

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CHIHUAHUA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

***“IMÁGENES HIPERESPECTRALES APLICADAS
A LA PRODUCCIÓN DE MICROGREENS Y
ESPIRULINA”***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

***MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA ELECTRÓNICA***

PRESENTA:

ROBERTO CARRILLO QUEZADA

DIRECTOR DE LA TESIS:

DR. LUIS FRANCISCO CORRAL MARTÍNEZ

CHIHUAHUA, CHIH., NOVIEMBRE 2022



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®





Chihuahua, Chih. 25 de noviembre de 2022

**C. ROBERTO CARRILLO QUEZADA
PRESENTE**

En cumplimiento con los requerimientos para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ingeniería Electrónica y a propuesta de su Comité Tutorial, la División de Estudios de Posgrado e Investigación le concede la autorización para imprimir la tesis titulada **"Imágenes hiperespectrales aplicadas a la producción de microgreens y espirulina"** dirigida por el Dr. Luis Francisco Corral Martínez con el siguiente contenido de capítulos:

- I Introducción
- II Antecedentes
- III Marco teórico
- IV Cultivos: microgreens y espirulina
- V Sistema de iluminación
- VI Sistema de calibración y captura
- VII Procesamiento
- VIII Resultados
- IX Conclusiones
- X Trabajo futuro

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
"La Técnica por el Engrandecimiento de México"

ROGELIO ENRIQUE BARAY ARANA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

REBA/adcs





Chihuahua, Chih. 22 de noviembre de 2022

ROGELIO ENRIQUE BARAY ARANA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

En cumplimiento con los requerimientos para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ingeniería Electrónica, le notificamos que el documento de tesis del alumno **C. ROBERTO CARRILLO QUEZADA**, titulado **"Imágenes hiperespectrales aplicadas a la producción de microgreens y espirulina"** dirigido por el Dr. Luis Francisco Corral Martínez, ha sido aprobado y aceptado para su impresión.

Por lo anterior, proponemos le sea concedida la autorización de impresión correspondiente.

Agradeciendo la atención a la presente, quedamos de usted:

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
"La Técnica por el Engrandecimiento de México"

DR. LUIS FRANCISCO CORRAL MARTÍNEZ
MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORIAL

DR. MARCELINO ANGUIANO MORALES
MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORIAL

DR. GERARDO TRUJILLO SCHIAFFINO
MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORIAL

DRA. DIDIA PATRICIA SALAS PEIMBERT
MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORIAL





DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

En la ciudad de Chihuahua el día 25 de noviembre de 2022, el que suscribe, C. ROBERTO CARRILLO QUEZADA de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Electrónica, con número de control G20061549, adscrito a la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Chihuahua, manifiesta que es autor intelectual de la tesis titulada "Imágenes hiperespectrales aplicadas a la producción de microgreens y espirulina" bajo la dirección el Dr. Luis Francisco Corral Martínez; que el contenido es original y que las fuentes de información consultadas para su fundamentación están debidamente citadas y referenciadas.

Roberto Carrillo Q.

C. ROBERTO CARRILLO QUEZADA



Chihuahua, Chihuahua, a 30 de noviembre del 2022.

Dra. María Elena Álvarez-Buylla
Director/a de Conacyt

Sirva la presente para saludarla e informarle que a la fecha he obtenido el grado de Maestro en Ciencias en Ingeniería Electrónica en la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Chihuahua, motivo por el cual agradezco todo el apoyo brindado por este Consejo que usted representa, con el otorgamiento de una beca que permitió dedicarme de manera exclusiva a la realización de mis estudios de posgrado y de esta manera lograr el objetivo principal del convenio establecido.

Sin otro particular quedo a sus órdenes no sin antes reiterar mi agradecimiento.
Atentamente

A handwritten signature in blue ink that reads "Roberto Camillo G.".

Nombre del alumno

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Gilberto Erosa por su aportación de materia prima orgánica para llevar a cabo los cultivos, también por compartir sus metodologías y conocimientos sin los cuales no hubiera podido llevar a cabo la fase experimental del proyecto.

Gracias a mi asesor el Dr. Francisco Corral, por su dedicación, paciencia y apoyo en el transcurso de mi formación profesional.

Gracias a mis miembros del comité: la Dra. Didia Salas, al Dr. Marcelino Anguiano, y al Dr. Gerardo Trujillo por compartir su conocimiento y ser parte de este gran logro.

Gracias a mi familia por siempre creer en mí y alentarme a lograr mis metas y siempre ver hacia adelante.

Gracias a mi novia por motivarme a ser mejor persona cada día.

Gracias a mis compañeros y amigos por su amistad, apoyo y actividades compartidas.

Gracias a Dios por bendecir a todos los anteriormente mencionados.

RESUMEN

IMÁGENES HIPERESPECTRALES APLICADAS A LA PRODUCCIÓN DE MICROGREENS Y ESPIRULINA

Roberto Carrillo Quezada

Maestría en Ciencias en Ingeniería Electrónica

División de Estudios de Posgrado e Investigación

Instituto Tecnológico de Chihuahua

Chihuahua, Chih., noviembre 2022.

Director de Tesis: Dr. Luis Francisco Corral Martínez

La agricultura ha sido una de las principales fuentes de alimento de la humanidad desde el asentamiento de los nómadas, con el paso del tiempo las técnicas y herramientas de cultivo han podido mejorar la calidad de los alimentos, aminorar el tiempo de cosecha, cuidar la salud del cultivo y del suelo, y aumentar la producción de alimentos a gran escala.

En años recientes se inició la agricultura de precisión que se basa en el cuidado, la observación, la medida y la utilización de los recursos para el mejor manejo del crecimiento del cultivo. Se han incorporado tecnologías como la robótica, manejo de vehículos, tomas y capturas satelitales o aéreas, y la automatización por medio del internet de las cosas. También se han utilizado sistemas de visión hiperespectrales para la adquisición de datos bioquímicos de los organismos fotosintéticos.

Este proyecto buscó una aproximación al punto óptimo de cosecha de microgreens y espirulina con una vida máxima de 14 y 7 días respectivamente previa cosecha. Se utilizaron técnicas basadas en la captura de imágenes hiperespectrales con un intervalo de 24 horas entre cada captura, y con ayuda de índices vegetativos como el PRI, NPCI, MCARI y el GLI, se procesaron las capturas para la obtención de resultados. Los índices MCARI y GLI fueron los que obtuvieron mejor desempeño.

Los resultados arrojaron que es posible determinar un punto de cosecha específico para ambos casos, pero con un retraso determinado de tiempo; dicho retraso depende de la frecuencia de muestreo por lo que un sistema de análisis en tiempo real brindaría resultados totalmente satisfactorios.

ABSTRACT

HYPERSENSPECTRAL IMAGES APPLIED TO THE PRODUCTION OF MICROGREENS AND SPIRULINA

Roberto Carrillo Quezada

Master of Science in Electronic Engineering

Division of Postgraduate Studies and Research

Instituto Tecnológico de Chihuahua

Chihuahua, Chih., noviembre 2022.

Thesis director: Dr. Luis Francisco Corral Martínez

Agriculture has been one of the main sources of food for humanity since the settlement of nomads, over time cultivation techniques and tools have improved the quality of food, shorter harvest time, take care of the health of the cultivation and soil, and increase food production on a large scale.

In recent years precision agriculture began, which is based on care, observation, measurement, and the use of resources for the best management of crop growth. Technologies such as robotics, vehicle management, satellite or aerial captures, and automation through the internet of things have been incorporated. Hyperspectral vision systems have also been used for the acquisition of biochemical data from photosynthetic organisms.

This project looks for an approximation to the optimum harvest point for microgreens and spirulina with a maximum life of 14 and 7 days, respectively, prior to harvest. Techniques based on the capture of hyperspectral images with an interval of 24 hours between each capture were applied, and using vegetative indices such as PRI, NPCI, MCARI and GLI, the captures were processed to obtain results. The MCARI and GLI indices were the ones that obtained the best performance.

The results showed that it is possible to determine a specific harvest point for both cases, but with a certain time delay; this delay depends on the sampling frequency, so a real-time analysis system would provide totally satisfactory results.

CONTENIDO

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
CONTENIDO	ix
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABLAS	xvi
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES	4
CAPÍTULO III. MARCO TEÓRICO	7
3.1. Espirulina	7
3.1.1. Inoculación	7
3.1.2. Medio	7
3.1.3. Sistema de cultivo	7
3.1.4. Variables involucradas en su crecimiento	8
3.1.5. Cosecha	9
3.1.6. Curvas de crecimiento	10
3.2. Microgreens	10
3.2.1. Método de cultivo	11
3.2.2. Siembra	11
3.2.3. Cuidados	11
3.2.4. Cosecha	11
3.3. Imágenes	11
3.3.1. Imagen digital	12
3.3.1.1. Pixel	12
3.3.1.2. Sistema de coordenadas	12
3.3.1.3. Intensidades en escala de grises	13
3.3.2. Imagen hiperespectral	13
3.3.2.1. Pixel	14
3.3.2.2. Resolución	14
3.4. Radiometría	15

3.4.1. Flujo radiante	15
3.4.2. Intensidad radiante	15
3.4.3. Irradiancia	16
3.4.4. Radiancia	17
3.4.5. Curva V_λ	18
3.4.6. Ecuación que modela el intercambio de radiación entre dos superficies planas paralelas	20
3.4.7. Ecuación que modela el intercambio de radiación entre una superficie plana y un hemisferio	21
3.5. Ledes	21
3.5.1. Ángulo medio de emisión	22
3.5.2. Ancho de banda media	23
3.6. Cámara	23
3.6.1. Rango dinámico y relación señal – ruido	23
3.6.2. Eficiencia cuántica	24
3.7. Organismos fotosintéticos	24
3.7.1. Reflectancias típicas	26
3.7.2. Relación del nitrógeno y otros nutrimentos con sus niveles de clorofila	26
3.7.3. Clorofila	26
3.7.4. Carotenoides	26
3.7.5. Curva de correlación de clorofila y carotenoides	27
3.8. Índices vegetativos	28
3.8.1. PRI	28
3.8.2. NPCI	28
3.8.3. MCARI	29
3.8.4. GLI	30
CAPÍTULO IV. CULTIVOS: MICROGREENS Y ESPIRULINA	30
4.1. Microgreens	30
4.1.1. Sustrato	30
4.1.2. Siembra	30
4.1.3. Riego	31

4.1.4. Temperatura	32
4.1.5. Luz	32
4.1.6. Cosecha	32
4.2. Espirulina	33
4.2.1. Inoculación	33
4.2.2. Período de alimentación	33
4.2.3. Aeración	34
4.2.4. Exposición a la luz	34
4.2.5. Temperatura y pH	34
4.2.6. Nutrientes	35
CAPÍTULO V. SISTEMA DE ILUMINACIÓN	36
5.1. Diseño del hemisferio	37
5.1.1. Recubrimiento interno	38
5.1.2. Especificaciones	39
5.2. Diseño del PCB	40
5.2.1. Ledes	40
5.2.2. Radiometría	42
5.2.2.1. Intensidad mínima del pixel para contener la menor cantidad de ruido	43
5.2.2.2. Diagrama de flujo para la estimación de los resultados radiométricos	46
5.2.2.3. Ecuaciones radiométricas	47
5.2.2.4. Tablas de resultados	47
5.2.3. PCB	49
5.2.3.1. Distribución	49
5.2.3.2. Diseño en PROTEUS	51
5.3. Circuito de potencia	52
5.3.1. Voltajes, corrientes y resistencias de los ledes	52
5.3.2. Diagrama de conexiones	53
CAPÍTULO VI. SISTEMA DE CALIBRACIÓN Y CAPTURA	55
6.1. Diagrama general de funcionamiento	55
6.2. Calibración	56

6.3. Captura	57
CAPÍTULO VII. PROCESAMIENTO	59
7.1. Obtención de reflectancias	59
7.2. Correlación de reflectancias con las curvas características de los carotenoides y la clorofila	60
7.3. Índices vegetativos	61
7.4. Mapeo	61
7.5. Guardado de la información	62
7.6. Comparación de información	62
CAPÍTULO VIII. RESULTADOS	64
8.1. Microgreens	64
8.1.1. Mapeos	65
8.2. Espirulina	66
8.2.1. Mapeos	68
CAPÍTULO IX. CONCLUSIONES	70
CAPÍTULO X. TRABAJO FUTURO	71
REFERENCIAS	72
APÉNDICE	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1.	Fases en el crecimiento de la espirulina.	10
Figura 3.2.	Imagen A representada por una matriz contenedora de sus coordenadas espaciales [20].	12
Figura 3.3.	Representación de una imagen en escala de grises de 8 bits [20].	12
Figura 3.4.	Representación de una imagen hiperespectral, hipercubo [21].	13
Figura 3.5.	Geometría que define la radiancia [22].	16
Figura 3.6.	Eficiencia espectral luminosa $V(\lambda)$ [22].	17
Figura 3.7.	Diagrama ilustrativo del intercambio de radiación entre dos superficies planas, paralelas y circulares.	18
Figura 3.8.	Componentes diferenciales de una circunferencia.	19
Figura 3.9.	Diagrama ilustrativo del intercambio de radiación entre una superficie plana y un hemisferio.	20
Figura 3.10.	Gráfica de distribución espacial para un led con emisión lambertiana.	21
Figura 3.11.	Gráfica de distribución espacial para un led de 385 nm con 7.5 grados de intensidad media [24].	22
Figura 3.12.	Ancho de línea de banda media para un led de 385 nm [24].	22
Figura 3.13.	Eficiencia cuántica o responsividad del sensor de la cámara Basler dart da1920-30 um [30].	24
Figura 3.14.	Curva de reflectancias del trigo [32].	24
Figura 3.15.	Curva de reflectancias de la soya [31].	25
Figura 3.16.	Curva de reflectancias de la hoja de girasol [33].	25
Figura 3.17.	Curva de reflectancias para 5 culturas de espirulina [34].	25
Figura 3.18.	Comportamiento de la clorofila y los carotenoides dentro del espectro visible.	27
Figura 3.19.	Curva de comportamiento del índice MCARI.	29
Figura 4.1.	Semilla.	30
Figura 4.2.	Sustrato: espuma fenólica.	31
Figura 4.3.	Semillas germinadas.	31

Figura 4.4.	Bandeja con microgreens a los 14 días post siembra.	32
Figura 4.5.	Recipiente con la espirulina ya inoculada.	33
Figura 4.6.	Sistema de aeración.	34
Figura 4.7.	Termostato eléctrico utilizado en el ajuste de temperatura del recipiente.	35
Figura 5.1.	Diagrama general del sistema.	36
Figura 5.2.	Sistema de iluminación, armado físico.	37
Figura 5.3.	Diseño del hemisferio, vista inferior.	38
Figura 5.4.	Recubrimiento interno del hemisferio impreso.	39
Figura 5.5.	Accesorios agregados al hemisferio.	40
Figura 5.6.	Vista inferior del hemisferio impreso.	40
Figura 5.7.	Respuesta espectral de los ledes.	42
Figura 5.8.	Cámara Basler dart 1920-30 um.	42
Figura 5.9.	Especificaciones de la cámara.	43
Figura 5.10.	Diagrama de flujo del análisis radiométrico del sistema.	46
Figura 5.11.	Número mínimo de ledes para el estudio de la espirulina y sus tiempos de exposición.	48
Figura 5.12.	Número mínimo de ledes para el estudio de los microgreens y sus tiempos de exposición.	48
Figura 5.13.	a) Vista posterior, pistas del PCB. b) Vista frontal, ledes.	51
Figura 5.14.	Diseño de las pistas del PCB fabricado en PROTEUS.	51
Figura 5.15.	Circuito separador de potencias.	53
Figura 5.16.	Diagrama de conexiones realizado en PROETUS.	54
Figura 5.17.	Armado del circuito de potencia.	54
Figura 6.1.	Diagrama general del modo automático del programa de encendido y captura.	55
Figura 6.2.	Diagrama del subproceso de la calibración.	56
Figura 6.3.	Diagrama general del subproceso de capturas.	58
Figura 7.1.	Diagrama de flujo del procesamiento.	59

Figura 8.1.	Comparativa del comportamiento normal de la curva MCARI vs curva obtenida de los microgreens.	64
Figura 8.2.	Resultados de los índices para los microgreens.	65
Figura 8.3.	Mapeos de los distintos índices vegetativos para los microgreens.	66
Figura 8.4.	Comportamiento del índice GLI respecto al tiempo.	67
Figura 8.5.	Curva típica del crecimiento de la espirulina y sus fases.	67
Figura 8.6.	Resultados de los índices de la espirulina.	68
Figura 8.7.	Mapeos de los distintos índices vegetativos para la espirulina.	69
Figura A1.	Panel frontal del código de captura.	76
Figura A2.	Captura de datos de la muestra y selección del ROI.	76
Figura A3.	Cuadro de diálogo para la elección de la calibración.	77
Figura A4.	a) Calibración. b) Lectura de tiempos de exposición.	77
Figura A5.	Guardado de imágenes de calibración.	78
Figura A6.	Captura y guardado de las imágenes.	78
Figura A7.	Encendido de ledes.	79

LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1.	Equivalencias en conceptos radiométricos y fotométricos.	14
Tabla 4.1.	Macronutrientes utilizados en el cultivo de espirulina.	35
Tabla 5.1.	Características de los ledes comprados.	41
Tabla 5.2.	Tiempo de exposición ideal vs real para la espirulina.	49
Tabla 5.3.	Distribución de ledes.	50
Tabla 5.4.	Valores de voltajes y corrientes de los ledes.	52
Tabla 7.1.	Reflectancias de la curva de carotenoides y clorofila para las longitudes de onda propuestas.	61
Tabla 7.2.	Longitudes de onda utilizados para cada índice vegetativo y su comparación con las bandas del sistema.	62

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Desde que el hombre siembra y cosecha sus propios alimentos se ha visto en la necesidad de mejorar el proceso de cultivo para tener bajo control la cantidad de cosecha, las plagas, la cantidad de materia prima utilizada, etc. Es de esperarse que los primeros cultivos fueran carentes de técnicas y herramientas, pero con el paso del tiempo, surgieron avances tecnológicos tales como el arado guiado por animales, fertilizantes, pesticidas, y varias consideraciones externas como los ciclos de cultivo, el clima, las estaciones del año, entre otros. La tecnología actual permite crear un entorno artificial y controlado en el que la planta pueda desarrollarse de manera perfecta y, hasta cierto punto, autónoma. Pero incluso dentro del entorno ideal quedan ciertas variables por considerar para mejorar los tiempos de producción y aminorar el uso de materiales esenciales. Recientemente nació la agricultura de precisión, se centra en tomar acción en el momento adecuado y en el lugar exacto, con los recursos óptimos. Un ejemplo de ello sería la dosis de fertilizante a aplicar, la densidad de plantación, la fecha de siembra, la fecha de cosecha, etc.

Los microgreens son plantas pequeñas cosechadas entre los 10 y 14 días a partir de su siembra, un conjunto de microgreens con un peso determinado posee más nutrientes que su versión adulta del mismo peso que el conjunto. Utilizando la agricultura de precisión basada en imágenes hiperespectrales, es posible determinar su punto de cosecha exacto dando a lugar un par de días extras para la siembra de nuevas semillas. En consecuencia, se obtendría más producto neto en menos tiempo y se ahorrarían materiales como el agua.

La espirulina, anteriormente considerada como alga unicelular, es un grupo de cianobacterias del género *Arthrospira*, que una vez cultivada, secada y hecha polvo, posee hasta el 70% de su peso neto en proteínas. Es cosechada con instrumentos de muy baja precisión, por tal motivo su recolección suele estar fuera de tiempo. Si se cosecha antes de tiempo, no se obtendrá la cantidad óptima por cultivo; y si se cosecha después de tiempo, no habrá una cantidad notable de espirulina comparada con el punto exacto. La agricultura de

precisión basada en imágenes hiperespectrales puede encontrar el punto óptimo de cosecha y así evitar la pérdida de material y tiempo.

El interés surge de la falta de procesos lo suficientemente efectivos para ambos casos, los microgreens han sido cosechados de manera normalizada entre los 10 y 14 días sin tener un punto preciso. En cuanto al método de cosecha de la espirulina, este es invasivo y por lo tanto carente de optimalidad.

Ambos estudios fueron realizados por la obtención de información a través de la luz reflejada en los objetos de muestra, dicha técnica se basa en la captura y análisis de imágenes hiperespectrales. El interés radica en obtener los índices de vegetación que brinden más información respecto al punto óptimo de cosecha.

El objetivo del proyecto es brindar a la comunidad agrícola estas técnicas innovadoras para la optimización de sus ciclos de cultivo, así como atacar de manera secundaria otros factores como el económico y el ambiental.

El proyecto consiste en desarrollar un sistema de análisis de imágenes hiperespectrales como herramienta de investigación, para así poder utilizarla en la realización del estudio sobre el punto óptimo de cosecha de los microgreens y la espirulina. La información contenida en este documento se encuentra estructurada de la siguiente manera: en la sección de antecedentes (Capítulo II) se mencionan temas y procedimientos previos para la resolución de problemas relacionados con el área de estudio, todos ellos realizados por la comunidad científica. Después, en la sección del marco teórico (Capítulo III), se brinda información al lector sobre los principios físicos, conceptuales e información general de los métodos y herramientas utilizados para la realización del proyecto. El Capítulo IV habla sobre la metodología experimental, es decir, el control del entorno en que se desarrollaron los microgreens y la espirulina, así como el intervalo de captura. El Capítulo V incluye información detallada del diseño físico y electrónico del sistema de iluminación. Dentro del Capítulo VI se encuentra la logística de la calibración y captura de imágenes. El procesamiento de la información obtenida en el capítulo anterior puede ser consultado en el Capítulo VII, aquí se detalla el algoritmo, desde la obtención de reflectancias hasta el criterio

de comparación para la obtención de resultados. En el Capítulo VIII se desarrollan los resultados, en el Capítulo IX las conclusiones y finalmente en el Capítulo X se presentan recomendaciones para continuar el proyecto en un futuro.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

Con el paso de los años el uso y avance tecnológico de las imágenes multiespectrales (MSI por sus siglas en inglés – *Multispectral Images*) e hiperespectrales (HSI por sus siglas en inglés – *Hyperspectral Images*) ha ido en aumento en múltiples campos, que, aunque son muchos y variados, en este documento se centra la atención en la agricultura de precisión [1].

Las HSI no son una tecnología reciente [2], [3], en un inicio su procesamiento era lento y la resolución tanto espacial como temporal eran pobres; con el paso del tiempo y el desarrollo de nuevas tecnologías y técnicas de procesamiento digital de imágenes se ha logrado mejorar mucho el campo, abriéndole las puertas en distintas áreas.

Para el análisis de las HSI se propone utilizar técnicas estadísticas y matemáticas (quimiometría) basadas en química para la obtención de datos de imágenes hiperespectrales. Los píxeles contienen información mixta proveniente de la reflexión de luz de zonas cercanas a la muestra y de la presencia de varios objetos de prueba en un solo pixel, por lo que las técnicas de procesamiento químico son ideales para tratar con estos datos multivariantes [4].

En cuanto a la iluminación, la luz proveniente del sol abarca una gran cantidad del espectro electromagnético y se pueden obtener datos muy versátiles. La desventaja de este sistema de iluminación radica en que la mayor parte del tiempo se emplea para realizar mediciones satelitales y éstas pueden ser afectadas por el fenómeno de dispersión causado por las partículas presentes en la atmósfera, sobre todo cuando se trabaja con longitudes de onda cortas como la radiación ultravioleta. El ser tan dependiente de las condiciones atmosféricas implica mayores escalas de tiempo para la obtención de mediciones adecuadas [5].

