



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado

MÉTODOS ÓPTICOS PARA ESTABLECER LA MADUREZ DE CEREZAS

Autor

M^a Pilar Gregorio García

Director

Ángel Ignacio Negueruela Suberviola

Facultad de Veterinaria

2014

Datos personales del alumno:

Apellidos: Gregorio García

Nombre: M^a Pilar

D.N.I.: 17455561-X

Dirección: C/ Enmedio nº 40, Aniñón, Zaragoza.

Teléfono: 605589748 / 976899521

Correo: mgregorio_garcia@hotmail.com

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN | 5 |
| 2. INTRODUCCIÓN | 7 |
| 2.1. Origen..... | 7 |
| 2.2. Taxonomía y morfología..... | 7 |
| 2.3. Exigencias climáticas | 8 |
| 2.4. Propiedades nutritivas | 8 |
| 2.5.1. A nivel internacional | 10 |
| 2.5.2. A nivel nacional | 11 |
| 2.6. Calidad del fruto..... | 12 |
| 2.6.1. Conservación del fruto | 12 |
| 2.6.2. Determinación de la calidad..... | 13 |
| 2.6.3. Métodos no destructivos..... | 15 |
| 2.6.4. Interacción luz-materia..... | 15 |
| 2.6.5. Medidas de la luz tras la interacción con la materia..... | 16 |
| 2.6.5. Retrodifusión de la luz (light backscattering) en el fruto | 17 |
| 2.7. Métodos estadísticos. | 19 |
| 2.7.1. Análisis de Componentes Principales (PCA)..... | 19 |
| 2.7.2. Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS) | 19 |
| 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS | 21 |
| 4. MATERIALES, METODOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL | 25 |
| 4.1. Muestras | 25 |
| 4.2. Métodos destructivos..... | 25 |
| 4.2.1. Firmeza..... | 25 |
| 4.2.2. Contenido en Sólidos Solubles..... | 26 |
| 4.3. Método no destructivo..... | 26 |
| 4.3.1. Adquisición y tratamientos de imágenes..... | 26 |
| 4.3.2. Métodos estadísticos | 29 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 31 |
| 5.1. Métodos destructivos: firmeza y SST. | 31 |
| 5.2. Imágenes de luz retrodifundida | 33 |
| 5.3 Análisis estadístico..... | 38 |
| 5.3.1 Eliminación de muestras anómalas. Análisis PCA..... | 38 |
| 5.3.2 Análisis PLS..... | 39 |

| | |
|--|----|
| 6. CONCLUSIÓN | 42 |
| 7. IDENTIFICACIÓN DE LAS APORTACIONES QUE, EN MATERIA DE APRENDIZAJE, HAN SUPUESTO LA REALIZACIÓN DE ESTA ASIGNATURA | 44 |
| 8. EVALUACIÓN DE LA ASIGNATURA Y SUGERENCIAS DE MEJORA | 45 |
| 7. BIBLIOGRAFIA..... | 46 |

1. RESUMEN

El consumidor demanda frutas frescas de calidad, por lo que estas deben cosechadas cuando hayan alcanzado la madurez adecuada, presentando su firmeza y sólidos solubles totales apropiados. En este trabajo, se evalúa la calidad de la cereza “Chelan” mediante índices de madurez y para ello se estudiaron parámetros físicos como son la firmeza y parámetros químicos como son los sólidos solubles totales, los cuales requieren la destrucción del fruto. Para medir la firmeza se utilizó el método Durofel y para sólidos solubles totales el refractómetro digital. Las muestras de cerezas fueron recolectadas en seis fechas diferentes, para conocer la evolución de los sólidos solubles y la firmeza a lo largo de la cosecha hasta el momento de consumo.

Para evitar la pérdida económica debido a la destrucción de la cereza, se busca nuevas tecnologías para conocer su calidad. El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado es establecer un modelo estadístico que relacione las medidas de firmeza y SST con el histograma correspondiente a las imágenes de retrodifusión de la luz de algunos láseres en la cereza, obteniendo así un sistema no destructivo de clasificación por su calidad. En dichas imágenes se comprueba cómo las cerezas dispersan la luz láser de distinta forma dependiendo de la fecha de recogida y la longitud de onda del láser utilizado para obtener la imagen. Se utilizó el método estadístico PLS con el que se obtuvo el modelo.

El resultado obtenido fue para el láser de 670 nm un R^2c de 0,78 y para el láser de 980 nm un R^2c de 0,72. De estos resultados se dedujo que se puede obtener una buena predicción de parámetros. Aunque sería necesario trabajar en sucesivas campañas para construir modelos de predicción más completos, porque desconocemos que este modelo sirva para otras campañas.

ABSTRACT

The consumer demand for fresh fruit quality, so these should be harvested when they have reached the right maturity, presented its proper firmness and total soluble solids. In this paper, the quality of cherry "Chelan" is evaluated by maturity indices and physical parameters for it are studied as firmness and chemical parameters such as total soluble solids, which require the destruction of the fruit. To measure firmly Durofel method was used and total soluble solids digital refractometer. Cherries samples were collected from six different dates for the evolution of soluble solids and firmness during harvest until consumption.

To avoid economic loss due to destruction of cherry, new technologies to meet their quality is sought. The main objective of this Final Project is to establish a statistical model that relates the measurements of firmness and SST with corresponding images of backscattering of light from some lasers in Cherry histogram, thus obtaining a non-destructive rating system their quality. In these images we can demonstrate how cherries scattered laser light differently depending on the date of collection and the wavelength of the laser used for the image. PLS statistical method with which the model was obtained was used.

The result was for the laser of 670 nm R^2c of 0.78 and one for the laser of 980 nm R^2c of 0.72. From these results it was concluded that one can get a good prediction of parameters. While it would be necessary to work in successive campaigns to build prediction models more complete because we do not know that this model serves to other campaigns.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Origen

El cerezo (*Prunus avium* L.) pertenece a la familia de las Rosáceas, subfamilia de las Prunoideas, género *Prunus* L. Parece ser originario de la zona situada entre el mar Caspio y el mar Negro, lo que explica su preferencia por climas mediterráneos o templados (Webster et al., 1996). La primera expansión de la especie se atribuye a aves migratorias que podían haber transportado semillas a largas distancias, difundiéndolo hacia Europa y Asia. Teofrasto, en el siglo IV a. C. y otros autores griegos posteriores ya hablan del cerezo y sus variedades y Colmuela siglos después se refiere extensamente a su cultivo. El Imperio Romano lo distribuyó ampliamente incluyendo a la península Ibérica. Aunque originalmente los frutos eran más pequeños que los actuales, parece ser que en el inicio de la agricultura en Europa ya se sembraban semillas de cerezo, que acompañaron a los primeros agricultores en sus migraciones (Mateo, 2005).

2.2. Taxonomía y morfología

El cerezo es un árbol que puede alcanzar una longevidad de hasta 100 años, es caducifolio, y en su estado natural puede alcanzar hasta 20 metros de altura. El tronco presenta una corteza lisa marcada horizontalmente con lenticelas. Las hojas son simples, largas (de 7,5 a 12,5 cm), con estípulas y un pecíolo largo con dos glándulas rojizas cerca de la lámina de la hoja. Las flores son blancas y se encuentran solitarias en la base de la madera del año o en grupos de hasta 5 alrededor de la yema vegetativa de la madera más vieja. El fruto es pequeño, pero puede superar los 10 g y alcanzar 30 mm de diámetro en las variedades cultivadas modernas (Sanz et al., 2006). La forma es variable dependiendo del genotipo, y el color oscila entre el amarillo, el rojo claro y el rojo oscuro tirando a granate, con carne firme y jugosa. El hueso es esférico y casi liso.

El corte de una cereza muestra las tres capas que poseen los frutos. La piel de la cereza es la capa más externa y recibe el nombre de epicarpio. Protege las dos capas internas: la pulpa jugosa o mesocarpio, y el endocarpio. Las tres capas constituyen el pericarpio, la cubierta espesa del fruto que rodea y protege la semilla. Figura 2.1

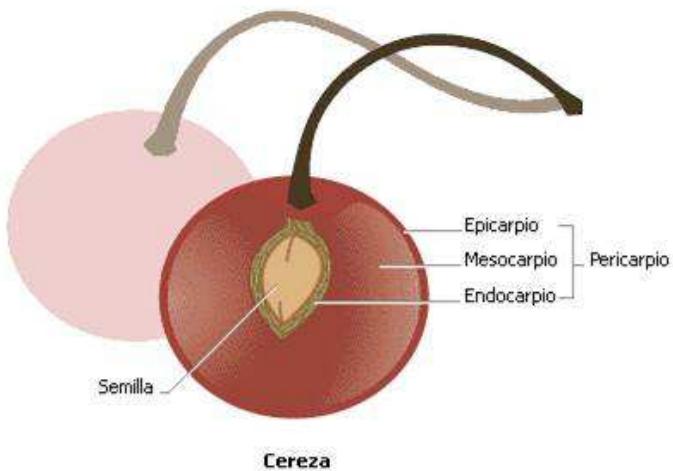


Figura 2.1 Partes que componen la cereza.

2.3. Exigencias climáticas

El cerezo tiene una gran capacidad de adaptación a distintas condiciones de suelo y clima dentro de la Zona Templada (Longstroth et al., 1996), aunque el cultivo está condicionado en muchas áreas por sus altas necesidades de frío invernal que para fructificar adecuadamente necesita superar en la mayoría las 800 horas de frío.

En cuanto a suelos, los prefieren sueltos, profundos (al menos de un metro de profundidad) y bien drenados, ligeramente calizos y sin salinidad (San Martino et al., 2008). Aunque no es una especie resistente a la sequía sus necesidades de agua no son elevadas, requiriendo un aporte suficiente de agua durante la estación de crecimiento, el cual ronda los 1100 mm para toda la temporada de crecimiento (Manavella et al., 2006). Sin embargo, las lluvias que ocurren durante la maduración del fruto pueden ser extremadamente dañinas, provocando el rajado del fruto (Jedlow et al., 2005).

2.4. Propiedades nutritivas

El componente principal de la cereza es el agua, que se encuentra en un 82%. La cereza es rica en hidratos de carbono, principalmente azúcares simples como fructosa, glucosa y sacarosa, siendo su valor calórico moderado respecto al de otras frutas. En lo que se refiere a su contenido en vitaminas, destacan la vitamina C, la vitamina A y folatos. Destaca su contenido en flavonoides y ácido elágico del grupo de los

polifenoles, ambos excelentes antioxidantes. Tiene cantidades importantes de potasio y en menor proporción magnesio, hierro, fósforo y calcio, este último de peor aprovechamiento que el que procede de los lácteos u otros alimentos que son buena fuente de dicho mineral. Tabla 2.1

Las cerezas también aportan monoterpenos, concretamente, alcohol perílico, compuesto con actividad antitumoral. Aporta cantidades considerables de fibra, que mejora el tránsito intestinal.

Además, también presenta propiedades antioxidantes, protegiendo a los lípidos, a la sangre y a otros fluidos corporales contra el ataque de los radicales libres, moléculas implicadas en el envejecimiento y en el desarrollo de diversas enfermedades crónico/degenerativas (cardiovasculares, cáncer, osteoporosis, etc.).

| | Por 100 g de porción comestible | Por ración (150 g) | Recomendaciones día-hombres | Recomendaciones día-mujeres |
|-------------------------------------|------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Energía (Kcal) | 65 | 85 | 3.000 | 2.300 |
| Proteínas (g) | 0,8 | 1,0 | 54 | 41 |
| Lípidos totales (g) | 0,5 | 0,7 | 100-117 | 77-89 |
| AG saturados (g) | — | — | 23-27 | 18-20 |
| AG monoinsaturados (g) | — | — | 67 | 51 |
| AG poliinsaturados (g) | — | — | 17 | 13 |
| ω-3 (g)* | — | — | 3,3-6,6 | 2,6-5,1 |
| C18:2 Linoleico (ω-6) (g) | — | — | 10 | 8 |
| Colesterol (mg/1000 kcal) | — | — | <300 | <230 |
| Hidratos de carbono (g) | 13,5 | 17,6 | 375-413 | 288-316 |
| Fibra (g) | 1,5 | 2,0 | >35 | >25 |
| Agua (g) | 83,7 | 109 | 2.500 | 2.000 |
| Calcio (mg) | 16 | 20,9 | 1.000 | 1.000 |
| Hierro (mg) | 0,4 | 0,5 | 10 | 18 |
| Yodo (μg) | 2 | 2,6 | 140 | 110 |
| Magnesio (mg) | 11 | 14,4 | 350 | 330 |
| Zinc (mg) | 0,12 | 0,2 | 15 | 15 |
| Sodio (mg) | 2 | 2,6 | <2.000 | <2.000 |
| Potasio (mg) | 255 | 333 | 3.500 | 3.500 |
| Fósforo (mg) | 21 | 27,4 | 700 | 700 |
| Selenio (μg) | 1,2 | 1,6 | 70 | 55 |
| Tiamina (mg) | 0,05 | 0,07 | 1,2 | 0,9 |
| Riboflavina (mg) | 0,06 | 0,08 | 1,8 | 1,4 |
| Equivalentes niacina (mg) | 0,4 | 0,5 | 20 | 15 |
| Vitamina B₆ (mg) | 0,05 | 0,07 | 1,8 | 1,6 |
| Folatos (μg) | 8 | 10,4 | 400 | 400 |
| Vitamina B₁₂ (μg) | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Vitamina C (mg) | 8 | 10,4 | 60 | 60 |
| Vitamina A: Eq. Retinol (μg) | 3 | 3,9 | 1.000 | 800 |
| Vitamina D (μg) | 0 | 0 | 15 | 15 |
| Vitamina E (mg) | 0,1 | 0,1 | 12 | 12 |

Tabla 2.1 Composición nutricional de las cerezas según MAGRAMA.

