



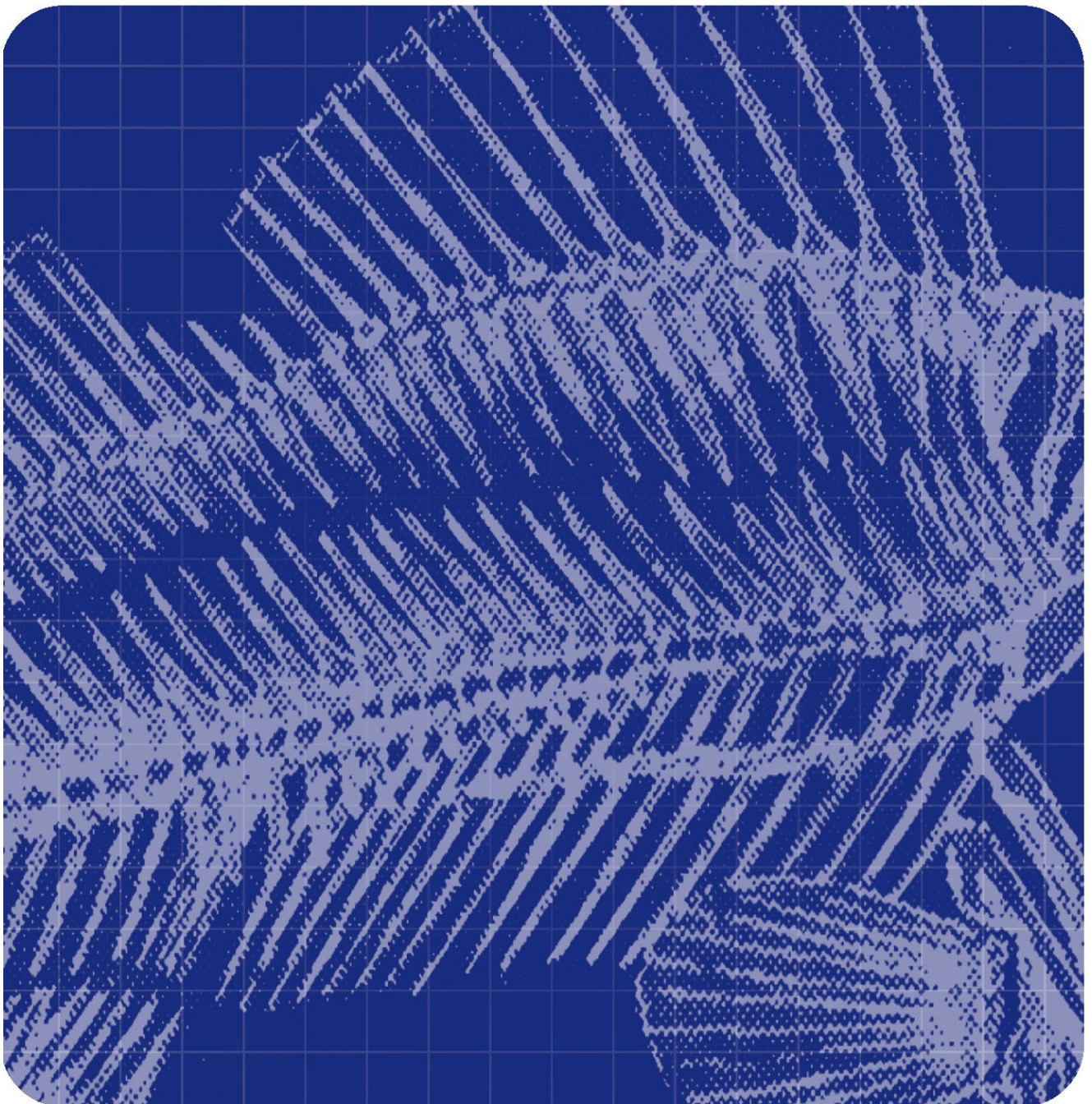
Fiskeriforskning

RAPPORT 7/2001 • Utgitt mai 2001

Deteksjon av kveis i fiskemuskel

Evaluering av avbildene spektroskopi som metode

Karsten Heia og Heidi Nilsen





Norut Gruppen er et konsern for anvendt forskning og utvikling og består av morselskap og seks datterselskaper. Konsernet ble etablert i 1992 – fundamentert på daværende FORUTs fire avdelinger og Fiskeriforskning.

Konsernet består i dag av følgende selskaper:

Fiskeriforskning, Tromsø

Norut IT, Tromsø

Norut Samfunnsforskning, Tromsø

Norut Medisin og Helse, Tromsø

Norut Teknologi, Narvik

Norut NIBR Finnmark, Alta

Konsernet har til sammen vel 240 ansatte.



Fiskeriforskning (Norsk institutt for fiskeri- og havbruksforskning AS) utfører forskning og utvikling for fiskeri- og havbruksnæringen.

Gjennom strategisk næringsrettet forskning og utviklingsarbeid, i samarbeid med næringsaktører og det offentlige, skal Fiskeriforsknings arbeid bidra til utvikling av

- etterspurt sjømat
- aktuelle oppdrettsarter
- bioteknologiske produkter
- teknologiske løsninger
- konkurransedyktige foretak

Fiskeriforskning har ca. 160 ansatte fordelt på Tromsø (110) og Bergen (50).

Fiskeriforskning har velutstyrte laboratorier og forsøksanlegg i Tromsø og Bergen.

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9-13

Postboks 6122

N-9291 Tromsø

Telefon: 77 62 90 00

Telefaks: 77 62 91 00

E-post: post@fiskeriforskning.no

Avdelingskontor Bergen:

Kjerreidviken 16

N-5141 Fyllingsdalen

Telefon: 55 50 12 00

Telefaks: 55 50 12 99

E-post: office@fiskeriforskning.no

Internett: www.fiskeriforskning.no

RAPPORT

Tilgjengelighet:

Åpen

Rapportnr:

7/2001

ISBN-nr:

82-7251-471-0

Tittel:

Deteksjon av kveis i fiskemuskel

Dato:

28. mai 2001

Evaluering av avbildene spektroskopi som metode

Antall sider og bilag:

17 / 1

Forfatter(e):

Karsten Heia og Heidi Nilsen

Forskningsjef:

Knut Sunnanå

Senter:

Industriell foredling

Prosjektnr.:

3478

Oppdragsgiver:

Norges forskningsråd

Oppdragsgivers ref.:

120893/130

3 stikkord:

Spektroskopi, NIR, kveis

Sammendrag: (maks 200 ord)

Kveis i fiskeprodukter er et estetisk problem. For å sikre trygg markedstilgang og å unngå reklamasjoner er det av stor betydning å kunne tilby kveisfrie produkter. For å finne og fjerne parasitter i hvitfisk har det derfor vært satt inn en stor forskningsinnsats nasjonalt og internasjonalt. En rekke ulike teknikker har tidligere vært undersøkt (røntgen, magnetisk resonans, ultralyd m.m.), uten at det har vært mulig å finne en metode som kunne benyttes i industriell sammenheng.

Fiskeriforskning har i et samarbeidsprosjekt med MATFORSK i løpet av de tre siste årene undersøkt avbildene spektroskopi som metode for å detektere kveis i fiskemuskel. Ved bruk av denne teknikken er det mulig både å påvise spektrale (farge/NIR) forskjeller og lokalisere strukturer i et objekt, og metoden kan i så henseende minne om den menneskelige synssansen.

Resultatene viser at avbildene spektroskopi i sammenheng med multivariate analyseteknikker kan benyttes for å påvise kveis både på overflaten av- og inne i fiskemuskel. Dette er en nyvinning i forhold andre teknikker som enten har begrensninger på funksjonalitet/effekt, eller er urealistiske med hensyn til pris/kapasitet. Målingene med avbildene spektroskopi er meget lovende med tanke på framtidig industrialisering av metoden; teknikken vil kunne oppfylle kommersielle krav til hastighet og også være konkurransedyktig med hensyn til pris. Det må imidlertid understrekes at det gjenstår mye arbeid for å verifisere resultatene på ulike typer råstoff. Dette er et arbeide som er nødvendig for å kunne benytte metoden i industriell sammenheng.

Prosjektsamarbeidet Fiskeriforskning/MATFORSK har fungert meget tilfredsstillende. Begge instituttene har bred erfaring med spektroskopiske teknikker anvendt i næringsmiddelindustrien, og analyser basert på multivariate teknikker og bildebehandling.

