



DEUTSCHE
GESELLSCHAFT FÜR
ZERSTÖRUNGSFREIE
PRÜFUNG E.V.

ZfP-Sonderpreis der DGZfP beim Regionalwettbewerb Jugend forscht

BRANDENBURG WEST

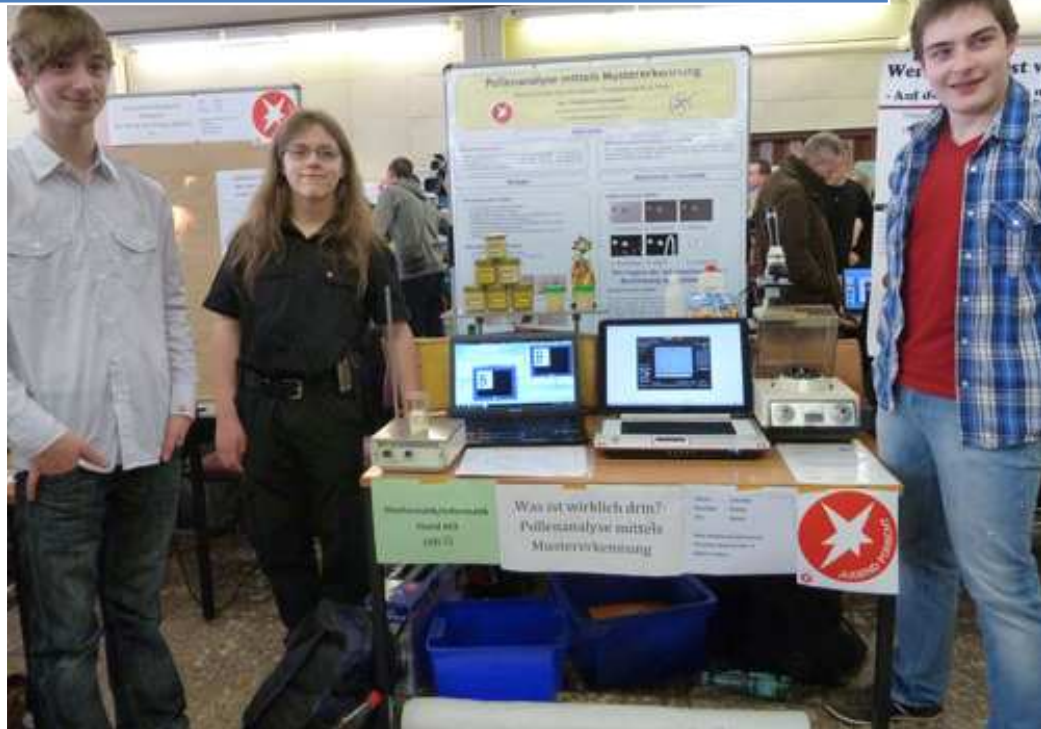


Was ist wirklich drin? Pollenanalyse mittels Mustererkennung

Benedikt Ratzke
Alicius Schröder
Tim Gotzel

Schule:
MSG Cottbus

Was ist wirklich drin? – Pollenanalyse mittels Mustererkennung



Tim Gotzel

Benedikt Ratzke

Alicius Schröder

Max-Steenbeck-Gymnasium Cottbus

Betreuer: Dr. Andreas Tosch

Max-Steenbeck-Gymnasium Cottbus

Inhaltsverzeichnis

KURZFASSUNG	3
EINLEITUNG	4
1. ALLGEMEINE BETRACHTUNG	5
1.1. Aufbau der Pollen	5
1.2. Extrahieren und Verdichten der Pollen	5
1.2.1. Arbeitsmittel	5
1.2.2. Arbeitsweise	6
2. COMPUTERGESTÜTZTE AUSWERTUNG	8
2.1. Möglichkeiten zur Musterfindung	8
2.1.1. Mustersuche im ganzen Bild	8
2.1.2. Mustererkennung mit vorhergehender Klassifizierung	9
2.2. Der gewählte Ansatz	9
2.2.1. Strukturensuche	9
2.2.2. Kreuzkorrelation	11
2.2.3. Face-Space-Algorithmus	13
2.2.4. Erstellung der Bibliothek	15
3. DISKUSSION	16
Was haben wir erreicht und was nicht?	16
Was wollen wir noch erreichen?	16
ANHANG	17
Quellen	17
Weitere Literaturempfehlungen	17
Zusatz	19
Impressionen	21

Kurzfassung

Die Pollenanalyse ist eine wichtige interdisziplinäre Verfahrensweise, um zum Beispiel die Bestäubung von landwirtschaftlich genutzten Feldern nachzuprüfen und frühzeitiges Handeln zu ermöglichen. Starke ökonomische Verluste werden so vermieden. Auch der Verbraucherschutz profitiert von der Analyse, wenn Verunreinigungen oder allergieauslösende Bestandteile in Lebensmitteln aufgedeckt werden. Hoch qualifizierte und geschulte Mitarbeiter von Instituten führen diese manuell durch, indem sie Mikroskopbilder subjektiv auswerten.

Das Forschungsprojekt beschäftigt sich mit der automatisierten Auswertung der Pollen. Durch Datenaufbereitungs- und Mustererkennungsverfahren soll die Pollenanalyse objektiver, unabhängiger von Fachleuten und zeitsparender gestaltet werden.

Dabei werden zwei Anwendungsmöglichkeiten verfolgt:

1. Qualitative Pollenanalyse für interessierte Laien
2. Quantitative Pollenanalyse als Hilfsmittel für die Institute

Für 1. (qualitative Pollenanalyse) werden Untersuchungen mit einfachen und kostengünstigen Geräten vorgestellt. Mit dem entwickelten Computer-Programm gelingt es, bestimmte Pollenarten in einem Mikroskop-Bild zu erkennen. Weitere Untersuchungen müssen folgen, um die Anwendungsmöglichkeiten zu verbessern.

Für 2. (quantitative Pollenanalyse) stehen die Arbeiten erst am Anfang. Gemeinsam mit dem Länderinstitut für Bienenkunde in Hohen Neuendorf, welches das Projekt unterstützt, muss die Anwendung des entwickelten Programms im Laboralltag noch weiter untersucht werden.

Einleitung

Die Palynologie oder Pollenanalyse ist heute eine bedeutende interdisziplinäre wissenschaftliche Methodik. Sie findet Anwendung in der Biologie, der Botanik, in den Agrar- und Geowissenschaften, sowie der Klimaforschung.

Durch die Pollenanalyse können Institute wie das DAI (Deutsches Archäologisches Institut) Rückschlüsse über die Vegetation und das Klima in der Vergangenheit erhalten. Das Leben der Menschen und die Auswirkungen auf die Umwelt durch Viehhaltung und Ackerbau können rekonstruiert werden. (*siehe Quelle 1*).

Der bundesweite Pollenflug wird von der Stiftung Deutscher Polleninformationsdienst (PID) durch die Pollenanalyse überwacht. Geschulte Mitarbeiter messen hierfür an 45 Orten in Deutschland die Flugpollenkonzentration und werten diese aus (*siehe Quelle 2*). Die zeitaufwändige Analyse schützt die rund 30 Millionen deutschen Allergiker (*siehe Quelle 3*).

Honiganalysen werden von den Länderinstituten für Bienenkunde (LIB) in ganz Deutschland durchgeführt, um die Qualität, die Herkunft und die Sortenreinheit von Biohonig zu bestimmen. Verbraucher werden so vor Falschaussagen über und Verunreinigung in Honigprodukten geschützt. Auch die genutzten Bienenweiden können nachgewiesen werden, um so Landwirten zu bestätigen, dass die Pflanzen auf ihren Feldern bestäubt wurden. In Deutschland unterliegen die Imkereiprodukte strengen Auflagen und Kontrollen, die ebenfalls von den LIB durchgeführt werden.