El paso del tiempo ha traído avances en las fuentes de luz utilizadas, comenzando con los focos de filamento de tungsteno que generaban calor y podían alterar las muestras.

Actualmente, se utilizan sistemas de iluminación led y fuentes láser; aunque también existe la posibilidad de utilizar luz solar, pero es raro verla en ambientes controlados [6].

Las HSI y MSI son una combinación del registro de imágenes y de espectroscopia punto a punto convencionales [6]. Los sistemas más comunes de captura de imágenes son punto a punto, gracias a su gran precisión. Hay otros que van dirigidos al aumento de velocidad de captura como los que mapean de forma lineal horizontal o vertical, y los que lo hacen de manera total en una sola toma. Cabe destacar que cada uno de los sistemas anteriormente mencionados únicamente registran una banda del espectro por cada captura. Hoy en día hay sistemas de cámaras que permiten obtener todo el rango del espectro deseado dividido en bandas configurables en una sola captura, aunque su precio comercial es alto [7]. Utilizan un arreglo de filtros multiespectrales para evaluar cada banda.

Respecto a los microgreens, los carotenoides son utilizados por la planta para disipar el exceso de energía térmica [8]. Este tipo de pigmento está estrechamente relacionado con la clorofila y ambos pueden ser medidos por medio de HSI. Cada planta posee una firma espectral diferente para su absorbancia, pero todas pueden ser categorizadas dentro del rango visible e infrarrojo cercano [9].

El estudio de la clorofila concluye que las hojas de té verde dan sus rasgos más característicos a los 650 nm y 950 nm [9]. Se utilizaron 3 algoritmos de procesamiento: Bosque aleatorio (RF – *Random Forest*), red de creencia profunda (DBN- *Deep Belief Nets*) y máquinas de vectores de soporte (SVM - *Support Vector Machine*); de los cuales el DBN tuvo mejor rendimiento al momento de cuantificar la clorofila tipo a (chl-a) y clorofila tipo b (chl-b), y se llegó a esta conclusión después de haber usado los modelos raíz del error cuadrático medio (RMSE - *Root Mean Square Error*) y relación de rendimiento a desviación (RPD - *Ratio of Performance to Deviation*) para la corroboración de los datos.

Hablando sobre la estimación de biomasa en un ambiente húmedo como lagos, piletas o estanques; no se habían realizado estudios en esta área utilizando HSI para la determinación de su concentración [10]. Los métodos utilizados anteriormente eran invasivos, laboriosamente pesados y consumidores de tiempo, además de ser propensos al error

humano. Son propuestos cuatro métodos para la obtención de índice de vegetación, de los cuales, el modelo cuadrático del índice de diferencia de vegetación (DVI – *Difference vegetation index*) demostró ser más preciso que el resto con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.925. El artículo concluye que la concentración de biomasa puede ser estimada con efectividad utilizando un vehículo aéreo no tripulado (UAV - *Unmanned Aerial Vehicle*) basado en imágenes hiperespectrales.

Cada uno de los proyectos desarrollados con anterioridad por sus respectivos autores constan de su propio sistema de iluminación diseñado o escogido de acuerdo con sus necesidades y este proyecto no es la excepción. Un solo sistema de iluminación puede ser utilizado para generar capturas hiperespectrales para los microgreens y para la espirulina y así estudiar sus puntos óptimos de cosecha. No existe diferencia en el rango electromagnético que debe iluminar ambos tipos de cultivo, ya que, al ser de la misma naturaleza (organismos fotosintéticos) su respuesta a la luz incidente es parecida. Sin embargo, deben atacarse de manera diferente y esto se ve reflejado en el procesamiento de la información hiperespectral obtenida.

CAPÍTULO III

MARCO TEÓRICO

3.1. Espirulina

La espirulina es una cianobacteria que puede crecer en estanques al aire libre o dentro de entornos controlados, su cultivo es importante por su gran aporte proteico a la dieta humana y animal.

3.1.1. Inoculación

La inoculación es el proceso por el cual un microorganismo (también llamado inóculo) es introducido en un medio de crecimiento para comenzar a cultivarlo.

La inoculación es un factor inicial muy importante porque afecta directamente en la cantidad de biomasa. Esto debido a la incidencia de la luz en la cultura, cuando la cantidad del inóculo es demasiado baja, la luz es capaz de atravesar todo el medio permitiendo la fotosíntesis en la totalidad del recipiente, pero al ser poca la biomasa, es poca la respuesta fotosintética. En cambio, si hay demasiada cultura, la luz no alcanza a penetrar todas las partículas de la cianobacteria y no se puede propiciar la fotosíntesis en su totalidad por lo que el crecimiento no aumenta. La cantidad óptima es aquella que permita la fotosíntesis en todo el medio y donde la luz sea aprovechada en su plenitud [11].

3.1.2. Medio

El medio es el lugar en el que crece la cianobacteria, está compuesto por ciertos nutrientes en cantidades específicas que sirven como alimento a la espirulina.

El medio más popular es el de Zarrouk que, aunque es el más utilizado, existen otros medios en los cuales es posible que la espirulina crezca y cada uno de ellos tiene sus ventajas y desventajas [12].

3.1.3. Sistema de cultivo

Como se mencionó en los primeros subtemas de este capítulo, el medio y la espirulina pueden ser depositados en sistemas abiertos o cerrados. Los sistemas abiertos pueden ser

lagos, lagunas o contenedores artificiales, son de fácil construcción y operación, pero resultan en baja producción y son costosos. El crecimiento depende de la localización, la temporada, temperatura, pH, nutrientes y suministro de dióxido de carbono. Al estar en un ambiente sin controlar, el medio puede ser fácilmente contaminado.

Los sistemas de crecimiento cerrados son llamados fotobiorreactores [12], estos no tienen intercambio directo de contaminantes y gases con el medio ambiente, tienen altas tasas de productividad de espirulina, mejor control del suministro de dióxido de carbono, agua, mejor control de temperatura, cantidad de luz eficiente, niveles eficientes de pH, aeración y densidad de cultura.

3.1.4. Variables involucradas en su crecimiento

Al igual que cualquier otro ser vivo, la espirulina debe estar en un medio amigable para su crecimiento [12].

- Temperatura: ronda entre los 20 y 37 °C, aunque la temperatura óptima oscila entre los 29 y los 35 °C. Debajo de los 17 °C el crecimiento es nulo pero la espirulina no muere, arriba de los 38 °C la espirulina deja de crecer y muere.
- Luz: es recomendable permitir la incidencia del 30% de la luz del sol. No es recomendable la iluminación durante 24 h.
- Medio: el agua debe estar limpia para evitar el crecimiento de bacterias parásitas. Añadir bicarbonato al medio y evitar el exceso de fosfato, magnesio y calcio.
- Aeración: la agitación es necesaria para homogenizar la cultura y garantizar una buena distribución de la luz del día. Puede llevarse a cabo por paletas rotadoras o por inyección de burbujas de aire. La velocidad de agitación óptima ronda entre los 5 y 60 cm/s, fuera de estos límites puede quedarse cultura en las esquinas del contenedor, o bien, estresar la cianobacteria.
- pH: mantenerlo entre 9 y 11, así se evita la supervivencia de otros microorganismos presentes en el estanque.
- Intensidad de luz (artificial): varía entre especies de espirulina, se mide en:
$$\frac{\mu\text{mol}\cdot\text{fotón}}{\text{m}^2\cdot\text{s}}.$$

3.1.5. Cosecha

Se recomienda realizarse en la mañana por el alto porcentaje del nivel de proteínas disponible, la temperatura y más horas de sol disponibles para el secado del producto [12].

Existen varios métodos de cosecha:

- Filtración
- Flotación
- Centrifugado
- Precipitación
- Intercambio de iones
- Electrolítica
- Vibración ultrasónica

El método que se utilizó en este proyecto fue la filtración por su fácil realización. Consiste en pasar el medio que contiene la cultura a través de un cedazo micrométrico. Se pasa la mitad del cultivo total y la otra mitad se deja como inóculo.

3.1.6. Curva de crecimiento

Se determinó que el crecimiento de la espirulina está basado en 6 etapas [13]:

- I. Fase lag
- II. Fase exponencial
- III. Fase lineal
- IV. Fase de desaceleración
- V. Fase estacionaria
- VI. Fase de muerte

Las fases más importantes para este proyecto son la exponencial y la lineal, ya que en ellas se concentra todo el crecimiento de la espirulina. Es importante reconocer las etapas para cosechar. La cosecha en la etapa 2 y 3 da a lugar mayor producción de espirulina, mientras que si se cosecha en la etapa de muerte (6), se obtiene mayor índice proteico.

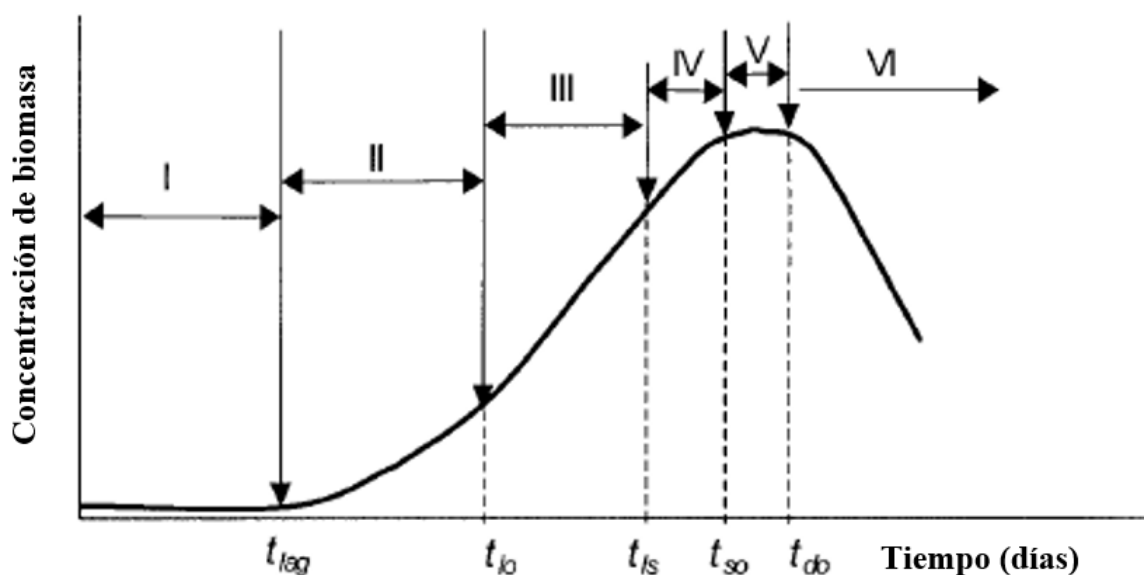


Figura 3.1. Fases en el crecimiento de la espirulina.

3.2. Microgreens

Los microgreens son vegetales jóvenes que contienen más nutrientes y micronutrientes que sus contrapartes maduras, la comparación se efectúa igualando el peso neto de ambos. Se cultivan sin raíces entre 10 y 14 días después de la siembra [14].

3.2.1. Método de cultivo

Acuaponía: Integra granjas de pescados y cultivación de plantas. Los desechos orgánicos de los pescados son utilizados como fertilizantes para las plantas y a su vez la cultivación de plantas quita sustancias metabólicas tóxicas para los pescados.

Hidroponía: Se basa en el principio de cultivar sin suelo con ayuda de sustratos, técnica de película de nutrientes (NFT - *Nutrient Film Technique*) o sistemas de raíz flotante.

Estudios encuentran diferencias entre ambos, entre ellas la más importante radica en la biomasa obtenida de las plantas al final de la temporada de cosecha. La hidroponía arroja mejores resultados debido a que los nutrientes son administrados con mayor facilidad.

En cuanto al sustrato utilizado, se vieron mejores resultados en la producción utilizando fibra de coco, pero se obtuvieron más nutrientes con la espuma fenólica [15].

3.2.2. Siembra

Para la siembra se sugiere esparcir las semillas de manera uniforme sobre el sustrato sabiendo que, a mayor razón de plantación, menor será el peso y el tamaño del microgreen.

La razón de plantación es la frecuencia o separación de siembra entre cada planta; una razón alta está derivada de poca separación entre cada elemento, y, por el contrario, una razón baja se obtiene de una gran separación [14].

3.2.3. Cuidados

El uso de fertilizantes mejora la producción de microgreens, pero no es totalmente necesario. El fertilizante más utilizado es el nitrógeno.

El riego se lleva a cabo diariamente, se provee agua hasta que ocurra un mínimo drenaje [16].

Los microgreens cultivados con fines de venta deben tener un alto desempeño en la calidad del producto por lo que se incluyen factores como la temperatura de cultivo, fertilización adecuada y la exposición a la luz [17].

3.2.4. Cosecha

La cosecha se da entre los 10 y 20 días a partir del brote de la semilla. La cosecha aproximada comercial es a los 17 días [18].

Otra manera de cosechar el producto es tomando en cuenta la altura del microgreen, hay que tomar en cuenta que cada especie varía su altura de las demás. Los microgreens se cortan arriba de la línea media con tijeras [19].

3.3. Imágenes

3.3.1. Imagen digital

Una imagen digital en escala de grises es una función en dos dimensiones de intensidades de luz $I(x,y)$, donde “x” y “y” son las coordenadas en donde se encuentra el pixel.

3.3.1.1. Pixel

Elemento puntual de una imagen, contiene información acerca de la cantidad de luz que recibió el sensor de la cámara que previamente fue reflejada por un objeto.

3.3.1.2. Sistema de coordenadas

La imagen digital al ser una función de intensidades con coordenadas “ x ” y “ y ”, puede ser representada en forma de matriz donde el número de filas y columnas corresponde al tamaño de la imagen. Cada coordenada $A(x,y)$ corresponde a un pixel.

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} A(1,1) & A(2,1) & \dots & A(450,1) \\ A(1,2) & A(2,2) & \dots & A(450,2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ A(1,350) & A(2,350) & \dots & A(450,350) \end{bmatrix}$$

Figura 3.2. Imagen A representada por una matriz contenedora de sus coordenadas espaciales [20].

3.3.1.3. Intensidades en escala de grises

Cada pixel puede tener un valor entre 0 y 2^b-1 , donde b es la profundidad de pixel. Para una profundidad de pixel de 16 bits, cada pixel de la imagen será representado por una magnitud entre 0 y 65,535 valores de intensidad. Para una imagen de 8 bits el valor del pixel será entre 0 y 255. A cada pixel se le asigna un tono de gris dependiendo de su valor.



Figura 3.3. Representación de una imagen en escala de grises de 8 bits [20].

3.3.2. Imagen hiperespectral

Las imágenes espectrales son imágenes que contienen dos dimensiones espaciales y una espectral. Las dimensiones espaciales (S_x , S_y) cumplen la misma función que las imágenes digitales que es la de ubicar los píxeles como en un sistema de coordenadas. La dimensión espectral (S_λ) es la que contiene las distintas longitudes de onda incidentes en el sensor. Finalmente la imagen hiperespectral suele representarse como un hipercubo, que es el que contiene las 3 dimensiones descritas anteriormente.

También se puede ver una imagen hiperespectral como la captura de varias imágenes, cada una en una longitud de onda monocromática distinta y superponer una captura sobre otra formando el hipercubo.

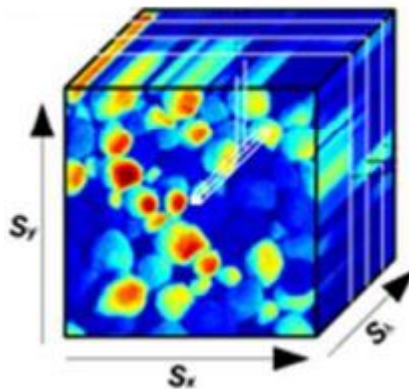


Figura 3.4. Representación de una imagen hiperespectral, hipercubo [21].

3.3.2.1. Pixel

Al igual que en las imágenes digitales convencionales, en las imágenes hiperespectrales los píxeles son ubicados en el plano imagen a través de sus coordenadas “ x ” y “ y ” de la imagen; solo que se les agrega la información de la posición espectral en el que se encuentra: $I(x,y,\lambda)$. Lo que diferencia ambos tipos de imágenes es que un solo pixel del hipercubo contiene la información de la reflexión en el objeto, separada por cada longitud de onda incidente en el sensor de la cámara.

3.3.2.2. Resolución

La resolución espectral tiene que ver con el rango de longitudes de onda que puede sensar la cámara y también con la capacidad mínima de cambio espectral que la cámara puede percibir o la cantidad de colores monocromáticos comprendidos dentro del rango de visualización.

Es decir, una cámara con rango espectral desde 300 a 700 nm con 12 bandas tiene una baja resolución espectral comparado con una cámara con rango desde los 300 a 2600 nm con 230 bandas.

3.4. Radiometría

Dentro de la radiometría existen muchos y muy variados conceptos dependiendo de la concepción de la luz. Los conceptos más habituales son el flujo radiante, irradiancia, intensidad radiante y radiancia; si se desea referirse a estos mismos, pero desde el punto de vista de la visión humana (fotometría) cambian sus nombres a flujo luminoso, iluminancia, intensidad luminosa y luminancia. La Tabla 3.1 muestra las equivalencias entre los conceptos en radiometría y fotometría [22].

Tabla 3.1. Equivalencias en conceptos radiométricos y fotométricos.

Concepto radiométrico	Símbolo	Unidades	Concepto fotométrico	Símbolo	Unidades
Flujo radiante	ϕ_e	Watt	Flujo luminoso	ϕ_v	Lumen (lm)
Intensidad radiante	I_e	$\frac{W}{sr}$	Intensidad luminosa	I_v	$\frac{lumen}{sr} = candela$
Irradiancia	E_e	$\frac{W}{m^2}$	Iluminancia	E_v	$\frac{lumen}{m^2} = lux$
Radiancia	L_e	$\frac{W}{sr \cdot m^2}$	Luminancia	L_v	$\frac{lumen}{sr \cdot m^2} = \frac{cd}{m^2}$

A continuación, se detallará la conceptualización de cada definición, utilizando las unidades radiométricas sabiendo que tienen su equivalencia fotométrica.

3.4.1. Flujo radiante

Es el flujo de la energía radiante por unidad de tiempo, sus unidades están dadas en Watts y generalmente es descrita por la cantidad de energía transfiriéndose a través de una superficie o región del espacio por unidad de tiempo. Se maneja por la siguiente ecuación:

$$Q_{\lambda} = \frac{dQ}{d\lambda} \quad (3.1)$$

3.4.2. Intensidad radiante

Es la densidad de flujo luminoso en un ángulo sólido, el flujo radiante por unidad de ángulo sólido incidente, atravesando o emergiendo de un punto en el espacio y propagándose en una dirección específica. Sus unidades son $\frac{W}{sr}$. La intensidad es un concepto útil para fuentes de luz puntuales, en donde la distancia entre el observador y la fuente es enorme comparado con el tamaño de la fuente.

La distribución angular de intensidad que emana de una fuente de iluminación, un led por ejemplo, se toma como un punto. La ecuación 3.2 modela la intensidad radiante.

$$I = \frac{d\phi}{dw} \quad (3.2)$$

3.4.3. Irradiancia

Es la densidad del flujo radiante por unidad de área incidente, pasando a través o emergiendo de un punto en una superficie específica. La radiancia que emite una superficie es llamada exitancia y posee las mismas unidades que la irradiancia. Sus unidades son $\frac{W}{m^2}$.

El flujo incidente en la superficie puede llegar de cualquier dirección en un ángulo sólido hemisférico, al igual que el flujo puede emitirse desde un solo punto en forma de hemisferio. La ecuación que gobierna a la irradiancia es la siguiente:

$$E = \frac{d\phi}{ds} \quad (3.3)$$

3.4.4. Radiancia

Es el flujo radiante proyectado por unidad de área y por unidad de ángulo sólido incidente, pasando a través o emergiendo de una dirección desde un punto específico en una superficie.

Sus unidades son $\frac{W}{sr \cdot m^2}$.

La ecuación que la define es:

$$L = \frac{d^2\phi}{d\omega \cdot ds \cdot \cos\theta} \quad (3.4)$$

Donde $ds \cdot \cos\theta$ es el área proyectada del área elemental ds_o en la superficie que contiene el punto en la que la radiancia está siendo definida, $d\omega$ es el elemento de ángulo sólido en la dirección hacia la superficie que recibe la radiación, θ es el ángulo entre la dirección del ángulo sólido y la normal de la superficie que recibe la radiación. Véase la Figura 3.5.

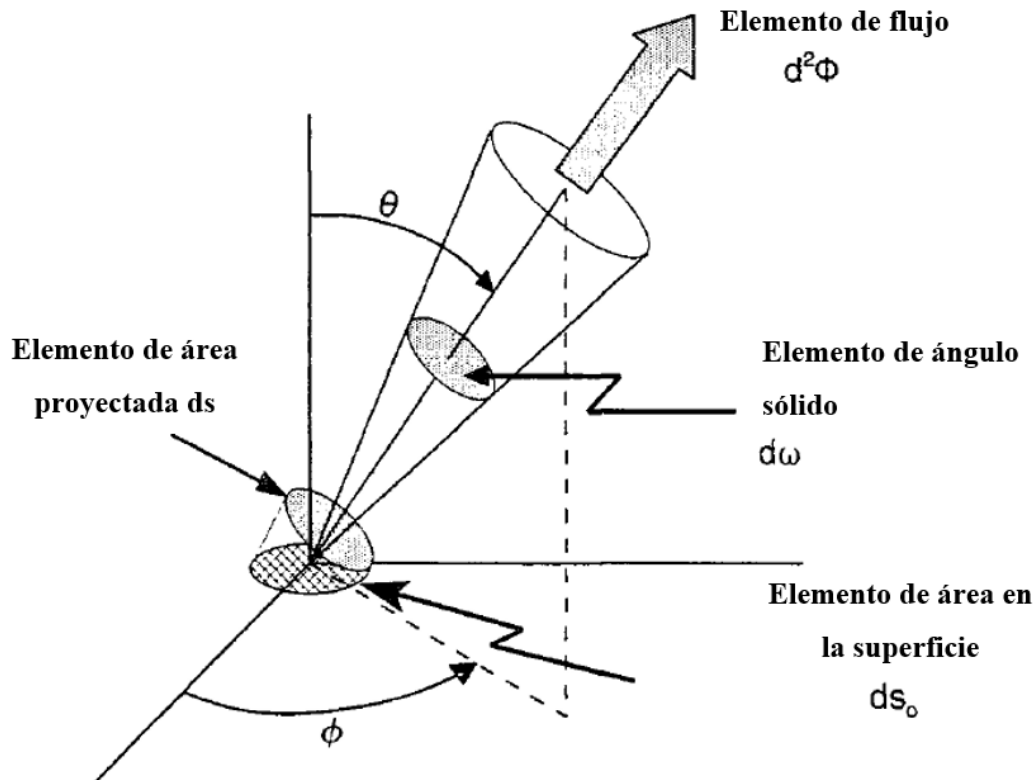


Figura 3.5. Geometría que define la radiancia [22].

3.4.5. Curva V_λ

El rango de la luz visible por el ojo humano comprende de los 400 nm a los 700 nm. El ojo percibe la luz en la retina que contiene bastones y conos, los pigmentos de éstos absorben la radiación y la convierten en señales neuronales electroquímicas que son transmitidas a las neuronas encargadas, después al nervio óptico y finalmente llegan al cerebro.

El ser humano tiene dos tipos de visiones: la fotópica, que se refiere a la luz del día y la percepción del color (dada por los conos); y la escotópica que corresponde a la visión nocturna (dada por los bastones). La respuesta espectral de un observador humano en la visión fotópica fue estandarizada en 1924 por la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE), véase la Figura 3.6.