INNHold

1	INNLEDNING.....	1
2	MÅL.....	2
3	TEORI OG METODE	3
	3.1 Instrumentering	3
	3.2 Analyse.....	4
	3.3 Gjennomføring av forsøk	4
4	RESULTATER OG DISKUSJON	6
	4.1 Spektrale signaturer	7
	4.2 Eksempler på bilder generert av SpexTube IV	8
	4.2.1 Sekvens 1, svarthinne.....	10
	4.2.2 Sekvens 2, overflatekveis.....	11
	4.2.3 Sekvens 3, kveis 2 mm inni fiskemuskel.....	12
5	KONKLUSJON OG VIDERE ARBEID.....	16
6	REFERANSER.....	17

VEDLEGG: RAPPORT FRA MATFORSK

1 INNLEDNING

Forekomst av parasitter/kveis i muskelen på hvitfisk er relativt vanlig, men i industrielt bearbeidet råstoff forutsettes det at parasitter skal detekteres og fjernes. Dette betyr at de færreste forbrukere stifter bekjentskap med kveis, men i de enkelttilfeller der det skjer, fører det ofte til negative reaksjoner som avsky, usikkerhet og avvisning av matproduktet. I Norge hvor fiskemat vanligvis framstilles ved koking/steking vil forekomst av kveis ikke være forbundet med noen helserisiko; de høye temperaturene tar livet av eventuelle parasitter. Problemet er i så måte først og fremst av estetisk karakter. Det at forbrukerne i så liten grad er bevisst dette, er imidlertid problematisk. Negativ fokusering på problematikken omkring parasitter i fisk kan føre til at fiskemat i mindre grad benyttes i kostholdet - med de negative konsekvenser det medfører. Det er derfor viktig å komme fram til en god metode for å påvise og fjerne kveis i fiskeråstoff som skal brukes til menneskeføde.

Parasitter i hvitfisk er et problem som har vært knyttet til forekomst av sel. Både fisk og sel fungerer som vertsorganisme for parasittene, og det er registrert en høy grad av kveisinfisert fisk i kystområder hvor det er mye sel. Dette betyr at fiskeindustribedrifter som kjøper fisk fra slike områder, har store problemer knyttet til råstoffet. I den seinere tid har industrien også uttrykt bekymring over at fisk fra de store fiskebankene er infisert med kveis, og dette vanskeliggjør produksjonen med hensyn til kvalitet og verdiskapning. I denne sammenheng blir det fra industrien sterkt understreket viktigheten av å utvikle metoder for kontroll og etterprøving av kvalitet med hensyn på forekomst av kveis. I ei næring hvor det allerede er små marginer mellom gevinst og tap er kvaliteten på råstoffet en faktor som i stor grad påvirker produksjonen og dermed det økonomiske utbyttet.

Problemstillingen med å kunne påvise kveis i fiskefilet har vært diskutert og forsøkt løst siden midten av 1900-tallet (Hafsteinsson and Rizvi, 1985). En rekke forskningsinstitutter og andre miljøer har testet og vurdert ulike teknikker og måleprinsipp, uten at det har vært mulig å finne en metode med tilsvarende kvalitet og effektivitet som manuell kveisfjerning. Det menneskelige øye identifiserer parasitter både på grunn av farge, form og lokalisering i fiskemuskel, og kan samtidig skille kveisen fra muskelstrukturer, blodflekker og annet vev. Dette innebærer en høy grad av kompleksitet som har vist seg vanskelig å erstatte med en instrumentell metode.

Av nyere tids forsøk kan nevnes Jenks *et al.* (1996) som har benyttet en deteksjonsmetode basert på magnetometri, det kanadiske firmaet *CRIQUE* som på begynnelsen av 1990-tallet arbeidet med bruk av ultralyd for å detektere kveis, og *Lumetech* i Danmark som i samme tidsrom arbeidet med en løsning basert på fluorescens. Disse teknikkene ble imidlertid ikke utviklet til kommersielt tilgjengelige og anvendelige metoder. Status i industrien er dermed at parasitter detekteres og fjernes manuelt - en oppgave som både er ensidig, tidkrevende og dermed også kostnadskrevende. I tillegg til disse ulempene er det ikke mulig manuelt å registrere kveis som ligger mer enn ca. 0,5 cm ned i fileten. Dette skyldes fiskemuskelens optiske egenskaper som er karakterisert ved stor spredning av lys i det synlige bølglengdeområdet.

Fiskeriforskning har gjennom de siste 15 år arbeidet med ulike problemstillinger knyttet til forekomst av parasitter (Brataas, 1988; Svenning et al., 1995; Krane, 1995). I perioden 1995-1997 gjennomførte instituttet et prosjekt finansiert av Norges forskningsråd hvor målet var å finne en egnet metode for påvisning av kveis i fiskemuskel (Heia et al., 1997). I dette

prosjektet ble metoder som røntgen, magnetisk resonans (MR), computer tomografi (CT) og ulike optiske metoder undersøkt. For flere av disse metodene var det mulig å påvise kveis, men med tanke på industriell anvendelse er CT og MR uegnet. Konklusjonen fra arbeidet var at det skulle satses videre på kveisdeteksjon basert på synlig og nær infrarødt lys. Dette er videreført i et samarbeide med MATFORSK hvor fokus har vært på *avbildene spektroskopi*.

Avbildene spektroskopi i det synlige og nær infrarøde området i sammenheng med multivariate analyseteknikker kan til en viss grad sammenlignes med metoden som benyttes ved manuell deteksjon. Ved bruk av spektroskopi er det mulig å registrere fargeforskjeller, avbildningen dokumenterer form og plassering og multivariat analyse kan sees på som en analog til menneskelig gjenkjennelse og tolkning av data. I så henseende har teknologiutviklingen gått i retning av et system som etterligner manuell deteksjon.

I det følgende beskrives arbeidet som er utført på Fiskeriforskning i løpet av prosjektperioden; utvikling av instrumentering, gjennomføring av forsøk og diskusjon av resultater. Arbeidet som er utført ved MATFORSK er dokumentert i rapportvedlegg 1. Konklusjoner og anbefalinger om videre prosjektoppfølgning er basert på arbeidet som er gjennomført ved begge instituttene.

2 MÅL

Hovedmålet med prosjektet var å komme fram til en optisk metode for deteksjon av kveis i fiskemuskel som enkelt kunne tas i bruk. Dette inkluderte følgende delmål:

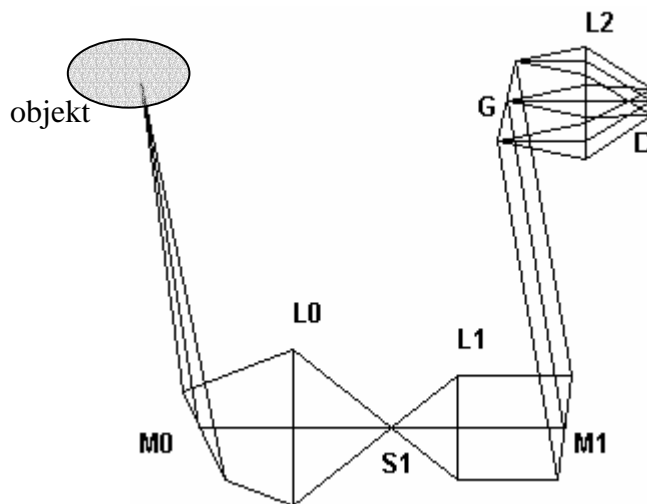
- Kartlegging av den spektrale signaturen til hver enkelt komponent: fiskekjøtt, fiskeskinn, bein, blod, svarthinne, vann og kveis.
- Bestemme lyspropagering i fiskekjøtt når en eller flere av de følgende komponentene er tilstede: fiskeskinn, bein, blod, svarthinne, vann, kveis.
- Utvikle algoritmer for identifisering av kveis i fiskekjøtt basert på spektralt bilde.
- Prototypeutvikling. Basert på de optiske egenskapene bestemt i punkt 1 og 2; velg ut egnet materiale i transportband og egnet kilde og detektor.

3 TEORI OG METODE

Dette prosjektet ble startet på bakgrunn av arbeid utført på Fiskeriforskning som viste at nær infrarød (NIR) spektroskopi kunne være en mulig innfallsvinkel for å komme frem til en metode for deteksjon av kveis (Heia *et al.*, 1997). Tradisjonell spektroskopi gir et spekter som representerer den midlere egenskapen til prøven. Da kveisen representerer en veldig liten del av prøven vil ikke tradisjonell spektroskopi kunne benyttes direkte. Den innfallsvinkelen som ble valgt kalles avbildene spektroskopi og kjennetegnes at hver punkt på prøven representeres med et fullstendig spekter (Sigernes *et al.*, 2000). Dette er et relativt nytt felt som kombinerer spektral sensitivitet med romlig plassering. Derfor er det mulig å gjøre bruk av erfaringer opparbeidet innen for to fagfelt, kjemometri og bildeanalyse, i analysen av de genererte datasettene (Wold *et al.*, 2001).