2.5. Situación actual del producto

2.5.1. A nivel internacional

La producción mundial de cerezas, según cifras de la FAO para el año 2010, alcanzó a 2.130.850 toneladas, con un crecimiento de 16,7% entre los años 2001 y 2010 (FAOSTAT, 2013).

Los países que tienen una gran producción mundial de cereza son: Turquía, Estados Unidos, Chile, España, Irán, Italia, Siria, Uzbekistán y Ucrania.

Los cinco mayores exportadores mundiales de cerezas frescas en el año 2010, fueron Turquía liderando el grupo, con una participación de 19,4%, seguida de Estados Unidos, con 19,1%; Chile (13,2%), España (7,2%) y Hungría (6%). Según las cifras del Centro de Comercio Internacional (CCI) para el año 2010. Figura 2.2

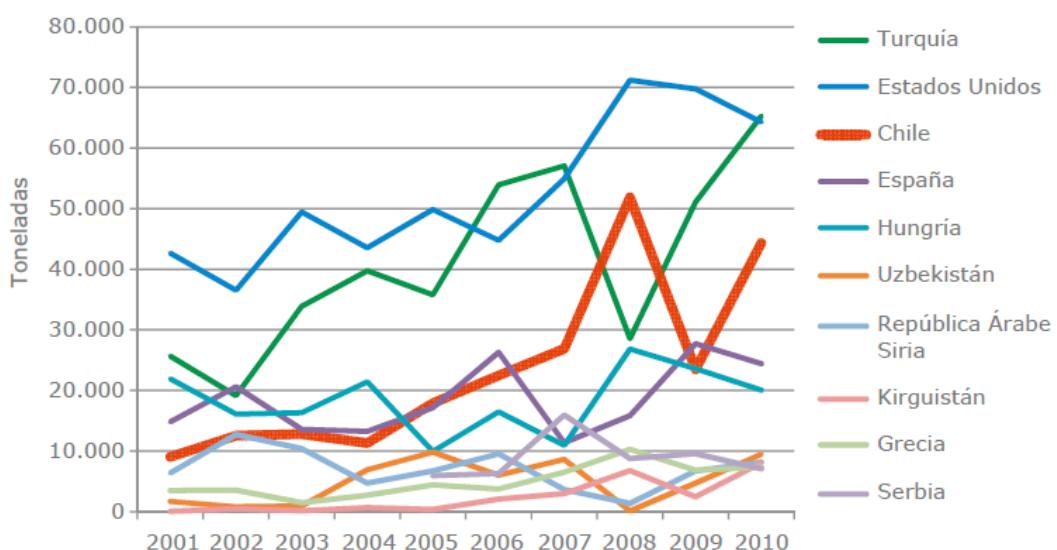


Figura 2.2 Principales países exportadores de cerezas frescas 2001-2010. Fuente: Centro de Comercio Internacional CCI.

2.5.2. A nivel nacional

La producción anual media de cerezas en España en la última década fue 93.500 toneladas, oscilando entre 72.500 toneladas (2008) y 115.200 toneladas (2002), en una superficie de unas 23.000 ha (MAGRAMA, 2013).

La superficie cultivada se ha estabilizado en los últimos 5 años en unas 24.000 ha, después de sufrir un importante descenso en los años anteriores. En 2010, más de la mitad de la producción nacional se concentró en Extremadura (28.000 toneladas en 7.000 ha) y Aragón (21.000 toneladas en 7.200 ha) (MAGRAMA, 2013).

La mayor producción de cerezas se sitúa en la provincia de Cáceres, que alcanzó, según datos extraídos del Anuario de estadística agroalimentaria del 2008, 22.501 t, seguida de Zaragoza con 14.280 t. Figura 2.3

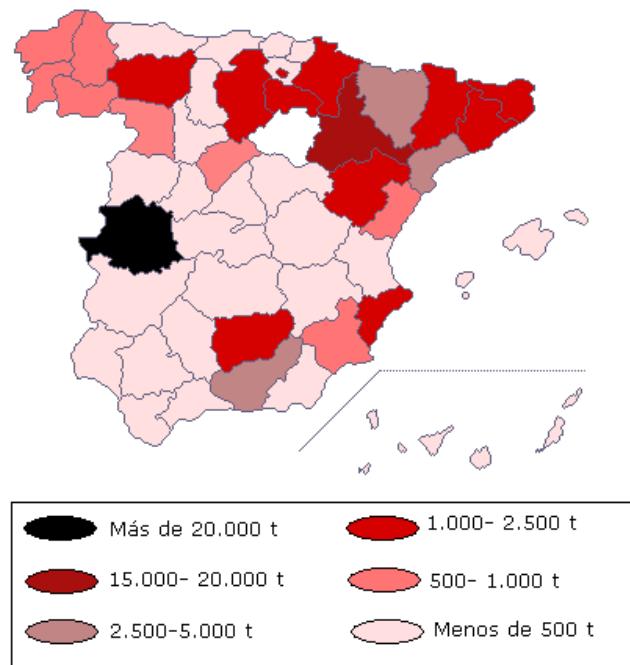


Figura 2.3 Producción de cereza en España según MARM 2008

Aunque la mayor parte de la producción se destina al mercado interior, las exportaciones han aumentado en los últimos años hasta alcanzar aproximadamente el 25 %. Los principales países de destino son Reino Unido, Francia, Alemania, Italia y Portugal (FAOSTAT, 2013).

2.6. Calidad del fruto

El concepto de calidad ha ido evolucionando a lo largo del tiempo. Al principio la percepción de la calidad era diferente según el interés particular de cada uno de los agentes que intervenían en el proceso de producción (productor, consumidor, comerciante). Sin embargo, cada vez hay más acuerdo entre los sectores implicados, ya que todos ellos tienden a acercar sus criterios hacia los que impone el consumidor, en los que el estado de madurez de la fruta juega un factor importante (Vallejo, 1990).

Debido a la importancia de obtener frutos con características de madurez óptimas, tanto para el consumo como para su conservación, de forma que lleguen con las mejores condiciones organolépticas posibles al usuario final, es interesante conocer los índices de madurez más adecuados para determinar el momento óptimo de su recolección.

Actualmente los mercados demandan cerezas de mejor calidad, de mayor tamaño, con mejor textura y sabor. El peso y el tamaño de las cerezas son importantes para su valor comercial (Vittrup Christensen, 1995), ya que el mercado requiere usualmente cerezas grandes (Kappel et al., 1996).

Se ha demostrado que la aceptabilidad de las cerezas es mayor a medida que aumenta el contenido de sólidos solubles, ya que los consumidores prefieren los frutos dulces. En general, las cerezas no deben cosecharse con un contenido de azúcares menor a 14 °brix, aunque las exigencias suelen ser menores para las variedades tempranas y varían también con el mercado de destino.

2.6.1. Conservación del fruto

Para mantener la calidad de la cereza se debe almacenar a 0 ± 0.5 °C y 90/95% de humedad relativa. Si los sistemas de control de temperatura son efectivos y confiables, pueden almacenarse a -1 °C sin riesgos de congelamiento, debido a que cuentan con un alto contenido de sólidos solubles.

Debe tenerse en claro que la refrigeración es la técnica más apropiada para la conservación de cerezas y que, si bien existen otras prácticas complementarias

(atmósferas modificadas, atmósferas controladas, recubrimientos comestibles), un buen control de la temperatura redundará de la conservación.

2.6.2. Determinación de la calidad

La determinación de los parámetros de calidad como son la firmeza y sólidos solubles totales, se lleva a cabo mediante métodos tradicionales a través de la destrucción del fruto. Para realizar análisis de estos parámetros se requieren equipos específicos. Sin embargo, con la utilización de este tipo de métodos se producen grandes pérdidas económicas ya que se destruye el fruto y posteriormente no tiene ninguna utilización.

Por ello, es importante conocer sus atributos de calidad de la cereza como son la firmeza (1) y el contenido de SST (2). La firmeza es usualmente relevante para la aceptación de la cereza por parte del consumidor (Cliff et al., 1996).

(1) Firmeza: es la consistencia de los frutos, determinada tradicionalmente como la fuerza necesaria para deformar la superficie de un fruto con el pulgar. La firmeza es un atributo textural, que se utiliza en relación al establecimiento del momento óptimo de la recolección, a la evaluación de la calidad durante el almacenamiento, a la comercialización en fresco o al procesado inicial de los productos. El método normalizado de determinación de la firmeza es a través de una medida de resistencia, como es el ensayo de penetración Magness-Taylor (Barreiro, P. y Ruiz-Altisent, M., 1996).

(2) Sólidos Solubles Totales: ayudan a determinar la concentración de sacarosa por 100 mililitros de una solución, y se expresan en brix (°Brix) a una temperatura estándar de 20 ° C. La medición de los sólidos solubles se realiza con un refractómetro cuyo funcionamiento se basa en el índice de refracción de las sustancias. El contenido de SST es empleado comercialmente como índice de calidad del fruto por guardar una alta correlación positiva con el contenido de azúcares (Silva et al., 2003).

La pérdida de firmeza durante la maduración no es tan notable en cerezas como en otras frutas. Sin embargo, durante la conservación los frutos se ablandan y pierden dos de los atributos más buscados por los consumidores: firmeza y crocantez. Al igual que

sucede con otros parámetros, las exigencias de firmeza dependen del mercado al cual se destine la fruta. La determinación de firmeza en cerezas es compleja, ya que los equipos más efectivos para tal fin son muy caros o no son portátiles, y viceversa. Por ello, es importante conocer el comportamiento de cada variedad y distinguir aquellas "firmes" de las que no lo son.

Para lograr esta alta calidad, se debe de cosechar la fruta en su punto de madurez organoléptica óptima, determinado de acuerdo a una combinación de factores de calidad que incluyen el tamaño, el color, los sólidos solubles y la firmeza (Mitcham *et al.*, 1996).

A medida que la cereza madura en la planta, aumenta el contenido de sólidos solubles, el calibre y se produce una evolución del color de amarillo a un rojo-granate. La acidez disminuye y en menor medida lo hace la firmeza. Los índices más adecuados para definir el momento de cosecha son el contenido de sólidos solubles (azúcares) y el color de la epidermis.

Las cerezas no acumulan almidón, por lo cual, el contenido de azúcares (fructosa y glucosa) en el momento de cosecha se mantiene invariable o aumenta muy poco durante el almacenamiento.

Las cerezas producen poco etileno y son, además, muy poco sensibles a éste. Por ello, a diferencia de otras especies, el control del etileno en el ambiente de conservación no es tan importante, como tampoco son efectivos algunos inhibidores del sitio de acción del etileno. Al ser frutos no climatéricos, la tasa respiratoria y de producción de etileno va disminuyendo a medida que los frutos maduran.

Se han desarrollado un número de métodos para la determinación no destructiva de la calidad de fruta, y están disponibles varias revisiones bibliográficas de estas tecnologías (Abbott *et al.*, 1997, Abbott, 1999, Butz *et al.*, 2005, y Chen 1996). Sin embargo, hay falta de conocimiento, de un método práctico y al mismo tiempo con suficiente nivel de precisión, para la medición de la firmeza y de los SST.

2.6.3. Métodos no destructivos

En los últimos años, las empresas han introducido en las líneas de manipulación nuevas tecnologías, superando los métodos de muestreos y análisis en laboratorio; técnicas avanzadas no destructivas que presentan múltiples ventajas: no destrucción del producto, control de todas y cada una de las unidades, fiabilidad de las determinaciones, automatización de los procedimientos, permite realizar muestras rápidas y sencillas. Actualmente las técnicas más prácticas y satisfactorias para la evaluación no destructiva de la calidad y clasificación de productos agrícolas son las técnicas electro-ópticas, basadas en las propiedades ópticas de los productos (Chen, 1996). Se trata de métodos cuyo fundamento se centra en medir la interacción entre la materia y la energía en forma de luz.

Entre estas técnicas no destructivas, está la técnica basada en obtener una imagen de la retrodifusión de luz láser en el fruto, y el posterior tratamiento digital de la imagen. Los datos obtenidos en el tratamiento digital se relacionan estadísticamente con los sólidos solubles totales y la firmeza, haciendo que los frutos se categoricen en función de éstos en las líneas de clasificación.

