

**Figura 4.** Gráfico de Medias del tamaño de micelas de las emulsiones

### CONCLUSIÓN

Los niveles óptimos de enriquecimiento fueron encontrados para maximizar DHA.

Cantidades crecientes de DHA fueron encapsuladas y reflejadas en la biomasa, y su presencia junto con astaxantina, depende exclusivamente al aporte dietario.

El desempeño de las emulsiones experimentales en los estanques de enriquecimientos muestran una mayor estabilidad que la emulsión de referencia Selco, pero todas presentan tamaños de partículas adecuadas para su encapsulación.

### AGRADECIMIENTOS.

Proyecto FONDEF-D0911256 y Beca CONICYT 21110024.

## Procesamiento Digital de Imágenes como Herramienta para la Medición de Biomasa en Fermentación en Estado Sólido

### Digital Image Processing as Tool for Measuring Biomass in Solid State Fermentation

Juan C Oviedo<sup>1</sup>, Ana E Casas<sup>1</sup>, Jaime A Valencia<sup>2</sup> y Lucas García<sup>1</sup>, Jose E. Zapata<sup>2</sup>, y Margarita E Ramirez<sup>1</sup>

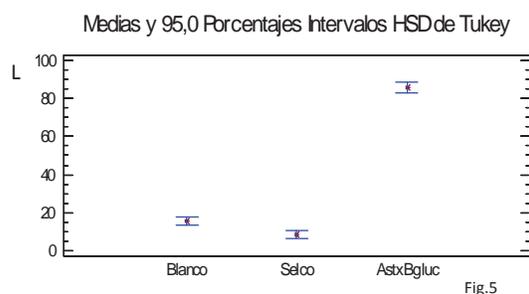
<sup>1</sup> Escuela de Ingenierías, U. Pontificia Bolivariana, Circular 1 No. 70-01 Medellín-Colombia.

<sup>2</sup> Depto Ingeniería Eléctrica y Departamento de alimentos, UdeA calle 67 No. 53 - 108 Medellín-Colombia. juan.oviedo@upb.edu.co

**Resumen.** El objetivo del trabajo fue el procesamiento digital de imágenes (PDI) como herramienta para modelar el crecimiento de la biomasa del *Pleurotus pulmonarius*, empleado tusa de maíz como sustrato a través del modelo logístico. La biomasa se midió por los métodos indirectos de las concentraciones de proteína y ergosterol. El procesamiento de los datos se llevó a cabo correlacionando las áreas y las concentraciones de proteína y ergosterol. Los datos fueron procesados en Matlab. Se obtuvieron  $R^2$  ajustados de 0,963 para la concentración de proteína y 0,936 para la concentración de ergosterol. Los resultados obtenidos, muestran que el PDI es una alternativa para medir y modelar biomasa en fermentación en estado sólido (FES).

**Palabras clave:** Crecimiento logístico, crecimiento microbiano, modelación matemática, *Pleurotus pulmonarius*.

**Abstract.** The objective of this paper was digital image processing (PDI), as a tool for modeling *Pleurotus pulmonarius* biomass growth, used corncob as substrate through the logistic model. Biomass was measured by indirect methods of protein concentrations and ergosterol. The data processing was performed by correlating areas and concentrations of protein and ergosterol. The data were processed in Matlab. There was obtained 0.963  $r^2$  adjusted for protein concentration and the concentration



**Figura 5.** Gráfico de Medias del parámetro L (CIE Lab)

### BIBLIOGRAFIA

- Agh, N and P. Sorgeloos. 2005. Handbook of protocols and guidelines for culture an enrichment of live food for use in larviculture. Artemia and Aquatic Animals Research Center. Urmia University. Urmia. Iran. 60 p.
- Figueiredo, J., van Woesik, R., Lin, J., Narciso, L. 2009. *Artemia franciscana* enrichment model - How to keep them small, rich and alive? Aquaculture 294:212-220.
- Gelabert, R. 2001. Artemia bioencapsulation I. Effect of particle sizes on the filtering behavior of *Artemia franciscana*. Journal of crustacean biology 21 (2), 435- 442.
- Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P. 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. Aquaculture 200, 147-159.

of 0.936 to ergosterol. The results show that the PDI is an alternative for measuring and modeling biomass in solid state fermentation (SSF).