Nach der Honigverordnung, die seit dem 29. Januar 2004 vom Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft unterzeichnet und in Kraft getreten ist, muss ein Honig bestimmten Analysen unterzogen werden, um Aufschluss über Bestandteile, sowie geografische und botanische Herkunft zu erhalten (*siehe Quelle 4*). Hierzu werden nach DIN-Vorschriften (*siehe weitere Literaturempfehlungen*) qualitative und quantitative Pollenanalysen durchgeführt. Diese sind sehr kostenintensiv und zeitaufwendig, da geschulte Mitarbeiter manuell und subjektiv Pollen in Präparaten auszählen und bestimmen müssen. Eine automatisierte Pollenidentifizierung und –auszählung („quantitative Pollenanalyse“) durch Datenaufbereitungs- und Mustererkennungsverfahren, wie wir sie erforschen, soll den hohen Zeitaufwand und die Kosten senken.

Unsere Verfahrensweisen sollen es auch für nichtspezialisierte Fachleute möglich machen, eine qualitative Pollenanalyse durchzuführen.

Folgende Anforderungen müssen dazu erfüllt werden:

1. Der experimentelle Aufwand muss vertretbar sein. Das heißt, die notwendigen Schritte zur Probenherstellung sollten leicht erlernbar und mit geringen Anforderungen an Geräte verbunden sein.
2. Die Software muss leicht zu bedienen sein. Das heißt, die Benutzerschnittstelle muss sich selbst erklären und leicht verständlich sein.
3. Der Programmcode sollte so einfach wie möglich sein. Dadurch ergibt sich für Nutzer die Möglichkeit zur eigenständigen Änderung des Programms.
4. Das Programm und alle genutzten externen Zusätze sollen frei zugänglich sein. Alternativ soll es den Code in verschiedenen Programmiersprachen geben.

Die Computertechnologie hat sich in dem letzten Jahrzehnt rasant weiterentwickelt und öffnet so neue Möglichkeiten für die Pollenanalyse. Bisherige Versuche scheiterten an zu langen Rechenzeiten und Problemen mit komplexeren Formen oder erzielten wenig befriedigende Ergebnisse. Gary Allen schrieb in seiner Masterarbeit „An Automated Pollen Recognition System“, die er im Dezember 2006 beendete, im Kapitel „8.2.4 Results“, dass die automatisierte quantitative Pollenanalyse pro Präparat 3mal länger brauchte, als ein Mensch (*siehe Quelle 5*). In unserem Forschungsprojekt sollen diese Probleme durch neue Ansätze bewältigt und so die Pollenanalyse effektiver gestaltet werden.

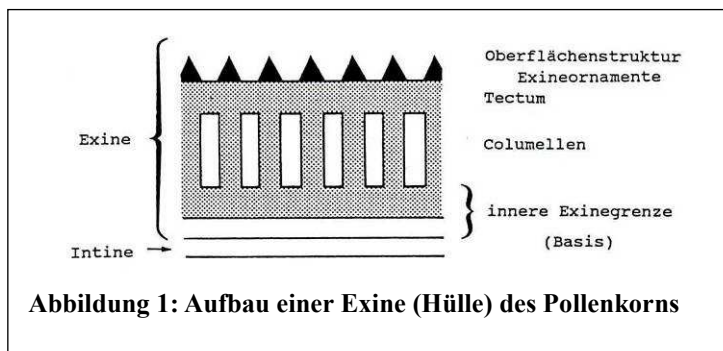
1. Allgemeine Betrachtung

1.1. Aufbau der Pollen

Die Intine ist die innere Pollenwand. Sie umgibt das Zytoplasma in dem sich die Organelle befindet. Während der Keimung schützt sie die Spermazelle.

Die äußere Pollenwand ist die Exine. Diese ist so widerstandsfähig, dass Enzyme sie nicht angreifen können, sodass der Pollen während des Transportes geschützt wird und enorme Haltbarkeit erlangt

Die Exine wird nochmals in mehrere Bereiche unterteilen, wobei die 3 äußersten Zonen die Fußschicht, darüber die Infratectum (Säulenschicht) und ganz außen das Tectum (lat. Dach) bilden. In der Infratectum befinden sich säulenartige Strukturen, die Columellen, die sich beim Fehlen des Tectums stark ausbilden. Auf dem Tectum befinden sich ornamentale Strukturen (supratectal). Diese ornamentalen Strukturen oder modifizierten Columellen kann man unter dem Mikroskop erkennen und zum identifizieren der Pollen benutzen, da sie bei unterschiedlichen Arten stark variieren können.



Die Exine wird in der Regel an einigen Stellen durch Keimöffnungen unterbrochen. An diesen so genannten Aperturen tritt später der Pollenschlauch aus. Je nach Lage und Anzahl der Aperturen werden genauere Identifikationen möglich. (siehe Quelle 6)

Bei der Identifikation werden von Instituten wissenschaftliche Werke, wie „Pollen Analysis“, „The NorthWest European Pollen Flora Part 1-8“, „Bestimmungsschlüssel für die nordwesteuropäische Pollenflora“, „Methodik der Melissopalynologie“ etc. benutzt. (siehe unter weitere Literaturangaben)

1.2. Extrahieren und Verdichten der Pollen

Um Honig richtig analysieren zu können, muss man die Pollen erst verdichten, denn „1g Honig enthält lediglich 5000 Pollenkörner. Würde Honig direkt auf das mikroskopische Präparat gegeben, hätten dort nur einige mg Platz, sodass sich dieser Wert noch einmal um einen Faktor größer 100 verkleinern würde und letztendlich der bestimmbare Gehalt an Pollen zu gering wäre“ (siehe Quelle 7).

1.2.1. Arbeitsmittel

Zur Pollenanalyse benötigt man ein Mikroskop mit einer integrierten Fotokamera. Es sollte mindestens eine 800-fache Vergrößerung aufweisen, da man ab dieser feinere Unterschiede zwischen einzelnen Pollen erkennen kann (siehe Abschnitt Pollenaufbau). Ein Magnetrührer bietet sich an, um den Honig im Wasser sorgfältig zu lösen. Eine Zentrifuge, die einen G-Faktor von mindesten 1000g schafft ist dringend notwendig ($G\text{-Faktor} = 1,118 \cdot 10^{-5} \cdot r \cdot f^2$; $r =$

1. Allgemeine Betrachtung

Radius in cm ; f = Drehzahl je Minute). Zusätzlich benötigt man: Pipetten, Waage, Becherglas, destilliertes Wasser, Objektträger, Deckgläschen, Zentrifugengläser und Glyceringelantine.

Für die private Pollenanalyse genügen kostengünstige Gerätschaften, wie ein Mikroskop, das man im Einzelhandel für unter 60€ einkaufen kann. Die Glyceringelantine kann man mit Glycerol und Backgelatine anmischen und die Zentrifuge mit Stativ und Bohrmaschine imitieren. Zudem benötigt man einen Computer mit USB-Anschluss für das Mikroskop und unsere Programme.



Abbildung 2: Zentrifuge



Abbildung 3: Discounter-Mikroskop



Abbildung 4: Mikroskop

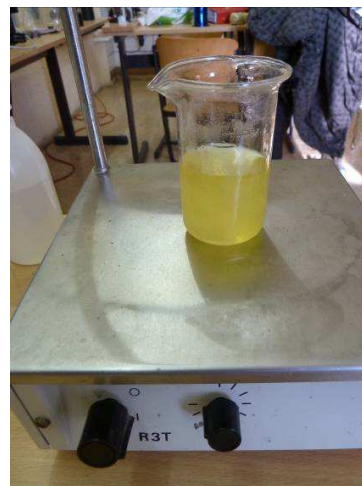


Abbildung 5: Magnetrührer

1.2.2. Arbeitsweise

Die Pollenanalyse haben wir in einem Seminar der Freien Universität Berlin zur Honiganalyse von dem Länderinstitut für Bienenkunde Hohen Neuendorf e.V. und dem NatLab, dem Mitmach- & Experimentierlabor für die Fachbereiche Biologie, Chemie und Pharmazie der FU Berlin erlernt.

Hierin wurde über die Möglichkeit referiert, Pollen aus einem Honig zu gewinnen und die Idee einer Pollenanalyse nach manuellen Maßstäben erschaffen.

