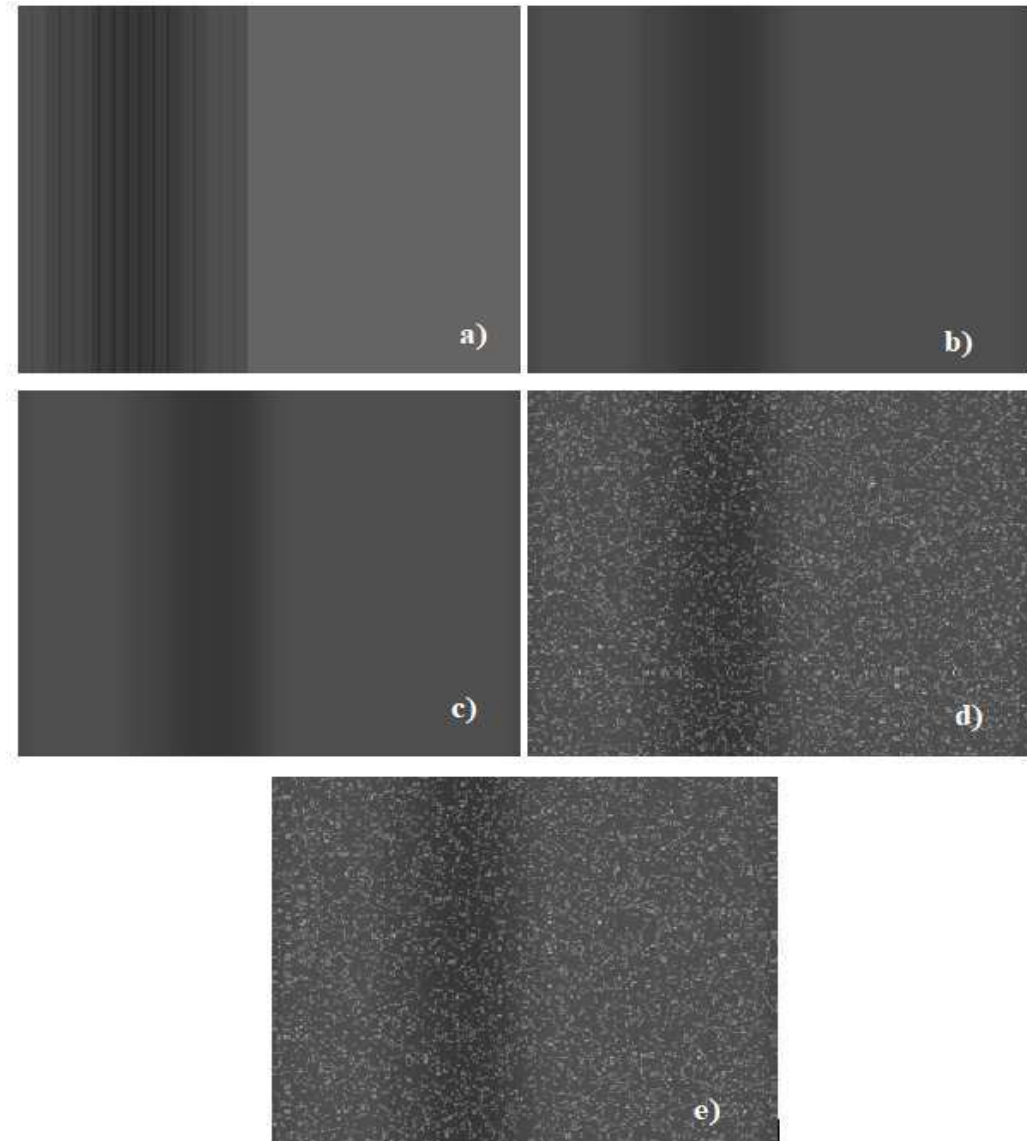
utilizando o padrão 4 (quatro) de valor de pixel em escala de cinza, ordem 7 (sete) de PDI e ruído com faixa parcial é apresentada nas Figura 20, Figura 21 e Figura 22.

Figura 20 - Sequência de imagens para H₂O a) Imagem de Fresnel. b) Filtro Gaussian Blur com desvio de 25. c) Ruído Sal e Pimenta com porcentagem de 0,01 em toda a imagem. d) Filtro Máximo com matriz 3×3 . e) Filtro Gaussian Blur com desvio de 10.



