

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



USO DE IMAGEJ COMO HERRAMIENTA PARA LAS CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS DE LOS ALIMENTOS

**AFE a Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al
grado de Magíster en Ciencias de los Alimentos Y Memoria para
optar al Título de Ingeniero en Alimentos por:**

Tamara Rojas Medina

**Director/a de Tesis: Luis Puente D.
Roberto Lemus M.**

Santiago-CHILE

Octubre 2024

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE AFE A TESIS DE MAGÍSTER.

Se informa a la Dirección de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la AFE a Tesis de Magíster y Memoria de Título presentada por el candidato

Tamara Rojas Medina

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de AFE a Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias de los Alimentos, en el examen público rendido el día 14 de octubre.

Director de Tesis:

Luis Puente

Roberto Lemus

Comisión Evaluadora de Tesis:

Alicia Rodríguez

Antonio Vega

Kong Ah-Hen

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
ABSTRACT	3
2. INTRODUCCIÓN.....	5
3. MARCO TEÓRICO	6
3.1. ANÁLISIS DE IMÁGENES DIGITALES.....	6
3.2. IMAGEJ	18
4. APORTE AL CONOCIMIENTO	25
5. OBJETIVOS.....	26
5.1. OBJETIVO GENERAL	26
5.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS	26
6. METODOLOGÍA	27
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
7.1. CAPTURA DE IMÁGENES	29
7.2. ANÁLISIS DE IMÁGEN.....	30
7.3. VALIDACIÓN DEL INSTRUCTIVO “USO DE IMAGEJ”	42
7.4. ANÁLISIS DE CASOS	43
7.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	50
8. DESARROLLO Y DISCUSIÓN.....	51
8.1. ESTADO DEL CONOCIMIENTO CIENTÍFICO.....	51
8.2. ANÁLISIS DE IMÁGENES	57
8.3. VALIDACIÓN DEL INSTRUCTIVO “USO DE IMAGEJ”	74
8.4. ANÁLISIS DE CASOS	80
9. CONCLUSIÓN.....	87
10. REFERENCIAS	89
11. ANEXO.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Ilustración de una rosa con zoom a sus pixeles.....	7
Figura 2.	Ejemplo de fotografías de alimentos.....	8
Figura 3.	Escáner plano.....	9
Figura 4.	Imagen de una emulsión de una mayonesa.....	11
Figura 5.	Superficie de la Levadura <i>Cyberlindnera jadinii</i>	12
Figura 6.	Diagrama cromático para el sistema RGB.....	13
Figura 7.	Espacio de color de CIE 1931.....	14
Figura 8.	Espacio de color de CIELAB.....	14
Figura 9.	Representación del Ruido Gaussiano.....	16
Figura 10.	Representación del Ruido Impulsivo.....	16
Figura 11.	Aplicación de filtros para corregir errores de ruido.....	18
Figura 12.	Diagrama de la evolución de NIH al ImageJ actual. Mejoras y herramientas de Fiji.....	19
Figura 13.	Ejemplo de recuento de semillas.....	21
Figura 14.	Imagen de escáner de los peces a analizar.....	22
Figura 15.	Ejemplos de selección y promediado de muestra de zanahoria.....	24
Figura 16.	Ejemplo de medición del fenotipo de una planta.....	24
Figura 17.	Diagrama de metodología.....	27
Figura 18.	Esquema de la cámara oscura.....	29
Figura 19.	Escáner de 2 gramos de semillas tostadas de sésamo, con zoom a sus semillas	31
Figura 20.	Set Scale para análisis con escáner.....	32
Figura 21.	Uso de ImageJ para identificar el número de semillas.....	33
Figura 22.	Conteo manual de unidades por medio ImageJ.....	34

Figura 23.	Procesamiento de imágenes para la identificación de tamaño.....	35
Figura 24.	Procesamiento de imágenes para determinar el color en ImageJ.	37
Figura 25.	Procesamiento de imágenes para determinar el color en Photoshop..	38
Figura 26.	Uso de ImageJ para recuento de diámetro de partículas para emulsiones.	40
Figura 27.	Conteo manual ImageJ de células en Petrifilm.....	41
Figura 28.	Conteo automatizado por ImageJ de células en Petrifilm.	42
Figura 29.	Imágenes seleccionadas para análisis.	43
Figura 30.	Uso de Análisis de Partículas Extendido para análisis de casos.	46
Figura 31.	Uso de Textural features base in GLCM (GLCM Texture).	48
Figura 32.	Uso Algoritmo Modificado de Conteo Diferencial de Cajas (SDBC) para calcular DF_{sup}	49
Figura 33.	Uso Conteo Diferencial de Cajas (SDBC) para calcular DF_{cont}	50
Figura 34.	Gráfica de total de publicaciones y su frecuencia acumulada por año.	51
Figura 35.	Representación de publicaciones científicas por país.	53
Figura 36.	Diagrama de categorías de WOS según la cantidad de publicaciones.	54
Figura 37.	Gráfica de Cantidad de Publicaciones y Citas realizadas desde el 2004	55
Figura 38.	Fotografía de 6 gramos de semillas de zapallo.....	58
Figura 39.	Aplicación de Análisis de partículas en microestructuras de las semillas	59
Figura 40.	Escáner de 4 gramos de maravilla.....	59
Figura 41.	Fotografía de 6 gramos de semillas de maravilla.....	60
Figura 42.	Semillas de sésamo contabilizadas	61
Figura 43.	Fotografía de 2 gramos de semillas de sésamo.	61

Figura 44.	Comparación de los valores tamaños obtenidos por muestra.	64
Figura 45.	Comparación de valores promedio de L* para el análisis de color por Photoshop e ImageJ	66
Figura 46.	Comparación de valores promedio a* para el análisis de color por Photoshop e ImageJ	67
Figura 47.	Comparación de valores promedio de b* para el análisis de color por Photoshop e ImageJ	68
Figura 48.	Rueda de color con resultados promedio de análisis de color para frutilla.	69
Figura 49.	Cambios en el tamaño de gota de la emulsión por dilución.....	70
Figura 50.	Gráfica de comparación de recuento de unidades formadoras de colonias <i>Candida Albicans</i>	72
Figura 51.	Gráficas de regresión lineal de recuento manual en relación con el recuento automático.....	73
Figura 52.	Rueda de color con resultados promedio de análisis de color para frutilla.	75
Figura 53.	Comparación entre el total de semillas y el recuento automático de semillas.	76
Figura 54.	Comparación del recuento de UFC entre el recuento realizado y los resultados obtenidos en el recuento uno a uno de la encuesta.....	77
Figura 55.	Mejoras realizadas al instructivo.....	79
Figura 56.	Descripción de la morfología de piñón obtenido usando el Analizador de Partículas Extendido y Color promedio.	81
Figura 57.	Topografía superficial 3D de piñón y su correspondiente valor de DF_{sup}	82
Figura 58.	Descripción de la morfología de arándano obtenido usando el Analizador de Partículas Extendido y Color promedio.	84

Figura 59. Topografía superficial 3D de los arándanos y su correspondiente valor de DF_{sup} 85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Publicaciones más relevantes según las citas totales realizadas	56
Tabla 2. Comparación de recuento de semillas	62
Tabla 3 Comparación de tamaño (cm) por análisis de imagen	63
Tabla 4. Comparación del color por análisis de imágenes.....	65
Tabla 5. Comparación del análisis de color (CIELAB) obtenidos en la encuesta.....	74
Tabla 6. Valores de los parámetros de textura y contorno de piñón.	82
Tabla 7. Valores de los parámetros de textura y contorno de las muestras de arándano.	86

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada, quisiera agradecer a mi familia, en especial a mi abuela Margarita González y a mi madre Gloria Medina. por brindarme su apoyo, paciencia, amor y comprensión. Sinceramente estoy segura de que no habría llegado a esta instancia si no fuera por la maravillosa familia que me ha tocado en esta vida

Debo agradecer de manera especial y sincera a los profesores Roberto Lemus y Luis Puente quienes no sólo fueron mis directores de tesis y grandes docentes, sino que sus enseñanzas han sido un aporte invaluable para mi desarrollo profesional y como persona. Siempre les estaré agradecida.

Por último, pero no menos importante, quisiera agradecer a Marcelo Beltrán mi compañero a lo largo de mis largos años universitarios, por creer en mi capacidad y motivarme a crecer cada día y aunque se vivieron momentos difíciles siempre ha estado brindándome su cariño y amor.

1. RESUMEN

ImageJ es un poderoso programa de análisis de imágenes de libre acceso, ampliamente utilizado en el ámbito científico, especialmente en el mundo biológico y de los materiales. En este contexto, se evaluará la aplicabilidad y utilidad del programa en las ciencias de los alimentos. Además, se desarrolló un instructivo de uso de ImageJ, que permita a los estudiantes de la carrera de ingeniería en alimentos poseer una guía de acceso básica y práctica para su utilización.

Para la elaboración del manual, se evaluaron las funciones más destacadas que presenta el programa. Por medio de la captura de imágenes controladas y no controladas, se evaluó el comportamiento del programa para la medición de color en muestras de frutillas, largo en muestras de tomates Cherries y el recuento de unidades (manual y predictivas) del programa en diversos tamaños de semillas. Para validar la reproducibilidad del programa, se utilizaron las imágenes de dos publicaciones científicas que utilizan ImageJ para el recuento y/o predicción de unidades (UFC y tamaño de emulsión) y se realizaron los mismos recuentos para comparar los resultados.

Una vez elaborado el manual, se realizó su validación cualitativa y cuantitativa por medio de una encuesta. En esta, se solicitó realizar diferentes análisis de imágenes utilizando ImageJ y el instructivo. Paralelamente se demostró la aplicación del programa en un análisis de casos en frutos chilenos, piñón (fruto del árbol nacional y protegido Araucaria) y el arándano como ejemplos de frutos homogéneos, circunferenciales y su opuesto.

El estado del conocimiento demostró la existencia de 23400 publicaciones, de las cuales el 96% corresponden a artículos de investigación científica, siendo Estados Unidos el mayor generador de conocimientos a nivel mundial. En el análisis de imágenes, las imágenes estandarizadas y no estandarizadas en medición de color y largo, demuestra la necesidad de control sobre la captura de imágenes para el correcto desempeño del programa. En el recuento manual y de predicción de unidades sobre las semillas, tanto en las imágenes estandarizadas como no estandarizadas, se presentaron similitudes entre las imágenes. Los análisis realizados a partir de

publicaciones científicas no demostraron diferencias significativas entre los valores de respuesta original y los calculados.

Además, la validación del instructivo mostró que existían diferencias significativas en los valores obtenidos del análisis de imágenes realizado por los participantes de la encuesta, estas pudieron ser atribuibles a las mejoras necesarias el instructivo y que fueron señaladas por la encuesta, las cuales correcciones fueron implementadas tras la validación. El análisis de casos de frutos chilenos se desarrolló sin dificultades, obteniendo las características morfométricas, de color y textura de los alimentos mediante las herramientas del programa, demostrando su aplicabilidad en este ámbito científico para caracterizar de manera efectiva estas propiedades.

En conclusión, se destaca el buen desempeño de ImageJ, su comprensión, manipulación y su posible uso en las ciencias y tecnologías de los alimentos para el desarrollo de nuevas investigaciones.

ABSTRACT

ImageJ is a powerful open-source image analysis program widely used in the scientific community, especially in the biological and materials sciences. In this context, the applicability and usefulness of the program in food sciences will be evaluated. In addition, a user's guide for ImageJ was developed to provide food engineering students with a basic and practical access guide.

For the preparation of the manual, the program's most important functions were evaluated. Through the capture of controlled and uncontrolled images, the program's performance in color measurement in strawberry samples, length in cherry tomato samples, and the counting of units (manual and predictive) in various seed sizes was assessed. To validate the program's reproducibility, images from two scientific publications using ImageJ for unit counting and/or prediction (CFU and emulsion size) were used, and the same counts were performed to compare the results.

Once the manual was prepared, its qualitative and quantitative validation was carried out through a survey. In this, image analyses were conducted using ImageJ and the guide. Concurrently, the application of the program was demonstrated in a case study of Chilean fruits, including piñon (the fruit of the national and protected Araucaria tree) and blueberry, as examples of homogeneous, circumferential fruits and their opposite.

The state of knowledge demonstrated the existence of 23,400 publications, of which 96% are scientific research articles, with the United States being the largest generator of knowledge worldwide. In the image analysis, standardized and non-standardized images for color and length measurement highlighted the need for controlled image capture for the program's proper performance. In the manual and predictive counting of units on seeds, similarities were found between standardized and non-standardized images. Analyses based on scientific publications did not show significant differences between the original response values and the calculated ones.

Furthermore, the validation of the manual revealed significant differences in the values obtained from the image analysis conducted by survey participants. These differences could be attributed to necessary improvements in the manual, as identified by the survey, which were subsequently implemented post-validation. The analysis of Chilean

fruit cases proceeded smoothly, extracting morphometric, color, and texture characteristics of the foods using program tools, demonstrating its applicability in this scientific field for effectively characterizing these properties.

In conclusion, the commendable performance of ImageJ in comprehending, manipulating, and its potential use in food sciences and technologies for new research.

2. INTRODUCCIÓN

En la última década, los avances tecnológicos han transformado radicalmente el panorama científico, ofreciendo nuevas oportunidades de investigación en diversos campos, incluyendo las ciencias de los alimentos (Andrialovanirina et al., 2020; Siegmann et al., 2004; Sunoj et al., 2018). Este cambio se refleja en la capacidad para realizar análisis detallados de calidad, morfología y reconocimiento de color en productos alimenticios. En este contexto, el análisis y procesamiento de imágenes se ha vuelto esencial para extraer información de manera precisa a partir de imágenes digitales. La principal característica que favorece el análisis de imagen sobre el tradicional es la capacidad de procesamiento del computador el cual permite analizar cientos de imágenes por hora, lo cual es un proceso lento de realizar por un método tradicional. (Andrialovanirina et al., 2020)

Este proyecto se centra en la aplicación de la herramienta ImageJ, un software de análisis de imágenes gratuito, quien, con su diseño simple de fácil comprensión, mejora continua debido a colaboración constante de los usuarios, destaca entre otros programas similares. La elección de ImageJ se justifica por su formato en Java compatible con cualquier sistema operativo, bajo requerimiento computacional para uso y amplia aplicabilidad, la cual a pesar de ser más de 25 años de creación no solo persiste en su uso y es ampliamente aplicado en la generación de conocimientos (Pérez & Pascau, 2013; Schneider et al., 2012)

Con el objetivo de proporcionar un instructivo funcional del uso de ImageJ, se evaluarán las capacidades del software como herramienta aplicada en las ciencias de los alimentos. Para ello, se realizará una revisión de información bibliográfica, se llevarán a cabo ejemplos de su aplicación en entornos controlados y no controlados, y se evaluará la reproducibilidad de las mediciones para demostrar la eficacia de ImageJ. Finalmente, se validará el instructivo por una encuesta y se realizará un análisis de características físicas de frutos chilenos homogéneos y no homogéneos, demostrando la posible aplicación del software como una herramienta educativa y de investigación en el análisis de imágenes en las ciencias y tecnologías de los alimentos.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. ANÁLISIS DE IMÁGENES DIGITALES

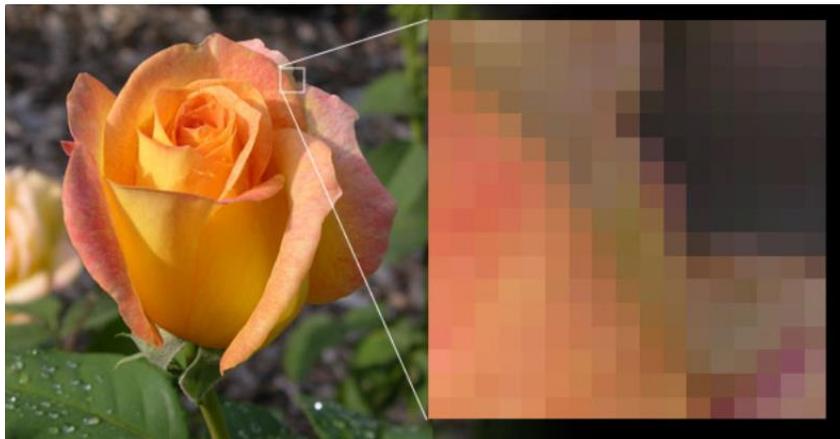
El análisis de imágenes trata de la conversión de una imagen en datos. En algunos casos se trata de limpiar la imagen con la finalidad de destacar algún elemento de interés dentro de ella, en otros se trata de ordenar y procesar una imagen esta es convertida a una escala integrada como sería cambiar una de escala de color a 8-bits para finalmente medir, cuantificar o procesar los datos obtenidos de la imagen original. Este análisis cuenta con cinco pasos para su realización: primero captura de imagen, segundo preprocesamiento (que deseo hacer con la imagen), tercera segmentación de la imagen (separar la imagen entre el fondo, el objeto de interés y el ruido), cuarto la extracción de características y finalmente la clasificación (Chanona-Pérez et al., 2008)

Con la modernización y el hecho que todos poseen un computador en su escritorio, la adquisición de imágenes también se ha vuelto mucho más accesible, debido a que hoy en día se pueden tomar fotografías por un celular, cámara digital o por un escáner.(Burger & Burge, 2016). Estas imágenes en su formato digital pueden ser analizadas como se mencionó anteriormente, si bien existen softwares como Adobe Photoshop® que es un programa de análisis y procesamiento de imágenes altamente reconocido que ofrece una interfase de fácil comprensión y una amplia variedad de herramientas para modificar las imágenes de manera interactiva (Burger & Burge, 2016). La dificultad que presenta el programa Photoshop es que no es una aplicación gratuita ya que consta de una suscripción mensual pagada, su principal uso es la edición de imágenes, soportando los espacios de color RGB, CMYK y CIELAB y no posee herramientas que permitan cuantificar o predecir sucesos como sí es posible el programa ImageJ que es un programa de libre acceso y altamente utilizado en el ámbito científico.(Adobe, 2022).

3.1.1. Adquisición de imágenes

Cada día se capturan miles de imágenes, ya sean fotografías de personas o paisajes, un documento escaneado, enviando documentos digitales, capturas de pantalla o en el ámbito médico, la toma de rayos x a los pacientes o la realización de los ultrasonidos. Pero sin importar el uso o el origen de la imagen, todas concuerdan en ser una matriz rectangular y ordenada de pixeles., los cuales son su unidad estructural(Burger & Burge, 2016a)

Una vez capturada la imagen, esta puede presentar diversas características como son la calidad de la imagen o resolución, dicho en otras palabras, cuantos pixeles existen en una superficie. A mayor cantidad de pixeles, mejor resolución, color más nítido y mayor tamaño ha de tener. Este tamaño no sólo se limita a la resolución de la imagen, sino que al espacio que utiliza en una memoria de archivo gráfico, entre los cuales destacan el JPEG y el PNG como los formatos más reconocidos. (Burger & Burge, 2016b).

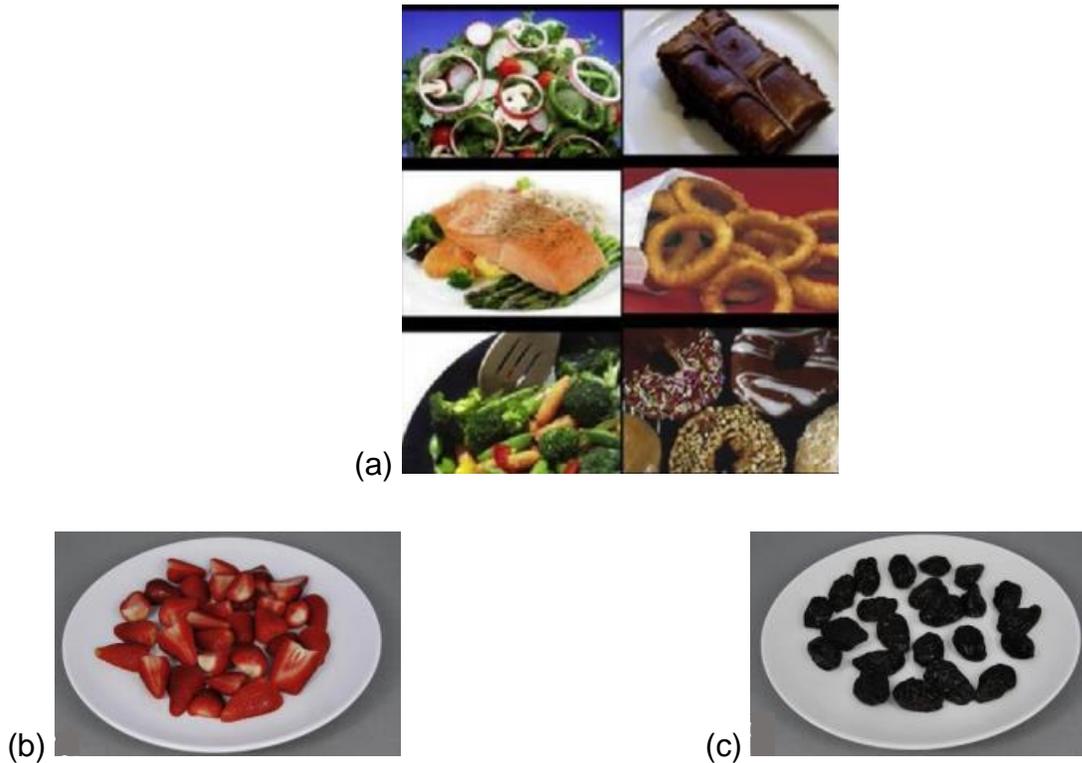


Fuente:(Alonso, 2020)

Figura 1. Ilustración de una rosa con zoom a sus pixeles.

Así mismo, la iluminación, contraste y ubicación de la imagen al ser capturada generará un cambio de color y calidad de la imagen, considerando que una importante característica de las imágenes de alimentos es el reconocimiento del alimento y el atractivo de este. En un ambiente controlado o estandarizado da como resultado

imágenes de alta calidad, y permite a los investigadores alcanzar y seguir los objetivos para generar estudios adicionales con imágenes de las mismas resolución y calidad. (Charbonnier et al., 2015) La figura 2 demuestra las diferencias entre una imagen controlada(estandarizada) y no controlada.



Fuente : (Charbonnier et al., 2015)

Figura 2. Ejemplo de fotografías de alimentos

(a) No controlada, (b) Imagen controlada capturada en Países bajos, (c) Imagen controlada capturada en Grecia

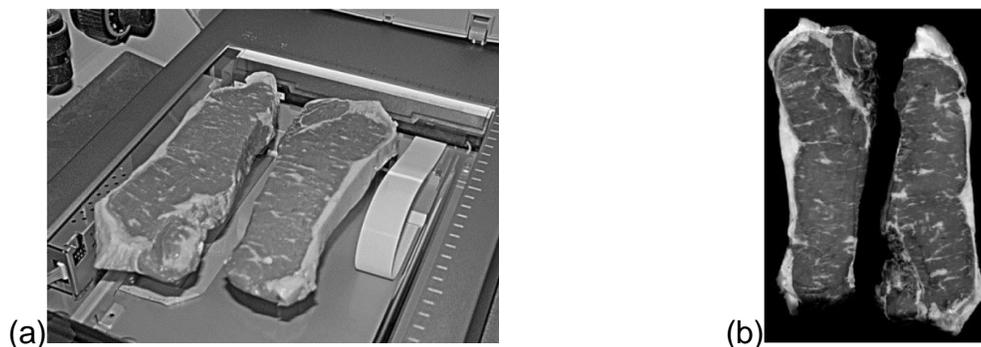
3.1.2. Metodologías de captura de imágenes

Como ya se ha señalado existen diversas formas de capturar una imagen las cuales tendrán diferentes características dependiendo de la temperatura que existe y el uso de la imagen o del medio utilizado para su captura. A continuación, se nombrarán los

medios más comúnmente utilizados para la captura de imágenes digitales y ejemplos de sus usos en los alimentos.

3.1.2.1. Escáner

Los escáneres son máquinas relativamente económicas que permiten digitalizar de manera automática el objeto digitalizado o imprimirlo de manera automática. Los escáneres planos de escritorio (figura 3) utilizan una luz reflejada que viene desde la parte inferior del escáner, para realizar la captura de la imagen que se encuentra sobre un vidrio, dando como resultado una imagen bidimensional del objeto. Los beneficios que presente este equipo son una captura de alta resolución y buena definición de color a bajo costo, en un corto tiempo, mientras que su principal limitación es el impedimento de realizar imágenes de transparencias y negativos y la necesidad de limpiar el equipo después de colocar una muestra que deje suciedad en el vidrio, ya que afectaría a posteriores capturas (Russ, 2005). Idealmente se busca que las muestras u objetos a analizar sean planos por la profundidad del escáner, el cual posee aproximadamente 1 cm de espesor, y en caso de muestras alimentarias se recomienda no utilizar alimentos congelados debido a la condensación.



Fuente: (Russ, 2005)

Figura 3. Escáner plano.

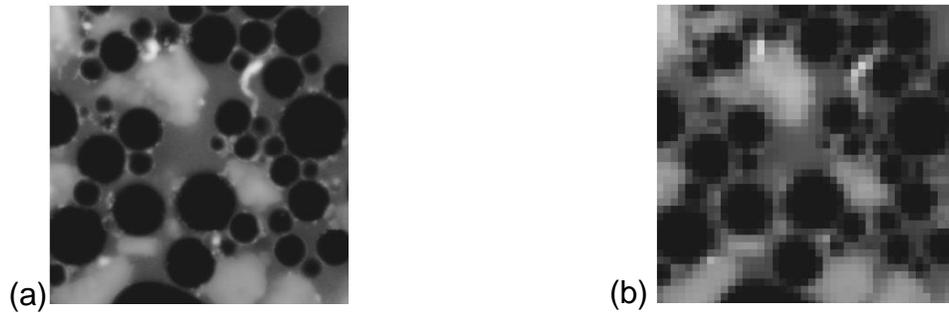
(a) Muestra de carne sobre el escáner, (b) Imagen de las muestras de carne obtenidas.

Los escáneres poseen sensores que permiten identificar la luz roja, verde y azul por separado, lo que permite una muestra altamente digitalizada de buena resolución y transmitida directamente a un computador en formato 8bit en RGB(Russ, 2005). Si bien la utilización de un escáner es más incómoda que una cámara digital, debido al contacto directo con la muestra genera una imagen con menor interferencia que una imagen digital y siendo una copia fiel de la original.

3.1.2.2. Cámaras digitales

Las cámaras digitales han tomado gran parte del mercado de imágenes científicas. Inicialmente caras, las cámaras digitales han ido disminuyendo su precio según han ido mejorando sus características técnicas, siendo aún su mayor problema el almacenamiento de las imágenes, ya que imágenes de gran resolución utilizan más espacio de almacenamiento.(Russ, 2005) Las cámaras digitales al igual que los escáneres poseen una alta resolución espacial y una gran calidad con bajo ruido o interferencia de imagen.

Uno de los mayores impedimentos de las cámaras digitales es cubrir rangos diferentes de tamaños, en estructuras muy pequeñas no saldrían acordes a su tamaño, debido a que los pixeles necesarios para retratarlos no permitirían una buena resolución, como se observa en a la figura 4 donde a partir de una emulsión de mayonesa se nota diferencia de definición de la imagen según su calidad en la figura.4(a) se observa cada parte de la emulsión, observando las gotas de aceite/agua y siendo visible la capa que bordea cada una de las estructuras, mientras que en la figura 4(b) no es posible identificar la imagen original o alguna ninguna de sus partes. Debido a lo anterior, se busca poseer imágenes de alta resolución (gran número de pixeles, generalmente desde 1200x900) para obtener un mayor detalle o definición en imágenes pequeñas o microscópicas al poseer marco lentes u objetivos tipo microscopios.(Russ, 2005)



Fuente:(Russ, 2005)

Figura 4. Imagen de una emulsión de una mayonesa.

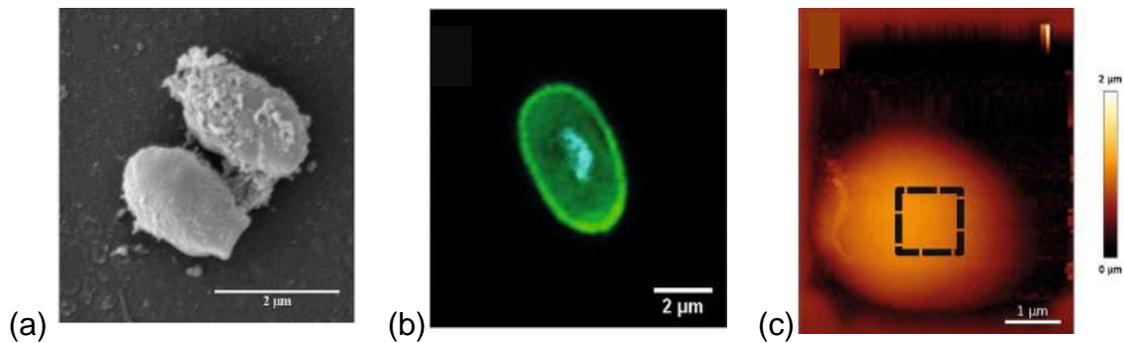
(a)Imagen de alta resolución, (b)Efecto del decrecimiento (en 3 megapíxeles) en la resolución.

En la actualidad, la revolución tecnológica y su integración han modificado desde los teléfonos fijos a los móviles hasta ser llamados inteligentes, que ya cuentan con cámaras digitales y se encuentran en una constante evolución en busca de más píxeles, menor tamaño, menor costo y mayor memoria, permitiendo tomar fotografías de mayor calidad y validez científica, permitiendo desde el 2010 tener cámaras de mejor resolución integrados en cada uno de ellos, considerando desde los 12 megapíxeles ya un celular con una alta gama de captura de imágenes(Padilla-Sierra et al., 2022).

3.1.2.3. Microscopios electrónicos

Existen distintos tipos de microscopios electrónicos, entre ellos se incluyen, el microscopio electrónico de barrido (SEM), microscopio confocal de rayos láser y el microscopio de fuerzas atómicas (AFM) los cuales utilizan diferentes principios físicos para la obtención de imágenes. El microscopio confocal utiliza espejos para desviar el haz de luz laser que entra en contacto con la muestra, mientras el SEM usa los campos magnéticos para realizar el desvío de haz de electrones sobre ella y el AFM utiliza estructuras piezoeléctricas para cambiar el espécimen bajo un punto focal, pero todos comparten la misma calidad de imagen y en escala de grises o blanco y negro. Si bien

se puede capturar imágenes a color, como en el microscopio AFM y confocal, las imágenes son originalmente en formato de blanco y negro y después son traducidas a una imagen a color. Generalmente las imágenes poseen una resolución de no más de 1000x1000 píxeles y su mayor parámetro a controlar para obtener la mejor calidad posible es la velocidad de escaneo ya que una rápida velocidad de escaneo minimiza el ruido. (Russ, 2005)



Fuente: (Agboola et al., 2021)

Figura 5. Superficie de la Levadura *Cyberlindnera jadinni*.

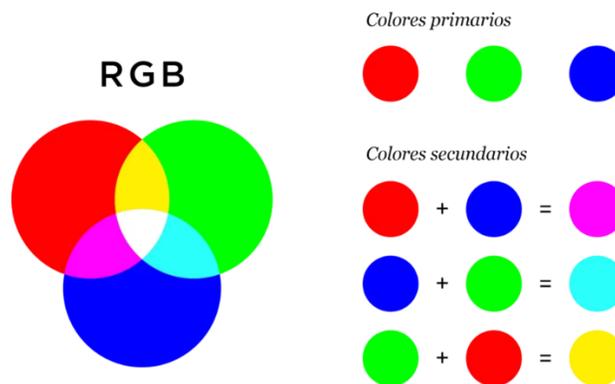
(a)SEM, (b)Confocal, (c)AFM

3.1.3. Color

El ser humano percibe el color mediante unos sensores llamados conos que traducen la energía lumínica (longitudes de onda) en señales nerviosas que a la parte visual del cerebro. Estas están conectadas a la parte central de la retina y se pueden dividir en 3 clases: sensores α (480 nm de longitud de onda) que ve el color azul, los β (540nm de longitud de onda) que ve el color verde y los tipos γ que ven rojo (570nm de longitud de onda)(Sucar & Gomez, 2015). Con el fin de realizar una representación del color y cuantificarlo, se han realizado diversos sistemas de espacios de color, entre ellos destacan el RGB, CIE y CIELAB.(Ly et al., 2020) la particularidad que existen entre ellos es que se puede pasar de un sistema a otro por medio de una conversión (Ly et al., 2020), por lo que la elección de un sistema es un impedimento para exportar los valores obtenidos a otro.

3.1.3.1. RGB

Es un sistema básico de color, el cual mediante solamente 3 señales combinadas aporta el color a una imagen. Estas señales son las de los colores primarios rojo, verde y azul (Red, Green y Blue en inglés de ahí su nombre RGB) y sus combinaciones aditivas permite los colores secundarios amarillo, magenta y cian (figura 6), la combinación de los colores primarios entrega el color blanco, y al combinar todos los secundarios obtenemos el color negro (espacio CMYK)(Llasera, 2020; Ly et al., 2020).