Wir haben uns intensiv damit auseinandergesetzt, welches Vorgehen am besten geeignet erscheint. Dabei haben wir uns Tipps von dem Länderinstitut für Bienenkunde Hohen Neuendorf geholt und haben uns für das folgende Verfahren entschieden:

Von Honig

- Lösen des Honigs im Verhältnis 1:1,25 mit destilliertem oder deionisiertem Wasser
- Überführen der Lösung in ein Reagenzglas
- 10 Minuten bei 1000g zentrifugieren
 - Sediment (Pollen) setzt sich am Rand ab
- Überstand abgießen
- Sediment mit destilliertem oder deionisiertem Wasser aufschwemmen
- Erneutes Zentrifugieren; 10 Minuten bei 1000g
 - Lösung wird demineralisiert, damit weniger Unreinheiten beim späteren Mikroskopieren durch Fructose und Glucose entstehe
 - Sediment (Pollen) setzt sich am Rand ab
- Überstand abgießen und Sediment mit Pipette auf bereitliegenden Objektträger überführen
- Trocknen lassen
- Auftragen von Glyceringelantine
- Deckgläschen vorsichtig auflegen

Von Blüte

- Pollen der ausgewählten Pflanze sammeln
- Entfetten durch Ether
- Aufschwemmen mit wenigen Tropfen destilliertem oder deionisiertem Wasser
- Trocknen lassen
- Auftragen von Glyceringelantine
- Deckgläschen vorsichtig auflegen

Das Präparat wird mikroskopiert und gefundene Pollen werden fotografiert, um sie zu identifizieren.

Für die Pollenaufbereitung und -analyse, die von Instituten durchgeführt wird gelten strenge Auflagen des Deutschen Instituts für Normierung. Diese werden unter der "DIN-Norm-10760" zusammengefasst (*siehe unter weitere Literaturangaben*).

2. Computergestützte Auswertung

2.1. Möglichkeiten zur Musterfindung

Bei computergestützter Mustererkennung können prinzipiell zwei Ansätze genutzt werden. Zum einen ist es möglich, durch Abrastern des Suchbildes eine Ähnlichkeitsverteilung im ganzen Bild zu erhalten (siehe 2.1.1.). Zum Anderen kann zunächst nach signifikanten Merkmalen gesucht werden und dann eine Erkennung in deren Nähe durchgeführt werden.

Der zweite Ansatz erscheint intuitiver, da er mit der Mustererkennung beim Menschen vergleichbar ist. Der Mensch erfasst nämlich nur kleine Bereiche des Gesichtsfeldes tatsächlich scharf, interessante Objekte werden also einzeln fokussiert. Die nachfolgende Erkennung erfolgt entweder schablonenbasiert oder merkmalsbasiert. Die Schablonentheorie sagt aus, dass fokussierte Objekte mit den im Langzeitgedächtnis gespeicherten Objekten verglichen werden. Die Merkmalstheorie beruht auf der Tatsache, dass wahrgenommene Objekte analysiert und anhand ihrer „Bauelemente“ identifiziert werden. Hier soll ein hybrider Ansatz gewählt werden: Extrahierte Objekte werden anhand ihrer Merkmale (Form, Farbe, Größe, ...) klassifiziert und anschließend mit Standards verglichen.

2.1.1. Mustersuche im ganzen Bild

Diese Variante der Formfindung beinhaltet das Suchen aller Vorkommen des Musters im gesamten Bild. Dazu werden üblicherweise alle Pixel des Musters mit den Pixeln des Bildes verglichen, welche in einem Suchfenster in der Größe des Musters liegen. Der eigentliche Vergleich kann dabei auf verschiedene Art und Weise durchgeführt werden, zum Beispiel über Kreuzkorrelation. Das Suchfenster wird dabei immer über alle Pixel des Bildes geführt. Man erhält somit eine „Karte“ einer Übereinstimmungsgröße. Aus dieser Karte können dann die Orte der größten Übereinstimmung entnommen werden.

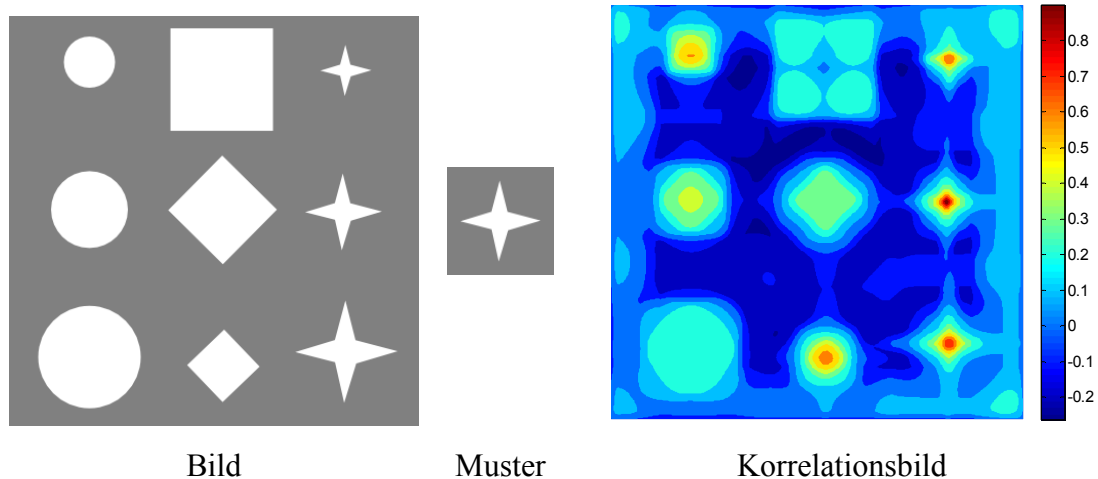


Abbildung 6: Ergebnis einer Kreuzkorrelation eines kleinen Bildes (Muster) mit einem großen Bild (Bild). Das Korrelationsbild ergibt die Punkte hoher Übereinstimmung, bei Werten nahe 1 kann von sehr großer Ähnlichkeit ausgegangen werden. Einige Nachteile sind aber ebenfalls zu erkennen: Alle benutzten Formen im Ausgangsbild erzeugen relativ hohe Werte. Man kann feststellen, dass der Wert des Sterns oben rechts fast dem Wert des Vierecks unten in der Mitte entspricht, eine deutliche Trennung der verschiedenen Muster ist also nicht möglich.

Daraus ergeben sich einige Vor- und Nachteile:

- Vorteile
 - wenig Vorbereitung
 - alle Möglichkeiten werden mit einem Durchlauf gefunden
- Nachteile
 - hoher Rechenaufwand (gemäß den Ausführungen in Kapitel 2.2.2 ergibt sich ein Aufwand proportional zum Produkt der Pixel von Muster und Bild)
 - schwierige Nachbereitung der Bilder
 - „falsch positiv“ Reaktionen, teilweise schlechte Trennung der Formen

2.1.2. Mustererkennung mit vorhergehender Klassifizierung

Als erstes wird das Bild nach zusammenhängenden Strukturen untersucht. Eine gefundene Form wird zunächst klassifiziert, also nach Größe, Form und möglichen anderen Parametern eingeteilt, und dann mit Mustern verglichen. Diese Variante hat wiederum Vor- und Nachteile.

- Vorteile
 - geringere Rechenzeit
 - man hat Zugriff auf die Strukturen
 - z.B. für die Nutzung zur Bibliothekserweiterung
- Nachteile
 - man benötigt eine Vorbereitung der Bilder

Diesen Nachteil haben wir für den zukünftigen Nutzer durch ein eigenes Programm beseitigt.

2.2. Der gewählte Ansatz

2.2.1. Strukturensuche

Wir haben die Formfindung mit Hilfe der frei erhältlichen Bibliothek „AForge.NET“ durchgeführt (siehe *Quelle 8*). Algorithmen aus dieser Bibliothek findet man im Programm „Image Processing Lab“, welches wiederum auf der Website kostenlos erhältlich ist. Auf eine Beschreibung des Algorithmus zur Erkennung von zusammenhängenden Gebieten soll an dieser Stelle verzichtet werden. Es sollen nur die für gute Mustererkennung günstigen Schritte erläutert werden.

