

Contador de bacterias de fermentación basados en métodos numéricos.

Fermentation bacteria count based on numerical methods.

Hernán Valencia Sánchez (1).
Docente del I.T. Tuxtla Gutiérrez.
hvalencia@ittg.edu.mx.

Roberto Carlos García Gómez (2) Docente del I.T. Tuxtla Gutiérrez. rgarcia@ittg.edu.mx.

Oscar Eduardo Cervantes Reyes (3). Estudiante del I.T. Tuxtla Gutiérrez. crooe07@gmail.com.

Gilberto Martínez Pérez (4). Estudiante del I.T. Tuxtla Gutiérrez. itachimt03@gmail.com.

Israel Nava Velázquez (5). Estudiante del I.T. Tuxtla Gutiérrez. nav_inv94@hotmail.com.

Artículo recibido en octubre 12, 2016; aceptado en noviembre 22, 2016.

Resumen.

El presente trabajo presenta un prototipo para contar bacterias a partir de imágenes de un proceso de fermentación en el cual se introduce una muestra en el equipo el cual le toma una serie de fotografías y los procesa en un software numérico para separar y contar las bacterias de acuerdo a la intensidad luminosa que la bacteria desprende. La fermentación en medio sólido es la tecnología empleada cuya característica esencial es el crecimiento del microorganismo sobre un sustrato insoluble sin una fase libre, variando el nivel de humedad del 30 a 80%. La fermentación en medio sólido ofrece una serie de ventajas económicas sobre los procesos convencionales de fermentación sumergida para la obtención de productos de alto valor agregado, como etanol, enzimas, antibióticos, hongos comestibles, ácidos orgánicos, aminoácidos, pigmentos, metabolitos secundarios, etc., debido a los bajos niveles de humedad y a la disminución del volumen del medio por unidad de peso de sustrato, además de que se obtiene una alta productividad, los volúmenes de fermentación son menores a los sistemas sumergidos y el tratamiento del efluente es reducido.

Palabras claves: Procesamiento digital de imágenes, fermentación, bacterias, métodos numéricos aplicados.

Abstract.

This work presents a prototype to count bacteria from images of a fermentation process in which a sample is introduced in the equipment which takes a series of photographs and processes them in a numerical software to separate and count the bacteria according to the luminous intensity that the bacteria produces. Fermentation in solid medium is the technology used whose essential characteristic is the growth of the microorganism on an insoluble substrate without a free phase, varying the level of humidity of 30 to 80%. Fermentation in solid medium offers a series of economic advantages over the processes of submerged fermentation for the production of high added value products, such as ethanol, enzymes, antibiotics, edible fungi, organic acids, amino acids, pigments, secondary metabolites, etc., due to the low humidity levels and the decrease in volume of the medium per unit weight of substrate, in addition to high productivity, fermentation volumes are lower than submerged systems and effluent treatment is reduced.

Keywords: Processing digital de images, fermentation, Bacteria, applied numerical methods.

1. Introducción.

El procesamiento digital de imágenes (PDI) es el procesamiento, entendiéndose éste como el almacenamiento, transmisión y representación de información, de imágenes digitales por medio de una computadora digital.

El término imagen se refiere a una función bidimensional de intensidad de luz $f(x, y)$, donde x e y denotan las coordenadas espaciales y el valor de f en cualquier punto (x, y) es proporcional al brillo (o nivel de gris) de la imagen en ese punto. Una imagen digital puede considerarse como una matriz cuyos índices del renglón y columna identifican un punto en la imagen y el correspondiente valor del elemento de la matriz que identifica el nivel de intensidad de luz en ese punto.

Los elementos de tal arreglo digital son llamados elementos de imagen, elementos de pintura, píxeles o pels. El interés en el procesamiento digital de imágenes se basa esencialmente en dos aspectos: en mejorar la información contenida en una imagen para la interpretación humana y en el tratamiento de los datos de una escena para la percepción autónoma por una máquina (González R. y Woods R., 2002).

Un paradigma del PDI suele clasificar los tipos de procesamientos computarizados en tres categorías: bajo, medio y alto.

- Los procesos de **nivel bajo** incluyen la reducción de ruido, realce de contraste, y en general, realce de características de la imagen, en este caso todas las entradas/salidas son imágenes.
- Los procesos de **nivel medio** incluyen la segmentación (regiones, objetos), descripción de objetos, clasificación, etc. La entrada es una imagen y la salida son atributos de objetos (bordes, contornos, identidades de objetos individuales).
- Los procesos de **nivel alto** involucra darle sentido al conjunto de objetos encontrados, análisis de la imagen y llevar a cabo funciones cognitivas normalmente asociadas con la visión.