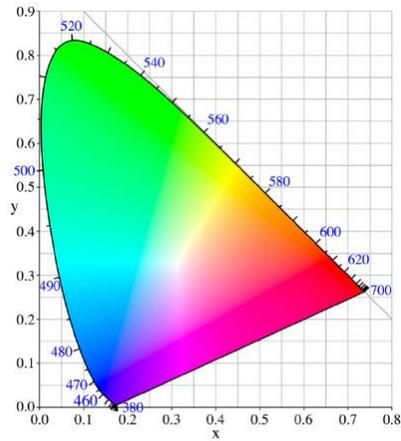


Fuente:(Llasera, 2020)

Figura 6. Diagrama cromático para el sistema RGB

3.1.3.2. CIE Color

Es un sistema estandarizado de color el cual separa hue (tono/intensidad), value (valor) y chroma (color) en diferentes dimensiones. Este sistema se basa en una representación bidimensional de los tres receptores del ojo humano y es reconocido con el nombre de CIE 1931 xy (figura 7), el diagrama demuestra como el hue representa una absorbanca o reflexión de un largo de onda y value se refiere a la luminosidad y chroma se refiere a la saturación (Ly et al., 2020)

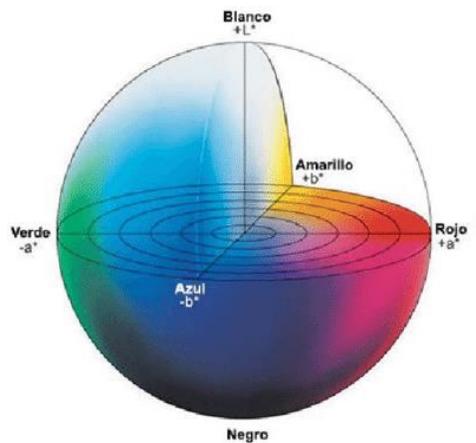


Fuente:(Agudo et al., 2014)

Figura 7. Espacio de color de CIE 1931

3.1.3.3. CIELAB

La Commission Internationale de l'Éclairage (CIE), una organización sin fines de lucro que es considerada como la autoridad en la ciencia de la luz y el color, ha definido espacios de color, el sistema CIELAB o CIE $L^*a^*b^*$ es uno de los espacios de color más populares y uniformes para evaluar el color de un objeto representa la relación de los colores en tres ejes, L^* significa luminosidad, a^* y b^* representan las coordenadas cromáticas o de color.(Ly et al., 2020)



Fuente:(Ramón et al., 2020)

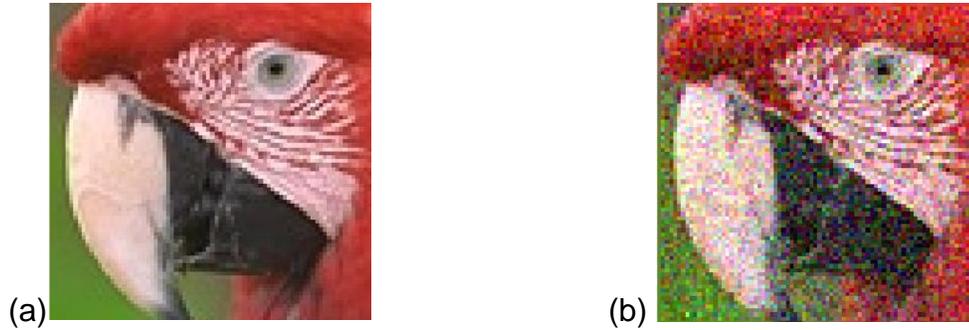
Figura 8. Espacio de color de CIELAB

Como se observa en la figura 8, L^* que es luminosidad es el eje vertical y tiene valores desde el 0 (Black, negro) a 100 (White, blanco). El eje a^* indica la coloración desde los valores negativos verdosos ($-a^*$) hasta los rojizos($+a^*$) en los valores positivos abarcando del -128 al +127 respectivamente, mientras que el eje b^* indica la coloración azulina ($-b^*$) hasta los colores amarillentos ($+b^*$) en los valores positivos, igualmente con la codificación numérica -128 al +127 respectivamente.(Ramón et al., 2020).

3.1.4. Procesamiento de imágenes

El filtro o procesamiento digital de imágenes es un conjunto de técnicas que se aplican a las imágenes digitales con el objetivo de mejorar la calidad. facilitar la búsqueda de información. Los principales objetivos que se persiguen con la aplicación de filtros son: Suavizar la imagen, al reducir la cantidad de variaciones de intensidad entre píxeles vecinos. Eliminar el ruido, al eliminar aquellos píxeles cuyo nivel de intensidad es muy diferente al de sus vecinos. Realzar la imagen, al aumentar las variaciones de intensidad de un píxel. Y detectar los bordes, al detectar los píxeles donde se produce un cambio brusco de color de los pixeles y realzar la función intensidad. (“Percepción Computacional: Filtros,” n.d.; Pérez Benito, 2015)

El ruido de la imagen es un fenómeno muy frecuente que degrada la calidad de la imagen y que aparece de improviso en la adquisición, transmisión y/o procesamiento de la imagen. En las imágenes digitales se definen como pixeles “erróneos” y aleatorios que se mezclan con los pixeles “aceptamos” que componen la imagen y que entorpecen su correcta reproducción.(Pérez Benito, 2015). Entre todos los tipos de ruido que se puede presenciar, en una imagen el de especial interés el ruido Gaussiano y el ruido Impulsivo. El ruido gaussiano es aquel donde todos los pixeles de la imagen se ven afectados, cambiando su valor, intensidad e iluminación (Figura 9), y este cambio ocurre de acuerdo con una distribución normal o Gaussiana. Este problema se presenta en a la adquisición de la imagen por un dispositivo en malas condiciones o mala iluminación.(Reducción de Ruido En Una Imagen Digital, n.d.)

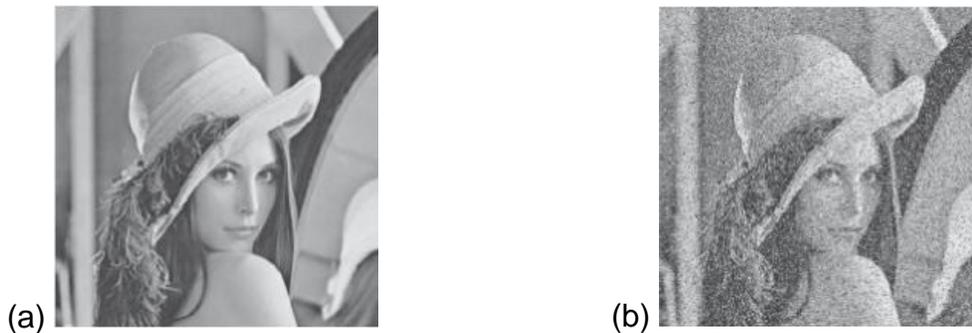


Fuente:(Pérez Benito, 2015)

Figura 9. Representación del Ruido Gaussiano

(a)Imagen original, (b)Imagen con ruido Gaussiano

El ruido impulsivo o sal y pimienta es aquel tipo de ruido donde los pixeles de la imagen son diferentes a los pixeles circundantes. Recibe su nombre ya que se podrán divisar pixeles blancos sobre puntos negros o vice serba (figura 10) y a diferencia del ruido Gaussiano este no afecta a toda la imagen. Es el ruido más presente durante la transmisión de datos por un canal contaminado, o bien debido a los sensores CCD con defectos.(Fernández García, 2012; Pérez Benito, 2015)



Fuente:(Pérez Benito, 2015)

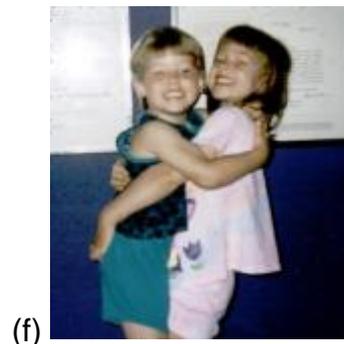
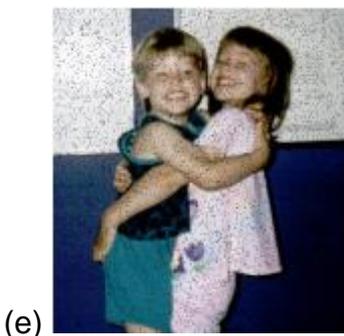
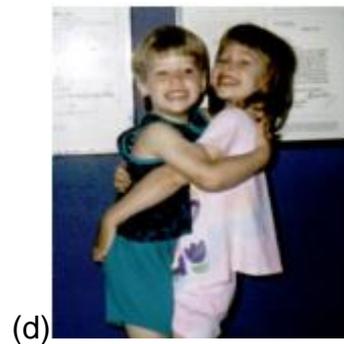
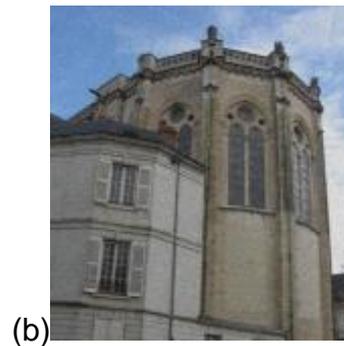
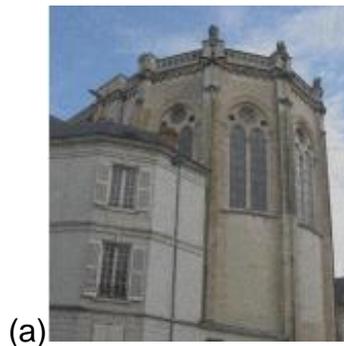
Figura 10. Representación del Ruido Impulsivo

(a)Imagen original, (b)Imagen con ruido Impulsivo

Los filtros son técnicas de mejora de la imagen y pueden ser divididas en técnicas globales, que operan en toda la imagen o en técnicas locales (especiales), que

dependerá de lo que se desee reparar de la imagen. Dentro los filtros estadísticos de orden que operan sobre pequeñas regiones y sustituyen el valor del píxel por otro. (Fernández García, 2012) Podemos destacar el filtro máximo para arreglar el ruido impulsivo de pimienta (negro) el filtro mínimo para arreglar el ruido impulsivo de sal (blanco) y el filtro de pinto medio que es adecuado para atenuar el ruido gaussiano.

Hoy en día existe una inmensa para involucradas en el procesamiento de imágenes digitales, con el fin de mejorar la calidad de la imagen para la correcta interpretación humana, como identificar de mejor manera radiografías, aplicar filtro infrarrojo para mejor identificación de en microscopia, astrología y control de calidad de la industria. ("Percepción Computacional: Filtros," n.d.; Pérez Benito, 2015)



Fuente:(Fernández García, 2012)

Figura 11. Aplicación de filtros para corregir errores de ruido.

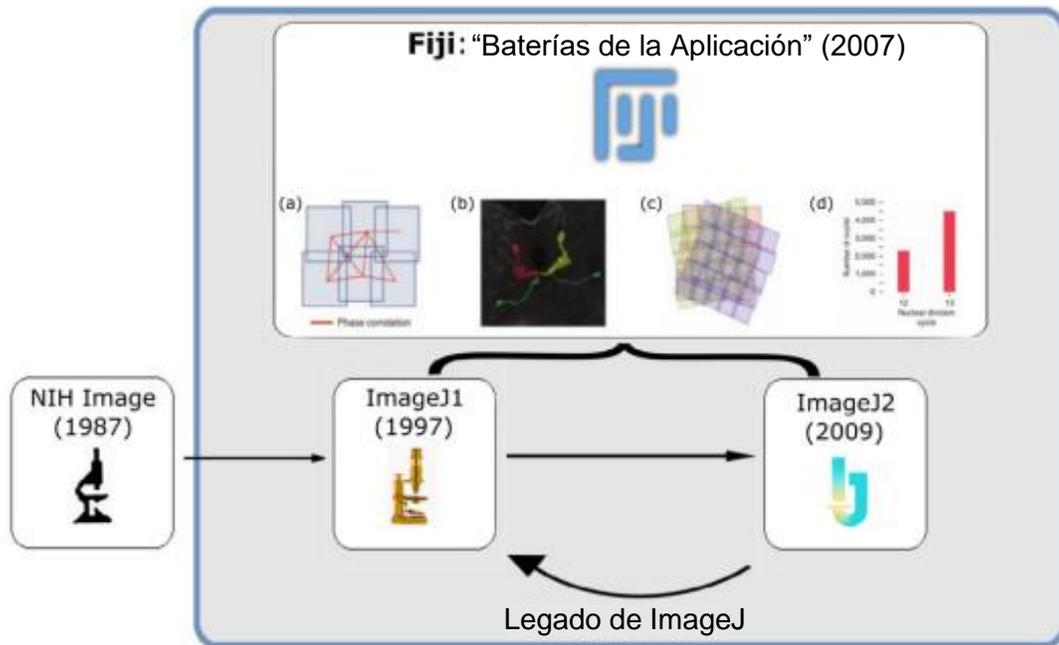
(a)Fotografía de iglesia con ruido gaussiano (b)Fotográfica de iglesia con filtro (punto medio) (c)Fotografía de niños con ruido tipo sal (blanco) (d)Fotográfica de niños con filtro (mínimo) (e)Imagen de niños con ruido tipo pimienta (negro) (f)Imagen de niños con filtro (máximo)

3.2. IMAGEJ

ImageJ es un programa gratuito de análisis y procesamiento de imágenes en formato Java y es una que puede ser ejecutado en sistemas operativos como Windows, MacOS o Linux.(Bourne, 2010). El software ImageJ (J de Java) es la evolución del NIH image (programa del antiguo sistema operativo Macintosh de Apple) y fue desarrollado por Wayne Rasband en el Instituto Nacional de Salud de USA. Este programa es un software de acceso libre que permite acceder a un set de herramientas listas para utilizar con una interfase de fácil manipulación para imágenes, además permite su fácil modificación al permitir crear nuevas mejoras (plugins en inglés) a través del manejo del lenguaje clásico de programación al poseer el modelo de ejecución dinámico de Java (Java's dynamic execution model) (Burger & Burge, 2016).

ImageJ es un software que puede mostrar, editar, analizar, guardar e imprimir imágenes en diversos formatos. De igual manera puede realizar operaciones como cambiar la forma de productos, conversión a diversas escalas, modificación de la imagen y permite realizar varios tipos de medidas (conteo de unidades, medición de distancias, ángulos y áreas) que involucren a la imagen que está analizando.(Radu et al., 2021). Como se observa en la figura 12, a partir del ImageJ se han creado varios softwares populares como una extensión del software original, como son Fiji ("Fiji is Just ImageJ") e ImageJ2, los cuales a partir de la interfaz de ImageJ se han especializado en distintas ramas científicas, dando un enfoque biológico a su utilización.(Burger & Burge, 2016)

El ImageJ al ser un programa de fuente abierta y gratuita cumple con las cuatro libertades esenciales: el uso del programa para cualquier propósito, la libertad de estudiar el funcionamiento del programa y cambiarlo según los deseos y necesidades, la libertad de distribuir copias de este y finalmente, la libertad de compartirlo de manera abierta junto con los beneficios de este a todo el público (Lind, 2012; Rueden et al., 2017a).



Fuente:(Schroeder et al., 2021)

Figura 12. Diagrama de la evolución de NIH al ImageJ actual. Mejoras y herramientas de Fiji

(a)Registro, (b)Segmentación, (c) Registro, (d)Herramientas de medición.

Considerando lo anterior, se considera el ImageJ como una buena herramienta de apoyo educacional para el procesamiento y análisis de imágenes. Se ha demostrado que el software es de fácil comprensión para las nuevas generaciones y que experimentos científicos se pueden adaptar para estimular la participación de los estudiantes, generando una mejor comprensión y aplicación de los conceptos estudiados a través de las nuevas tecnologías. Un ejemplo del uso de ImageJ dentro

del ambiente profesional es realizado por Radu donde se implementó en un taller de física de ópticas de la luz el uso de ImageJ como herramienta de edición y aplicación, y declara que es la plataforma ideal para educar y entrenar utilizando el procesamiento de imágenes, ya que los estudiantes no tuvieron problemas en el manejo y desempeño de este, pudiendo capturar la instancia por medio de sus teléfonos y pudieron analizar posteriormente los resultados sin problemas.(Radu et al., 2021)

El software ImageJ puede ser utilizada como herramienta de uso educacional en el área de procesamiento y análisis de imágenes digitales, al poseer las características como: 1) Interfaz de fácil acceso, gratuito y compatible con todo sistema operativo.2) Fácil comprensión y reproducción de ejercicios. 3) Gran eficiencia, al disminuir los tiempos de medición y certeza en sus mediciones, al comparar una medición in situ versus una realizada por una fotografía. 4) Actualización constante del sistema por medio de los plugins o herramientas creadas por los mismos usuarios. 6) Análisis como son identificación de color, predicción de unidades u mediciones a través de imágenes. 6) Disponibilidad de materiales pedagógicos explicativos del uso y aplicaciones del software, como son tutoriales en forma de videos explicativos como manuales.

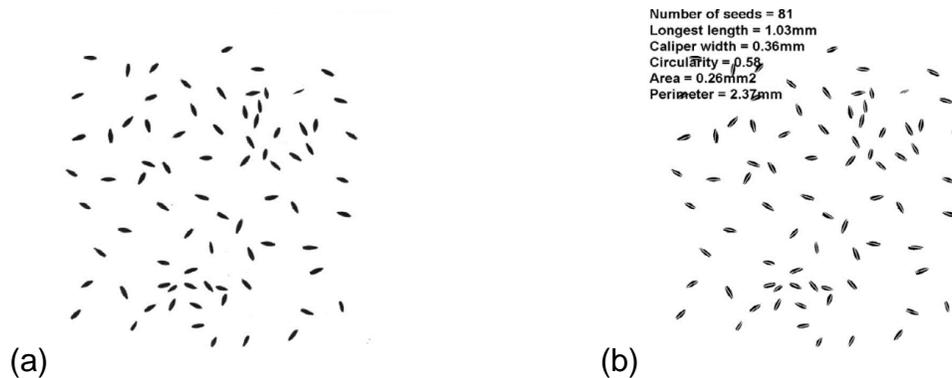
3.2.1. Aplicaciones de ImageJ

El procesamiento digital de imágenes involucra metodologías para el análisis de imágenes y es útil para obtener información cualitativa y cuantitativa. El avance tecnológico en el desarrollo de hardware y software ha provisto herramientas para la captura de imágenes y algoritmos para el análisis que permiten evaluar de manera no destructiva y objetiva, por ejemplo, el color.(Padrón-Pereira et al., 2016)

Existen diversas aplicaciones en las ciencias sobre el uso del ImageJ, si bien no todas son aplicables para las ciencias de los alimentos, se investigará las aplicaciones que más se destacan por su uso y efectividad: recuento de unidades, identificación de tamaño, área y recolección de color.

3.2.1.1. Recuento y predicción de unidades

En el campo de las ciencias el programa entrega análisis objetivo de mediciones en varios parámetros de plantas. Un ejemplo de ellos es el análisis de fenotipos de semillas y análisis de plantas enteras, recordando que el fenotipo es la apariencia física de la planta como la unión del genoma y del medioambiente (Lind, 2012).



Fuente:(Lind, 2012)

Figura 13. Ejemplo de recuento de semillas.

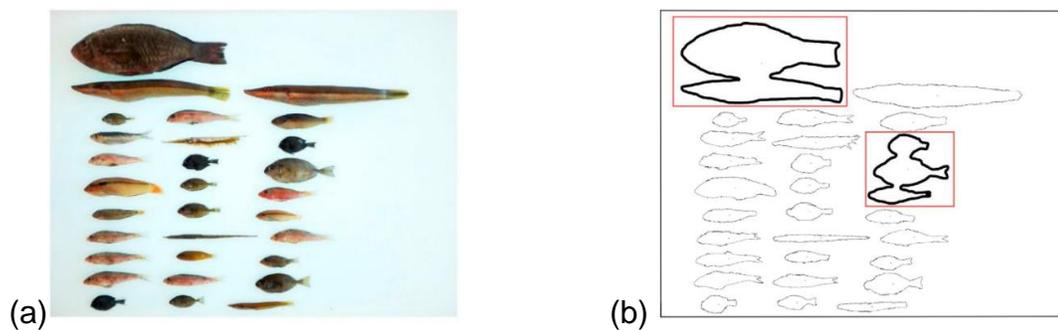
(a)Imagen de semillas usando un escáner, (b)Análisis de la imagen de sus características morfológicas como largo, perímetro, área, etc. Y de características cuantitativas como la identificación del número de semillas.

En la figura 13, se observa como el uso del ImageJ en el recuento de semillas, como el control de estructuras reconoce las estructuras y permite representar en ellas (con la línea blanca) la máxima longitud de la semilla (Lind, 2012).Así mismo, puede calcular el número de semillas, un promedio de tamaño entre ellas, el valor de largo máximo o mínimo de manera automática, características que de ser realizas de manera manual tomaría bastante tiempo de medición considerando que son 81 semillas de aproximadamente 1mm de largo.

3.2.1.2. Identificación de tamaño y área

Otra demostración del uso de ImageJ como medición de tamaño. La medición del largo de los peces es útil para explorar el tamaño de los peces de pesca y de los efectos de

la pesca en los espacios marinos. La medición manual de los peces de una gran cantidad de especímenes requiere un largo tiempo debido a la manipulación de los peces en especial en los peces tropicales debido a su pequeño tamaño y delicada manipulación (Andrialovanirina et al., 2020). Debido a lo anterior, el programa permite realizar las mediciones de manera automática, realizando una imagen con el total de los peces de interés (figura 14.a). Los resultados obtenidos por medio de este ejemplo permitieron divisar que por el método tradicional el tamaño promedio de los peces tropicales fue de 8.8 ± 7 cm, usando el programa de medición uno a uno de ImageJ se obtuvo un valor de 8.7 ± 7 cm y usando el predictor del ImageJ dio un valor de 8.8 ± 7 cm.



Fuente:(Andrialovanirina et al., 2020)

Figura 14. Imagen de escáner de los peces a analizar.

(a)Imagen original a color de los diferentes peces, (b)Intersecciones de las regiones de interés (ROIs) por el proceso automático de ImageJ

Por lo tanto, los resultados obtenidos presentaron una certeza de un 98% con respecto a la medición manual y reduce en un 57% el tiempo de la medición utilizando el método predictivo presentado en la figura 14.b considerando una medición de 646 peces de tamaños entre 3 a 50cm (Andrialovanirina et al., 2020).

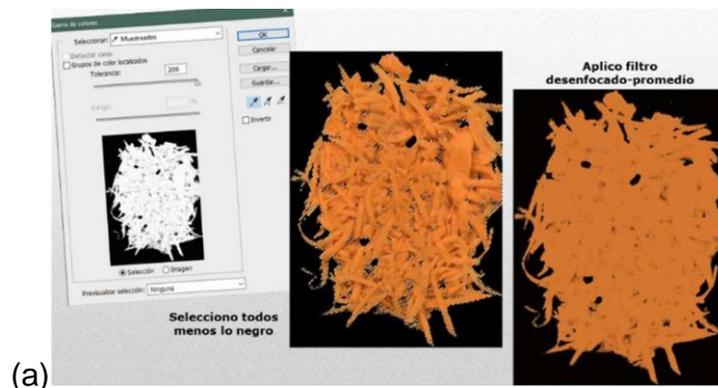
3.2.1.3. Análisis de color

En alimentos, el color es una parte importante del aspecto visual, uno de los factores principales utilizados por el consumidor al momento de la compra de un producto y se

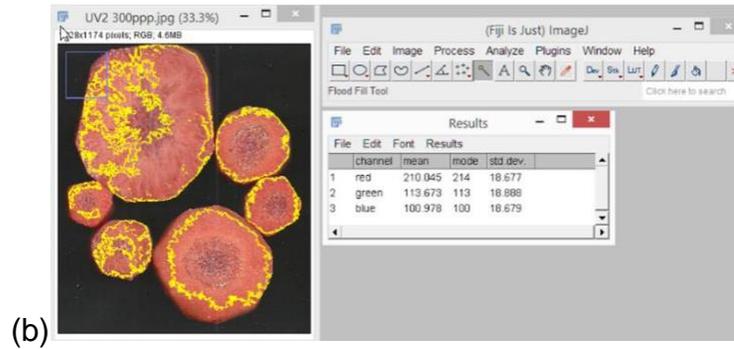
utiliza en muchos estándares de clasificación como criterio de calidad. El color es un parámetro de calidad utilizado para evaluar el estado de maduración de frutos.

Herramientas comúnmente empleadas en el diseño gráfico, como cámaras digitales, computadoras y software editor de imágenes, pueden ser utilizadas para procesar y analizar imágenes mediante la implementación de lo que se denomina un sistema de visión computarizada, para determinar el color de muestras de alimentos y durante la maduración de frutos; lo que permite sustituir en gran medida, el uso de cartas de colores, colorímetros y espectrofotómetros. (Padrón-Pereira et al., 2016)

Las nuevas aplicaciones de análisis de imágenes digitales y tecnologías de libre acceso han impactado en diversas áreas como la Agroalimentaria, y, específicamente, en los procesos de evaluación sensorial (color y forma) con o sin instrumentos. Un ejemplo de estos es la comparación de análisis entre un panel sensorial y análisis digital por Photoshop e ImageJ, donde se buscaron los valores promedio de las imágenes de manera digital, posterior a su segmentación (Césari Matilde et al., 2020). Demostrado que se correlacionan estrechamente con los de la evaluación sensorial visual del color, representado un procedimiento práctico, que permite la medida del color sensorial en forma rápida y directa, con la suficiente aproximación y objetividad aceptable, para su fácil transferencia al medio productivo. Se verificó que en el caso del procesamiento de imágenes digitales utilizando el software ImageJ, se puede realizar un análisis rápido de la totalidad de la imagen, y de las coordenadas de color, que pueden transformarse del espacio RGB a $L^*a^*b^*$ con alta calidad, incluso superior a Photoshop.



(a)



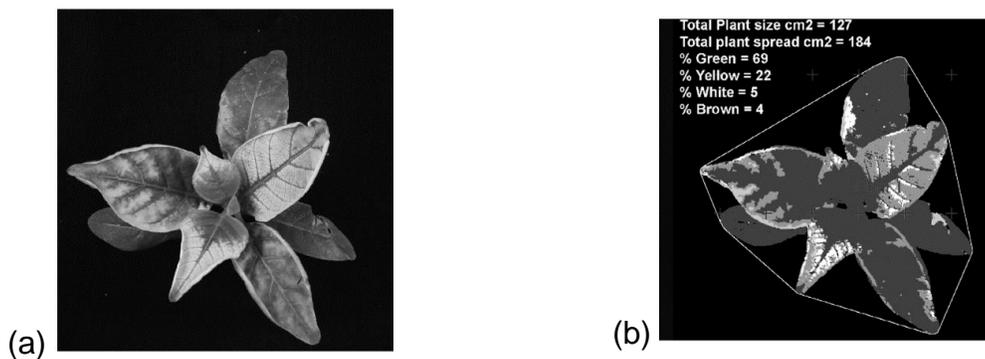
(b)

Fuente : (Césari Matilde et al., 2020)

Figura 15. Ejemplos de selección y promediado de muestra de zanahoria.

(a) Selección de zanahoria rallada por Photoshop, (b) Selección de zanahoria en trozos por ImageJ

Otro ejemplo de la medición de color se realizará de manera simultánea la medición de color y de tamaño, en este caso de una planta, acción que no es posible realizar con el ojo humano. Reconociendo que las hojas de las plantas pueden presentar una variedad de tonalidades y que pueden ser clasificadas en diferentes categorías (Lind, 2012). Así mismo se observa como el programa puede medir la dimensión total de la planta e identificar el porcentaje de color dentro de la misma a partir de su imagen en escala de grises.



(a)

(b)

Fuente: (Lind, 2012)

Figura 16. Ejemplo de medición del fenotipo de una planta.

(a) Imagen de la planta convertida a escala de grises, (b) Cuantificación del fenotipo de una planta según la clasificación de sus diferentes áreas de color.

4. APORTE AL CONOCIMIENTO

La aplicación de herramientas tecnológicas en el ámbito educativo ha experimentado un crecimiento significativo en las últimas décadas, brindando oportunidades únicas para la enseñanza y el aprendizaje en diversas disciplinas. En este contexto, las Ciencias y Tecnologías de los Alimentos han emergido como un campo multidisciplinario esencial que demanda enfoques innovadores para la comprensión y aplicación de sus conceptos fundamentales.

La elección de ImageJ como herramienta educativa se sustenta en su accesibilidad, versatilidad y la posibilidad de adaptarse a diferentes niveles académicos. Este software permite el análisis cuantitativo y cualitativo de imágenes, lo que resulta especialmente útil en la evaluación de procesos y productos alimentarios, así como en la investigación de características microestructurales y propiedades morfológicas relevantes. Además, su aplicación en el contexto de las Ciencias y Tecnologías de los Alimentos es una herramienta que puede ser ampliamente explorada, ya que aún no existe una limitante en sus usos y aplicaciones, lo que deja abierta la investigación.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el uso de ImageJ como herramienta en el ámbito de las Ciencias y Tecnologías de los Alimentos, con el propósito de proporcionar su comprensión y utilización por medio de la elaboración de un instructivo, aportando habilidades prácticas de los estudiantes en el análisis de imágenes y datos asociados a dicha disciplina.

5.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS

- 1) Demostrar el uso del programa ImageJ como herramienta actual para el análisis de imagen en el ámbito Científica.
- 2) Validar la aplicación del software ImageJ por medio de la realización de ejemplos de análisis estandarizados de color, largo, recuento de unidades en imágenes capturadas en una cámara oscura y por medio de un escáner.
- 3) Comparar la diferencia en los resultados del software entre una imagen estandarizada y no estandarizada por medio del análisis de color, largo y recuento de unidades.
- 4) Comprobar la reproducibilidad del uso del software al recrear los análisis de imagen realizado en publicaciones científicas para el recuento de UFC y emulsiones.
- 5) Desarrollar un instructivo de uso del software ImageJ, para ser utilizado por la carrera de Ingeniería en Alimentos.
- 6) Validar el funcionamiento del instructivo de ImageJ por medio de una evaluación online de parte de los estudiantes de la carrera de Ingeniería en Alimentos de la Universidad de Chile por medio de desafíos de ejecución de medición de color y recuento de unidades.
- 7) Mostrar la aplicación de las herramientas disponibles del software ImageJ en alimentos chilenos.

6. METODOLOGÍA

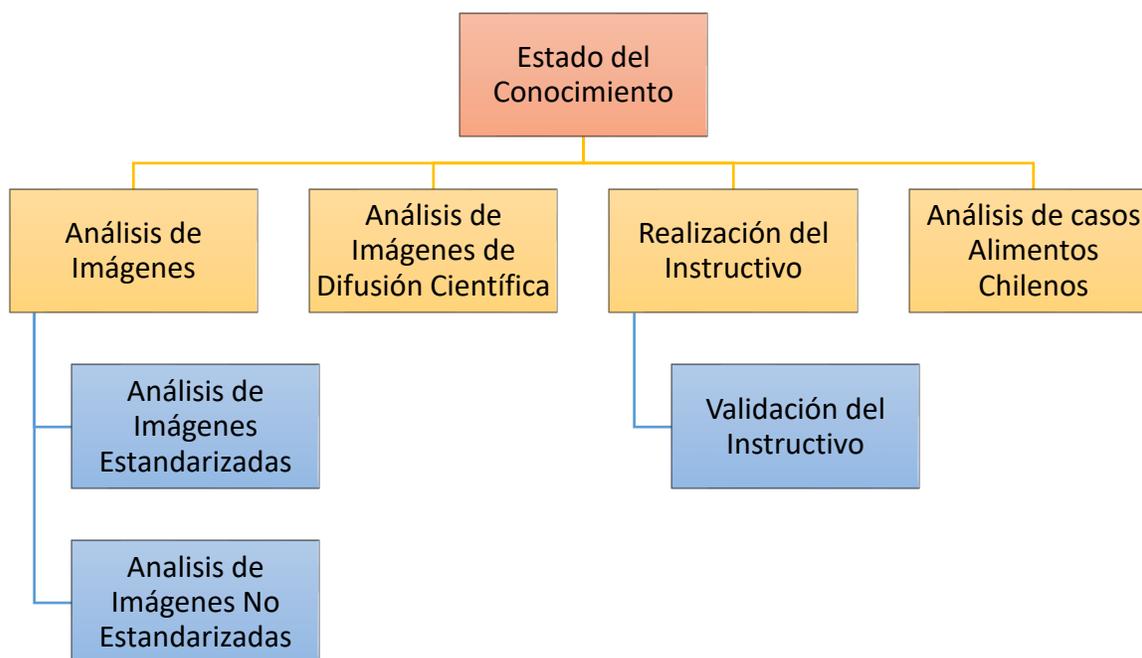


Figura 17. Diagrama de metodología.

- 1) Estado del Conocimiento Científico:** Se recopilará información bibliográfica de usos del ImageJ en la comunidad científica, en las bases de datos de Web Of Science (WOS) medir su uso y su efectividad como herramienta actual de análisis de imagen por medio de una métrica de publicaciones y métrica de citaciones.
- 2) Análisis de Imágenes Estandarizadas:** Se realizará un análisis de imagen a semillas (2-6 gramos dependiendo del tamaño) capturadas por un escáner y a frutos capturados de forma rotatoria en una cámara oscura (Figura 18).
- 3) Análisis de Imágenes no Estandarizadas:** Se realizarán fotografías a condiciones normales de luz artificial con fondo blanco o negro según corresponda a los mismos elementos fotografiados en las Imágenes estandarizadas. El fondo blanco semillas y los frutos en fondo negro y se comparan los resultados de los análisis estandarizados con los no estandarizados.

- 4) Análisis de Imágenes de Difusión Científica:** Se elegirán imágenes de recuento de UFC y de emulsiones, debido a su mayor aplicación en el rubro de alimentos, que cuenten con la metodología de realización del análisis de imagen. Con la finalidad de obtener los datos correspondientes y compararlos.
- 5) Realización del Instructivo:** Por medio del conocimiento y manejo del software de análisis de imágenes ImageJ, se realizará un manual ilustrativo que presente el paso a paso del uso del programa para su utilización en el laboratorio de Ciencias y Tecnologías de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.
- 6) Validación del Instructivo:** Por medio de un ejemplo de análisis de un alimento definido, se le otorgará el instructivo a alumnos de la facultad de ciencias químicas y farmacéuticas de la universidad de Chile. Por medio de una encuesta online y posterior análisis de resultados se investigará si el instructivo fue: 1) de fácil comprensión, 2) se logró el objetivo de la medición de color, área y recuento e identificación de unidades de una imagen y 3) retroalimentación y finalmente se realizará una comparación de los resultados originalmente en el análisis con los esperados.
- 7) Análisis de Casos Alimentos Chilenos:** Se realizará el análisis de imágenes de frutos chilenos aplicando diversas herramientas y plugins disponibles por el software ImageJ para realizar el análisis morfométrico, de color y textura de los frutos.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. CAPTURA DE IMÁGENES

7.1.1. Escáner

El escáner utilizado es de la marca Brother®, una impresora multifuncional modelo X-201. Este consiste en una cama plana de 21,6x29,7cm con sensor de líneas CIS de color, con una resolución de 1200x2400dpi y profundidad de color de 48bits.

7.1.2. Cámara obscura

La cámara obscura consiste en un fondo negro con dos tubos de PVC conduit concéntricos cuyo giro permite capturar el fruto desde todos sus ángulos, sin necesidad de sacar la muestra de la cámara. Detrás de la cámara se ubica el sistema de iluminación, el cual consta de dos tubos fluorescentes T4 de 6 Watts de potencia de tamaño pequeño (20 cm de largo) y un color temperatura de 6500K, utilizados comúnmente para análisis de alimentos. La distancia entre el fruto y la cámara es de 18cm y la dimensión de la base es de 2,5 cm de diámetro.