Als erstes haben wir eine geeignete Reihenfolge festgelegt, um im „Image Processing Lab“ die Bilder aufzubereiten. Diese Schritte, welche auch von der entwickelten Software durchgeführt werden, sind:

Konvertierung in Graustufen:

Um ein Bild in Graustufen umzuwandeln, wird der Mittelwert der Pixel erzeugt. AForge.Net bietet jedoch eine Anpassung an das Auge, das heißt Grünwerte gehen mit einer höheren Wertigkeit in die Berechnung ein (BT709-Standard). Die Gewichte sind: Rot - 0,33 (R); Blau - 0,06 (B); Grün - 0,6 (G):

$$\text{Grau} = 0,33 \cdot R + 0,06 \cdot B + 0,6 \cdot G$$

Invertieren:

Die in Graustufen gewandelten Bilder haben eine Bittiefe von 8 Bit, jeder Pixel kann somit Intensitätswerte zwischen 0 (Schwarz) und 255 (Weiß) annehmen. Beim Invertieren wird das Komplement gebildet, die neuen Intensitätswerte berechnen sich als Differenz von 255 und dem aktuellen Wert.

$$Inv = 255 - Grau$$

Glätten:

Das Glätten dient zum Vermindern des Bildrauschens. Es wird ein Gaußscher Weichzeichner benutzt, welcher jedem Pixel einen gewichteten Mittelwert der umliegenden Pixel zuordnet. Die Gewichte werden dabei mithilfe einer Glockenkurve berechnet. Prinzipiell ergibt sich, dass Strukturen mit Breiten unter der Breite „Sigma“ der Glockenkurve unterdrückt werden.

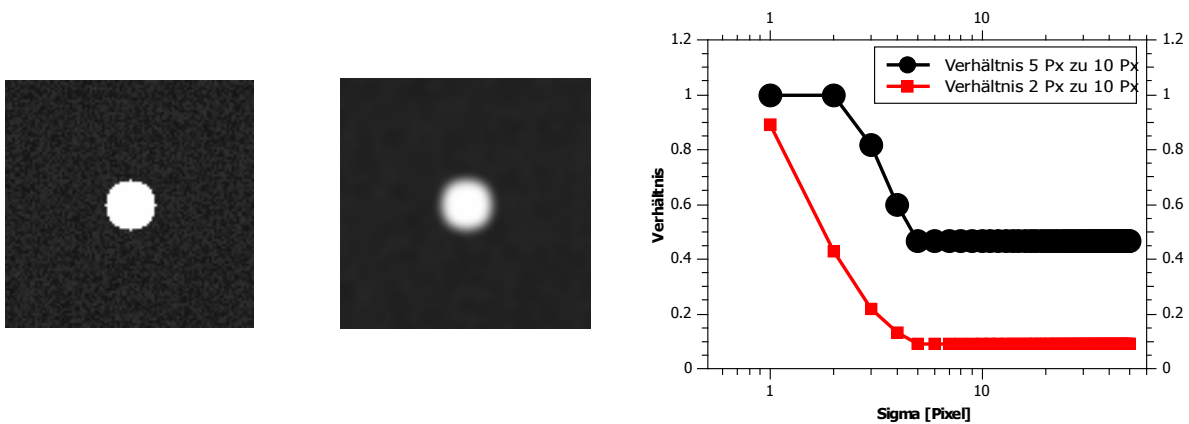


Abbildung 7: Einfluss des Gaußschen Weichzeichners auf Bilder. Bemerkbar ist die Verringerung des Bildrauschens (links: Original, Mitte: gefiltertes Bild). Im rechten Diagramm ist die unterschiedliche Wirkung auf Strukturen verschiedener Größe illustriert: kleine Objekte werden stärker gedämpft als große.

Binarisieren:

Alle Pixel mit Werten über einer bestimmten Schwelle werden auf 255 gesetzt, alle Pixel mit Werten darunter auf 0. Es ergibt sich also ein Schwarz-Weiß-Kontrast.

Musterfindung:

Es wird nach zusammenhängenden Gebieten einer Helligkeit gesucht. Dazu wird jeder Pixel mit seinen umliegenden verglichen. Pixel gleicher Wertigkeit und direkter Verbindung zueinander werden verbunden.

Abschätzung von Form, Größe und Rotation:

Da davon ausgegangen werden kann, dass sämtliche Pollen elliptisch sind, wurde ein einfacher Algorithmus entworfen, welcher diese erkennen kann. Ausgangspunkt ist die Parameterdarstellung für rotierte Ellipsen.

$$\begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_0 + a \cdot \cos(t) \cdot \cos(f) - b \cdot \sin(t) \cdot \sin(f) \\ y_0 + a \cdot \cos(t) \cdot \sin(f) + b \cdot \sin(t) \cdot \cos(f) \end{pmatrix}$$

In obiger Gleichung sind (x,y) die Koordinaten eines Punktes der Randkurve in Abhängigkeit des Mittelpunkts (x_0,y_0) , der Halbachsen a und b , des Rotationswinkels f und dem Parameter t ,

welcher den Bereich von 0 bis 2π überstreicht. Die Bestimmung der entsprechenden Werte geschieht in mehreren Schritten.

1. Abschätzen des Mittelpunktes: Eine Mittelwertsbildung der Koordinaten (x,y) ergibt die Lage des Mittelpunktes (x_0,y_0) . Dieses Vorgehen ergibt sich direkt aus den Eigenschaften der Parameterdarstellung.
2. Abschätzung der Halbachsen: Es wird für jeden Punkt der Randkurve der Abstand zum Mittelpunkt berechnet. Maximal- und Minimalwert dieser Abstände entsprechen offenbar den Halbachsen.
3. Abschätzung des Drehwinkels: Aus dem Punkt der Randkurve, welcher den maximalen Abstand zum Mittelpunkt hat, wird über die Nutzung von Winkelbeziehungen der Winkel zur x-Achse berechnet.
4. Überprüfung der elliptischen Form: Die bisher beschriebenen Schritte greifen natürlich bei allen Formen der Randkurve, die generierten Werte können somit durchaus sinnfrei sein. Deshalb muss überprüft werden ob tatsächlich eine Ellipse vorliegt. Dafür wird die Schwankung der Summe der Abstände zu den Brennpunkten genutzt. Falls das Verhältnis dieser Schwankung (es wird die Standardabweichung genutzt) zum Mittelwert unterhalb einer willkürlich festgelegten Zahl liegt, so kann von elliptischer Form ausgegangen werden. Um das Verfahren zu verfeinern, werden Formprüfungsalgorithmen, welche in der AForge.NET - Bibliothek enthalten sind, vorgeschaltet. Diese erlauben nämlich die Erkennung von Kreisen, Dreiecken und Vielecken.

Korrektur der Objekte

Die Strukturen im Originalbild werden ausgeschnitten. Eine mögliche Rotation und die Größe der Struktur werden dahingehend korrigiert, dass das Ergebnis ein Objekt ist, welches seine lange Achse parallel zu x-Achse hat und die Länge dieser Achse einen bestimmten Wert annimmt. Da mit den Bildern in der Bibliothek genauso verfahren wird, kann quasi Invarianz gegenüber Rotation und Skalierung gewährleistet werden.

2.2.2. Kreuzkorrelation

Die Idee hinter diesem Algorithmus ist das Bereitstellen einer Ähnlichkeitsvariablen für mehrdimensionale Objekte. Im ungleich einfachsten Fall zweier Zahlen könnte man zum Beispiel die Differenz als diese Variable benutzen. Im Falle von Vektoren bzw. Matrizen (Bilder sind Matrizen) erscheint eine Verallgemeinerung dieses Vorgehens zunächst schwierig, da auch die entsprechenden Differenzen mehrdimensional sind. Da Matrizenelemente durch geeignete Umordnung (siehe Abbildung 8) als Vektoren darstellbar sind, sollen im Folgenden lediglich Aussagen zu Vektoren getroffen werden.