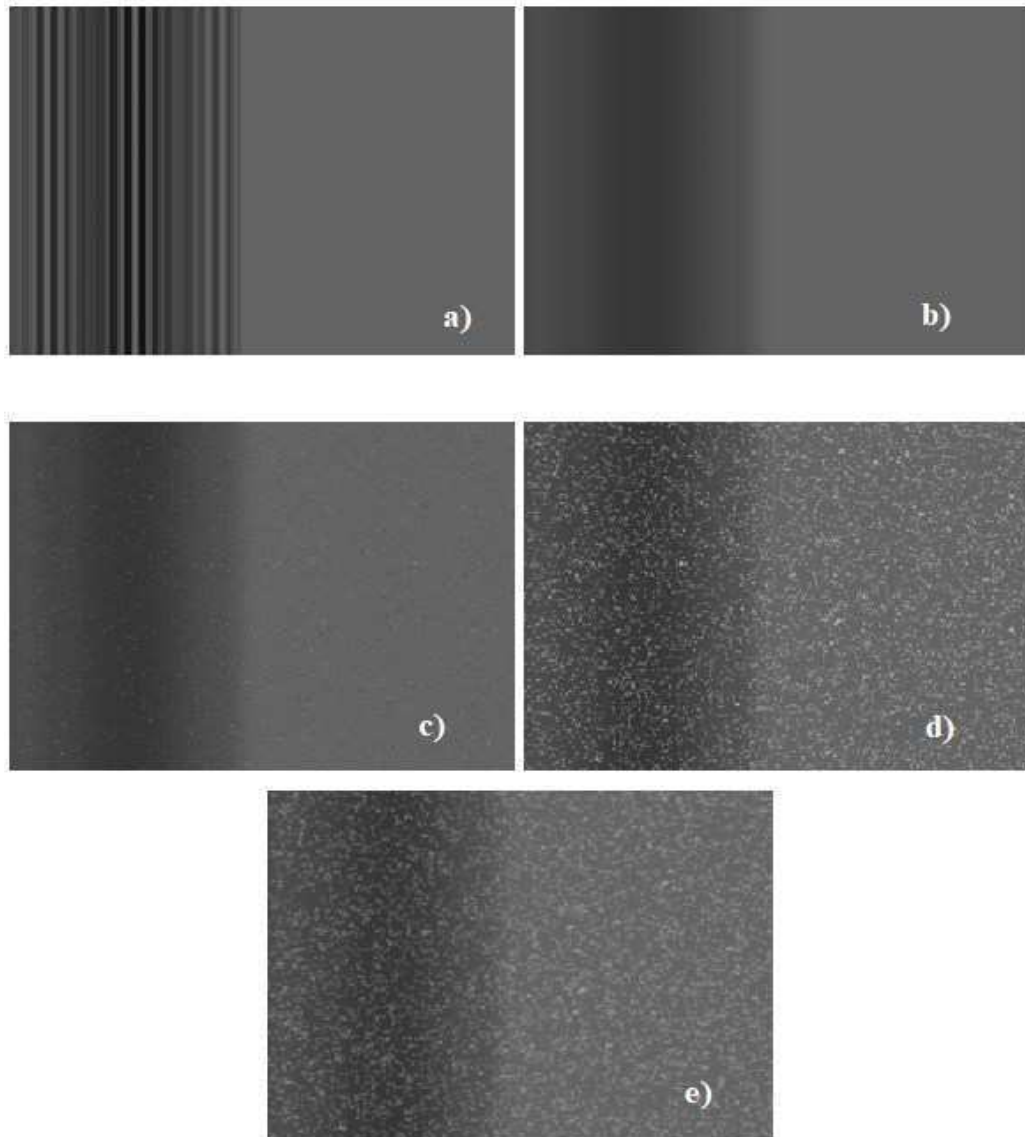
Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 21 - Sequência de imagens para PBS a) Imagem de Fresnel. b) Filtro Gaussian Blur com desvio de 25. c) Ruído Sal e Pimenta com porcentagem de 0,01 em toda a imagem. d) Filtro Máximo com matriz 3×3 . e) Filtro Gaussian Blur com desvio de 10.



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 22 - Sequência de imagens para HIPO a) Imagem de Fresnel. b) Filtro Gaussian Blur com desvio de 25. C) Ruído Sal e Pimenta com porcentagem de 0,01 em toda a imagem. d) Filtro Máximo com matriz 3×3. E) Filtro Gaussian Blur com desvio de 10.



Fonte: Autoria própria (2024).

4.2. Arquiteturas das CNN

4.2.1. Camada de entrada

A etapa de geração de imagens a partir de curvas SPR simuladas gerou um total de 2420 imagens, das quais apenas as últimas, resultantes do processamento digital de imagem, foram usadas para compor o *dataset*. A seguir, é apresentado um resumo das quantidades de imagens resultantes utilizadas.

Tabela 6 - Quantidade de imagens resultantes do PDI.

Classe (RIU)	Quant. resultante	Quant. treino	Quant. validação	Quant. teste
1,33	120	96	12	12
1,335	120	96	12	12
1,34	120	96	12	12
1,345	120	96	12	12
1,35	120	96	12	12

Fonte: Autoria própria (2024).

Conforme descrito na metodologia, o conjunto resultante foi dividido de forma aleatória em 80% para treinamento, 10% para validação e 10% para teste.

4.2.2. Desempenho das CNNs

Os 7 (sete) modelos de CNNs foram treinados de acordo com o citado na metodologia deste trabalho. Assim, em todos os processos de treinamento, o algoritmo executou 150 atualizações de gradiente ($15 \text{ lotes} \times 10 \text{ épocas}$). Os parâmetros gerais de desempenho de cada modelo são apresentados na Tabela 7. De forma sucinta, o f1-score representa a porcentagem de acertos total considerando as 60 (sessenta) imagens de teste, enquanto a precisão é a média da porcentagem de acerto por classe. Ao avaliar as arquiteturas com base nesses parâmetros, é possível afirmar que os modelos Xception e NASNETLarge foram os mais que apresentaram maior poder de aprendizagem.

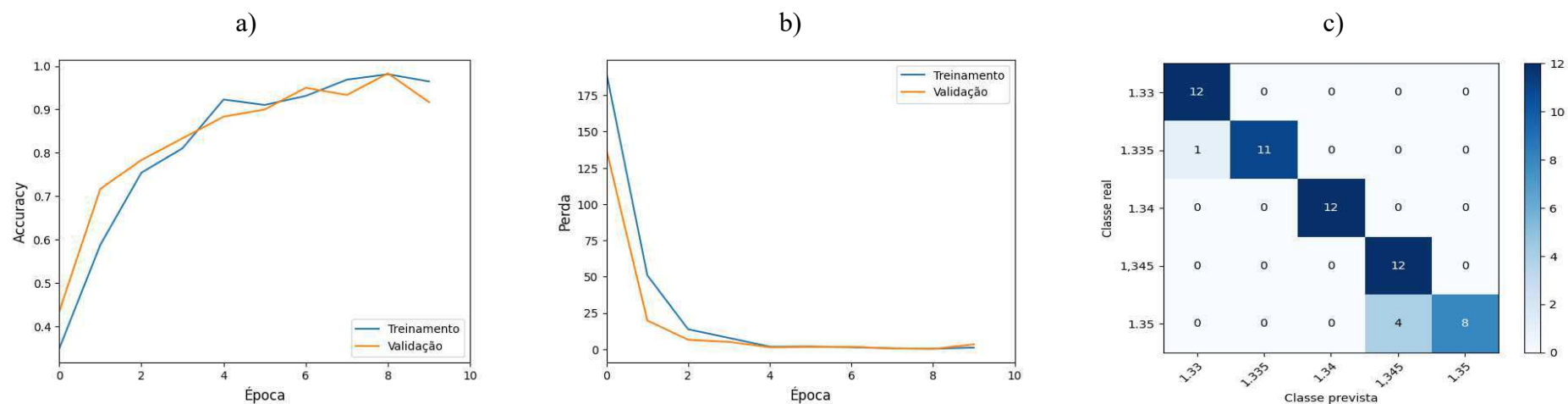
Tabela 7 - Desempenho das CNNs.