El láser (Light Amplifier by Stimulated Emission of Radiation) es un sistema de amplificación de la luz de alta intensidad, monocromático y coherente (que tiene la misma fase) que produce un haz.

2.6.4. Interacción luz-materia.

La luz solar contiene radiaciones incoherentes y de distintas frecuencias: ultravioletas, visibles al ojo humano e infrarrojas, existiendo un ligero máximo de emisión a 550nm (verde), Figura 2.4.

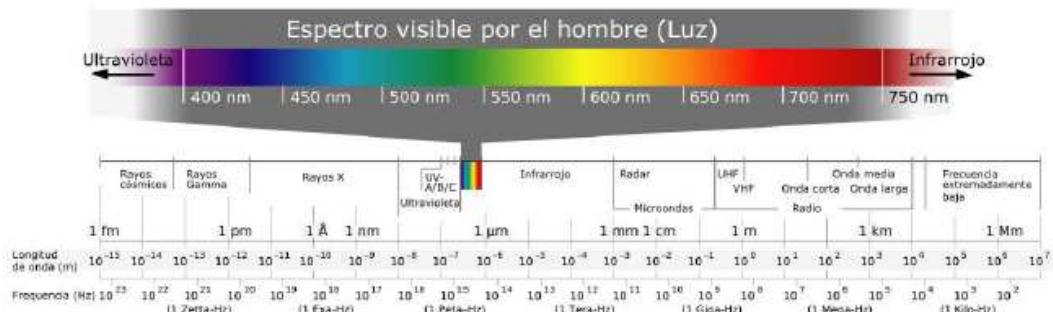


Figura 2.4 Espectro de luz visible dentro del espectro electromagnético.

Al incidir la luz desde el aire sobre un objeto, y debido a la diferencia de velocidad de propagación en ambos medios, una parte de la radiación se refleja en la superficie, otra parte entra en el objeto después de ser refractada, y, dentro del objeto, otra parte es dispersada hacia adelante y/o hacia atrás (retrodifundida), volviendo al primer medio. Además, existe otro tipo de interacción: la absorción de ciertas longitudes de onda por parte del objeto, que depende de la composición química del mismo. Incluso existe la posibilidad de reemisión de radiación en longitudes de onda superiores a la incidente, es lo que se conoce como fluorescencia. Según se trate de absorción atómica o molecular se produce en una banda del espectro u otra.

Los pigmentos son sustancias que absorben parte de la luz, por lo que son responsables de la coloración de un objeto debido a la presencia de bandas de absorción en el visible (380nm a 780nm), asociadas con transiciones electrónicas, que modifican la composiciónpectral de la radiación incidente. La absorción de energía en la zona del infrarrojo está asociada a los distintos modos de vibración-rotación de la molécula. En el infrarrojo cercano (780 a 2.400nm) hay niveles de absorción asociados con las frecuencias del agua y de sus estados de agregación.

2.6.5. Medidas de la luz tras la interacción con la materia.

Cuando la radiación incide en una muestra, la radiación incidente puede ser reflejada, absorbida o transmitida y cada uno de estos fenómenos depende de la composición química y parámetros físicos de la muestra (Nicolaï, B.M. et al, 2007).

a. Reflexión.

La reflexión es debida a tres fenómenos diferentes. La reflexión especular causa el brillo, mientras que la reflexión difusa externa es inducida por superficies rugosa. Ambos aportan sólo información de la superficie de la muestra. La difusión de la luz (scattering) se produce como resultado de la refracción múltiple por cambio de fases en el interior del material.

La reflexión se mide por el valor de R , reflectancia relativa, siendo, para cada longitud de onda: $R(\lambda) = R \text{ muestra}(\lambda) / R \text{ referencia}(\lambda)$. R de referencia se mide sobre un patrón blanco calibrado.

b. Absorción.

Cuando la luz atraviesa un medio, se produce el fenómeno de absorción y sólo una parte de la radiación es transmitida al otro lado de la muestra. Para una longitud de onda determinada, se puede definir la transmitancia como:

$$\tau = \frac{I}{I_0}$$

Donde I_0 es la intensidad de la energía incidente e I la intensidad de la radiación detectada después de pasar a través de la muestra. La absorbancia se define, en función de la transmitancia, como:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = -\log \tau$$

La absorción de la radiación sigue la ley de Beer-Lambert, que relaciona la absorbancia de la luz con las propiedades del material analizado. La ley de Beer-Lambert establece que: $A = \epsilon d c$, donde d es el espesor de la muestra, ϵ es el coeficiente de extinción molar y c la concentración molar del medio en estudio.

2.6.5. Retrodifusión de la luz (light backscattering) en el fruto

La difusión de luz es un fenómeno dominante en materiales biológicos turbios para la región visible y de infrarrojo cercano de 500-1300 nm. La difusión de luz se ve influenciada por la densidad del tejido de la fruta, la composición celular, y las estructuras extra e intra-celulares. Así, la difusión puede proporcionar un medio indirecto para evaluar las propiedades de textura de la fruta. Propiedades texturales, tales como la firmeza, reflejan las complejas características estructurales de un material alimenticio (Peng Y., y Lu R., (2008)). Mientras que la absorción se debe a algunos constituyentes químicos de la fruta (como son los pigmentos: clorofila, carotenos y antocianos).

La difusión se produce por múltiples refracciones por cambios de fases en el interior del material.

Lu (2004) propone una nueva técnica para caracterizar las propiedades espectrales de difusión de fruta en múltiples longitudes de onda en la región visible y del infrarrojo cercano (NIR) para la estimación de la firmeza de la fruta. Las propiedades espectrales de difusión de fruta se cuantificaron mediante la captura y el análisis de las imágenes de retrodifusión generadas por un haz de luz enfocado en la superficie de la fruta. Para describir los perfiles de difusión multiespectral en las manzanas Peng y Lu (2005) propusieron una distribución tipo función Lorentz (LD) con tres parámetros. Estos estudios demostraron que la técnica de difusión de multiespectral es útil, y superior al NIRS, para evaluar la firmeza de la fruta.

Sin embargo, no hemos encontrado nada de este tema sobre las cerezas.

Los principales elementos de difusión en fruta y vegetales son las interfaces en las paredes de la células puesto que producen cambios en el índice de refracción (McGlone et al., 1997), pero las partículas en suspensión, como los gránulos de almidón, cloroplastos y mitocondrias pueden también inducir difusión por difracción en las superficies de las partículas donde el índice de reflexión es diferente al de los alrededores (Il'yasov and Krasnikov, 1991). La difusión depende del tamaño, de la forma y de la microestructura de las partículas. La difusión puede aparecer debido a heterogeneidades, como poros, aberturas, capilares que se distribuyen aleatoriamente en la muestra. Los procesos de difusión múltiple determinan ampliamente la intensidad de luz dispersada que es re-emitida al exterior (McGlone et al., 1997). El proceso de difusión afecta el nivel de intensidad del espectro reflejado más que la forma que está más relacionada con el proceso de absorción.

Muchos son los trabajos que han estudiado el fenómeno físico de la retrodifusión de la luz para predecir índices de calidad en fruta y hortaliza, como los de Qing et al (2007), Peng et al (2006), Tu et al (1995) en tomate y manzana usando un láser de diodo a 670nm, o McGlone et al (1997) determinando la firmeza en kiwi mediante un láser de 864 nm.

2.7. Métodos estadísticos.

Una vez analizados los parámetros de firmeza y sólidos solubles totales por métodos físico-químicos, se necesita correlacionarlos con los valores tomados en retrodifusión de luz láser. Para ello se necesitan los métodos predictivos o de regresión. Estos estudian la construcción de modelos para explicar o representar la dependencia entre una variable respuesta o dependiente, Y, y la(s) variable(s) explicativa(s) o dependiente(s), X.

La representación de la relación entre dos o más variables a través de un modelo formal supone contar con una expresión lógico-matemática que, aparte de resumir cómo es esa relación, va a permitir realizar predicciones de los valores que tomará una de las variables (variable de respuesta, dependiente, criterio o Y) a partir de los valores de la(s) otra(s) variable(s) (explicativa(s), independiente(s), predictiva(s) o X).

En la literatura estadística, se han planteado diferentes tipos de modelos predictivos que han dado respuesta a las características de las variables que pueden aparecer implicadas en un determinado modelo. El más conocido es el modelo de regresión lineal con variable de respuesta cuantitativa, o bien, otra opción, es el modelo de regresión logística con respuesta categórica. Dependiendo de la variable que se deseé estimar se utiliza un modelo u otro.

Para realizar este trabajo, decidimos utilizar dos modelos: PCA para estudiar las características de las variables explicativas y PLS para los modelos de regresión lineal entre estas variables y las de respuesta.

2.7.1. Análisis de Componentes Principales (PCA)

El Análisis de Componentes Principales es un método introducido por Massy (1965) que aplica mínimos cuadrados para obtener un conjunto de variables latentes llamadas componentes principales, obtenidas a partir de la matriz de correlación (varianza-covarianza) de los datos originales y que permite obtener los datos anómalos para eliminarlos posteriormente.

2.7.2. Regresión por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS)

La Regresión por mínimos cuadrados se introdujo hace casi treinta años y actualmente se utiliza en Quimiometría, donde se analizan datos que se caracterizan por

muchas variables predictoras, con problemas de multicolinealidad, y pocas unidades experimentales en estudio (Geladi and Kowalski, 1986; Martens and Naes, 1989).

La regresión PLS consta de dos pasos fundamentales. Primero, con ayuda de vectores de respuesta Y (de orden $n \times 1$), transforma la matriz predictora, X (de orden $n \times p$), en una matriz de componentes o variables latentes no correlacionados, $T = (T_1, \dots, T_p)$ de orden $n \times p$, llamados componentes PLS. Esto contrasta con el análisis de componentes principales, PCA, en el cual los componentes son obtenidos usando sólo la matriz predictoras X . Segundo, calcula el modelo de regresión estimado usando el vector de respuesta original y como predictores, los componentes PLS.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Las frutas y hortalizas representan dentro del conjunto agroalimentario el sector de mayor importancia, tanto a nivel mundial como de la Unión Europea y particularmente en España.

La empresa hortofrutícola requiere sistemas efectivos de control de la calidad demandada por el consumidor. Tradicionalmente para medir los parámetros de calidad como son la firmeza y los sólidos solubles totales, se utilizan métodos destructivos. Es decir, para medir estos parámetros en la fruta hace falta la destrucción de muestras aleatorias, produciéndose grandes pérdidas económicas por la enorme producción hortofrutícola.

La determinación de la calidad en frutas y hortalizas ha ido evolucionando según las exigencias del mercado; las mediciones instrumentales se han preferido sobre las evaluaciones sensoriales tanto por los investigadores como por la propia industria, ya que dichas mediciones reducen la variabilidad entre los individuos, son más precisas y pueden proporcionar un lenguaje común entre los investigadores, la industria y los consumidores. (Abbott, 1999).

Los parámetros más utilizados para medir la calidad de la cereza son la firmeza de la pulpa y el contenido de Sólidos Solubles Totales (SST).

La firmeza es uno de los parámetros que mejor se relaciona con la maduración de la fruta, ya que es una importante propiedad de muchos alimentos sólidos, como la cereza. La firmeza puede definirse como la resistencia a la fuerza de penetración que ofrece la pulpa de un fruto, fuerza que es necesaria para romper los tejidos del mismo (Mohsenin, 1986).

También está relacionada con el tiempo de conservación en cámara, con la vida útil del producto o con cualquier daño físico que se haya producido en el fruto.

El contenido de SST es otro parámetro que se utiliza para determinar la madurez del fruto, ya que, conforme avanza la maduración, los sólidos solubles aumentan. Las cerezas no acumulan almidón, por lo cual, el contenido de azúcares (fructosa y glucosa) en el momento de cosecha se mantiene invariable o aumenta muy

poco durante el almacenamiento (en ocasiones los aumentos se deben sólo a la deshidratación de los frutos) (Candan, 2006).

Debido a que España es un gran productor en el sector hortofrutícola, se buscan nuevos métodos no destructivos para comprobar en el momento exacto de recolección, evitando, así mismo, la destrucción del fruto, impidiendo grandes pérdidas económicas y obteniendo una calidad adecuada para la satisfacción del consumidor al momento de consumición. La cosecha de la fruta en el estado de madurez apropiado es un factor muy importante para determinar el tiempo de almacenamiento, su calidad y la aceptación por parte del consumidor.

Es importante por lo tanto conocer la etapa en la madurez de la cereza para determinar el momento de cosecha, dado que fruta cosechada inmadura no podrá alcanzar un nivel de calidad aceptable para los consumidores, ya que son no climatéricas.