3.1 Instrumentering

MATFORSK og Fiskeriforskning har to ulike typer instrumentering som har det til felles at de genererer multispektrale bilder; dvs et sett av bilder generert ved ulike bølgelengder. For en nærmere beskrivelse av MATFORSK sin instrumentering se vedlegg 1. Hovedforskjellen ligger i måten bildene bygges opp. MATFORSK sitt utstyr baser seg på bruk av filtre til å velge ut de ønskede spektrale områdene. Hver eksponering gir et bilde av objektet for et spesielt bølgelengdeområde.



Figur 1. Prinsippskisse av virkemåten til SpexTube IV. M0 frontspeil, L0 frontlinse, S1 inngangsspalte, L1 samlelinse, M1 speil, G reflekterende gitter, L2 kameralinse og D CCD-detektor.

Med Fiskeriforskning sin instrumentering (SpexTube IV) gir hver eksponering full spektral informasjon om en stripe på objektet. En prinsipiell beskrivelse av denne type instrumentering og virkemåte er gitt i Sigernes *et al.*, (2000). I figur 1 er virkemåten til SpexTube IV illustrert. I hovedtrekk er instrumentet bygd opp med en spalte (S1) etter frontoptikken (L0) slik at synsfeltet begrenses til en smal stripe. Hvor stripen er lokalisert på prøven bestemmes av speilet (M0) som står i forkant av frontoptikken. Gjennom å rotere dette speilet kan hele objektet avbildes. Etter at lyset har passert spalten blir det via et fast speil (M1) inni instrumentet sendt inn på et roterbart reflekterende gitter (G). Det reflekterende gitteret spalter lyset opp i et spektrum slik at det lyset som fokuseres (L2) inn på den 2 dimensjonale CCD-

detektoren (D) har 2 dimensjoner (posisjon i spalte og bølgelengde). Hvilket bølgelendeområde som avbildes bestemmes av vinkelen til gitteret, og kan dermed bestemmes gjennom å rotere gitteret. Slik instrumentet virker i dag dekket et relativt lite spektralt område for hver eksponering (ca 50 nm). Dette betyr at den spektrale oppløsning er høy, faktisk høyere enn det som er nødvendig. En konsekvens av dette er at avbildningen med dagens instrumentering tar relativt lang tid, men dette er en begrensning som kan forbedres ved framtidig instrumentutvikling.

3.2 Analyse

En av de viktige nyvinningene ved avbildene spektroskopi er at hvert punkt i objektet avbildes med spektral informasjon. Dette er ulikt tradisjonell spektroskopi hvor den spektrale informasjonen representerer et gjennomsnitt fra hele objektet. Når dataene fra den avbildende teknikken skal analyseres, er det derfor naturlig å bruke både spektral og romlig informasjon.

Ved å folde ut bildene og kun se på de individuelle spektrene kan vi anvende multivariate teknikker i analysen på samme måte som vi gjør i tradisjonell spektroskopi. De teknikkene som ble prøvd ut var prinsipal komponent analyse (PCA), partial least square (PLS), SIMCA klassifisering og fuzzy clustering. PLS, SIMCA og fuzzy clustering ble spesielt prøvd ut ved MATFORSK (Wold et al., 2001) og en nærmere beskrivelse av disse metodene og resultater av analysen kan finnes i vedlegg 1. PCA analysen består i å se på hvert spekter som et punkt i et N-dimensjonalt rom. Det som skjer gjennom en PCA analyse er å forskyve koordinatsystemet slik at senteret i koordinatsystemet tilsvarer middelveidien til datasettet. Dvs.:

$$\mathbf{x}' = \mathbf{x} - E[\mathbf{x}] \quad (1)$$

hvor \mathbf{x} er en vektor tilsvarende et punkt på prøven, $E[\mathbf{x}]$ er en vektor som består av middelveidene tilsvarende hver bølgelengde, og \mathbf{x}' er den translaterede vektoren. Deretter roteres det N-dimensjonale rommet slik at mest mulig av variasjonen i datasettet er langs første akse, også kalt første prinsipalkomponent, (PC1), nest mest langs andre akse (PC2), osv. Etter at disse to operasjonene er utført kan de nye vektorene settes tilbake i sine posisjoner i bildet, og prinsipal komponent bildene kan studeres. For å få frem eventuelle karakteristiske egenskaper til de ulike komponentene som er i bildet kan tersking i de ulike PCA bildene utføres, eller områder i klusterplott mellom to ulike prinsipal komponenter merkes og avbildes tilbake i bildet.

Hittil er kun metoder som går direkte på spektrene beskrevet. For å få maksimalt ut av bildeinformasjonen kan rene bildebehandlingsmetoder anvendes for å få styrket deteksjonen og ikke minst fjerne falske deteksjoner ut fra størrelse og form. Dette vil være basert på teknikker som refereres til som morfologiske filtre.

3.3 Gjennomføring av forsøk

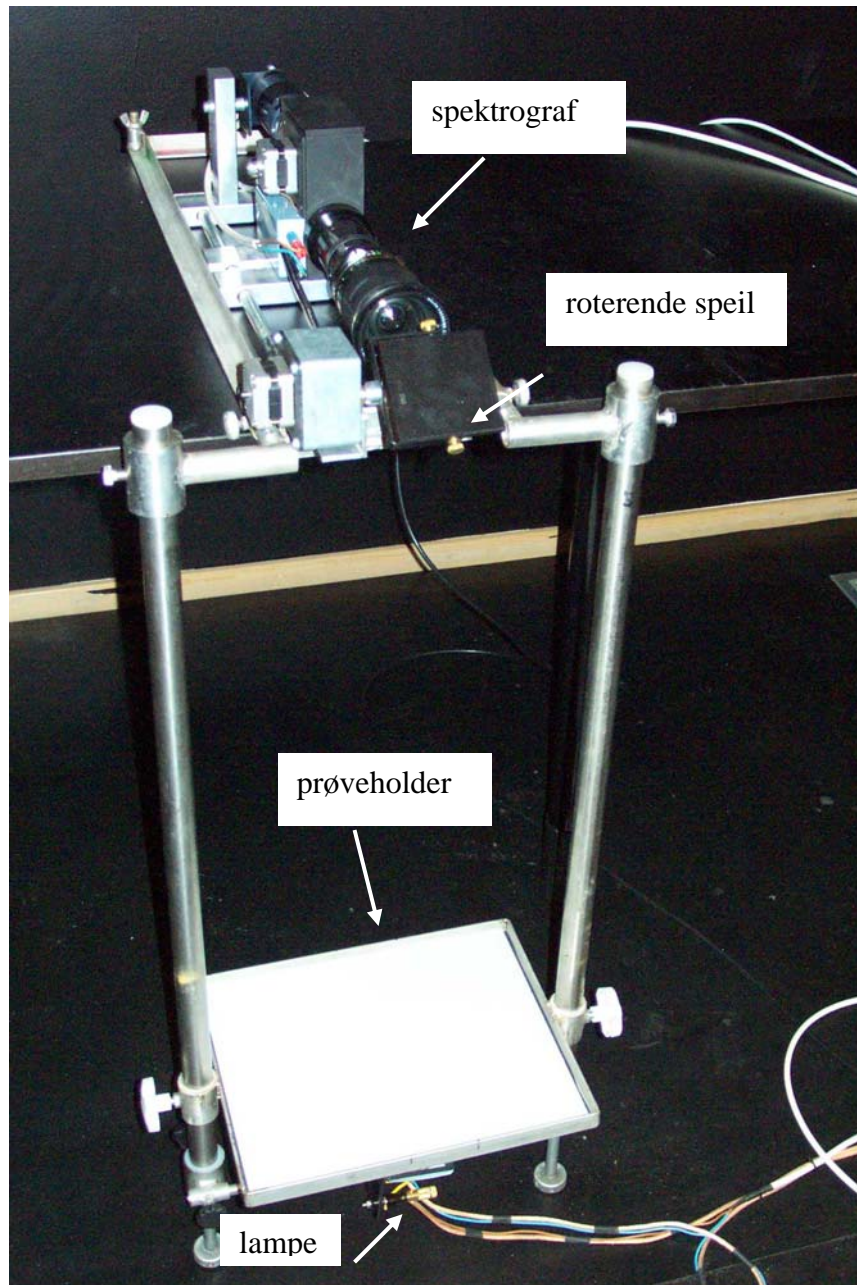
Måleoppsettet for avbildene spektroskopi er vist i figur 2. Fileten plasseres på en hvit glassplate lokalisert 7 cm over lyskilden, en tungstenlampe. Lampen sender ut lys i bølgelengdeområdet 300 til 1200 nm. Speil og spektrograf er plassert ca. 60 cm over fileten

slik at det fokuserte måleområdet som skannes har en størrelse på 5 x 5 cm. Lyset som transmitteres gjennom fileten reflekteres i speilet og registreres i instrumentet.