Modelo	f1-score	Precisão
Xception	0,92	0,93
VGG19	0,73	0,83
InceptionResNetV2	0,57	0,63
MobileNetV2	0,78	0,80
DenseNet201	0,68	0,58
NASNETLarge	1,00	1,00
EfficienteNetB7	0,70	0,64

Fonte: Autoria própria.

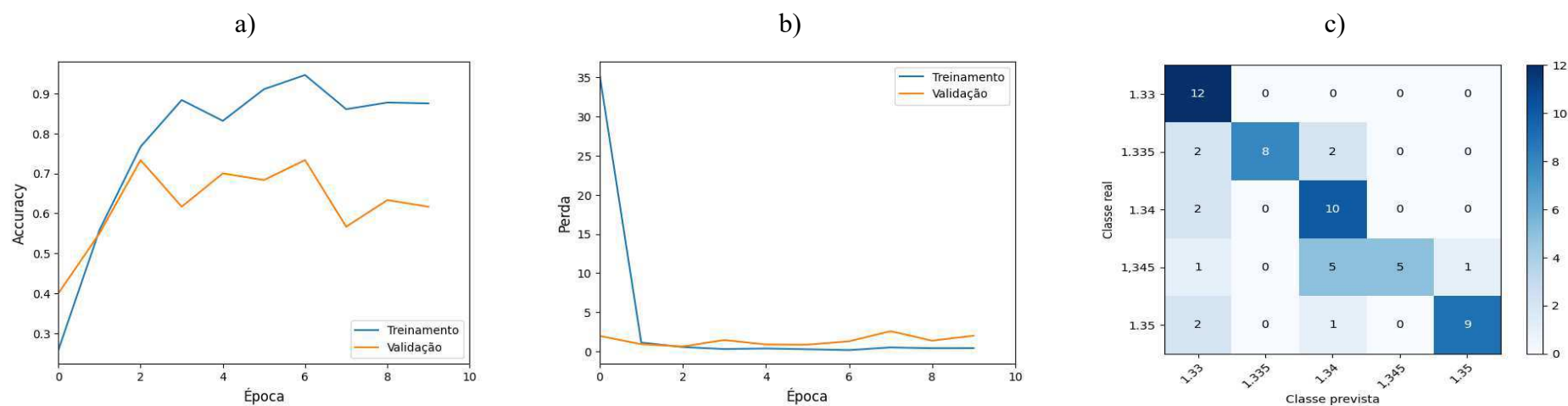
A seguir, as Figura 23 a Figura 29 apresentam os gráficos de acurácia por época, perdas (função *loss*) por época e matrizes de confusão.

Figura 23 - Métricas de desempenho do modelo Xception. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.



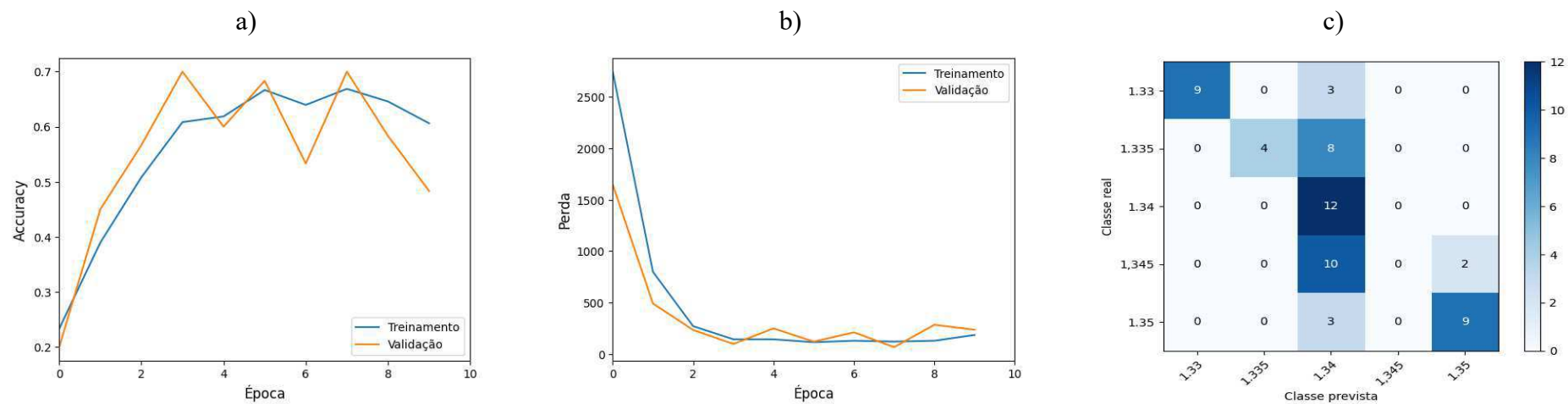
Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 24 - Métricas de desempenho do modelo VGG19. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.