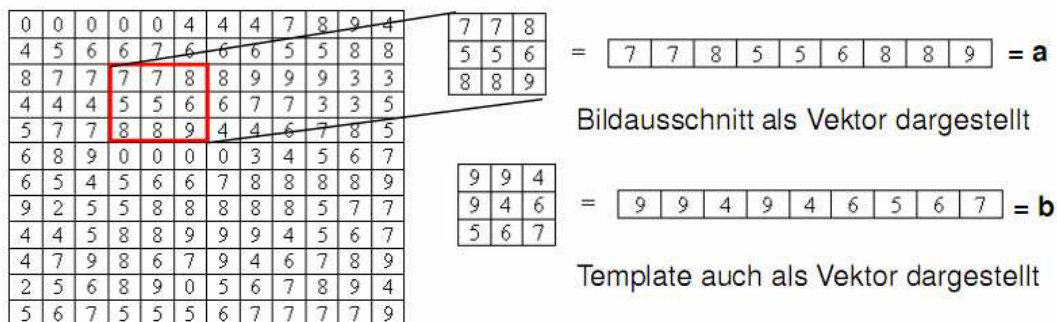


Abbildung 8: Umordnung einer Matrix (Bild) zum Vektor. Diese Umordnung ist ein typisches Vorgehen nicht nur in der Bildbearbeitung, sondern auch in der numerischen Mathematik.

Die intuitivste Art des Übergangs von einer zu mehreren Dimensionen, wäre die elementweise Berechnung der Differenzen mit anschließender Summation der Beträge.

Formelmäßig lautet die Vorschrift für dieses Verfahren, genannt Summe der absoluten Differenzen (SAD):

$$SAD(\vec{x}, \vec{y}) = \sum_i |x_i - y_i|$$

Für die Vektoren aus Abbildung 6 ergibt sich so zum Beispiel:

$$SAD(\vec{a}, \vec{b}) = \sum_{i=1}^9 |a_i - b_i| = |7-9| + |7-9| + |8-4| + |5-9| + |5-4| + |6-6| + |8-5| + |8-6| + |9-7|$$

$$SAD(\vec{a}, \vec{b}) = 2 + 2 + 4 + 4 + 1 + 0 + 3 + 2 + 2 = 20$$

Allerdings ist die Wahl dieser Funktion ungünstig, wie folgendes Beispiel anschaulich illustriert: Erhöht man alle Werte im Vektor a um 1, was in einem Bild eine leichte Helligkeitserhöhung darstellen würde, ergibt sich für die Funktion SAD ein um 3 höherer Wert. Dieses Ergebnis ist nicht gut, da Helligkeitsänderungen nicht die Struktur einer Form verändern und somit keinen Einfluss auf die gewünschte Ähnlichkeitsvariable haben sollten. Betrachtet man das Betragsquadrat der Differenz zweier Vektoren, ergibt sich:

$$|\vec{a} - \vec{b}|^2 = a^2 + b^2 - 2\vec{a}\vec{b}$$

Die Information über die Ähnlichkeit steckt offenbar im dritten Term der rechten Seite, da die ersten beiden Terme nur die Quadrate der Normen (Längen) der Vektoren a und b angeben. Um die gewünschte Unabhängigkeit von Helligkeitsvariationen (und auch den Normen der Vektoren) sicherzustellen, wird folgende Funktion definiert:

$$NXCOR(\vec{a}, \vec{b}) = \frac{1}{N-1} \frac{\sum_{i=1}^N (a_i - \bar{a})(b_i - \bar{b})}{\sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (a_i - \bar{a})^2} \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (b_i - \bar{b})^2}}$$

Darin ist mit Querstrichen der Mittelwert der Elemente und mit N deren Anzahl gemeint. Die so eingeführte normalisierte Kreuzkorrelation (NXCOR) ist ein häufig genutztes Verfahren in der Bildanalyse. Der Wertebereich liegt zwischen -1 (Antikorrelation, Negativbild) und 1 (Korrelation, Übereinstimmung), höhere Werte zeigen somit bessere Übereinstimmung an. Einige Rechnung ergibt für das bereits besprochene Beispiel:

$$NXCOR(\vec{a}, \vec{b}) = -0,13$$

$$NXCOR(\vec{a} + \vec{1}, \vec{b}) = -0,13$$

Offenbar hat die Helligkeitsvariation keinen Einfluss auf das Endergebnis, was die Nutzbarkeit der Funktion unterstreicht.

Der Rechenaufwand der Operation liegt in der Größenordnung der Anzahl der Pixel. Nimmt man stattdessen die Weite des Bildes als Maß, sollte sich eine quadratische Abhängigkeit ergeben. Tatsächlich ergibt sich das erwartete Verhalten, wie die in Abbildung 9 illustrierten Ergebnisse einer Implementierung in VB.net zeigen. Die Rechenzeit pro Pixel beträgt auf dem verwendeten Computer (Athlon X2, 3 GHz) etwa eine Zehntel Nanosekunde, für die erwarteten Bildgrößen sollten somit 10 ms für eine Korrelation genügen. Das Ergebnis hängt

jedoch von der verwendeten Hardware ab, geringere Taktraten führen zu höheren Rechenzeiten. Allerdings kann der Algorithmus größtenteils parallelisiert werden, was auf modernen Multicore-Prozessoren einen Geschwindigkeitszuwachs bedeutet.

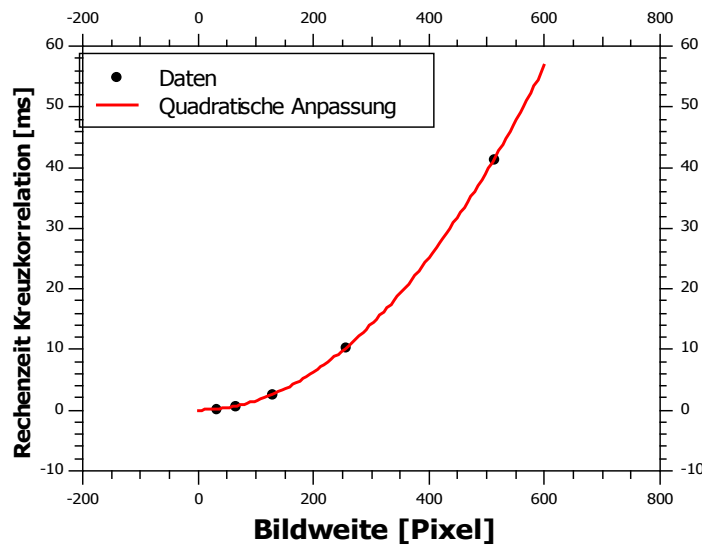


Abbildung 9: Rechenaufwand in Millisekunden für Kreuzkorrelationen an Bildern verschiedener Größen. Offenbar steigt die Rechenzeit quadratisch mit der Bildweite, bleibt aber mit weniger als einer Nanosekunde pro Pixel in einem annehmbaren Rahmen.

2.2.3. Face-Space-Algorithmus

Die Methode wurde 1991 von Matthew Turk und Alex P. Pentland ursprünglich zur Gesichtsidentifikation entwickelt und basiert auf dem Verfahren der Hauptkomponentenanalyse (*siehe Quelle 10*). Im Gegensatz zu anderen Verfahren versucht dieses Verfahren, nicht die Merkmale zu messen und zu vergleichen. Stattdessen betrachtet man das Bild als Ganzes und versucht, die relevanten Informationen möglichst effizient umzusetzen, um sie mit anderen kodierten Daten vergleichen zu können. Dafür soll die Variation in einer Gruppe von Bildern ohne die Betrachtung einzelner Merkmale erfasst werden, um den Vergleich mit einzelnen Bildern zu ermöglichen.

Dafür wollen wir die Eigenvektoren der Kovarianzmatrix einer Palette von Pollen bestimmen. Diese "Palette" von Bildern nennt man "Trainingsmenge". Sie entspricht der Gruppe der bekannten Pollen, welche Trainingsbilder genannt werden. Man kann sich dann die Eigenvektoren als die markanten Merkmale vorstellen, die die Variation zwischen den Pollen charakterisieren.