Det er gjennomført forsøk med fersk og tint torskefilet. Målinger er utført både på loin- og spordstykker, og variasjonen i tykkelsen på stykkene er fra en til tre cm. Det ble utført målinger på fileten med forekomst av kveis, bein, blodflekker og svarthinne.

4 RESULTATER OG DISKUSJON

Det første året ble i hovedsak benyttet til forbedringer av instrumenteringen for å få best mulig bilder av fileter med kveis. Hovedproblemene som måtte løses var blant annet problemet med å få god fokusering på alle bølgelengdene simultant. Dette kunne løses på to måter; (1) ved å godta et begrenset spektralt område ved hver eksponering eller (2) ved å bytte ut linsene som ble brukt. Det vi endte opp med var å bruke et lite spektralt område i hver eksponering. I ettertid er konklusjonen at ny optikk hadde vært bedre med tanke på hastigheten til systemet, men at ellers var det ingen store konsekvenser med det valget som ble tatt. I denne perioden ble det også jobbet med utvikling av programvare for håndtering/analysering av bildene som skulle genereres.



Figur 2. Måleoppsett med lampe, prøveholder (glassplate) og instrument. Foto: Frank Gregersen, Fiskeriforskning.

I løpet av de to siste årene ble det generert bilder av fileter med kveis, bein, blodflekker, svarthinne og skinnrester. Hovedfokus har vært satt på å undersøke hvordan kveis i ulike posisjoner i fileten endret de spektrale signaturene. Dette er viktig med tanke på at den algoritmen vi til slutt skulle anbefale skulle finne alle kveis uavhengig av hvor den var lokalisert, og hvilken farge den hadde. Dette arbeidet foregikk parallelt på begge instituttene.

4.1 Spektrale signaturer

Fra de genererte bildesekvensene er det mulig å hente ut spektrale signaturer fra ulike områder på fileten. Dermed kan signaturer fra områder med kveis sammenlignes med signaturer fra andre områder som kun består av fiskekjøtt eller områder med blod osv. Det er viktig å poengtere at når det refereres til kveissignatur menes ikke den rene signaturen, men signatur til fiskekjøtt med kveis. I figur 3 vises signaturen til kveis, fiskemuskel og svarthinne. De signaturene som er vist her er hentet fra to ulike prøver hvor tykkelsen og posisjonen på fileten var forskjellig. Prøvene er nummerert T7 og T8.

Da vi valgte å prioritere mange prøver i stedet for fullstendige profiler viser vi her ikke den fullstendige signaturen, men tre utvalgte deler. Disse dekker områdene 502-556 nm, 675-721 nm og 913-946 nm. Dette gir ikke et fullstendig bilde av signaturene, men dekker områder som er vesentlige for deteksjon av nematoder. Det at tykkelsen er varierende på filetene, kan tydelig sees fra signaturene vist i figur 3. Når signaturene skal leses ut fra figuren kan det være forvirrende at to prøver er lagt inn i samme figur, men det er viktig å få frem hvordan tykkelse og posisjon i fileten påvirker signaturene.

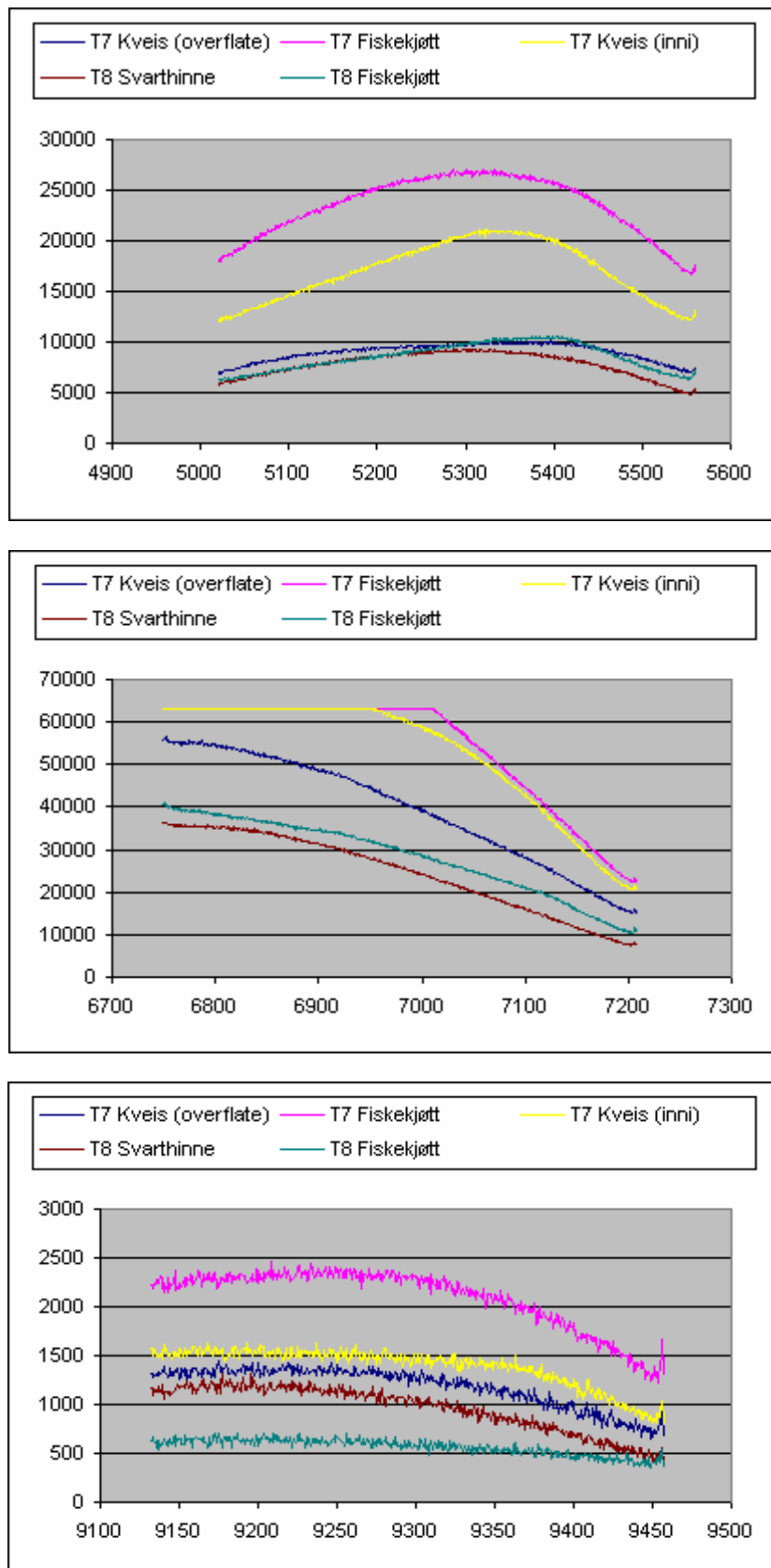
Ved kun å betrakte signaturer hentet ut fra prøve T7 (kveis inni og oppå filet, og fiskemuskel) fremkommer følgende: (1) I bølgelengdeområde 502-556 nm har rein fiskemuskel lavest absorpsjon, fulgt av kveis inni muskel, mens signaturen til kveis oppå fileten har høyest absorpsjon (laveste tellingene). (2) Det samme er tilfelle i det midterste bølgelengdeområdet, men forskjellen mellom signaturen til kveis inni fileten og den til rein fiskemuskel er ikke så stor som i det nedre bølgelengdeområdet. Uheldigvis var valg av integreringstid ikke optimalt i denne testen slik at detektoren gikk i metning i to av signaturene, men hovedtendensen er fortsatt tydelig. (3) I det nær infrarøde området (913-946 nm) oppfører signaturene seg mer som tilfellet var i det første bølgelengdeområdet, relativ stor forskjell mellom reint fiskekjøtt og fiskekjøtt med kveis oppå eller inni.

Sammenlignes formen på signaturene fra ulike typer vev er det kun små forskjeller å se. Ved bruk av multivariate teknikker er nivåforskjellen og den spektrale karakteristikken imidlertid tilstrekkelige til å skille kveis fra fiskekjøtt.