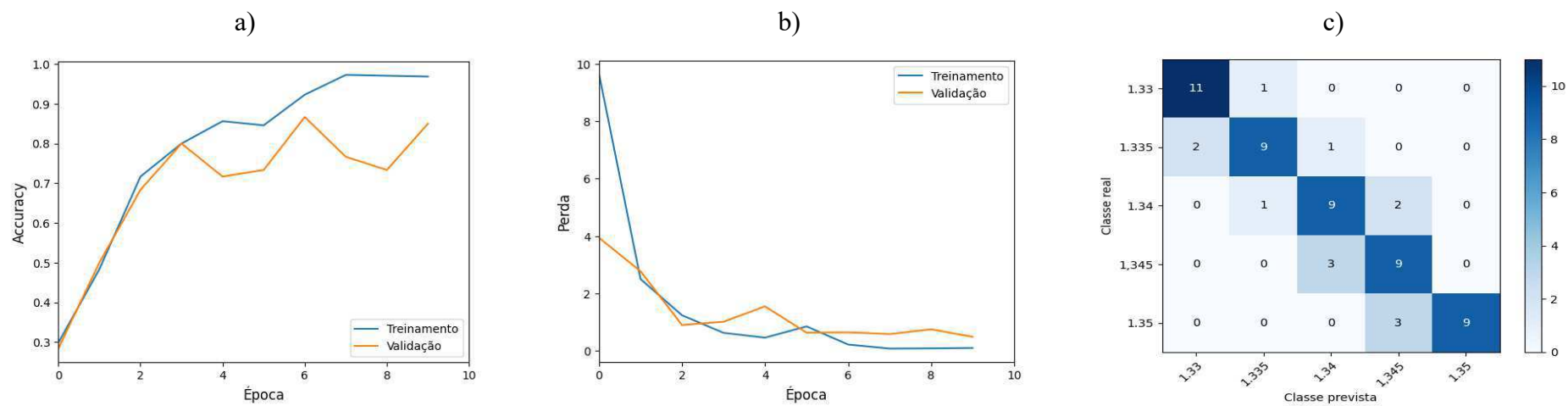
Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 25 - Métricas de desempenho do modelo InceptionResNetV2. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.



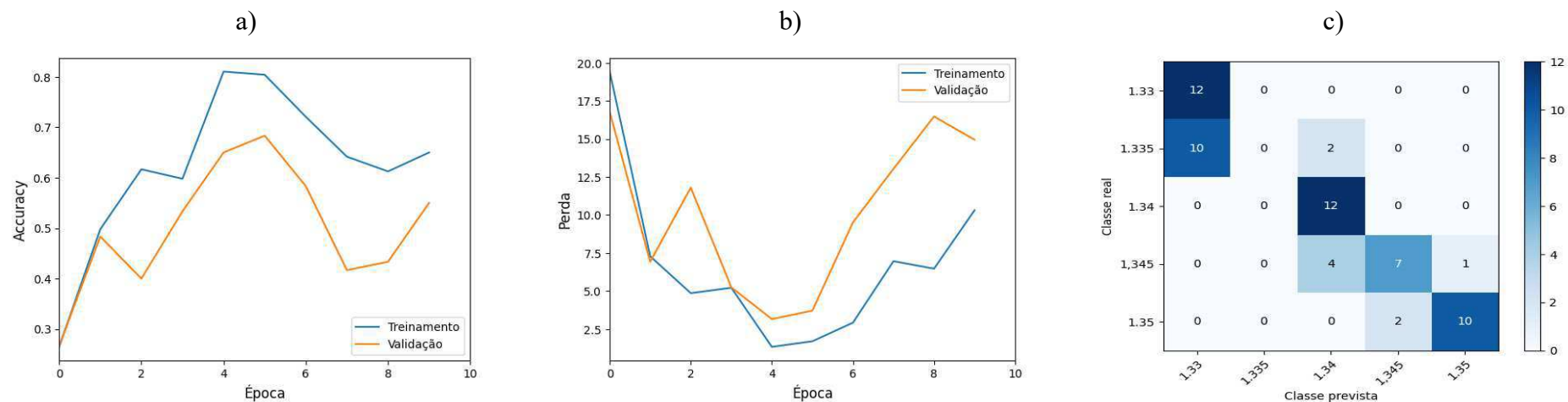
Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 26 - Métricas de desempenho do modelo MobileNetV2. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.



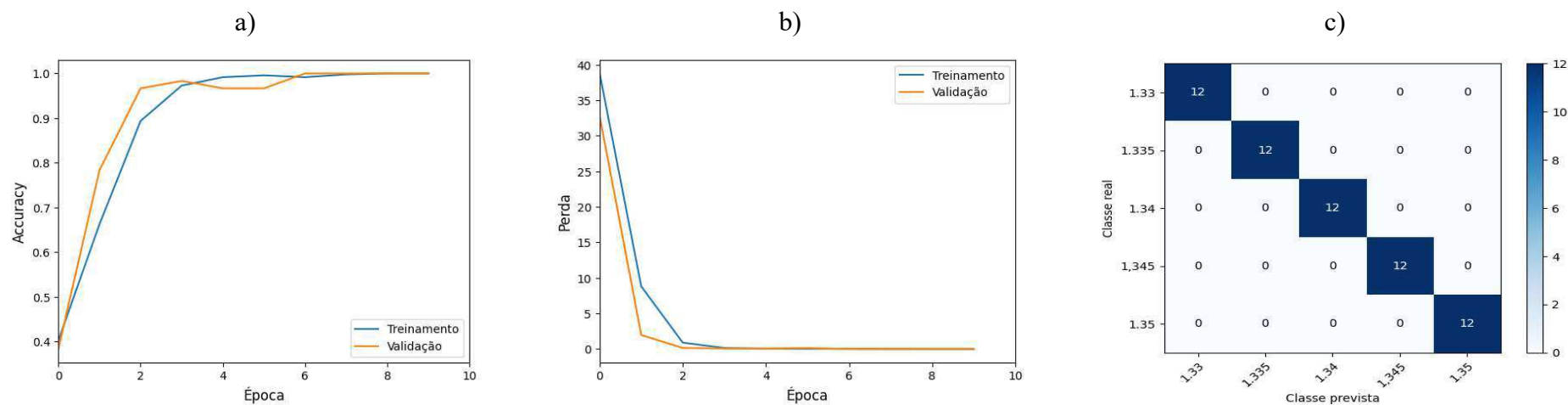
Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 27 - Métricas de desempenho do modelo DenseNet201. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.