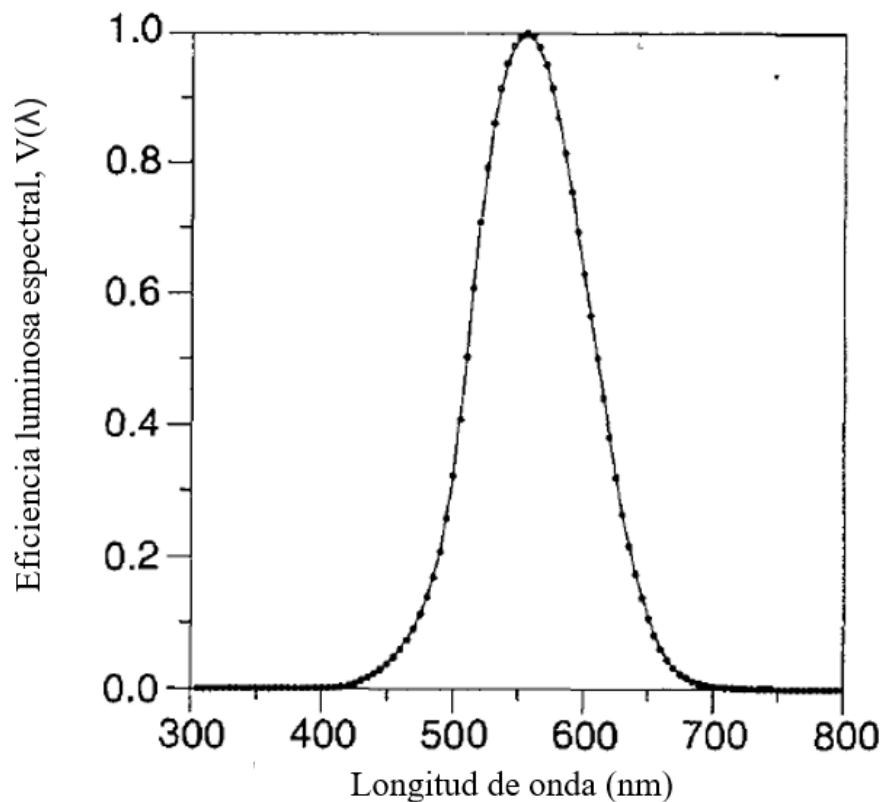


Figura 3.6. Eficiencia espectral luminosa $V(\lambda)$ [22].

La realización de conversiones radiométricas a fotométricas debe incluir la integración de la siguiente ecuación:

$$Q_{\lambda} = 683 \int_{380}^{770} Q_{\lambda} V(\lambda) d\lambda \quad (3.5)$$

3.4.6. Ecuación que modela el intercambio de radiación entre dos superficies planas paralelas

Con el fin de facilitar la comprensión de la simbología utilizada, se presenta la Figura 3.7:

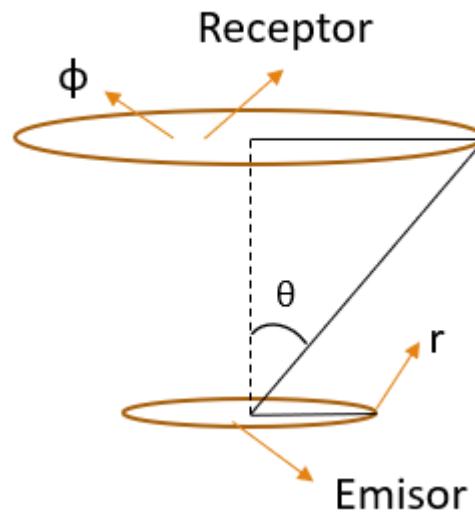


Figura 3.7. Diagrama ilustrativo del intercambio de radiación entre dos superficies planas, paralelas y circulares.

La ecuación 3.6 modela la irradiancia en una superficie, cuando la radiación proviene de otra [22].

$$E = \pi L \cdot \text{Sen}^2 \theta \quad (3.6)$$

Donde:

E = irradiancia

L = radiancia

θ = ángulo comprendido entre el centro de la superficie emisora y el límite de la superficie receptora.

De la ecuación 3.6 se parte para obtener el flujo radiante mediante la utilización de la ecuación 3.7.

$$d\phi = E \cdot ds \quad (3.7)$$

Donde:

$d\phi$ = diferencial de flujo

ds = diferencial de superficie (área)

Entonces se obtiene:

$$\frac{d\phi}{ds} = \pi L \cdot \text{Sen}^2 \theta \quad (3.8)$$

Aunque la superficie estudiada sea cuadrada, se hace una aproximación circular para así facilitar los cálculos. La aproximación se lleva a cabo de forma que el área de la superficie original debe ser igual al área de un círculo de radio r . La diferencial de superficie tendrá como valor: $ds = r dr d\theta$ donde: dr y $d\theta$ son las componentes diferenciales de una circunferencia (radio y ángulo respectivamente, Figura 3.8).

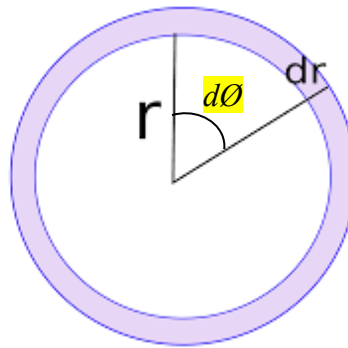


Figura 3.8. Componentes diferenciales de una circunferencia.

Sustituyendo ds y despejando $d\phi$ en la ecuación 3.8, queda la ecuación 3.9:

$$\int d\phi = \pi L \cdot \text{Sen}^2 \theta \cdot \int_0^r \int_0^{2\pi} r dr d\theta \quad (3.9)$$

Después de haber realizado la integración, se obtiene la ecuación 3.10; esta es la ecuación final que se utilizó para realizar los cálculos radiométricos entre superficies planas paralelas.

$$\phi = L \cdot (\pi r \cdot \text{Sen } \theta)^2 \quad (3.10)$$

3.4.7. Ecuación que modela el intercambio de radiación entre una superficie plana y un hemisferio

La Figura 3.9 modela el esquema de análisis utilizado para deducir la ecuación.

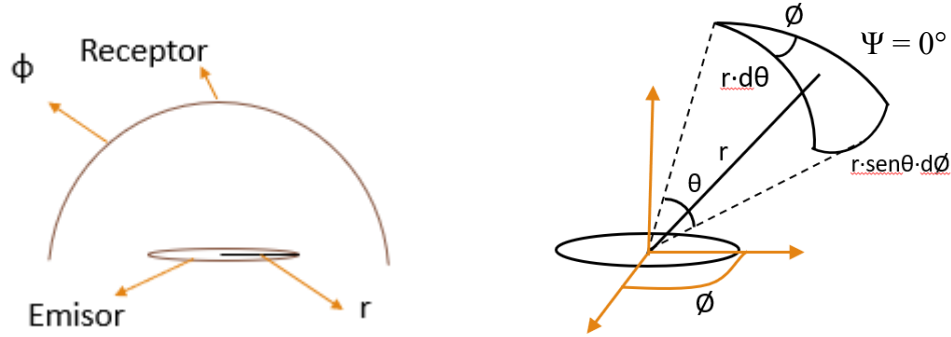


Figura 3.9. Diagrama ilustrativo del intercambio de radiación entre una superficie plana y un hemisferio.

La ecuación 3.11 dicta la radiancia entre dos superficies:

$$L = \frac{d^2\phi}{dw \cdot ds} \quad (3.11)$$

Donde:

L = radiancia

$d^2\phi$ = diferencial cuadrado del flujo

dw = diferencial de ángulo sólido

ds = diferencial de superficie

El diferencial de superficie está dado por la superficie emisora:

$$ds = r \cdot dr \cdot d\theta \cdot \cos\theta \quad (3.12)$$

El diferencial de ángulo sólido está dado por la proyección del hemisferio en el punto central de la circunferencia emisora:

$$dw = \frac{r \cdot r \cdot \text{sen}\theta \cdot d\theta \cdot d\phi \cdot \cos\psi}{r^2} \quad (3.13)$$

Entonces la ecuación a integrar queda:

$$L = \frac{d^2\Phi}{r \cdot dr \cdot d^2\varnothing \cdot \cos\theta \cdot \sin\theta \cdot d\theta} \quad (3.14)$$

$$\iint d^2\Phi = L \left[\int_0^r r dr \cdot \iint_0^{2\pi} d^2\varnothing \cdot \int_0^\pi \cos\theta \cdot \sin\theta \cdot d\theta \right] \quad (3.15)$$

Y la ecuación resultante y final:

$$\Phi = L(2\pi r)^2 \quad (3.16)$$

3.5. Ledes

Es un diodo emisor de luz constituido por un material semiconductor con dos terminales de unión p-n.

3.5.1. Ángulo medio de emisión

Ángulo en el que el 50% de la intensidad pico es alcanzada en ambos lados de la gráfica de distribución espacial [23]. La Figura 3.10 muestra un ejemplo de la distribución lambertiana en una gráfica de distribución espacial de un emisor led.

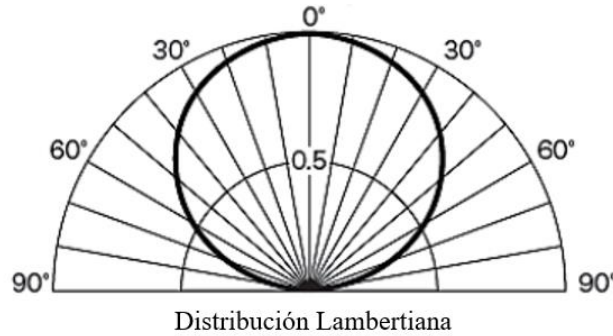


Figura 3.10. Gráfica de distribución espacial para un led con emisión lambertiana.

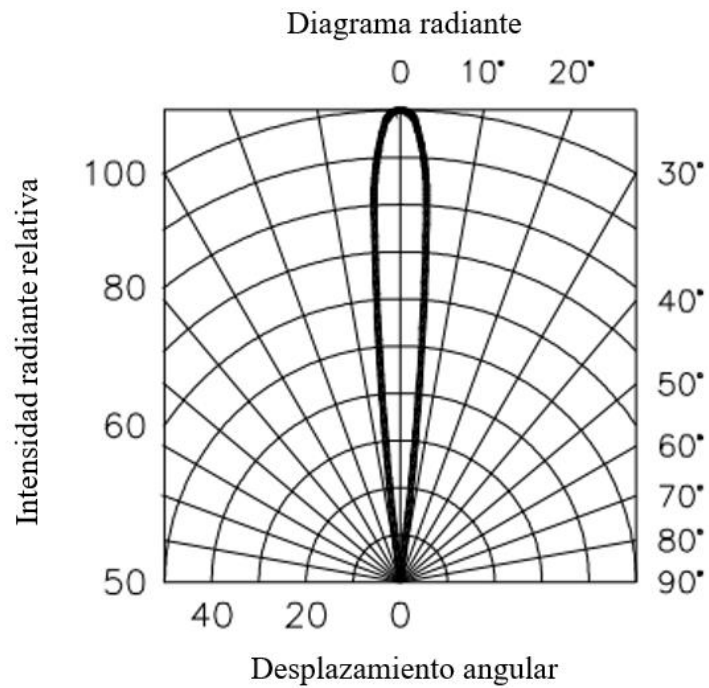


Figura 3.11. Gráfica de distribución espacial para un led de 385 nm con 7.5 grados de intensidad media [24].

3.5.2. Ancho de banda media

Es definida como la línea que pasa por la mitad de la curva de distribución de energía espectral relativa y es utilizada para determinar la pureza de los ledes, es decir la monocromaticidad [25]. Puede visualizarse en la Figura 3.12 como una línea roja.

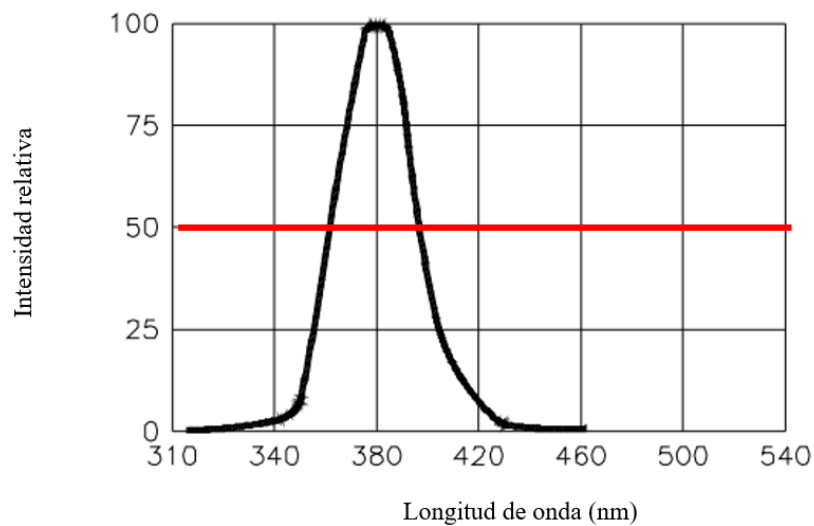


Figura 3.12. Ancho de línea de banda media para un led de 380 nm [24].

3.6. Cámara

La cámara utilizada para el desarrollo de este proyecto fue la Basler Dart da1920-30um.

3.6.1. Rango dinámico y relación señal – ruido

Ruido: es toda aquella señal no deseada que pueda llegar a un sensor, o bien, toda aquella señal falsamente percibida por el sensor.

Rango dinámico (DR – *Dynamic Range*): es la relación entre la señal máxima y mínima adquirida por el sensor sin ruido presente. En el límite superior se llega a la saturación, es decir, los pixeles aparentan ser blancos para cualquier otro valor superior al límite. En el límite inferior, todos los pixeles bajo el límite aparentan ser negros o bien lee falsas presencias de señal [26]. El rango dinámico se mide en decibelios (dB).

La ecuación a la que responde el rango dinámico es la siguiente [27]:

$$DR = 20 \cdot \text{Log} \left(\frac{N_{sat}}{N_{noise}} \right) = 20 \cdot \text{Log} \left(\frac{I_{max}}{I_{min}} \right) \quad (3.17)$$

Donde: I_{max} es la intensidad máxima de saturación del pixel e I_{min} es la intensidad mínima de ruido del pixel.

Relación Señal – Ruido (SNR – *Signal to Noise Ratio*): es la medida de qué tan fuerte es la señal respecto al ruido de fondo, es medida en decibelios (dB). Un número positivo indica que la señal es mayor que el nivel de ruido y un número negativo indica que el ruido es mayor que el nivel de señal. Lo deseado es que el nivel de señal sea mayor que el nivel de ruido [28]. La ecuación que modela esta relación es la siguiente:

$$SNR = 20 \cdot \text{Log} \left(\frac{P_s}{P_n} \right) = 20 \cdot \text{Log} \left(\frac{Signal}{N_{max}} \right) \quad (3.18)$$

Donde: $Signal$ = intensidad de la señal promedio deseada y N_{max} = ruido máximo.

3.6.2. Eficiencia cuántica

La eficiencia cuántica es la medida de la efectividad de un sensor para convertir los fotones incidentes en electrones, ésta siempre estará en función de la longitud de onda [29]. La

eficiencia nunca es del 100%, esta cámara posee una eficiencia máxima de 62% a una longitud de onda aproximada de 480 nm.

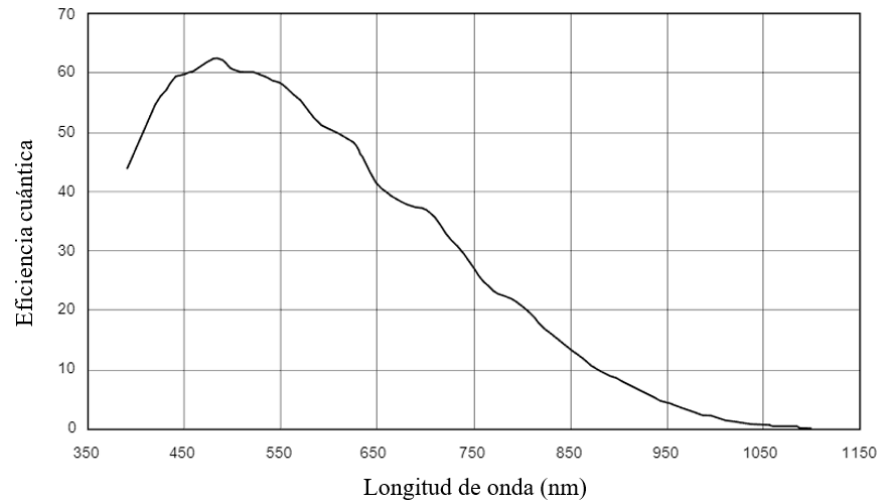


Figura 3.13. Eficiencia cuántica o responsividad del sensor de la cámara Basler dart da1920-30um [30].

3.7. Organismos fotosintéticos

3.7.1. Reflectancias típicas

Todos los organismos fotosintéticos siguen el mismo patrón en su curva de reflectancias para el rango visible de luz, tienen una alta absorción en el rango de los 400 a 500 nm debido a la clorofila, seguida de una alta reflectancia de los 500 a los 600 nm para los carotenoides y finalmente una alta absorción de los 600 a los 700 nm para la clorofila nuevamente [31].

Las siguientes figuras tienen el fin de demostrar que distintas especies de plantas y una de espirulina tienen la misma curva de reflectancia:

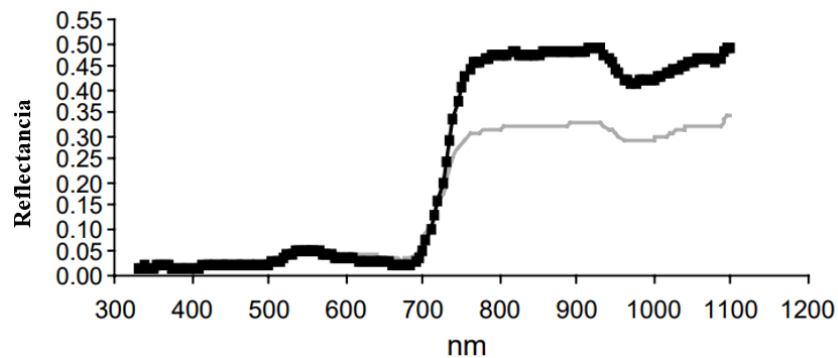


Figura 3.14. Curva de reflectancias del trigo [32].

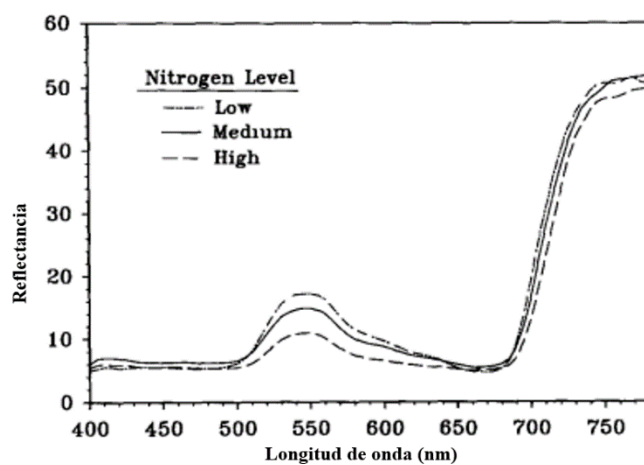


Figura 3.15. Curva de reflectancias de la soya [31].

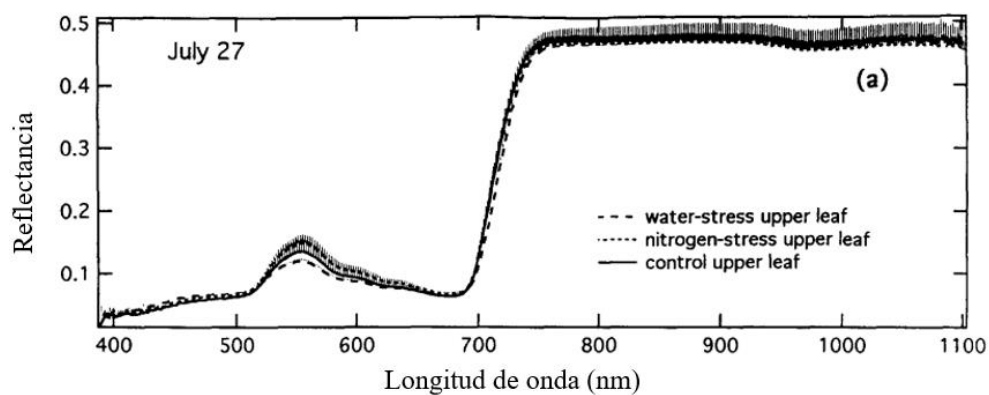


Figura 3.16. Curva de reflectancias de la hoja de girasol [33].

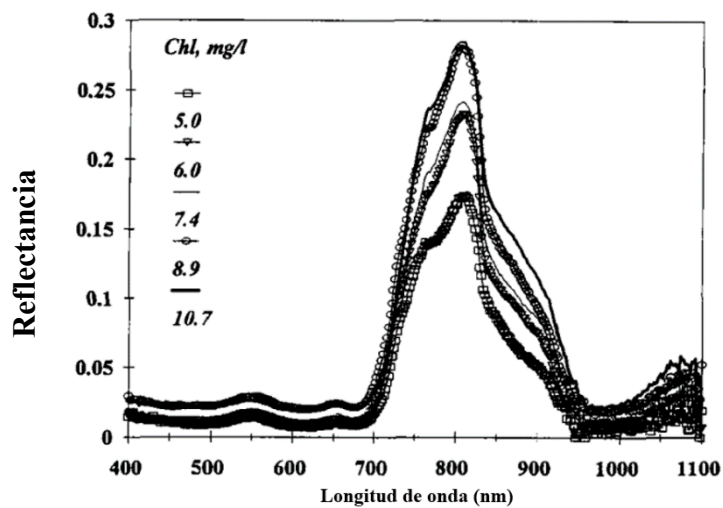


Figura 3.17. Curva de reflectancias para 5 culturas de espirulina [34].

3.7.2. Relación del nitrógeno y otros nutrimentos con sus niveles de clorofila

El nitrógeno es uno de los nutrimentos más importantes de los microgreens por lo que fertilizantes con altos niveles de nitrógeno son los más deseados en su cultivo [14]. Otros dos elementos básicos en el desarrollo de los microgreens son el fósforo y el potasio, la falta de fósforo generalmente ocurre en las etapas jóvenes de la planta por lo que es un punto fuerte al cual se le debe poner atención [35], [36].

Altas y bajas concentraciones de fósforo causan un decrecimiento en las concentraciones de clorofila en las hojas de las plantas, concentraciones adecuadas causan un aumento del pigmento de la clorofila [37].

En general, la clorofila responde directamente con la calidad nutritiva de la planta.

3.7.3. Clorofila

La clorofila es un pigmento localizado en el cloroplasto de la planta. En el cloroplasto se realiza la fotosíntesis.

El trabajo de la clorofila es absorber energía radiante (luz) para realizar la fotosíntesis. La fotosíntesis es el proceso mediante el cual la planta usa la energía almacenada para convertir el dióxido de carbono y agua en glucosa. La glucosa, junto con los nutrientes del suelo, es utilizada para hacer hojas nuevas [38].

3.7.4. Carotenoides

Son pigmentos amarillos, naranjas y rojos sintetizados por muchas plantas. Se encuentran en las raíces, tallos, hojas, flores y frutas. Su función principal es proteger a las plantas de la sobreexposición solar, lo hacen disipando el exceso de energía como calor. También dan el aroma a las flores y frutas [39].

3.7.5. Curva de correlación de Clorofila y carotenoides

Con el fin de poder comparar cualquier curva de reflectancias modelo obtenida por sistemas hiperspectrales, es necesario saber cómo es el comportamiento específico de la clorofila y de los carotenoides con sus firmas espectrales.