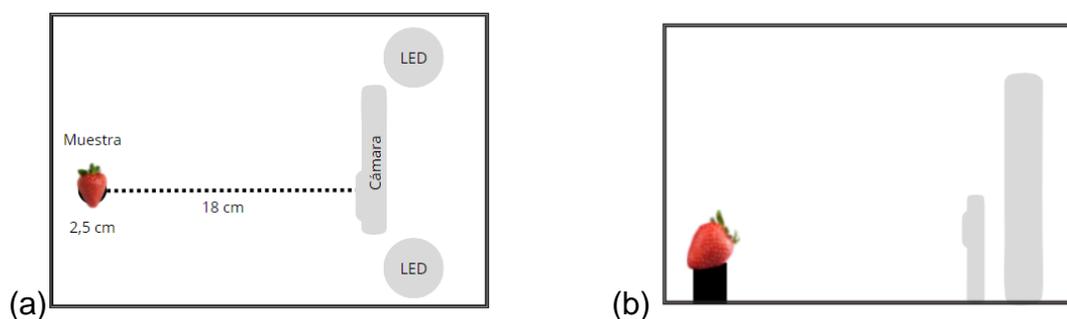


Figura 18. Esquema de la cámara obscura.

(a) Vista superior, (b) Vista lateral.

7.1.3. Cámara digital

La cámara utilizada es de celular de la marca Samsung® el modelo Galaxy S20 FE del año 2021, la cual posee una cámara principal de 12MP, f/1.8, OIS. Para la captura se utilizará el modo normal, con dimensiones guía, tipo de foto 1:1 y resolución de 1600x1200píxeles. El equipo será utilizado a distancia por medio de la Aplicación Samsung Flow para asegurar la mejor posición de imagen en su uso de la cámara obscura y será utilizada con las mismas condiciones para fotografiar las condiciones no estandarizadas.

7.2. ANÁLISIS DE IMÁGEN

El análisis de Imágenes será realizado con el programa ImageJ versión 1.54h (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>), utilizando las herramientas básicas que cuenta el programa como son Line, Multipoint, Set Scale, Analyze Particles, ROI Manager, entre otros. Como también el plugins disponibles en línea como el programa Cell Counter (https://imagej.nih.gov/ij/plugins/download/jars/cell_counter.jar). Además del uso del software Adobe Photoshop® versión 23.4.1 20220615.r.547 3121b66 x64 (<https://www.adobe.com/cl/products/photoshop/landpa.htm>) para la comparación de comparación en dicho análisis. Los plugins deben ser descargados de los correspondientes links y dicho archivo es arrastrado al programa ImageJ (abierto) para su instalación automática, posteriormente se reinicia el programa para su correcto funcionamiento y se encontrarán en el menú plugins de ImageJ.

A continuación, se detallarán los procesos realizados para la realización del análisis de imágenes por los dos softwares mencionados anteriormente, para cada uno de los casos de estudios que se realizarán los análisis por triplicado: Recuento y predicción de semillas, Análisis de tamaño. Análisis de color, Análisis de emulsiones y Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC).

7.2.1. Recuento y predicción de semillas

Las semillas fueron contabilizadas por la herramienta análisis de partículas de ImageJ la cual permite predecir la cantidad de objetos presentes en la imagen y finalmente se realizó un conteo manual con la herramienta Multipunto (**Muti-point + Ctrl M**) del mismo programa. Se realizaron los análisis con tres tipos de semillas diferentes, los cuales fueron seleccionados según el tamaño de semilla se seleccionaron muestras de 2 y 6 gramos para medir su cantidad y reconocimiento de semillas partidas. Se pesaron 6 gramos de semillas de zapallo, 6 gramos de semillas de maravilla y 2 gramos de semillas de sésamo.



Figura 19. Escáner de 2 gramos de semillas tostadas de sésamo, con zoom a sus semillas

En cada caso la misma muestra fue fotografiada por medio de un escáner (imagen estandarizada) y por medio de la cámara del celular sobre una hoja blanca (imagen no estandarizada). En la figura 19, se observan las semillas de sésamo en el escáner y como se observa la definición de cada una por medio de zoom. Con el fin de tener una dimensión de comparación para las semillas se escaneó de manera análoga una regla de 30cm para tener la escala de referencia en el programa ImageJ. Medimos la distancia con la herramienta línea (**Straight + Clic izquierdo y arrastrar hasta el final**) posteriormente ingresar a la distancia conocida (**Analyze > Set Scale > Global > OK**), en este caso 1 cm y se acepta el **global**, como se observa en la Figura 20.

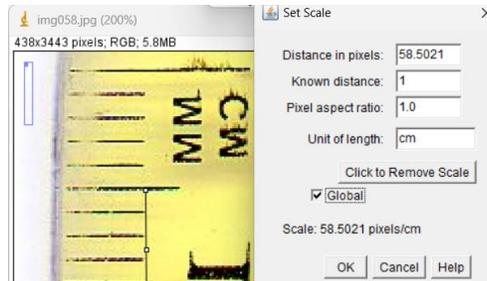


Figura 20. Set Scale para análisis con escáner.

7.2.1.1. Recuento automatico

Para utilizar el análisis de partículas, a cada imagen que se encontraba en formato RGB se le ajustó el contraste para posteriormente se convierta en 8bits (**Image > Type > 8-bits**), corregir su tono buscando dejar toda el área de interés en negro (**Imagen > Adjust > Threshold > Apply**) retirar el ruido (**Process > Noise > Despckle**) de la imagen y separar las estructuras negras con la herramienta Watersheld (**Process > Binary > Watersheld**) para finalmente aplicar el análisis de partículas (**Analyze > Analyze Particles**). Para el correcto funcionamiento de la herramienta a la imagen se le debió aplicar Threshold.

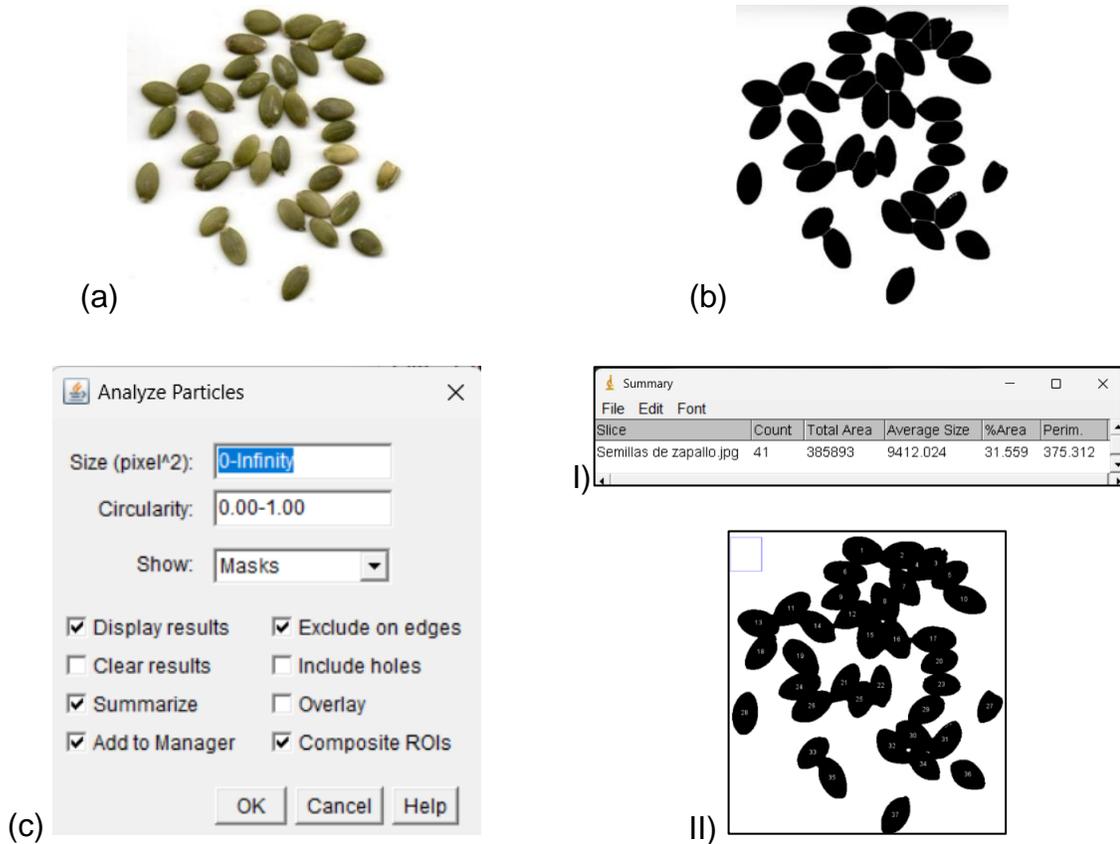


Figura 21. Uso de ImageJ para identificar el número de semillas
 (a)Imagen original, (b)Imagen con Threshold y separación de estructuras, (c)Análisis de partículas: I) Recuento del análisis II) Recuento de estructuras.

7.2.1.2. Recuento manual

Para el conteo manual se realizó con la herramienta Multi-Point (**Multipoint + clic izquierdo**). Se realiza el conteo del clic sobre la imagen y registran las mediciones con la herramienta Measure (**Analyze > Measure /Ctrl+ M**)

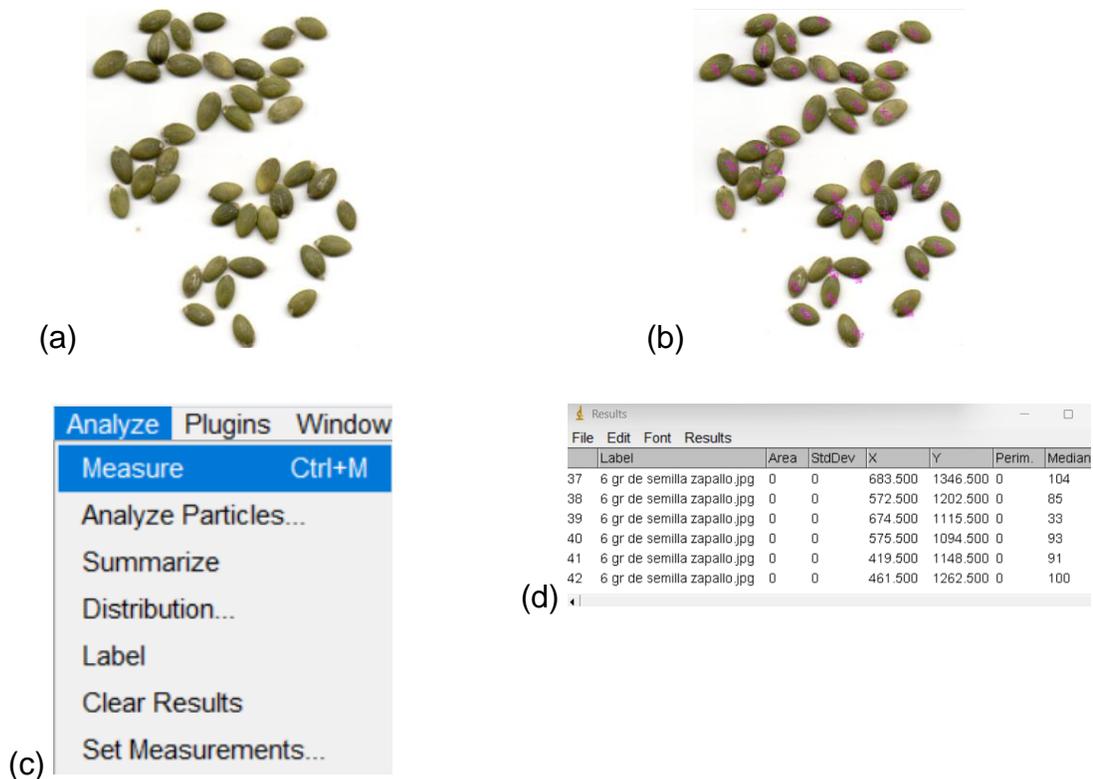


Figura 22. Conteo manual de unidades por medio ImageJ

(a) Imagen Original, (b) Imagen con semillas contadas, (c) Measure, (d) Registro del recuento.

7.2.2. Análisis de tamaño

El análisis de tamaño fue realizado por medio de ImageJ con la herramienta de Línea. Se tienen 3 muestras de Tomates Cherries a las cuales se les medirá las dimensiones de alto, largo y ancho por medio de un Pie de Metro y se comparará con las medidas obtenidas de largo, alto y ancho obtenidas por el programa.

Para realizar el procedimiento de medición de largo y ancho de las frutas por medio de ImageJ será necesario iniciar con estandarización de la imagen, por medio de una fotografía con la imagen. Medir la distancia conocida con la herramienta línea (***Straight + Clic izquierdo y arrastrar hasta el final***) posteriormente ingresamos a la distancia conocida (***Analyze > Set Scale > Global > OK***) Ingresamos la distancia conocida y se

acepta el global, el proceso es el mismo que se observa en la Figura 20, pero con la nueva unidad (diámetro de la base 2,5cm). Posteriormente se miden las imágenes con la herramienta línea (***Straight + Clic izquierdo y arrastrar hasta el final***) y se registran las distancias con la herramienta Measure (***Analyze > Measure /Ctrl+ M***)

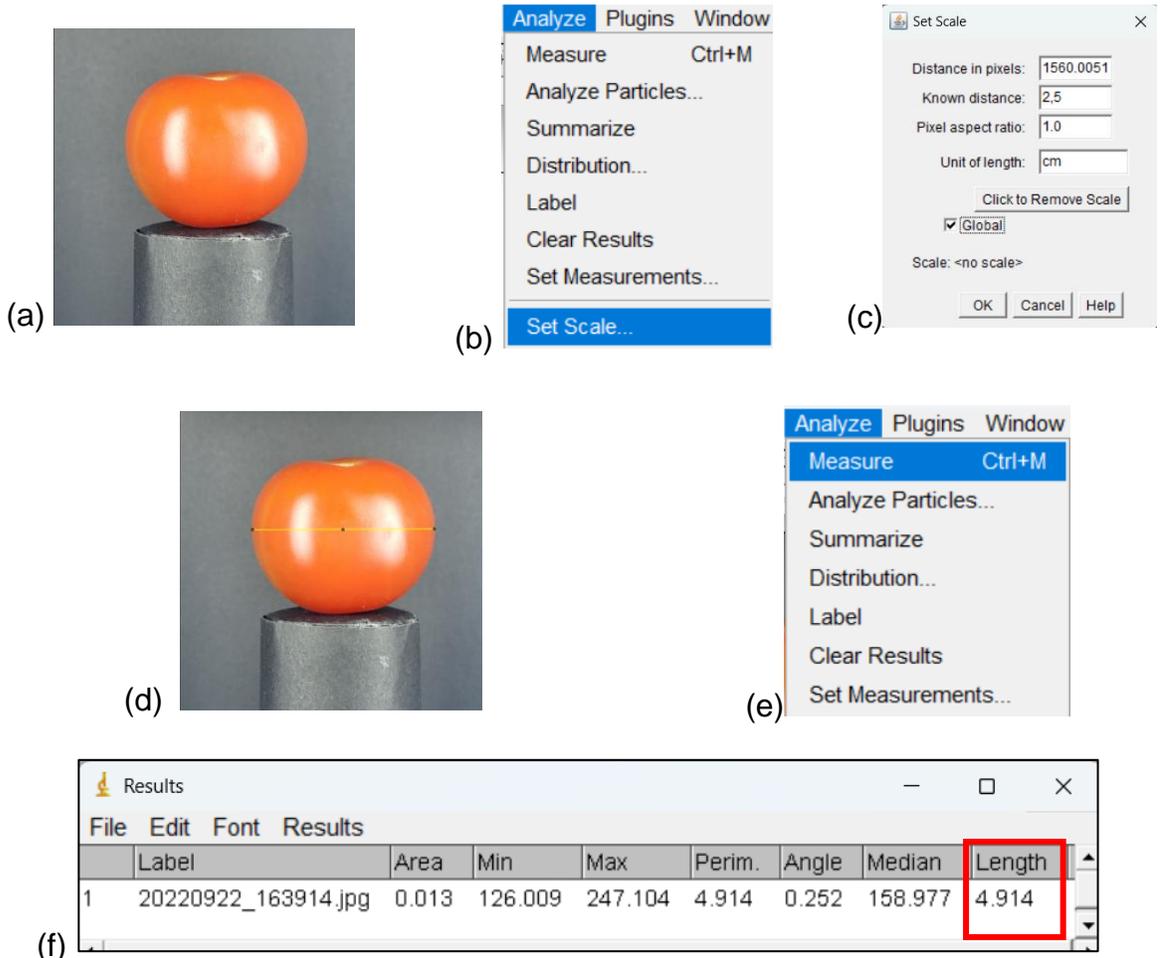


Figura 23. Procesamiento de imágenes para la identificación de tamaño. (a)Imagen original, (b)Menú de Set Scale, (c)Set Scale, (d)Análisis de ancho, (e)Measure, (f)Resultados (con largo en cm).

7.2.3. Análisis de color

El análisis de color fue realizado por medio de dos programas ImageJ y Photoshop. Para la realización del análisis de color se fotografiaron tres muestras de Frutillas. En ambos casos se realizó en primera instancia la fotografía en la cámara obscura y posteriormente en las condiciones estándar del laboratorio a aproximadamente 18cm de la muestra y se fueron rotando en ángulos de 90° para obtener una visión total del fruto.

Las fotografías de frutas destinadas para al análisis de color presentan diferente coloración en sus hojas o sus semillas. Estas regiones, si no son excluidas, ocasionan errores en el cálculo del color promedio de las muestras y para evitarlo se realizó una técnica de regiones para subdividir las imágenes en regiones de interés y de discriminación basado en el indicado por Padrón, donde se elimina el máximo y mínimo brillo de la imagen y las regiones exteriores no pertenecientes a la cáscara (Padrón-Pereira et al., 2016). Se compararán los colores recolectados por medio de la rueda cromática de Adobe Color (<https://color.adobe.com/es/create/color-wheel>), herramienta gratuita online donde se ingresará con el modo de color CIELAB (**Modo > LAB**).

7.2.3.1. ImageJ

Para la identificación del color por medio de ImageJ se basó en el realizado por Lizama (Lizama García, 2019), pero con las modificaciones señaladas anteriormente. La medición se realizará por medio de la selección del área total y la eliminación del brillo/manchas más notorias. La imagen fue transformada de espacio RGB a CIELAB por medio del mismo programa (**Image > Type > Lab Stack**), opción que abrirá una ventana que cuenta con 3 vistas (L^* , a^* , b^*). La posterior medición de color. se realizará por medio de la herramienta **Polygon Selections**, se traza el contorno del fruto y se eliminan las partes no deseadas con la misma herramienta (**Alt+ Clic izquierdo**). El Strazo guardado en Resultados con la herramienta Measure (**Analyze > Measure /Ctrl+ M**) es posible identificar los valores promedio de L^* , a^* y b^* midiendo para cada uno de los valores, como se observan en la figura 24.b).

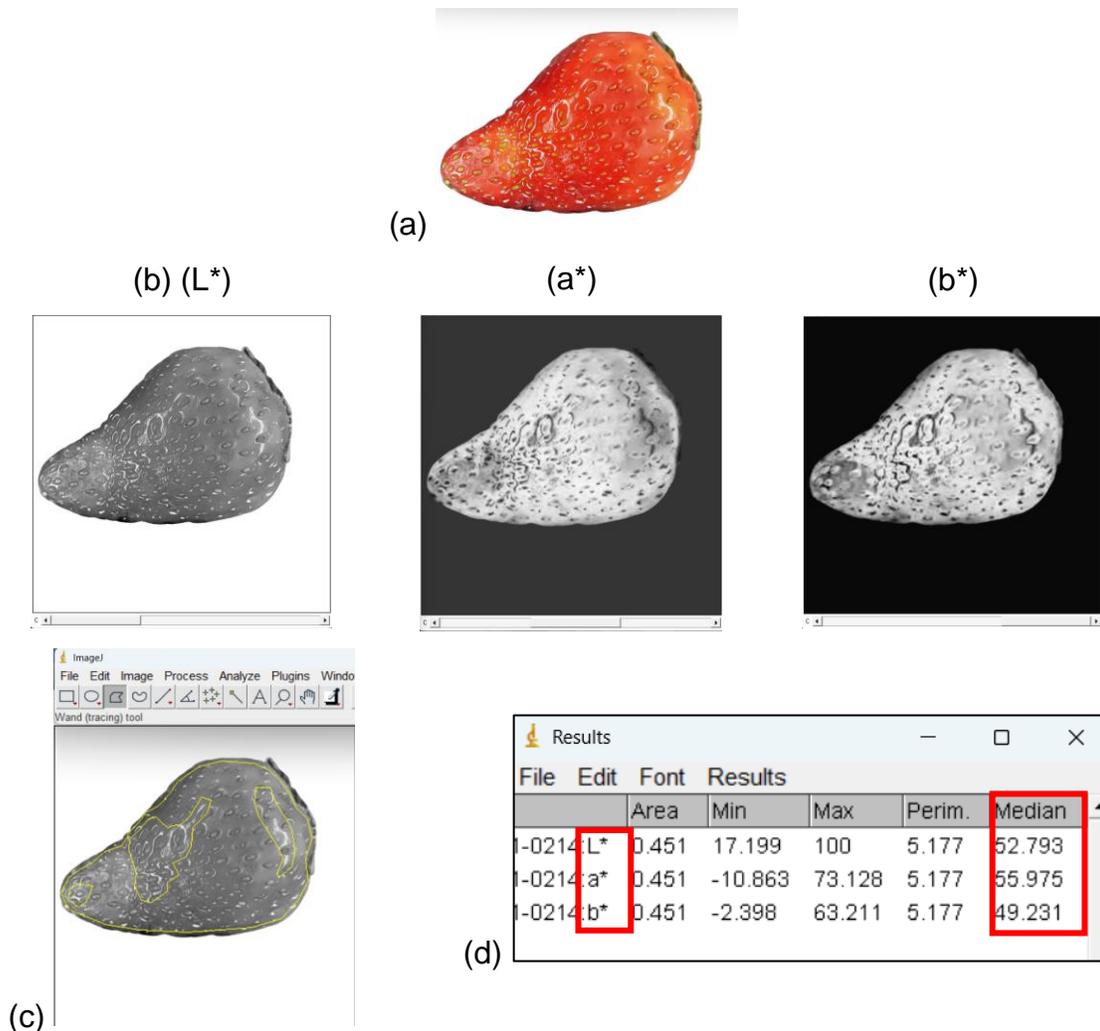


Figura 24. Procesamiento de imágenes para determinar el color en ImageJ. (a)Frutilla inicial (RGB), (b)Imagen en CIELAB (se presentan las 3 imágenes que la componen (L^*), (b^*), (a^*)). (c)Segmentación secuencial para obtener la región de interés, (d)Ventana de ROI Manager, (f)Análisis de color en CIELAB.

7.2.3.2. Photoshop

Por medio del programa se abrió la imagen y se cambió los reguladores RGB por los reguladores $L^*a^*b^*$ (**Imagen > Modo > Color Lab**) posteriormente en el menú selección se abrió la ventana gama de colores, se selección la opción muestreados y previsualización con mascara rápida (**Selección > Gama de colores > Muestreados + Invertir + Previsualizar selección: Máscara Rápida**). Con la herramienta

cuentagotas se tomó una muestra del criterio de tamaño un punto del centro de color, distinto a la sombra y/o manchas oscuras (opción que selecciona todos los colores semejantes, manchas y con brillo y los excluyó del promedio de los píxeles), luego en el menú filtro se seleccionó el submenú desenfocar, opción promediar (**Filtro > Desenfocar > Media**) y automáticamente realiza la sumatoria de todos los píxeles de la imagen, menos las sombras, manchas y/o brillantes seleccionadas (**Cuentagotas + Clic derecho > Muestra de color**).

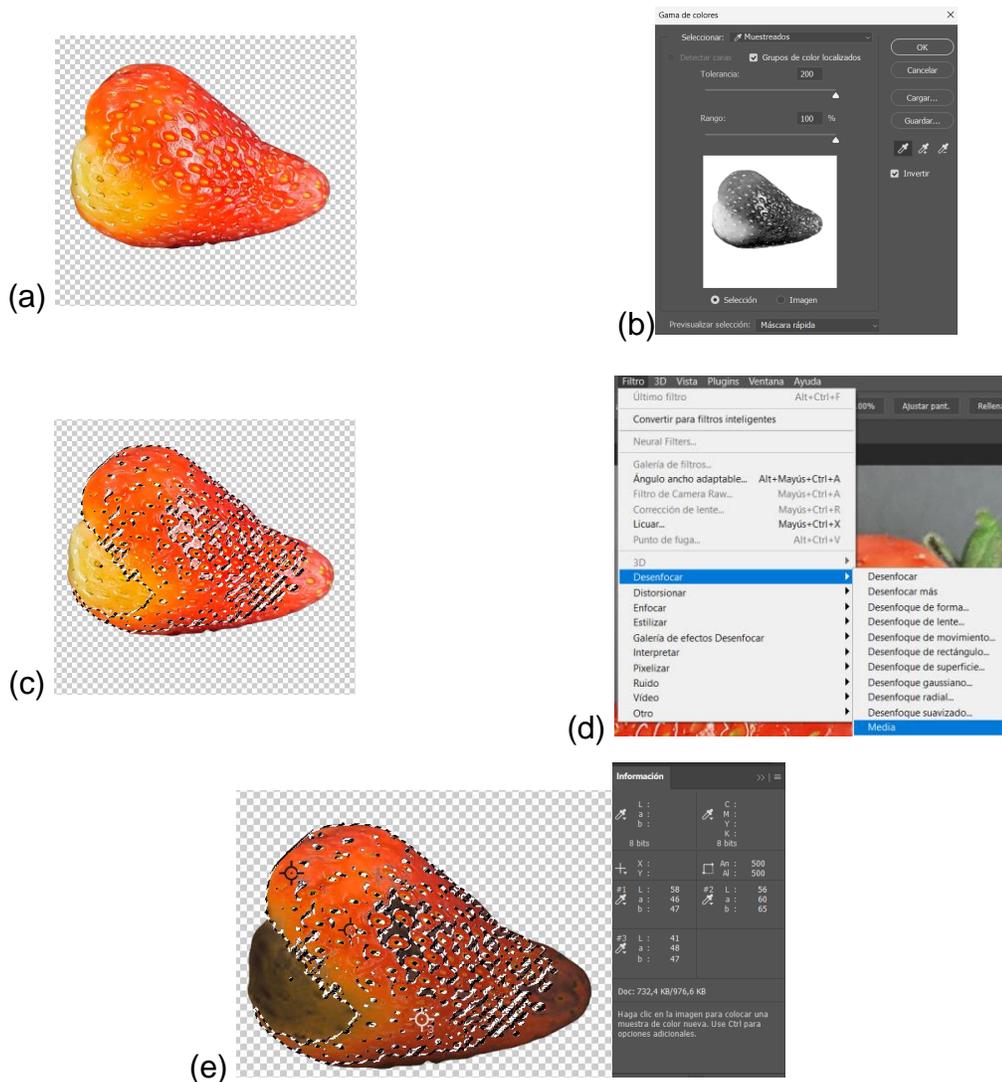


Figura 25. Procesamiento de imágenes para determinar el color en Photoshop. (a)Frutilla inicial en modo CIELAB, (b)Menú de Gama de colores, (c)Segmentación secuencial para obtener la región de interés, (d)Menú de desenfoque, (e)Color medio de la frutilla y Selección del color.

7.2.4. Análisis de emulsiones

Para la realización del análisis de emulsiones se utilizaron las imágenes obtenidas por Wang en su investigación sobre la estabilidad en el tiempo de las emulsiones Pickering (Anexo 2). La elección de esta publicación no solo es por la diversidad de tamaños de partícula obtenido a lo largo de la formulación, sino que debido a aplicabilidad de las emulsiones Pickering en la industria alimentaria para la preparación de emulsiones con propiedades texturales específicas y alta estabilidad oxidativa. Estas se caracterizan como estabilizadores de sistemas de emulsiones, ya que no solo brindan una alta resistencia a la fase de separación, alta biocompatibilidad, entre otros y puede ser de ayuda para prevenir la oxidación de la luz. (Wang et al., 2023)

Para utilizar el análisis de emulsiones, a cada imagen que se encontraba en formato RGB se le ajustó el contraste para posteriormente se convierta en 8bits (**Image > Type > 8-bits**), corregir su tono buscando dejar toda el área de interés en negro (**Imagen > Adjust > Threshold > Apply**) retirar el ruido (**Process > Noise > Despickle**) de la imagen. Se separan las estructuras negras con la herramienta Watersheld (**Process > Binary > Watersheld**) para finalmente aplicar el análisis de partículas (**Analyze > Analyze Particles**). Para el correcto funcionamiento de la herramienta a la imagen se le debió aplicar Threshold. En caso de ser necesario se puede aplicar nuevamente el retirar el ruido previo a la separación para limpiar de mejor manera la estructura.

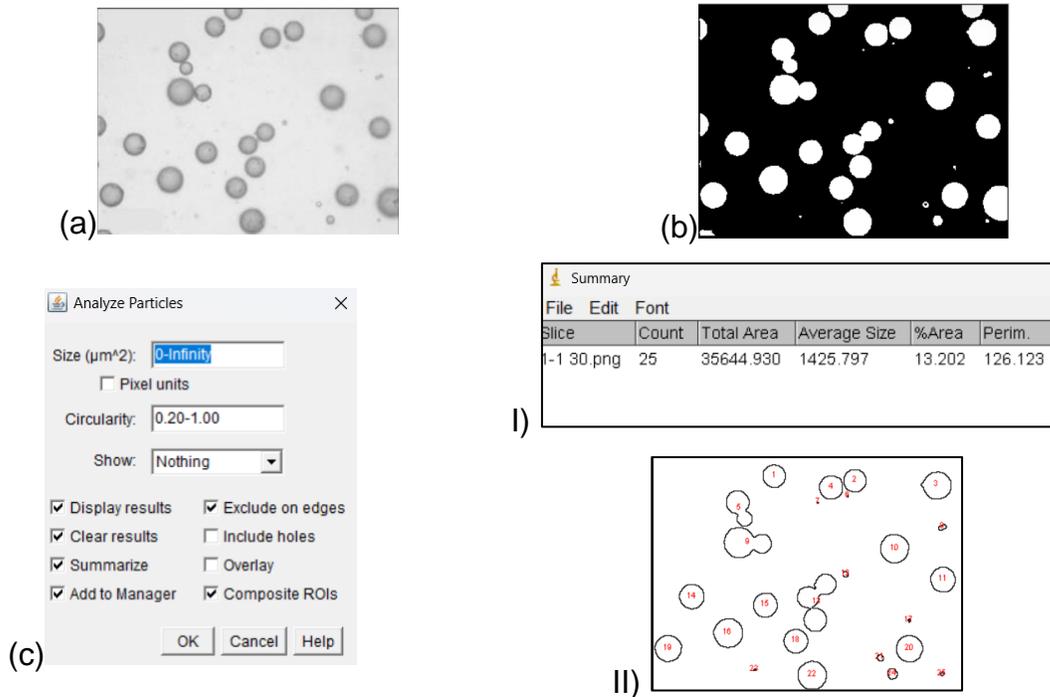


Figura 26. Uso de ImageJ para recuento de diámetro de partículas para emulsiones.

(a)Imagen en 8-bits, (b)Imagen con Threshold y con separación de estructuras, (c)Análisis de partículas: I) Recuento del análisis II) recuento de estructuras.

7.2.5. Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC)

Se realizó el análisis de UFC a las imágenes obtenidas por Stolze en su investigación sobre el cultivo de hongos de marihuana medicinal y su recuento de UFC por medio de ImageJ (Anexo 1) y que presentó un estudio cuantitativo y cualitativo con participantes para realizar el análisis. Dicha investigación se debe a que el control y testeo de la industria de alimentos de alimentos y marihuana, tiene un requerimiento el control de bacterias y hongos para las regulaciones federales, al menos de Estados Unidos, desde que la marihuana fue legalizada es de especial intención la determinación de levaduras y hongos totales presentes en los productos para evaluar problemas de salud, debido a lo anterior el análisis de las levaduras y hongos en las

muestras puede generar un problema debido a la gran concentración y superposición de las colonias lo que genera un problema para su recuento.(Stolze et al., 2019)

7.2.5.1. Recuento manual

Para el conteo manual se realizó con la herramienta adicional “Cell Counter” (**Plugins > Cell Counter**)(Stolze et al., 2019).

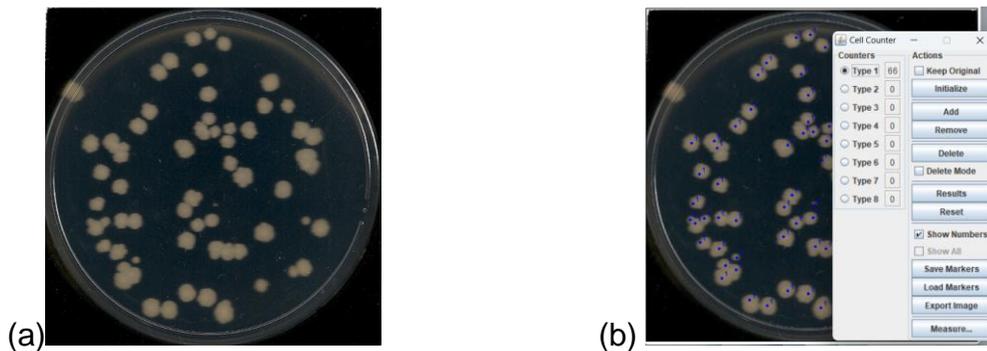


Figura 27. Conteo manual ImageJ de células en Petrifilm.

(a)Imagen Original, (b)Cell Counter

7.2.5.2. Recuento automático

Para utilizar el análisis de unidades formadoras de colonias, a cada imagen se le retira el fondo exterior a la placa Petrifilm, para ello marcamos el área de la placa (**Oval > Edith > Clear Outside**). La imagen que se encuentra formato RGB se le ajustó el contraste para posteriormente se convierta en 8bits (**Image > Type > 8-bits**), corregir su tono buscando dejar toda el área de interés en negro, es decir con fondo blanco (**Imagen > Adjust > Threshold**). Convertimos la imagen a una “máscara” (**Process > Binary > Convert to Mask**) y separar las colonias con la herramienta Watersheld con 1 pixel de ancho (**Process > Binary > Watersheld**) para finalmente aplicar el análisis de partículas (**Analyze > Analyze Particles**).

