

# Estimación de la frescura de *sparus aurata* (dorada) mediante técnicas hiperespectrales en el rango del SW-NIR

Eugenio Ivorra Martínez  
Universitat Politècnica de València, [euivmar@upvnet.upv.es](mailto:euivmar@upvnet.upv.es)

Antonio José Sánchez Salmerón  
Universitat Politècnica de València, [asanchez@isa.upv.es](mailto:asanchez@isa.upv.es)

Samuel Verdú Amat  
Universitat Politècnica de València, [saveram@upvnet.upv.es](mailto:saveram@upvnet.upv.es)

Raul Grau Melo  
Universitat Politècnica de València, [rgraume@tal.upv.es](mailto:rgraume@tal.upv.es)

## Resumen

*La estimación de la frescura en pescado es esencial tanto desde el punto de vista de la seguridad como de la aceptación por parte del consumidor. En este trabajo se realiza un estudio preliminar de la estimación de la frescura de *sparus aurata* mediante técnicas hiperespectrales en el rango del SW-NIR y análisis multivariante. La adquisición de imagen se ha realizado en el ojo del pescado, del cual se ha hecho una segmentación espacial permitiendo estudiar separadamente los espectros del iris de los de pupila. El análisis por mínimos cuadrados parciales (PLS) realizado demuestra que aunque ambas zonas pueden ser aptas para la estimación de frescura, la pupila presenta mejores resultados. Concretamente se han obtenido unos resultados de  $R^2$  de 0.93 de validación cruzada con una dispersión en la estimación cuantitativa de  $\pm 1$  empleando la información proveniente de la pupila. Estos resultados justifican la hipótesis de que las diferentes zonas del ojo aportan información hiperespectral diferente y que una segmentación espacial precisa puede mejorar los resultados para la estimación de frescura de la dorada.*

**Palabras Clave:** SW-NIR; PLS-DA; Frescura; Sparus-aurata

## 1. Introducción

Durante las últimas décadas se ha producido un gran avance en la utilización de la visión por computador a lo largo de toda la cadena de producción en el sector agroalimentario. Empezando desde la agricultura de precisión en el campo, granjas o piscifactorías [1, 2 y 3], pasando por el control de calidad de la materia prima y del producto [4], e

incluso el control de procesos en la industria de procesado [5].

Concretamente a nivel de control de calidad, estimar la frescura en los alimentos es esencial desde el punto de vista tanto de la seguridad como de la aceptación por parte del consumidor. Esto es especialmente crítico para el pescado debido al rápido deterioro que sufre cuando no está procesado. Sin embargo, estimar la frescura del pescado es complicado debido a que depende de diferentes atributos microbiológicos, bioquímicos y físico-químicos. Es por ello que se utilizan una serie de indicadores de diferentes propiedades del pescado para su estimación [6]. En este trabajo se va a estimar la frescura del pescado dorada (*Sparus Aurata*) interpretando la frescura como el tiempo que ha transcurrido desde que los pescados son sacrificados. Se ha realizado el estudio en dorada debido a que se trata de una especie común en el Mediterráneo y muy apropiada para la acuicultura extensiva por su alto precio en el mercado.

Existen muchas propuestas para la estimación de frescura en dorada empleando diferentes técnicas como sensores potenciométricos [7], narices electrónicas [8], impedancia eléctrica [9] o visión por computador [10].

En este trabajo se va a abordar el problema mediante técnicas de visión por computador basadas en imágenes hiperespectrales. Estas técnicas combinan las ventajas de las ampliamente usadas técnicas de visión 2D con la detallada información que proporcionan las técnicas espectroscópicas. En los últimos años, este tipo de técnicas se han aplicado con éxito como alternativa a los métodos analíticos tradicionales [11]. También se han realizado estudios específicamente para la estimación de frescura y de la vida útil tanto en carnes [12] como en pescados

[13], [14] en el rango del visible y del infrarrojo cercano de onda corta (SW-NIR).

Los trabajos previos de [14], [10] señalan que existen zonas del pescado especialmente indicadas para la estimación de frescura donde se obtienen mejores resultados. Entre estas zonas destacan los ojos que es donde se van a realizar las medidas en el presente estudio.