Existe un número de tecnologías prometedoras para la evaluación no destructiva de la madurez de las frutas. Las técnicas más prácticas y satisfactorias para la evaluación no destructiva de la calidad de los productos agrícolas son las técnicas basadas en las propiedades ópticas de las manzanas (Chen, 1996). Estas técnicas parecen prometedoras, pero su relación con el método destructivo estándar no está bien establecido para la firmeza de la manzana (Shmulevich et al., 2003; Lu, 2004).

Actualmente se está investigando con métodos no destructivos para la medida de la firmeza y SST, que consisten en realizar un análisis de las imágenes capturadas de la retrodifusión de la luz de láseres con diferentes longitudes de onda en las zonas del espectro de infrarrojo (NIR) y del visible. Las longitudes de onda del Visible son absorbidas por los diferentes pigmentos que componen la manzana como clorofila, carotenos y antocianos (Knee, 1972; Merzlyak, Gitelson, Chivkunova, y Rakitin, 1999; Zude-Sasse, Herold, y Geyer, 2000). Además muchos estudios consideran la banda de absorción de la clorofila, en el visible, y la del agua, en el NIR, como las más relacionadas con el estado de madurez y la firmeza (Peng and Lu, 2007, McGlone et al 1997). Por ello, en este trabajo se utilizó un láser de 980 nm, dentro de una de las

bandas de absorción del agua y otro láser de 670 nm, la cual está dentro del espectro visible y relacionado con la capacidad de absorción de luz por la clorofila. Figura 3.1

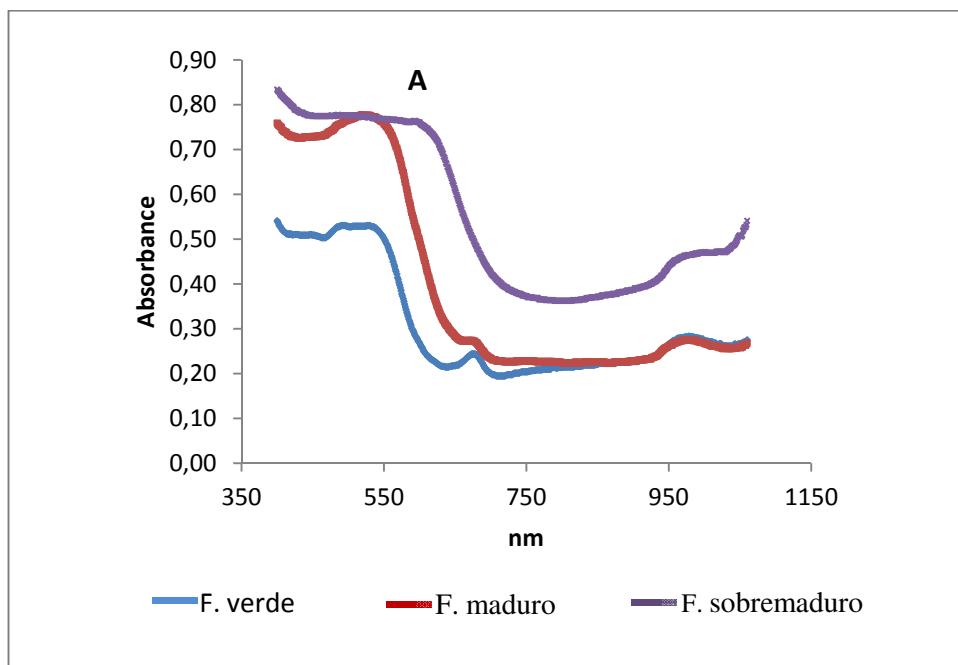


Figura 3.1 Ejemplos de espectros de absorbancia Vis-NIR de cerezas en distintos estados de maduración, siendo el pico más alto el correspondiente a la clorofila.

Básicamente, cuando un haz de luz llega a la fruta, una pequeña fracción se refleja en la superficie y el resto penetra en el tejido. Una fuente de la luz que penetra es absorbida por componentes químicos en la fruta, por ejemplo, pigmentos, azúcar, agua, etc. (Williams y Norris, 2001).

Otra parte de luz que ha penetrado, es retrodifundida por los componentes físicos de la fruta, este fenómeno depende del tamaño de las células, y de las propiedades de inter y extra-celulares de las matrices de tejido. Por lo tanto, la retrodifusión de luz, detectado por un sistema de formación de imágenes, podría ser útil para predecir propiedades mecánicas y texturales de la fruta tales como la firmeza de la carne (Lu, 2004).

El objetivo que se pretende alcanzar en este Trabajo Fin de Grado es buscar un modelo estadístico que correlacione las medidas de firmeza y de contenido en Sólidos Solubles Totales (SST) con el histograma de los distintos niveles de gris obtenido mediante el análisis de las imágenes de retrodifusión de los láseres citados.

Y de esta manera, una vez establecida la correlación entre las imágenes multiespectrales de retrodifusión de luz láser en distintas longitudes de onda y el histograma, este método no destructivo podría utilizarse para la implantación del control de la calidad de cerezas y procesos en las industrias de manipulación y transformación de frutas y hortalizas evitando pérdidas económicas.

4. MATERIALES, METODOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

4.1. Muestras

Se recolectaron 216 muestras de *Prunus avium* 'Chelan' durante la campaña 2011, cultivadas en una explotación comercial propiedad de Orchard, S.L, situada en el término de la Almunia de Doña Godina (Zaragoza, España). Los árboles se plantaron en el año 2000 en un marco de plantación de 5x3m. El riego se aplicó por goteo con un caudal de 25.000L/ha/h. Las muestras fueron recogidas una vez por semana durante un período de un mes y medio de cosecha (36 muestras por día de cosecha).

En todos los frutos se obtuvieron imágenes multiespectrales de la zona de incidencia de los haces láser como método no destructivo a estudio.

A continuación se les determinó firmeza y contenido en sólidos solubles en el mismo punto de medida de la fruta, mediante técnicas destructivas.

4.2. Métodos destructivos

4.2.1. Firmeza

La firmeza se determinó mediante un durómetro digital no destructivo AGROSTA 100Field (Agro Technology, Forges Les Eaux, France) Figura nº. El equipo no penetra los frutos. Su medición se basa en cuantificar la fuerza necesaria para retraer un émbolo una cierta longitud al aplicarlo de forma manual contra la superficie de la fruta dando una idea de firmeza a través de la deformación del mismo. Sus resultados se expresan en unidades Durofel 0-100 (donde 0 se corresponde con el sensor completamente fuera del alojamiento y 100 con el sensor completamente introducido). El cabezal mide 2,54 mm de longitud, está montado en un resorte de precisión y se introduce más en el alojamiento cuanto más duro es el material. Figura 4.1



Figura 4.1 Durómetro digital AGROSTA 100Field

4.2.2. Contenido en Sólidos Solubles

El análisis de sólidos solubles totales se llevó a cabo mediante el uso de un refractómetro digital (Modelo ATAGO PR-101 Co., Tokyo, Japan). La medida se realizó sobre una gota de zumo de cereza para medir los azúcares del fruto, en grados Brix. El análisis se hizo por duplicado. Figura 4.2



Figura 4.2 Refractómetro digital ATAGO PR-101

4.3. Método no destructivo

4.3.1. Adquisición y tratamientos de imágenes

El esquema del equipo de láseres con el que se trabajó para la adquisición de imágenes fue el que se muestra en la Figura 4.3. La muestra era introducida en la cavidad circular de la plataforma que permitía obtener un área de retrodifusión de hasta 25 mm de diámetro. La superficie del dispositivo era negra para evitar el reflejo del láser. Una vez seleccionado el láser con el que queremos trabajar, desde el ordenador al que está unido el equipo se manda la señal para obtener la imagen multiespectral con una cámara monocromática CCD (Charge Coupled Device: Dispositivo de Carga Acoplado), BASLER A310f (Germany) sensible al Vis-NIR (400 - 1000 nm). El ángulo de incidencia del haz láser fue de 15° con la normal y la distancia de la cámara al fruto fue de 14 cm en la normal. El tamaño de las imágenes era de 782 x 582 píxeles. Las imágenes fueron tomadas en una habitación sin luz, a temperatura ambiente de 20°C.

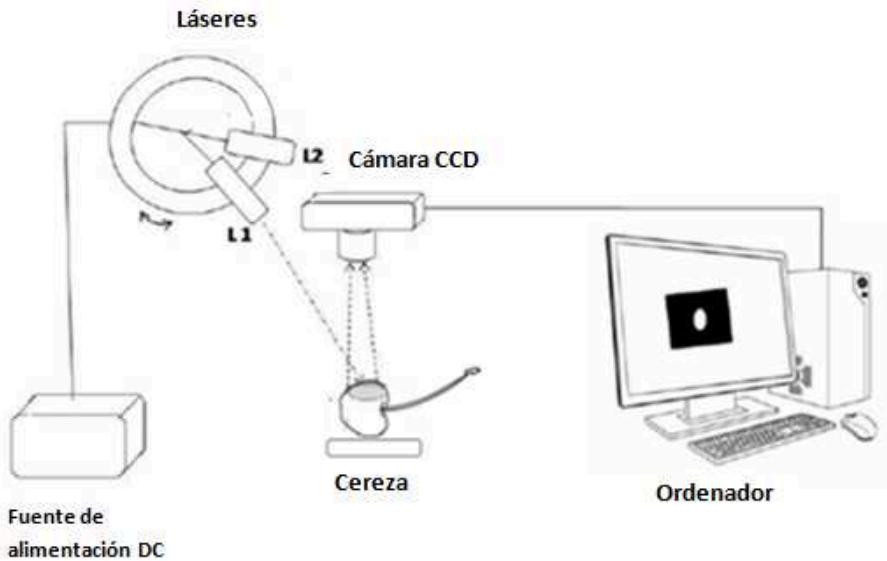


Figura 4.3 Esquema del funcionamiento del equipo utilizado para la captura de imagen de la retrodifusión de la luz. Se utilizaron dos láseres con diferentes longitudes de onda: L1- 670 nm, L2- 980 nm.

Como iluminación, se utilizaron dos láseres de diodo colimados (Power Technology), con longitudes de onda de 670 y 980 nm con 3 mW y 28.3 mW de potencia de salida, respectivamente. La mayor potencia de salida del láser de 980 nm tiene como motivo compensar la pérdida de sensibilidad de la cámara en esta zona del espectro respecto a la otra longitud de onda. Las longitudes de onda fueron seleccionadas en base a otros estudios (Peng et al, 2006; Qing et al, 2007). La retrodifusión de la luz proveniente de la superficie del fruto, fue registrada mediante imágenes monocromáticas.

Cuando un rayo de luz llega a la fruta, una pequeña fracción se refleja en la superficie (reflectancia especular) y el resto va a penetrar en el tejido de la fruta. Al entrar en el tejido de la fruta, los fotones se dispersan en diferentes direcciones antes de ser absorbido o salir de la fruta a distintas distancias desde el punto incidente (esta luz reflejada se llama reflectancia difusa o retrodifusión). Absorción y retrodifusión son dos fenómenos básicos en la interacción de la luz con los materiales biológicos. La absorción de la luz se relaciona con ciertos componentes químicos en la fruta, como el azúcar, el agua, etc (Williams y Norris, 2001). Por otro lado, la retrodifusión es un fenómeno físico que es dependiente de la densidad, las estructuras celulares, y las matrices extra e intra-celulares de tejido de la fruta. Figura 4.4

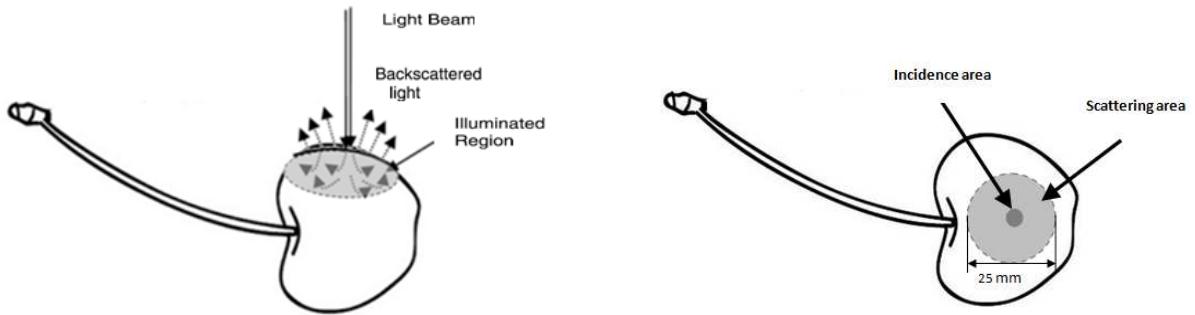


Figura 4.4. Esquema de iluminación y retrodifusión en las imágenes de una cereza para la predicción de parámetros de calidad.