Aplicaciones del procesamiento digital de imagen.

- Aplicaciones enfocadas a mejorar la calidad de la imagen para la interpretación humana y a la medición de ciertas características de los objetos en el plano de una imagen. Por mencionar alguna, el realce de imágenes médicas para facilitar la emisión de un diagnóstico, la inspección de productos industriales o agrarios corresponderían al nivel bajo y/o medio de la visión (pre procesamiento y extracción de características).
- Aplicaciones que impliquen un mayor nivel de complejidad con la recuperación de la información en el mundo real. Como muestra, la obtención de la estructura tridimensional de los objetos y de su entorno en visión en estéreo para el guiado automático de vehículos, robots o aviones.
- Aplicaciones que impliquen un reconocimiento de objetos e interpretación de la escena, el nivel más alto de procesado. Actualmente las imágenes de satélites para la detección y clasificación de diferentes tipos de vegetación o para la realización de predicciones meteorológicas.

Algunas áreas de aplicación.

- Imagen médica (radiografías, mamografías).
- Sensores remotos con imágenes aéreas o de satélites: clasificación de terrenos (zonas de vegetación, desiertos, núcleos urbanos, agua,).
- Inspección industrial, control de calidad (circuitos digitales, pinturas, patrones).
- Procesado de documentos, reconocimiento de caracteres (códigos postales).
- Bases de datos multimedia.
- Compresión y transmisión de video.
- Diseño gráficos por ordenador. Procesos judiciales (identificación de personas a partir del rostro, huellas dactilares, o del iris).
- Robótica: Guiado automático de aviones, vehículos (reconstrucción en tres dimensiones -3D.).

- Vigilancia: Detección de movimiento en pasillos, metro, bancos, reconocimiento de matrículas de vehículos para multas,...
- Militares: Seguimiento de objetos (vehículos, personas, animales, etc).
- Agricultura: Análisis de plantaciones (crecimiento, plagas, inundaciones, etc).
- Control de tráfico.

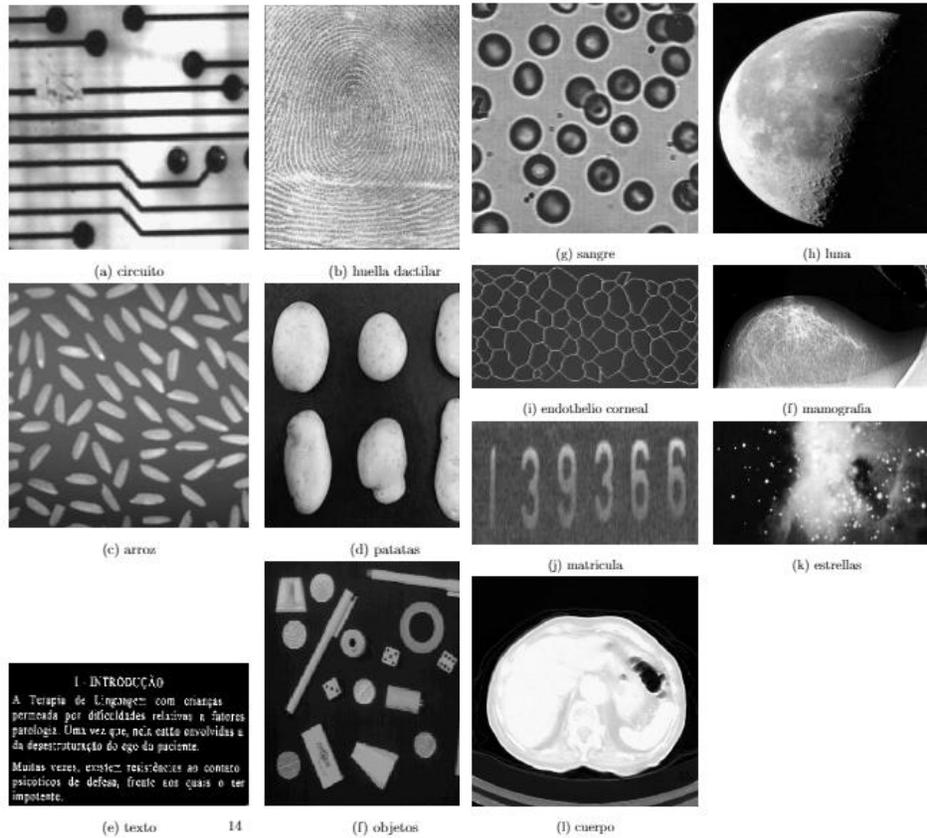


Figura 1. Aplicaciones del procesamiento digital de imágenes.