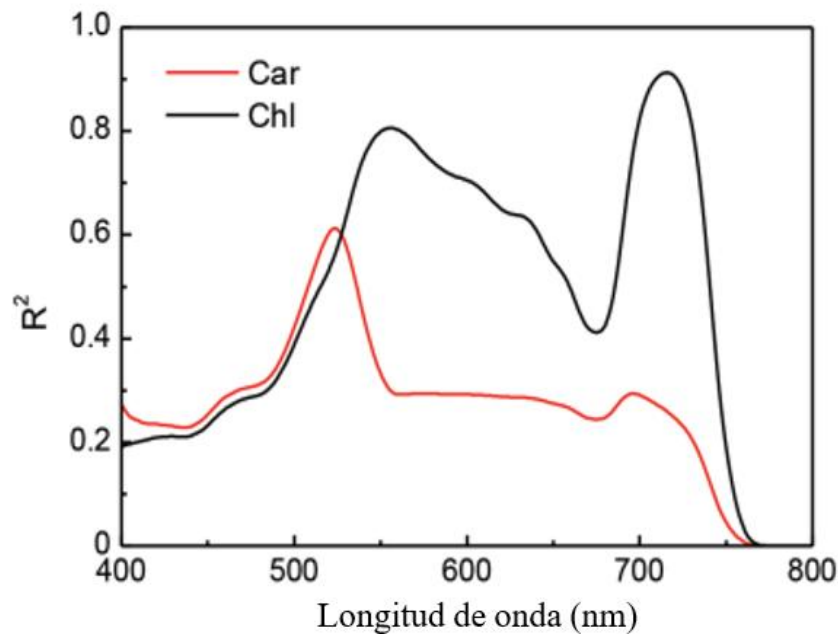


Figura 3.18. Comportamiento de la clorofila y los carotenoides dentro del espectro visible.

Visualizando la Figura 3.18 se aprecia que tanto la clorofila como los carotenoides tienen una alta absorción en el rango comprendido desde los 400 a los 450 nm, después ambos pigmentos aumentan su reflexión hasta llegar al pico de los carotenoides a los 525 nm y la clorofila continúa a los 550 nm; por esta razón se atribuye el color verde de las plantas tanto a los carotenoides como a la clorofila. La reflectancia de los carotenoides disminuye rápidamente y se mantiene estable desde los 550 hasta los 700 nm, donde se encuentra con un ligero pico. La clorofila tiende a disminuir a partir de los 550 nm hasta llegar a su pico máximo cerca de los 680 nm.

3.8. Índices vegetativos

Los índices vegetativos indican varias características de las plantas, desde la concentración de sus pigmentos hasta la cantidad de hojas nuevas presentes en la punta de los árboles (dosel forestal). Los índices utilizados en este proyecto se centran en la medición indirecta de la clorofila y los carotenoides y serán detallados en los siguientes subtemas.

3.8.1. PRI

Índice de reflectancia fisiológica (PRI – *Physiological reflectance index*), mide la eficiencia del uso de la luz a través de los carotenoides, utilizando como modelo el ciclo de las xantofilas [33].

Su rango se encuentra normalizado: $-1 < PRI < 1$

A mayor concentración de carotenoides, mayor será la magnitud negativa y la planta estará disipando la energía incidente en ella en forma de calor.

Utiliza las reflectancias en los 531 y 570 nm. La ecuación que lo gobierna es:

$$PRI = \frac{p_{531} - p_{570}}{p_{531} + p_{570}} \quad (3.19)$$

3.8.2. NPCI

Índice normalizado del pigmento de la clorofila (NPCI – *Normalized Pigment Chlorophyll Ratio Index*), mide la clorofila indirectamente por medio del nitrógeno. El índice está inversamente correlacionado con la cantidad de nitrógeno en la muestra analizada [32].

Su rango se encuentra normalizado: $-1 < NPCI < 1$

Utiliza las reflectancias en los 680 y 430 nm. La ecuación que lo gobierna es:

$$NPCI = \frac{p_{680} - p_{430}}{p_{680} + p_{430}} \quad (3.20)$$

3.8.3. MCARI

Índice modificado de absorción de clorofila por reflectancia (MCARI – *Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index*), mide directamente la clorofila.

Es inestable para bajos niveles de clorofila, su curva tiende a aumentar en vez de a disminuir (Figura 3.19). Su comportamiento es inversamente proporcional a la concentración de clorofila en una muestra [40].

Rango: con un pico máximo variable dependiendo de la muestra bajo estudio;

$0 < MCARI < \text{pico máximo}$.

Utiliza las reflectancias en los 700, 670 y 500 nm. La ecuación que lo gobierna es:

$$MCARI = [(p700 - p670) - 2(p700 - p500)] \frac{p700}{p670} \quad (3.21)$$

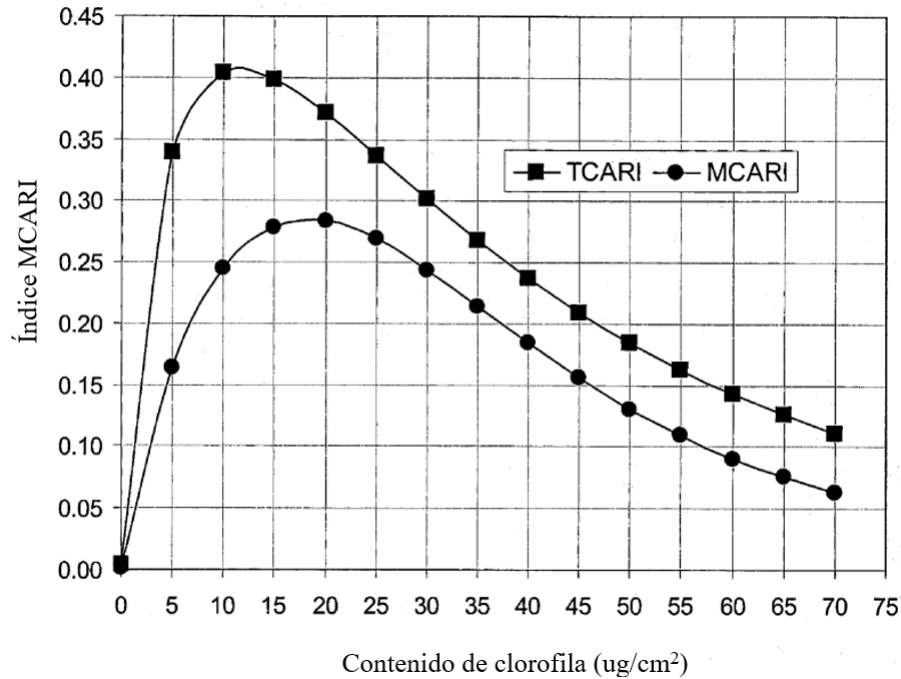


Figura 3.19. Curva de comportamiento del índice MCARI.

3.8.4. GLI

Índice de la concentración del color verde de la hoja (GLI - *Green Leaf Index*), mide qué tan verde es el cultivo realizando una resta entre el doble de la magnitud del verde y la suma del rojo y el azul. Puede utilizarse en la estimación del crecimiento de cianobacterias por la acumulación y concentración del color verde del estanque. Mientras más alto positivo sea el índice, mayor será la concentración de biomasa [41].

Rango: $-1 < GLI < 1$

Utiliza reflectancias en los 440, 528 y 640 nm. La ecuación que lo gobierna es:

$$GLI = \frac{2*Green - Red - Blue}{2*Green + Red + Blue} \quad (3.22)$$

CAPÍTULO IV

CULTIVOS: MICROGREENS Y ESPIRULINA

Cada muestra de microgreens fue cultivada durante 14 días, de los cuales únicamente los últimos 7 días fue sometida a capturas para analizar su información bioquímica.

La espirulina fue cultivada durante 7 días, a partir de cada cosecha comenzaba a contar el primer día y desde ahí se realizaban capturas cada 24 horas.

Este capítulo muestra detalles del cuidado de los cultivos, así como el tipo de semilla e inóculo utilizados.

4.1. Microgreens

Las semillas para este cultivo fueron proporcionadas por el Dr. Gilberto Erosa y son de rábano (*Raphanus Sativus*).



Figura 4.1. Semilla.

4.1.1. Sustrato

Se utilizaron cuadros de 20 x 20 cm de espuma fenólica como sustrato y no se utilizaron fertilizantes. Véase la Figura 4.2.

4.1.2. Siembra

Las semillas fueron esparcidas de manera uniforme sobre el sustrato y humedecidas dos veces al día hasta su germinación, Figura 4.3.



Figura 4.2. Sustrato: espuma fenólica.



Figura 4.3. Semillas germinadas.

4.1.3. Riego

El riego se efectuó cada mañana y cada tarde, con 12 horas de diferencia entre cada uno. Se regó hasta que la espuma fenólica con las semillas fuera totalmente cubierta por el agua para que por medio de drenado natural conservara únicamente la humedad necesaria.

El sistema de drenado constó de un pequeño orificio en la parte inferior del contenedor del cultivo, el tiempo aproximado en el que el exceso de agua era disipado fue de 2 minutos permitiendo el total humedecimiento de la espuma fenólica.

4.1.4. Temperatura

La temperatura del cultivo no se mantuvo constante, se permitió que el ciclo diurno natural afectara al crecimiento de los microgreens tanto con la temperatura como con la iluminación.

4.1.5. Luz

El cultivo fue posicionado en una ventana con cortinas traslúcidas, entonces la luz del día no incidía directamente sobre él y así evitando el estrés de los microgreens.

4.1.6. Cosecha

Los microgreens fueron cortados a los 14 días, y la bandeja de cultivo fue sembrada nuevamente con la misma especie para volver a tomar datos.

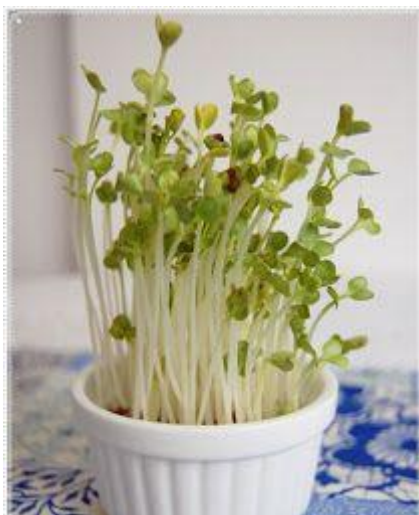


Figura 4.4. Bandeja con microgreens a los 14 días post siembra.

4.2. Espirulina

4.2.1. Inoculación

El inóculo inicial consistió en 150 ml de espirulina máxima, se vertieron los 150 ml de espirulina en un recipiente de 1 litro, después se vertieron otros 850 ml de agua en el mismo recipiente y a partir de este punto comenzó la cultivación de la cianobacteria.



Figura 4.5. Recipiente con la espirulina ya inoculada.

4.2.2. Periodo de alimentación

La espirulina fue alimentada cada 8 días, independientemente de si era cosechada o no. Se decidió este lapso de alimentación porque a partir del décimo día se notaba una disminución en la coloración del cultivo. Otra manera de manejar la cosecha del cultivo es a partir del doceavo día [42], [43].

Si únicamente se deseaba alimentar el cultivo sin cosechar se debía agregar 20 ml de macronutrientes y 1 ml de micronutrientes por cada litro y medio.

Después de la cosecha debían suministrarse 200 ml de concentrado de macronutrientes por cada 100 gramos de espirulina.

4.2.3. Aeración

Para la aeración se utilizó la bomba Elite799 que rinde para 19 litros. Como la espirulina tendía a concentrarse en las orillas del recipiente con el exceso de burbujas, se requirió utilizar una válvula de estrangulamiento para limitar la cantidad de aire entrante. Se limitó a prueba y error cada 3 horas hasta que la espirulina quedara flotando lejos de los límites de la pecera.

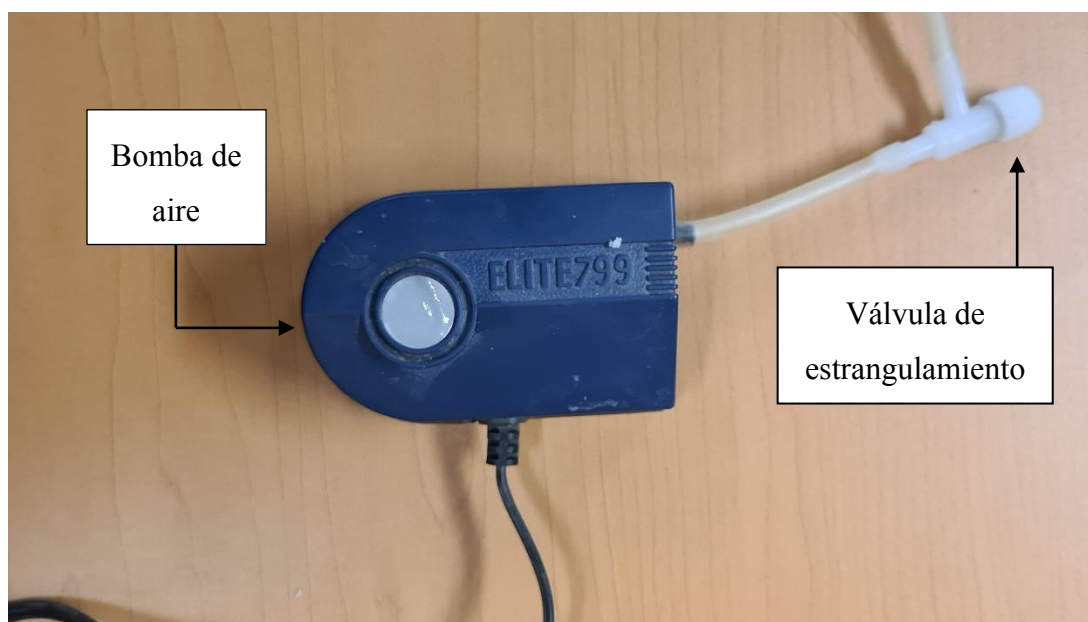


Figura 4.6. Sistema de aeración.

4.2.4. Exposición a la luz

La espirulina fue expuesta a la luz natural que alcanzaba a pasar de forma indirecta a través de una ventana con una cortina traslúcida, permitiendo la incidencia que el ciclo diurno natural podía proporcionar.

4.2.5. Temperatura y pH

La temperatura se mantuvo constantemente en 36°C, gracias a un calefactor de pecera. El pH se mantuvo constante en 10.



Figura 4.7. Termostato eléctrico utilizado en el ajuste de temperatura del recipiente.

4.2.6. Nutrientes

Los macronutrientes y micronutrientes utilizados fueron propuestos y proporcionados por el Dr. Gilberto Erosa. En la Tabla 4.1 se muestran los nutrientes y sus cantidades. Los micronutrientes son propiedad exclusiva del Dr. Erosa y no se mostrarán en este documento.

Tabla 4.1. Macronutrientes utilizados en el cultivo de espirulina.

Nutriente	Cantidad (g/L)
KNO_3	20
Fosfato monoamónico $NH_4H_2PO_4$	2
Sulfato de hierro $FeSO_4 \cdot 2H_2O$	0.2
Sulfato de potasio K_2SO_4	1
Sulfato de magnesio $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1

CAPÍTULO V

SISTEMA DE ILUMINACIÓN

En este capítulo se detalla el diseño del sistema de iluminación, desde los aspectos tangibles hasta las consideraciones radiométricas obtenidas.

El sistema consta de la cámara y el hemisferio que son los encargados de obtener una captura con iluminación dispersa, también cuenta con el controlador de la cámara y los ledes, y por último una base en donde se coloca la muestra. La Figura 5.1 da una mejor percepción de la distribución del sistema.



Figura 5.1. Diagrama general del sistema.

El sistema general físico utilizado puede visualizarse en la Figura 5.2. Este consta de la cámara responsable de realizar las capturas, el hemisferio reflector y un entorno cerrado libre de ruido visible en donde se colocó la muestra para tomar las capturas.

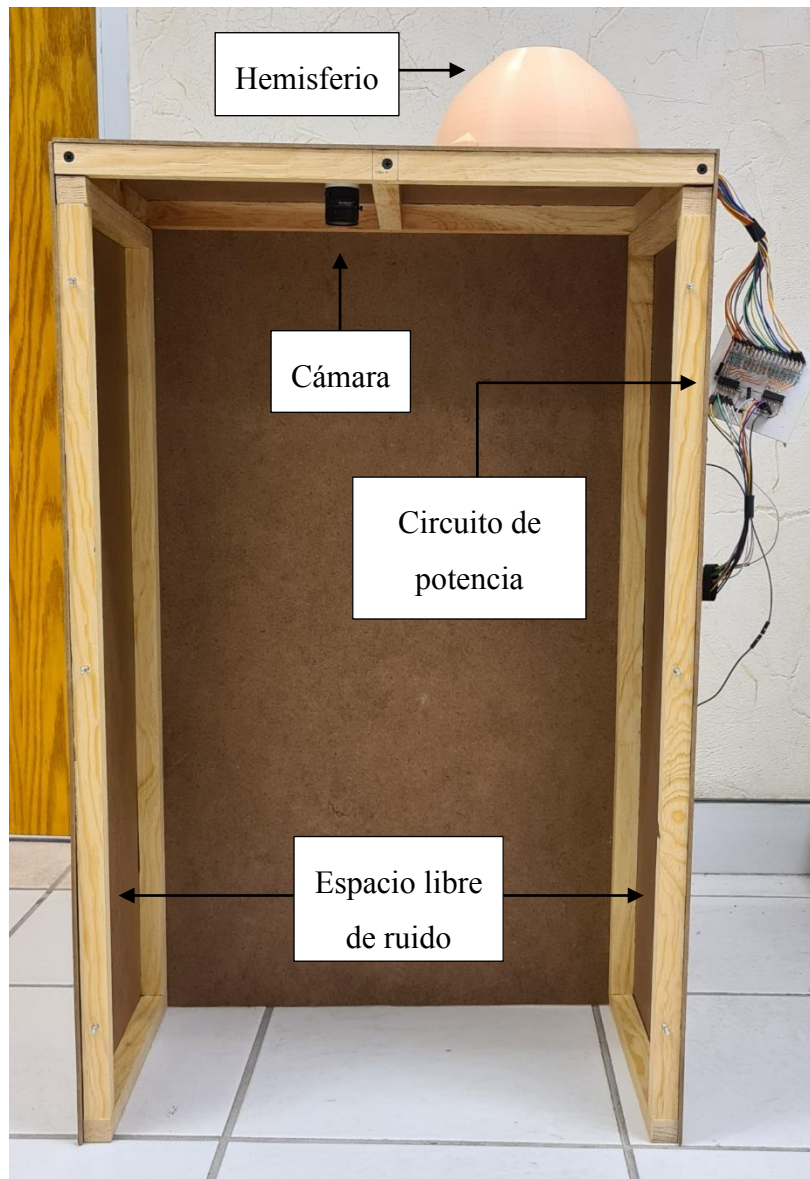


Figura 5.2. Sistema de iluminación, armado físico.

5.1. Diseño del hemisferio

Se escogió un hemisferio por su capacidad de redireccionar un haz de luz incidente de manera normal a su superficie, en otras palabras, todo aquel rayo proveniente del centro se reflejará hacia el centro. Aunque los rayos provenientes de los ledes no cumplirán esta característica por su posición radial concéntrica y no centrada, se mantuvo la forma por su simplicidad ideal.



Figura 5.3. Diseño del hemisferio, vista inferior.

El hemisferio cuenta con un diámetro interno de 88 mm. Esta dimensión fue planificada en torno al diámetro externo de la placa fenólica con los ledes, primero tuvo que definirse el número de ledes máximo y generar su esquema de conexiones en el PBC para poder determinar el diámetro del hemisferio.

5.1.1. Recubrimiento interno

La función principal del hemisferio es reflejar de manera difusa la luz emitida por los ledes con el propósito de, evitar zonas con mayor iluminación que otras o incluso con reflexiones especulares que puedan afectar la información en los pixeles que reciben la luz.

Originalmente se planeaba utilizar Spectralon como recubrimiento interno pero este material es sumamente caro y tiene muy pocos proveedores [44]. El sustituto inmediato es el corrector líquido base agua y éste fue el material utilizado como recubrimiento interno.



Figura 5.4. Recubrimiento interno del hemisferio impreso.

5.1.2. Especificaciones

El hemisferio cuenta con accesorios agregados para su manejo óptimo en el laboratorio:

1. Cierre seguro.
2. Sujeción a superficies por medio de tornillo.
3. Montura disponible para diafragmas.

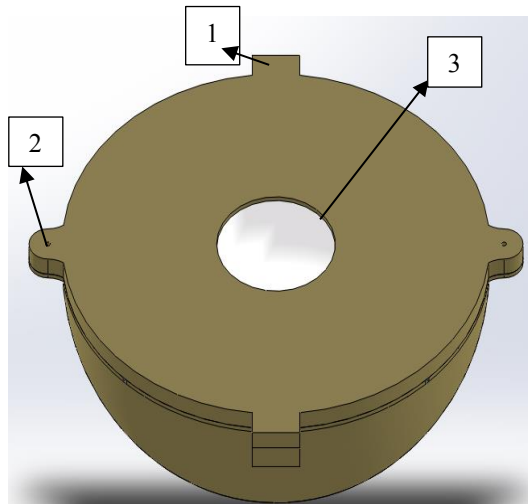


Figura 5.5. Accesorios agregados al hemisferio.

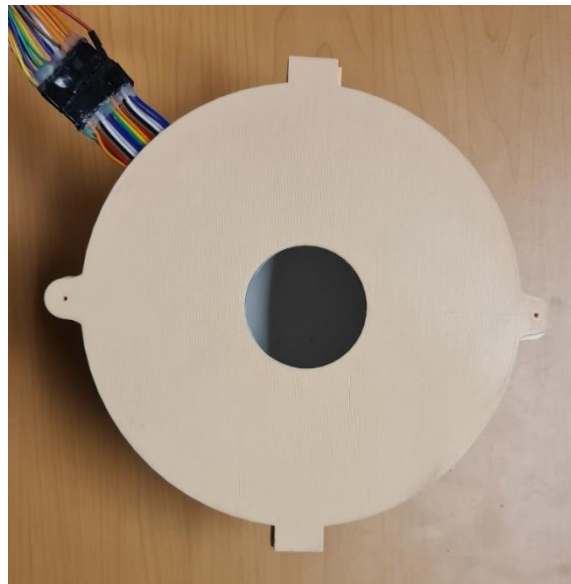


Figura 5.6. Vista inferior del hemisferio impreso.

5.2. Diseño del PCB

5.2.1. Ledes

Los ledes fueron seleccionados dependiendo de su intensidad en milicandelas, ángulo medio de emisión y su grado de cercanía a la monocromaticidad medido por el tamaño de su banda media. Se seleccionaron los ledes que tuvieran mayor intensidad, mayor ángulo medio de

emisión y menor tamaño de banda media. La Tabla 2.1 muestra las características de los ledes empleados.

Tabla 5.1. Características de los ledes empleados.

Longitud de onda (nm)	Intensidad (mcd)	Ángulo medio (grados)	Media banda (nm)
384	100	15	13
406	160	30	11
440	65	30	91
472	4,100	15	24
500	5,500	5	29
528	20,000	15	26
577	1,850	8	16
597	6,800	15	14
610	2,000	8	15
632	17,000	7.5	15
656	1,400	15	18
690	2.8	22.5	80

La Figura 5.7 muestra la respuesta espectral de los ledes elegidos.