Cada una de las imágenes obtenidas fue analizada con el programa de procesamiento de imagen digital ImageJ para obtener el análisis de los niveles de grises mediante histograma. Con este programa se seleccionaba el área circular blanca que correspondía a la luz retrodifundida, de tal manera que el análisis sólo se lleva a cabo sobre esta área seleccionada (Figura 4.5). La imagen está formada por píxeles con niveles de gris entre 0 bits (negro) y 255 bits (blanco), y el histograma corresponde al número de píxeles por cada intervalo de un bit. En una hoja de cálculo, se realizó el sumatorio para intervalos de 10 unidades de bits, empezando desde el valor 40, ya que por debajo de este valor se considera ruido (Peng et al. 2007) y acabando en 250 porque por encima de este valor se considera zona de saturación por impacto directo del láser. Así las zonas oscuras de una imagen estarán representadas por píxeles con valores cercanos a cero mientras que las más claras con píxeles cercanos a 255. Los nuevos histogramas obtenidos mediante este proceso serán los datos utilizados (muestras) para establecer los modelos de calibración.

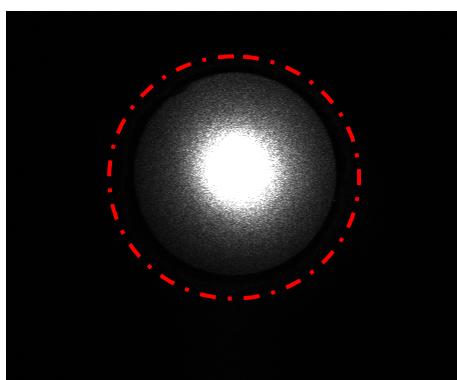


Figura 4.5 Imagen capturada de la retrodifusión de luz láser, seleccionada el área con el programa ImageJ.

4.3.2. Métodos estadísticos

La selección de muestras para la calibración es uno de los pasos más críticos en el desarrollo de un modelo de calibración. Como paso previo a la obtención de los modelos de calibración se ha realizado un Análisis de Componentes Principales (PCA) para detectar muestras anómalas, es decir, muestras que no explicaría el modelo por lo que no se incluirían en la calibración. El Análisis de Componentes Principales se realizó con el software The Unscrambler X.1. (CAMO)

El análisis PLS es un método estadístico que tiene relación con la regresión de componentes principales. Es uno de los más utilizados para analizar diferentes datos, debido a su simplicidad y pequeño volumen de cálculos, además, es capaz de trabajar con un elevado número de variables con alta colinealidad (Ubina, K., 2009). Este método permite correlacionar los parámetros de los histogramas de las imágenes de retrodifusión de luz láser proveniente de la cereza con los parámetros físico-químicos de la misma: firmeza y SST. Para desarrollar los modelos de calibración se utilizó el software The Unscrambler X.

El método PLS se ha utilizado en un número considerable de estudios relacionados con la predicción de índices de calidad en frutas y hortalizas (Nicolai et al. 2006; Maniwarra et al., 2014; Martínez-Valdivieso et al, 2014).

En el presente estudio desarrollamos modelos de calibración para la predicción de la firmeza y el azúcar contenido en cereza intacta.

Como paso previo al análisis PLS, se hizo un pre-tratamiento de los histogramas de frecuencia obtenidos en las longitudes de onda de 670 nm y de 980 nm porque había una gran difusión en los valores de estos histogramas y, de este modo, obtener unos mejores resultados. Para ello se normalizó al valor medio, tanto los histogramas como los valores de la firmeza y SST.

Para evitar el sobreajuste en el desarrollo de los modelos de calibración se utilizó la validación cruzada (dejando fuera 20 muestras cada vez), que es una técnica

utilizada para evaluar los resultados de un análisis estadístico y garantizar que son independientes de la partición entre datos de entrenamiento y prueba.

En este análisis, las estadísticas utilizadas para seleccionar los mejores ecuaciones fueron: coeficiente de determinación para la validación cruzada (R^2_{cv}) y el error estándar de la validación cruzada (SEVC) (Williams, 2001). Otras estadísticas utilizadas, para la validación del modelo, fueron el coeficiente de variación (% CV), definido como la relación porcentual de la SECV al valor medio de los datos de referencia para el conjunto de calibración.

Estas dos últimas estadísticas permitieron normalizar el SECV, lo que facilita la comparación de los resultados obtenidos con conjuntos de diferentes medios (Williams, 2001).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Métodos destructivos: firmeza y SST.

En la figura 5.1 se puede observar la evolución de la firmeza y SST a lo largo de la campaña de recogida de la cereza.

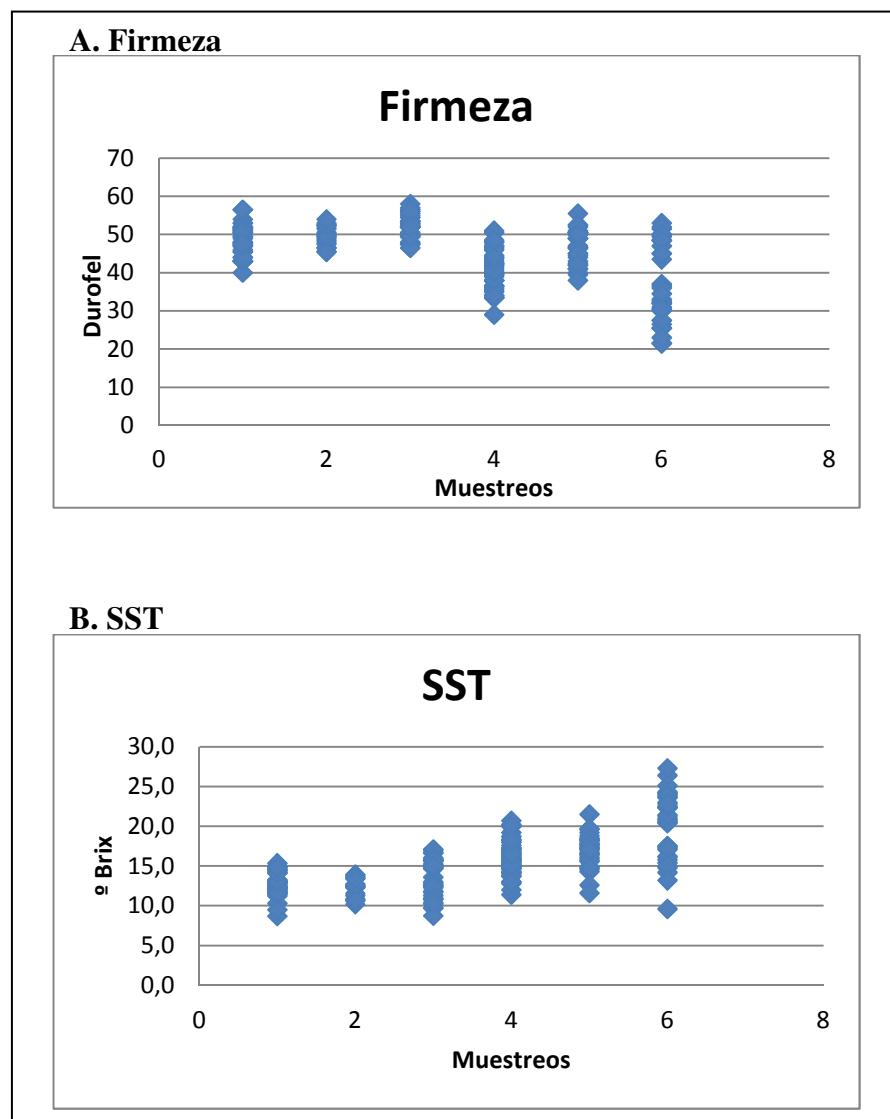


Figura 5.1 Evolución de los valores de la firmeza (A) y del contenido en SST (B) en cada manzana de los diferentes muestreos.

En estas figuras, se representan los valores individuales de los parámetros físico-químicos medidos en las cerezas correspondientes a las diferentes fechas de muestreo.

Se puede observar en la gráfica de firmeza que los valores individuales van disminuyendo ligeramente, aunque hay muestras en la última fecha de cosecha, número

6 con, prácticamente, los mismos valores de firmeza que en la fecha numero 1, esto se debe a que Durofel no funciona muy bien en frutas con hueso (Valero et al., 1996).

En la figura 5.1 se confirma la evolución de los datos de sólidos solubles totales que van aumentando a lo largo de la maduración de la cereza, conforme avanza el estado de maduración del fruto aunque, como puede verse, no lo hacen de forma regular.

La firmeza comienza en unos valores medios de 49 Durofel y termina con una media de 37 Durofel, disminuyendo muy poco su valor. Mientras que los valores de los SST comenzaban en un valor medio de 13 ° Brix y terminando con 20 ° Brix, notándose un aumento en su contenido de SST.

En la Figura 5.2 se presenta la relación, fruto a fruto, de los valores de firmeza frente a SST. Puede observarse que la evolución de ambas es prácticamente independiente una de la otra, y no puede establecerse un modelo de evolución.

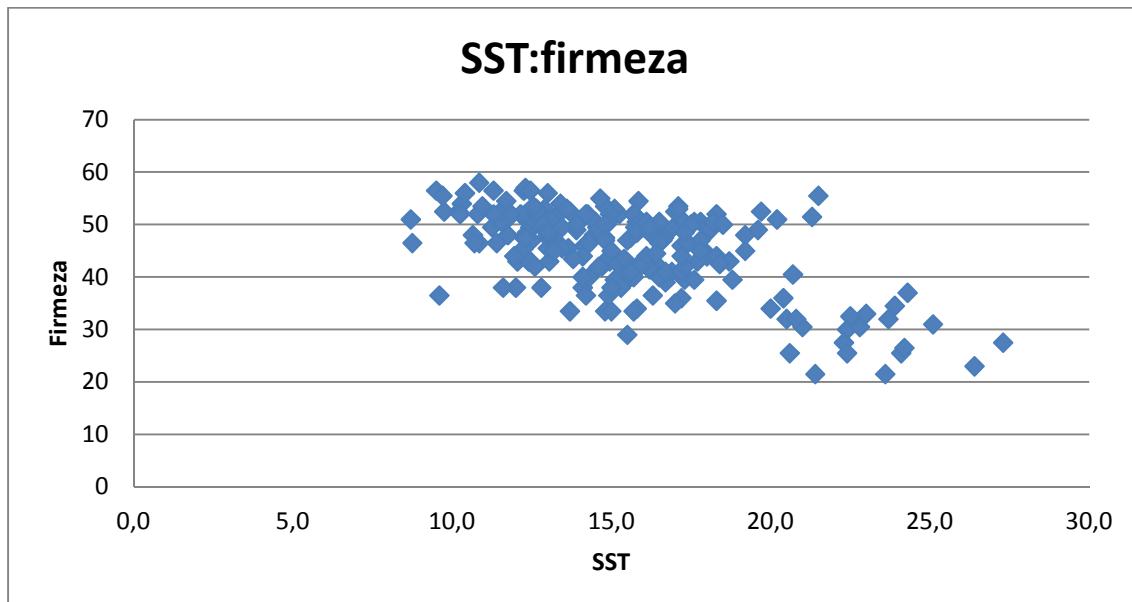


Figura 5.2. Representación de la firmeza frente a los SST en cada cereza de los diferentes muestreos.

En la Tabla 5.1. aparece el número de muestras (N) para obtener el modelo de calibración, los valores de media, rango, desviación estándar (DS), y coeficiente de variación (%CV). Los valores de desviación estándar son bajos, lo que indica que la variabilidad de los métodos es reducida. Los coeficientes de variación elevados, nos indica que los errores de determinación de la firmeza y SST mediante el método de referencia (MT) son elevados en los grupos de calibración.

| | SST | FIRMEZA |
|--------------|----------|---------|
| N | 216 | 216 |
| MEDIA | 15,45 | 45,22 |
| RANGO | 8,7-27,3 | 21,5-58 |
| DS | 3,55 | 7,75 |
| % CV | 23,01 | 17,14 |

Tabla 5.1. Valores estadísticos de calibración para los parámetros de SST y firmeza. Valores que aparecen: media, rango, desviación estándar y coeficiente de variación

5.2. Imágenes de luz retrodifundida

Para mostrar el comportamiento de luz retrodifundida, en la Figura 5.3 presentamos, como ejemplos, fotografías tomadas en diferentes fechas de maduración, fruto verde, maduro y con sobremaduración, en las diferentes longitudes de onda estudiadas. Se puede observar cómo las cerezas dispersan la luz de distinta forma, dependiendo de la fecha de recogida: cuanto mayor es el estado de maduración mayor es el tamaño de la imagen de la difusión de luz. Este fenómeno ocurre con todos los láseres por igual. A la vez se puede apreciar el diferente modo de dispersar la luz de cada uno de los láseres dentro del mismo estado de un fruto.