**Key words:** Logistic growth, microbial growth, mathematical modeling, *Pleurotus pulmonarius*

## INTRODUCCIÓN

La fermentación en estado sólido (FES), se define como el crecimiento de microorganismos en un material sólido con ausencia parcial o total de humedad libre (Padey *et al.*, , 2008). La FES, a pesar de tener una de las muchas ventajas, tiene como problema, la cuantificación y/o medición de la biomasa y su respectiva modelación. Existen varios métodos para la medición de la biomasa por FES, como la medición de la producción de glucosamina, el contenido ergosterol, la concentración proteína, cambios en el peso seco o evolución de la producción de CO<sub>2</sub>; sin embargo todos presentan inconvenientes al momento de obtener datos precisos sobre el desarrollo del proceso y la obtención de modelos matemáticos, por la dispersión en el crecimiento de las células sobre el sustrato sólido (Viccini *et al.*, , 2001; Padey *et al.*, , 2008; Rani *et al.*, , 2009). Por lo anterior, se deben buscar técnicas que ayuden a solucionar el problema anterior, por lo que aparece el procesamiento digital de imágenes (PDI), que es una técnica que brinda una alta gama de aplicaciones (Martin, 2013), debido a que permite transformar o describir una imagen en una función matemática; por lo anterior, se presenta como una alternativa para la medición y modelación de la biomasa en FES. El objetivo del trabajo fue el PDI como herramienta para modelar el crecimiento de la biomasa del *Pleurotus pulmonarius*, empleado tusa de maíz como sustrato a través del modelo logístico, usando las correlaciones de las concentraciones de proteína y ergosterol con las áreas de crecimiento (Smiths, 1998) y calculadas a través del PDI en Matlab.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó tusa de maíz obtenida en la Central Mayorista de Antioquia con no más de 8 horas de desgrano, la cual fue desinfectada, molida, secada y almacenada en bolsas resellables, por no más de 30 días. Los factores de crecimiento, para la FES fueron temperatura, humedad y tamaño de partícula, los cuales fueron establecidos en un trabajo anterior. Dichas variables son 25 °C, 80 % y 335 μm respectivamente, además de la formulación completa del medio de cultivo (ACTA, 2010). Cada montaje consta de 10 cajas Petri, las cuales se inocularon con micelio de

*Pleurotus pulmonarius*, inoculado con semilla (spawn) en agar papa dextrosa (APD). Cada tres días a todas las caja de petri se le tomaba una fotografía con una cámara digital de 14 megapixeles a una altura de 12 cm y una resolución 4x wide 27 mm – woxmm, sobre un fondo negro; una de las cajas era llevada para medirle la proteína por el método de Kjeldahl y el ergosterol por el método combinado de Brodie *et al.*, . (2003). Al anterior procedimiento (Ensayos) tanto para la concentración de proteína como para el contenido de ergosterol, se realizaron 3 réplicas. Los datos obtenidos de concentración de proteína y contenido de ergosterol en el tiempo, fueron llevados al CFTOOL de Matlab®.

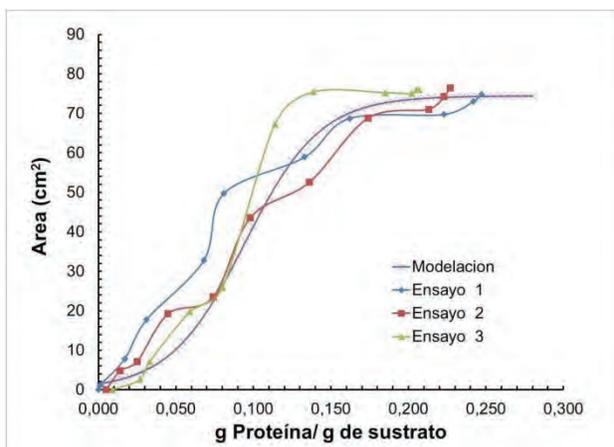
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra las correlaciones de la concentración de proteína y ergosterol contra el área; dicho comportamiento se ajusta a un comportamiento logístico (Peleg *et al.*, , 2007) uno de los comportamientos básicos del crecimiento en FES (Mitchell *et al.*, , 2004).