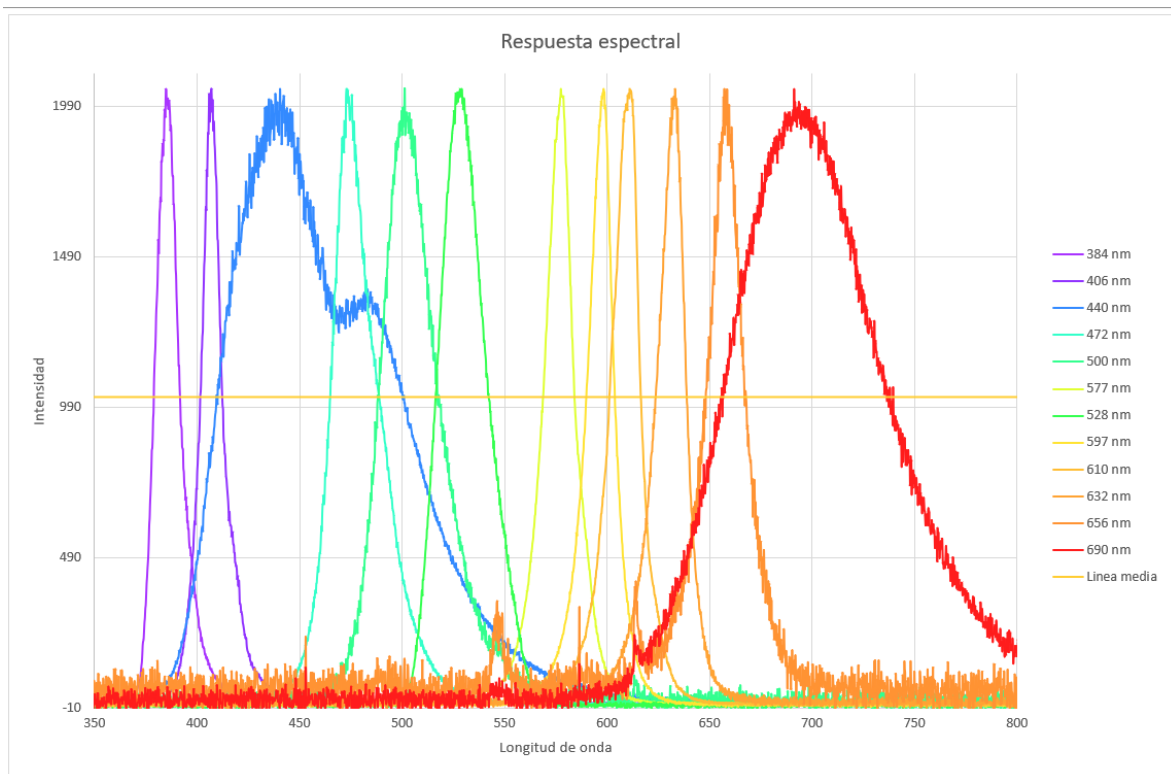


Figura 5.7. Respuesta espectral de los ledes.

5.2.2. Radiometría

Se requirió el uso de la radiometría para determinar si la cantidad de ledes planificada (10 ledes por longitud de onda) sería la suficiente para evitar el ruido mínimo que el sensor de la cámara pudiera aportar a la captura. La Figura 5.8. muestra la cámara utilizada marca Basler Dart 1920-30um.



Figura 5.8. Cámara Basler Dart 1920-30 um.

5.2.2.1. Intensidad mínima del pixel para contener la menor cantidad de ruido.

Primero fue necesario estimar la intensidad mínima que cada pixel debe recibir para que la imagen digital se encuentre libre de ruido. La base de todo es mantener el valor del pixel en un rango cercano a la mitad de su profundidad total, es decir, si la profundidad es de 4096 unidades será necesario hacer incidir luz suficiente por el tiempo correcto para que se mantenga en 2048.

Para comenzar, se necesitan conocer las siguientes características del sensor de la cámara:

Parámetros clave		
Resolución del ADC		12- bit
Responsividad		1.4 V/lux-s (550nm)
Rango dinámico del pixel		70.1dB
Relación Señal – Ruido		38.1dB
Voltaje	I/O	1.7 – 3.1 V
	Digital	1.7 – 1.9 V (1.8 V nominales)
	Analógico	2.6V – 3.1V (2.8V nominales)

Figura 5.9. Especificaciones de la cámara.

Teniendo en cuenta que la resolución del ADC es de 12 bits (0 – 4095 unidades de intensidad), el voltaje nominal de un pixel es de 2.8 V y sugiriendo que la responsividad del pixel a medio llenar es de $1 \text{ lux} \cdot \text{s}$, se realizan los siguientes cálculos:

$$PDR = 20 \log \left(\frac{I_{max}}{I_{min}} \right) \quad (5.1)$$

Donde:

PDR = rango dinámico del pixel = comparación del pixel más bajo al más alto (con información significativa).

I_{max} = Intensidad máxima del pixel.

I_{min} = Intensidad mínima del pixel.

$$70.1dB = 20\log\left(\frac{I_{max}}{I_{min}}\right) \quad (5.2)$$

$$I_{max} = 3200 I_{min} \quad (5.3)$$

La ecuación 5.3 dicta que la intensidad máxima es 3200 veces la intensidad mínima. Ahora sigue calcular el ruido máximo utilizando la razón de señal a ruido (SNR):

$$SNR_{MAX} = 20 \log\left(\frac{I_{max}}{n_{max}}\right) \quad (5.4)$$

$$38.1 \text{ dB} = 20 \log\left(\frac{I_{max}}{n_{max}}\right) \quad (5.5)$$

Se despeja I_{max} y se iguala con la ecuación 5.3. Queda:

$$3200I_{min} = 80n_{max} \quad (5.6)$$

Sustituyendo la escala completa (4096) en n_{max} , se obtiene que la intensidad mínima libre de ruido para un pixel es de 51 unidades de intensidad. Para estar seguros de que habrá la mínima cantidad de señal presente, se toma el doble de este último valor adquirido ($I_{min} = 102$ unidades de pixel). Después se obtiene la proporción correspondiente de exposición para garantizar que la relación señal a ruido sea como mínimo 2:1.

$$Exposición_{escala completa} = 102 \cdot 1/2048 = 0.049804 \text{ lux} \cdot s$$

Si la cámara maneja 30 cuadros por segundo (Hz) de manera nominal, entonces el tiempo de exposición será de aproximadamente 30 milisegundos para cada cuadro, dividiendo el tiempo de exposición por la responsividad a escala completa se obtiene la iluminancia (E):

$$E = \frac{0.049804 \text{ lux} \cdot s}{30ms} = 1.66 \text{ lux @550 nm} \quad (5.7)$$

Ahora solo resta convertir la iluminancia en flujo radiométrico: primero se convierte la iluminancia en flujo luminoso multiplicándola por el área del sensor.

$$\Phi_f = E \cdot A = 1.66 \cdot 0.0057 \cdot 0.00428 = 40.5 \mu \text{ lúmenes}.$$

Luego se procede a convertirlo a flujo radiométrico, utilizando la ecuación de ajuste: $\Phi = \frac{\Phi_f}{683 * V(\lambda)}$. Donde $V(\lambda) = 0.995$ y fue obtenido de la Tabla 2.1 del libro de Ross [22].

Por lo tanto:

$$\Phi_{min\ Sensor} = \frac{4.05E - 05}{683 * 0.995} = 59.6\ n\ \text{lúmenes a } 550\ nm$$

5.2.2.2. Diagrama de flujo para la estimación de los resultados radiométricos

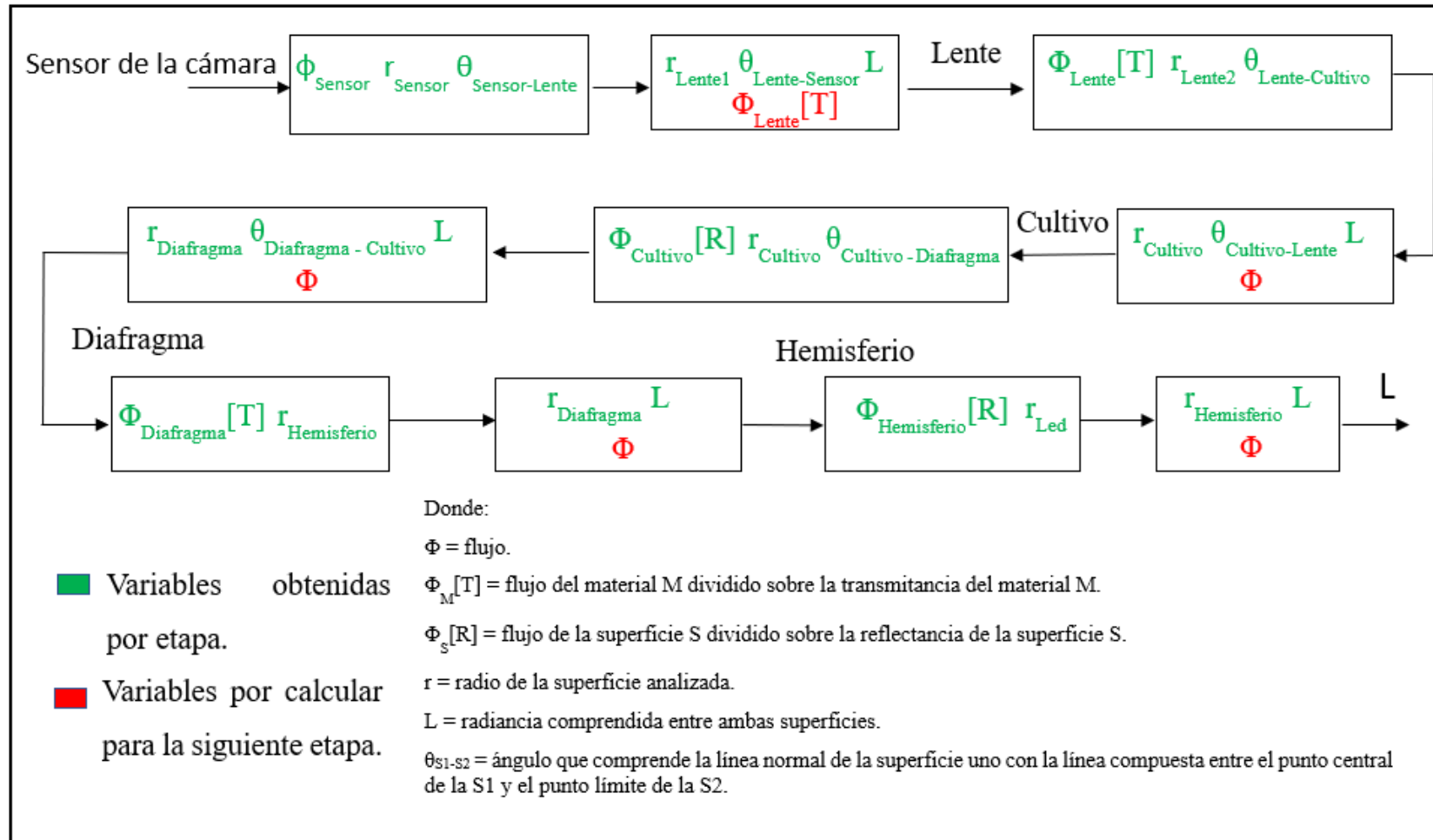


Figura 5.10. Diagrama de flujo del análisis radiométrico del sistema.

En la Figura 5.10 se muestra el diagrama de flujo implementado en el cálculo de número de ledes óptimo para conseguir capturas libres de ruido. La transición normal de la luz a través de las superficies comienza en los ledes y termina en el sensor de la cámara y en cada superficie se presenta una pérdida por la reflexión o transmisión de la luz. Para efectos de análisis, este comienza en el sensor como si fuera el emisor del flujo luminoso y termina en los ledes como si fueran los receptores; cada superficie se cuenta como una ganancia de flujo luminoso por ir en sentido opuesto y la magnitud de la reflectancia o transmitancia debe ser dividido en vez de multiplicado.

5.2.2.3. Ecuaciones radiométricas

Una vez obtenida la cantidad mínima de radiación que debe recibir el sensor de la cámara y haber planificado el intercambio del flujo luminoso entre superficies se procedió a desarrollar la ecuación que modele dicho intercambio. En el sistema propuesto se aproximan las superficies de la muestra y de la interfaz del diafragma para ser consideradas planas y paralelas entre sí, y esférica y centrada al diafragma para la superficie interna del hemisferio. Estas condiciones son las ideales para cualquier sistema, donde las superficies plano paralelas son concéntricas entre sí; al igual para una superficie que es comparada directamente con un hemisferio.

A continuación, se muestra el proceso para la obtención de las ecuaciones.

5.2.2.4. Tablas de resultados

Una vez obtenidas las ecuaciones, se procede a sustituir datos siguiendo el esquema de la Figura 5.10. Los resultados demuestran que para un sistema ideal que no posea pérdidas por absorción y/o segundas reflexiones o algún orden más de reflexiones, 10 ledes por longitud de onda son suficientes para satisfacer el mínimo de 2048 unidades de intensidad para obtener imágenes libres de ruido y de saturación.

ESPIRULINA

Longitud de onda (nm)	Iluminancia (lux)	Flujo (W)	Número de ledes	Exposición (s)	Número máximo de ledes	Tiempo de exposición (s)
385	1.3166	7.35E-04	0.0061	0.03	10	3.69E-04
430	1.6028	4.94E-06	0.0044	0.03	10	2.65E-04
468	1.7745	7.58E-07	0.0023	0.03	10	1.37E-04
505	1.7172	1.51E-07	0.0020	0.03	10	1.23E-04
525	1.7172	7.73E-08	0.0001	0.03	10	7.62E-06
570	1.5169	5.69E-08	0.0017	0.03	10	9.91E-05
590	1.4597	6.89E-08	0.0006	0.03	10	3.38E-05
610	1.4310	1.02E-07	0.0017	0.03	10	1.05E-04
624	1.4024	1.50E-07	0.0002	0.03	10	1.25E-05
635	1.3452	2.21E-07	0.0002	0.03	10	1.32E-05
660	1.1162	6.54E-07	0.0005	0.03	10	2.92E-05
697	1.0876	7.72E-06	0.0538	0.03	10	3.23E-03
Total					120 ledes	4.42E-03

Figura 5.11. Número mínimo de ledes para el estudio de la espirulina y sus tiempos de exposición.

MICROGREENS

Longitud de onda (nm)	Iluminancia (lux)	Flujo (W)	Número de ledes	Exposición (s)	Número máximo de ledes	Tiempo de exposición (s)
385	1.3166	7.35E-04	3.94E-04	0.03	10	2.36E-05
430	1.6028	4.94E-06	3.86E-04	0.03	10	2.31E-05
468	1.7745	7.58E-07	2.11E-04	0.03	10	1.27E-05
505	1.7172	1.51E-07	2.45E-04	0.03	10	1.47E-05
525	1.7172	7.73E-08	8.97E-06	0.03	10	5.38E-07
570	1.5169	5.69E-08	1.46E-04	0.03	10	8.75E-06
590	1.4597	6.89E-08	5.64E-05	0.03	10	3.38E-06
610	1.4310	1.02E-07	2.09E-04	0.03	10	1.26E-05
624	1.4024	1.50E-07	2.08E-05	0.03	10	1.25E-06
635	1.3452	2.21E-07	2.39E-05	0.03	10	1.44E-06
660	1.1162	6.54E-07	7.58E-05	0.03	10	4.55E-06
697	1.0876	7.72E-06	5.85E-03	0.03	10	3.51E-04
Total					120 ledes	4.57E-04

Figura 5.12. Número mínimo de ledes para el estudio de los microgreens y sus tiempos de exposición.

Nota: el tiempo de exposición total en las Figuras 5.11 y 5.12 no refleja el tiempo de ejecución de la orden desde el software que efectúa el disparo, tampoco toma en cuenta el tiempo necesario para hacer el cambio de longitud de onda para cada captura; por lo que no es el tiempo total que el sistema tarda en hacer las capturas.

La Tabla 5.2 muestra la diferencia entre el tiempo de exposición utilizado realmente vs el calculado de manera ideal.

Tabla 5.2. Tiempo de exposición ideal vs real para la espirulina.

Longitud de onda (nm)	Tiempo de exposición ideal (μ s)	Tiempo de exposición real (μ s)
384	72,464	1,000,000
406	51,957	1,000,000
440	26,919	1,000,000
472	24,059	318,387
500	1,497	990,672
528	19,469	537,219
577	6,641	1,000,000
597	20,566	957,264
610	2,454	1,000,000
632	2,584	282,029
656	5,741	1,000,000
690	768,328	1,000,000

Como puede apreciarse en la Tabla 5.2, la diferencia entre el tiempo de exposición ideal vs el real es elevada; existen muchas variables y situaciones que pudieron introducir error al sistema no ideal como lo son: el cultivo no es homogéneo y por lo tanto entra en juego la reflectancia por las distintas profundidades de la superficie del fondo, el hemisferio fue considerado un emisor lambertiano y no lo es por la posición de los ledes así que su intensidad es variable dependiendo del ángulo sólido de cada led, y finalmente que dentro del hemisferio ocurren reflexiones de enésimo orden y cada reflexión tiene una pérdida equivalente a la reflectancia directa de la superficie. Estas reflexiones se dan debido a que los ledes dentro del hemisferio no fueron colocados en el centro del mismo y el desplazamiento o la diferencia entre el punto central contra el punto radial real de cada led genera una pérdida de intensidad notable.

5.2.3. PCB

5.2.3.1. Distribución

Los ledes fueron colocados de manera que los menos intensos tuvieran el anillo concéntrico más cercano al centro del hemisferio para evitar una atenuación catastrófica por múltiples reflexiones. También se consideró el espacio dentro de la tabilla, algunas de las pistas fueron divididas de tal forma que los ledes con un voltaje nominal mayor a 2.4 V fueran colocados en dos series de 5 ledes conectadas en paralelo entre sí. Los ledes de una

sola longitud de onda que fueron divididos en dos series comparten el anillo de conexión con otra longitud de onda dividida en dos series, resultando en 20 ledes por pista. Los ledes con voltaje nominal menor a 2.4 V fueron conectados en serie entre sí y en una sola pista, quedando 10 ledes por pista.

En total fueron utilizadas 9 pistas de las cuales 6 poseen 10 ledes de una sola longitud de onda y 3 poseen 2 longitudes de onda distintas por pista, con un total de 20 ledes por pista compartida. La Tabla 5.3 muestra el orden del anillo donde el más cercano al centro tiene el número 1 y el más lejano el 9. La pista de voltaje común de donde todos los ledes obtienen la diferencia de potencial es la número 10.

La Figura 5.13 muestra el armado físico de las pistas de los ledes y también la vista de los ledes que apuntan a la superficie interna del hemisferio.

Tabla 5.3. Distribución de ledes.

Componente	Magnitud	Número de anillo
Ledes 384 nm	0.0299 lúmenes	6
Ledes 406 nm	0.1728 lúmenes	8
Ledes 440 nm	0.0720 lúmenes	6
Ledes 472 nm	1.2274 lúmenes	9
Ledes 500 nm	0.1895 lúmenes	8
Ledes 528 nm	5.9873 lúmenes	9
Ledes 577 nm	0.1619 lúmenes	1
Ledes 597 nm	2.0357 lúmenes	7
Ledes 610 nm	0.1750 lúmenes	2
Ledes 632 nm	1.3092 lúmenes	4
Ledes 656 nm	0.4191 lúmenes	3
Ledes 690 nm	0.0018 lúmenes	5
Voltaje común	24 volts	10

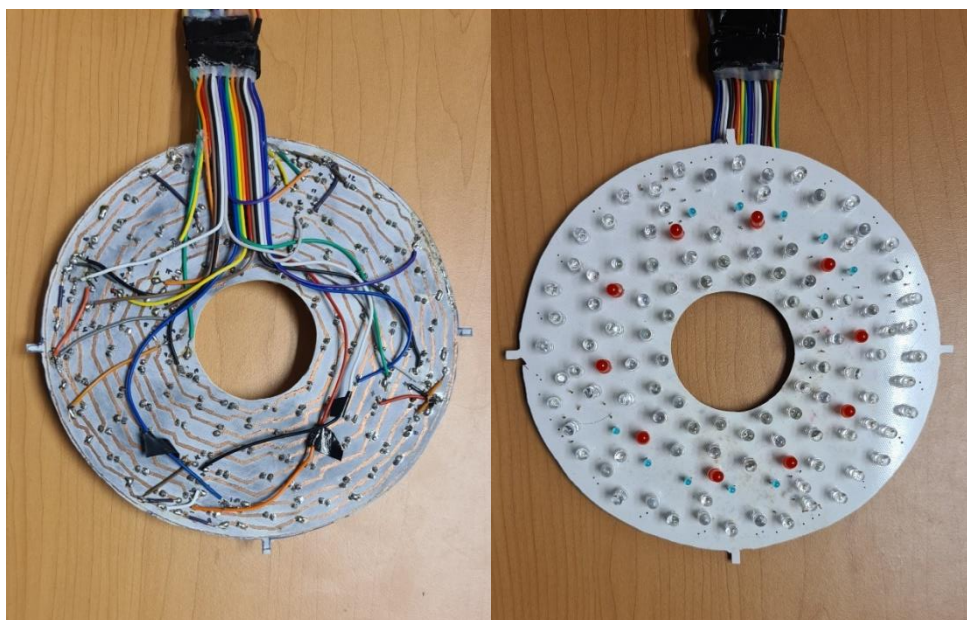


Figura 5.13. a) Vista posterior, pistas del PCB. b) Vista frontal, ledes.

5.2.3.2. Diseño en PROTEUS

La Figura 5.14 muestra la distribución de las pistas diseñada en PROTEUS. Sé tomó en cuenta la separación entre los pines de los ledes y la distancia real esperada para el diafragma. Al final se tomó la distancia radial externa para comenzar el diseño del hemisferio.

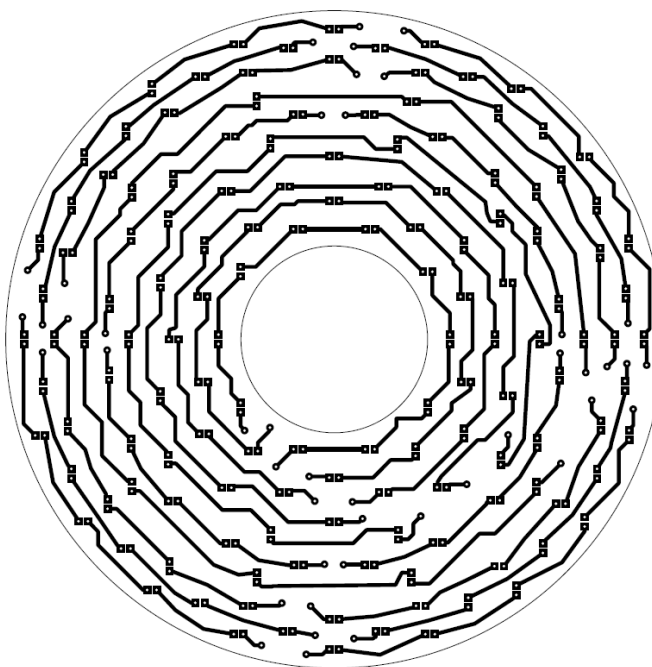


Figura 5.14. Diseño de las pistas del PCB fabricado en PROTEUS.

5.3. Circuito de potencia

El circuito de potencia es el encargado de separar las señales de encendido con el voltaje de operación de la fuente (24 V).

5.3.1. Voltajes, corrientes y resistencias de los ledes

Cada led seleccionado tuvo un voltaje y corriente de funcionamiento nominal distinto. Es de suma importancia conocer ambos valores porque si se conectan arbitrariamente podrían quemarse, no encender o bien tener un comportamiento inadecuado e inesperado de intensidad que no se amolde con los cálculos radiométricos efectuados.