Die zu verwendenden Bilder werden als Vektoren dargestellt: Es sei ein Bild der Höhe H und der Breite B (jeweils in Pixel) gegeben. Dieses kann man sich nun entweder als ein durch die Intensitätswerte seiner Pixel $H \times B$ - Feld vorstellen. Oder aber, wie wir es tun wollen, als ein Vektor der Dimension der Anzahl an Pixel, nämlich B mal H , wobei jeder Pixel eine Komponente des Vektors repräsentiert (gebildet durch Aneinanderhängen der Zeilenwerte). Da sich die Pollen im Großen und Ganzen ähneln, kommt man bei der Darstellung vieler Pollen als Punkte zum Ergebnis, dass sie nicht beliebig im ganzen Raum verteilt sind. Die Punkte sind an bestimmten Orten stark konzentriert. Daher können sie durch einen relativ niedrigdimensionalen Unterraum beschrieben werden, der im Paper der Entwickler des Algorithmus als „Gesichtsraum“ bezeichnet wird. Nun gilt es, die Vektoren zu finden, die am aussagekräftigsten bezüglich der Verteilung der Bilder im Raum sind. Diese Vektoren sind genau die bereits beschriebenen Eigenvektoren der Kovarianzmatrix bezüglich der Trainingsmenge: die „Eigengesichter“ (original im Paper „Eigenfaces“). Anschaulich wird

der Unterraum der Gesichter (oder Pollen) durch die Eigenvektoren der Kovarianzmatrix aufgespannt, sie sind somit die Basis. Jeder Vektor, also jedes Gesicht (jede Polle) kann als Linearkombination der Basisvektoren dargestellt werden.

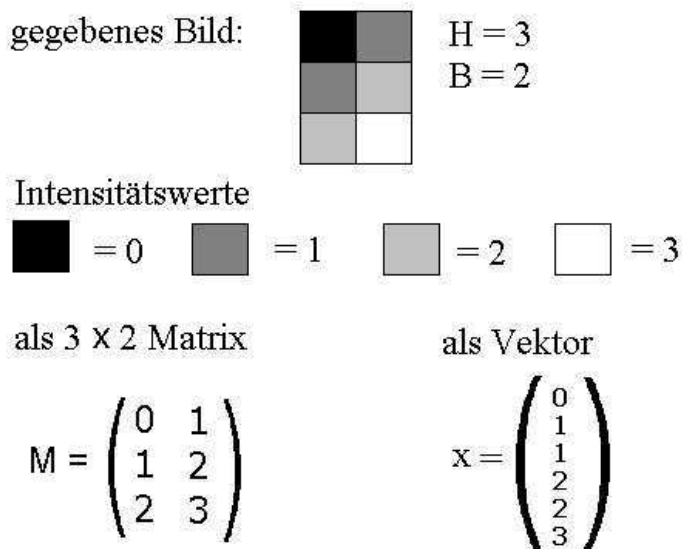


Abbildung 10: Darstellung eines Beispielbildes als Matrix und als Vektor

Die Trainingsmenge besteht aus Pollenbildern. Aktuell verwenden wir hier 16 Bilder. Aus diesen Vektoren wird zuerst ein Durchschnittsgesicht gebildet. Mit dem Durchschnittsgesicht und den Trainingsbildern werden dann die Differenzbilder berechnet, woraus anschließend eine Kovarianzmatrix gebildet wird, deren Eigenvektoren wir ermitteln möchten.

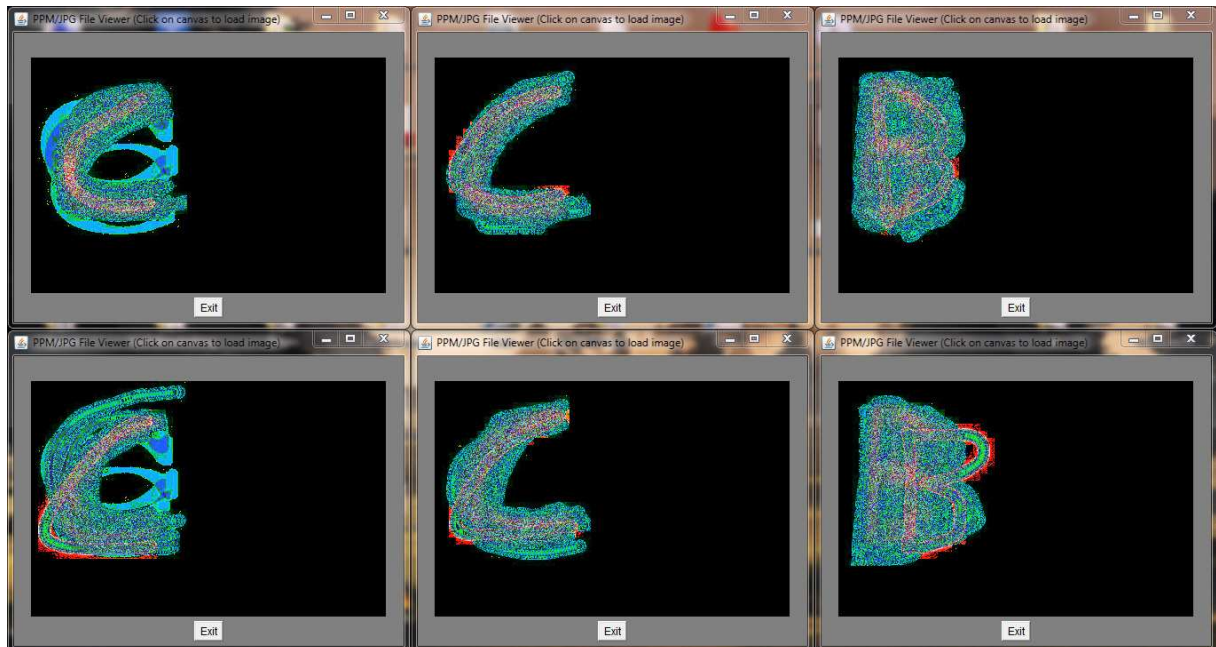


Abbildung 11: Jeweils berechnete Durchschnittsbilder aus Trainingspaketen, bestehend aus verschiedenen Buchstaben

Die Kovarianzmatrix ist eine symmetrische $(B \cdot H) \times (B \cdot H)$ – Matrix, weshalb es für übliche Bildgrößen (ca. 300×300) nicht effizient gelingen würde, eine $(300^2 \times 300^2)$ - Matrix zu diagonalisieren und deren 300^2 Eigenvektoren zu bestimmen. Um den Rechenaufwand zu

verringern, reduzieren wir die $(B^*H) \times (B^*H)$ – Matrix auf eine $M \times M$ – Matrix, wobei M die Anzahl der Trainingsbilder ist.

Dadurch gilt für die Kovarianzmatrix nicht $C = AA^T$ (wobei A die Matrix ist, welche die Differenzbilder als Spalten beinhaltet), sondern $C = A^T A$. Mit dieser Methode erhält man zwar nur M Eigenvektoren für die Matrix C , allerdings wird dadurch der Rechenaufwand enorm reduziert und die restlichen Eigenvektoren können vernachlässigt werden.

Um jetzt einen effizienten Vergleich durchführen zu können, müssen wir die am besten geeigneten Eigenvektoren für unseren Vergleich herausfinden. Daher werden nur eine bestimmte Anzahl Eigenvektoren mit den größten dazugehörigen Eigenwerten ausgewählt. Ausschließlich mit ihnen wird der endgültige Vergleich durchgeführt.

Sämtliche Berechnungen werden gespeichert und müssen, bis eine Änderung der Datenbank erfolgt, nicht erneut berechnet werden.