I prøve T8 er forskjellene mellom fiskekjøtt og svarthinne illustrert i figur 3. Nivået på de ulike signaturene er ikke så forskjellig, men formen er litt avvikende. Det som kanskje er mest interessant å registrere er at nivåene er veldig avhengige av tykkelsen på prøvene som er undersøkt. Dette er, som også nevnt i vedlegg 1, en viktig ting å ta hensyn når den endelige løsningen skal finnes. Det er viktig å påpeke at dette er en utfordring, ikke et nederlag, for metoden.

4.2 Eksempler på bilder generert av SpexTube IV

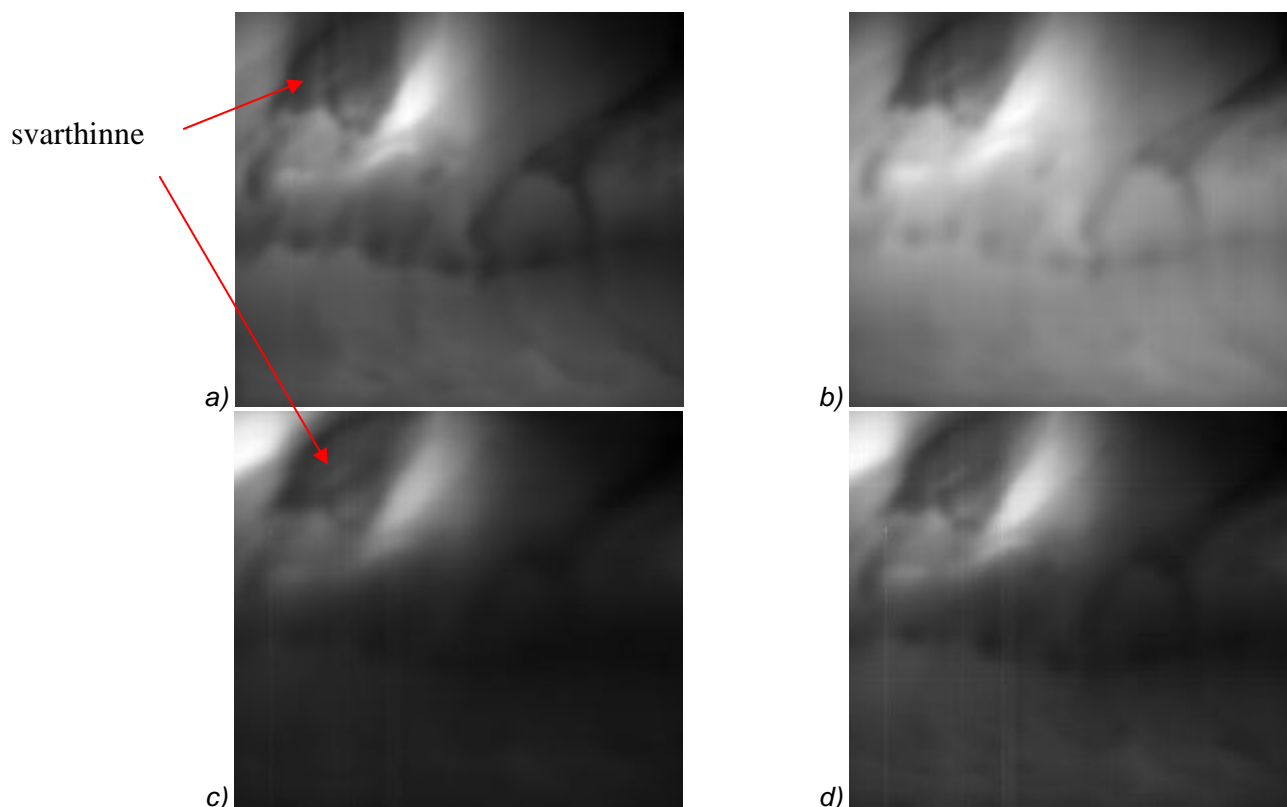
Blant de bildesekvensene som er generert vil tre av disse vises her. Disse vil gi et bilde av de resultatene som er oppnådd med tanke deteksjon av svarthinne og kveis.



Figur 3. Spektral signatur til kveis (på filetoverflate og inni), fiskekjøtt med ulik tykkelse og svarthinne. De tre delfigurene representerer tre ulike bølgelengdeområder som angitt på x-aksen i Ångstrøm ($10 \text{ \AA} = 1 \text{ nm}$). På y-aksen er benevnelsen tellinger på CCD.

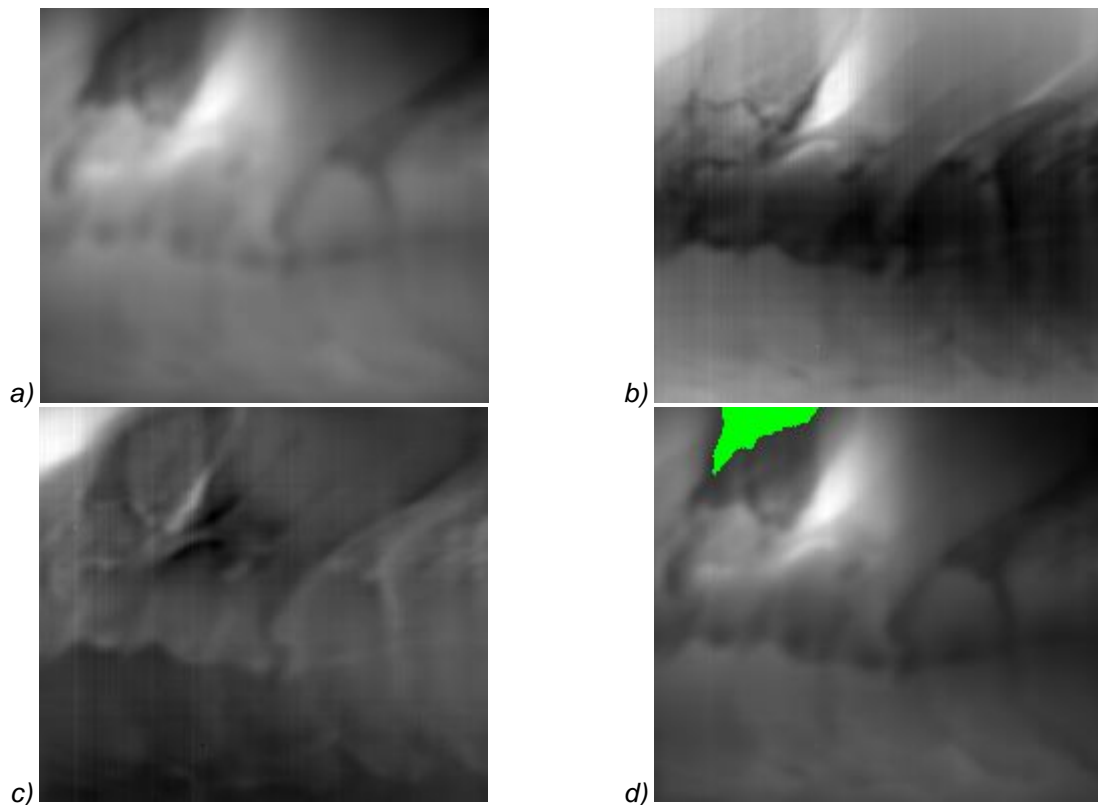
4.2.1 Sekvens 1, svarthinne

Svarthinne er som navnet sier en tynn svart hinne lokalisert i buken på fisken. Denne skal fjernes i reinskjæringsprosessen, men det hender at rester blir sittende igjen. For det menneskelige øye er den lett å identifisere; svart gjennomskinnelig på den hvite fiskemuskel. Det var derfor forventet at instrumentell optisk deteksjon burde være relativt enkelt og kun kreve bruk av synlig lys. For å få dette inn i en deteksjonsrutine for kveis er det interessant å prøve ut metodikken med tilsvarende bølgelengder som tenkt brukt for kveisdeteksjon. I det følgende eksemplet benyttes derfor både synlig og nær infrarødt lys. De fire bildene som analysen baserer seg på, er vist i figur 4. Svarthinnen er lokalisert i øvre venstre del av bildene.