El objetivo de este trabajo es realizar un estudio preliminar para confirmar o rechazar la hipótesis de que existan zonas en los ojos de las doradas en las cuales la información hiperespectral en el rango del SW-NIR permita estimar de forma rápida y no destructiva la frescura de la dorada empleando estadística multivariante.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Descripción del estudio

En este estudio se utilizaron 24 muestras de doradas (*Sparus Aurata*) provenientes de una piscifactoría. Las muestras fueron adquiridas 24 horas post-mortem y fueron sacrificadas sumergiéndolas en hielo.

No se realizó ningún procesado a las muestras y durante el estudio fueron almacenadas en bandejas tapadas con film y refrigeradas en una nevera a 4°C.

Para establecer un parámetro de frescura inicial se decidió elegir productos de diferentes lotes, pero con el mismo período de caducidad. Se adquirió imagen en los días 0, 1, 3 y 6. Los análisis destructivos se hicieron los mismos días. En cada fecha de adquisición, se utilizaron 2 muestras para los análisis destructivos. Las muestras fueron escaneadas por ambas caras con el equipo hiperespectral.

### 2.2 Análisis destructivos

Los análisis destructivos realizados para conocer el estado de las doradas fueron: PH, nitrógeno total básico volátil (NTVB) y el humor vítreo. Todos los análisis destructivos se realizaron por triplicado después de la trituración y homogeneización de las muestras excepto para el humor vítreo que se realizó extrayendo el humor vítreo de los ojos de las doradas.

### 2.3 Sistema de adquisición hiperespectral

El sistema de adquisición hiperespectral que se utilizó fue una cámara CMOS Photonfocus MV1-D1312 40gb 12 (Photonfocus AG, Lachen, Suiza) y un filtro SpecimImSpector V10 1/2" (Specim Spectral Imaging, LTD., Oulu, Finlandia) que funcionan como una cámara hiperespectral lineal en el rango del SW-NIR. Se utilizó un sistema de iluminación estable a lo largo de todo el espectro de trabajo mediante el foco comercial ASD illuminator (ASD Inc, Boulder, EE. UU).

La posición relativa de la iluminación y la cámara respecto a las muestras permaneció constante para preservar las condiciones de adquisición a lo largo del estudio. La distancia entre el foco y la muestra fue de 0.525 m para asegurar que no modificara la temperatura de la misma. La cámara se encontraba a una distancia de 0.225 m respecto a la muestra. Las imágenes se adquirieron a una temperatura ambiente constante de 21 °C.

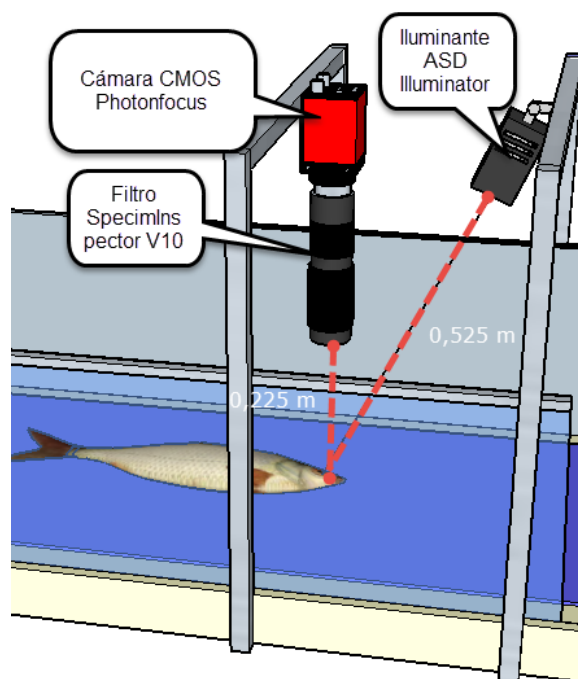


Figura 1: Esquema del sistema de adquisición hiperespectral

La imagen obtenida se compone de 256 niveles de gris (8 bits). El espectro obtenido por reflectancia tiene un rango de 400 a 1000 nm divididos en 53 valores lo que resulta en una resolución de 11.2 nm. La resolución espacial fue de 1312 píxeles que unido a la distancia de trabajo que se utilizó da una resolución espacial de 0.5 píxel/mm.

Se controló la cámara mediante un programa propio desarrollado en el lenguaje C++ utilizando el entorno de desarrollo proporcionado por Photonfocus.

## 2.4 Segmentación espacial

En este estudio se adquirieron las imágenes de la zona del ojo posicionando las muestras de forma manual. Además, se realizó una segmentación del ojo en pupila e iris y se analizaron por separado.