2.2.4. Erstellung der Bibliothek

Für die Erstellung eines Bibliothekobjektes (ein Standardbild) wurde eine Klasse implementiert, deren Konstruktor ein Bild und einen Namen entgegennimmt. Im Konstruktor wird derselbe Ablauf wie beim Finden der Objekte in Bildern (siehe 2.2.1) genutzt, allerdings unter der Annahme, dass nur ein Objekt vorhanden ist. Die Klasse stellt als Eigenschaften das extrahierte (skalierte und rotierte) Bild des Objektes, eine gefüllte Kontur und geometrische / statistische Parameter zur Verfügung.

Die eigentliche Bibliothek kann nun durch Übergabe eines Ordners mit zugeschnittenen Bildern, durch Übertragung von Objekten aus dem Suchalgorithmus oder durch Laden einer bereits erzeugten Bibliothek erstellt werden.

Da der Typ „Liste“ alle Bibliotheksbilder hält, können Änderungen einfach durchgeführt werden.

Das Erweitern einer Bibliothek ist bei Nutzung des Eigenface-Algorithmus jedoch rechenaufwändig, da die Eigenvektoren jeweils neu berechnet werden müssen. Aus diesem Grund erscheint bei nicht statischen Datenbanken, möglicherweise bei Privatpersonen, die Nutzung der Kreuzkorrelation vorteilhaft.

3. Diskussion

Was haben wir erreicht und was nicht?

Es ist uns gelungen, viele Proben zum Mikroskopieren von verschiedenen Honigsorten zu erstellen und Computerbilder mit Pollen aufzunehmen. Dazu wurden nur Geräte mit relativ geringem finanziellen Aufwand verwendet. Außerdem können wir Bilder mit Pollen gezielt mit einem voll automatischen Programm bearbeiten, so dass nur ein extrahiertes Pollenbild übrig bleibt, welches eine Software erkennen kann. Laut unseren Recherchen gelang es bisher nicht, Pollenbilder nach digitaler Bearbeitung erfolgreich mit Software zu erkennen. Wir konnten zwei geeignete Algorithmen ausfindig machen und implementieren, welche exakt unseren Anforderungen entsprechen, Pollen mit digitaler Mustererkennung zu identifizieren. Somit sind erste Schritte für eine erfolgreiche digitale Pollenanalyse getan. Nach einem Besuch am Länderinstitut für Bienenkunde in Hohen Neuendorf entstand die Idee zur quantitativen und automatischen Pollenanalyse. Bisher werden an den Bieneninstituten der Bundesrepublik Deutschland quantitative Honiganalysen nur durch manuelles Auszählen der Pollen durchgeführt. Wir wären die Ersten, die eine quantitative Betrachtung automatisch durchführen können. Wir konnten das Länderinstitut für Bienenkunde in Hohen Neuendorf von unserer Idee überzeugen und eine mögliche Kooperation anregen.

Die Aufbereitung der Honigpräparate, um unter dem Mikroskop genügend Pollen „scharf“ zu sehen und zu fotografieren, erfordert Geduld und Übung. Wir sind dabei noch beim Sammeln von Erfahrungen, insbesondere dauerhafte Präparate unter Glyceringelantineverschluss zu erstellen. Ob es erfolgreicher ist, eine qualitative „Pollenanalyse für jedermann“ weiter zu verfolgen, um bestimmte Pollensorten einfach nur zu erkennen, oder ob es erfolgreicher ist, eine quantitative Pollenanalyse (Erkennen und Zählen einer Pollenart), was die Bieneninstitute interessieren würde, muss noch erforscht werden. Interessant wäre es, beide Richtungen zu verfolgen.

Was wollen wir noch erreichen?

In der nächsten Zeit muss sich zeigen, welcher Algorithmus bzw. welches Programm am besten geeignet ist, die digital aufbereiteten Mikroskop-Bilder von Pollen erfolgreich zu erkennen. Des Weiteren streben wir einen Übergang auf eine Programmiersprache an, die auch mit anderen Betriebssystemen kompatibel ist. Außerdem wollen wir noch mehr Proben mit verschiedenen Pollen anfertigen und versuchen, sie mit unserer Software zu identifizieren. Dazu muss unsere Pollendatenbank weiter wachsen und optimiert werden. Für die quantitative Pollenanalyse muss die Erkennungssoftware mit der Bewegung des Objektträgers des Mikroskops gekoppelt werden, um die geforderte Anzahl von Pollen (mindestens 2500 pro Honigprobe) abzurastern.

Untersucht werden soll weiterhin, ob die Idee und Software auch auf andere Anwendungsgebiete übertragen werden kann. Zum Beispiel erfolgt zur Untersuchung der Wasserqualität und bei der Klimaforschung eine Bestimmung des Planktongehaltes bzw. des Gehaltes von Kieselalgen (Diatomeen). Die Anwendung einer digitalen Mustererkennung erscheint dafür sehr sinnvoll.

Anhang

Quellen

- Quelle 1: Deutsches Archäologisches Institut (DAI): Palynologie.
URL: <http://www.dainst.org/de/project/anden-transekt/palynologie?ft=all> [05.04.2012].
- Quelle 2: Stiftung Deutscher Polleninformationsdienst: Stiftung Deutscher Polleninformationsdienst.
URL: <http://www.pollenstiftung.de/index.php?id=58&L=0> [05.04.2012].
- Quelle 3: Deutsches Ärzteblatt, Ärzte-Verlag GmbH, entwickelt von L.N. Schaffrath DigitalMedien GmbH, 30. März 2011: „Zahl der Allergiker in Deutschland steigt“. URL: <http://www.aerzteblatt.de/nachrichten/45291> [25. Januar 2012].
- Quelle 4: Deutscher Imkerbund e.V.: Honigverordnung (16. Januar 2012). URL: http://www.deutscherimkerbund.de/phpwcms_ftp/merkbl_dcm/Honigverordnung.pdf [05.04.2012]
- Quelle 5: Allen, Gary: An Automated Pollen Recognition System: A Thesis submitted to Massey University, Turitea, Palmerston North, New Zealand in fulfilment of the requirements for degree od Master Engineering. Massey University: Dezember 2006.
- Quelle 6: Kessler, Rob; Harley, Madeline: Die geheimnisvolle Sexualität der Pflanzen: Von Blüten und Pollen. London: Papadakis Publisher, 2004.
- Quelle 7: Horn, Helmut; Lüllmann, Cord: Das große Honigbuch: Entstehung, Gewinnung, Gesundheit und Vermarktung, Dritte Auflage. Stuttgart, Kosmos Verlag, 2006.
- Quelle 8: Andrew Kirillov. URL: <http://www.aforgenet.com/> [24. Januar 2012].
- Quelle 9: URL: http://www15.ages.at:7778/pls/pollen/pollen_suche
- Quelle 10: Turk, Matthew; Pentland, Alex; Journal of Cognitive Neuroscience: Eigenfaces for Recognition. Vol. 3 (Winter 1991), No. 1, pp. 71-86.
 - Analog: Turk, Matthew ; Pentland, Alex: Eigenfaces for Recognition.
URL: <http://www.cs.ucsb.edu/~mturk/Papers/jcn.pdf> [06.04.2012]