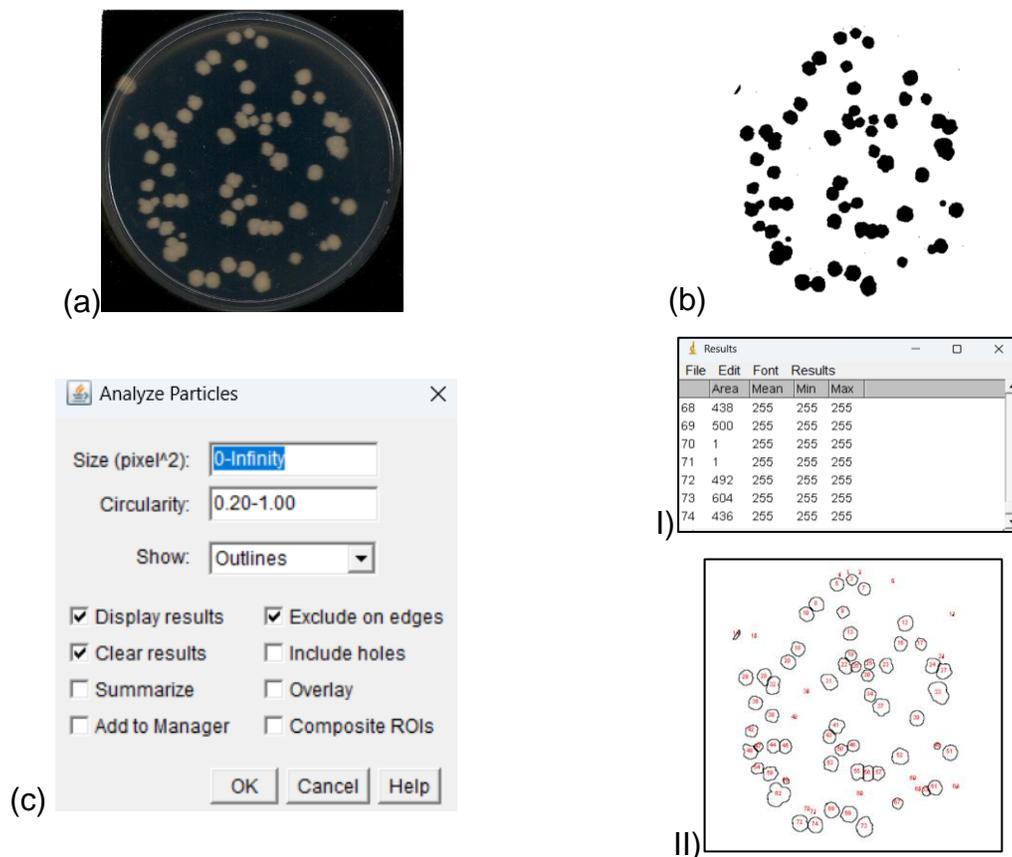


Figura 28. Conteo automatizado por ImageJ de células en Petrifilm.

(a) Imagen original, (b) Imagen Threshold, (c) Análisis de partículas: I) Resultados, II) Sombreado de cada partícula analizada.

7.3. VALIDACIÓN DEL INSTRUCTIVO “USO DE IMAGEJ”

Para la validación del manual se contactó con alumnos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile. Por medio de una encuesta online realizada por el formulario de Google, la cual consistía en un análisis cualitativo del uso del instructivo el cual fue medido en tres etapas.

Primera etapa de evaluación de instalación: 1) si es posible instalarlo y en qué sistema operativo. La segunda etapa, por medio del uso del “Instructivo de uso de ImageJ” realizar el análisis de recuento de semillas, color y UFC (Figura 29), donde se

identificará si instructivo fue: 1) de fácil comprensión, 2) se logró el objetivo de la medición de color, área y recuento de unidades de una imagen y la última etapa retroalimentación. Posteriormente se realizará el análisis cuantitativo de los resultados obtenidos por los participantes en relación con los obtenidos en el análisis de casos.

Con la información cualitativa recolecta de la experiencia se realizaron modificaciones en el instructivo, que permitirán su mejor aplicación y fluidez en el uso.

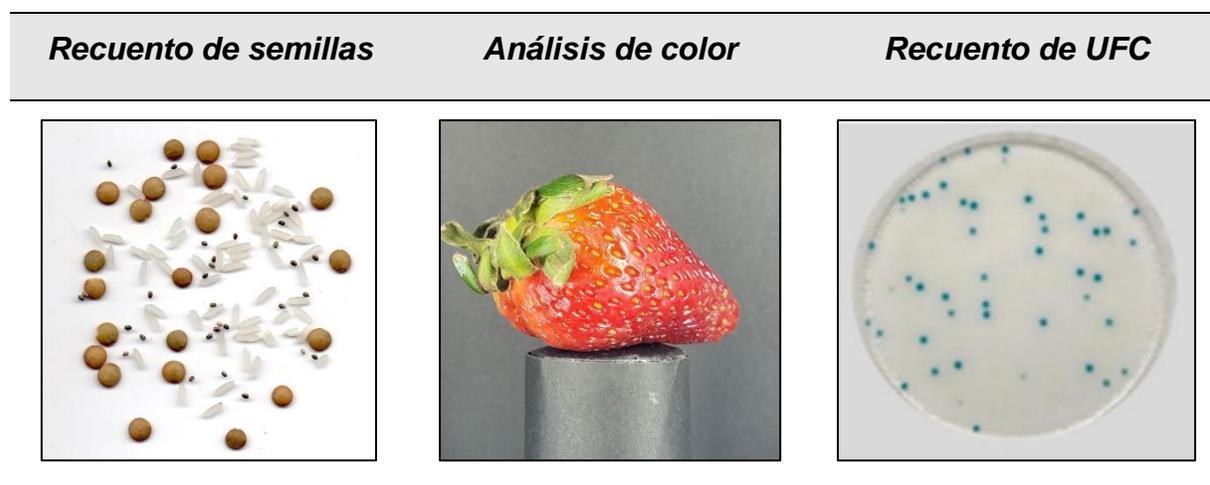


Figura 29. Imágenes seleccionadas para análisis.

7.4. ANÁLISIS DE CASOS

El análisis de casos será realizado con el programa ImageJ versión 1.54h (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>), utilizando las herramientas básicas que cuenta el programa como son Line, Multipoint, Set Scale, Analyze Particles, ROI Manager entre otros. Como también el plugins disponibles en línea como: GLCM Texture (<https://imagej.net/ij/plugins/texture.html>), Extended ToolBox (https://imagej.net/plugins/biovoxxel-toolbox#Extended_Particle_Analyzer) y SDBC (<https://github.com/perchrh/ImageJFractalDimension?tab=readme-ov-file>). Los análisis realizados a los alimentos chilenos (piñón y arándano) serán basados en el trabajo de Baima, quién realizó análisis morfométricos, de color, de textura y fractal utilizando las herramientas de ImageJ (Baima & Ribotta, 2019)

7.4.1. Materiales

7.4.1.1. Piñón (*Araucaria Araucana*)

El piñón es la semilla fruto del árbol *Araucaria (Araucaria araucana)* que es un árbol nativo de Chile y Argentina, y que es un monumento natural ya que su forestación no supera los 450.00ha y de la cual el 74% se encuentra en Chile, especialmente en la IX Región (Escobar Álvarez & Estévez A, 2008; Fundación para la Innovación Agraria, 2010). Los piñones es un alimento importante dentro de la cultura Mapuche, especialmente en la etnia Pehuenche. Su recolección es principalmente en otoño, pero su disponibilidad a granel a nivel nacional ya que se comercializa la semilla seca. Sus características morfológicas presentan la semilla son formada de una cubierta externa alargado, cuneiformes, de un atractivo color pardo rojizo, de 3,5 a 4,5 cm de largo, entre 1,2 a 2,0 cm de ancho y con un peso de 3,5 a 4,0 gramos (Cortés et al., 2019; Escobar Álvarez & Estévez A, 2008; Fundación para la Innovación Agraria, 2010).

Si bien existe un mercado internacional para piñones (*Pinus pinea*), el piñón chileno al provenir del árbol protegido del país no se exporta como materia prima, pero en los últimos años se ha considerado exportarlo como producto elaborado de producción y control regional, debido a su recolección y respeto por nuestras raíces (Fundación para la Innovación Agraria, 2010).

Para el análisis de casos utilizaremos 30 unidades (aproximadamente 25 gramos) de piñón chileno, los cuales fueron fotografiados con luces led, sobre un fondo blanco y una barra de medida de 2cm como referencia. La elección de la semilla es debido a su estacionalidad, importancia histórica (ancestral) y por su apariencia corniforme alargada, atractivo color y textura superficial.

7.4.1.2. Arándano (*Vaccinium Corybosum*)

El arándano es la cuarta fruta de interés económico en el mundo, debido al contenido de antioxidantes y a la resistencia del cultivo a condiciones ambientales adversa. Es una fruta muy apreciada por los países del hemisferio norte, principalmente Estados Unidos de América (56%) y algunos países de Europa (22%) y dicha exportación 2023-

2024 fue de 82mil toneladas del fruto fresco.(Fresh Plaza, 2024; MundoAgro, 2023; Pinedo Montoya, 2019)

Son bayas regulares casi esféricas azules de 1 a 3 gramos de peso, dependiendo de la especie y el cultivar puede variar en tamaño de 7 a 15mm, de diámetro, en casos de frutos comerciales pueden llegar a los 21milímetros de diámetro. Dentro de las características de calidad comercial se destacan el calibre (diámetro inferior a 12mm), forma (irregular), color (verde, 10% de su superficie o rojizo ,20% de su superficie) o defecto de su condición como la deshidratación del fruto (aparición de arrugas en la piel del fruto por la pérdida de agua).(Comité de Arándano de Chile & Asociación de Exportadores de Frutas de Chile (Asoex), 2013; Fresh Plaza, 2024; Pinedo Montoya, 2019)

Para el análisis de casos utilizaremos 3 unidades de arándano frescos adquiridos de un distribuidor nacional hortícola, los cuales fueron fotografiados cada 45° por lado con la cámara oscura, considerando los 2,5 cm de base como referencia. La elección del fruto es debido a su disponibilidad anual, importancia como fruto de exportación y por su apariencia homogénea circular, de color uniforme y suave textura.

7.4.2. Análisis morfométrico y color

7.4.2.1. Análisis morfométrico

Mediremos la morfología utilizando el plugin Extended Particle Analyze (Análisis de partículas Extendido) perteneciente al paquete de herramientas Extended ToolBox. Medir la distancia conocida con la herramienta línea (***Straight + Clic izquierdo y arrastrar hasta el final***) posteriormente ingresamos a la distancia conocida (***Analyze > Set Scale > Global > OK***). A cada imagen que se encontraba en formato RGB se le ajustó el contraste para posteriormente se convierta en 8bits (***Image > Type > 8-bits***), corregir su tono buscando dejar toda el área de interés en negro (***Imagen > Adjust > Threshold > Apply***), retirar el ruido (***Process > Noise > Despickle***) de la imagen para finalmente aplicar el análisis de partículas extendido (***Plugins > BioVoxel >***

Extended Particle Analyze). Para el correcto funcionamiento de la herramienta a la imagen se le debió aplicar Threshold.

Mediante la realización de dicho análisis obtendremos de manera automática los parámetros morfométricos de área (cm^2), perímetro (cm), circularidad (similitud del objeto comparado con un referente perfectamente circular, donde 1 es un círculo perfecto), diámetro de Feret(mayor distancia de separación entre dos pixeles tomados a orientaciones diferentes), Solidez (relación de área por el área de su casco convexo, 0-1 reporta cuan suave y convexo es el contorno del objeto) y Relación de Aspecto(AR, proporción entre ancho y altura de una imagen).(Yonis et al., 2020)

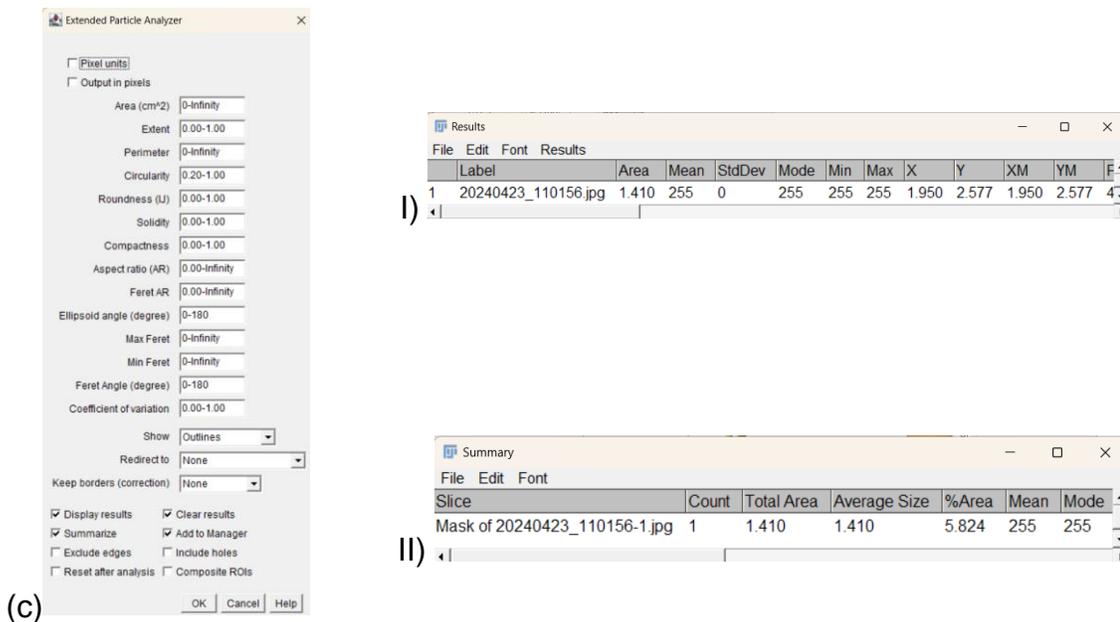


Figura 30. Uso de Análisis de Partículas Extendido para análisis de casos. (a)Imagen 8bits, (b)Imagen con Threshold, (c)Menú de Análisis de Partículas Extendido: I) Resultados, II) Promedio de resultados

7.4.2.2. Análisis de color

El análisis de color de frutos chilenos se llevará a cabo por medio del método de análisis de color por ImageJ (7.2.3.2). La imagen fue transformada de espacio RGB a CIELAB por medio del mismo programa (**Image > Type > Lab Stack**), opción que abrirá una ventana que cuenta con 3 vistas (L^* , a^* , b^*). La posterior medición de color. se realizará por medio de la herramienta **Polygon Selections** (para piñón) y/o **Oval** para arándano, se traza el contorno del fruto y se eliminan las partes no deseadas con la misma herramienta (**Alt+ Clic izquierdo**). El trazo guardado en Resultados con la herramienta Measure (**Analyze > Measure /Ctrl+ M**) es posible identificar los valores promedio de L^* , a^* y b^* midiendo para cada uno de los valores, como se observan en la figura 24.b).

7.4.3. Análisis De Textura

7.4.3.1. Matriz de coocurrencia en escala de grises

Para realizar el análisis de textura utilizaremos el plugin Textural features base in GLCM v04 (GLCM Texture). A cada imagen que se encontraba en formato RGB se le ajustó el contraste para posteriormente se convierta en 8bits (**Image > Type > 8-bits**) y se le seleccionó el área de interés con ROI desde un extremo al otro del fruto pasando por la parte media (**Rectangle + click izquierdo y arrastrar hasta el final**), determinar las características de la textura superficial mediante la Matriz de ocurrencia en escala de grises (**Plugins > GLCM Texture**).

Mediante la realización de dicho análisis obtendremos los parámetros de energía (ASM, Angular Second Moment, medida de la homogeneidad local de la imagen), contraste (CON, medida de variación local del nivel de gris), Homogeneidad (IDMM, Inverse Difference Moment, medida de la diferencia de la intensidad de gris en pixeles vecinos) entropía (ENT, variable relacionada con el orden o desorden de la imagen y se relaciona con la textura de la imagen).

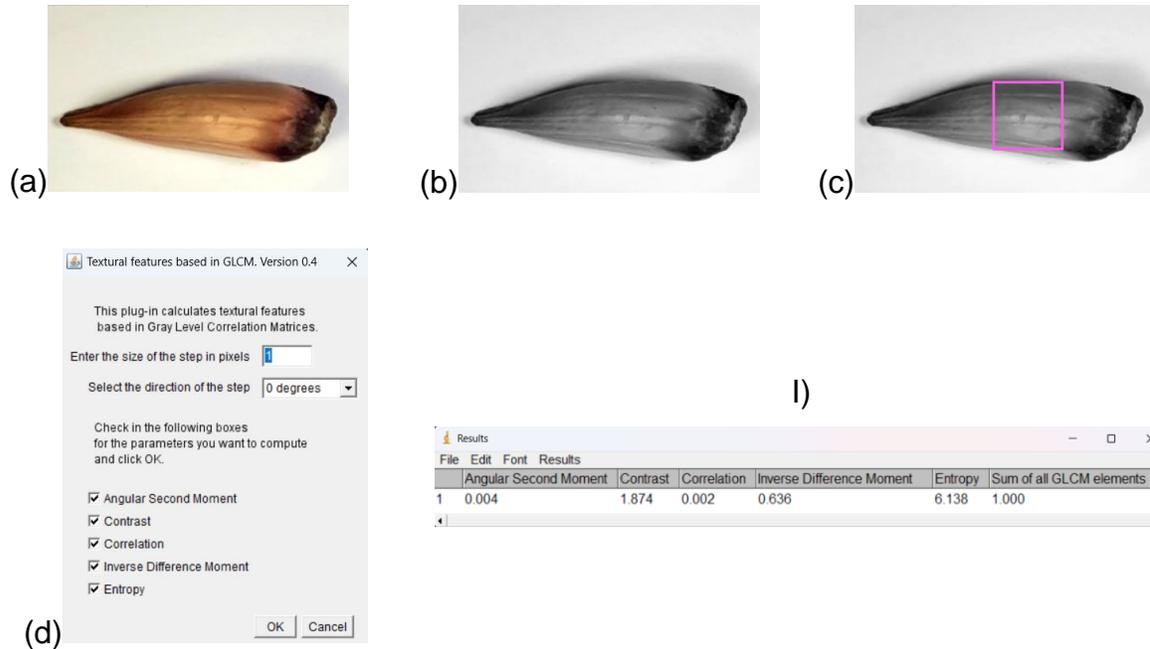


Figura 31. Uso de Textural features base in GLCM (GLCM Texture).
 (a) Imagen Original, (b) Imagen en 8bits, (c) Imagen con la sección a analizar señalada, (d) Menú de GLCM Texture: I) Resultados

7.4.3.2. Dimensión fractal

Se utilizó el Algoritmo Modificado de Conteo Diferencial de Cajas (SDBC, Shifting Differential Box Counting) para determinar los valores de la dimensión fractal de la textura de las imágenes, la que es posible utilizar para caracterizar la textura de las superficies y expresarla como una medida de la rugosidad o irregularidad que presenta la superficie de una imagen. (Baima & Ribotta, 2019). A cada imagen sin fondo que se encontraba en formato RGB se convirtió a 8bits (**Image > Type > 8-bits**), se seleccionó un área de 180x180 píxeles para generar un diagrama de Intensidad de superficie (**Analyze > Surface Plot**) el cual es generado a partir de los píxeles de la imagen en 2D en escalas de grises (ejes x, y) y la intensidad de esta (eje z). El diagrama será cuantificado utilizando la dimensión fractal (**Plugins > SDBC**), la configuración del tamaño de las cajas se consideró como “automático” que es la opción entregada por el programa. El valor de la dimensión fractal de superficie (DF_{sup}) se calculó mediante

la relación entre el logaritmo de número de cajas (N) y el logaritmo del tamaño de estas ($1/r$). Los valores de dimensión fractal oscilan entre 2 y 3. Las superficies lisas, sin rugosidad, presentan valores numéricos próximos a 2, mientras que las superficies altamente rugosas presentan un incremento en la dimensión fractal (Baima & Ribotta, 2019)

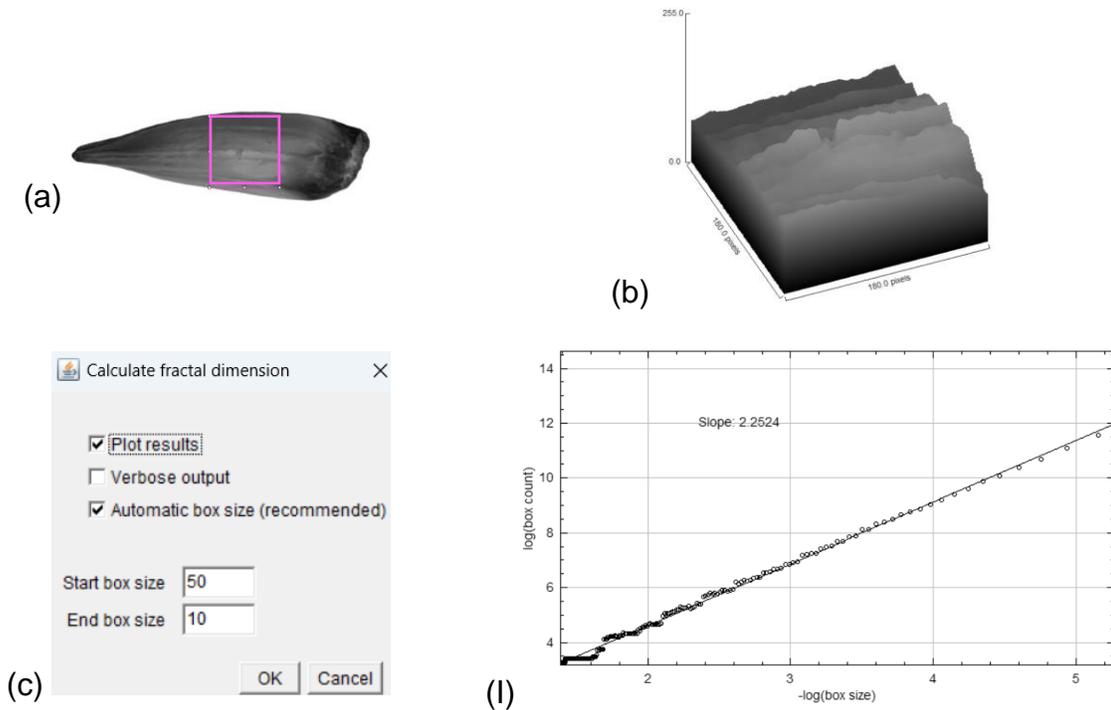


Figura 32. Uso Algoritmo Modificado de Conteo Diferencial de Cajas (SDBC) para calcular DF_{sup} .

(a) Imagen en 8bits, (b) Imagen en binario, (c) Menú de SDBC: I) Diagrama de Fractales

La dimensión fractal de contorno (DF_{cont}) se evaluó utilizando el Conteo Diferencial de Cajas sobre imágenes de los contornos de los frutos, mientras más irregular el contorno mayor será su DF_{cont} . Las imágenes sin fondo fueron convertidas de RGB a 8Bits (**Image > Type > 8-bits**), posteriormente la imagen en binario (**Process > Binary > Make Binary**) y se calculó el contorno de la figura con (**Analyze > Tools > Fractal Box Count**), la configuración del tamaño de las cajas se consideró como “automático” que es la opción entregada por el programa.

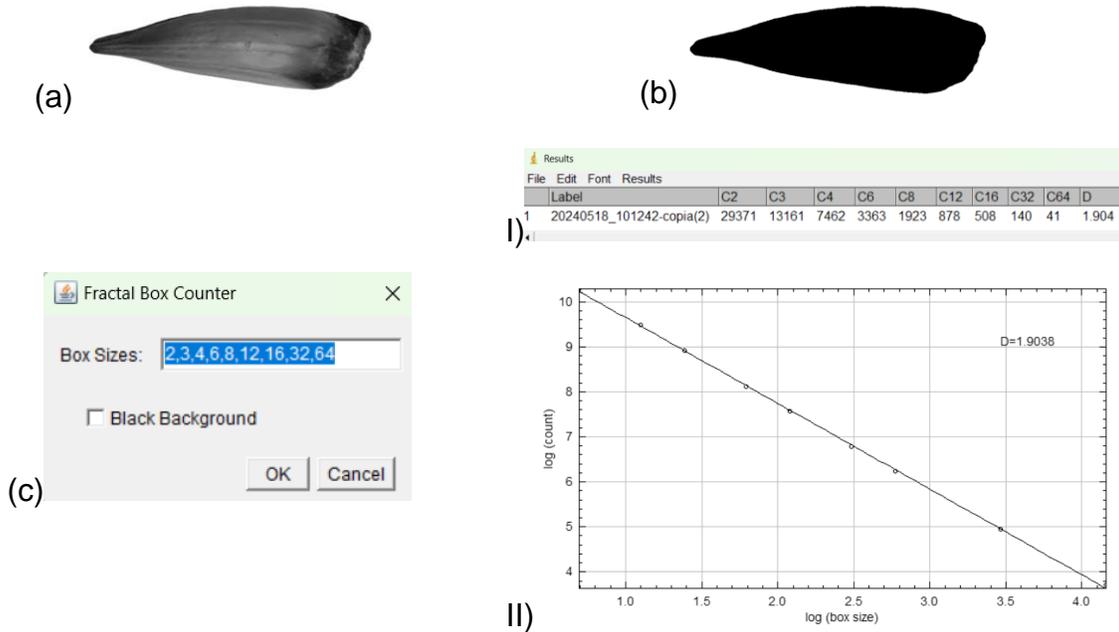


Figura 33. Uso Conteo Diferencial de Cajas (SDBC) para calcular DF_{cont} .
 (a) Imagen en 8bits, (b) Imagen en binario, (c) Menú de Fractal Count Box: I) Resultados, II) Diagrama de Fractales

7.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis que fueron realizados se ejecutaron por triplicado y sus resultados fueron expresados como promedio \pm análisis estadístico para las comparaciones de imágenes se realizará en el programa Statgraphics© para la realización de la prueba ANOVA ($\alpha=0,05$).

8. DESARROLLO Y DISCUSIÓN

8.1. ESTADO DEL CONOCIMIENTO CIENTÍFICO

8.1.1. Métrica de Publicaciones

El procesamiento de imágenes digitales es el conjunto de técnicas que se aplican a las imágenes digitales con el objetivo de mejorar la calidad o facilitar la búsqueda de información, mientras que el análisis de imágenes se refiere a la extracción de información cuantitativa y cualitativa a través de una imagen (Dubey & Jalal, 2015). Considerando lo anterior, para la realización de la métrica de publicaciones se realizó la búsqueda el día 10 de diciembre del 2023 en WOS con las palabras clave “ImageJ” e “Image analysis”, se encontraron un total de 2340 publicaciones para la búsqueda. Siendo la primera publicación en el año 2003 con el uso del programa y existiendo un crecimiento lento pero sostenido hasta el año 2014, posterior a esta fecha existió un aumento de la generación de conocimiento en el área de análisis de imágenes ya que se registran más de 100 publicaciones anuales, obteniéndose la mayor cantidad de publicaciones por año en el 2023 siendo 275 publicaciones en dicho año.

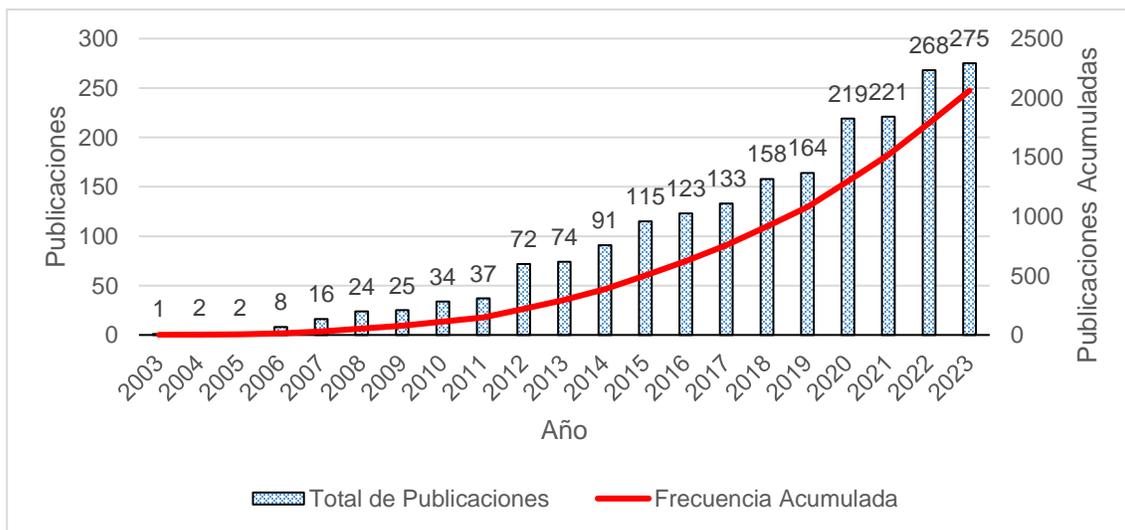


Figura 34. Gráfica de total de publicaciones y su frecuencia acumulada por año.

Cabe destacar que a partir del año 2020 existió un crecimiento de 10% de publicaciones anuales, este incremento en el número de publicaciones puede ser atribuible a las mejoras en las tecnologías y al crecimiento en el uso de herramientas digitales en los campos de las ciencias y el acercamiento de estas a los establecimientos educacionales, motivando la investigación y el desarrollo de conocimientos. (Martín Vilches et al., n.d.; Rueden et al., 2017) Ya que para el año 2024 se proyectan hasta el momento 278 publicaciones el área, siendo la mayor cantidad de publicaciones hasta el momento con un 12% de las publicaciones totales para este año.

8.1.1.1. Tipo de documentos

En el universo de publicaciones observa que el tipo de publicaciones realizadas fueron en su mayoría artículos de investigación obteniendo el 96% de las publicaciones, 1,5% de publicaciones de acceso temprano 1,0% en revisiones, 0,2% en ponencias y capítulos de libros. Demostrando que la mayor generación de conocimiento es en la investigación científica.

8.1.1.2. Países

Con respecto al desarrollo de estos conocimientos, Estados Unidos es el líder mundial en el desarrollo de publicaciones en el uso de ImageJ y procesamiento con análisis de imágenes con 610 publicaciones (19,2% del total), seguido por Alemania e Inglaterra con 219 y 177 publicaciones respectivamente. En la figura 35, se puede observar la relación de número de publicaciones científicas por país, destacando los países que tienen al menos 5 publicaciones en procesamiento de imágenes e ImageJ.

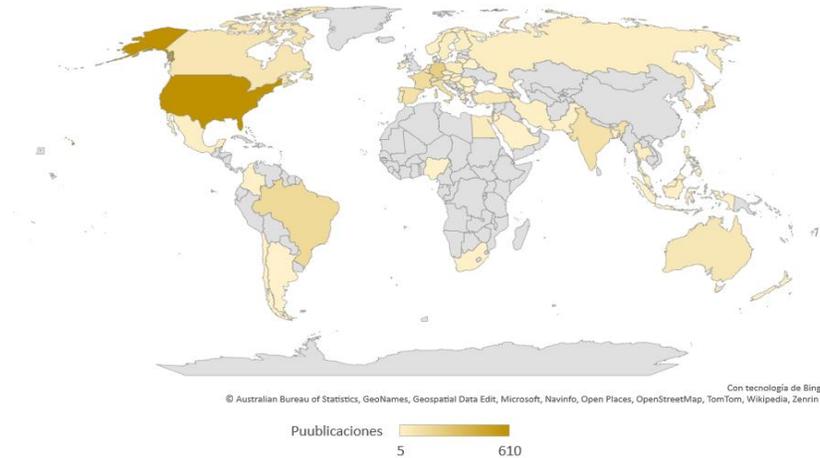


Figura 35. Representación de publicaciones científicas por país.

Entre los países latinos Brasil posee el mayor número de publicaciones con 153 publicaciones, quinta posición de publicaciones a nivel mundial, representando una gran potencia no sólo regional en esta área de conocimientos; México ocupa el segundo lugar regional con 26 publicaciones, seguido de Chile y Colombia en tercer lugar con 10 publicaciones cada uno, lo que propone un nuevo campo de conocimiento a potenciar ya que la existencia y la posibilidad de crecimiento regional es posible.

8.1.1.3. Categorías

En el ámbito de las categorías de publicación que fueron exploradas en el análisis de las publicaciones analizadas, la categoría de Ciencias y Tecnología de Alimentos (Food Science Technology) no ha tenido mucha representación como se observa en la figura 36, ya que ocupa el vigésimo séptimo lugar con un 1,7% del total de publicaciones, mientras que las ciencias multidisciplinares (Multidisciplinary Science) que es la categoría con mayor presencia ocupa el 9,4%. La predisposición de la investigación en las ciencias de la salud, así como química y biología se puede atribuir (González, 2018; Schroeder et al., 2021) a la presencia de los programas Fiji y ImageJ2 que están específicamente destinados a usos de análisis específicos en estas áreas (Rueden et al., 2017; Schindelin et al., 2012).

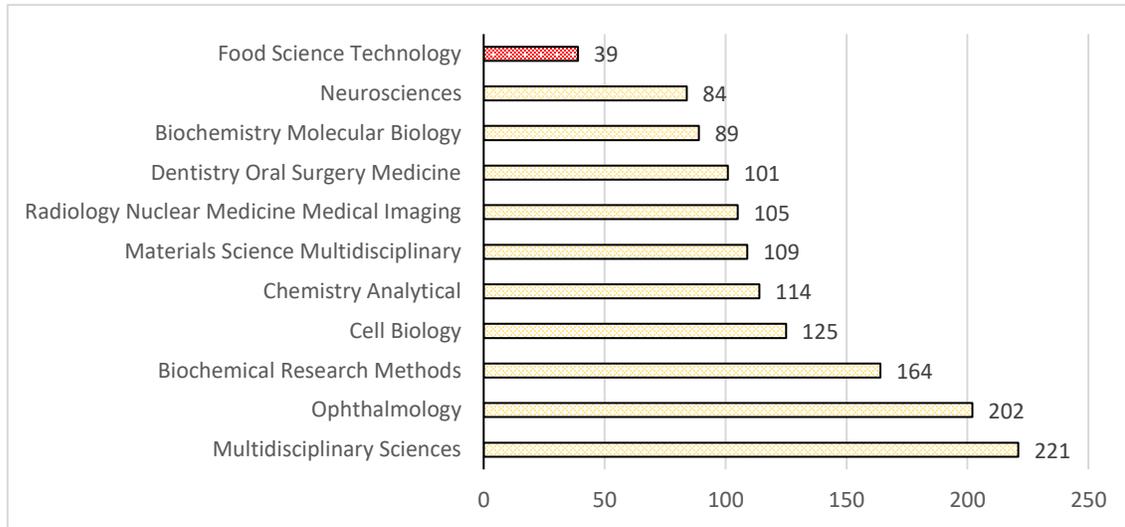


Figura 36. Diagrama de categorías de WOS según la cantidad de publicaciones.

Considerando lo anterior, podemos atribuir que el procesamiento de imágenes es una categoría moderna y de crecimiento en el área de la ciencia, al igual que avanza según se mejoran las tecnologías y el acceso a las mismas por partes de las personas. Considerando este avance y mejora continua, programas como el ImageJ y sus derivados, son de gran importancia para la evolución de las ciencias digitales.