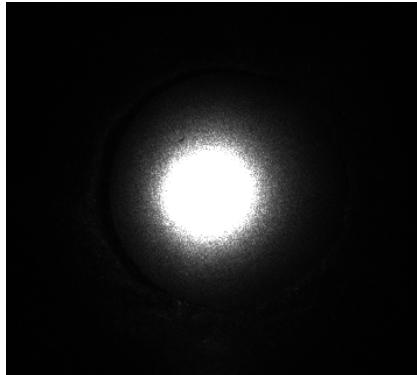
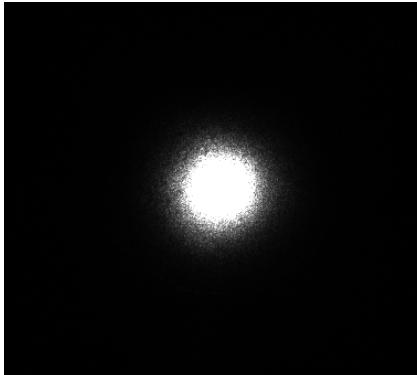
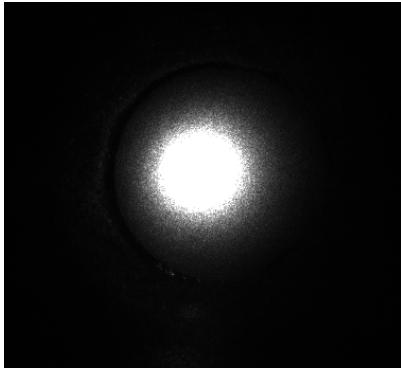
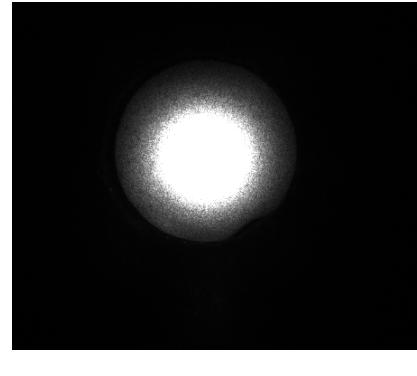
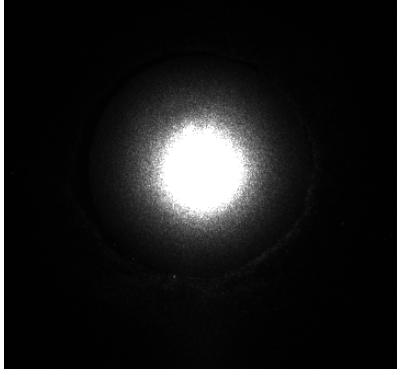
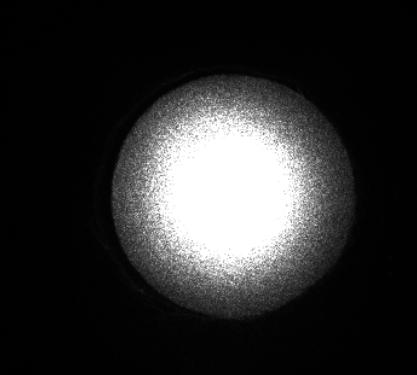
| LÁSERES A DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA | | |
|---|---|--|
| | 980 nm | 670 nm |
| Cereza verde |  |  |
| Cereza madura |  |  |
| Cereza sobremadura |  |  |

Figura 5.3 Imágenes de luz retrodifundida de los 2 láseres utilizados en 3 frutos con diferente grado de madurez.

Se comprueba que el láser que presenta un mayor campo de dispersión de la luz es el que corresponde a una longitud de onda de 670nm, lo que podría explicarse por la menor retrodifusión debido a que la cereza contiene mucha clorofila todavía.

Sobre cada una de las imágenes correspondientes a cada fruta, se realizó una segmentación basada en los diferentes niveles de gris seleccionados, disminuyendo los niveles de gris de 10 en 10 unidades desde 250 hasta 40. Después, utilizando el programa ImageJ, se ha realizado un script para el cálculo automático de los histogramas correspondientes a cada segmentación, lo que nos ha permitido tener una distribución de estos valores para cada imagen en función de los niveles de gris, como puede verse en los ejemplos de la Figura 5.4 y 5.5.

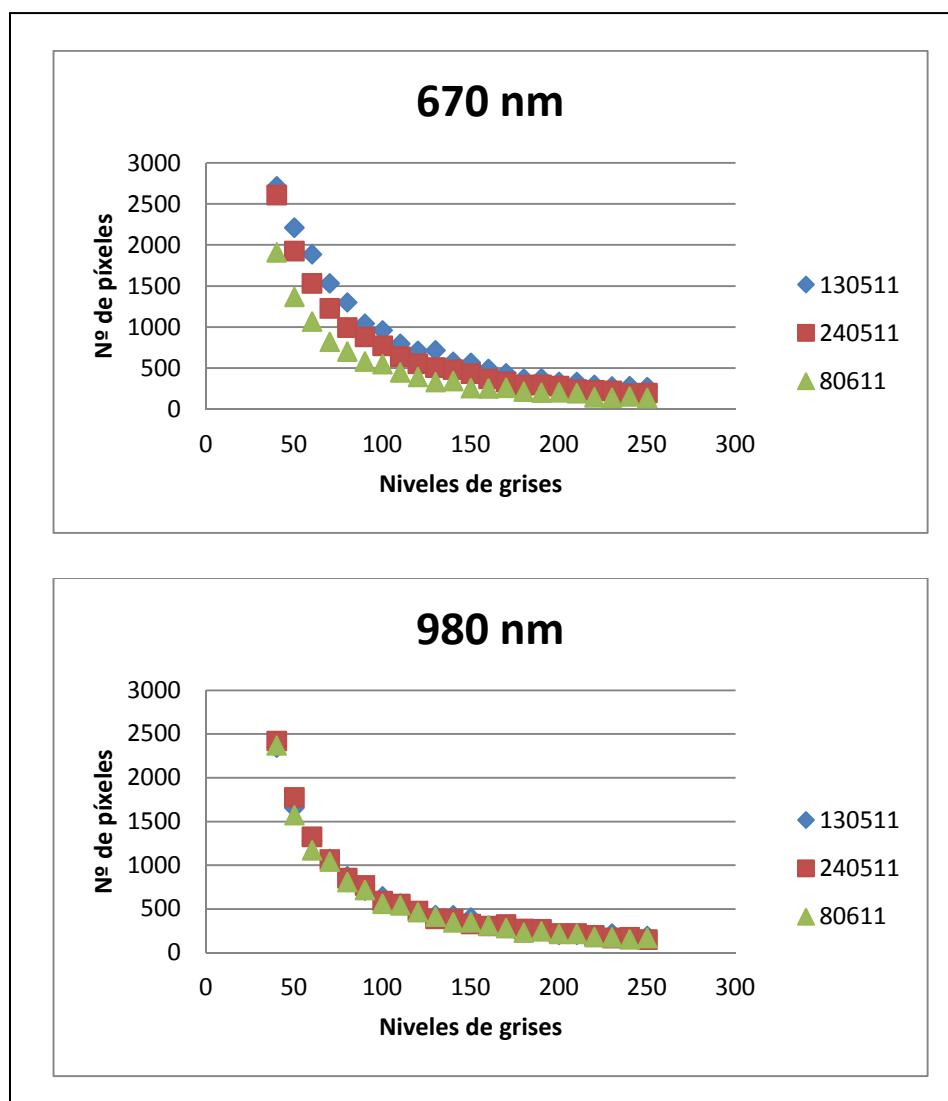


Figura 5.4 Evolución de los histogramas a los diferentes niveles de gris para cada láser, en los tres grados de madurez seleccionados

Con estas gráficas se ha demostrado que con el láser de 670 nm, las cerezas recogidas el 130511 tienen una menor retrodifusión, debido a que la cereza está todavía verde y absorbe clorofila. Despues, las siguientes muestras que más absorben son las recogidas a mitad del periodo de la cosecha. Y por ultimo son las muestras sobremaduras, que tiene el color rojo intenso, por lo que no se produce absorción de clorofila. La retrodifusión también se produce debido a la pérdida de firmeza de la cereza a lo largo del periodo de cosecha.

Con el láser a una longitud de onda de 980 nm están todas las fechas superpuestas debido a que el fruto se debe recolectar en el momento óptimo de consumo, ya que son no climatéricas y no maduran una vez recolectadas.

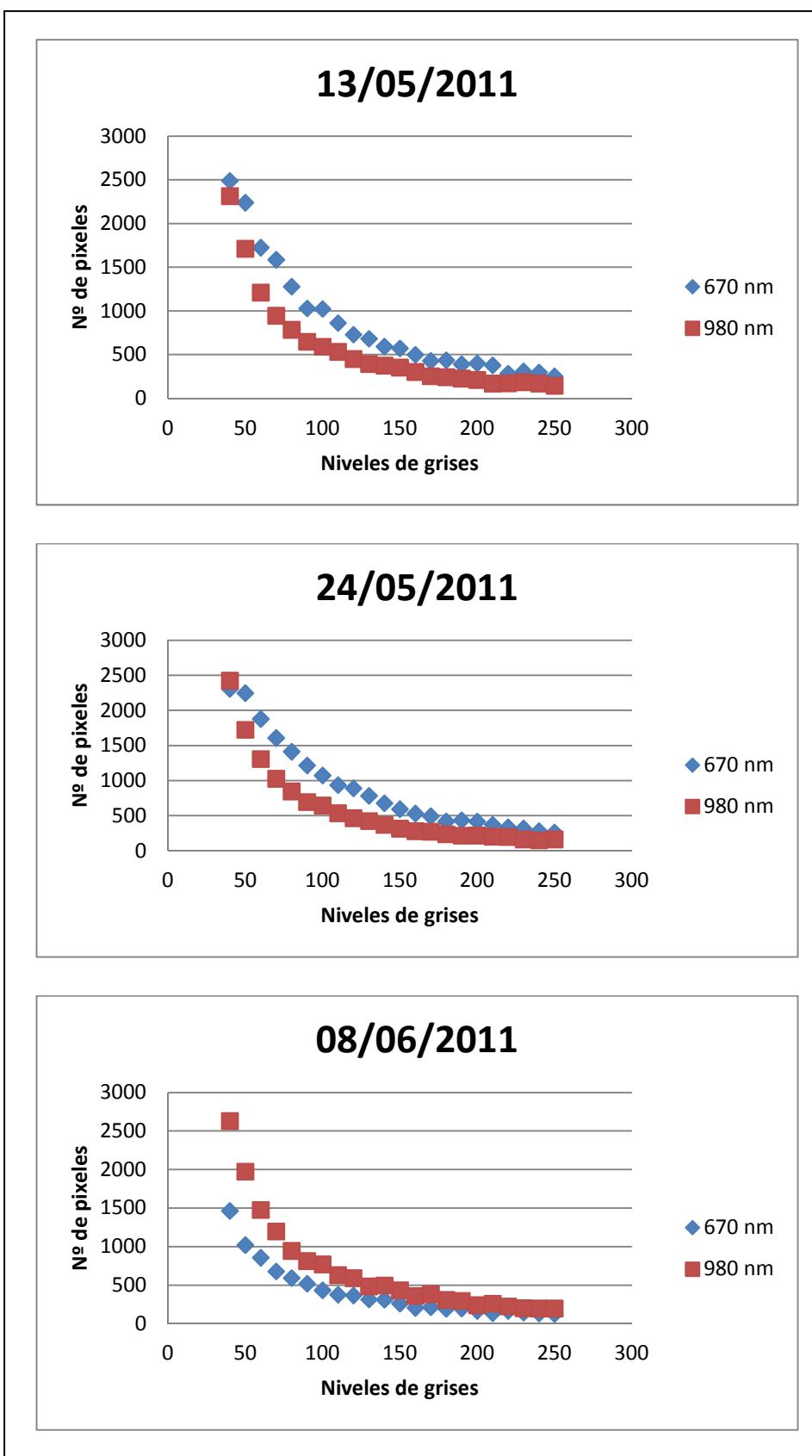


Figura 5.5. Evolución de los histogramas en los diferentes niveles de gris, en cada grado de madurez seleccionado, para los dos láseres.

En la figura 5.5, se puede observar como en las gráficas con fecha de 13/05/11 y 24/05/11, el láser que menos retrodifunde es el de 670 nm, relacionado con el contenido de clorofila en el fruto y con la disminución de la firmeza. Las muestras del 13/05/11 contienen más clorofila que las muestras con fecha 24/05/11. Mientras que gráfica con fecha 08/06/11, el láser que más retrodifunde es el de 980 nm, lo que quiere decir que la cereza ha perdido su clorofila, pasando al pigmento rojo y disminuyendo todavía más su firmeza.

5.3 Análisis estadístico.

Una vez conocidos los valores de cada uno de los métodos de análisis se procedió a analizarlos estadísticamente para poder relacionar firmeza y SST de los método destructivos con los histogramas de las imágenes de retrodifusión para los dos láseres empleados, del método no destructivo. La relación de cada uno de los métodos destructivos con el método no destructivo se hizo por separado, ya que entre firmeza y SST no se encontró la correlación entre ellos.