Pasos para el conteo de bacterias de fermentación basados en métodos numéricos a partir del procesamiento digital de imagen.

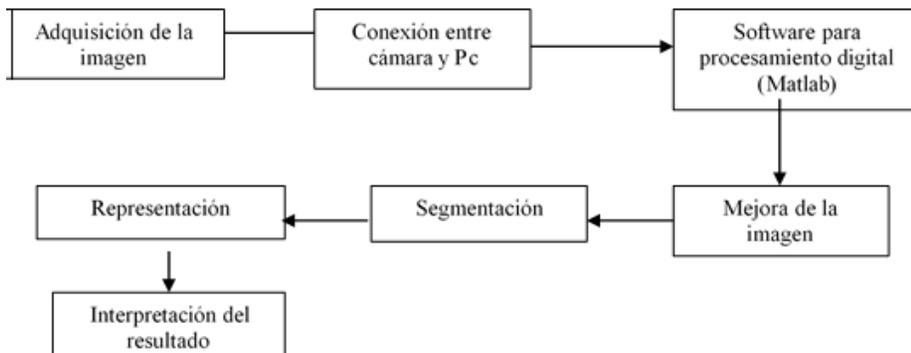


Figura 2. Diagrama del Procesamiento Digital de Imagen.

Antes de la adquisición de la imagen se deben considerar ciertos parámetros, que son importantes para obtener una imagen clara; de ello depende el éxito del procesamiento digital de imagen. Los parámetros utilizados en esta metodología son: La calibración de la cámara y la iluminación del interior del prototipo (González, R.C., Wintz, P., 1996).

Calibrar una cámara se refiere a obtener los parámetros intrínsecos y extrínsecos de una cámara de video a partir de las fotos tomadas por dicha cámara. Se llaman parámetros intrínsecos a los referentes a la propia cámara como distancia focal, formato, punto principal y distorsión de los lentes. Por otro lado los parámetros extrínsecos, denotan la matriz de transformación del sistema de coordenadas del mundo (metros, centímetros, etc.) al de la cámara (pixel). Esta se representa por una matriz de transformación que mapea los puntos 3D del mundo a los 2D de la cámara.

Matlab Calibration Toolbox.

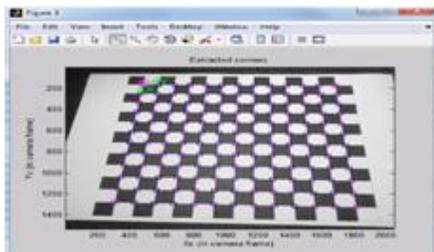


Figura 3.- Toma de imagen

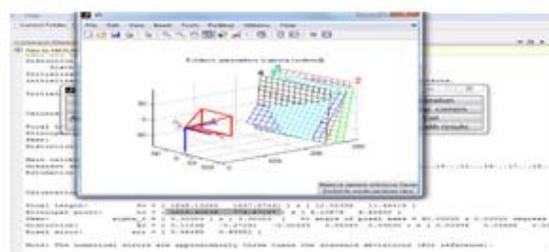


Figura 4.- Imagen 3 Dimensiones

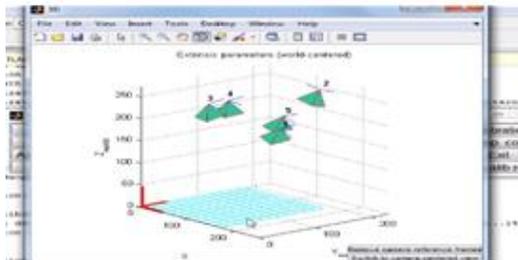


Figura 5.- Imagen Transformada en 2 D

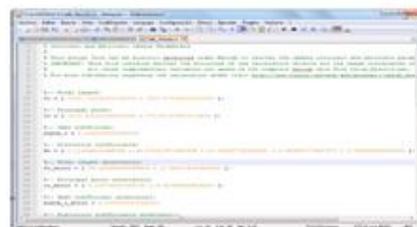


Figura 6.- Parametros Intrinsecos y Extrinsecos

De esta forma y una vez obtenidos los parámetros intrínsecos y extrínsecos (la cámara esté calibrada) pudiéramos representar cualquier punto del mundo real sobre el plano 2D de una cámara, lo que resulta muy útil para aplicaciones de visión como "realidad aumentada"

En cuanto a la iluminación de la muestra, utilizamos el método de los lúmenes (Cho H, 2003).