8.1.2. Métrica de citas

Con respecto al uso de los conocimientos generados, la métrica de citas demuestra un incremento sustancial del uso citas desde el año 2012 al 2021(16% de las citas totales), mientras que existió un ligero decrecimiento en las citas entre 2022 y 2023 con un 15,8% y 13,7% respectivamente, igualmente se utilizan más de 17000 citaciones en el tema de análisis de imágenes que no han decrecido desde el 2020.

En la figura 37 se aprecia que según aumentan las publicaciones, aumentan las citas relacionadas con las publicaciones llegando a su máximo de citas en el 2021, obteniendo 20538 citas para las 275 publicaciones realizadas en dicho año.



Figura 37. Gráfica de Cantidad de Publicaciones y Citas realizadas desde el 2004

Se puede observar que a partir del año 2010 se presenta un crecimiento lineal (r^2 de 0,94) para las citas realizadas, obteniendo sobre un 20% de tasa de crecimiento para cada año. Este crecimiento lineal de la métrica de citas es concordante con el incremento de publicaciones y se espera, considerando el aumento en el número de publicaciones que siga con su crecimiento lineal.

Con respecto a las publicaciones más influyentes, se pueden observar en la Tabla 1. donde se presentan las tres publicaciones más citadas. La publicación más citada es: *“NIH Image to ImageJ:25 years of image analysis”* de Schindelin en el 2012 ocupando el 39% de las citas para la categoría buscada. Este artículo posee la característica que explica a profundidad los inicios de la herramienta desde la necesidad de la existencia de un software de análisis de imágenes para Mac y su migración a los otros sistemas operativos en forma de ImageJ (formato Java), sus descendientes (Fiji y de ImageJ2) y futuras aplicaciones. Informando cómo ha crecido en sus características a través del desarrollo e implementación de la misma comunidad a través de plugins, las dificultades que abarca el formato tan simple del software, como fue el aceptar todos los tipos de formatos de imágenes para su análisis y la conectividad con otros

programas que permitan la migración de su información de una manera práctica, como es el Imaris, Cell Profiler y Knime.

Tabla 1. Publicaciones más relevantes según las citas totales realizadas

Publicación	Autor	Citas Totales
<i>NIH Image to ImageJ:25 years of image analysis</i>	(Schneider et al., 2012)	38900
<i>Fiji: an open-source platform for biological-image analysis</i>	(Schindelin et al., 2012)	34602
<i>ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data</i>	(Rueden et al., 2017a)	3562

El segundo y tercer artículo con mayor influencia presentan características similares al ser análisis profundos a las herramientas Fiji e ImageJ2, las cuales como ya se ha señalado son sucesoras de ImageJ enfocadas en un ambiente más biomédico. El artículo de Schindelin realiza una visión retrospectiva de Fiji, destacando su uso enfocado en el mundo de la imagen biológica y que como herramienta posee amplias librerías de softwares que mayor potencia y utilización que su antecesor, pero destacando la característica de transformar cualquier algoritmo, que sean generados para este software, transformarlo a ImageJ como plugins permitiendo así el crecimiento continuo de este último, permitiendo así el crecimiento continuo del programa e interacción entre ellos. El artículo de Rueden destaca la gran demanda que existía por el ámbito de la biología por la herramienta ImageJ, generando un gran crecimiento de plugins una amplia demanda, y como ellos dieron pie siguiente paso para dar abasto al continuo crecimiento, desarrollaron ImageJ2, un completo rediseño de su antecesor al ser una herramienta más robusta, con una arquitectura mejorada que debiera acompañar sin problema a las demandas científicas de las próximas décadas proyectadas. Cabe destacar que el segundo y tercer artículo más citados han tenido entre sus autores al doctor Johannes Schindelin, cuyas categorías de

investigación son ciencias y tecnologías, matemáticas y biología computacional, biotecnología y microbiología aplicada, lo que ya destaca que existen investigadores dispuestos a enfocarse en el área de investigación científica computacional.

La realidad nacional de las 10 publicaciones realizadas en el área, la más citada es la primera publicación “*Study on image análisis application for identification Quinoa seeds (Chenopodium quinoa Willd) geographical provenance*”, donde se realizaron mediciones geométricas, características morfológicas, dimensiones de fractales y análisis de color en 28 variedades de Quinoa aplicando el software ImageJ para su realización (Medina et al., 2010). En dicho artículo destacan la importancia del mercado global y el lugar de origen de los productos, destacando la importancia que esta posee sobre la calidad de los productos, los procesamiento de satirización y al regulación en los mismos, proponiendo el uso de ImageJ como herramienta para medir estos parámetros desde un punto de vista computacional y de varias muestras al mismo tiempo, permitiendo identificar efectivamente las regiones de origen del producto (en este caso quinoa) a partir de sus características morfológicas y color. La publicación sigue señalando la utilización del análisis de imágenes como herramienta de control de calidad de productos y que pueden generar un posible impacto en la agricultura e ingeniería de alimentos ya que son métodos que pueden ser atribuibles a productos similares, en este caso específico cereales.

8.2. ANÁLISIS DE IMÁGENES

8.2.1. Recuento y predicción de semillas

8.2.1.1. Semillas de zapallo

Los resultados obtenidos demuestran que en el conteo una a una se observan como resultado 36 semillas, mientras que con la predicción se obtienen 38 ± 3 semillas.

Por su contraparte la imagen no estandarizada de las semillas (figura 38.a), se tomó la misma muestra, pero fue fotografiada y registrada a luz artificial ambiental. Por

medio de la aplicación del 8 bit, se observar el “ruido” presente en la fotografía lo que genera que se deba realizar una limpieza del borde la misma foto (figura 38.b y figura 87.c) para poder posteriormente realizar el recuento por medio del análisis de partículas.

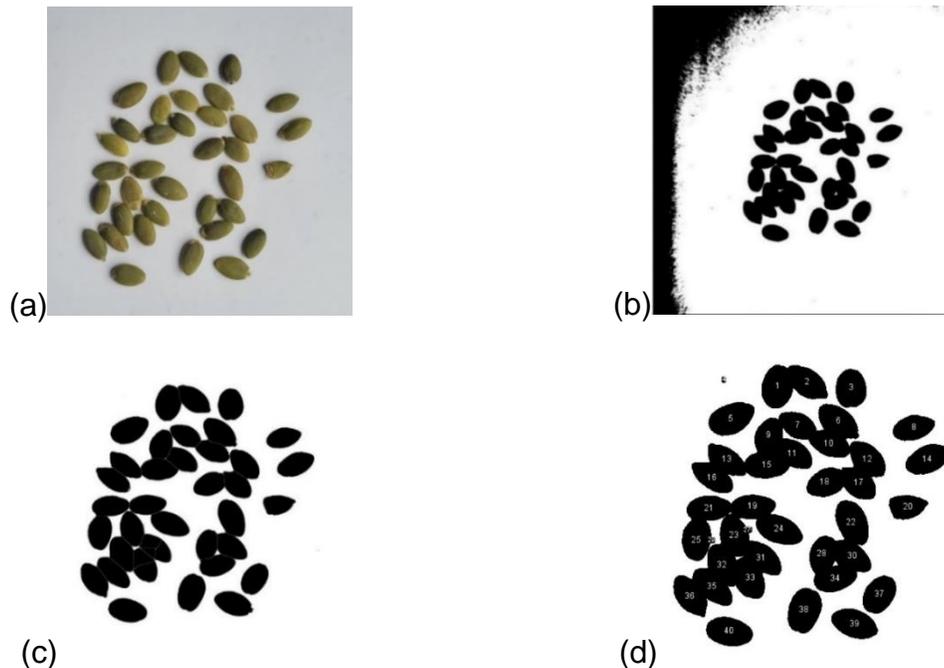


Figura 38. Fotografía de 6 gramos de semillas de zapallo.

(a)Imagen original, (b)Imagen en 8Bits con aplicación de Thershold, (c)Limpieza de fondo y preparación para análisis, (d)Recuento con análisis de partículas.

En esta oportunidad obtenemos un conteo de $50 \pm 20,1$ semillas, debido a las imperfecciones presentes con la definición del contorno de las semillas. En la figura 39 se observan los bordes de las semillas, donde se presentan unas pequeñas estructuras, las cuales son contabilizadas por el programa, impidiendo tener una precisión más certera a la imagen estandarizada y genera el exceso en la predicción.

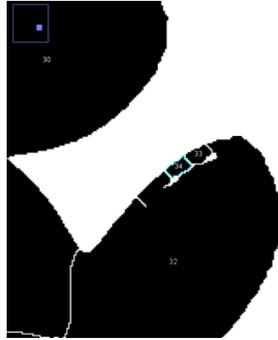


Figura 39. Aplicación de Análisis de partículas en microestructuras de las semillas

8.2.1.2. Semillas de maravilla

Se puede observar que el recuento manual da como resultado 186 semillas de maravilla, mientras que el recuento de partículas da como resultado $293,7 \pm 110,3$ unidades. Al igual que con el caso anterior, la diferencia es atribuible a la formación de pequeñas partículas a partir de la imagen original al general el traspaso a 8bit, lo que da como resultado una sobrevaloración de las semillas.

En esta oportunidad, debido al tamaño presente en la semilla de maravilla, a pesar de poseer la imagen estandarizada para el análisis, se puede observar el mismo problema de definición, al aglutinarse entre ellas (Fig.39.b), y con la herramienta división (Watersheld) separar las estructuras que se fueron uniendo.



Figura 40. Escáner de 4 gramos de maravilla
(a)Imagen original, (b)Análisis de partículas, (c)Conteo manual.

A la imagen no estandarizada, al igual que el caso anterior se debió realizar una limpieza de fondo para posteriormente realizar el recuento de partículas. En esta oportunidad se obtuvieron $319,3 \pm 90,7$ unidades con el recuento de partículas, número que es considerablemente superior al número estandarizado y que claramente está alejado que la cantidad original de semillas, nuevamente esta discrepancia puede ser atribuible al reconocimiento y definición de la imagen por el programa. Al ser una imagen no estandarizada, las diferencias en la coloración (fondo, semilla) y la sobrevaloración de partículas afectan de manera negativa el conteo de la imagen.

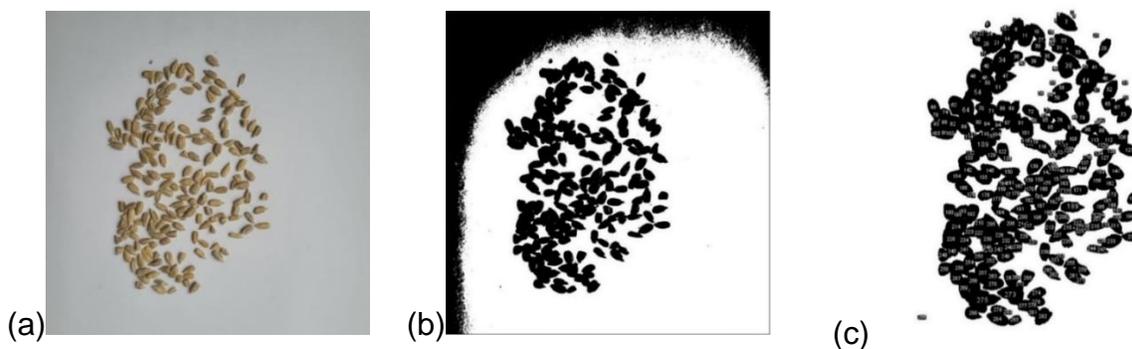


Figura 41. Fotografía de 6 gramos de semillas de maravilla.

(a)Imagen Original, (b)Imagen en 8Bits con aplicación de Thershold, (c)Recuento con Análisis de partículas.

8.2.1.3. Semillas de sésamo

En la figura 42.a podemos observar el análisis de semillas se sésamo por medio del análisis de partículas obteniendo $833,3 \pm 52,6$, mientras que el recuento manual dio 758 semillas, lo cual se aprecia una buena aproximación (menor desviación entre ellas) a pesar del diminuto tamaño y poseer algunas semillas unidas.

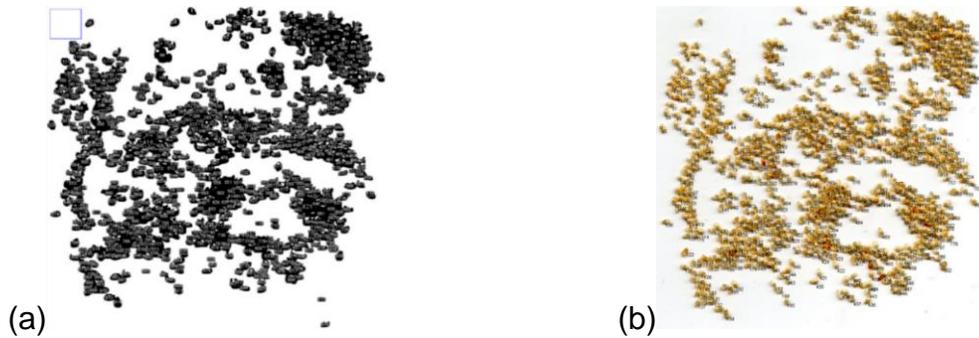


Figura 42. Semillas de sésamo contabilizadas

(a)Análisis de partículas, (b)Conteo manual.

Con la imagen no estandarizada, al igual que en las ocasiones anteriores presenté ruido en la muestra, la cual fue removida para la predicción. Obteniéndose en esta ocasión 804 ± 39 semillas predichas por el programa. En ambos casos, se puede observar la gran presencia de sobreestimación de semillas debido a la sobre posición de la muestra o a la falta de definición de los pixeles en el caso de la imagen no estandarizada.

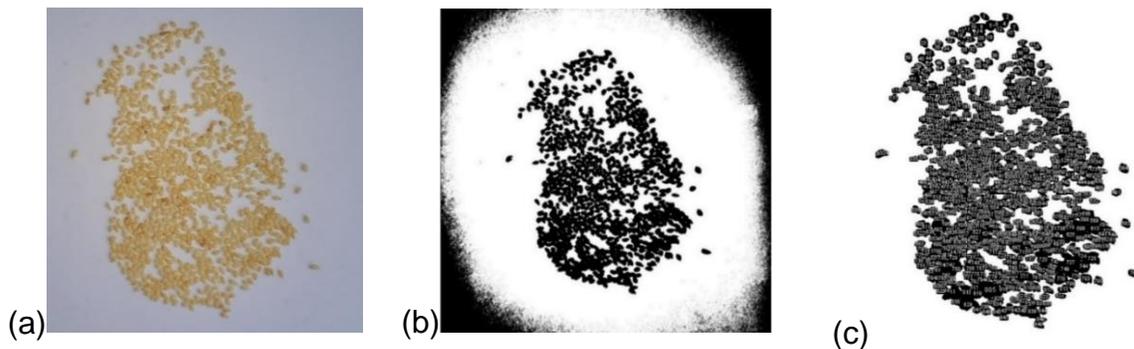


Figura 43. Fotografía de 2 gramos de semillas de sésamo.

(a)Imagen Original, (b)Imagen en 8Bits con aplicación de Thershold, (c)Recuento con Análisis de partículas.

En la tabla 2, se presenta el resumen y comparación de las semillas con respecto al recuento manual y los valores obtenidos del recuento automático de las imágenes estandarizadas y no estandarizadas por medio del programa ImageJ.

Si bien se observa diferencias entre los valores obtenidos entre el recuento manual y automático, no se observan diferencias significativas entre el recuento manual y el automático con imagen estandarizada y no estandarizada para las muestras de semillas de zapallo y sésamo obteniendo grupos homogéneos en ambos casos.

Tabla 2. Comparación de recuento de semillas

Semilla	Manual (unidades)	Escáner (unidades)	Fotografía (unidades)
<i>Zapallo</i>	36 ^a	38,3 ± 2,3 ^a	59,0 ± 20,1 ^a
<i>Maravilla</i>	186 ^b	293,7 ± 110,3 ^c	319,3 ± 90,7 ^c
<i>Sésamo</i>	758 ^d	833,3 ± 52,6 ^d	804,0 ± 39,4 ^d

Los valores representan $X \pm SD$. a-d Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el recuento de semillas.

En el caso de la semilla de maravilla si se observa una diferencia entre el recuento manual y el automático, pero no se observan diferencias entre el conteo estandarizado y no estandarizado, podemos atribuir como razón de la sobrevaloración de unidades, a la distribución de la semilla (en más contacto entre ellas), o al color irregular entre las semillas, lo que genera una estructura menos uniforme para analizar y se generan los manchones que al separarse con las herramientas no quedan perfectamente el número original de las semillas generado un sobre participaron de la imagen y por lo tanto una sobre valoración de unidades, que generaría la homogeneidad entre el recuento automático, pero la diferencia significativa con el recuento manual en el caso de esta semilla. A pesar de la diferencia de la semilla de maravilla, podemos asegurar que el desempeño de la herramienta “recuento de partículas de ImageJ” si es efectiva para el cuento de semillas tanto para imágenes capturadas por un escáner (contacto directo) como para una cámara digital.

8.2.2. Análisis de tamaño

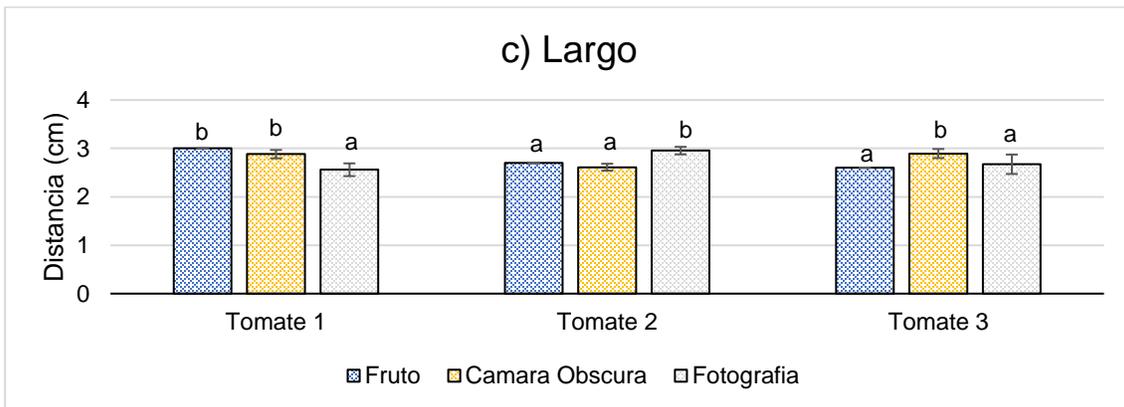
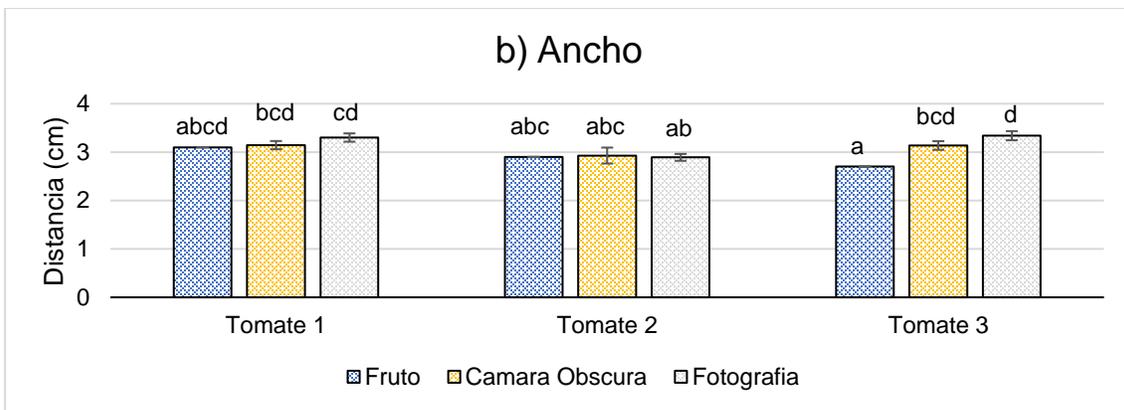
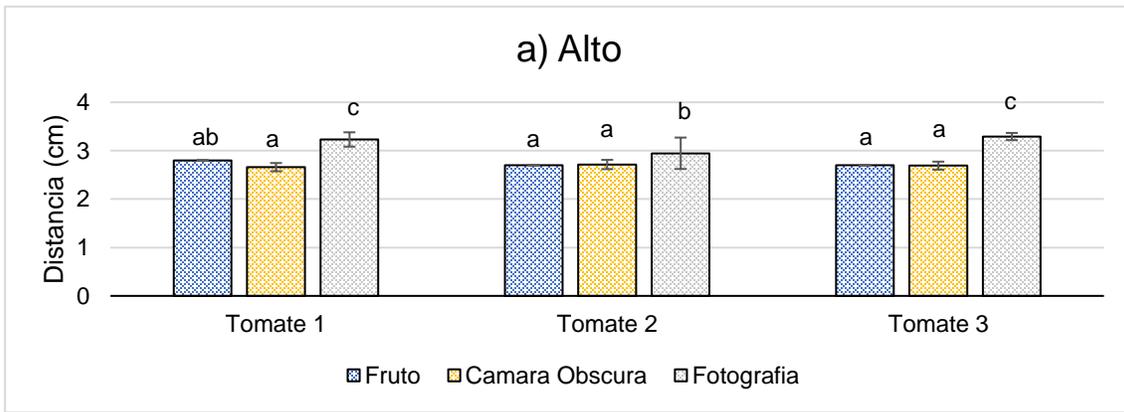
Para el análisis de tamaño se contó con 3 muestras de tomates Cherries, los resultados de la medición fueron los presentados en la Tabla 3. Si bien no existieron dificultades en la captura y análisis del software, ya que sólo necesita la definición de la escala (*Set Scale*) y posterior herramienta Línea (*Straigh*), si se presentan diferencias significativas entre la medición en vivo de la muestra y la imagen capturada con la cámara.

Tabla 3 Comparación de tamaño (cm) por análisis de imagen

Muestra	Fruto			Cámara Oscura			Fotografía		
	<i>Alto</i>	<i>Ancho</i>	<i>Largo</i>	<i>Alto</i>	<i>Ancho</i>	<i>Largo</i>	<i>Alto</i>	<i>Ancho</i>	<i>Largo</i>
Tomate 1	2,8	3,1	3,0	2,66±0,08	3,14±0,08	2,88±0,08	3,23±0,14	3,30±0,44	2,56±0,13
Tomate 2	2,7	2,9	2,7	2,71±0,09	2,93±0,16	2,61±0,07	2,95±0,32	2,89±0,31	2,95±0,07
Tomate 3	2,7	2,7	2,6	2,69±0,08	3,14±0,08C	2,89±0,09	3,29±0,07	3,34±0,43	2,67±0,20

Los valores representan $X \pm SD$

En el caso de la medición de largo, ancho y alto, se pueden observar diferencias significativas entre las imágenes estandarizadas y no estandarizadas. Para cada una de la medición no existió diferencia entre los valores de la muestra original y las capturadas en la cámara oscura, pero sí existieron diferencias entre las capturadas directamente en el ambiente, lo cual demostraría la necesidad de la estandarización para la posibilidad de reproducción entre las imágenes.



a-d Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) para la misma muestra con diferente método de medición

Figura 44. Comparación de los valores tamaños obtenidos por muestra.
 a) Comparación de muestras por alto, b) Comparación de muestras por ancho, c) Comparación de muestras por largo.

8.2.3. Análisis de color

Los resultados obtenidos del análisis de color a las frutillas se pueden observar en la Tabla 4. Donde podemos observar la comparación del color promedio de cada imagen demostrando sus valores L*, a*, b* promedio y su representación total en la escala de color.

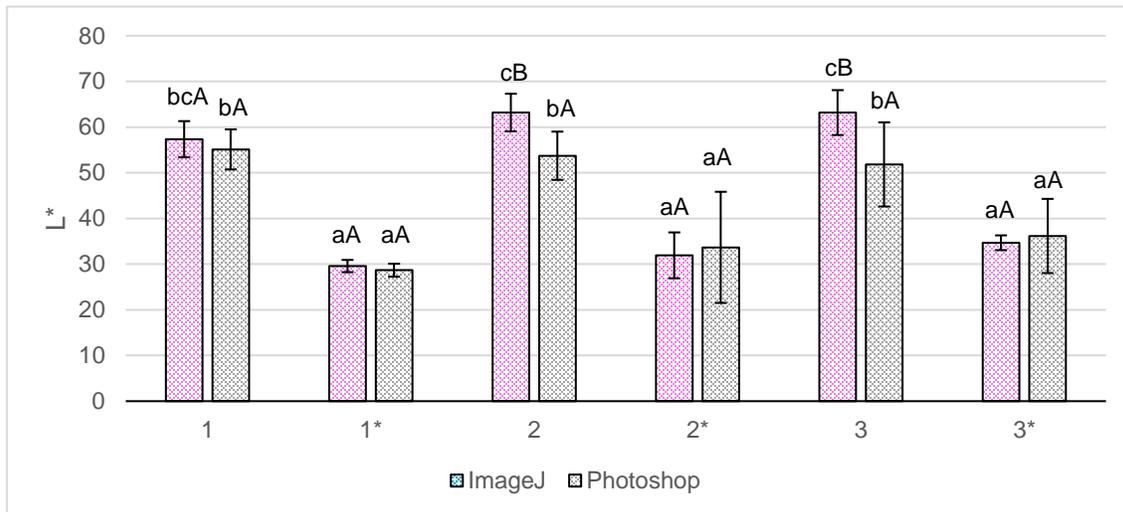
Tabla 4. Comparación del color por análisis de imágenes

<i>Muestra</i>	<i>Imagen Promedio ImageJ</i>				<i>Color promedio Photoshop</i>			
	L*	a*	b*	Color	L*	a*	b*	Color
<i>Frutilla 1</i>	57	43	46		55	52	48	
<i>Frutilla 1*</i>	30	27	20		29	30	24	
<i>Frutilla 2</i>	63	36	35		54	48	41	
<i>Frutilla 2*</i>	32	42	28		34	34	27	
<i>Frutilla 3</i>	63	37	30		52	41	36	
<i>Frutilla 3*</i>	35	32	26		36	36	28	

**Fotografías no estandarizada/. Los valores representan X*

Si bien se observa una diferencia visual entre la muestra estandarizada y la no estandarizada en su saturación y luminosidad (L*) se puede observar que no existe diferencias significativas para para las imágenes no estandarizadas en ninguno de los programas analizados, obteniéndose los valores de $32 \pm 2,3$ para los valores promedio analizados por ImageJ y $33 \pm 3,8$ para los valores promedio analizados por Photoshop. Situación que se repite para las imágenes de la muestra 1 (Frutilla 1) estandarizada, donde no se observan diferencias significativas entre sus muestras al obtener $57 \pm 2,3$ en el análisis por ImageJ y de $55 \pm 4,3$ en el análisis por Photoshop. Lo contrario ocurrió con las muestras de las frutillas 2 y 3 sí presentan diferencias en su luminosidad por

cada programa analizado, obteniéndose de $63 \pm 4,1$, $54 \pm 5,2$ y $63 \pm 4,9$, $52 \pm 9,2$ en ImageJ y Photoshop respectivamente.

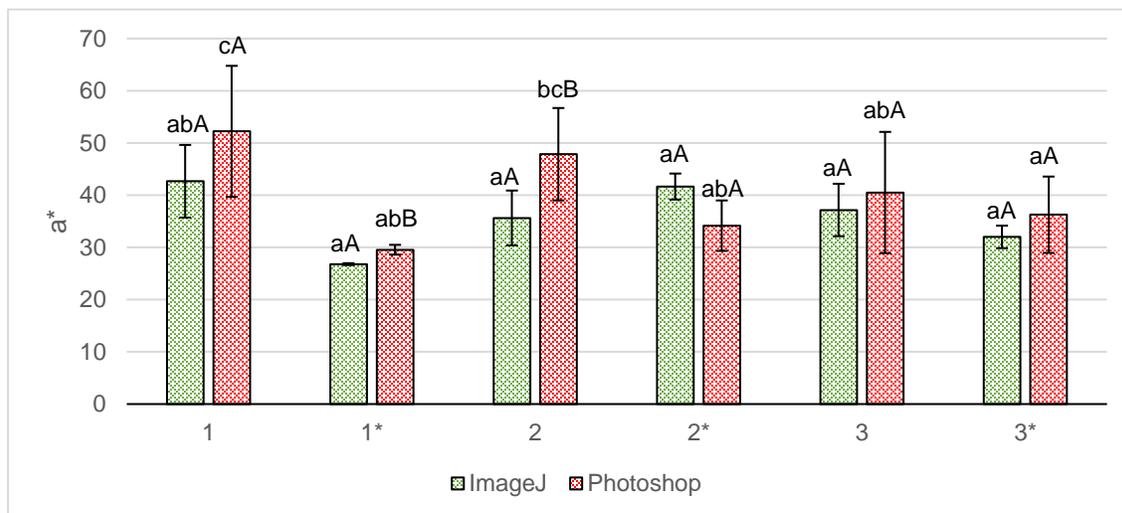


*Fotografías no estandarizadas. A y B letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de la misma muestra para diferente programa / a-c Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las diferentes muestras.

Figura 45. Comparación de valores promedio de L^* para el análisis de color por Photoshop e ImageJ

La homogeneidad en la luminosidad de las muestras no estandarizadas se puede deber a la falta de iluminación directa sobre el fruto, ya que fue tomada la fotografía en condiciones estándar de laboratorio y al no ser un ambiente controlado, ocurrió las mismas condiciones sobre los frutos, obteniéndose valores similares entre sus muestras, razón por la cual también es atribuible la luminosidad similar entre ellas a pesar de ser frutas diferentes de la misma especie. Un ejemplo de un cálculo representativo de buena iluminación y similitud en los resultados si se pudo apreciar con la con la muestra 1 la cual obtuvo valores similares entre sus análisis por ambos programas. En contraparte a la diferencia en la luminosidad de las muestras 2 y 3 (que si contaban con una iluminación controlada) puede ser atribuible al software Photoshop que automáticamente selecciono los colores similares presentes en el fruto para su cálculo, a diferencia del ImageJ donde un manipulador descarta de manera selectiva

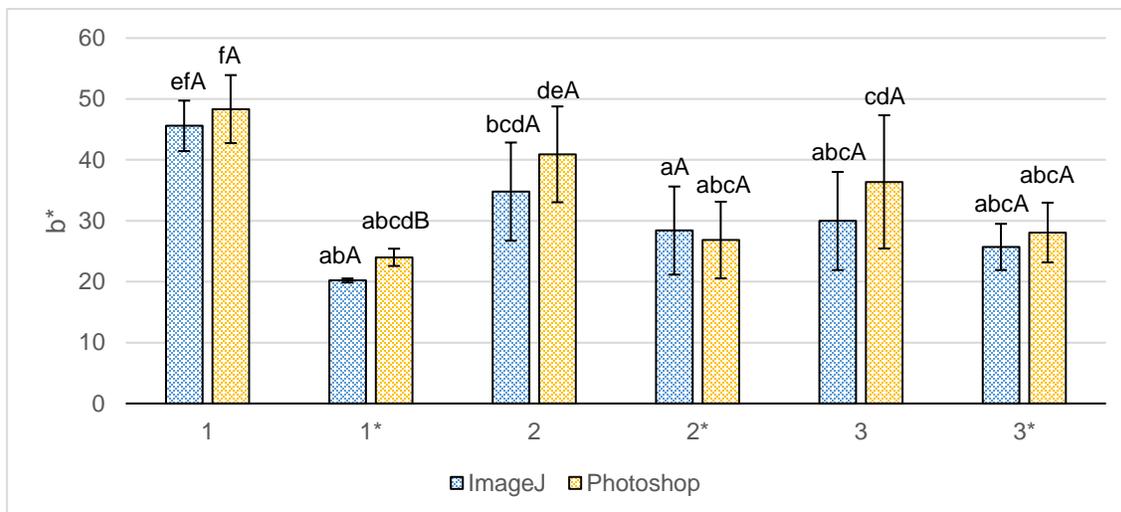
las partes con más brillo, manchas u sombra del fruto, proceso que tomó más tiempo pero permitió una mayor similitud entre los valores obtenidos de sus imágenes debido a la segmentación manual.



*Fotografías no estandarizadas. A y B letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de la misma muestra con diferente programa / a-c Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las diferentes muestras.

Figura 46. Comparación de valores promedio a^* para el análisis de color por Photoshop e ImageJ

La coloración verdosa-rojiza (a^*) presentó un comportamiento similar al parámetro anterior, no presentaron diferencias significativas en las muestras a excepción de la Muestra 1 (estandarizada y no estandarizada) y 2 estandarizadas. Obteniéndose, en $27 \pm 1,4$ para la muestra 1 no estandarizada y en promedio $33 \pm 7,5$ y $33 \pm 3,4$ para las muestras de ImageJ y Photoshop en las muestras no estandarizadas. En el caso de las muestras 1 y 2 dicha diferencia en la coloración de las muestras estandarizadas atribuibles a la condición estandarizada de la muestra, al poseer una mejor iluminación se pueden observar a más detalle las imperfecciones del fruto, permitiendo que el software ingrese una mayor cantidad de sombras u de coloración verdosa a la muestra



*Fotografías no estandarizadas. A y B letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de la misma muestra con diferente programa / a-f Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las diferentes muestras.

Figura 47. Comparación de valores promedio de b^* para el análisis de color por Photoshop e ImageJ

La coloración azulino-amarillenta (b^*) no presentó diferencias significativas entre las muestras analizadas estandarizadas analizadas por ImageJ y Photoshop obteniendo en promedio de $37 \pm 8,0$ y $42 \pm 6,0$ respectivamente, en el caso de las muestras no estandarizadas en pero si se obtuvieron diferencias entre las muestras obteniéndose $25 \pm 4,2$ de promedio entre ellas, es importante destacar que si bien muestra1 no estandarizada (Frutilla 1*), posee una diferencia entre los resultados encontrados por los diferentes softwares de análisis. Esta diferencia puede ser similar al caso de la luminosidad, al ser el programa un recuento automático, puede considerar partes no deseadas para la selección del color.