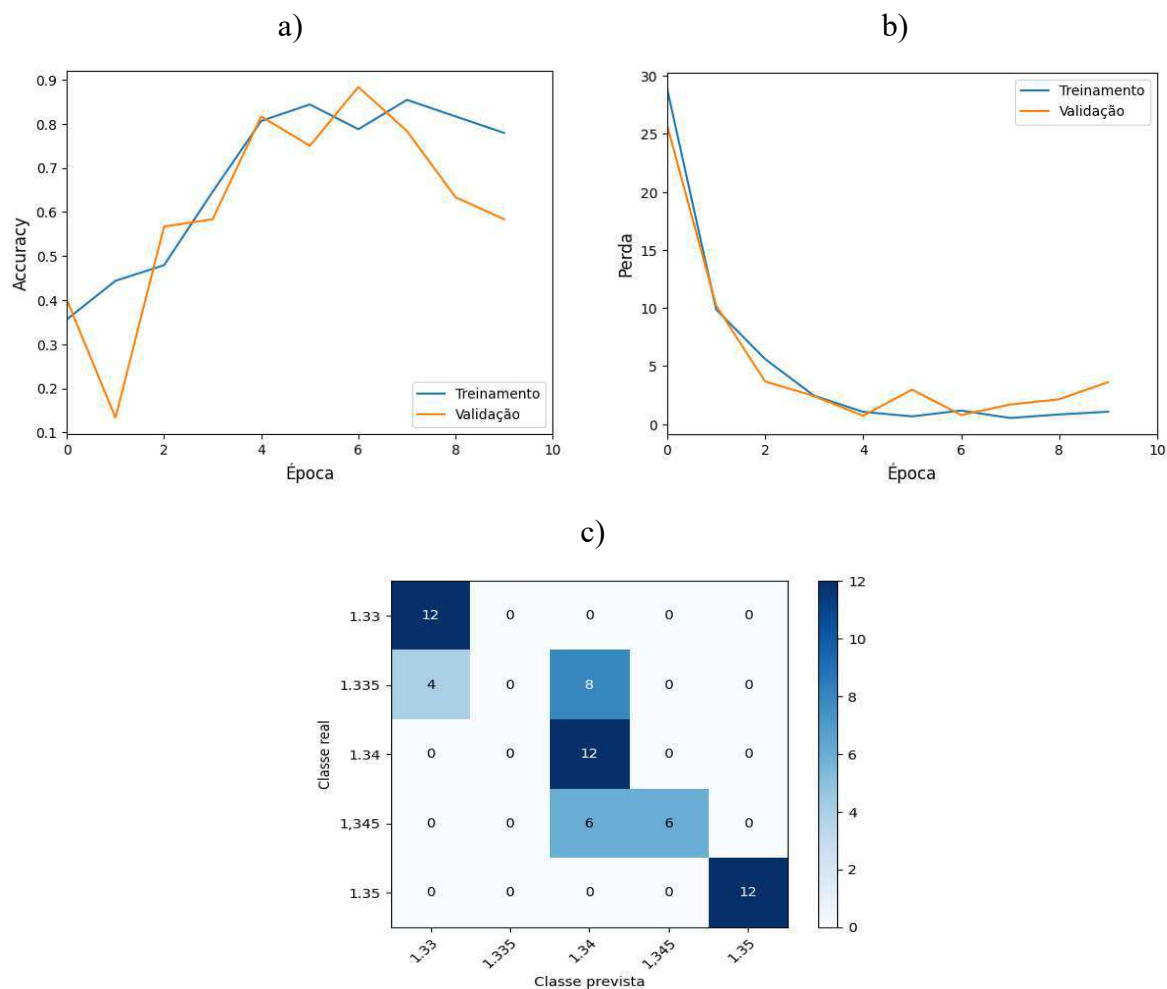
Fonte: Autoria própria (2024)

Figura 28 - Métricas de desempenho do modelo NASNETLarge. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 29 - Métricas de desempenho do modelo EfficientNetB7. a) Accuracy. b) Perdas. c) Matriz de confusão.



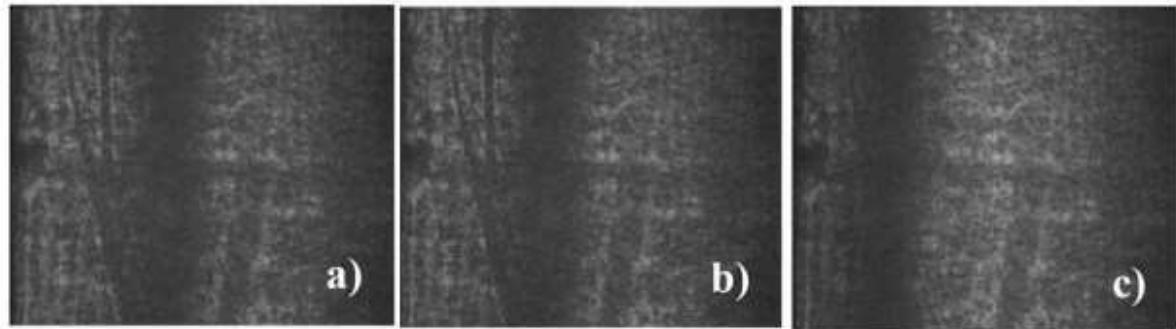
Fonte: Autoria própria (2024).

4.3. Identificação de substâncias com imagens experimentais

Com os modelos treinados, validados e testados com as imagens obtidas a partir de dados simulados, as arquiteturas foram testadas com imagens obtidas experimentalmente.

As imagens experimentais foram obtidas com o sensor SPR baseado em PPBIO para o modo AIM. Na Figura 30, são mostradas as imagens experimentais em escala de cinza obtidas para as seguintes substâncias: H₂O (RIU=1,33), PBS (RIU=1,33151) e HIPO (RIU=1,34501).

Figura 30 - Imagens experimentais para as substâncias a) H₂O. b) PBS e c) HIPO.



Fonte: Adaptado de Aguiar et al. (2022).

Conforme é possível observar nas imagens experimentais apresentadas, há faixas escuras, ou seja, com menores valores de pixels nas primeiras e últimas colunas. Isso se deve ao fato de um ajuste na estrutura com fita adesiva em uma região de alcance da câmera; portanto, a região que indica o fenômeno SPR nas imagens corresponde às áreas escuras centralizadas. Diante dessa situação, para viabilizar o estudo, foi proposta a exclusão de das 100 (cem) primeiras e as 280 (duzentos e oitenta) últimas colunas das imagens.