2. Métodos.

Método de los Lúmenes.

Es una forma muy práctica y sencilla de calcular el nivel medio de la iluminancia en una instalación de alumbrado general. Proporciona una iluminancia media con un error de $\pm 5\%$ y nos da una idea muy aproximada de las necesidades de iluminación.

Cálculo del flujo luminoso total necesario de la zona necesaria (Bin LI. ,2010).

$$\Phi_T = \frac{E_M S}{C_u C_m} \text{ --- Ecuación 1}$$

Donde

- E_M = Nivel de iluminación medio (en Lux)
- Φ_T = Flujo luminoso
- S = Superficie a iluminar m^2
- C_u = Coeficiente de utilización
- C_m = Coeficiente de mantenimiento

Cálculo del número de luminarias.

$$NL = \frac{\Phi_T}{n\Phi_L} \text{ --- Ecuación 2}$$

Donde

- NL = Número de luminarias
- Φ_T = Flujo luminoso total necesario en la zona o local
- Φ_L = Flujo luminoso de una lámpara (se toma del catálogo)
- n = Número de lámparas que tiene la luminaria

3. Desarrollo.

1. Adquisición de la imagen.

1.- Se establece una interface entre la pc y la cámara a utilizar la cual tiene las siguientes características: Mediante un sensor de imagen CMOS (complementary metal-oxide semiconductor, en español “Semiconductor Complementario de Óxido Metálico”), el cual nos brinda las siguientes ventajas: a) Mejor desempeño en una estructura más simple, sin necesidad de más equipo. b) Menos sensible a la luz, un consumo bajo de energía.

Haciendo uso del siguiente comando de MATLAB, se obtienen las imágenes: Video=video input (‘adaptor’, DeviceID,’Format’).

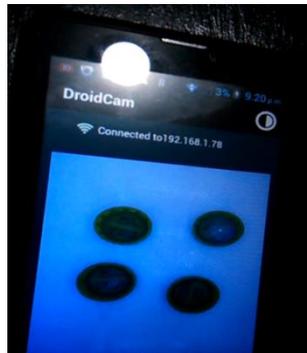


Figura 7. Adquisición de imagen.

2. Mejora de la imagen. En esta etapa se procesa la imagen para lograr un resultado más adecuado que el original para una aplicación específica (obtener detalles que no se veían, o simplemente destacar características de simple interés).

Para convertir RGB a escala de grises se utiliza el comando de MATLAB:
Imagen_gray=rgb2gray(Imagen_RGB);

Posteriormente se utiliza una binarización con el siguiente comando:
Imagen_bin=im2bw(Imagen,level) (González R. y Woods R., 2002).

3. Segmentación. Se divide una imagen en sus partes constituyentes. Los objetos se extraen o aíslan del resto de la imagen para su posterior análisis. Es una de las tareas más difíciles del procesamiento digital de imágenes.

Se define la figura geométrica con la que será identificado cada uno de los objetos a contabilizar con la siguiente sentencia: **rectangle('Position',propiedades.BoundingBox,'Edgecolor','g','Linewidth',2**

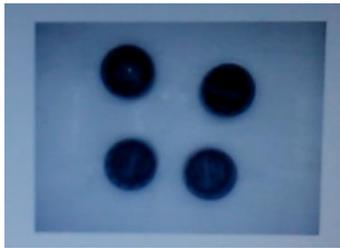


Figura 8. Segmentación de la imagen.

4. Representación y descripción. Casi siempre recibe una imagen segmentada que consta solamente de fronteras de regiones. Se toman decisiones tales como si la forma obtenida debe ser tratada como una frontera o una región, y se extraen atributos que resultan en información cuantitativa de interés o que son básicos para diferenciar clases de objetos.

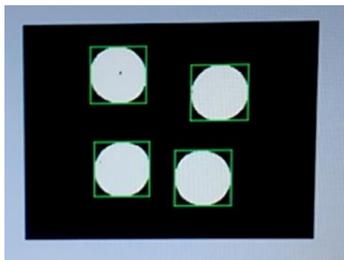


Figura 9. Binarización de la imagen.

5. Interpretación del resultado.

El prototipo es capaz de enviarte una pantalla por cada elemento que detecta, logrando así visualizar las características determinadas de cada objeto.