En la rueda de color de la figura 48 se puede apreciar la diferencia de saturación obtenidas por los programas y la ubicación del valor obtenida en las muestras, si bien los valores se encuentran en un cuadrante relativamente similar, lo cual es esperable al ser frutas de la misma especie, compradas en la misma ubicación y de la misma cosecha se puede apreciar cómo la opacidad aumenta de forma significativa en las muestras no estandarizadas, debido a la misma falta de iluminación. Así mismo se

nota la diferencia en la opacidad entre el software ImageJ y Photoshop, lo cual concuerda con lo encontrado en otros estudios (Césari Matilde et al., 2020)

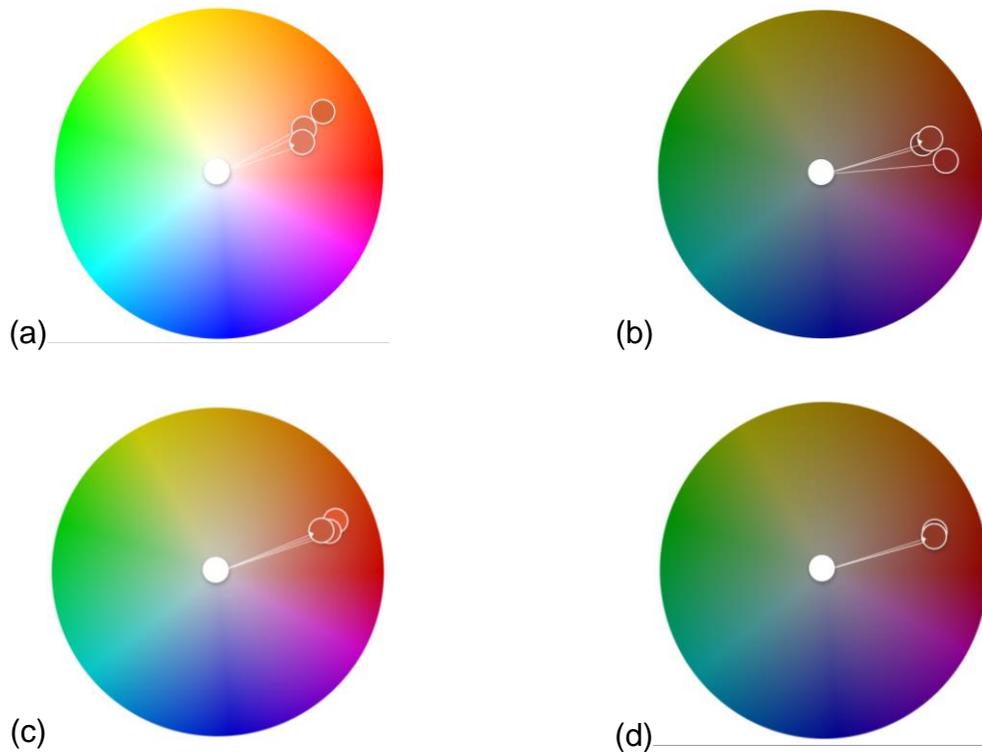


Figura 48. Rueda de color con resultados promedio de análisis de color para frutilla.

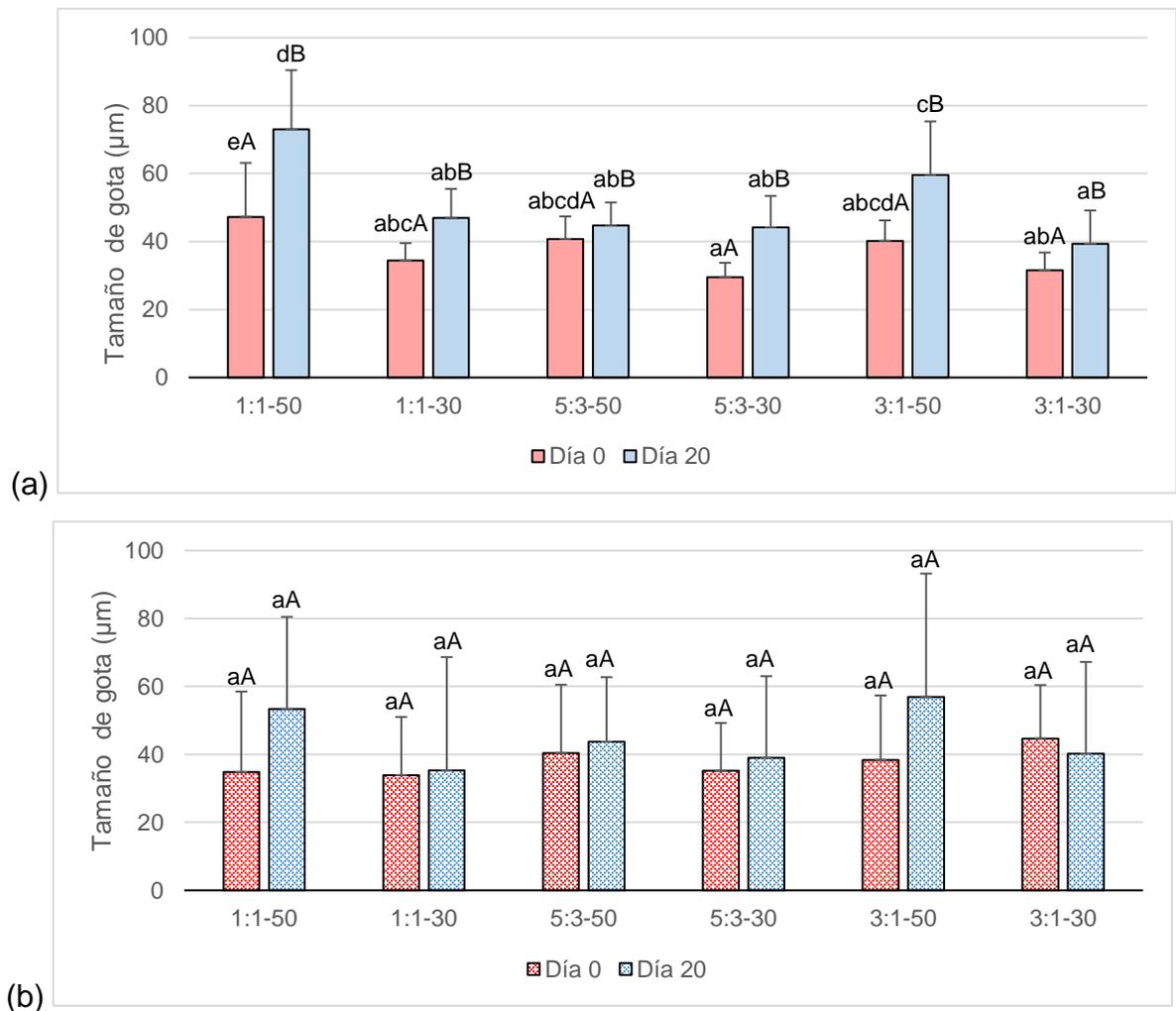
(a)ImageJ estandariza, (b)ImageJ no estandarizada, (c)Photoshop estandarizado, (d)Photoshop no estandarizado.

Considerando los resultados obtenidos, podemos asegurar que el programa ImageJ si es aplicable para la identificación acertada del color de una muestra, pero se recomienda mantener unas condiciones controlada, ya que si bien se obtendrán valores concordantes para en condiciones no controladas de medición, se nota una falta de brillo en la muestra y se podría apreciar un registro erróneo de la calidad del alimento, pero no se descarta la utilidad del uso de la captura de imágenes (por cámara digital o celular de buena resolución) de la muestra ya que sí puede implementarse para la determinación de características físicas de calidad en muestras de alimentos y permitirá llevar un registro claro y reproducible de las muestras.

8.2.4. Análisis de imágenes de difusión científica

8.2.4.1. Emulsiones

Los resultados para el tamaño de gota original se presentan en la figura 49.a donde se determinó la distribución de las emulsiones después de 20 días. Después de los 20 días, el tamaño de las partículas aumento significativamente, entre en todas las muestras.



A y B letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) de tamaño dentro de la misma muestra / a-e Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las diferentes muestras para la misma emulsión en el mismo tiempo de almacenamiento.

Figura 49. Cambios en el tamaño de gota de la emulsión por dilución.

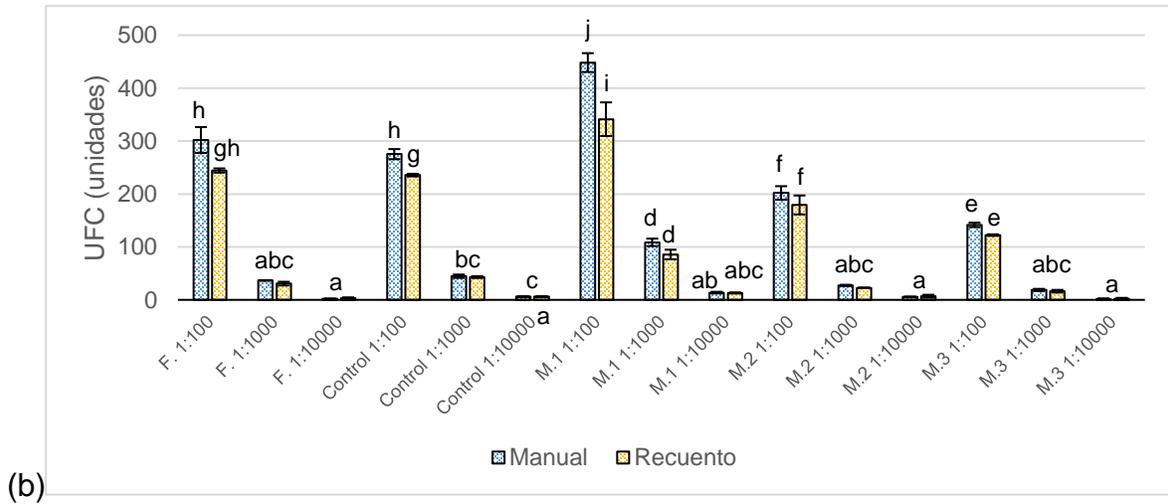
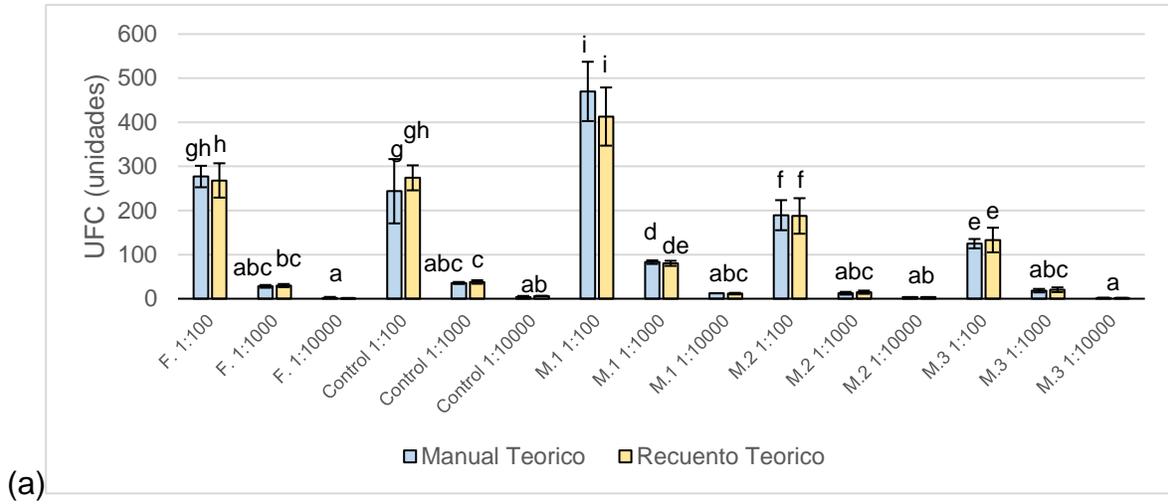
(a)Valores de tamaño original (b) Valores de tamaño calculado por análisis de imagen

Mientras que en el análisis realizado (figura 49.b) se puede apreciar que no existieron diferencias significativas entre la misma muestra a diferente tiempo de almacenamiento. Según la publicación se caracterizó a la muestra 5:3-50 (relación zeína: pectina-MYT) como la estructura optima de la estabilización los diámetros obtenidos para esta muestra fueron $40,76 \pm 6,66$ el día inicial y $44,74 \pm 6,70$ demostrando un pequeño crecimiento en la pérdida de esfericidad de la molécula, mientras que en el análisis $40,36 \pm 20,1$ el día inicial y $43,69 \pm 19,02$. Se puede apreciar que no existen diferencias significativas entre los promedios obtenidos, pero sí son apreciable en sus dispersiones, lo cual puede ser atribuible a la repetición del análisis de la misma imagen, mientras que en el artículo original se pudieron analizar diversas muestras demostrando una mejor homogeneidad entre ellas.

Por lo tanto, ImageJ si es un buena herramienta para el análisis de emulsiones, permitiendo calcular el diámetro de partículas sin mayor dificultad, pero se recomienda utilizar diversas muestras y un buen procesamiento de la imagen (arreglo de color en caso de ser necesario) para obtener una mejor caracterización de las muestras.

8.2.4.2. Unidades formadoras de colonias

El estudio original fue realizado por 13 participantes a los cuales se les entregó las imágenes y se les entregó las indicaciones de cómo realizar el análisis en las imágenes, que consisten en diversas muestras de cultivo de flores de Marihuana y cepas del hongo *Candida Albicans* (*C. Albicans*, presente en el cultivo de Cannabis. Las fotografías fueron tomadas por medio de un celular (iPhone) y se obtuvieron los valores señalados en la Figura 50, donde se comparan los valores obtenidos por Stolze junto con los analizados para este estudio, los resultados demostraron que, si existía diferencia significativa entre el conteo automático y manual de las muestras, pero dicho error se puede atribuir a un error humano y no a un error del método, a pesar de ello los participantes identificaron la herramienta como de fácil aprendizaje (Stolze et al., 2019).



a-i Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las diferentes muestras a distinta dilución.

Figura 50. Gráfica de comparación de recuento de unidades formadoras de colonias *Candida Albicans*

(a) Unidades contabilizadas original, (b) Unidades contabilizadas por análisis de imágenes

Mediante el análisis de imágenes se observó que no existieron diferencias significativas entre los resultados obtenidos por Stolze y el realizado en este estudio, lo cual señala una de las principales hipótesis que es la reproducción efectiva de los mismos análisis por diferentes participantes. Obteniendo tantos valores similares entre

el recuento manual y el realizado con el análisis de partículas de ImageJ, si bien se obtuvieron valores con menores desviaciones en este análisis se puede deber al mismo error humano que se señaló anteriormente, ya que al poseer una mayor cantidad de personas analizando la misma imagen, pueden generar una mayor desviación entre ellas.

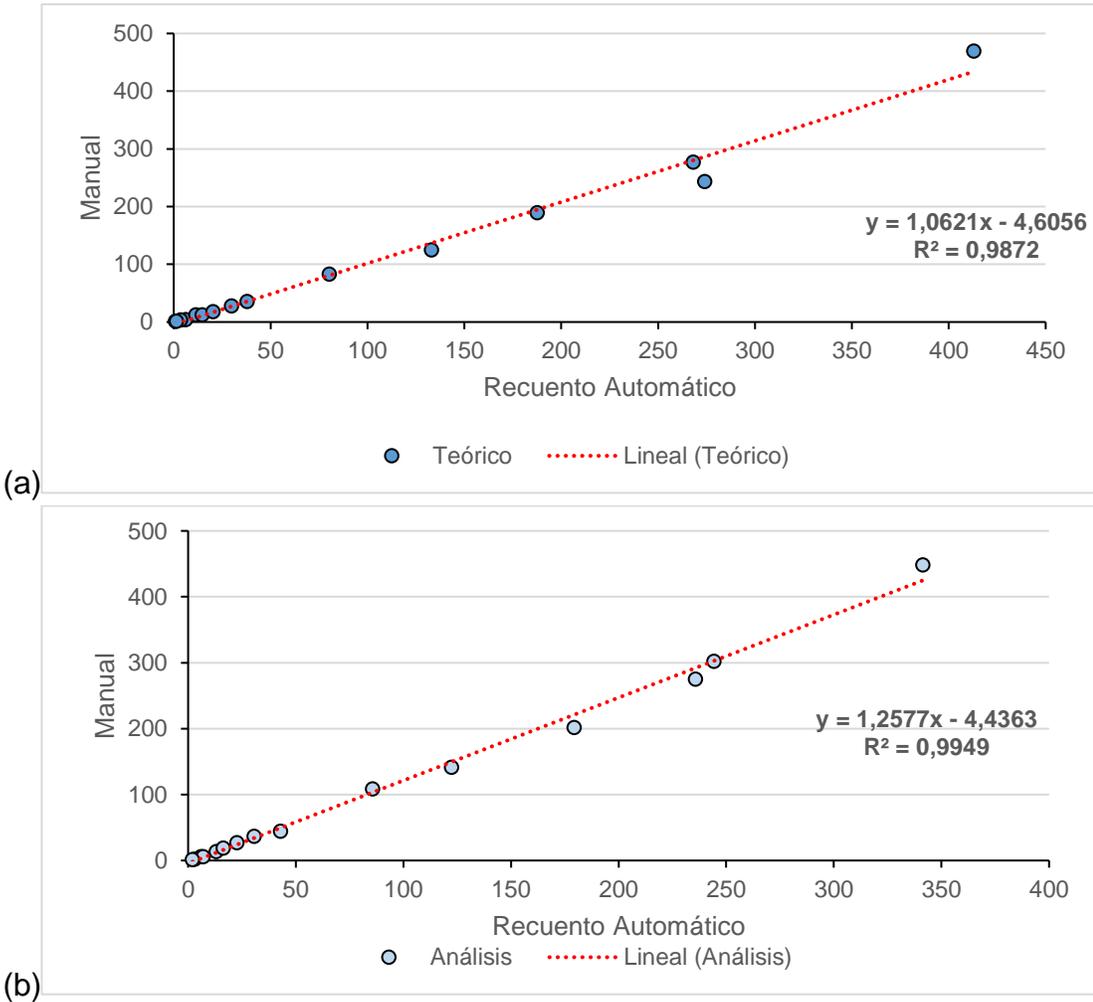


Figura 51. Gráficas de regresión lineal de recuento manual en relación con el recuento automático.

(a) Datos teóricos, (b) Análisis de imágenes.

Paralelamente, si realizamos una calibración entre el conteo automático y el conteo manual, podemos observar que existe una correlación lineal (Correa et al., 2020) entre ambos conteos. La regresión se observa que el coeficiente de regresión (R^2) de 0,98

para el análisis del teórico y 0,99 para el análisis de datos (Figura 51) Como se puede observar existe una correlación lineal entre los datos observados y una buena predicción del valor manual a partir del valor automático, lo que indicaría que el uso de herramientas de análisis como el ImageJ podría ser de utilidad para la industria de los alimentos permitiendo no sólo realizar los recuentos de manera digital y de manera mucho más expedita, permitiendo llevar un registro electrónico de los cultivos por medio de imágenes digitales permitiendo la posibilidad de acceder a los datos o recrearlos de ser necesario.

8.3. VALIDACIÓN DEL INSTRUCTIVO “USO DE IMAGEJ”

8.3.1. Análisis Cuantitativo

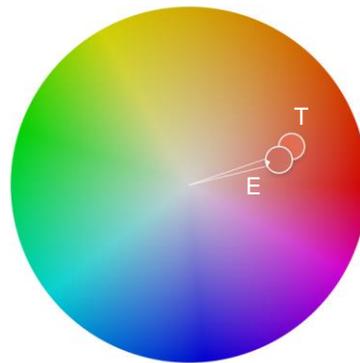
A los 14 participantes encuestados se les entregó la encuesta donde se expresaba que se necesitaba analizar y se le facilitó el instructivo de “Uso de ImageJ”, para observar cómo se desarrolló la cualitativamente los valores obtenidos se realizará una comparación con los valores esperables o valores obtenidos del análisis realizado para la comparación. Los valores obtenidos por los encuestados para el análisis de color (frutilla) se recolectaron y se compararon con el valor del análisis de color se encuentran disponibles en la tabla 5, donde se observan las variaciones para la escala CIELAB.

Tabla 5. Comparación del análisis de color (CIELAB) obtenidos en la encuesta.

<i>Variable</i>	<i>Análisis de color (Obtenido)</i>	<i>Análisis de color (Encuesta)</i>
<i>L*</i>	60,98 ± 0,19 ^a	58,16 ± 9,16 ^b
<i>a*</i>	43,33 ± 0,03 ^a	35,64 ± 19,32 ^b
<i>b*</i>	35,12 ± 0,19 ^a	25,24 ± 9,09 ^b

Los valores representan $X \pm SD$. a y b Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) para el fruto por los análisis realizados.

Se puede apreciar que existen diferencias significativas para ambos análisis, para los valores L^* , a^* y b^* . Esto puede ser atribuible a la diferencia de elección de área del fruto a analizar, cuando se les consultó a los encuestados cómo consideraron el espacio de evaluación, algunos señalaron que consideraron las hojas del fruto, lo cual afectaría a la segmentación de la fruta y por ende se explicaría el cambio en los valores que presenta un menor brillo (L^*), y la coloración más destinada al verde (a^*) y al azul (b^*) como se observa en la figura 52.



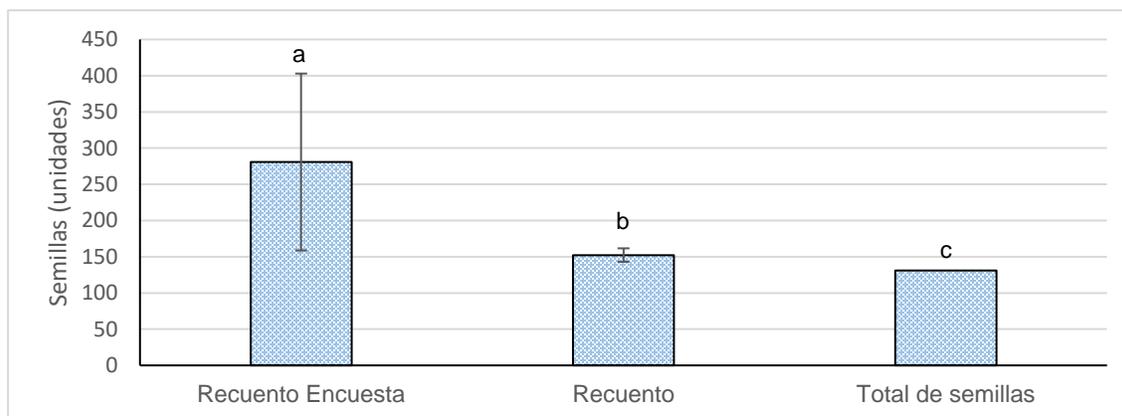
T corresponde al color teórico, E corresponde al valor obtenido por los encuestados.

Figura 52. Rueda de color con resultados promedio de análisis de color para frutilla.

Si bien en la encuesta se solicitaba considerar el color del fruto, se admite que se debió considerar expresar la necesidad de excluir las hojas del fruto, y dejar sólo la pulpa comestible para su análisis. Así mismo, la libertad de elección de puntos utilizados para la elección pudo afectar el color final, ya que algunos encuestados comentaron utilizar varios puntos para cubrir bien el área del fruto y otros utilizaron menos abarcando la misma área con menos rigurosidad, lo cual también podría demostrar la diferencia en la coloración del fruto.

Los resultados obtenidos por los encuestados para el recuento de semillas se encuentran presentados en la figura 53. En la imagen a analizar se presentaba una mezcla de semillas en la imagen, se pudo obtener diferencias significativas entre el número total de semillas (131 unidades), el valor del recuento automático que fueron

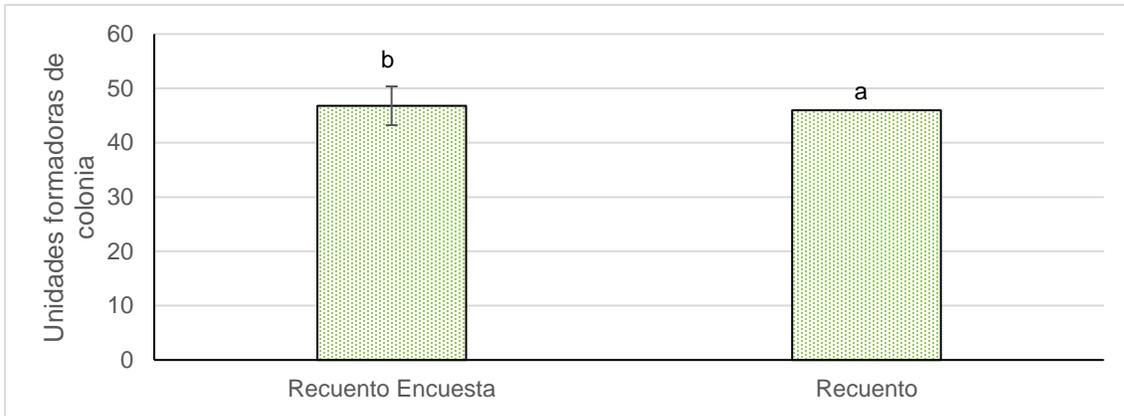
152,33±9,29 y el valor del recuento obtenido por los encuestados que fue 280,75±122,16. Considerando lo observado y comentado por los mismos encuestados el uso de las herramientas Threshold, herramienta necesaria para realizar el análisis, fue al que presentó la mayor dificultad. Considerando lo anterior, es considerable adicional la explicación del uso correcto de la herramienta.



a-c Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el recuento y el total de semillas.

Figura 53. Comparación entre el total de semillas y el recuento automático de semillas.

Así mismo, el recuento de unidades formadoras de UFC (figura 54) demostró diferencias significativas entre el valor obtenido y el recuento de la encuesta, si bien la actividad fue realizada con conteo uno a uno de las UFC, la diferencia puede ser atribuible a la sobreestimación por parte de algunos de los encuestados y a la uniformidad de parte del analizador al evaluar la imagen, ya que al realizar la misma persona tres veces el ejercicio.



a y b Letras iguales demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los recuentos realizados.

Figura 54. Comparación del recuento de UFC entre el recuento realizado y los resultados obtenidos en el recuento uno a uno de la encuesta.

Todos los encuestados señalaron que el conteo manual de UFC es mucho más fácil que la predicción por medio del análisis de partículas, pero concuerdan que, con una mayor cantidad de UFC, la predicción sería de mucha ayuda y un ahorro de tiempo en el conteo de unidades.

8.3.2. Análisis Cualitativo

8.3.2.1. Evaluación de instalación

De los 14 participantes encuestados, 100% señalaron poder instalar el programa ImageJ sin problemas en el sistema operativo Windows, directamente desde el enlace entregado en el instructivo. Resultados que están dentro de lo esperado, considerando la adaptabilidad del software a los distintos sistemas operativos.

8.3.2.2. Evaluación de casos

8.3.2.2.1. Análisis de color

En las evaluaciones de Análisis de color, de la escala de 1 (nada difícil) a 5 (muy difícil) ¿Qué tan dificultoso fue medir el color de la fruta 50% de los encuestados señalaron que fue nada difícil realizar la evaluación. Mientras que un 50% dio que era normalmente difícil realizar la evaluación. Cabe señalar que, si bien la actividad no presentaba mayor dificultad al solicitar el software con un análisis RGB, si demostraron dificultades al no existir una herramienta automática que realizara el análisis, lo que para el 50% significó informar que fue normalmente difícil la actividad.

8.3.2.2.2. Recuento de semillas

Análisis de semillas, de la escala 1 (nada difícil) a 5 (muy difícil) ¿Qué tan difícil fue realizar el recuento? Un 50% de los encuestados señaló que fue normalmente difícil realizar el recuento de las diversas semillas mientras, 25% señaló que fue algo difícil y el 25% restante señaló que fue muy difícil desarrollar la experiencia.

Para la realización del análisis, se mezclaron diversos tipos de semilla para agregar dificultad en la actividad ya que se debía realizar el recuento automático para estas, la actividad se pudo llevar a cabo sin mayores inconvenientes por los encuestados, los cuales señalaron que la mayor dificultad presente fue la inexperiencia en la aplicación de filtros en la imagen para aplicar bien la predicción. Así mismo señalaron que le apreciarían una mejor explicación de los parámetros presentes en el análisis de partículas.

8.3.2.2.3. Recuento de UFC.

Análisis de UFC, de la escala 1 (nada difícil) a 5 (muy difícil) ¿Qué tan difícil fue realizar el recuento? Un 100% de los encuestados señaló que no fue nada difícil realizar el conteo manual de las UFC con el software, debido a la baja cantidad de colonias presente en la imagen, los encuestados reconocieron que el conteo manual fue rápido

y eficiente, pero reconocen que con un mayor número de unidades la aplicación automática sería de mayor utilidad. Finalmente, en todos los análisis realizados un 80% señaló que se guardaron sus datos a Excel sin dificultad al terminar la experiencia, el 20% restante señaló que le parece inconveniente el deber “separar los datos” y que no vengan ya listos para su trabajo.

8.3.2.2.4. Retroalimentación

Con respecto a la comprensión del instructivo se comentó que fue de fácil comprensión y que al ser bastante descriptivo permite guiarse en el paso a paso de los ejercicios sin dificultad. A pesar de lo, se recomendó señalar de mejor manera los clics dentro del mismo con la finalidad de hacer aún más evidente las herramientas a utilizar.

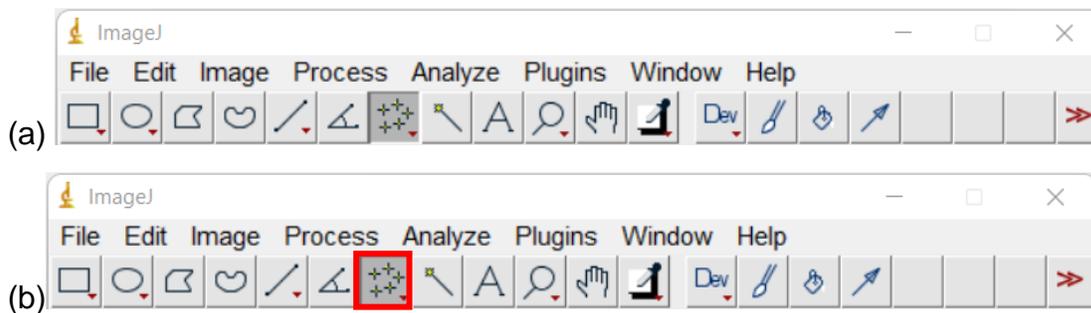


Figura 55. Mejoras realizadas al instructivo.

(a)Antigua barra de herramientas, (b)Nueva barra de herramientas con la demarcación.

Otras mejoras propuestas, fue una mejor explicación de cómo se cambian los parámetros, así mismo explicar el cómo se visualiza las diferentes escalas en las que se están midiendo, ya que en casos como el CIELAB se abren 3 ventanas diferentes y no se contaba con una explicación certera en el manual explicando el porqué, el nuevo anexo de utilización de escalas para herramientas disponible en el nuevo “Anexo 3 del *“Instructivo de uso de ImageJ”*” Con respecto a la apreciación del programa se señaló que, si bien es útil y fácil de utilizar, su interfaz es anticuada y poco atractiva debido a la antigüedad y simpleza del software.

8.4. ANÁLISIS DE CASOS

8.4.1. Análisis de piñón

8.4.1.1. Análisis morfométrico y color

Los valores promedio del análisis morfométrico y color para piñón son presentados en la figura 56. Observamos que las dimensiones de área y perímetro del piñón fueron de $7,81 \pm 2,1 \text{ cm}^2$ y de $14,69 \pm 2,12 \text{ cm}$ respectivamente, mientras que el largo del piñón ($5,95 \pm 0,74$) son mayores a la talla promedio (3,5 - 4,5cm), estas características demuestran que es un fruto de gran tamaño lo cual puede ser atribuible al crecimiento de los frutos ya que, en tiempos de buen clima, al ser un fruto natural y silvestre puede alcanzar los 6cm o más, por lo cual nos podríamos encontrar frente un fruto de un buen año de crecimiento. (Fundación para la Innovación Agraria, 2010).Mientras que la relación de AR ($3,39 \pm 0,47$) significa que la figura es más larga que alta, lo cual es concordante con las características esperables del fruto.

La circularidad del fruto es $0,45 \pm 0,05$, lo cual nos da una circularidad media acorde con la forma corniforme (forma de cuerno) del fruto, presentando una apariencia más ovalada en que circular. La solidez, que es un parámetro que va de 0 a 1 y hace referencia a cuan “suave/liso” y convexo es el contorno del objeto, mientras más cercano a 0 más cavidades o menor solidez tendrá, mientras que una estructura perfectamente convexa poseerá un valor 1 (Yonis et al., 2020), se demuestra que el piñón ($0,966 \pm 0,01$) es una estructura bastante convexa en contorno, sin presentar mayores imperfecciones.

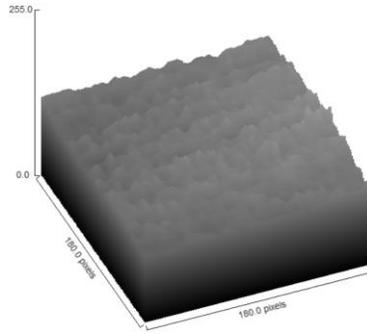
El color de la cubierta externa de la araucaria dio del color café rojizo esperable, y presenta un brillo apreciable y característico de la cubierta del fruto. Si bien se puede notar la variabilidad en las características físicas y por consecuente químicas del piñón varían del momento de su recolección, año de cosecha, lugar periodo y estado de madurez y nutricional de la planta que le da sus características, por lo cual, es esperable la potencial variabilidad de las características del fruto.(Escobar Álvarez & Estévez A, 2008)

		Piñón
Área		 7,81 cm ²
Perímetro		 14,69 cm
Feret		 5,95 cm
Circularidad		 0,451
Solidez		 0,966
Relación de Aspecto (AR)		 3,39
Color	L^*	44
	a^*	9
	b^*	23

Figura 56. Descripción de la morfología de piñón obtenido usando el Analizador de Partículas Extendido y Color promedio.

8.4.1.2. Análisis de textura y fractal

Los valores de la dimensión fractal superficial (DF_{sup}), oscilan entre 2 y 3 hace relación con la rugosidad de la superficie (Baima & Ribotta, 2019), para los piñones analizados presentan una dimensión fractal promedio de $2,090 \pm 0,036$, considerándola una superficie bastante lisa y homogénea según la escala de grises.



$$DF_{sup}=2,090 \pm 0,036$$

Figura 57. Topografía superficial 3D de piñón y su correspondiente valor de DF_{sup}

El análisis de textura mostro ser una herramienta efectiva para cuantificar la semilla de piñón, esta técnica se ha utilizado en otras estructuras de alimentos como películas comestibles o trozos de alimentos (Arzate Vázquez, 2011; Baima & Ribotta, 2019). La tabla 6 presenta los valores del análisis de textura y contorno del piñón por medio del análisis de coocurrencia de escala de grises y de contorno por fractales.

Tabla 6. Valores de los parámetros de textura y contorno de piñón.

	Energía ($\times 10^{-3}$)	Contraste	Homogeneidad	Entropía	DF_{cont}
<i>Piñón</i>	$7,89 \pm 4,06$	$1,96 \pm 1,22$	$0,64 \pm 0,08$	$5,49 \pm 0,41$	$1,92 \pm 0,01$

Los valores representan $X \pm SD$

Como era de esperarse, las características de textura son concordantes con el análisis de fractales superficial. La energía, medida de la homogeneidad local de la imagen, mostró una mayor desviación de los valores de uniformidad entre los piñones, demostrando que algunos de los elementos analizados mostraban más textura que

otros. En el caso de contraste demostró una gran desviación entre las muestras analizadas, y la homogeneidad demostró una estructura homogénea entre sí, pero que presenta líneas o rugosidades intermitentes. La entropía, variable relacionada con el orden o desorden de la imagen y se relaciona con la textura de la imagen, demostró que si bien es una estructura homogénea y de baja rugosidad, presenta una textura compleja entre sí, demostrando las elevaciones superficiales que demuestran las semillas.