Weitere Literaturempfehlungen

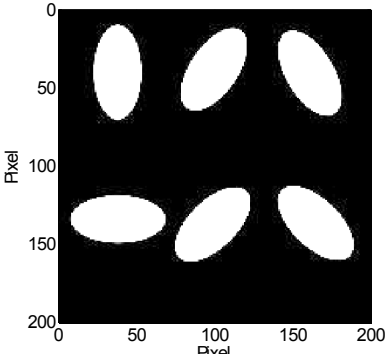
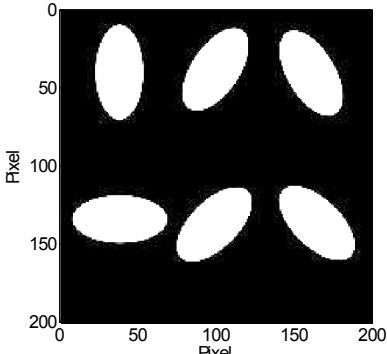
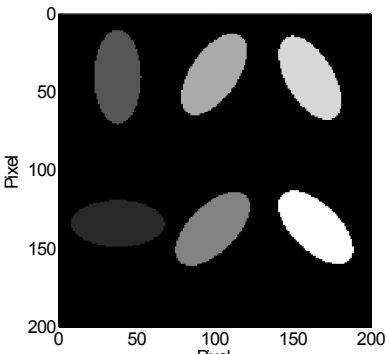
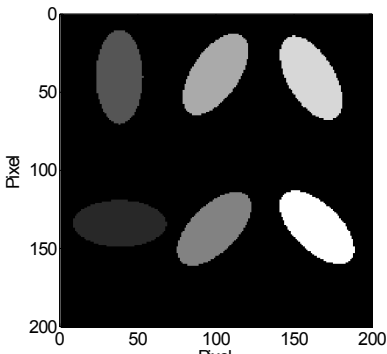
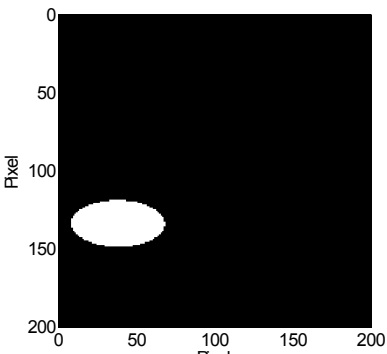
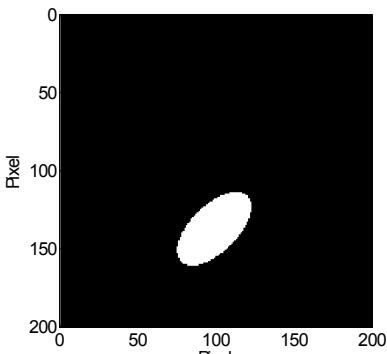
- DIN-Norm-10760: Untersuchung von Honig: Bestimmung der relativen Pollenhäufigkeit, Deutsches Institut für Normierung, 2002
- Moore, P.D. et al.: Pollen Analysis. UK: Blackwell Science Ltd, 1991.
- Punt, W.: The NorthWest European Pollen Flora Part 1-8. Amsterdam, NL: Elsevier Scientific Publishing Company, 1976.

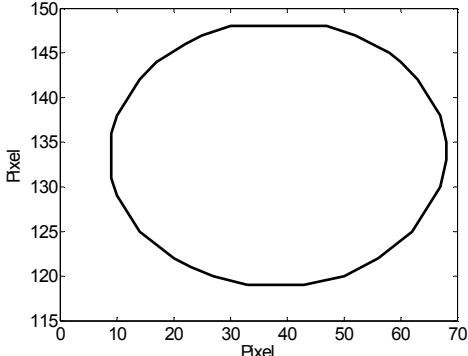
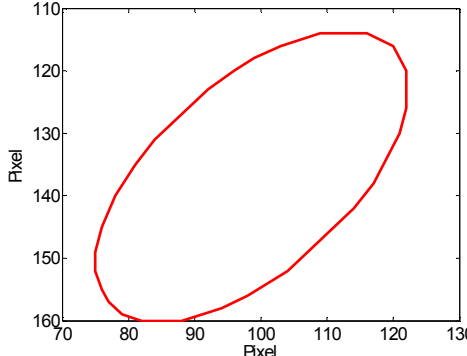
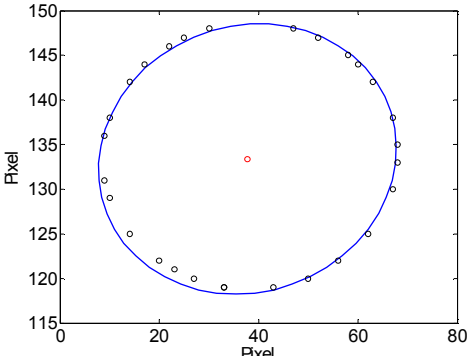
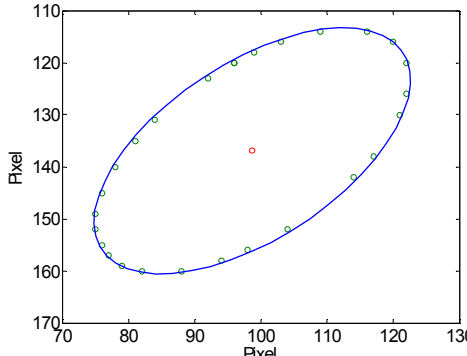
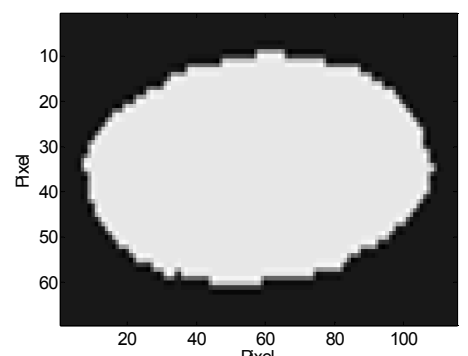
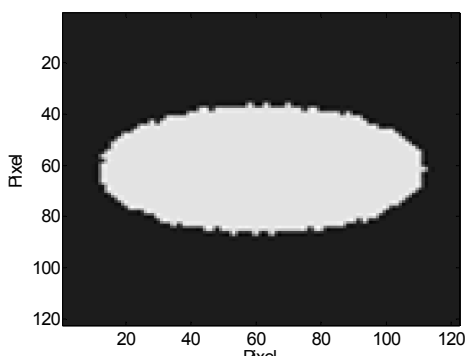
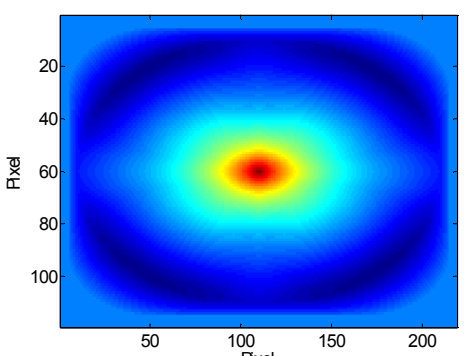
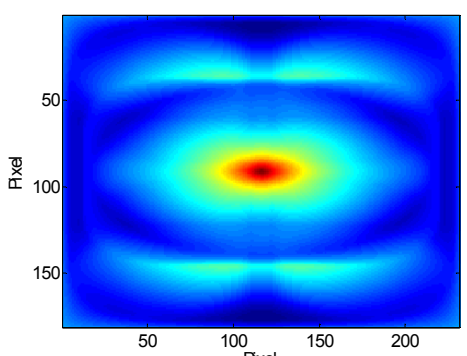
- Faegri, F. ; Iversen, J.: Bestimmungsschlüssel für die nordwesteuropäische Pollenflora. Jena: Gustav Fischer Verlag, 1993.
- Louveaux, J. et al.: Methodik der Melissopalynologie. (1970), *Apidologie* 1, 139-209.
- Beug, H.-J.: Leitfaden der Pollenbestimmung. München: Verlag Dr. Friedrich Pfeil, 2004.

Zusatz

Anhang 1: Verdeutlichung des Ellipsenalgorithmus

Der benutzte Standard war eine Ellipse mit den Halbachsen 50 und 25 Pixel, wobei die große Halbachse parallel zur x-Achse lag. Die Ellipsen im Testbild haben die Maße 30/15 Pixel. Offenbar gelingt es gut, Rotation und Skalierung zu korrigieren, wie der hohe Übereinstimmungsgrad beweist (Ohne Korrektur wären deutlich geringere Werte zu erwarten).

<p>Invertiertes Bild in Graustufen</p>		
<p>Finde „Blobs“ (zusammenhängende Gebiete)</p>		
<p>Extrahiere einen Blob</p>		

<p>Erzeuge Hüllkurve</p>		
<p>Schätze Ellipsenparameter</p>		
<p>Korrigiere Rotation und Länge</p>		
<p>Bestimme Kreuzkorrelation mit Standard</p>		
<p>Maximum</p>	<p>0,93</p>	<p>0,96</p>

Impressionen



Abbildung 10: Aus Imkerhonig extrahierte Rapspollen



Abbildung 11: Aus Imkerhonig extrahierte Löwenzahnpollen