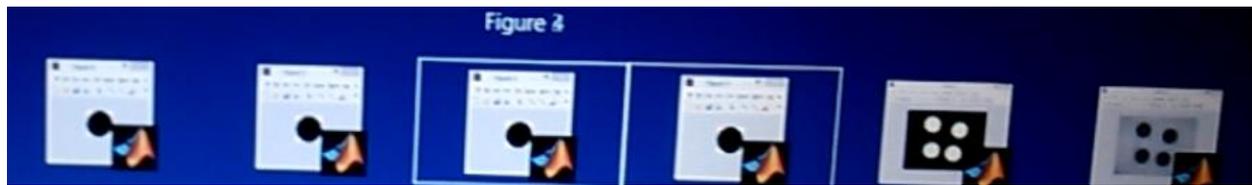
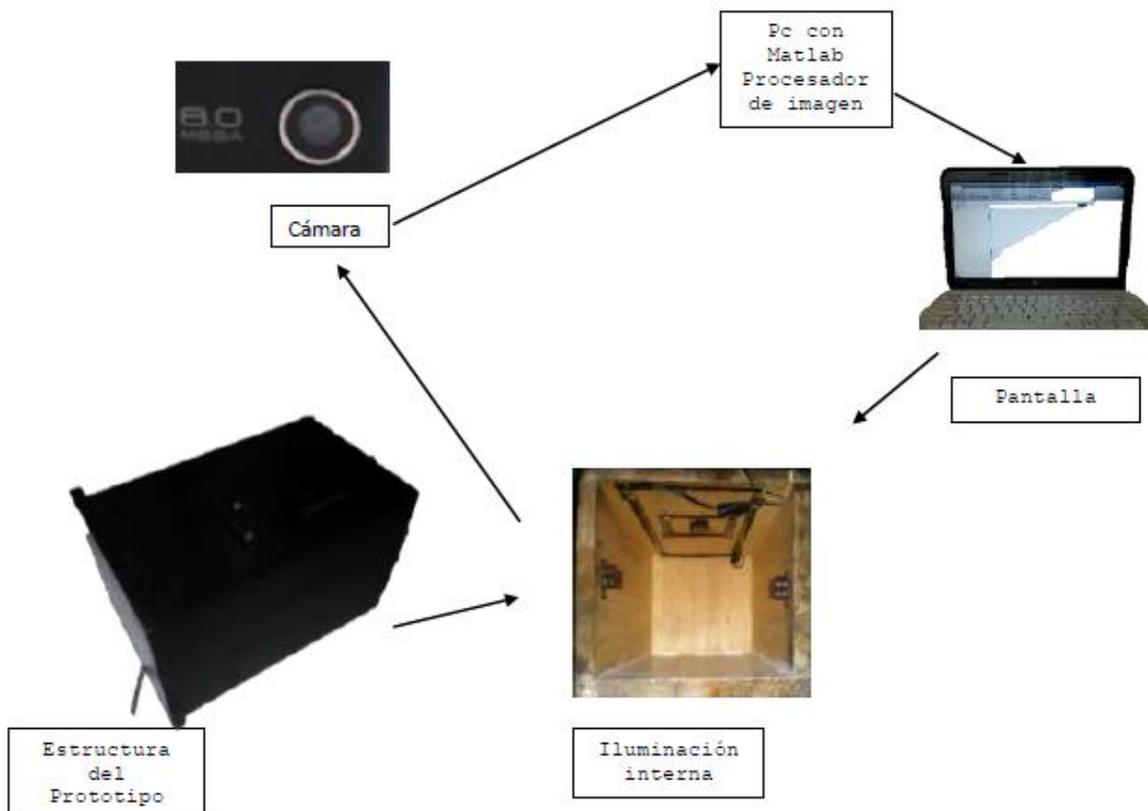


Figura 10. Interpretación de Resultados.

Componentes del sistema contador de bacterias de fermentación basados en métodos numéricos.



- 1.- Una cámara. (image sensors).
- 2.- Fuente de iluminación.
- 3.- Un monitor. (image displays).
- 4.- Un ordenador donde procesar y guardar las imágenes. (computer-mass storage).
- 5.- Software con librerías para el tratamiento digital de imágenes (MATLAB, image processing software).

Conclusiones.