La segmentación de la pupila y el iris se realizó mediante el análisis del espectro en la banda de longitud de onda 700 nm correspondiente al color rojo tal y como se puede observar en la figura 2a) y 2b). El algoritmo de detección del ojo se basa en la aplicación del filtro de Savitzky–Golay [10] para suavizar el espectro y realizar el cálculo de la primera derivada para detectar cambios fuertes de pendientes. Además se presupone que la muestra está centrada de forma que la pupila del ojo se encuentre cerca del punto medio de la línea adquirida por el equipo hiperespectral.

El algoritmo aplicado para la detección del ojo fue el siguiente:

1. Se calculó el valor de intensidad medio del espectro ( $m$ ).
2. Se aplicó el filtro de Savitzky–Golay de primer orden y primera derivada.
3. Se recorre la primera derivada del espectro desde el centro de la función hacia afuera por ambos lados hasta que se detecta un cambio de pendiente positivo por ambos lados.
4. Se comprueba que el espectro a continuación de los puntos de inflexión supera el valor  $m$  en cuyo caso estos dos puntos ( $p_1$  y  $p_2$ ) delimitan el espectro de la pupila, en caso contrario se vuelve al paso 3 y se sigue recorriendo la derivada del espectro hasta el siguiente.
5. Se sigue recorriendo la primera derivada del espectro hasta los siguientes cambios de pendiente positivos por ambos lados ( $i_1$  y  $i_2$ ) y se comprueba que los valores del espectro en el intervalo  $[i_1, p_1]$  y en el intervalo  $[i_2, p_2]$  sean mayores que  $m$ . Estos intervalos definen el espectro correspondiente al iris.

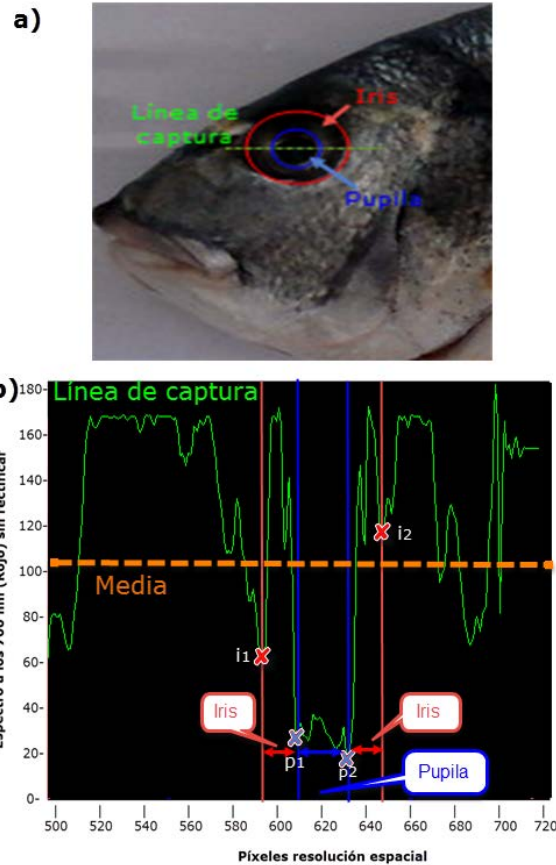


Figura 2: a) Imagen de dorada con las zonas de interés a segmentar b) espectro a los 700 nm sobre el que se realiza la segmentación espacial

## 2.5 Procesado de la imagen hiperespectral

Se realizó una calibración de reflectancia con el propósito de normalizar la no linealidad del iluminante a lo largo del espectro y eliminar posibles ruidos constantes. Esto se realizó capturando un patrón con un alto coeficiente de reflexión en el rango de trabajo, llamado “blanco” y otro patrón “negro” que consistió en adquirir una imagen con el objetivo de la cámara tapado para eliminar el posible ruido que tenga la cámara. Una vez obtenidos estos dos patrones se utilizó la ecuación 1 [11] para calcular el espectro rectificado.

$$R = \frac{I - N}{B - N} \quad (1)$$

Donde  $I$  es la intensidad del píxel de la muestra,  $N$  es la intensidad del patrón negro y  $B$  la del patrón blanco.

Además, los espectros se normalizaron a media 0 y desviación estándar 1 para su posterior procesado estadístico.