A sumarização dos resultados das CNNs é apresentada nas Tabela 8, Tabela 9 e Tabela 10, onde é possível obter a porcentagem que cada modelo encontrou por classe para imagens experimentais.

Tabela 8 - Porcentagem para classificação da imagem experimental de H₂O (RIU=1,33001).

Modelo	Classes (RIU)				
	1,33	1,335	1,34	1,345	1,35
Xception	100	0	0	0	0
VGG19	100	0	0	0	0
InceptionResNetV2	0	100	0	0	0
MobileNetV2	100	0	0	0	0
DenseNet201	100	0	0	0	0
NASNETLarge	100	0	0	0	0
EfficienteNetB7	100	0	0	0	0

Fonte: Autoria própria (2024).

Tabela 9 - Porcentagem para classificação da imagem experimental de PBS (RIU=1,33151).

Modelo	Classes (RIU)				
	1,33	1,335	1,34	1,345	1,35
Xception	58,44	41,55	0	0	0
VGG19	99,96	0,03	0	0	0
InceptionResNetV2	100	0	0	0	0
MobileNetV2	99,99	0	0	0	0
DenseNet201	100	0	0	0	0
NASNETLarge	100	0	0	0	0
EfficienteNetB7	100	0	0	0	0

Fonte: Autoria própria (2024).

Tabela 10 - Porcentagem para classificação da imagem experimental de HIPO (RIU=1,334501).

Modelo	Classes (RIU)				
	1,33	1,335	1,34	1,345	1,35
Xception	0	0	0	100	0
VGG19	0	0	0,37	99,62	0
InceptionResNetV2	0	0	0	0	100
MobileNetV2	0	0	0	96,06	0,15
DenseNet201	0	0	0	0,8	99,19
NASNETLarge	0	0	0	99,34	0,65
EfficienteNetB7	0	0	0,03	99,36	0

Fonte: Autoria própria (2024).

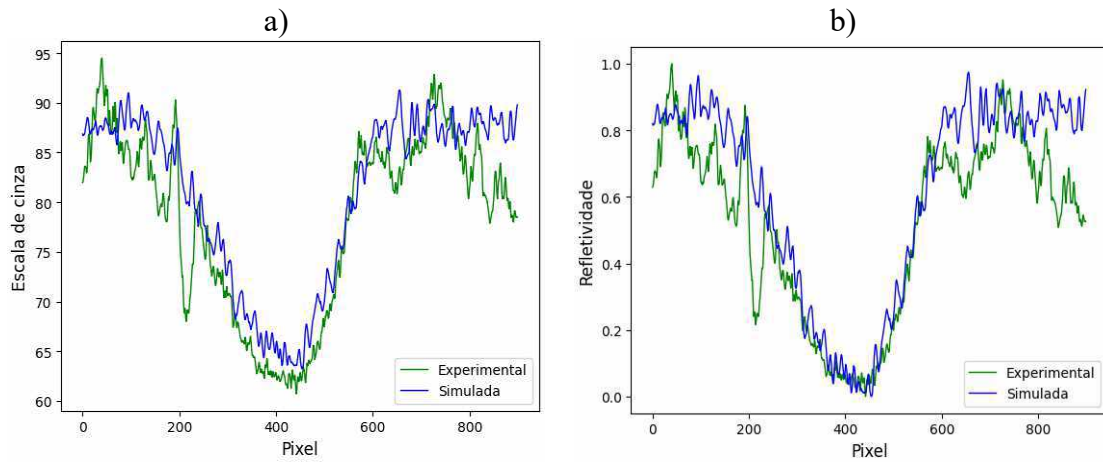
Analisando os dados constantes nas Tabela 8, Tabela 9 e Tabela 10, percebe-se que os modelos InceptionResNetV2 e DenseNet201 não foram capazes de classificar corretamente as imagens experimentais, fato já esperado devido os parâmetros e matriz de confusão obtidos para essas arquiteturas.

Por fim, as imagens geradas foram comparadas com imagens experimentais por meio das curvas SPR. Como ilustrados nos gráficos presentes nas Figura 31, Figura 32 e Figura 33, nota-se a proximidade da localização da região de pixel de menor valor entre as imagens. Para geração da curva SPR a partir das imagens, foram utilizadas duas abordagens: i) a partir do cálculo da média da coluna de pixel gerando uma resposta em escala de cinza, e ii) cálculo da refletividade, que, nesta etapa, é feita considerando a normalização das curvas de acordo com a Equação 15.

$$r = \frac{méd_i - mín_t}{máx_t - mín_t} \quad (15)$$

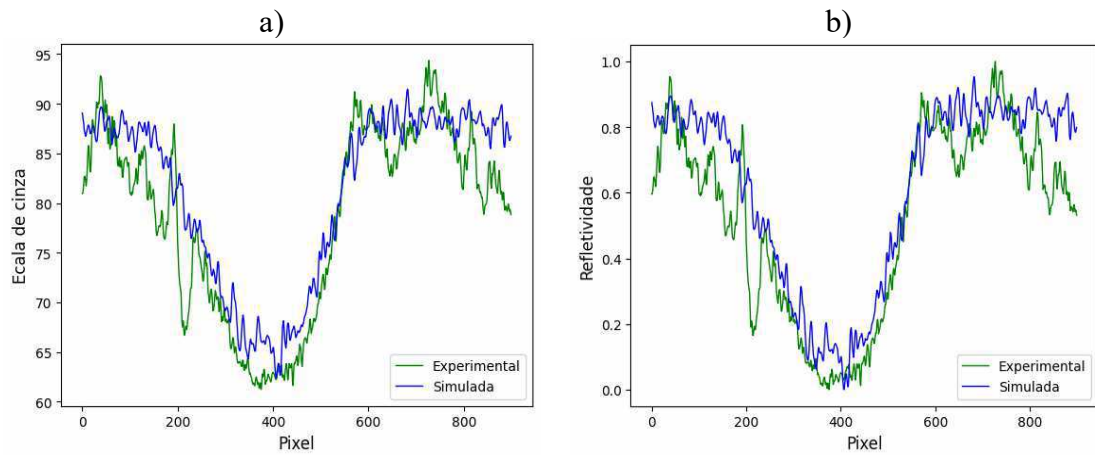
em que : i é a coluna; $méd$ é a média, $mín_t$ é a menor média considerando todas as colunas; $máx_t$ é a maior média considerando todas as colunas.