5.3.1 Eliminación de muestras anómalas. Análisis PCA.

Lo primero fue realizar un análisis PCA para rechazar los valores anómalos de las cerezas. El programa considera anómalos aquellas muestras cuyos valores de “leverage” son superiores a 2,5. Se entiende por leverage la distancia entre el punto que representa la muestra y el centro del nuevo espacio creado por PCA. En este caso no considera anómalas ninguna muestra, como puede verse en la figura 5.6.

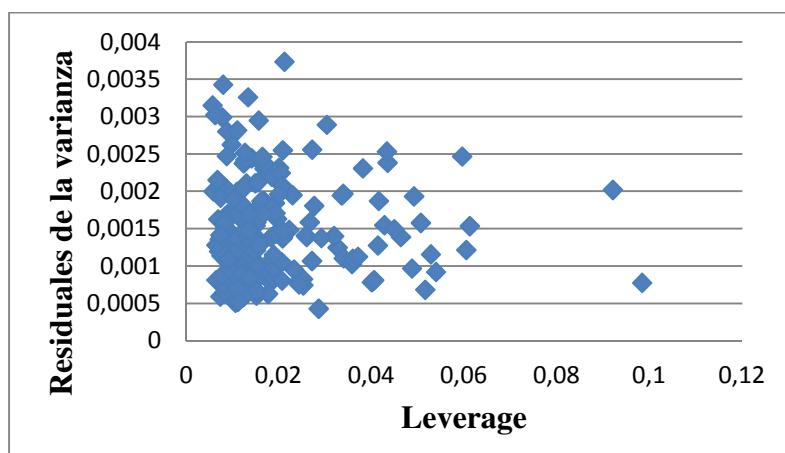


Figura 5.6. Representación de los valores residuales de la varianza frente a los de leverage de las muestras utilizadas para buscar muestras anómalas.

5.3.2 Análisis PLS.

Una vez conocidas el número de muestras anómalas, se aplicó un análisis PLS, utilizando una matriz 22 variables con un total de 216 muestras. Para establecer el modelo de calibración, se utilizaron 216 muestras, elegidas al azar entre todas las cerezas.

En la Tabla 5.2 aparecen los estadísticos de calibración para dichos índices. Para el contenido de sólidos solubles totales del láser de 670 nm, se obtuvo un valor de $R^2_c=0.27$ y para la firmeza de $R^2_c =0.78$, mientras que para el contenido de sólidos solubles totales el láser con una longitud de onda de 980 nm, se obtuvo un valor de $R^2_c =0.72$ y para la firmeza de $R^2_c =0.25$.

Para ambos modelos obtenidos, el número de componentes principales, PLS, fueron 7 para el láser de 670nm y de 1 para SST para el láser de 980 nm.

Para el modelo de la firmeza, el número de componentes principales, PLS, fueron 7 (siendo este un modelo más complicado) mientras que para el de SST el número de componentes principales, PLS fue de 1.

| | 670 nm | | 980 nm | |
|------------------------------|------------|---------|-------------|---------|
| | SST | Firmeza | SST | Firmeza |
| PLS | 1 | 7 | 1 | 1 |
| R^2_c | 0.27 | 0.78 | 0.72 | 0.25 |
| SEC | 3.07 °Brix | 0.02 | 0.006 °Brix | 0.0156 |
| R^2_{cv} | 0.26 | 0.59 | 0.71 | 0.24 |
| SECV | 3.10 °Brix | 0.02 | 0.006 °Brix | 0.015 |

Tabla 5.2. Estadísticos de cada modelo de calibración obtenido para cada uno de los índices de madurez estudiados. PLS: número de componentes principales; R^2_c : coeficiente de determinación de calibración; SEC: error estándar de calibración; R^2_{cv} : coeficiente de determinación de validación cruzada; SECV: error estándar de validación cruzada.

En las Figuras 5.7 y 5.8 se representan los valores obtenidos con los modelos encontrados tanto para SST como para firmeza frente a los valores medidos experimentalmente, comprobando la alta correlación de la firmeza con las imágenes del láser de 670 nm y de los SST con las del láser de 980 nm.

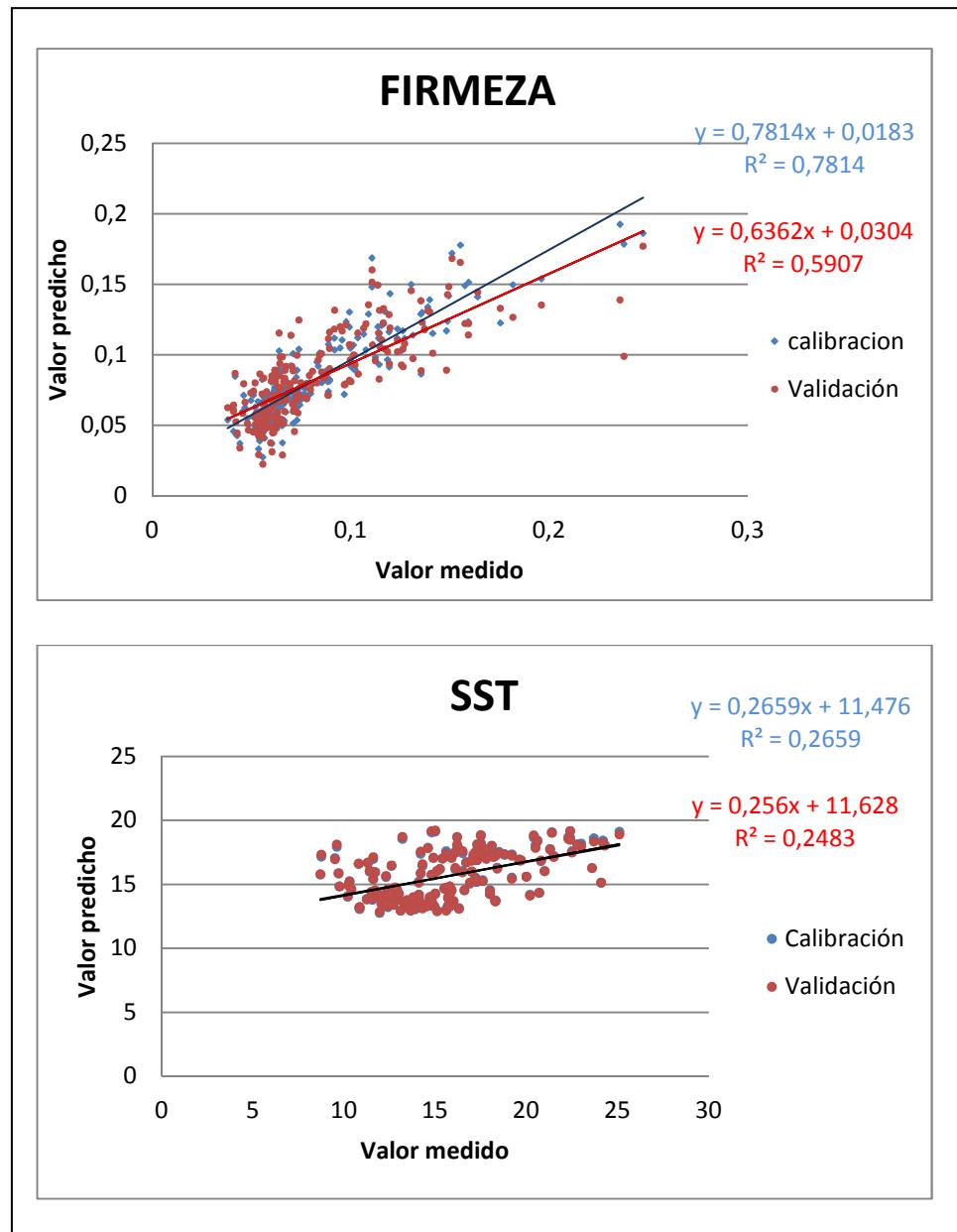


Figura 5.7 Representación de los valores calculados por el modelo, para la firmeza y SST frente a los valores obtenidos experimentalmente. LÁSER DE 670

En la Figura 5.7 se puede observar claramente que el láser de 670 nm tiene una correlación con la firmeza de la cereza (Lu R., 2004).

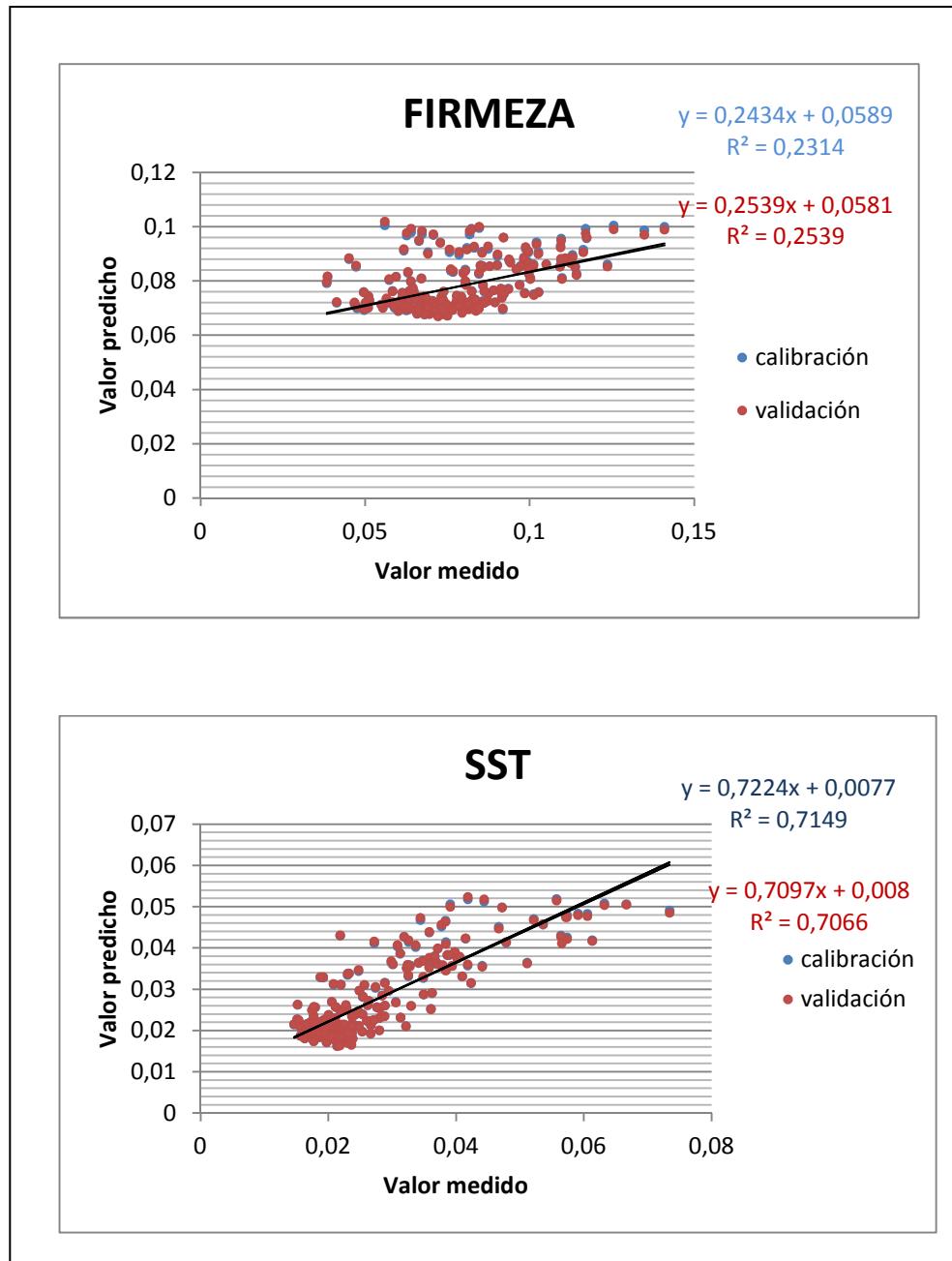


Figura 5.8 Representación de los valores calculados por el modelo, para la firmeza y SST frente a los valores obtenidos experimentalmente. LÁSER DE 980 NM

En la Figura 5.8 puede observarse claramente que el láser de 980 nm tiene una correlación con el contenido de SST de las cerezas, y no con la firmeza (Lu R., 2004).

6. CONCLUSIÓN

Se ha podido establecer una correlación de los métodos destructivos con los no destructivos mediante el análisis de imágenes por multiespectrales de retrodifusión de luz láser en distintas longitudes de onda y el histograma, lo que era el objetivo principal de este trabajo.

Esto nos permite apreciar la posibilidad de aplicar estas técnicas no destructivas para predecir los parámetros de calidad como son la firmeza y SST en cereza “*Chelan*”, pudiéndose implantar en una industria para el control en línea, evitando pérdidas de producción y económicas.

Hemos demostrado que las imágenes obtenidas con el láser de 670 nm están relacionadas con la firmeza de la fruta. Pensamos que esto se debe a la presencia de la clorofila, que tiene una banda de absorción en esta longitud de onda y conforme el fruto va perdiendo este pigmento, es decir pasa de un estado verde a maduro, se produce una menor absorción.