Para el caso de la dimensión fractal de contorno (DF_{cont}), permite determinar cuan irregular es el contorno del piñón y al igual que los valores obtenidos por el análisis morfométrico, presento características de una homogeneidad en su contorno.

8.4.2. Análisis de arándano

8.4.2.1. Análisis morfométrico y color

Los valores promedio del análisis morfométrico y color para las muestras de arándanos se visualizan en la figura 56. Se obtuvieron medidas acordes con la normal de calidad de arándano fresco de exportación para los arándanos analizados (Comité de Arándano de Chile & Asociación de Exportadores de Frutas de Chile (Asoex), 2013), obteniendo el largo mayor a 1,2 cm áreas acorde al diámetro del arándano, todo el color del fruto fue del color característico azulino, sin presencia superficie del fruto en color verde o roja, sin daño superficial del fruto y sin deshidratación o falta de turgencia aparente.

La circularidad de los frutos fue entre las 0,7 a 0,8 unidades, lo cual nos da una circularidad media acorde con la forma semicircular del fruto, presentando una apariencia en el arándano 2 y 3 ligeramente menos circular que el arándano 1. Se demuestra que el arándano presentó una solidez de aproximadamente 0,799 - 0,850 es una estructura menos lisa y convexa que el piñón, pero sin presentar mayores imperfecciones en su contorno. Con respecto a la relación de aspecto de los frutos observamos que la relación es casi 1:1, lo cual es concordante con su estructura

semicircular y demostrado la estructura ligeramente más alargada en su largo para este fruto.

		<i>Arándano 1</i>	<i>Arándano 2</i>	<i>Arándano 3</i>
Área		 1,52 cm ²	 1,46 cm ²	 1,24 cm ²
Perímetro		 4,94 cm	 4,93 cm	 4,67 cm
Feret		 1,55 cm	 1,52 cm	 1,37 cm
Circularidad		 0,781	 0,754	 0,717
Solidez		 0,804	 0,799	 0,850
Relación de Aspecto (AR)		 1,232	 1,226	 1,148
				
Color	<i>L*</i>	41	30	33
	<i>a*</i>	0	0	0
	<i>b*</i>	7	-8	-8

Figura 58. Descripción de la morfología de arándano obtenido usando el Analizador de Partículas Extendido y Color promedio.

Se puede identificar que a pesar de la ligera diferencia en a la forma de los arándanos y en el color de ellos, no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) para ninguno de los parámetros analizados.

8.4.2.2. Análisis de textura y fractal

La dimensión fractal superficial de los arándanos no presentaron diferencias significativas entre ellos ($p < 0,05$), obteniendo valores cercanos 2 demostrando que la rugosidad superficial sería bastante lisa y homogénea, lo cual es esperable para una fruta fresca (no deshidratada) para el caso de los arándanos (Comité de Arándano de Chile & Asociación de Exportadores de Frutas de Chile (Asoex), 2013).

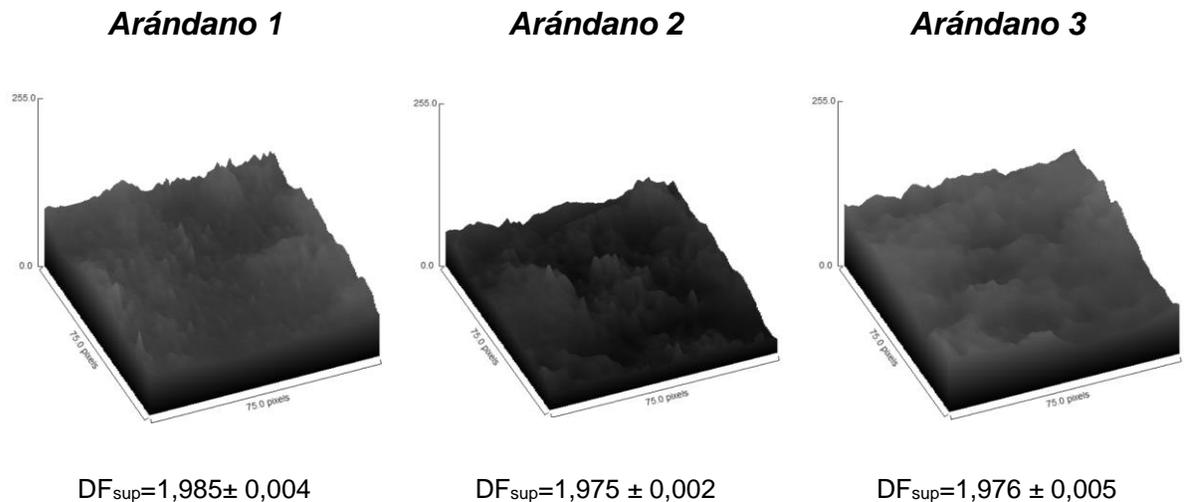


Figura 59. Topografía superficial 3D de los arándanos y su correspondiente valor de DF_{sup}

El análisis de textura mostro ser una herramienta efectiva para cuantificar el arándano a pesar de ser tan homogéneo. La tabla 7 presenta los valores del análisis de textura y contorno del piñón por medio del análisis de coocurrencia de escala de grises y de contorno por fractales. Como se podía observar el contorno fractal de arándano una estructura lisa y semi homogénea, sin mayores rugosidades o cambios entre los frutos.

La textura obtenida para los arándanos, al igual que para piñón, fue concordantes con el análisis de fractales superficial. La energía no presento diferencias significativas entre las muestras, demostrando la uniformidad y homogeneidad entre los frutos al ser de la misma especie y probablemente misma cosecha. Con respecto al contraste y homogeneidad, podemos observar que el arándano 1 presenta una mayor coloración

y menor homogeneidad en su estructura, siendo ligeramente más rugosa, pero a pesar de ello no se observaron diferencias significativas con las otras dos muestras.

Tabla 7. Valores de los parámetros de textura y contorno de las muestras de arándano.

Muestra	Energía ($\times 10^{-3}$)	Contraste	Homogeneidad	Entropía	DF_{cont}
<i>Arándano 1</i>	3,73 \pm 1,35 ^a	7,23 \pm 3,17 ^b	0,49 \pm 0,05 ^c	6,07 \pm 0,34 ^d	1,84 \pm 0,01 ^e
<i>Arándano 2</i>	4,31 \pm 0,48 ^a	3,41 \pm 0,73 ^b	0,52 \pm 0,03 ^c	5,83 \pm 0,09 ^d	1,83 \pm 0,01 ^e
<i>Arándano 3</i>	4,42 \pm 1,56 ^a	4,61 \pm 2,92 ^b	0,53 \pm 0,04 ^c	5,86 \pm 0,41 ^d	1,80 \pm 0,01 ^e

Los valores representan $\bar{X} \pm SD$. a-e Letras iguales en la misma columna demuestran que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras para el mismo parámetro.

Se aprecia que la entropía entre las muestras no presentó diferencias significativas entre sí, y presentó una mayor entropía que el piñón en el caso del arándano a pesar de ser un fruto más circular, más liso, más uniforme entre sí. Considerando que la textura fue analizada con la coocurrencia de grises de la imagen, los valores más elevados de entropía pueden ser atribuidos al color del fruto, que, si bien es un color morado-azulino semi uniforme, presenta pequeñas diferencias de coloración en su epidermis con “manchas” de colores más morados o más blancos y brillantes dentro de estas, capacidad que el piñón demuestra con una mayor diferencia de color entre el color central y final de la semilla, y al realizarse un análisis en el centro del fruto presentaría el piñón una mayor homogeneidad y menor entropía.

Considerando lo anterior, se recomienda el uso de estas herramientas para la caracterización de alimentos, demostrando su gran utilidad en superficies biológicas, como monitor de cambios estructurales y la posibilidad de caracterización estructural de superficies. (Arzate Vázquez, 2011; Baima & Ribotta, 2019; Yonis et al., 2020)

9. CONCLUSIÓN

ImageJ es una gran herramienta que ha evolucionado junto a la era digital, permitiendo analizar y procesar imágenes de ámbito científico, produciendo una base en los softwares computacionales al poseer uno de acceso libre, aceptabilidad en todos los sistemas operativos, de fácil comprensión, alta reproducibilidad y capacidad de mejora continua. Considerando lo anterior, si se pudo comprobar que el software ImageJ es una herramienta actual para el análisis digital de imágenes, generando hasta la fecha artículos científicos utilizando la herramienta o sus derivados, y que abre la posibilidad en el uso de las ciencias de los alimentos al ser una categoría emergente para su aplicación y existiendo todo el campo de reconocimiento y calidad de los alimentos por explorar.

Se pudo validar la aplicación, manejo y desempeño del software por medio de los ejemplos controlados y no estandarizados de semillas y frutos. Obteniendo resultados que señalan la importancia del manejo del posicionamiento del fruto, contraste de fondo e iluminación en la captura de la imagen. Por medio del análisis de imágenes de UFC y emulsiones, se pudo apreciar la efectividad de la reproductividad de los análisis de imágenes por medio de la herramienta, obteniendo resultados similares a los calculados en los artículos y demostrando una correlación lineal entre los análisis de UFC realizados de manera manual y los predichos por el programa.

Se consiguió valorar el “Instructivo de uso de ImageJ”, permitiendo demostrar que la buena aplicación y manejo del instructivo es posible, logrando desarrollar de manera efectiva el análisis de color, recuento de UFC y recuento automático de semillas. Así mismo se logró entregar una buena apreciación de lo bien ilustrado y didáctico que es y se entregaron herramientas de mejoras para el mismo que fueron bien implementadas. Está a consideración apreciar que es necesario dedicar un tiempo de utilización del programa para lograr aplicar de manera correcta todas las herramientas disponibles por medio del software.

Se demostró las aplicaciones del software sobre alimentos chilenos, caracterizando sus características morfométricas, color y textura por escala de coocurrencia de grises y dimensión fractal sin mayores dificultades, demostrando la efectividad de estas

aplicaciones utilizando una estructura uniforme-esférica y otra uniforme-corniforme y caracterizando correctamente las características esperadas. Por lo cual, sí es posible implementar el uso de ImageJ como herramienta en el ámbito de las Ciencias y Tecnologías de los Alimentos.

10. REFERENCIAS

- Adobe. (2022). *Adobe Photoshop*. <https://www.adobe.com/cl/products/photoshop.html>
- Agboola, J. O., Schiavone, M., Øverland, M., Morales-Lange, B., Lagos, L., Arntzen, M. Ø., Lapeña, D., Eijsink, V. G. H., Horn, S. J., Mydland, L. T., François, J. M., Mercado, L., & Hansen, J. Ø. (2021). Impact of down-stream processing on functional properties of yeasts and the implications on gut health of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Scientific Reports*, *11*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83764-2>
- Agudo, J. E., Pardo, P. J., Sánchez, H., Pérez, Á. L., & Suero, M. I. (2014). A low-cost real color picker based on arduino. *Sensors (Switzerland)*, *14*(7), 11943–11956. <https://doi.org/10.3390/s140711943>
- Alonso, M. (2020). *Ciclo de formatos de imagen*. Casiopeia - Producción Grafica. https://wiki.ead.pucv.cl/Ciclo_Formatos_de_imagen_-_Macarena_Alonso
- Andrialovanirina, N., Ponton, D., Behivoke, F., Mahafina, J., & Léopold, M. (2020). A powerful method for measuring fish size of small-scale fishery catches using ImageJ. *Fisheries Research*, *223*. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2019.105425>
- Arzate Vázquez, I. (2011). *Aplicación del análisis de textura de imágenes para la caracterización cuantitativa de superficies biológicas* [Doctorado en Ciencias en Alimentos]. Instituto Politécnico Nacional.
- Baima, J. S., & Ribotta, P. D. (2019). Image analysis as a monitoring tool in the dehydration of banana slices. *Brazilian Journal of Food Technology*, *22*. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.23118>
- Bourne, R. (2010). Fundamentals of Digital Imaging in Medicine. *Fundamentals of Digital Imaging in Medicine*, 185–188. <https://doi.org/10.1007/978-1-84882-087-6>
- Burger, W., & Burge, M. J. (2016a). Digital Image Processing: An Algorithmic Introduction Using Java. In *Springer*. <https://doi.org/10.1080/03043799408928319>
- Burger, W., & Burge, M. J. (2016b). *ImageJ* (pp. 23–35). <https://doi.org/10.1007/978-1-4471-6684-9>

- Césari Matilde, Pérez Santiago, & Facchini Higinio. (2020). *Caso de Estudio: Procesamiento Digital de Imágenes para Medir Color en Zanahorias y Uvas*.
- Chanona-Pérez, J., Quevedo, R., Aparicio, A. R. J., Chávez, C. G., Pérez, J. A. M., Domínguez, G. C., Alamilla-Beltrán, L., & Gutiérrez-López, G. F. (2008). Image processing methods and fractal analysis for quantitative evaluation of size, shape, structure and microstructure in food materials. *Food Engineering Series*, 277–286. https://doi.org/10.1007/978-0-387-75430-7_16
- Charbonnier, L., van Meer, F., van der Laan, L. N., Viergever, M. A., & Smeets, P. A. M. (2015). Standardized food images: A photographing protocol and image database. *Appetite*, 96, 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.08.041>
- Comité de Arándano de Chile, & Asociación de Exportadores de Frutas de Chile (Asoex). (2013). *NORMA DE CALIDAD ARANDANO FRESCO DE EXPORTACION*.
- Correa, C., Konzen, P. H. A., Carvalho, Â. R., Giovanella, P., Bento, F. M., & Ferrão, M. F. (2020). Use of digital images to count colonies of biodiesel deteriorogenic microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, 178. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.106063>
- Cortés, J., Ugalde, I., Caviedes, J., & Ibarra, J. T. (2019). Mountain seeds: Gathering, uses and commercialization of seeds of the monkey puzzle tree (*Araucaria araucana*) by Mapuche-Pewenche communities of the southern Andes. *Pirineos*, 174. <https://doi.org/10.3989/PIRINEOS.2019.174008>
- Dubey, S. R., & Jalal, A. S. (2015). Application of Image Processing in Fruit and Vegetable Analysis: A Review. In *Journal of Intelligent Systems* (Vol. 24, Issue 4, pp. 405–424). Walter de Gruyter GmbH. <https://doi.org/10.1515/jisys-2014-0079>
- Escobar Álvarez, B., & Estévez A, A. M. (2008). Harina de Piñón de *Araucaria*: Características y Potencial Tecnológico. *Facultas de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile*.

- Fernández García, N. L. (2012). Introducción a la Visión Artificial: Ruido. In *Universidad de Córdoba: Vol. Tema 1* (Issue Unidad 4-Ruido, pp. 1–107). Universidad de Córdoba.
- Fresh Plaza. (2024, May 3). *Resumen del Mercado Mundial de Arándanos*. <https://Comitedearandanos.Cl/Resumen-Del-Mercado-Mundial-Arandanos/>.
- Fundación para la Innovación Agraria. (2010). *Resultados y lecciones en producción, técnicas de poscosecha y desarrollo de productos a partir de piñón*.
- González, A. M. (2018). Image J: una herramienta indispensable para medir el mundo biológico. *FOLIUM Relatos Botánicos*.
- Lind, R. (2012). Open source software for image processing and analysis: picture this with ImageJ. In *Open Source Software in Life Science Research*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781908818249.131>
- Lizama García, H. A. (2019). *Validación de método fotográfico-computacional como herramienta de registro de color dentario* [Universidad de Chile]. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/187271>
- Llasera, J. P. (2020). *RGB y CMYK: Qué son y cuándo usar cada modo de color*. <https://imborrable.com/blog/rgb-y-cmyk/>
- Ly, B. C. K., Dyer, E. B., Feig, J. L., Chien, A. L., & Del Bino, S. (2020). Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. *Journal of Investigative Dermatology*, 140(1), 3-12.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>
- Medina, W., Skurtys, O., & Aguilera, J. M. (2010). Study on image analysis application for identification Quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd) geographical provenance. *LWT*, 43(2), 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.07.010>
- MundoAgro. (2023, October 3). *Exportaciones de arándanos frescos de Chile llegarían a las 82 mil toneladas esta temporada 2023-2024*. <https://Mundoagro.Cl/Exportaciones-de-Arandanos-Frescos-de-Chile-Llegarian-a-Las-82-Mil-Toneladas-Esta-Temporada-2023-2024/>.

- Padilla-Sierra, M. G., Garzón-Rodríguez, H., Martínez-Castilla, J. M., Dávalos-Dávalos, A. A., Polo-Gallardo, R., & Padilla Sierra, M. G. (2022). The correct use of the smartphone in aesthetic photography for the facial area: tips & tricks. *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana*, 48(2), 149–158. <https://doi.org/10.4321/S0376-78922022000200006>
- Padrón-Pereira, C. A., Padrón-León, G. M., Montes-Hernandez, A. I., & Oropeza-González, R. A. (2016). *Procesamiento digital de imagenes. Determinacion del color en muestras de alimentos y durante la maduracion de frutos*.
- Percepción Computacional: Filtros. (n.d.). In *Universidad de Sevilla: Vol. Tema 3: Filtros* (Issue Parte 1, pp. 1–37). Universidad de Sevilla.
- Pérez Benito, C. (2015). *Diseño de filtros para el procesado de imágenes basados en teoría de grados*. Universitat Poletécnica de València.
- Pérez, J. M. Mateos., & Pascau, Javier. (2013). *Image processing with ImageJ: discover the incredible possibilities of ImageJ, from basic image procesing to macro and plugin development*.
- Pinedo Montoya, S. K. (2019). Caracterización fisicoquímica y organoléptica de variedades comerciales de arándano y otras especies del genero Vaccinium. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(3). <https://doi.org/10.25127/ucni.v1i3.426>
- Radu, A., Popescu, M. V, Berlic, C., Miron, C., & Barna, V. (2021). EMPLOYING IMAGEJ SOFTWARE AS A MEASUREMENT TOOL FOR OPTICS EXPERIMENTS IN THE DIDACTIC LABORATORY. In *Romanian Reports in Physics* (Vol. 73). <http://www.rrp.nipne.ro>.
- Ramón, J., Motos, A., Núñez-Delicado, E., Cerdá, B., & Salinas, R. A. (2020). *ALIMENTOS DE LA REGIÓN DE MURCIA: LIMÓN*. <https://www.researchgate.net/publication/351009520>
- Reducción de ruido en una imagen digital*. (n.d.).
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., & Eliceiri, K. W. (2017a). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific

image data. *BMC Bioinformatics*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>

Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., & Eliceiri, K. W. (2017b). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>

Russ, J. C. (2005). *Image Analysis of Food Microstructure*.

Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J. Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. In *Nature Methods* (Vol. 9, Issue 7, pp. 676–682). <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>

Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. In *Nature Methods* (Vol. 9, Issue 7, pp. 671–675). <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>

Schroeder, A. B., Dobson, E. T. A., Rueden, C. T., Tomancak, P., Jug, F., & Eliceiri, K. W. (2021). The ImageJ ecosystem: Open-source software for image visualization, processing, and analysis. *Protein Science*, 30(1), 234–249. <https://doi.org/10.1002/pro.3993>

Siegmann, P., Sanchez-Brea, L. M., Martinez-Anton, J. C., & Bernabeu, E. (2004). Comparison between optical techniques and confocal microscopy for defect detection on thin wires. *Applied Surface Science*, 238(1-4 SPEC. ISS.), 375–379. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2004.05.240>

Stolze, N., Bader, C., Henning, C., Mastin, J., Holmes, A. E., & Sutlief, A. L. (2019). Automated image analysis with ImageJ of yeast colony forming units from cannabis flowers. *Journal of Microbiological Methods*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105681>

Sucar, L. E., & Gomez, G. (2015). *Visión Computacional*. February, 186.

- Sunoj, S., Igathinathane, C., Saliendra, N., Hendrickson, J., & Archer, D. (2018). Color calibration of digital images for agriculture and other applications. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 146, 221–234. <https://doi.org/10.1016/j.isprsjprs.2018.09.015>
- Vilches, A., Inés Legarralde, T., & Cavazza, C. (2018). *El uso de teléfonos celulares, computadoras y el software de procesamiento de imágenes ImageJ en las clases de Biología*. <http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>.
- Wang, Y., Kratzer, R., Murkovic, M., Eibinger, M., Machado Charry, E., Li, S., Zhang, T., Zhang, X., Zhang, M., & Chen, H. (2023). Fabrication and characterization of a novel zein/pectin/pumpkin seed oil Pickering emulsion and the effects of myricetin on oxidation stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127386>
- Yonis, B. O., Pino del Carpio, D., Wolfe, M., Jannink, J. L., Kulakow, P., & Rabbi, I. (2020). Improving root characterisation for genomic prediction in cassava. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64963-9>

11. ANEXO

Anexo 1. Imágenes originales de microscopia de emulsiones y diferencia del tamaño de las emulsiones

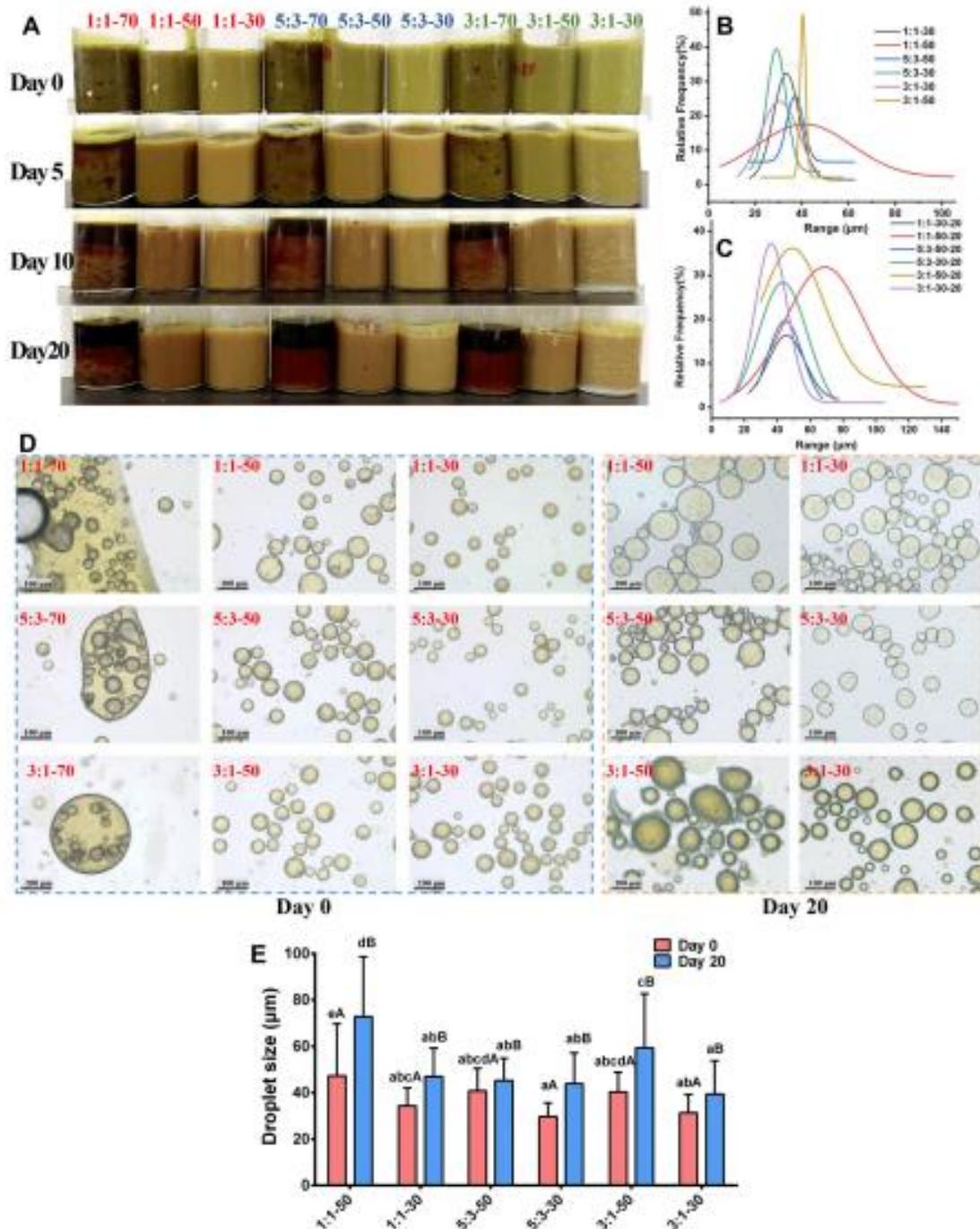


Fig. 3. Micro and macro appearance of emulsion. (A) Visual appearance after storage for 0, 5, 10, 20 days. The Gaussian equation fitting curve of droplet size distribution at 0 day (B) and 20 days (C). (D) Microscopic images of Pickering emulsion in 0 and 20 days. (E) The changes of droplet size. The lowercase letters a-c represent droplet size differences among different formulas in the same storage time. The capital letters A&B represent the droplet size differences of the same sample at different storage times.

Anexo 2. Imágenes originales de UFC

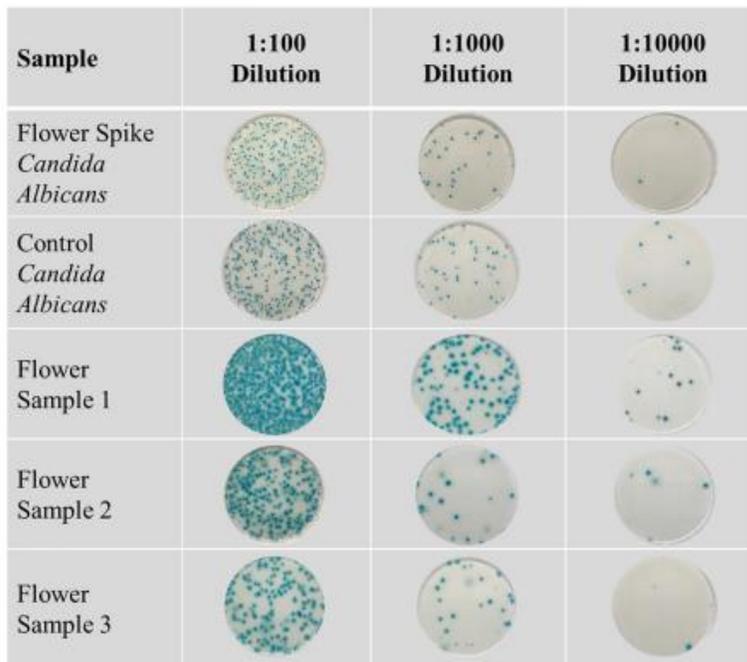


Fig. 3. Five different samples were plated on 3M™ Petrifilms™ at various dilutions for analysis of yeast and mold CFU counts using both manual and automated methods. The matrix spike contains a mixture of multiple flower strains and was spiked with *C. albicans*. The control was prepared with only the *C. albicans* culture. Flower samples 1, 2, and 3 are all different marijuana flowers. Images of samples at dilution factors of 1:100, 1:1000, and 1:10000 were chosen for analysis.

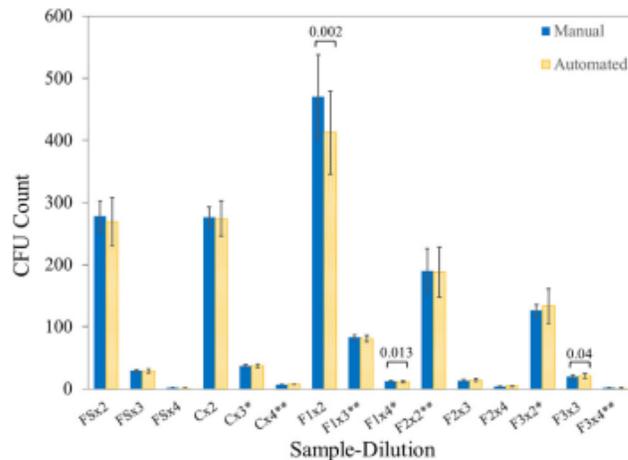
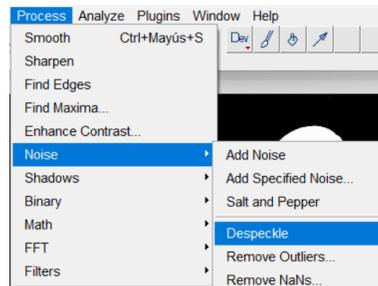
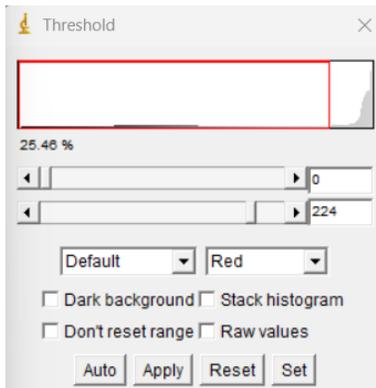
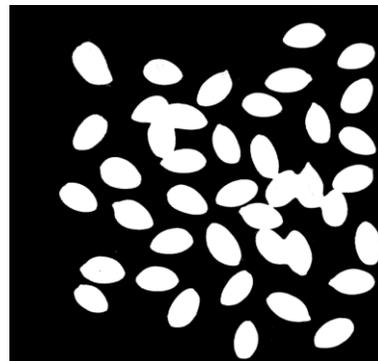
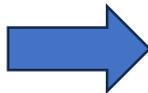
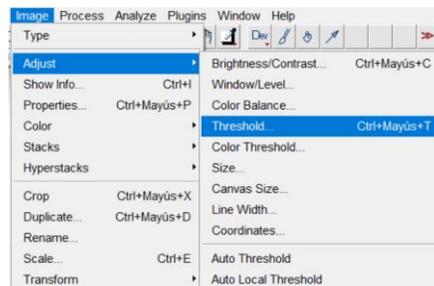
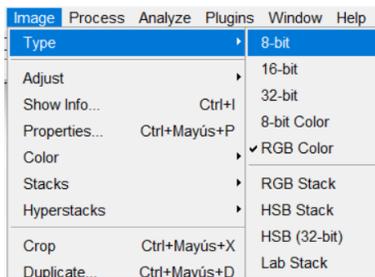
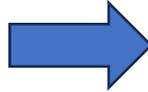
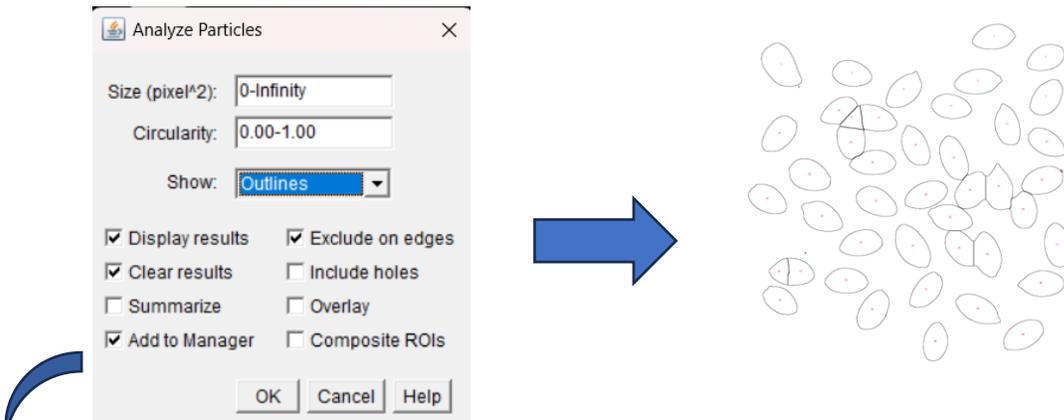
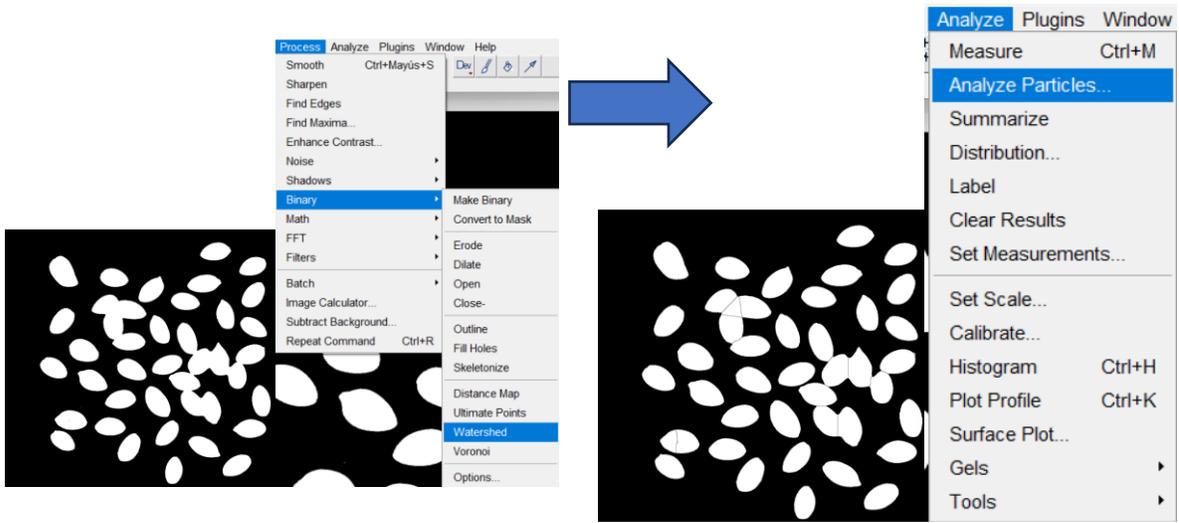


Fig. 4. Average CFU count from the image analysis of 5 samples (FS – Flower Spike *C. albicans*, C – Control *C. albicans*, F1 – Flower sample 1, F2 – Flower sample 2, and F3 – Flower sample 3) at three dilutions [1:100 (x2), 1:1000 (x3), and 1:10000 (x4)] using manual (solid blue bar) and automated (dotted orange bar) analysis. Three samples are considered to have CFU counts from the manual and automated method statically different and are marked with the calculated *p*-values. Error bars represent the standard deviation of user counts excluding any outliers determined. *n* = 15, *average and standard deviation of one method exclude an outlier where *n* = 14, **averages and standard deviations of both methods exclude an outlier where *n* = 14. Numerical values presented in Table S3. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