Figura 31 - Comparação entre imagem experimental e imagem simulada para H₂O a) Em escala de cinza. b) Normalizada.



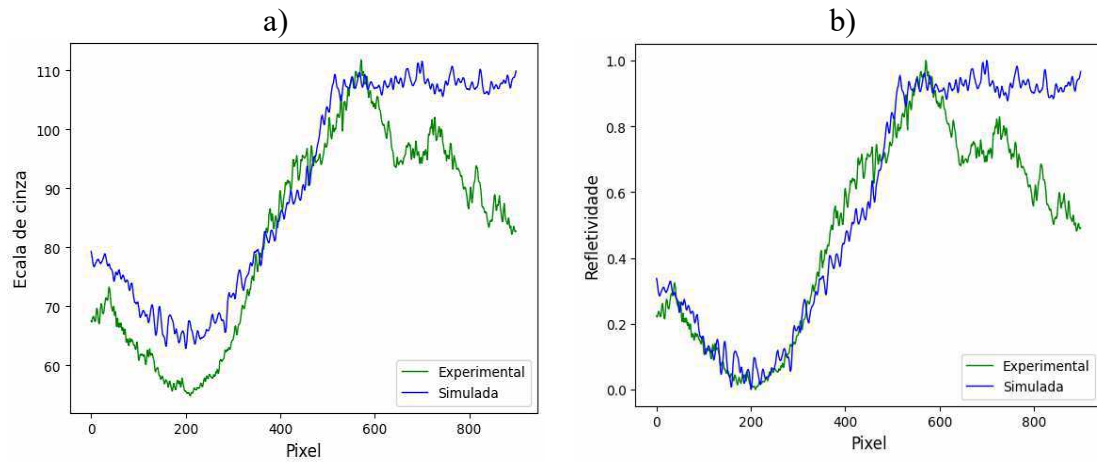
Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 32 - Comparação entre imagem experimental e imagem simulada para PBS a) Em escala de cinza. b) Normalizada.



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 33 - Comparação entre imagem experimental e imagem simulada para HIPO a) Em escala de cinza. b) Normalizada.



Fonte: Autoria própria (2024).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho apresenta arquiteturas de redes neurais convolucionais para classificar imagens de acordo com seu índice de refração. A ideia é permitir uma classificação rápida e simples a partir de imagens obtidas por um sensor SPR, promovendo assim mais aplicabilidade aos sensores SPR.

Como o conjunto de imagens obtidas experimentalmente é de apenas 3 (três) imagens, o presente trabalho buscou gerar imagens a partir de curvas obtidas por equações de Fresnel e método da matriz de transferência. As imagens obtidas por simulação foram então comparadas com as imagens experimentais para validar o processamento digital de imagem aplicado e então garantir que as mesmas poderiam ser usadas na camada de entrada dos modelos de arquiteturas de redes propostos.

De posse do *dataset*, os modelos disponibilizados na API Keras (2024) foram treinados, validados e testados com dados simulados com parâmetros iguais a fim de garantir uma comparação entre eles. Por fim, as redes foram testadas para classificar imagens experimentais com a finalidade de validar os modelos. Como 5 (cinco) CNNs foram capazes de classificar corretamente as imagens e foi possível salvar esses modelos. O presente trabalho sugere um método simples em que cada imagem obtida pelo sensor SPR usado como referência pode ser classificada de acordo com o índice de refração.

Embora a pesquisa tenha apresentado um método capaz de classificar substâncias aquosas a partir de imagens SPR, trabalhos futuros para endereçar os seguintes aspectos podem ser oportunizados: i) novas formulações para geração de imagens SPR simuladas; ii) ampliação da base de dados; iii) treinamento com imagens experimentais; iv) refinamento dos modelos; e v) utilização de outras técnicas/estratégias de aprendizagem de máquina.

REFERÊNCIAS

- API Keras. *Keras 3 API documentation / Keras Applications*. 2024. Disponível em: <<https://keras.io/api/applications/#usage-examples-for-image-classification-models>>. Acessado em: 31 de junho de 2024.
- AGUIAR, G. M.; SOUZA, L. C.; SOUZA, D. F. L.; OLIVEIRA, L. C. *Combination of Digital Image Processing and Statistical Data Segmentation to Enhance SPR and spri Sensor Responses*. *Plasmonics*, v.1, p. 1-7, 2022.
- ALBAWI, S.; MOHAMMED, T. A.; AL-ZAWI, S. *Understanding of a convolutional neural network*. *International Conference on Engineering & Technology (ICET' 2017)*, Akdeniz University, Antalya, Turquia, p 1-6.21-23, 2017.
- BATISTA, J. C. S.; COSTA, M. V. S.; OLIVEIRA, L. C. *Smart Noise Reduction in SPR Sensors Response Using Multiple-ANN Design*. *IEEE Sensors Council*, v. 21, p. 4517–4524, 2021.
- CARVALHO, R. M.; RATH, S.; KUBOTA, L. T. **SPR - Uma nova ferramenta para biossensores**. *Química Nova*, v. 26, p. 97 – 104, 2003.
- FANO, U. *The Theory of Anomalous Diffraction Gratings and of Quasi-Stationary Waves on Metallic Surfaces (Sommerfeld's Waves)*. *J. S. S. A.* v.31, p. 213 – 22, 1941.
- FERREIRA, W. D. **Deteccão de imagens falsificadas baseada em descritores locais de textura e rede neural convolucional**. 2020. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, 2020.
- Filho, C. A. S. **Contribuição ao Projeto de Sistemas Multianalíticos Baseados em Ressonância de Plasmons de Superfície**. 2017. 150p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2017.

FREITAS, A. K. L. **Desenvolvimento de um sensor de ressonância de plásmons de superfície portátil baseado em um single-board computer**. 2022. 88 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2022.