Respecto del láser con una longitud de onda de 980 nm, hemos comprobado que está relacionado con el contenido de SST.

De todos modos, consideramos necesario ampliar este trabajo a diferentes cosechas y comprobar la repetición de los resultados.

Por último, futuros trabajos en este campo pueden conducir a la aplicabilidad de estas técnicas a otras variedades de cereza con vistas a su proceso de comercialización.

CONCLUSIÓN

It has been possible to correlate the destructive nondestructive methods by analyzing backscatter multispectral imaging laser light at different wavelengths and the histogram, which was the main objective of this work.

This allows us to appreciate the possibility of applying these nondestructive techniques to predict the quality parameters as are the firmness and TSS cherry “*Chelan*”, and can be implemented in an industry for online control, avoiding production losses and economic.

We have shown that the images obtained with the laser of 670 nm are related to the firmness of the fruit. We think this is due to the presence of chlorophyll, which has

an absorption band at this wavelength and as the fruit loses this pigment, ie changes from a green state to mature, less absorption occurs.

Regarding the laser with a wavelength of 980 nm, we found that is related to the content of SST.

Anyway, we consider it necessary to extend this work to different crops and check the repetition of results.

Finally, future work in this field can lead to the applicability of these techniques to other varieties of cherry with a view to marketing process.

7. IDENTIFICACIÓN DE LAS APORTACIONES QUE, EN MATERIA DE APRENDIZAJE, HAN SUPUESTO LA REALIZACIÓN DE ESTA ASIGNATURA

En esta asignatura he podido aplicar todos mis conocimientos aprendidos en el Grado de Ciencia y Tecnología de Alimentos, sobre todo de las asignaturas relacionadas con vegetales como son Tecnología de Productos Vegetales, Intensificación en el Sector de Frutas y Hortalizas y por último con la asignatura de Física General y Análisis Físico y Sensorial de los Alimentos.

Desde el punto de vista científico y bibliográfico, me han parecido muy interesantes los trabajos realizados por investigadores sobre métodos ópticos para determinar la madurez de diferentes vegetales, como es el kiwi, manzana o mango.

Me ha aportado, por tanto, independencia, a la hora de buscar bibliografía, de profundizar sobre un tema totalmente desconocido en mi formación y poder conocer el funcionamiento de la retrodifusión de la luz en el fruto.

Toda la bibliografía que he buscado ha tenido que ser de otros productos vegetales, porque de cerezas no hay ningún estudio de retrodifusión de la luz.

A día de hoy es muy importante establecer métodos no destructivos ópticos para cualquier producto de origen vegetal.

He aprendido, por tanto, un método totalmente diferente para comprobar los parámetros de calidad de los vegetales, ya que en clase los utilizados para medir la firmeza y los sólidos solubles totales han sido con refractómetros y penetrómetros como es el Magness-Taylor. He utilizado el programa de ImageJ, que tiene muchísimas funciones para trabajar con las imágenes multiespectrales, las cuales posteriormente, son utilizadas para recoger los datos estadísticos con el programa The Unscrambler X. Me han formado para poder correlacionar los métodos destructivos, como son la firmeza y SST obtenidos experimentalmente con los métodos no destructivos, obtenidos mediante láseres las imágenes multiespectrales.

También me ha aportado a saber trabajar en equipo, y saber gestionarme las tareas para llegar a tiempo a realizar todas las operaciones que tenía que hacer día a día.

Bajo mi punto de vista, esta asignatura es imprescindible para poder obtener el título de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

8. EVALUACIÓN DE LA ASIGNATURA Y SUGERENCIAS DE MEJORA

Esta asignatura es muy importante para nuestra formación, y me parece muy bonita, ya que la elección de los temas de los trabajos es voluntaria.

Pero el inconveniente que le veo a este trabajo, quizá es que es un trabajo que se queda muy grande para ser un Grado. Y esta asignatura tendría que puntuarse con más de 6 créditos, porque son muy pocos para el gran trabajo, esfuerzo y las horas que se necesitan para llevarlo a cabo.

Como sugerencia, yo diría que habría que bajar el nivel de exigencia que se pide por realizar este trabajo.

7. BIBLIOGRAFIA

- Abbott, J. A., Lu, R., Upchurch, B.L., Stroshine R.L. (1997). *Technologies for nondestructive quality evaluation of fruits and vegetables*. Hort. Rev. 20:1-120.
- Abbott, J.A. (1999). *Quality measurement of fruits and vegetables*. Postharv. Biol. and Tech. 15: 207–225.
- Barreiro, P., Ruiz-Altisent, M. (1996). Fruticultura profesional, nº 77, *Clasificación, envase y embalaje: Propiedades mecánicas y calidad de los frutos, definiciones y medidas instrumentales*. ETSIA, Dpto. Ingeniería Rural, Madrid.
- Butz, P., Hofmann, C., Tauscher, B. (2005). *Recent developments in noninvasive techniques for fresh fruit and vegetable internal quality analysis*. J. of Food Sci. 70(9): R131-R141.
- CAMO Software AS TheUnscrambler X.1. Oslo. Norway.
- Candan, A.P. (2006). *Cosecha y poscosecha de cerezas*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Revista F&D Nº 50 de la EEA Alto Valle, Argentina.
- Geladi, P., Kowalski, B., (1986). *Partial least squares regression; a tutorial*. AualChimActa 185, 1-17.
- Chen, P. (1996). *Quality evaluation technology for agricultural products*. In Proc. Intl. Conf. November 12-15: 171-204. Seoul, Korea: Agricultural Machinery Engineering.
- Cliff, M.A., Dever, M.C., Hall. J.W., Girard, B. (1996). *Development and evaluation of multiple regression models for prediction of sweet cherry liking*. Food Research International. 28(6):583-589.
- FAO, *organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación 2013*.
- Ilýasov, S.G., Krasnikov, V.V. (1991). *Physical Principles of Infrared Irradiation of Foodstuffs*. Hemisphere Publishin Corporation, New York, USA.
- Jedlow, L., Schrader, L. (2005). *Fruit cracking and splitting*. Cap. 10 pp 65-66. Producing Premium cherries. Pacific Northwest Fruit School Cherry Shortcourse Proceedings. Good Fruit Grower. Yakima, Washington.

- Kappel, F., Fisher-Fleming, B., Hogue, E., (1996). *Fruit characteristics and sensory attributes of an ideal sweet cherry*. HortScience 31(3):443-446.
- Knee, M. (1972). *Anthocyanin, carotenoid, and chlorophyll changes in the peel of Cox's Orange Pippin apples during ripening on and off the tree*. Journal of Experimental Botany, 23, 184–196.
- Longstroth, M., Perry R. (1996). *Selecting the orchard site, orchard planning and establishment* Chp 7, pp. 203-221. CABI, Cambridge, United Kingdom.
- Lu, R. (2004). Las imágenes multiespectrales para la predicción de la firmeza y contenido de sólidos solubles de la fruta de la manzana. Biología y Tecnología de Postcosecha, 31, pp. 147-157
- MAGRAMA (2013). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. MAGRAMA, Madrid, España.
- Manavella, F., San Martino, L., Pugh, E. (2006). *Relaciones hídricas y técnicas de riego. El cultivo de cerezo en Patagonia Sur. Tecnología de manejo, empaque y comercialización*. Ediciones INTA. Cap.6, pp. 73-83. Buenos Aires, Argentina.
- Maniware, P., Nakano, K., Boonyakiat, D., Ohashi, D., Hiroi, M., Tohyama, T. (2014). *The use of visible and near infrared spectroscopy for evaluating passion fruit postharvest quality*. Journal of Food Engineering: 143. 33-43
- Mateo Box J.M. (2005). *Prontuario de agricultura, cultivos agrícolas*. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación, 712-714, 719.
- Martens, H., Naes, T. (1989). *Multivariate calibration*. John Wiley and Sons Inc., Chichester, UK.
- Martínez-Valdivieso, D., Font, R., Blanco-Díaz, M.T., Moreno-Rojas, J. M., Gómez, P. Alonso-Moraga, A., Del Río Celestino, M. (2014). *Application of near-infrared reflectance spectroscopy for predicting carotenoid content in summer squash fruit*. Computers and Electronics in Agriculture. 108, 71-79.

- McGlone, V.A., Abe, H., Kawano, S. (1997). *Kiwi fruit firmness by near infrared light scattering*. Near Infrared Spectrosc. 5, 83-89.
- Merzlyak, M. N., Gitelson, A. A., Chivkunova, O. B., & Rakitin, V. Y. (1999). *Non destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening*. Physiologia Plantarum, 106(1), 135–141.
- Mitcham, B., Cantwell, M., Kader, A. (1996). *Methods for determining quality of fresh commodities*. University of California, Perish. Handl. Newsl. 85:1-5.
- Mohsenin, N. (1986). *Physical properties of plant and animal materials: structure, physical, characteristics and mechanical properties*. New York: Gordon and Breach Science Publishers. 664 p.
- Nicolai, B.M., Lotze, E., Scheerlinck N., Theron K. (2006). Medición no destructiva de bitter pit en manzanas utilizando imágenes hiperespectrales NIR. Biología y tecnología de postcosecha. ElSevier. Volumen 40, número 1, 1-6.
- Nicolaï, B.M. (2007). *Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review*. Postharvest Biology and Technology. 46, 99-118.
- Peng, Y., Lu, R. (2006). *Improving apple fruit firmness predictions by effective correction of multispectral scattering images*. Postharvest Biology and Technology 41, 266–274.
- Peng, Y., Lu, R. (2007). *Prediction of apple fruit firmness and soluble solids content using characteristics of multispectral scattering images*. Journal of Food Engineering 82, 142–152.
- Peng, Y., Lu R., (2007). *Analysis of spatially resolved hyperspectral scattering images for assessing apple fruit firmness and soluble solids content*. Postharvest Biology and Technology 48, 52–62.
- Qing, Z.S., Zude, M., y Ji, B.P. (2006). *Las longitudes de onda de selección para la predicción de propiedades físico-químicas de la fruta de la manzana mediante NIRS para la automatización*. En Actas del taller CIGR / EurAgEng / VDI / FAO sobre "Procesamiento y Post Cosecha Tecnología y Logística . Bonn, Alemania

- San Martino, L; Pugh, E.O., Luque J.L. (2006). Requerimientos nutricionales y fertilización. Cap. 7, pp. 85-104. En: Cittadini, E.D y L. San Martino (Eds.) El cultivo de cerezo en Patagonia Sur. Tecnología de manejo, empaque y comercialización. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina.
- San Martino, L., Manavella, F., Arribillaga García, D., Salato, G. (2008). *Phenology and fruit quality of nine sweet cherry (Prunus avium L.) cultivars in South Patagonia. Acta Hortic.* 795:841-847.
- Sanz, C, Onofre, F. (2006). *Portainjertos y variedades.* Cap. 3, pp. 31-43. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina.
- Silva, P. S., Menezes, J.B., Oliveira, O.F. (2003). *Distribuição do teor de sólidos solúveis totais no melão.* Hortic. Bras. 21 (1): 31-33.
- Shmulevich, I., Galili, N., Howarth, M.S. (2003). *Non-destructive dynamic testing of apples for firmness evaluation.* Postharvest Biol. Technol. 29, 287–299.
- Somogyi, L.P., Barrett, D. M., Hui, Y. Major processed products, processing fruits: science and technology. Volume 2, 1996, 77-80.
- Tu, K., Busscher, R., Baerdemaeker, J., Schrevens, E. (1995). *Using laser beam as light source to study tomato and apple quality non-destructively.* Food Processing Automation IV Conference, Chicago, IL, 3-5.November. Pp. 528-536.
- Ubina, K. (2009). *Determinación no destructiva de parámetros de calidad de frutas y hortalizas mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano.* Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.
- Ubina, K., (2009). “Determinación no destructiva de parámetros de calidad de frutas y hortalizas mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano”. Tesis doctoral. Departamento de bromatología y tecnología de los alimentos. Universidad de Córdoba.
- Vallejo V., (1990) *La calidad de los frutos.* Revista de fruticultura. 5, 2.

- Vittrup Christensen, J. (1995) *Evaluation of fruit characteristics of 20 sweet cherry cultivars*. *Fruit Varieties Journal* 49(2):113-117.
- Webster, A., Looney, N. (1996) *World distribution of sweet and sour cherry production: national statistics*. Chapter 2, pp. 25-69 *Cherries: Crop Physiology, Production and Uses*. CABI, Cambridge, United Kingdom.
- Williams, P.C., Norris , K.H. (2001). *La tecnología de infrarrojo cercano en las industrias agrícolas y alimentarias* (segunda ed.), AACC, St. Paul, MN.
- Zude-Sasse, M., Herold, B., & Geyer, M. (2000). *Comparative study on maturity prediction in Elstar and Jonagold apples*. *Gartenbauwissenschaft*, 65(6), 260–265.