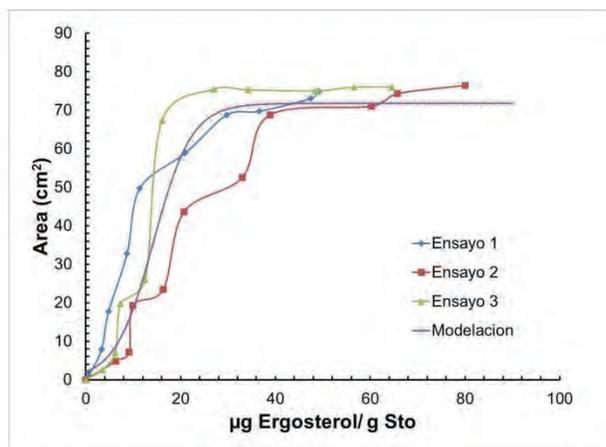
En la Tabla 1 aparecen los R<sup>2</sup> ajustados de cada modelo, además de los demás ajustes estadísticos (SSE y RMSE). Para la concentración de proteína el ajuste fue de 0,963 el cual es alto; el R<sup>2</sup> ajustado para la concentración de ergosterol fue de 0,936 que siendo menor que el de la concentración de proteína, es bueno. De otro lado, aparecen los coeficientes de la ecuación logística β<sub>1</sub>, β<sub>2</sub> y β<sub>3</sub>. Tanto para la concentración de proteína como de ergosterol, el β<sub>1</sub> indica la máxima área de crecimiento que se podría obtener; para el caso de la proteína es de 73,950 cm<sup>2</sup> y

**Tabla 1.** Ajustes del CFTOOL al modelo logístico.

$y = \beta_1 / (1.0 + \beta_2 \exp(-\beta_3 x))$		
Coefficientes	Concentración de Proteína	Concentración de Ergosterol
β <sub>1</sub>	73,950	72,610
β <sub>2</sub>	23,050	14,460
β <sub>3</sub>	38,200	0,181
SSE	1032	1706
r <sup>2</sup>	0,965	0,940
r <sup>2</sup> ajustado	0,963	0,936
RMSE	5,865	7,542



A. Correlación Proteína vs Área



A. Correlación Ergosterol vs Área

Figura 1. Correlación de Biomasa vs Área: A. Concentración de Proteína B. Concentración de Ergosterol

para el ergosterol de 72,610 cm<sup>2</sup>. Los otros parámetros hacen parte del ajuste. De esta forma, midiendo el área, podría hacerse una aproximación de la concentración de proteína y ergosterol.

### CONCLUSIÓN

Se pudieron correlacionar las áreas de crecimiento con las concentraciones de proteína y ergosterol con  $r^2$  ajustado de 0,963 y 0,936 respectivamente; con lo anterior se podría emplear el PDI para la medición de biomasa en FES.

### BIBLIOGRAFÍA

Brodie, E., S. Edwards, N. Clipson, 2003. Soil fungal community structure in a temperate upland grassland soil. *FEMS Microbiol Ecol.* Jul 1; 45(2):105-14.

Martin, M., 2013. Procesamiento digital de imágenes. Primera edición. Puebla. Editorial Universidad autónoma de Puebla. 15 – 20 p.

Mitchell, D., O.F. Von Meien, N. Krieger and F.D.H. Dalsenter, 2004. A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 17(1), 15–26.

Padey, A., C. Soccol, C. Larroche, 2008. *Current Developments in Solid-state Fermentations* (Editors).

Asiatech Publishers, INC (Springer): 3-12.

Peleg, M., M.G. Corradini and M.D. Normand, 2007. The logistic (Verhulst) model for sigmoid microbial growth curves revisited. *Food Research International*, 40(7), 808–818. doi:10.1016/j.foodres.2007.01.012

Rani, R., A. Kumar, C. Soccol, A. Pandey, 2009. Recent advances in solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 44: 13-18.

Smiths, J.P. et. al., 1998. The influence of temperature on kinetics in solid-state fermentation. En: *Enzyme and Microbial Technology*. Turkey. vol. 22; p.50-57.

Viccini, G *et al.*, 2001. Analysis of Growth Kinetic Profiles in Solid-State Fermentation. *Food Technol. Biotechnol.* 39 (4): 271–294