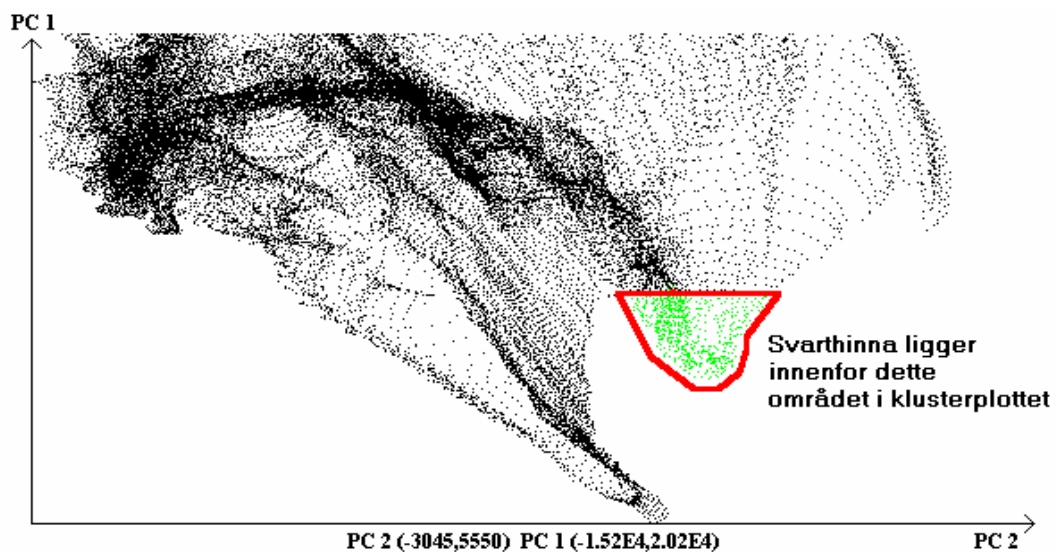


Figur 4. Fire bilder av filet med svarthinne i øvre venstre del av bilde. Bildene er tatt ved følgende bølgelengder og båndpass: a) (548/14 nm), b) (714/12 nm), c) (915/6 nm) og d) (941/8 nm).

De originale bildene i figur 4 viser at svarthinna ikke umiddelbart skiller seg fra muskelstrukturer og bindevev. Fra disse bildene er det vanskelig å se for seg hvordan svarthinna direkte skal kunne påvises ut fra bildene. Etter en PCA analyse blir det ikke så mye klarere, se figur 5 a, b og c. Det er vanskelig å direkte se fra disse PCA bildene hvordan svarthinna kan separeres fra fiskekjøttet. Da det ikke var mulig å hente ut nødvendig informasjon direkte fra bildene, var neste steg å undersøke om pikslene i bildet tilsvarende svarthinne grupperte seg i noen av klusterplottene. I bildet vist i figur 5 d er svarthinna markert med grønt, og i figur 6 vises det hvor i klusterplottet mellom PC 1 og 2 dette området plasserer seg.



Figur 5. PCA analyse basert på de fire bildene vist i figur 4. Bilde a), b) og c) er henholdsvis PCA bilde 1, 2 og 3, mens d) er originalbilde med markert svarthinne



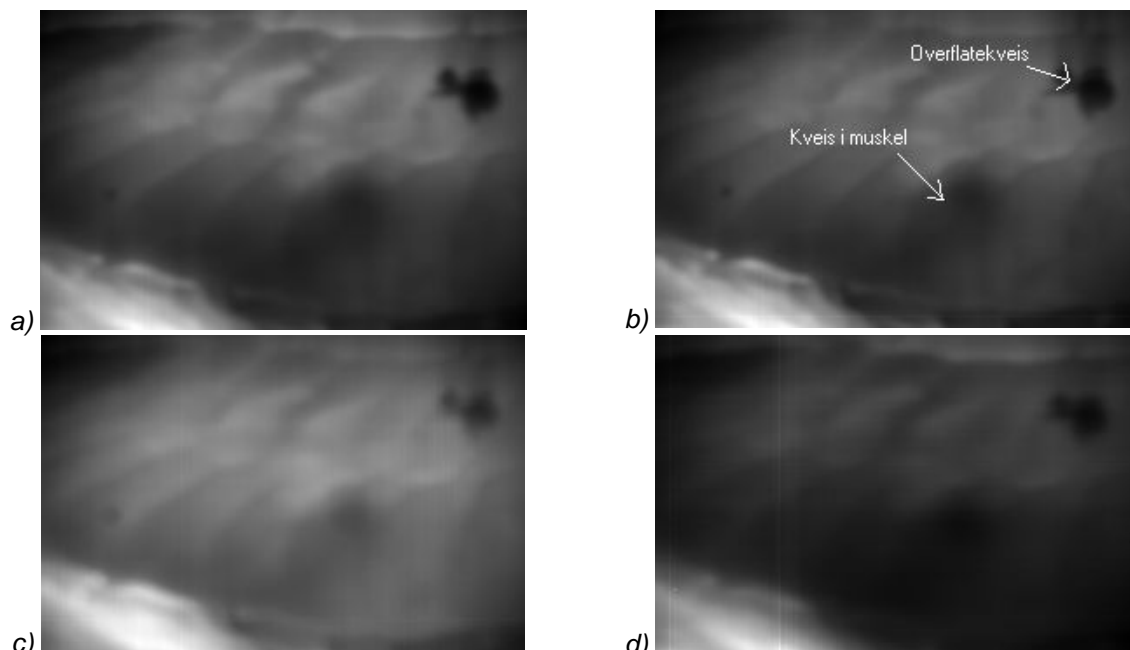
Figur 6. Klusterplott basert på prinsipalkomponent 1 og 2 fra analysen vist i figur 5. Det markerte området i klusterplottet tilsvarer svarthinna slik den er markert i figur 5.

Som det fremkommer av figur 6 er det et klart definert område i klusterplottet som er direkte relatert til svarthinne. Det er viktig å huske på at dette er et resultat som baserer seg på bølgelender som ikke er spesielt valgt med tanke på svarthinne, men mer med tanke på kveis.

4.2.2 Sekvens 2, overflatekveis

Blant de første bildesekvensene som ble generert/analysert var denne med en kveis i overflaten og en som ligger litt under overflaten. Begge parasittene hadde en brunrød farge.

Den delen av fileten som er avbildet er tykkfisken hvor tykkelsen var ca 2 cm. I figur 7 vises 4 av de 5 bildene som ble brukt i analysen. Båndbredden i bildene varierer mellom 10 og 14 nm, og bildene representerer grønn lys (507 og 549 nm) rett over rødt lys (715 nm) i tillegg til to bilder i NIR området (918 og 940 nm). Bildet som representerer 940 nm er ikke vist.



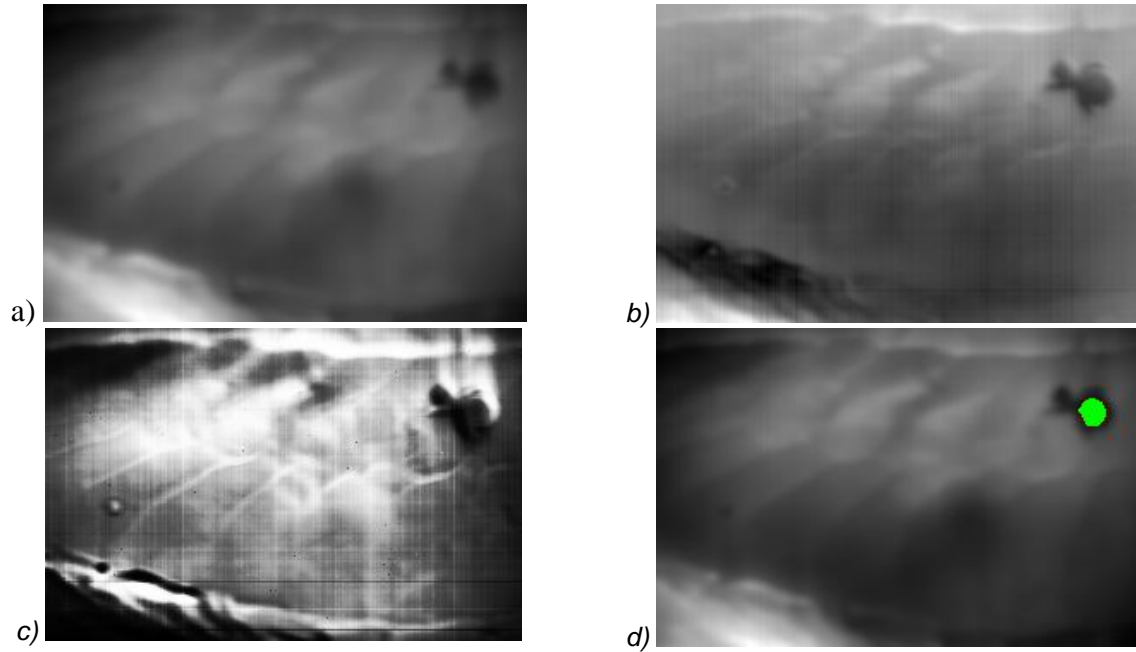
Figur 7. 4 bilder av tykkfisk med 2 kveis, en i overflata og en 2 mm ned i fiskekjøttet. Bildene er tatt ved følgende bølgelengder og båndpass: a) (507/10 nm), b) (549/14 nm), c) (715/12 nm) og d) (918/10 nm).