El procesamiento digital de imágenes es un campo de investigación abierto. El constante progreso en esta área no ha sido por sí mismo, sino en conjunto con otras áreas con las cuales está relacionada como las matemáticas. El avance del Procesamiento Digital de Imágenes se ve reflejado en la medicina, la astronomía, geología, microscopía, información meteorológica, transmisión y despliegue agilizado de imágenes por Internet tienen sustento gracias a

estos avances.

Con las pruebas realizadas en campo, se comprobó el buen funcionamiento. Además de comprobar la eficiencia y el alcance del dispositivo tanto en un área abierta como en un área cerrada.

Por el tipo de tecnología utilizada en el equipo, se creó un diseño compacto del dispositivo lo cual permite que sea un aparato portátil fácil de llevar por sus dimensiones y peso además de ser un dispositivo económico y de fácil utilización.

Referencias Bibliográficas.

- Bin LI.** (2010). Research on Digital Image Correlation Method Applied in Shear Test of New Style Automotive Structural Adhesive, International Conference on Electrical and Control Engineering, pp.1688-1671.
- Castillo, L. R., Alves, T. L. M., Medronho, R. A.** (2000). Production and extraction of pectinases obtained by solid state fermentation of agro-industrial residues with *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* 71, 45-50.
- Cho H.** (2003). *Opto-Mechatronic Systems Handbook*. Ed. London, Usa, 5ta edición.
- González R. y Woods R.** (2002). *Digital Image Processing*, Segunda Edición, Prentice Hall, E.U.A.
- González, R.C., Wintz, P.** (1996), *Procesamiento digital de imágenes*. Addison-Wesley,
- Holker, U., Hofer, M., Lenz, J.** (2004) *Biotechnology advantages of laboratory-scale solid state fermentation*. Part I. *Process Biochemistry*, 12, 24-27.
- Laukevics, J. J., Aspite, A. F., Viesturs, H. E.,Tengerdy, R. P.** (1984). *Biotechnology and Bioengineering* 26, 2465-2474.
- Pandey, A., Nigam, P., Vogel, M.** (1988). Simultaneous saccharification and protein enrichment fermentation of sugar beet pulp. *Biotechnology letters* 10, 67-72.
- Pandey, A.** (1994). *Solid-state fermentation*. In A. Pandey (Ed.) Wiley Eastern Publisher. New Delhi, pp. 3-10.
- Pandey, A., Azmi, W., Singh, J., Banerjee, U. C.** (1999). *Biotechnology: food fermentation*. In V. K. Joshi, A.
- Pandey Eds.** (1988). *Educational Publishers and Distributors*. New Delhi, 1, pp. 383-426.
- Vandenbergh, L. P. S., Soccol, C. R., Pandey, A., Lebeault, J. M.** (2000). *Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* 74:175-178.
- Viniegra González, G.** (1997). *Advances in solid state fermentation*. In S. Roussos, K. Lonsane

Referencias páginas de internet.

Curso de Procesamiento Digital de Imágenes, Elena Martínez.

Recuperado de: http://turing.iimas.unam.mx/~elena/PDI-Mast/Tema_1_ABC.pdf

Información de los autores.



Hernán Valencia Sánchez, Licenciatura en Ingeniería Mecánica y con un Posgrado en Maestría en Ciencias en Ingeniería Mecatrónica Egresado del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Jefe de Proyectos de Investigación del Departamento de Metal-Mecánica, Docente del Departamento de Metal-Mecánica del Instituto tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.



Roberto Carlos García Gómez, Licenciatura en Ingeniería Mecánica, con tres posgrados: Especialidad en Mecatrónica, Maestría en Ciencias en Ingeniería Mecánica, Doctorado en Procesos de Manufactura. Egresado del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Jefe de Proyectos de Vinculación del Departamento de Metal-Mecánica, Docente del Departamento de Metal-Mecánica del Instituto tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.



Oscar Eduardo Cervantes Reyes. Alumno De 7° Semestre De Ing. Mecánica del Instituto Tecnológico De Tuxtla Gutiérrez, Técnico en mantenimiento correctivo y preventivo de sistemas computacionales. 1 año de trabajo en taller de mecánica automotriz.



Gilberto Martínez Pérez, Alumno De 7° Semestre De Ing. Mecánica del Instituto Tecnológico De Tuxtla Gutiérrez, su colaboración se basó en el estudio bibliográfico y aplicación del software utilizado.



Israel Nava Velazquez, Alumno De 7° Semestre De Ing. Mecánica del Instituto Tecnológico De Tuxtla Gutiérrez. El área de conocimiento y apoyo brindado al proyecto fue en el estudio y simulación de la iluminación en el interior de la estructura del prototipo.