FREITAS, A. K. L.; OLIVEIRA, L. C. ***A Portable Surface Plasmons Resonance Sensor Based on Single-Board Computer***. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, v. 72, p. 1-9, 2023.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. C. **Processamento digital de imagens**. Pearson, 3^a ed., 2009.

HOMOLA, J.; YEE, S. S.; GAUGLITZ, G. ***Surface plasmon resonance sensors: review***. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 54, n. 1-2, p. 3 – 15, 1999. ISSN 0925-4005.

HAYKIN, S. **Redes Neurais: Princípios e prática**. São Paulo: Bookman, 2001.

JANG, CHAE, G.; SHIN, S. **Analysis of Surface Plasmon Resonance Curves with a Novel Sigmoid-Asymmetric Fitting Algorithm**. *Sensores*, p. 25385-25398, 2015.

KANSO, M.; CUENOT, S.; LOUARN, G. ***Roughness effect on the SPR measurements for an optical fibre configuration: Experimental and numerical approaches***. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, v. 9, p. 586–592, 2007.

LARSSON, E. M.; LANGHAMMER, C.; ZORIC, I.; KASEMO, B. ***Nanoplasmonic probes of catalytic reactions***. *Science*, v. 326, n. 5956, p. 1091–1094, 2009.

LIEDBERG, B.; NYLANDER, C.; LUNDSTROM, I. ***Biosensing with surface plasmon resonance – how it all started***. *Biosensores & Bioeletrônica*, v. 10, p. 1-9, 1995.

LOUREIRO, F.; NETO, A. B.; MOREIRA, C.; LIMA, A. M. N.; NEFF, H. ***A method for determining the mutual diffusion coefficient of molecular solutes based on surface plasmon resonance sensing***. *Sensors and Actuators B: Chemical*, p.129 –136, 2010. ISSN 0925-4005. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.02.023> >. Acessado em: 14 de março de 2023.

Filho, M. O.; Neto, V. Hugo. **Processamento digital de imagens**. Brasport, 1999.

MOREIRA, C. S. **Projeto e realização de um biochip óptico para aplicações biológicas baseado no princípio de ressonância de plásmons de superfície**. 2010. 140p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2010.

NASCIMENTO JR. C. L.; YONEYMA, T. **Inteligência artificial em controle e automação**. Edgard Blücher Ltda, 2000.

NEFF, H.; ZONG, W. et al. *Optical properties and instrumental performance of thin gold films near the surface plasmon resonance*. *Thin solid Films*, v. 496, p. 688-697, 2006.

NILSSON, N. J. *Probabilistic Logic*. *Artificial Intelligence*, v. 28, p.71-87, 1986.

OLIVEIRA, L. C. **Construção e caracterização de sensores SPR: influência da camada metálica e do substrato dielétrico**. 2016. 127 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande, 2016.

OLIVEIRA, L. C.; LIMA, A. M. N.; THIRSTRUP, C.; NEFF, H. F. *Surface plasmon resonance sensors: a materials guide to design and optimization*. [S.l.]: Springer, 2015.

OLIVEIRA, L. C. **Sistema computacional para biossensores baseado na ressonância de plasma de superfície**. 2011. 132p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2011.

PÉREZ, C. A. S. O modelo do elétron livre de drude completa 100 anos. *Cat. Ens. Fís.* v. 17, p. 348-359. Passo Fundo – RS, 2000.

PILIARIK, M.; VALA, M.; TICHÝ, I.; HOMOLA, J. *Compact and low-cost biosensor based on novel approach to spectroscopy of surface plasmons*. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 24, p. 3430–3435, 2009.

PILLOW. *Pillow (PIL Fork) 10.3.0 documentativo*. 2024. Disponível em: < <https://pillow.readthedocs.io/en/stable/> >. Acessado em 31 de junho de 2024.

RITCHIE, R. H.; ARAKAWA, E. T.; COWAN, J. J.; HAMM, R. N. *Surface-Plasmon Resonance Effect In Grating Diffraction*. *Physical Review Letters*, v.21, p. 1530-1533, 1968.

SANTOS, W. F. M. **Detecção e diagnóstico de falhas em rolamentos, sob diferentes cargas e velocidades, utilizando Redes Neurais Convolucionais**. 2023. 86 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2023.

SILVA, F. J. **Projeto e desenvolvimento de uma plataforma automatizável para sensor baseado na ressonância de plasmons de superfície**. 2021. 84p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2021.

TENSORFLOW. *API TensorFlow v2.16.1*. 2024. Disponível em: < https://www.tensorflow.org/api_docs/python/tf >. Acessado em: 31 de junho de 2024.

THADSON, K.; SASIVIMOLKUL, S. et al. *Measurement precision enhancement of surface plasmon resonance based angular scanning detection using deep learning*. *Nature- Scientific Reports*, v. 12, p. 1-14, 2022.

WANG, J.; RAN, P.; LUO, Y.; TIAN, P.; MAO, Y. *The Study of LSPR Biosensor Data Processing Based on Deep Learning*. *2021 5th International Conference on Communication and Information Systems*, p. 124–128, 2021.

WANG, J.; ZHUANG, J.; DUAN, L.; CHENG, W. *A multi-scale convolution neural network for featureless fault diagnosis*. *2016 International Symposium on Flexible Automation, Cleveland, Ohio, U.S.A*, p. 65-70, 2016.

WANG, Z., DIAMOND, J. J.; HOU, R. et al. *An accurate and precise polynomial model of angular interrogation surface plasmon resonance data*. *Sensors and Actuators: Chemical*, v. 151, p. 309-3019, 2011.

WOOD, R. W. ***On a Remarkable Case of Uneven Distribution of Light in a Diffraction Grating Spectrum.*** *IOP Science*, p. 269 - 275, 1902.

WU, L., MA; Y., GUAN, X.; WANG, J. **Facile Imaging-Based Plasmonic Biosensing Augmented by Deep Learning.** *Asia Communications and Photonics Conference, ACP*, 2022-November, p. 1946-1948, 2022.