Det er mulig å se de to kveisene som skygger i flere av bildene. De er markert i bildet tatt ved 549 nm. Ut fra bildene kan man se at fokuset ikke er optimalt, med tilfredsstillende. Det at kveisen vises i originalbildet kan tyde på at det skulle være enkelt å hente disse ut fra et av bildene direkte. Forsøk med terskling viser at dette ikke er enkelt, og resultater fra andre bilder underbygger at det ikke er mulig å benytte originalbildene direkte i analysen.

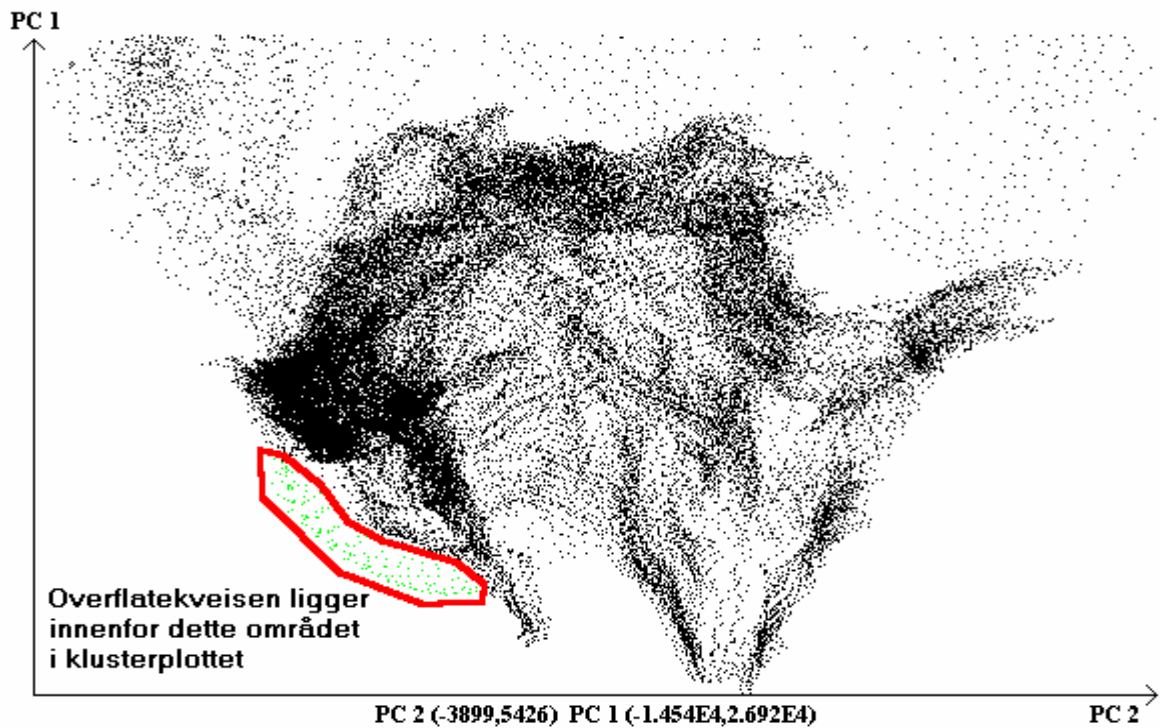
Ved å utføre en PCA analyse med de fem bildene vist i figur 7 som utgangspunkt kan det genereres inntil 5 prinsippal komponent bilder. Da variansen i bildet avtar med økende PC nummer vil de siste prinsippal komponent bildene i hovedsak representere støy. I figur 8 er de tre første PCA bildene vist og i tillegg er et fjerde bilde tatt med hvor overflatekveisen er markert. PCA bilde 1 representerer et gjennomsnitt av alle bildene som inngikk i PCA analysen. Overflatekveisen er synlig i alle PCA bildene, mens kveisen inni muskelen kun er godt synlig i første PCA bilde. Den overflatekveisen som er markert i figur 8 kan også finnes igjen i klusterplottet basert på første og andre PC. Dette vises i figur 9. I dette første bildesettet klarte vi ikke å lokalisere kveisen som lå inni fileten.

4.2.3 Sekvens 3, kveis 2 mm inni fiskemuskel

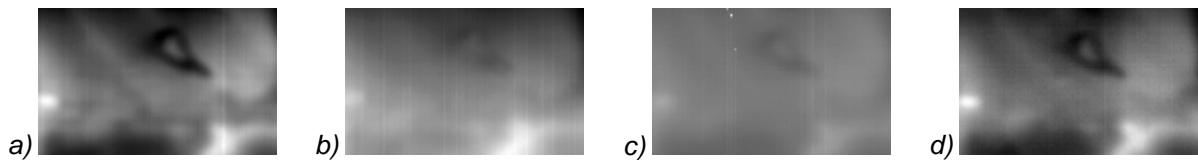
Når kveisen ligger et lite stykke inni fileten, er det fortsatt mulig å se den som en skygge i bildene. I figur 10 vises fire bilder av en lys kveis lokalisert 2 mm ned i fileten. I alle de fire bildene som her er vist fremkommer den som en skygge av varierende styrke. Da dette er et spordestykke er tykkelsen ikke så stor som i det forrige eksemplet. At denne kveisen kommer så godt frem er oppløftende tatt i betraktning at den ikke hadde den rødbrune fargen som var tilfelle i sekvens 2.



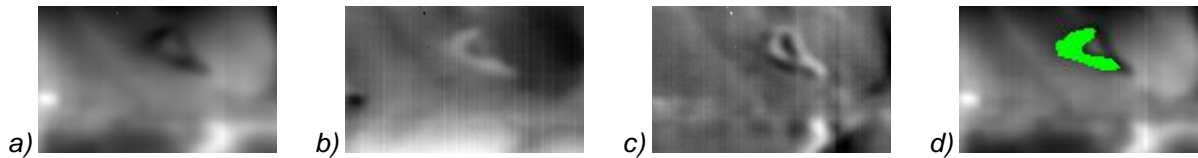
Figur 8. PCA analyse basert på de fem bildene vist i figur 7. Bilde a), b) og c) er henholdsvis PCA bilde 1, 2 og 3, mens d) er originalbilde med markert kveis. PCA bilde nummer 3 er histogramutjevnet for å få frem noe kontrast, mens PCA bilde 2 er strukket i intensitet.



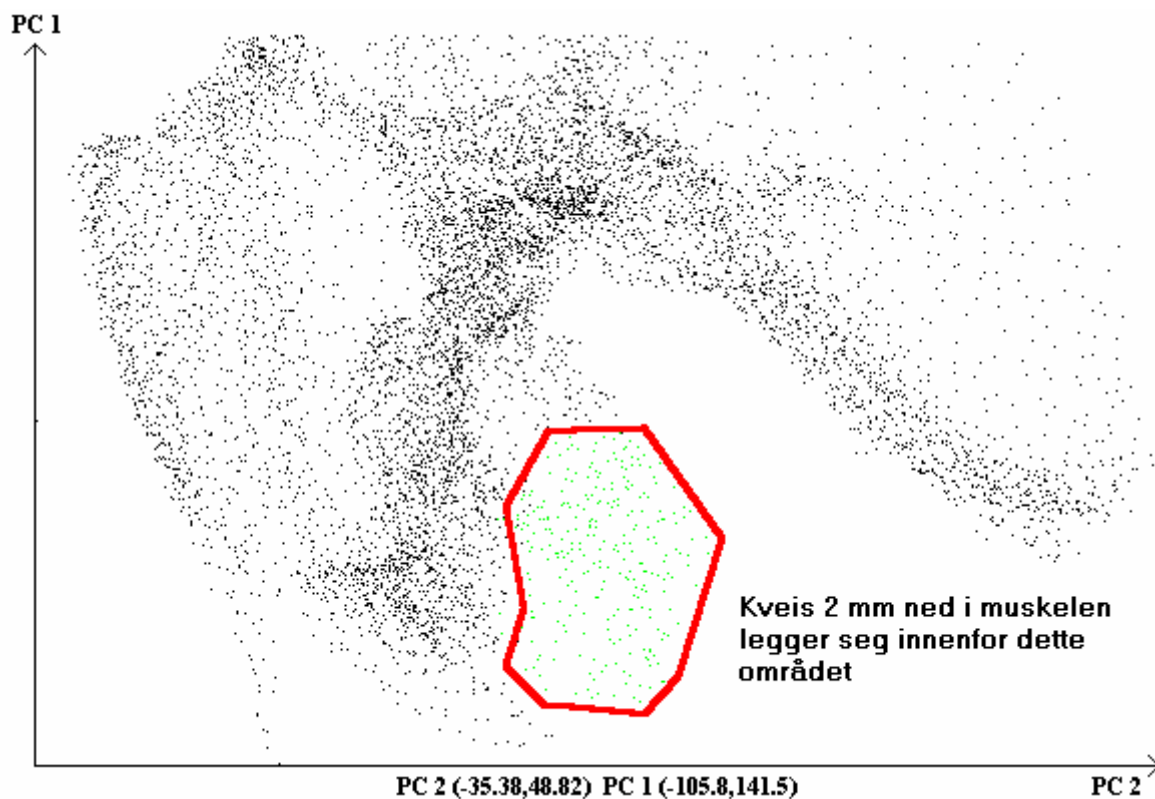
Figur 9. Klusterplott mellom prinspal komponent 1 og 2 i analysen av bildene i figur 7. I dette plottet legger overflatekveisen seg innenfor det markerte området.