Tomando en cuenta que todos los ledes tienen una corriente nominal de 20 mA, con ayuda de las leyes de Kirchhoff de corriente se calcula la resistencia para cada serie simple o dividida. La Tabla 5.4 indica los voltajes y corrientes de los ledes seleccionados.

Tabla 5.4. Valores de voltajes y corrientes de los ledes.

Longitud de onda real (nm)	Voltaje (V) (5 Ledes en serie)	Voltaje (V) por led	Resistencia (Ω)	Tipo de serie
384	17.13	3.426	343.5	Dividida
406	15.65	3.13	417.5	Dividida
440	18.42	3.684	279	Dividida
472	14.08	2.816	496	Dividida
500	17.1	3.42	345	Dividida
528	14.01	2.802	499.5	Dividida
577	10.56	2.112	144	Simple
597	10.13	2.026	187	Simple
610	10.53	2.106	147	Simple
632	10.95	2.19	105	Simple
656	9.21	1.842	279	Simple
690	11.48	2.296	52	Simple

5.3.2. Diagrama de conexiones

Se utilizaron circuitos Darlington (ULN2003A) como separadores de potencias, el diagrama de conexiones de esta etapa se muestra en la Figura 5.15.

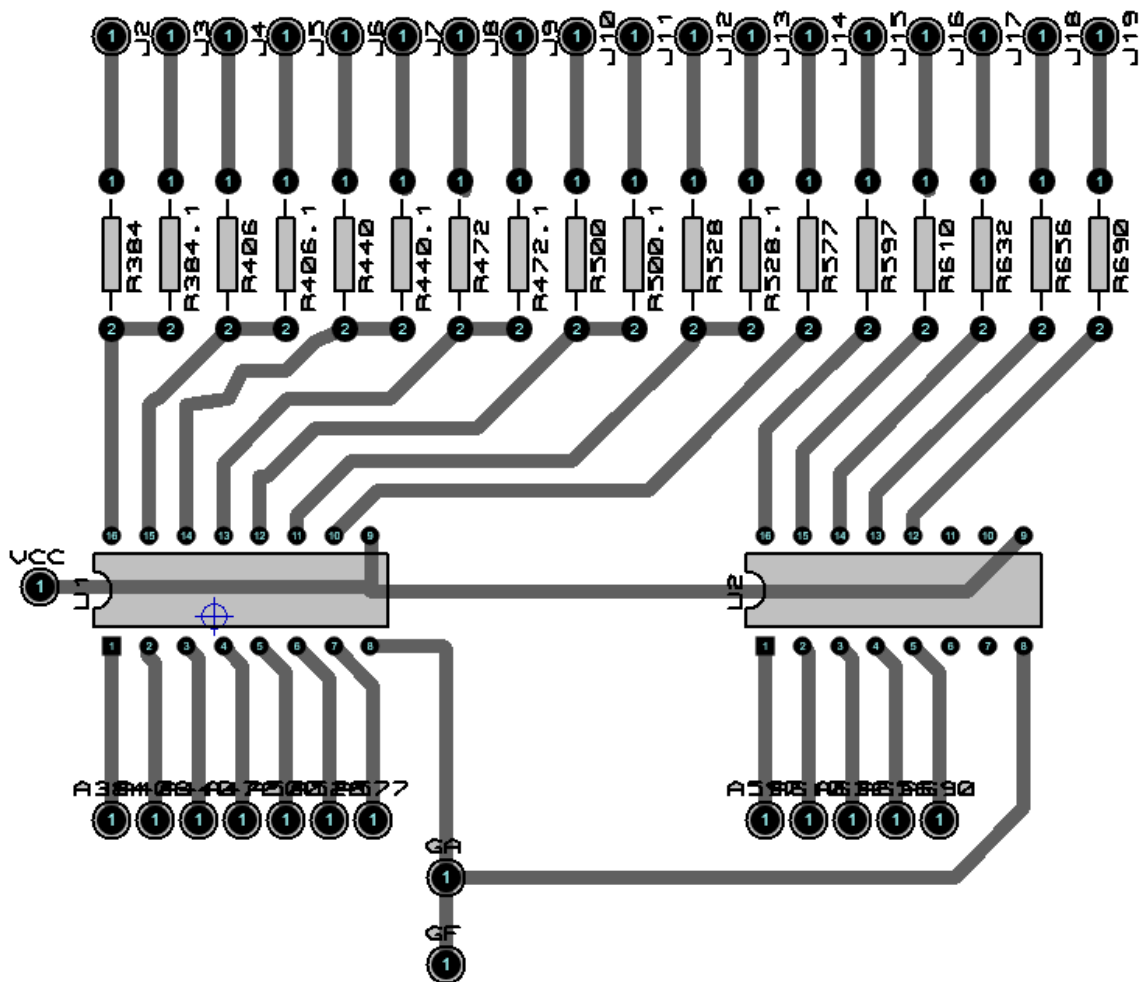


Figura 5.15. Circuito separador de potencias.

Los cátodos de los ledes son conectados a las terminales J, la J2 hasta la J19 para cada una de las series simples y divididas. Los ánodos tienen una conexión en común a la terminal VCC. El ánodo de la fuente es conectado a la terminal VCC y el cátodo a la terminal GA o GF; estas dos a su vez son la tierra común de todo el sistema.

Las señales provenientes de Arduino se conectan en las terminales A.

La Figura 5.15 es una simulación de la conexión para las longitudes de onda en series simples. Fue realizada en PROTEUS con el fin de visualizar de mejor manera las conexiones entre la etapa de potencia y los ledes. La Figura 5.16. muestra el sistema armado.

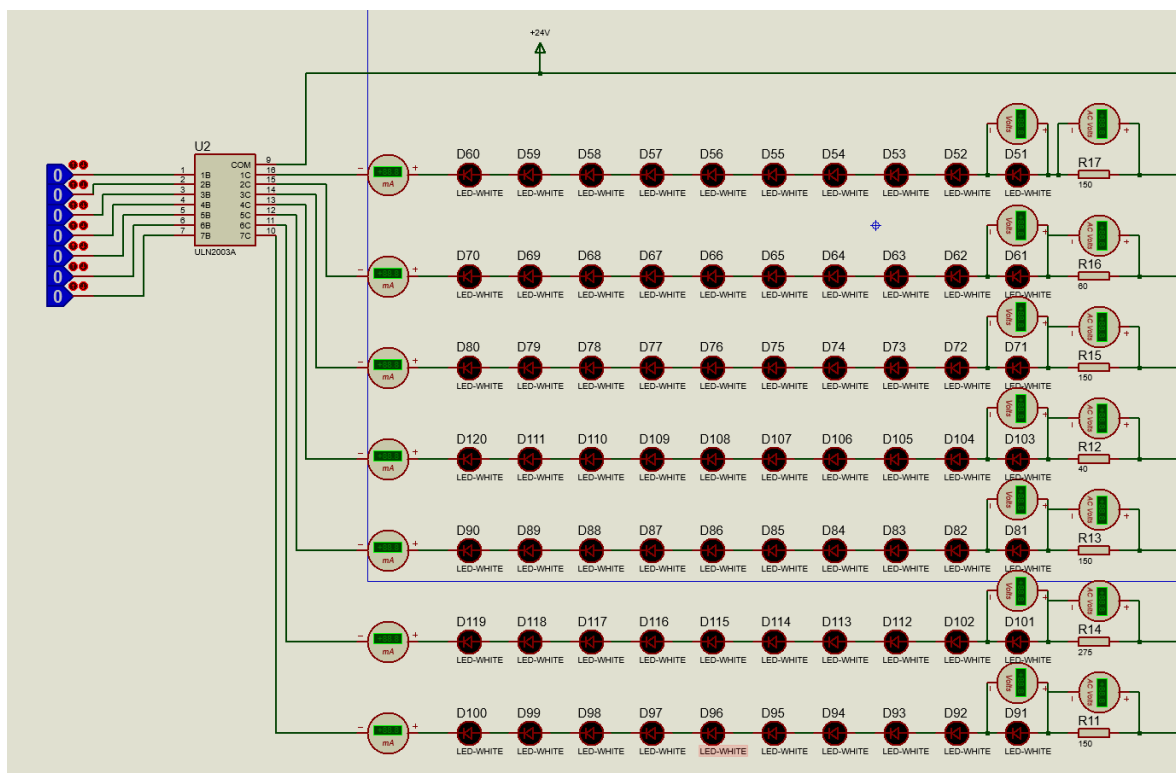


Figura 5.16. Diagrama de conexiones realizado en PROTEUS.

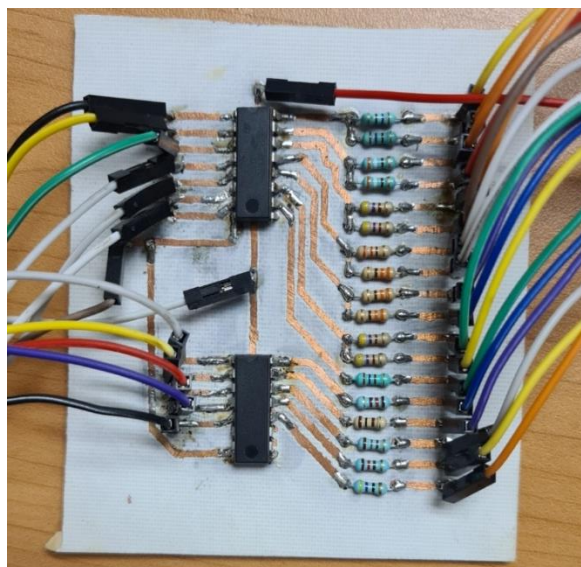


Figura 5.17. Armado del circuito de potencia.

CAPÍTULO VI

SISTEMA DE CALIBRACIÓN Y CAPTURA

El sistema de disparo y captura consiste en la combinación de hardware y software. Por parte del software, se desarrolló un programa en LabVIEW para encender cada banda de ledes de manera individual y realizar el disparo durante el tiempo de exposición adecuado.

Para la captura de las imágenes primero debió establecerse una distancia de trabajo óptima, así como el área de trabajo y el tiempo de exposición para cada longitud de onda.

La distancia de trabajo fue calculada de manera empírica, colocando un cuadro de 10 x 10 cm a distancias variables; la distancia óptima para que la dimensión más pequeña del sensor de la cámara pudiera visualizar completamente los 10 cm resultó en 33 cm.

Las medidas fueron realizadas con una lente de 8 mm de distancia focal.

El tiempo de exposición fue variable para cada longitud de onda, se tuvo que seguir un proceso específico para ser calculado y este se describe más adelante dentro de este mismo capítulo.

VI.1. Diagrama general de funcionamiento

El programa de LabVIEW fue realizado de manera que pudiera trabajar de manera automática, y a su vez, se pueda acceder a cada función por separado para usuarios más experimentados en el modo manual. En la Figura 6.1 se muestra el diagrama de flujo del programa:

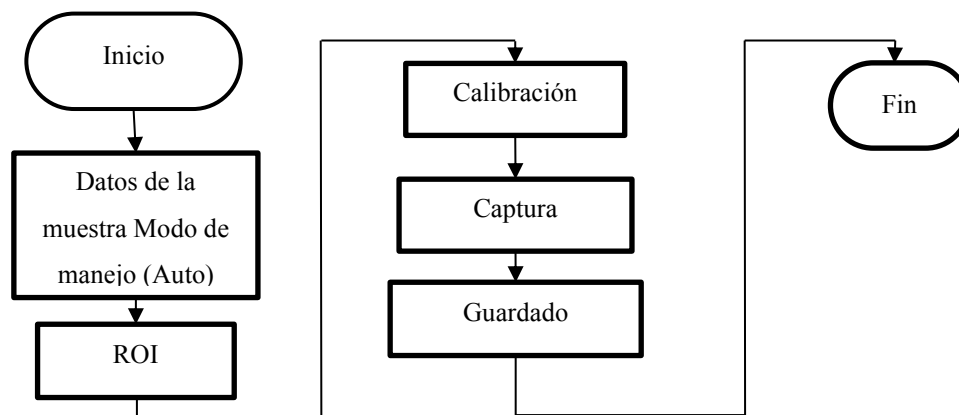


Figura 6.1. Diagrama general del modo automático del programa de encendido y captura.

Con el fin de distinguir entre muestras, el sistema desarrollado cuenta con la opción de asignar un nombre a cada muestra capturada; dicho nombre es utilizado para guardar la información más adelante en el disco duro.

Como es notable en la Figura 6.1, el primer paso desarrollado es la asignación del nombre de la muestra. Después se asigna un área de interés (ROI – *Region Of Interest*) para llevar a cabo la calibración de los tiempos de exposición. Una vez realizada la calibración se guardan las imágenes capturadas, así como los tiempos de exposición.

En la sección del apéndice se encuentra el panel frontal y la explicación de sus botones, así como el código sin desglosar los subVIs.

6.2. Calibración

Dos de las etapas más importantes son la calibración y la captura; la calibración es el proceso por el cual se calcula el tiempo de exposición óptimo para que la intensidad promedio del área de interés sea justamente la mitad de la resolución máxima del sensor de 12 bits, es decir que se desean 2048 valores de intensidad.

La Figura 6.2 muestra el proceso que se lleva a cabo en el subproceso de la calibración:

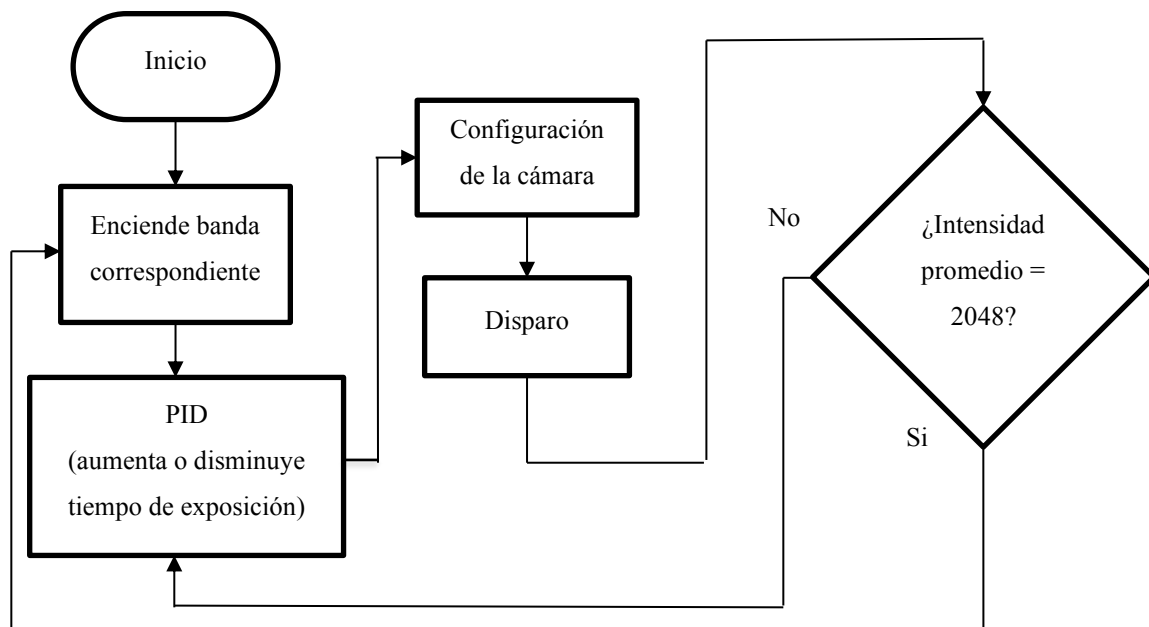


Figura 6.2. Diagrama del subproceso de la calibración.

La calibración se basa en la idea de que la cámara posee una cantidad mínima de intensidad en la que no se presenta ruido por ausencia de señal, esta idea fue expuesta en el capítulo V. Al tener una intensidad mínima de 102 unidades de pixel muy próxima al ruido, mejor se opta por una magnitud intermedia en la cual no se presente ruido por ausencia de señal y tampoco una saturación por exceso de información recibida; esta intensidad son 2048 unidades de pixel. Para calibrar se pone una superficie con una reflectancia similar a 1 para que la cámara y el ciclo de calibración estén haciendo sus capturas y procesos. Esta superficie será capturada y guardada para cada longitud de onda y así pueda ser el punto de comparación en la obtención de las reflectancias.

El proceso de calibración primero asigna un tiempo de exposición inicial muy bajo (10,000 μ s) a un control PID, después el tiempo de exposición resultante del PID es cargado a las configuraciones de la cámara y se procede a realizar una captura con el led de longitud de onda deseada. Luego se procesa la información de los pixeles buscando el promedio de intensidad de todos aquellos que se encuentren dentro del ROI. Finalmente se compara si ese promedio de intensidad es igual a 2048 unidades, si es así, se procede a realizar el mismo proceso para el resto de longitudes de onda, si no, se regresa al PID y se aumenta o disminuye dependiendo de la necesidad y hasta que se cumpla la condición de comparación.

6.3. Captura

Una vez calibrado el tiempo de exposición de cada longitud de onda se procede a la captura de las imágenes. Para la captura primero debe encenderse cada led oportunamente, el encendido de los ledes se logra comunicando LabVIEW con Arduino; se encienden los pines por puerto asignando un valor binario dependiendo del número de pin. La Figura 6.3 muestra el esquema general de captura.

Finalmente se guardan los datos adquiridos en una carpeta con el nombre asignado a la muestra, para después ser rescatados y procesados.

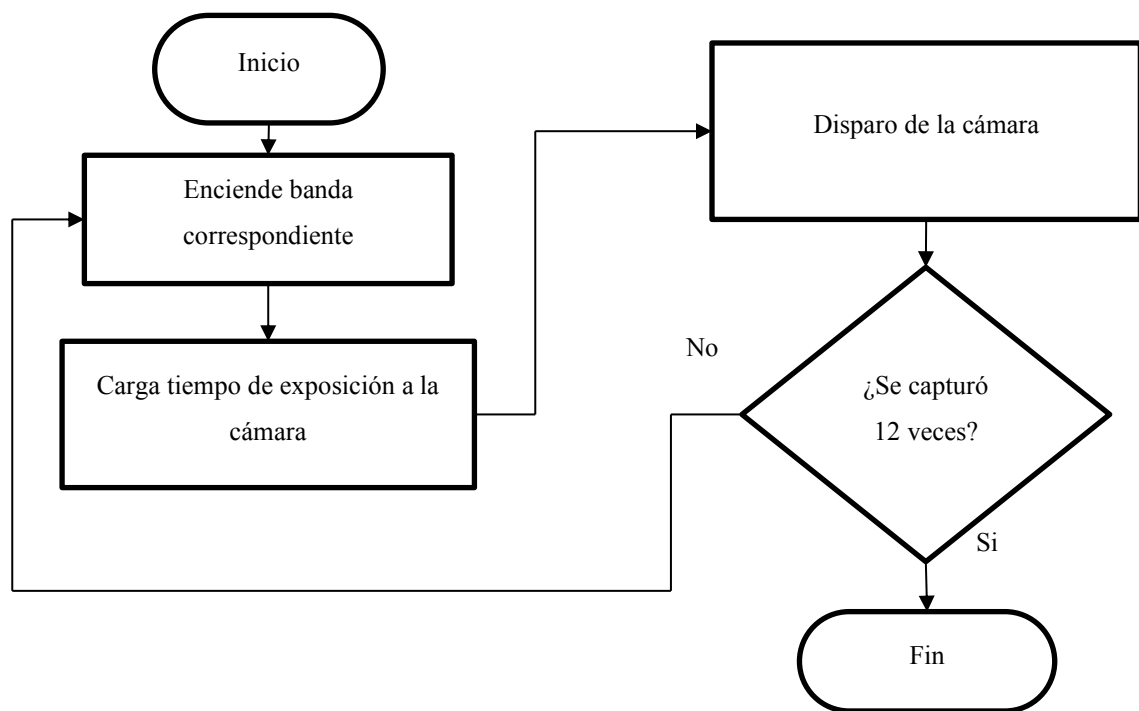


Figura 6.3. Diagrama general del subproceso de capturas.

CAPÍTULO VII

PROCESAMIENTO

El procesamiento es el encargado de tratar la información en busca de resultados. Fue llevado a cabo en Matlab y fue el mismo para los microgreens y para la espirulina. La metodología se basa en la obtención de las reflectancias de las muestras y su comparación contra la relación establecida de los carotenoides y la clorofila para organismos fotosintéticos. La comparación final entre ambas variables es estudiada y comparada nuevamente contra índices vegetativos obtenidos con la información recopilada en el cálculo de reflectancias. En la Figura 7.1 es posible visualizar un diagrama general del procesamiento.

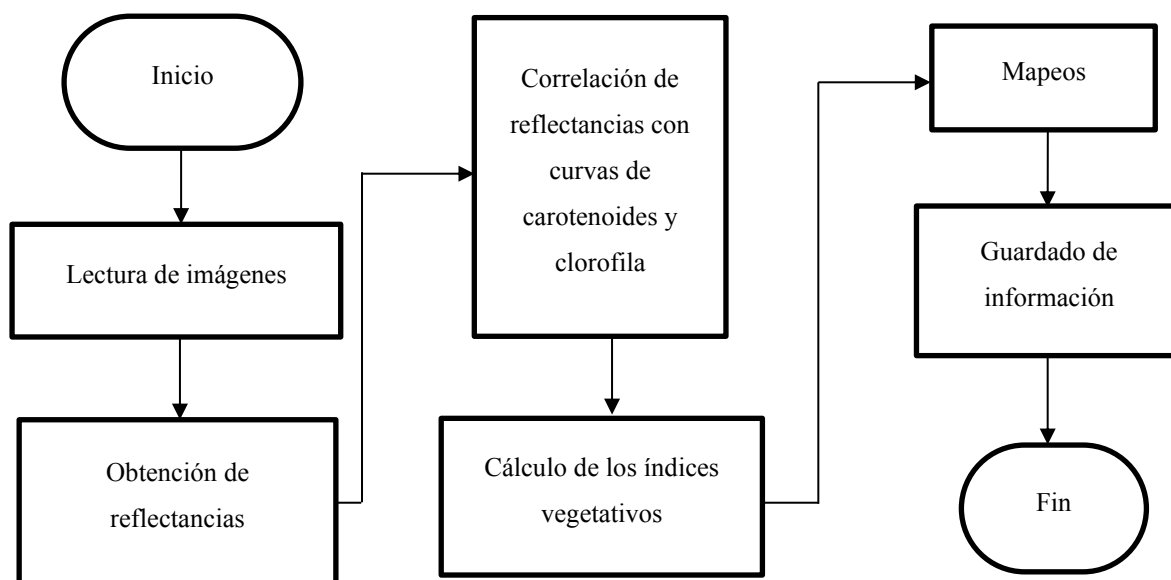


Figura 7.1. Diagrama de flujo del procesamiento.

7.1 Obtención de reflectancias

Recapitulando: durante el proceso de calibración se capturó y guardó una imagen con fondo de reflectancia igual a 1 para cada longitud de onda. Durante el proceso de captura se capturó y guardó una imagen de la muestra para cada longitud de onda y para cada día de captura a la misma muestra. Entonces para cada juego de imágenes de calibración y captura se calcularon las reflectancias, las correlaciones y los índices de vegetación.

Primero se tuvieron que obtener las reflectancias. Para ello se realizó una comparación pixel a pixel de la imagen de captura de cada longitud de onda contra la imagen de calibración con su respectiva longitud de onda.

La ecuación 7.1 modela la forma en que se obtuvieron las reflectancias mediante dos ciclos for anidados desde $x = 1, y = 1$ hasta $x = 1920, y = 1080$. Donde x es el ancho de la imagen y y es el alto de la imagen, $R(x,y)_\lambda$ es la imagen resultante de reflectancias, $Im(x,y)_\lambda$ es la imagen capturada, $ImC(x,y)_\lambda$ es la imagen de calibración y λ representa la longitud de onda en la que se está trabajando.

$$R(x,y)_\lambda = \frac{Im(x,y)_\lambda}{ImC(x,y)_\lambda} \quad (7.1)$$

Como se trabajan 12 longitudes de onda, se obtuvieron 12 imágenes $R(x,y)_\lambda$. Cada imagen $R(x,y)_\lambda$ es una matriz de valores de reflectancias.