## 2.6 Análisis estadístico

El estudio estadístico se dividió en el análisis del espectro del iris y en el análisis del espectro de la pupila por separado para posteriormente comparar sus resultados.

Para analizar la información espectral se utilizó el método de mínimos cuadrados parciales (PLS). El objetivo del algoritmo PLS es transformar los datos a un espacio de dimensiones que retenga la máxima varianza posible (máxima información) entre los espectros y el tiempo que tienen las doradas. Con el modelo PLS se consigue correlacionar el espectro con el tiempo y maximizar la covarianza. Existen varias formas para el cálculo de los parámetros del modelo PLS. En este estudio se ha empleado el "Straightforward Implementation of a Statistically Inspired Modification of the PLS" (SIMPLS) de [12].

El método empleado para evaluar los resultados del análisis estadístico fue la validación cruzada, que garantiza que los datos de entrenamiento y prueba son independientes. Se utilizó un 75% de las muestras para entrenar y un 25% para testear los modelos desarrollados. Esta selección se realizó de forma aleatoria y además se repitió este proceso de validación 3 veces para una mayor confianza en los resultados promediados.

Los resultados de los análisis destructivos se estudiaron mediante un análisis de varianza ANOVA.

Todos los procedimientos estadísticos se realizaron con la herramienta PLSToolbox (Eigenvector Reserach Inc., Wenatchee, Washington, USA), que es una librería del entorno de computación Matlab (The Mathworks, Natick, Massachusetts, EE.UU.).

## 3 Resultados

### 3.1 Resultados análisis destructivos

Los valores del humor vítreo (tabla 1) concuerdan con los establecidos por Kiertzmann [13] como indicadores de frescura: menor que 1.3355 muy buena, 1.3356-1.3365 buena, 1.3366-1.3390 moderada y por encima de 1.3390 como mala.

El NTBv en pescado recién capturado se encuentra normalmente entre 5 y 20 mg/100g, donde niveles de 30e35mg N/100g son generalmente empleados como límite para algunas especies de pescados almacenados en hielo (EEC,1995).

Los valores de pH aumentaron progresivamente durante todo el periodo tal y como se puede ver en la tabla 1. Otros autores como Pérez-Esteve [4] han obtenido valores similares para los mismos periodos de tiempo.

En base a los resultados destructivos obtenidos se considera que el pescado durante todo el periodo estudiado se podría haber consumido siendo el día 6 el límite.

Tabla 1: Resultados de realizar una ANOVA de los análisis destructivos.

| Tiempo (días) | Humor Vitreo       | NTBV          | pH            |
|---------------|--------------------|---------------|---------------|
| 0             | 1.3366 ± 0.0003a   | 20.86 ± 0.33a | 6.05 ± 0.03a  |
| 1             | 1.3367 ± 0.0002ab  | 26.68 ± 0.61b | 6.11 ± 0.04ab |
| 3             | 1.3375 ± 0.0006abc | 26.56 ± 1.79b | 6.17 ± 0.08bc |
| 6             | 1.3385 ± 0.0010bcd | 28.06 ± 1.29b | 6.22 ± 0.01c  |

<sup>N</sup>Valores medios de tres análisis ± desviación estándar. <sup>a-d</sup>La diferencia entre los que tienen diferentes subíndices es significativa con un nivel de 0.05.

### 3.2 Resultados imagen hiperespectral

En la figure 3 se pueden observar los espectros de reflectancia del iris y de la pupila. Como se puede apreciar en el iris existe una mayor varianza entre las diferentes muestras.

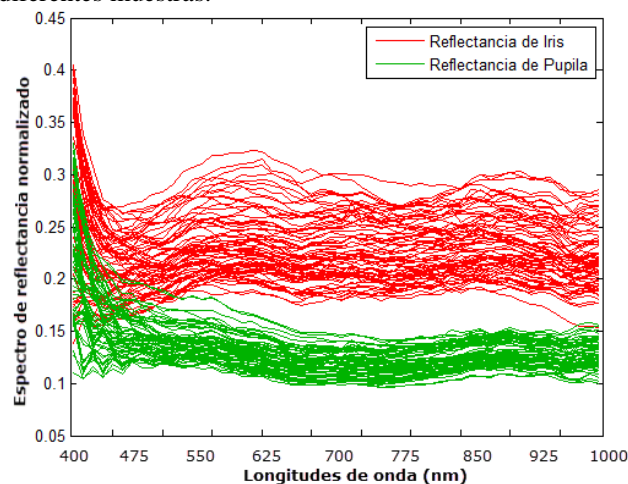


Figure 3 Espectros normalizados del iris y de la pupila.