Anexo 3. Paso a paso del procesamiento de análisis de semillas

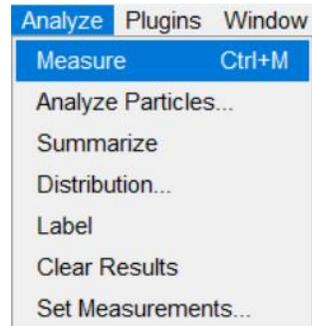
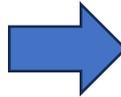
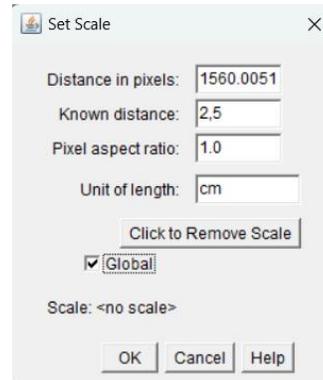
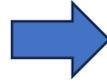
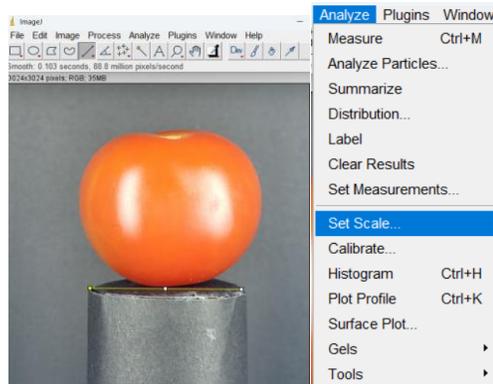




Results

	Label	Area	StdDev	Perim.	Median
1	img079.jpg	11596	0	427.688	255
2	img079.jpg	17161	0	529.127	255
3	img079.jpg	10819	0	407.990	255
4	img079.jpg	11362	0	415.203	255

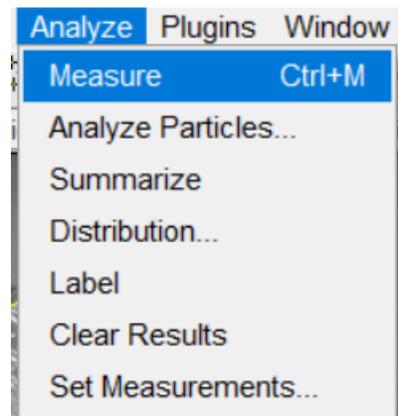
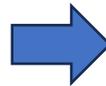
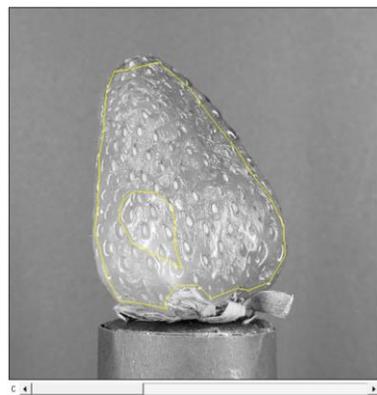
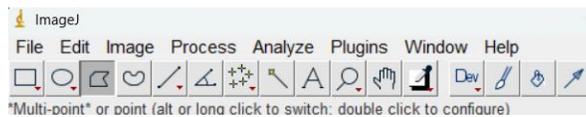
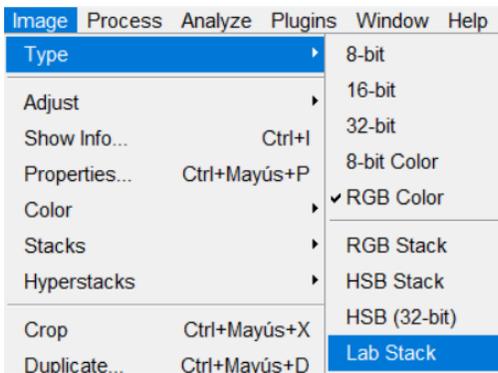
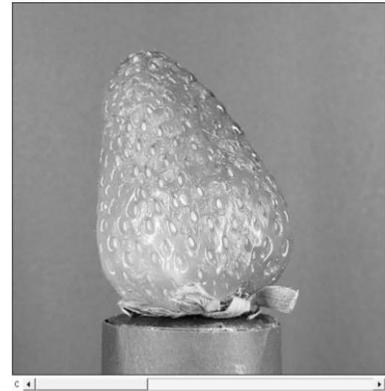
Anexo 4. Paso a paso del proceso de medición de tamaño

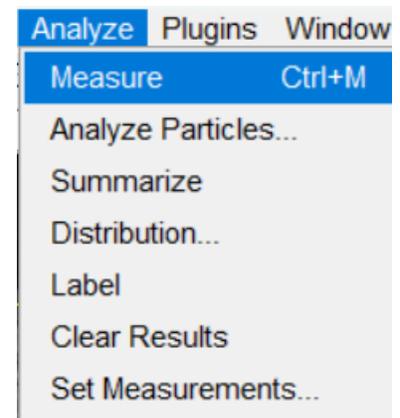
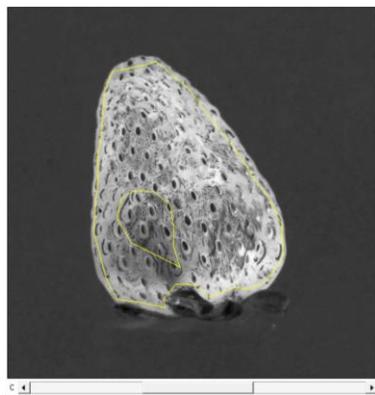
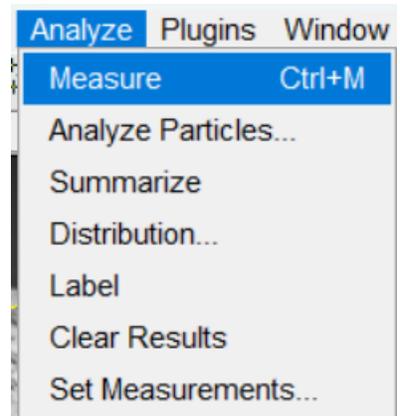
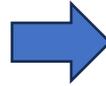
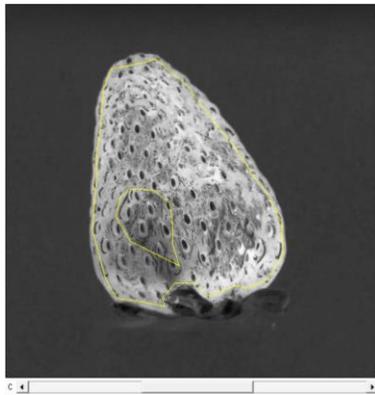


The 'Results' window shows the following data:

Label	Area	Min	Max	Perim.	Angle	Median
1 20220922_163914.jpg	0.013	126.009	247.104	4.914	0.252	158.977

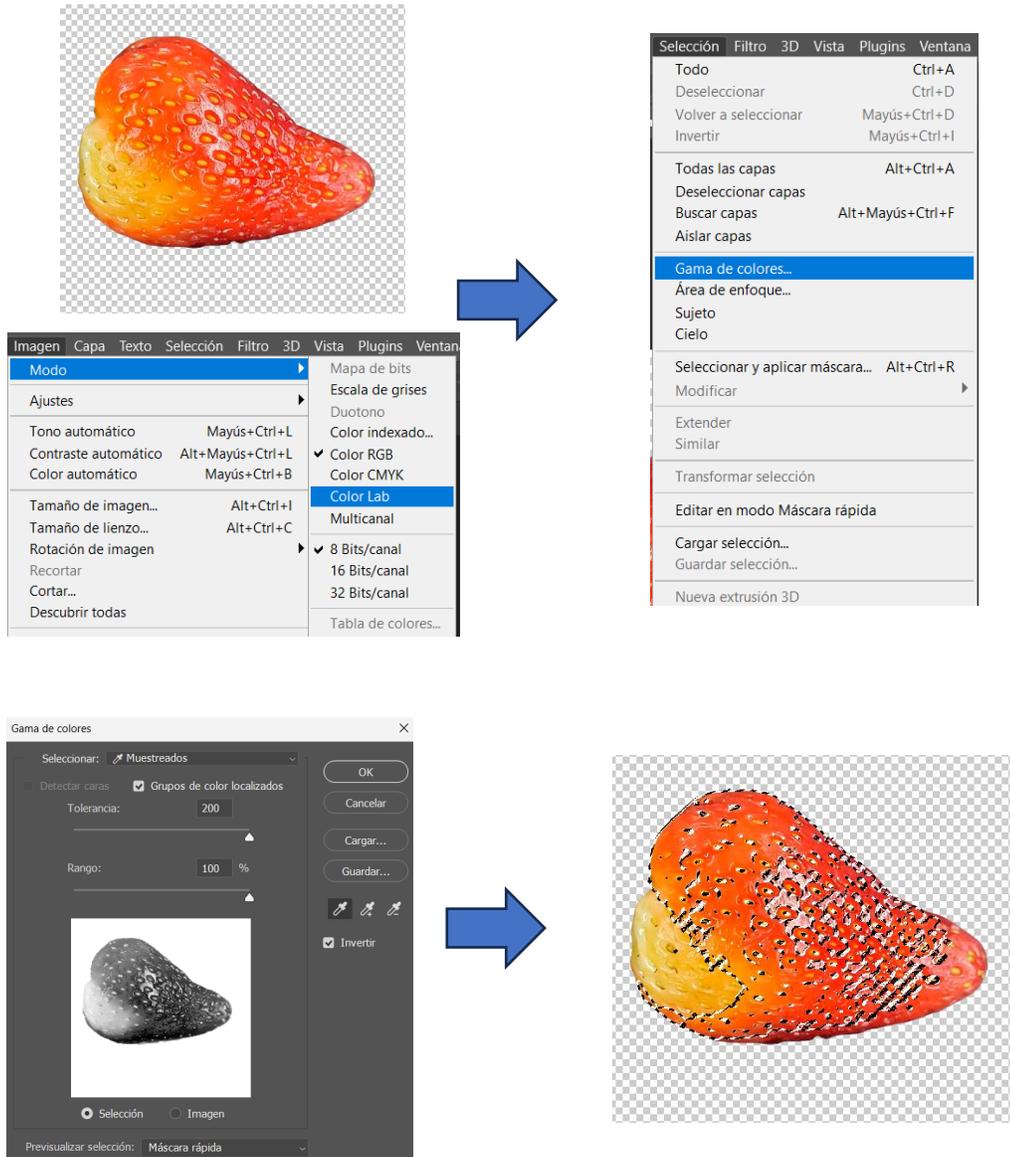
Anexo 5. Paso a paso del proceso de análisis de color en ImageJ

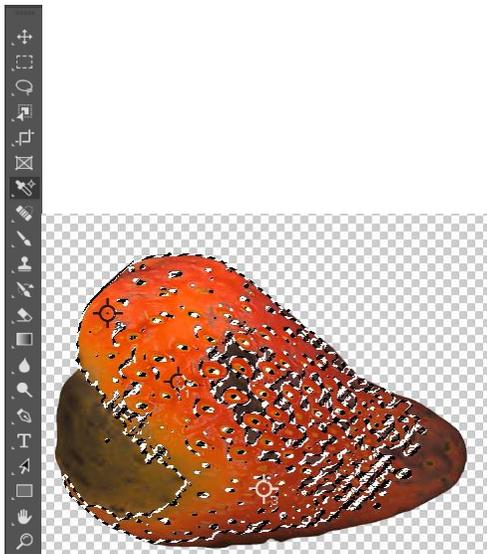
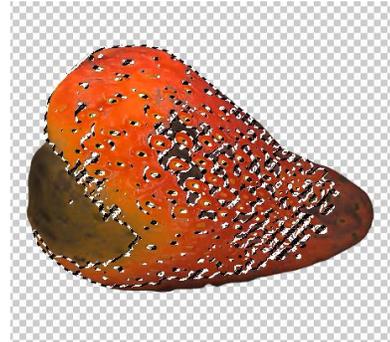
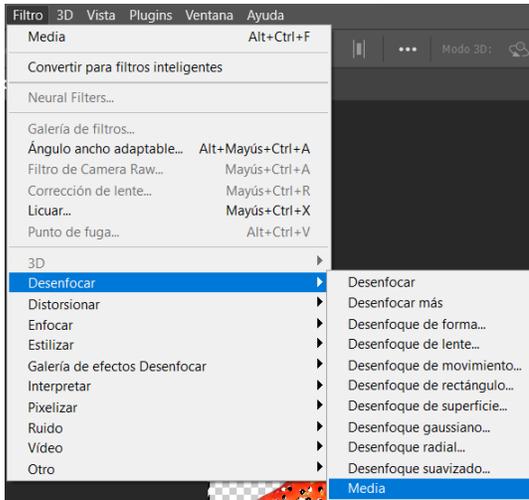




	Label	Area	Min	Max	Perim.	Median
1	20220922_172424.jpg:L*	13.472	19.184	100	20.294	67.315
2	20220922_172424.jpg:a*	13.472	-15.755	72.549	20.294	39.675
3	20220922_172424.jpg:b*	13.472	-4.795	82.352	20.294	30.706

Anexo 6. Paso a paso del proceso de análisis de color en Photoshop



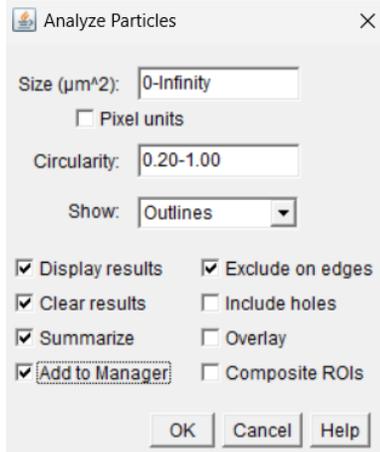
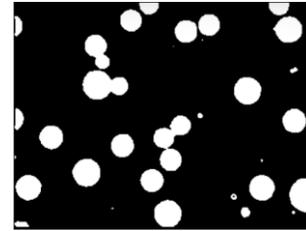
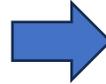
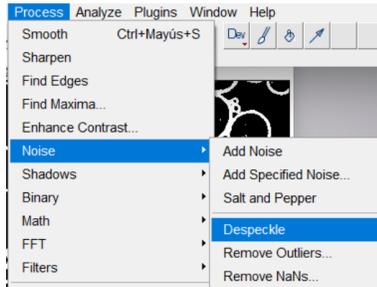
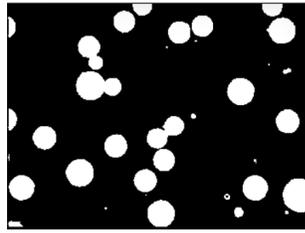


Información >> | ☰

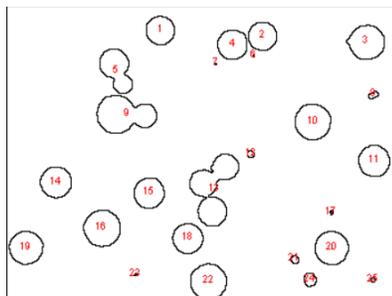
L : a : b :	8 bits	C : M : Y : K :	8 bits
X : Y :		An : Ai :	500 500
#1 L : a : b :	58 46 47	#2 L : a : b :	56 60 65
#3 L : a : b :	41 48 47		

Doc: 732,4 KB/976,6 KB

Haga clic en la imagen para colocar una muestra de color nueva. Use Ctrl para opciones adicionales.

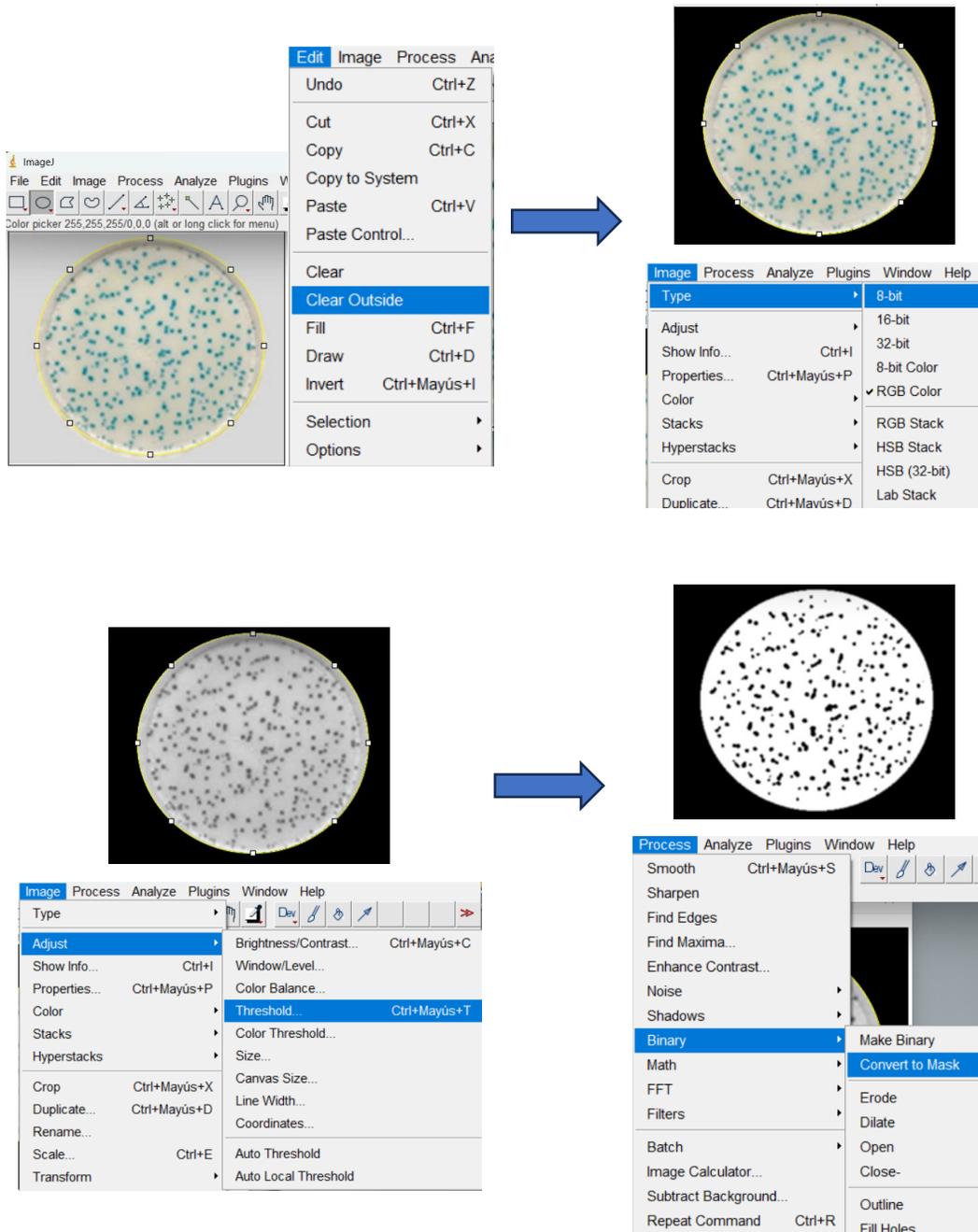


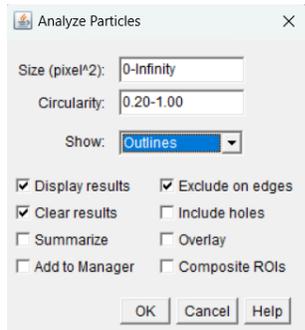
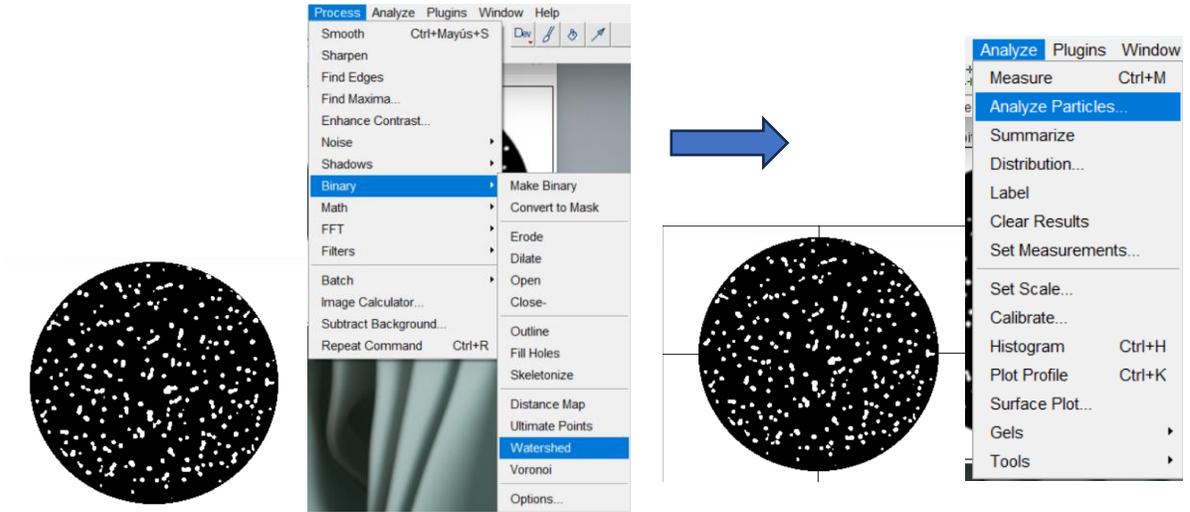
	Area	StdDev	Perim.	Feret	Median
19	2.020E3	0.000E0	1.661E2	5.322E1	2.550E2
20	2.043E3	0.000E0	1.657E2	5.322E1	2.550E2
21	1.005E2	0.000E0	3.654E1	1.366E1	2.550E2
22	2.350E3	0.000E0	1.772E2	5.765E1	2.550E2
23	1.149E1	0.000E0	1.198E1	5.360E0	2.550E2
24	2.988E2	0.000E0	6.307E1	2.210E1	2.550E2
25	3.447E1	0.000E0	1.918E1	7.580E0	2.550E2



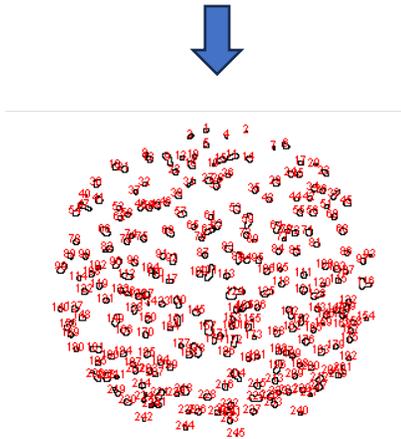
Slice	Count	Total Area	Average Size	%Area	Perim.
1-1 30.png	25	35644.930	1425.797	13.202	126.123

Anexo 8. Paso a paso del proceso de recuento de ufc en ImageJ



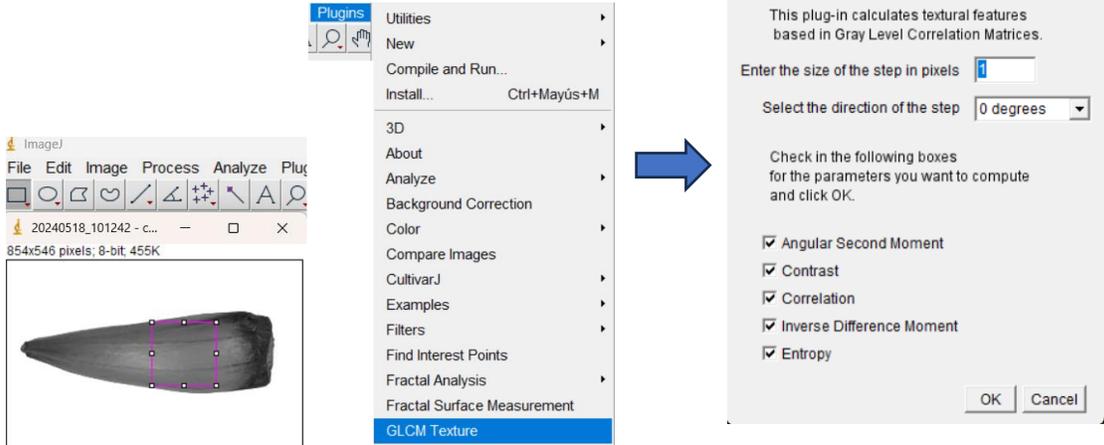
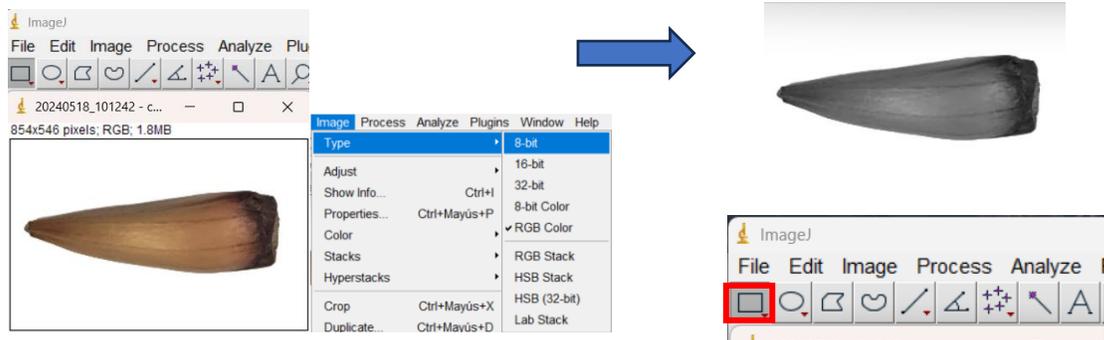


File	Edit	Font	Results		
	Label	Area	Mean	Min	Max
243		16.000	255	255	255
244		11.000	255	255	255
245		1.000	255	255	255
246	Mean	19.959	255	255	255
247	SD	11.257	0	0	0
248	Min	1.000	255	255	255
249	Max	87.000	255	255	255



File	Edit	Font	Results
	Area	Mean	
239	16	255	Clear Results
240	7	255	Summarize
241	2	255	Distribution...
242	6	255	Set Measurements...
243	16	255	Sort...
244	11	255	Plot...
245	1	255	Options...

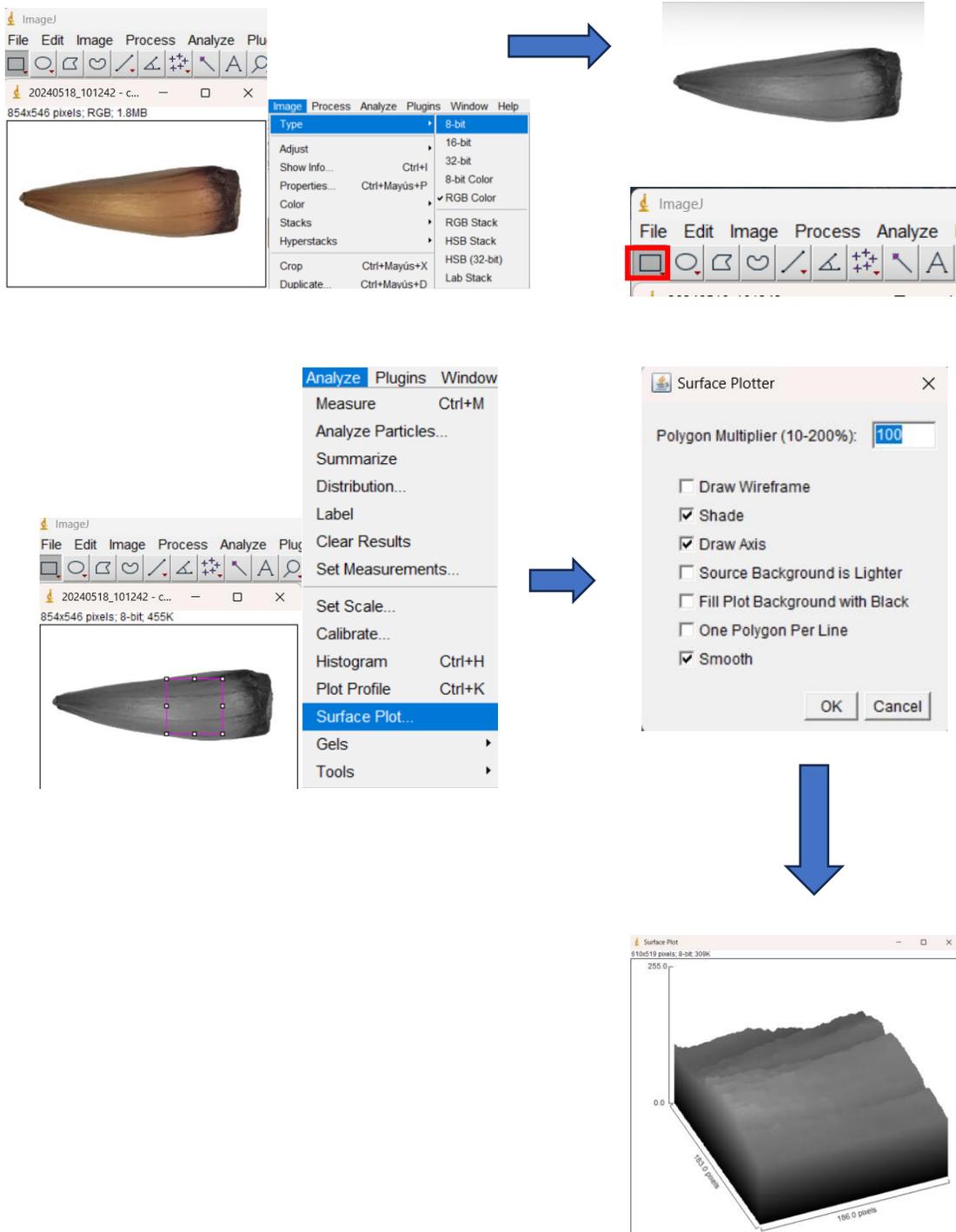
Anexo 9. Paso a paso de Textura (GLCM)

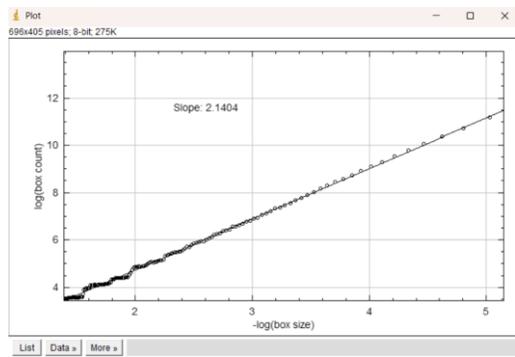
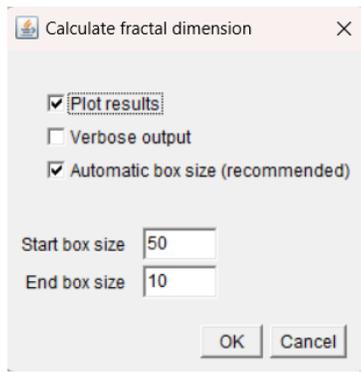
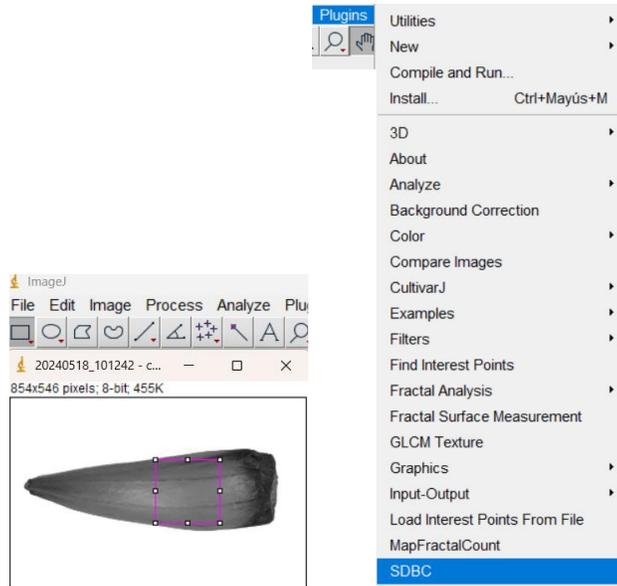


The third screenshot shows the 'Results' window. It contains a table with the following data:

	Angular Second Moment	Contrast	Correlation	Inverse Difference Moment	Entropy	Sum of all GLCM elements
1	0.010	0.668	0.005	0.770	5.203	1.000

Anexo 10. Paso a paso de la comparación de análisis fractal superficial





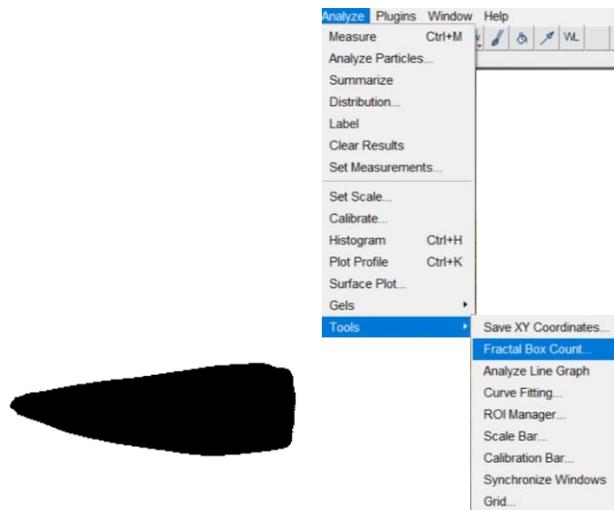
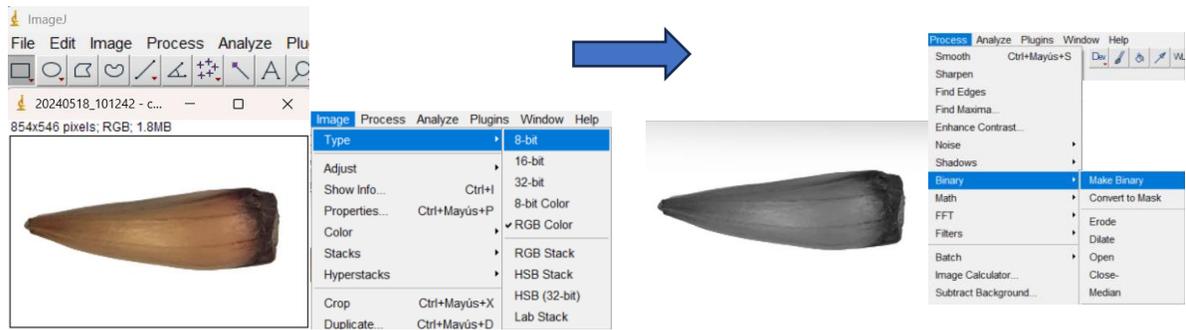
The 'Results' window shows the following text:


```

    File Edit Font Results
    Surface Plot: Dimension estimate: 2.1404: Settings: 152:2
    
```

 A blue arrow points from the 'Calculate fractal dimension' dialog to this results window.

Anexo 11. Paso a paso del análisis fractal contorno



Results

Label	C2	C3	C4	C6	C8	C12	C16	C32	C64	D
1 20240518_101242-copia(3)	31087	13923	7896	3563	2032	927	536	147	44	1.902