7.2 Correlación de reflectancias con las curvas características de los carotenoides y la clorofila

Una vez obtenidos los valores de reflectancias se puede proceder a correlacionarlos con la curva característica de los carotenoides y clorofila para organismos fotosintéticos vistos en la sección 3.7. Para ello tuvieron que rescatarse las reflectancias dadas para cada curva en las longitudes de onda obtenidas en el sistema propuesto (Tabla 7.1).

Para llevar a cabo la correlación se utilizaron las ecuaciones 7.2 y 7.3. En ellas se utiliza la función de Matlab Corr que devuelve un valor entre -1 y 1, donde -1 corresponde a una correlación 100% inversa, el 0 a que los valores no están correlacionados y el 1 a que está 100% directamente correlacionado.

$$CorrClorofila(x,y) = corr(R(x,y), Clorofila); \quad (7.2)$$

$$CorrCarotenoides(x,y) = corr(R(x,y), Carotenoides); \quad (7.3)$$

Donde: CorrClorofila y CorrCarotenoides son matrices contenedoras de los resultados de correlación para cada uno de los pixeles de la imagen, $R(x,y)$ es un arreglo unidimensional de 12 elementos que contiene los valores de reflectancia del punto (x,y) de las 12 imágenes de diferentes longitudes de onda, *Clorofila* es un arreglo unidimensional de 12 elementos

que contiene las 12 reflectancias de la curva característica de la clorofila, y *Carotenoides* es un arreglo unidimensional de 12 elementos que contiene las 12 reflectancias de la curva característica de los carotenoides.

Tabla 7.1. Reflectancias de la curva de carotenoides y clorofila para las longitudes de onda propuestas.

Longitud de onda (nm)	Carotenoides	Clorofila
384	0.2695	0.2064
406	0.2652	0.2064
440	0.2347	0.2217
472	0.3086	0.02913
500	0.4173	0.3869
528	0.5956	0.5130
577	0.3	0.7391
597	0.3	0.7
610	0.2956	0.6739
632	0.2913	0.6304
656	0.2739	0.5130
690	0.2913	0.6173

7.3. Índices vegetativos

Para calcular los índices vegetativos únicamente se necesitaron las reflectancias de las longitudes de onda específicas que cada uno de los índices necesita. La Tabla 7.2 muestra dichos índices.

En la sección 3.8 se muestran las ecuaciones de cada índice.

Cada índice vegetativo tuvo que ser aplicado pixel a pixel por lo que se generaron matrices de valores para cada uno de ellos: $PRI(x,y)$, $NPCI(x,y)$, $MCARI(x,y)$ y $GLI(x,y)$.

7.4. Mapeo

El mapeo fue utilizado para dar una representación gráfica y visual al usuario de los cambios que se tienen respecto al tiempo.

Se utilizó la función `figure, imshow(x)`; para mostrar el contenido de las variables en forma de imagen. Para ello tuvieron que ser normalizadas desde 0 a 1 ya que contenían valores negativos y la función no era de utilidad.

Las variables mapeadas fueron: $CorrClorofila(x,y)$ y $CorrCarotenoides(x,y)$, $PRI(x,y)$, $NPCI(x,y)$, $MCARI(x,y)$ y $GLI(x,y)$. Estas corresponden a las correlaciones respecto a la clorofila y carotenoides, y a los índices vegetativos.

Tabla 7.2. Longitudes de onda utilizados para cada índice vegetativo y su comparación con las bandas del sistema.

Bandas de ledes	<i>PRI</i>	<i>NPCI</i>	<i>MCARI</i>	<i>GLI</i>
384				
406				
440		430		
472				480
500			500	
528	531			
577	570			570
597				
610				
632				
656			670	640
690		680	700	

7.5. Guardado de la información

La información resultante del procesamiento fue:

- 1 mapa para el índice *PRI*
- 1 mapa para el índice *NPCI*
- 1 mapa para el índice *MCARI*
- 1 mapa para el índice *GLI*
- 1 archivo de texto con el promedio de todos los índices vegetativos.

Todo esto para cada día en el que se capturó la muestra.

7.6. Comparación de información

Una vez obtenidos todos los índices, correlaciones y haber guardado la información, se tuvieron que comparar los datos de todos los días de captura para observar el comportamiento del cultivo durante su desarrollo.

Se obtuvieron varias tablas en donde, aparte de tener los datos ordenados cronológicamente, también se hicieron correlaciones de los índices con la clorofila y los carotenoides para visualizar si su comportamiento es el adecuado según la literatura.

CAPÍTULO VIII

RESULTADOS

8.1. Microgreens

Después de haber procesado la información queda la interpretación de resultados. Los microgreens tuvieron un ajuste muy importante con la curva del índice *MCARI*. Este mide directamente las concentraciones del pigmento de la clorofila de las hojas de una planta y, como se vio en la sección 3.8, tiene una tendencia caótica para bajos niveles de clorofila y una correlación inversamente proporcional a partir de un pico máximo (véase Figura 8.1).

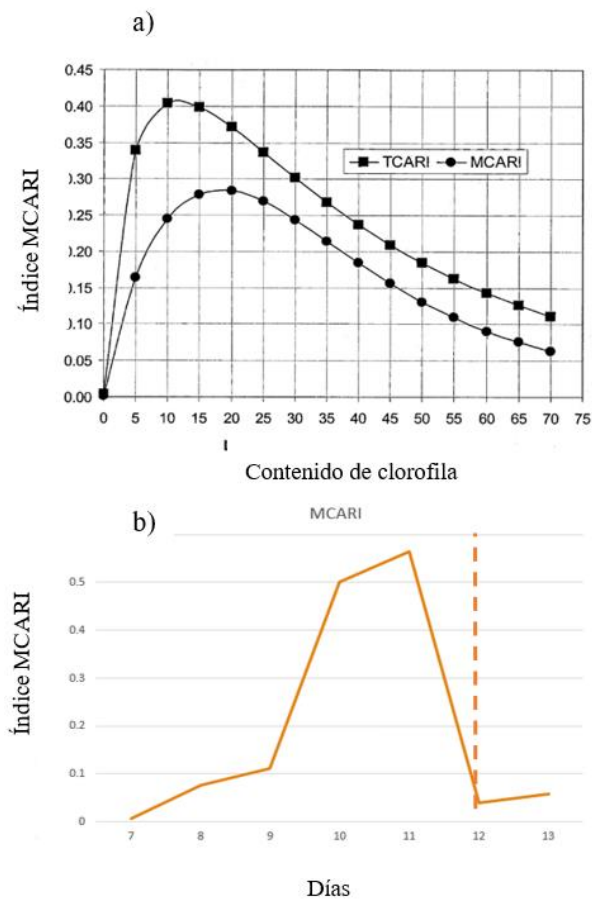


Figura 8.1. Comparativa del comportamiento normal de la curva *MCARI* vs curva obtenida de los microgreens.

En la Figura 8.1 b) se muestra la curva del índice *MCARI* para los microgreens, en el día número 12 se encuentra una línea punteada que marca el día óptimo de cosecha. Ya que el

índice es inversamente proporcional a la cantidad de clorofila, en el día 12 la clorofila está a su máxima concentración.

26_04-0					
Días desde siembra	Carotenoides	Clorofila	PRI	NPCI	MCARI
7	-0.22132	0.35177	-0.39499	0.20614	0.0075415
8	-0.1682	0.46982	-0.38008	0.17899	0.075934
9	-0.060227	0.28738	-0.37413	0.18883	0.11135
10	-0.078682	0.48791	-0.38374	0.15931	0.49996
11	-0.066195	0.4825	-0.36501	0.26036	0.56504
12	-0.16893	0.3274	-0.37014	0.1642	0.039133
13	0.21122	0.47878	-0.0042959	0.18151	0.058666

Correlación entre PRI y carotenoides	
Car-PRI	0.916223292

Correlación entre MCARI y NPCI vs clorofila	
Clo-PRI	0.3418498
Clo-MCARI	0.5609437
Clo-NPCI	0.1569696

Figura 8.2. Resultados de los índices para los microgreens.

En la Figura 8.2 se aprecian los días a partir de la siembra junto con su respectivo índice y correlación, y además, la correlación de cada uno de los índices con los carotenoides y la clorofila.

Recordando que los carotenoides están mayormente presentes cuando la planta se protege del exceso de luz, es lógico que los valores del *PRI* sean negativos. Aparte, existe una alta correlación positiva entre los carotenoides y el *PRI* y una baja correlación y positiva entre la clorofila y el *PRI* siendo que esta última debe ser negativa en cultivos sanos. Al igual que sucedió con el *PRI*, el *MCARI* obtuvo una correlación positiva con la clorofila en vez de la que se esperaba (negativa) por el estrés al que la planta estuvo sometida. El estrés se dio por falta de fertilizantes.

8.1.1. Mapeos

Se hicieron mapeos con el propósito de dar al usuario una sensación visual de la participación de cada índice en el organismo, así como la variación del color respecto al tiempo. Aunque si se aprecia qué tanto influye cada índice en el tallo o las hojas, la variación

del color respecto al tiempo es casi imperceptible como para determinar visualmente el punto de cosecha. La Figura 8.3 muestra los distintos índices mapeados.

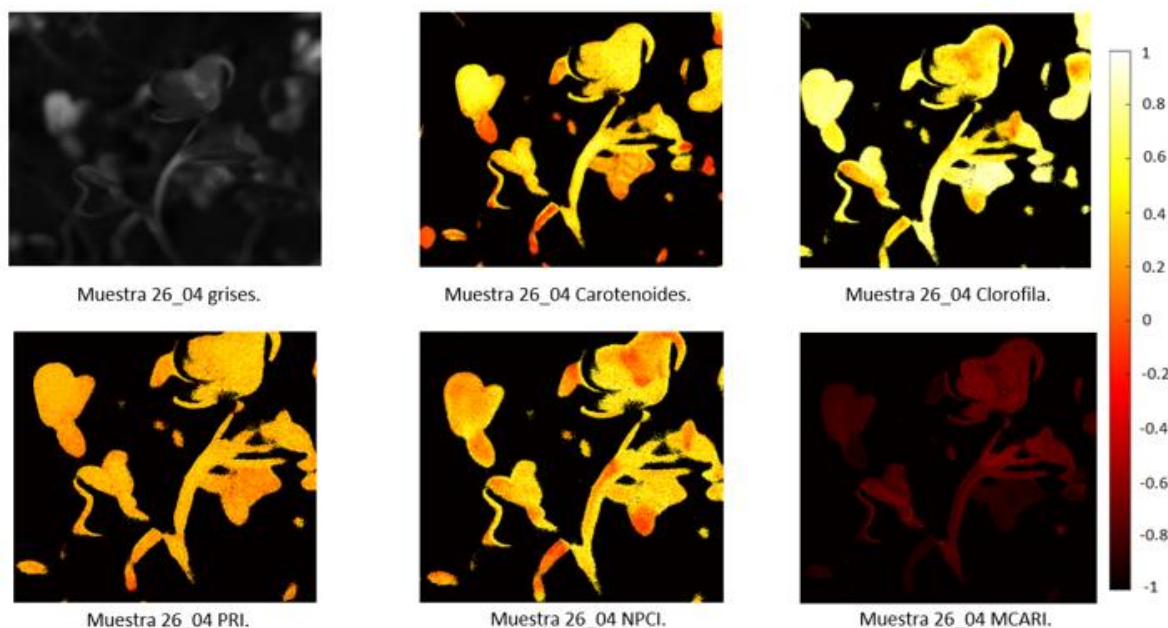


Figura 8.3. Mapeos de los distintos índices vegetativos para los microgreens.

8.2. Espirulina

El índice que mejor se ajustó a la curva de crecimiento de la espirulina fue el *GLI*, recordando que este mide la concentración del color verde comparándose con el rojo y el azul. Este índice puede ser mal interpretado porque la reflectancia en el rango de los 528 nanómetros se atribuye directamente a los carotenoides y se podría decir que, a mayor magnitud del índice, mayor estrés del cultivo, pero no es así. Es muy importante tomar en cuenta que la absorbancia de la clorofila en los 420 y 680 nanómetros tiende a aumentar a mayores concentraciones; es decir que la reflectancia disminuye, y esto da a lugar que la resta entre el verde y la suma los valores correspondientes al azul y rojo resulte en una magnitud mayor para el índice y por lo tanto sea inversamente proporcional a los niveles de clorofila (para un cultivo sano).

En la sección 3.1 se muestra y se explica a detalle la curva de crecimiento típica para el cultivo de espirulina máxima. En la Figura 8.4 se muestra como el índice *GLI* tiene un

parecido razonable con esta curva por lo que se atribuye que el mejor día para la cosecha parte desde el cuarto día, teniendo como fecha límite el octavo día.

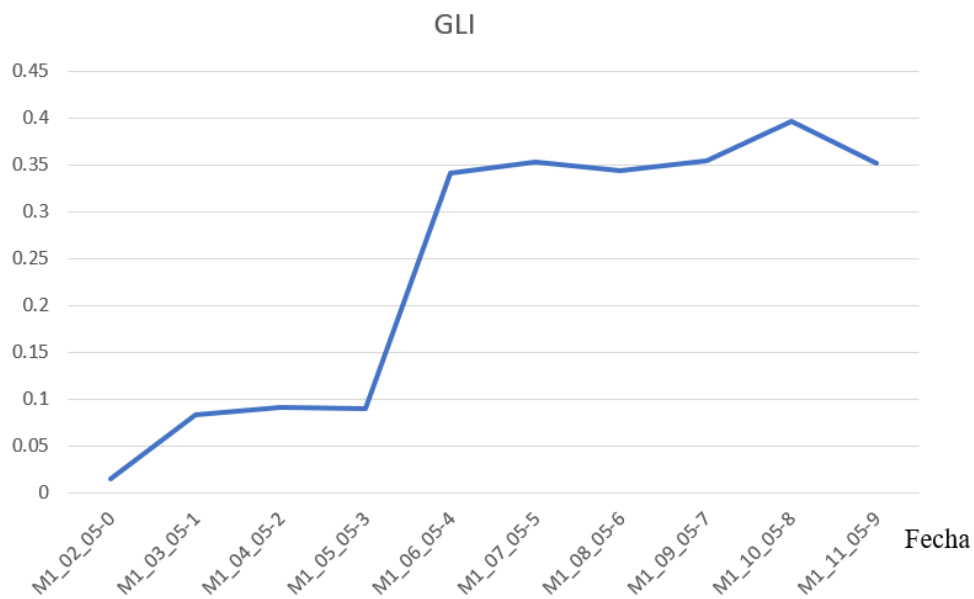


Figura 8.4. Comportamiento del índice *GLI* respecto al tiempo.

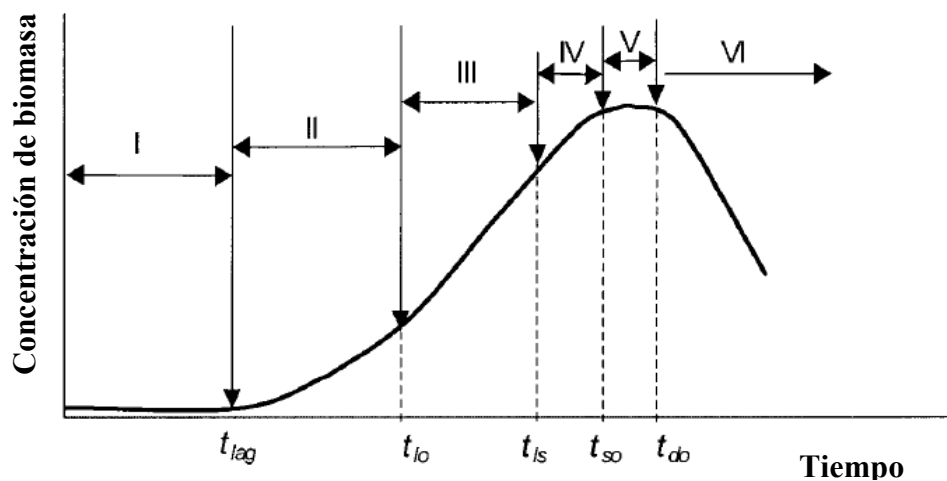


Figura 8.5. Curva típica del crecimiento de la espirulina y sus fases.

Muestra	Carotenoides	Clorofila	PRI	NPCI	MCARI	GLI
M1_02_05-0	0.18988	0.23003	0.050896	0.27523	-0.028539	0.015384
M1_03_05-1	0.1391	0.28102	0.026656	0.75149	0.084105	0.083267
M1_04_05-2	0.10305	0.23088	0.022787	0.77392	0.083706	0.091111
M1_05_05-3	0.12088	0.13883	0.34667	0.75846	0.084367	0.089723
M1_06_05-4	0.21992	0.16646	0.3462	0.76733	0.44791	0.34151
M1_07_05-5	0.23851	0.12497	0.61266	0.76969	0.76969	0.3531
M1_08_05-6	0.21719	0.12022	0.61129	0.77587	0.44187	0.34419
M1_09_05-7	0.18189	0.046239	0.63056	0.77638	0.43805	0.35413
M1_10_05-8	0.2212	0.13325	0.62229	0.87996	0.42483	0.39622
M1_11_05-9	0.1863	0.059149	0.62184	0.77665	0.38996	0.35135

Car-PRI	0.654972161	Clo-PRI	-0.9138971
Car-MCARI	0.769480662	Clo-MCARI	-0.6439669
Car-GLI	0.740368395	Clo-GLI	-0.7617299

Figura 8.6. Resultados de los índices de la espirulina.

Como se aprecia en la Figura 8.5 el índice *PRI* se mantuvo positivo durante toda la vida del cultivo indicando un cultivo saludable y con mayor actividad fotosintética que los microgreens. De igual manera al visualizar las correlaciones del *PRI*, este es directamente proporcional a la concentración de los carotenoides e inversamente para la clorofila.

Los resultados de correlación del índice *MCARI* para cultivos sanos demuestra que la actividad fotosintética (y por lo tanto la clorofila) se ve inversamente reflejada a su magnitud y directamente reflejada para los carotenoides.

Los resultados de correlación del índice *GLI* demuestra que, como se dijo anteriormente en esta sección, es directamente proporcional al contenido de carotenoides e inversamente proporcional al contenido de clorofila.

8.2.2. Mapeos

Al igual que con los microgreens, se hicieron mapeos con el propósito de dar al usuario una sensación visual de la participación de cada índice en el organismo, así como la variación del color respecto al tiempo. Se obtuvieron los mismos resultados visuales, se aprecia qué tanto influye cada índice en el tallo o las hojas, pero la variación del color respecto al tiempo es casi imperceptible como para determinar visualmente el punto de cosecha. La Figura 8.6 muestra los distintos índices mapeados.

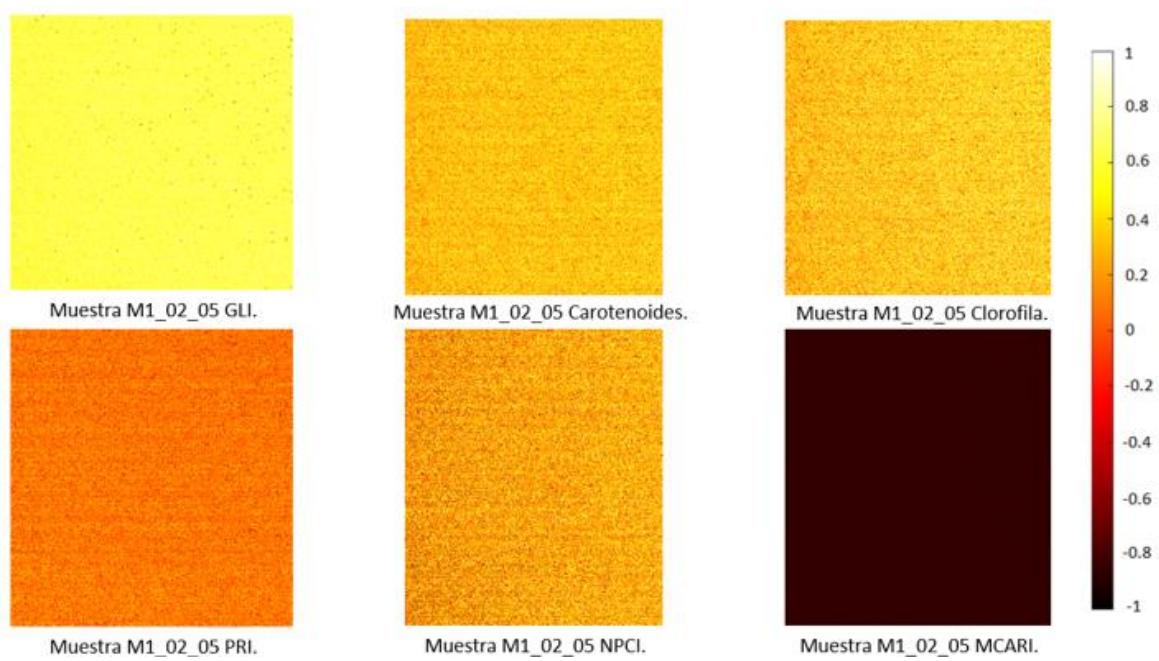


Figura 8.7. Mapeos de los distintos índices vegetativos para la espirulina.

CAPÍTULO IX

CONCLUSIONES

Aunque la información obtenida de las reflectancias fue limitada por la baja resolución espectral y bajo rango espectral, los resultados obtenidos fueron satisfactorios. Es posible concluir un día óptimo de cosecha, pero con un retraso de 24 horas que es el periodo comprendido entre muestras y capturas.

Los índices de vegetación *PRI*, *MCARI* y *GLI* funcionaron como se esperaba. Todos ellos siguieron una pauta acorde a lo establecido en la literatura y ayudaron a entender el estado de salud y desarrollo del cultivo durante su crecimiento. El índice *NPCI* no arrojó datos útiles, la literatura marca que fue utilizado para el dosel forestal por lo que sus muestras bajo estudio tienen más de 30 días de haber sido plantadas.

Los índices para cultivos sanos indican una correlación negativa entre los carotenoides y los microgreens. Y hace sentido al ver que el pico de reflectancia de los carotenoides aumenta según aumente su concentración y el pico de reflectancia de la clorofila disminuye según aumenta su concentración.

En los resultados, las magnitudes varían bastante una de otra, esto se debe a dos factores principales: el primero es el tiempo entre capturas dado cada 24 horas en vez de unas dos o tres veces al día para un análisis óptimo de información; el segundo se debe a la baja resolución espectral que proporcionó el sistema de 12 bandas, que aunque 10 de ellas pueden ser consideradas monocromáticas, la separación entre una y otra no es la suficiente para tener más puntos de análisis. Un sistema hiperspectral conceptualmente brinda más de 200 bandas para el estudio y comprende un rango espectral entre 400 a 2500 nanómetros, obteniéndose una resolución espectral aproximada de 10 nm por banda y teniendo longitudes de onda monocromáticas pegadas unas a otras en su banda media. Además, la intensidad dada por los ledes no fue la esperada por el análisis radiométrico debido a que se hicieron aproximaciones idealistas de la posición de los ledes respecto al hemisferio y lo mismo para la interfaz del diafragma del hemisferio y el cultivo.