Los resultados del análisis PLS de los espectros (tabla 2) de cada una de las zonas por separado para estimar el tiempo indican que, aunque ambas se podrían utilizar para la estimación cuantitativa de la frescura por sus altos  $R^2$  en validación cruzada, utilizando únicamente los espectros de la pupila estos mejoran significativamente.



Tabla 2: Resultados de los modelos PLS de los espectros para estimar el tiempo de frescura

|                    | Iris         | Pupila     |
|--------------------|--------------|------------|
| Num. LVs           | 5            | 6          |
| RMSEC              | 0.854        | 0.400      |
| RMSECV             | 0.946        | 0.638      |
| Bias               | 1.332 e-15   | 3.108 e-15 |
| CV Bias            | 0.014        | 0.021      |
| R <sup>2</sup> Cal | 0.861        | 0.969      |
| R <sup>2</sup> CV  | <b>0.831</b> | 0.927      |

Analizando en detalle los resultados del modelo PLS al ver la estimación en validación cruzada (figura 4) se puede ver que la recta de ajuste se aproxima mucho a la recta 1:1. Por lo que respecta a la dispersión es aproximadamente de  $\pm 1$  día siendo por tanto indistinguibles los valores entre el día 0 y el día 1.

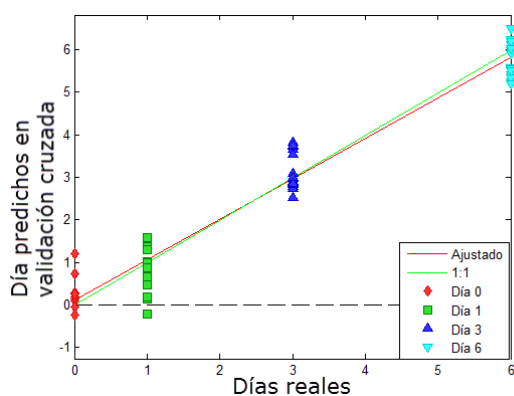


Figure 4 Predicción del modelo PLS realizado con el espectro de la pupila de las muestras de validación cruzada.

#### 4 Conclusiones

Este estudio se enfocó en resolver el problema de detectar la frescura de la *Sparus aurata* (dorada) de una forma no-destructiva con la premisa de que la segmentación del ojo en sus diferentes partes podría mejorar los resultados. La complejidad del problema radica en que se trabaja sobre muestras sin ningún tipo de preparación. Las imágenes hiperespectrales en el rango del infrarrojo cercano de onda corta obtenidas en los ojos de las doradas indicaron que disponen de suficiente información para estimar cuantitativamente la frescura. Concretamente, tal y como se muestra en este estudio, la información espectral extraída de la pupila resulta más precisa al tener menor variabilidad entre muestras y poderse ajustar mejor un modelo PLS. Así pues, esta mejora en los resultados justifica que se realice una segmentación espacial precisa. Utilizando el espectro extraído de la pupila se consiguió un R<sup>2</sup> CV de 0.927 mediante un modelo PLS con una dispersión de  $\pm 1$  día. Los análisis destructivos realizados validaron que las muestras fueran frescas y que no estuvieran manipuladas. Los resultados obtenidos prueban que

realizar una segmentación espacial del ojo puede mejorar la estimación de frescura en la dorada. Como trabajo futuro se pretende ampliar el número de muestras para darle una mayor solidez al estudio preliminar realizado.

#### Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Programa Estatal de Investigación, Desarrollo e Innovación Orientada a los Retos de la Sociedad, a través del proyecto DPI2013-44227-R, y por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria de España (INIA – Spanish National Institute for Agriculture and Food Research and Technology) a través del proyecto de investigación RTA2012-00062-C04-02, soportado por fondos europeos FEDER.