CAPÍTULO X

TRABAJO FUTURO

Se recomienda repetir el experimento y utilizar mayor rango y resolución espectral para determinar un punto más preciso de cosecha. Si es posible, agregar fertilizantes para evitar el estrés. Se puede explorar la posibilidad de automatizar el proceso de toma de capturas y el procesamiento de la información para que el retraso existente al determinar la hora de cultivo sea menos. Con un sistema que analice la muestra cada 6 horas sería suficiente, aunque lo ideal sería hacerlo cada hora del día para tomar en cuenta también el ciclo diurno al que son sometidos los especímenes.

Se recomienda conseguir el equipo necesario para analizar los pigmentos de la muestra por métodos químicos y así tener una correlación con los métodos e índices ópticos que sea más precisa. El equipo consta de una centrifugadora y un espectrómetro, estos serían de mucha utilidad en el laboratorio para futuros proyectos de la misma rama. Ayudarían a disminuir el tiempo de adquisición de información e incluso tener una idea más específica de las longitudes de onda predominantes en 3 distintos pigmentos: clorofila tipo a, clorofila tipo b y carotenoides.

Se podría buscar otro método de iluminación, ya sea por medio de filtros de colores o por rejillas de difracción. También es posible diseñar un reflector específico para la función deseada, es decir si en este trabajo se utilizaron muestras de 10 x 10 cm y se tomaron capturas a 33 cm de distancia, el reflector debe tener la forma óptima para que toda la luz se concentre en el área deseada y tener pérdidas mínimas garantizando n orden de reflexiones. La metodología propuesta se centra en la simulación inversa de rayos reflejados y corrección de la superficie de manera automática.

REFERENCIAS

- [1] H. S. K. A. Y. K. K. a. A. A. M. J. Khan, «Modern trends in hyperspectral imagen analysis: a Review,» *IEEE Access*, pp. 14118-14129, 2018.
- [2] J. M. A. a. S. Grassi, «Hyperspectral imaging,» de *Hyperspectral imaging*, Spain, 2020, pp. 605 - 629.
- [3] J. M. A. a. S. Grassi, «Hyperspectral and multispectral imaging: setting the scene,» de *Hyperspectral imaging*, Spain, El Sevier, 2020, pp. 3 - 16.
- [4] H. B. a. S. E. José Amigo, «Hyperspectral image analysis. A tutorial,» *Analytica Chimica Acta*, pp. 34 - 51, 2015.
- [5] A. R. G. y. N. I. V. Cuentas, «Análisis de imágenes hiperespectrales,» *Revista de ingeniería & desarrollo*, vol. 9, nº 35, pp. 14 - 17, 2016.
- [6] J. M. A. a. S. Grassi, «Configuration of hyperspectraland multispectral imagingsystems,» de *Hyperspectral Imaging*, Spain, El Sevier, 2020, pp. 19 - 34.
- [7] T. K. M. T. a. M. O. Y. Monno, «Optimal spectral sensitivity functions for a single-camera one-shot multispectral imaging system,» *IEEE*, pp. 2137 - 2140, 2012.
- [8] L. L. Y. a. T. T. W. Uyory Choe, «The Sciende behind Microgreens as an Exciting New Food for the 21st Century,» *J. Agric. Food. Chem.*, nº 66, pp. 11519 - 11530, 2018.
- [9] Y. H. a. A. O. R. Sonobe, «Quantifying chlorophyll-a and b content in tea leaves using hyperspectral reflectance and deep learning,» *Remote sensing letters*, vol. 11, nº 10, pp. 933 - 942, 2020.
- [10] G. D. N. W. e. a. S. Che, «Biomass estimation of cultivated red algae Pyropia using unmanned aerial platform based multispectral imaging,» *Plant methods*, vol. 17, nº 12, pp. 1 - 13, 2021.
- [11] C. L. W. J. C. Y. G. X. Z. Z. L. T. Z. Lanlan, «Attached cultivation for improving the biomass productivity of spirulina plantesis,» *Bioresource Technology*, nº 181, pp. 136-142, 2015.
- [12] K. S. R. S. R. R. A. Soni, «Spirulina - From growth to nutritional product: a review,» *Trends in Food Science & Technology*, nº 69, pp. 157 - 171, 2017.
- [13] J. L. & J. Xia, «Modeling the growth curve for Spirulina (arthrospira) maxima, a versatile microalga for producing uniformly labelled compounds with stable isotopes,» *Journal of Applied Phycology*, nº 13, pp. 359-367, 2001.
- [14] U. Choe, L. L. Yu y T. Y. Wang, «The Science behind Microgreens as an Exciting New Food for the 21st Century,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, nº 66, pp. 11519-11530, 2018.
- [15] R. A. Jordan, E. F. Ribeiro, F. C. Oliveira, L. O. Geinsenhoff y E. A. S. Martins, «Yield of lettuce grown in hydroponic and aquaponic systems using different substrates,» *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, nº 8, pp. 525-529, 2018.
- [16] C. J. Murphy, K. F. Llort y W. G. Pill, «Factors Affecting the Growth of Microgreen Table Beet,» *International Journal of Vegetable Science*, nº 3, pp. 253-266, 2010.

- [17] Z. Xiao, Y. Luo, G. E. Lester, L. Kou, T. Yang y Q. Wang, «Postharvest quality and shelf life of radish microgreens as impacted by storage temperature, packaging film, and chlorine wash treatment,» *LWT – Food Science and Technology*, nº 55, pp. 551-558, 2014.
- [18] J. S. Lee, W. G. Pill, B. B. Cobb y M. Olszewski, «Seed treatments to advance greenhouse establishment of beet and chard microgreens,» *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, nº 79:4, pp. 565 - 570, 2004.
- [19] L. Kou, T. Luo, T. Yang, Z. Xiao, E. R. Turner, G. E. Lester, Q. Wang y M. J. Camp, «Postharvest biology, quality and shelf life of buckwheat microgreens,» *LWT – Food Science and Technology*, nº 51, pp. 73-78, 2013.
- [20] J. F. Peters, *Topology of Digital Images: Visual Pattern Discovery in Proximity Spaces*, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2014.
- [21] M. J. Khan, H. S. Khan, A. Y. Yousaf, K. Khurshid y A. Abbas, «MODern Trends in Hyperspectral Image Analysis: A Review,» *IEEE*, nº 6, pp. 14118-14129, 2018.
- [22] W. R. McCluney, *Introduction to Radiometry and Photometry*, Massachusetts: Artech House, 1994.
- [23] Stanley, «Glossary of LED Terms,» 30 9 2019. [En línea]. Available: https://www.stanley-components.com/data/technical_note/TN008_e.pdf. [Último acceso: 17 06 2022].
- [24] VCC Optoelectronics, «UV LED LAMP VAOL-5EUV8T4,» NewArk Mexico, 2022. [En línea]. Available: <https://www.farnell.com/datasheets/762591.pdf>. [Último acceso: 2022 06 17].
- [25] W. E. Johns, «gizmology,» 2003. [En línea]. Available: <https://www.gizmology.net/LEDs.htm>. [Último acceso: 2022 06 17].
- [26] Optoengineering, «Cameras: Sensor characteristics,» Optoengineering, [En línea]. Available: <https://www.opto-e.com/basics/sensor-characteristics>. [Último acceso: 17 06 2022].
- [27] K. R. Spring y M. W. Davidson, «Concepts in Digital Imaging Technology: Dynamic Range,» Hamamatsu, [En línea]. Available: <https://hamamatsu.magnet.fsu.edu/articles/dynamicrange.html>. [Último acceso: 17 06 2022].
- [28] R. Sheldon y J. Burke, «Signal to noise ratio (S/N or SNR),» TechTarget, 08 2021. [En línea]. Available: <https://www.techtarget.com/searchnetworking/definition/signal-to-noise-ratio>. [Último acceso: 17 06 2022].
- [29] Teledyne photometrics, «Introduction to quantum efficiency: imaging topics,» Teledyne, 2022. [En línea]. Available: <https://www.photometrics.com/learn/imaging-topics/quantum-efficiency>. [Último acceso: 17 06 2022].
- [30] Basler, «daA1920-30um,» Basler Product Documentation, 25 05 2022. [En línea]. Available: <https://docs.baslerweb.com/daa1920-30um.html>. [Último acceso: 17 06 22].
- [31] w. Emmett, Chapelle y S. K. Moon, «Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for the remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B and carotenoids in soybean leaves,» *Remote sens environ*, nº 39, pp. 239-247, 1992.

- [32] A. Govind, M. J. Kumari y A. Govind, «Efficacy of different indices derived from spectral reflectance of wheat for nitrogen stress detection,» *Journal of Plant Interactions*, nº 2, pp. 93-105, 2005.
- [33] J. Peñuelas, A. Gamon, A. Fredeen, J. Merino y C. Field, «Reflectance Indices Associated with Physiological Changes in Nitrogen- and Water - Limited Sunflower Leaves,» *Remote sens environ*, nº 48, pp. 135-146, 1994.
- [34] A. Gitelson, S. Laorawat, G. Keydan y A. Vonshak, «Optical properties of dense algal cultures outdoors and their application to remote estimation of biomass and pigment concentration in spirulina plantesis,» *J. Phycol*, nº 31, pp. 828-834, 1995.
- [35] R. Kelly, «Plant nutrients in the soil,» Department of primary industries, 1992. [En línea]. Available: <https://www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/soils/soil-testing-and-analysis/plant-nutrients#:~:text=The%20three%20main%20nutrients%20are,are%20calcium%2C%20magnesium%20and%20sulfur..> [Último acceso: 17 06 22].
- [36] University of Georgia, «Nutrient content of palnts,» Agricultural & environmental services laboratories, 2022. [En línea]. Available: <https://aesl.ces.uga.edu/publications/plant/Nutrient.html>. [Último acceso: 17 06 2022].
- [37] A. Siedliska, P. Baranowski, J. Wozniak, M. Zubik y J. Krzyszcak, «Identification of plant leaf phosphorous content at different growth stages based on hyperspectral reflectance,» *BMC Plant Biology*, p. 17, 2021.
- [38] National Geographic, «Chlorophyll,» National Geographic, 2022. [En línea]. Available: <https://education.nationalgeographic.org/resource/chlorophyll>. [Último acceso: 17 06 2022].
- [39] P. Swapnil, M. Meena , S. Singh, Dhuldhaj U y Marwal A, «Vital roles of carotenoids in plants and humans to deteriorate stress with its structure, biosynthesis, metabolic engineering and functional aspects,» *Curren Plant Biology*, nº 26, p. 100203, 2021.
- [40] D. Haboudane, R. Miller, N. Tremblay, P. Tejada y L. Dextraze, «Integrated narrow-band vegetation indices for prediction of crop chlorophyll content for application to precision agriculture,» *Remote sensing environment*, nº 81, pp. 416-426, 2002.
- [41] E. Hunt, P. Doraiswamy, J. McMurtrey, C. Daughtry y E. Perry, «A visible band index for remote sensing leaf chlorophyll content at the canopy scale,» *International journal of applied earth observation and geoinformation*, nº 21, pp. 103-112, 2013.
- [42] C. Jiménez, B. R. Cossío, D. Labella y F. X. Niell, «The Feasibility of industrial production of Spirulina (Arthrospira) in Southern Spain,» *Aquaculture*, nº 217, pp. 179-190, 2003.
- [43] Jhon Wiley & Sons, «Biogas Production from Anaerobic Digestion of Spirulina maxima Algal Biomass,» *Biotechnology and Bioengineering*, vol. XXIV, pp. 1919-1924, 1982.
- [44] Labsphere, «Spectralon® Diffuse Reflectance Standards,» Labsphere, [En línea]. Available: <https://www.labsphere.com/product/spectralon-diffuse-reflectance-standards/>. [Último acceso: 07 06 2022].

- [45] L. L. Y. a. T. Y. W. U. Choe, «The Science behind Microgreens as an Exciting New Food for the 21st Century,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n° 66, pp. 11519-11530, 2018.

APÉNDICE

Código de LabVIEW:

La función principal puede hacerse de manera manual o automática. El modo manual sirve para usuarios experimentados que quieran hacer una función específica. El modo automático realiza el proceso completo desde la asignación del nombre de la muestra hasta el guardado de las imágenes. La Figura A1 muestra el panel frontal terminado.

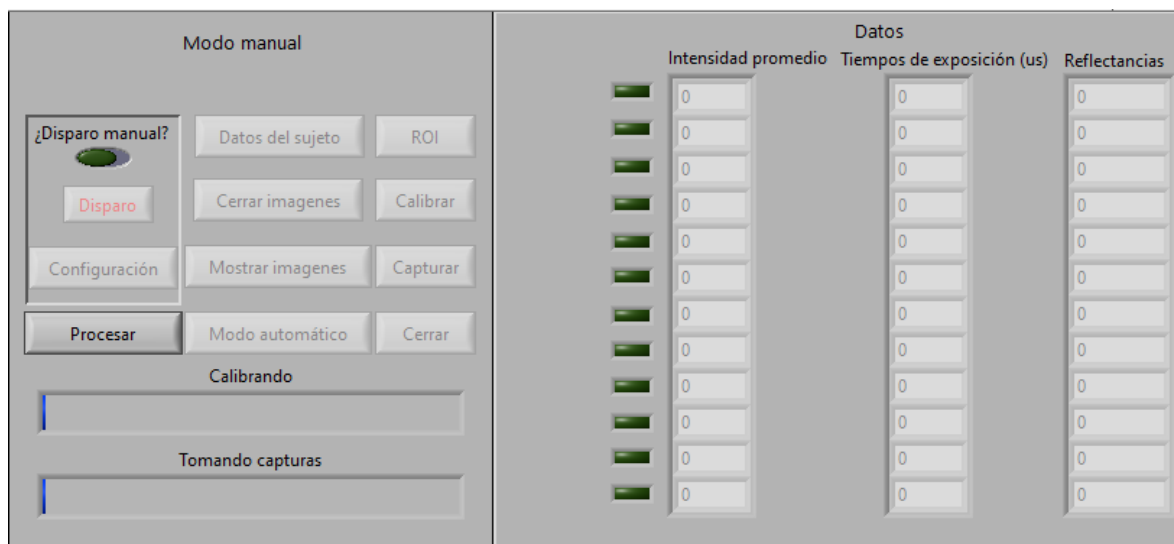


Figura A1. Panel frontal del código de captura.

El diagrama de control del programa se basa en una serie de pasos secuenciales, primero se pregunta el nombre y la fecha de captura de la muestra, después se captura el área de interés (ROI) y se guarda en formato binario para rescatarlo en futuras capturas (Figura A2).

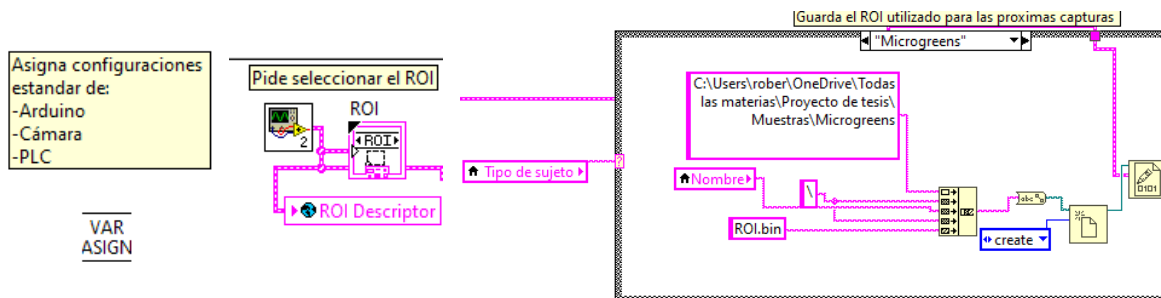


Figura A2. Captura de datos de la muestra y selección del ROI.

Una vez guardado el ROI se le pregunta al usuario si desea calibrar o rescatar los tiempos de exposición previamente calibrados (Figura A3).

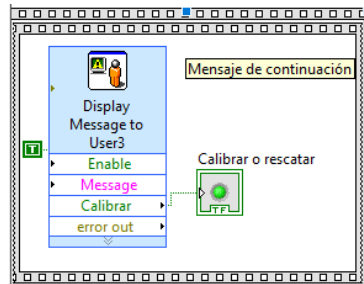


Figura A3. Cuadro de diálogo para la elección de la calibración.

Si se desea calibrar se ejecuta su respectivo código y toma las capturas de calibración, si no, se procede a rescatar los tiempos de exposición para después capturar (Figura A4 a) y b) respectivamente).

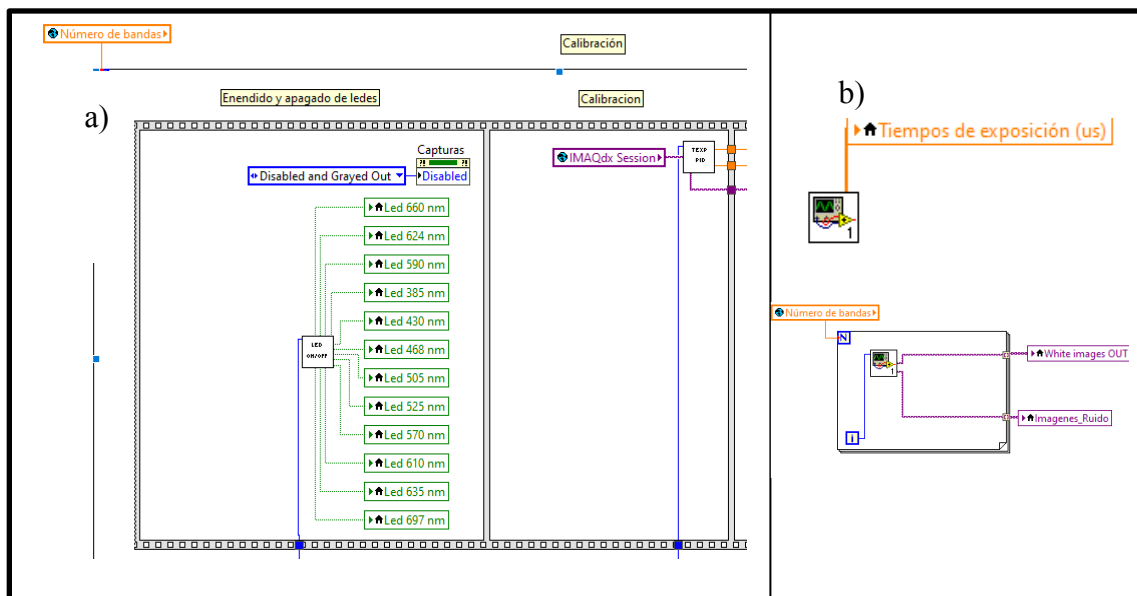


Figura A4. a) Calibración, b) Lectura de tiempos de exposición.

Como las imágenes de calibración servirán de referencia para el cálculo de reflectancias estas se guardaron en el disco duro (Figura A5).

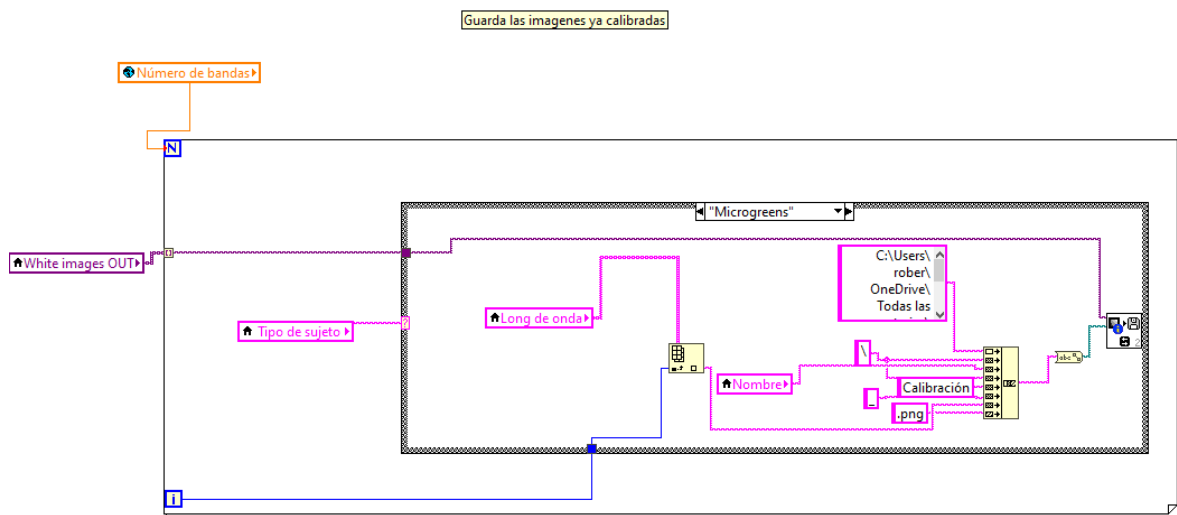


Figura A5. Guardado de imágenes de calibración.

Finalmente se procede a hacer la captura y el guardado de las imágenes, para realizar esta tarea primero es necesario encender una sola banda de led para cada captura, en total se encienden 12 bandas de forma individual y se realiza una captura por cada banda. La captura y guardado de las imágenes se muestra en la Figura A6 y el encendido de los ledes se muestra en la Figura A7.

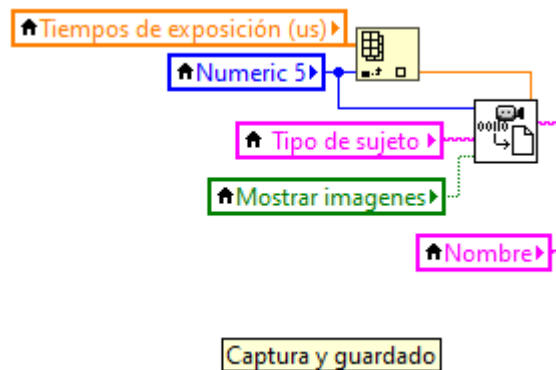


Figura A6. Captura y guardado de las imágenes.

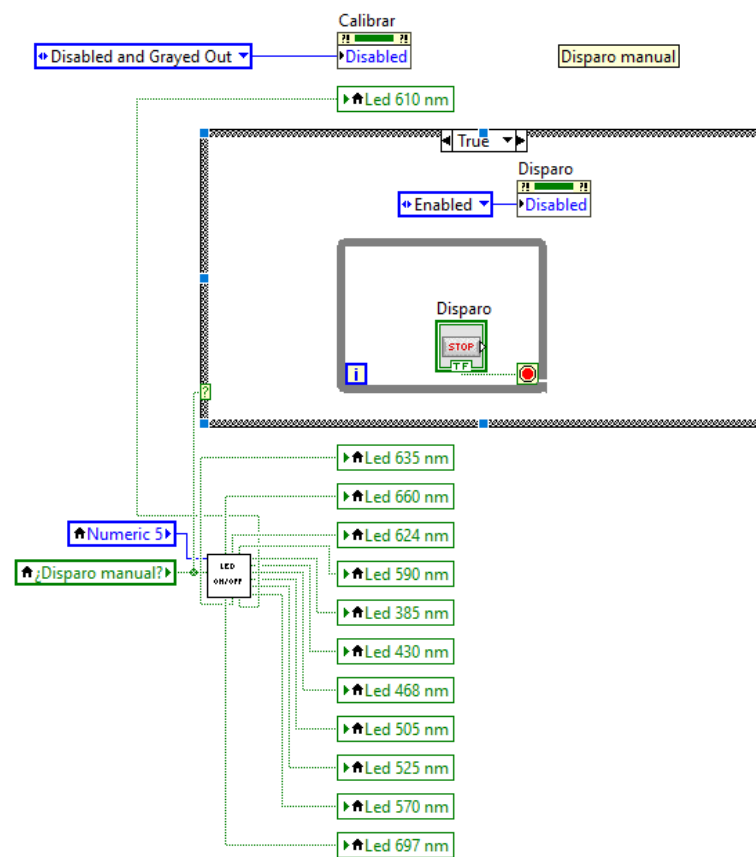


Figura A7. Encendido de ledes.