#### Referencias

- [1] Benlloch, J. V., et al. "Colour segmentation techniques for detecting weed patches in cereal crops." Proc. of Fourth Workshop on Robotics in Agriculture and the Food-Industry. 1995.
- [2] Benlloch, J. V., Sanchez, A., Christensen, S., & Walger, M. (1996). Weed mapping in cereal crops using image analysis techniques. *AgEng96*, 2, 1059-1060.
- [3] Benlloch, J. V., Sanchez, A., Agusti, M., & Albertos, P. (1996). Weed Detection in Cereal Fields Using Image Processing Techniques. *Precision Agriculture*, (precisionagricu3), 903-903.
- [4] Giron, J., Ivorra, E., Sanchez, A. J., Fernandez-Segovia, I., Barat, J. M., & Grau, R. A. Ú. L. (2014). Preliminary study using visible and SW-NIR analysis for evaluating the loss of freshness in commercially packaged cooked ham and turkey ham. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(4), 376-383.
- [5] Sánchez, A. J., Albarracín, W., Grau, R., Ricolfe, C., & Barat, J. M. (2008). Control of ham salting by using image segmentation. *Food Control*, 19(2), 135-142.
- [6] H. A. Bremner and M. Sakaguchi, "A Critical Look at Whether 'Freshness' Can Be Determined," *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, vol. 9, pp. 5 – 26, 2000.
- [7] J. M. Barat, L. Gil, E. García-Breijo, M.-C. Aristoy, F. Toldrá, R. Martínez-Mañez, and J. Soto, "Freshness monitoring of sea bream (*Sparus aurata*) with a potentiometric sensor," *Food Chem.*, vol. 108, no. 2, pp. 681–688, May 2008.
- [8] P. Zaragoza, A. Fuentes, I. Fernández-Segovia, J.-L. Vivancos, A. Rizo, J. V. Ros-Lis, J. M. Barat, and R. Martínez-Mañez, "Evaluation of sea bream (*Sparus aurata*) shelf life using an

- optoelectronic nose,” *Food Chem.*, vol. 138, no. 2–3, pp. 1374–1380, Jun. 2013.
- [9] E. Pérez-Esteve, A. Fuentes, R. Grau, I. Fernández-Segovia, R. Masot, M. Alcañiz, and J. M. Barat, “Use of impedance spectroscopy for predicting freshness of sea bream (*Sparus aurata*),” *Food Control*, vol. 35, no. 1, pp. 360–365, Jan. 2014.
- [10] M. Dowlati, S. S. Mohtasebi, M. Omid, S. H. Razavi, M. Jamzad, and M. de la Guardia, “Freshness assessment of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by machine vision based on gill and eye color changes,” *J. Food Eng.*, vol. 119, no. 2, pp. 277–287, Nov. 2013.
- [11] J.-H. Cheng and D.-W. Sun, “Hyperspectral imaging as an effective tool for quality analysis and control of fish and other seafoods: Current research and potential applications,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 37, no. 2, pp. 78–91, Jun. 2014.
- [12] R. Grau, A. J. Sanchez, J. Giron, E. Iborra, A. Fuentes, and J. M. Barat, “Nondestructive assessment of freshness in packaged sliced chicken breasts using SWNIR spectroscopy,” *Food Res. Int.*, vol. In Press, Corrected Proof, pp. 0 – 0, 2011.
- [13] E. Ivorra, J. Girón, A. J. Sánchez, S. Verdú, J. M. Barat, and R. Grau, “Detection of expired vacuum-packed smoked salmon based on PLS-DA method using hyperspectral images,” *J. Food Eng.*, vol. 117, no. 3, pp. 342–349, Agosto 2013.
- [14] P. Menesatti, C. Costa, and J. Aguzzi, “Quality Evaluation of Fish by Hyperspectral Imaging,” in *Hyperspectral Imaging for Food Quality Analysis and Control*, San Diego: Academic Press, 2010, pp. 273–294.
- [15] A. Savitzky and M. J. E. Golay, “Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures,” *Anal. Chem.*, vol. 36, no. 8, pp. 1627–1639, Jul. 1964.
- [16] A. Paviotti and L. Poletto, “Performance characterization of an imaging spectrograph for the acquisition and analysis of multispectral images,” in *16th European Signal Processing Conference (EUSIPCO 2008)*, 2008.
- [17] Sijmen de Jong, “SIMPLS: An alternative approach to partial least squares regression,” *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, vol. 18, no. 3, pp. 251–263, Mar. 1993.
- [18] Kiertzmann, H.J., Wegner, K., Priebe, U., and Rakow, D, “Freshness test of fish using measurement of refractive index of eye and mussel fluids of fish,” *Zentralblatt Veterinär-Medizin*, vol. B 11, pp. 551–560, 1964.