Figur 10. 4 bilder av sporstykke med kveis 2 mm ned i fileten. Bildene er tatt ved følgende bølgelengder og båndpass: a) (506/9 nm), b) (713/14 nm), c) (915/6 nm) og d) (975/10 nm).



Figur 11. PCA analyse basert på de fire bildene vist i figur 10 og to bilder som ikke er vist. Disse bildene svarer til bølgelengdene 547 nm og 952 nm med bandpass på henholdsvis 16 og 5 nm. Bilde a), b) og c) er henholdsvis PCA bilde 1, 2 og 3, mens d) er originalbilde med markert svarthinne.



Figur 12. Klusterplott mellom prinsipal komponent 1 og 2 i analysen av bildene i figur 10. I dette plottet legger kveisen 2mm inni fileten seg innenfor det markerte området.

De fire bildene som er vist i figur 10 er et utvalg av flere bilder som ble generert i denne bildesekvensen. Hvor mange bilder som bør tas med i en analyse er et av spørsmålene som må avklares. I figur 11 og 12 vises den analysen som ga best resultat. Her er 6 bilder benyttet, de fire vist i figur 10 samt et tatt ved 547 nm (BP 16 nm) og et ved 952 nm (BP 5 nm).

Det er interessant å registrere at både lys og mørk kveis kan detekteres, men på samme tid illustreres det helt tydelig at det er vesentlige forskjeller mellom lys/mørk kveis, og posisjon på fileten (tykkelse) på hvordan kveisen opptrer i kluster plottene.

Arbeidet som er utført ved Fiskeriforskning og MATFORSK viser at det er mulig å bruke avbildene spektroskopi for å påvise kveis i fiskemuskel. Ved å se på signaturene til ulike komponenter i prøven som kveis (lys og mørk), svarthinne, blod og fiskemuskel vises det tydelig at de spektrale egenskapene er forskjellige, og at det dermed bør være mulig å utføre en god klassifisering. Det som skaper litt problemer er at signaturene er veldig avhengige av tykkelse på prøven og fargen på fiskemuskelen. Derfor vil for eksempel PLS klassifisering ikke fungere godt. Som resultatene fra MATFORSK viser fungerer SIMCA klassifisering godt anvendt på prøver med samme egenskaper. Klassifikasjonsmodellen er derimot ikke nødvendigvis overførbart til en annen filet dersom tykkelse eller farge er forskjellig. Det samme kan sies om analyser basert på PCA. Dette vises spesielt godt dersom en studerer et PCA klusterplott basert på ulike fileter. Lokalisering av kveis i klusterplottet påvirkes av filetenes egenskaper. Derfor vil det være av stor betydning å få normalisert spektrene slik at disse effektene kan minimaliseres. Når metodene skal optimaliseres med tanke på dette vil en stor utfordring ligge i å redusere antall feilklassifiseringer. Etter klassifiseringen vil det nødvendigvis være en del feilklassifiseringer som må fjernes. Dette vil typisk kunne utføres ved å utnytte den romlige informasjonen som ligger i at vi har bilder av fileten. Det vil være snakk om enkle filteroperasjoner som for eksempel medianfiltrering, men også mer sofistikerte filtre som går spesifikt på form, posisjon osv.

I de opprinnelige planene for prosjektet skulle det utvikles et konsept for et prototype-instrument for kveisdeteksjon hvor egnet lyskilde, detektor og transportbånd skulle vurderes. Gjennomføring av målinger og analyse av disse tok imidlertid lengre tid enn forventet, og en egnet prototypeversjon ble derfor ikke ferdigstilt. Resultatene så langt viser imidlertid at målingene bør utføres i transmisjonsmode, og med bølgelengdeinformasjon fra både det synlige og det nær infrarøde området. Det som da gjenstår for å kunne forevise et forenklet prototypeinstrument, er å finne et egnet materiale som kan benyttes som transportbånd.

5 KONKLUSJON OG VIDERE ARBEID

Forskningsarbeidet i dette prosjektet har tydelig vist at kombinasjonen av spektroskopi og bildebehandling slik det fremkommer gjennom avbildene spektroskopi har gitt et løft på veien frem mot en løsning på kveisdeteksjon. I tillegg viser det seg at andre komponenter som ønskes funnet slik som blod, svarthinne og skinnrester vil være mulig å finne med samme instrumenteringen. Selv om resultatene viser at teknikken er god, gjenstår mye arbeid før teknikken kan implementeres i industrien. En nyvinning i dette arbeidet er påvisning av kveis i fiskemuskel som ikke er synlig for det menneskelige øyet (se vedlegg 1). Som for andre metoder basert på nær infrarød spektroskopi og multivariat analyse er det imidlertid behov for et omfattende og grundig kalibreringsarbeid for at metoden skal kunne benyttes industrielt. Sammenlignes resultatene med det som tidligere er oppnådd ved bruk av andre teknikker som magnetisk resonans og computer tomografi (*Heia et al.*, 1997) er utsiktene lysere nå med tanke på å kunne utvikle en industriell metode som skal innfri krav til hastighet og kostnad.

Arbeidet med deteksjon av kveis, svarthinne, blodflekker og skinnrester kan settes inn i en større sammenheng. Det er nå et klart initiativ fra filetindustrien om å få automatisert filetproduksjonen. Dette innebærer videreutvikling av beinplukketeknologi, deteksjon av eventuelle gjenstående bein og ikke minst deteksjon av kveis, svarthinne, blodflekker og skinnrester. Ut fra resultatene oppnådd i dette prosjektet vil den mest aktuelle løsningen være å videreføre avbildene spektroskopi, men det anbefales å fokusere på synlig kveis i første omgang. Dette fordi signaturen til kveis (med fiskekjøtt) varierer med dybde i fileten, og derfor vil en løsning for synlig kveis være lettere å utvikle.

En videreføring av dette prosjektet vil bestå av to faser. Første fase vil bestå i å fortsette uttesting og videreutvikle instrumentering og analysemetoder for å dokumentere deteksjon for ulike typer råstoff (sesongvariasjon, fersk/tint, osv.). Dette er et viktig grunnleggende arbeid som må utføres før kommersialisering av teknikken. I fase to må en kommersiell partner involveres og instrumentering og programvare utvikles. Når instrumenteringen er operativ, vil veien derfra gå ut i industrien for uttesting i stor skala.

I dette prosjektet er det etablert et samarbeide mellom Fiskeriforskning og MATFORSK innen feltet avbildene spektroskopi. Derigjennom har det vært mulig å benytte to ulike typer instrumentering og vurdere kvalitet og effekt av disse. En annen positiv effekt har vært å bringe sammen instituttens kompetanse innen multivariate analyseteknikker og billedbehandlingsteknikker. I en eventuell videreføring av prosjektet er det derfor naturlig å fortsette dette samarbeidet.

6 REFERANSER

- Brattaas, R. (1988) IT i fiskerinæringen: Oversikt over kveis-/parasittproblematikken i fisk/fiskefilet. Internt arbeidsnotat - Fiskeriforskning.
- Hafsteinsson, H. and Rizvi, S. S. H. (1987) A Review of the Sealworm Problem: Biology, Implications and Solutions. *Journal of Food Protection*, Vol. 50, 70-84.
- Heia, K., Lauritzsen, K., Nilsen, H., Wold, J. P., Wedberg, T. C. (1997) Studier av metoder for deteksjon og fjerning av nematoder i hvitfisk. Fiskeriforskningsrapport 11/1997.
- Jenks W. G., Bublitz, G. S., Choudhury, Y. P. MA and Wikswo, J. P. JR. . (1996) Detection of parasites in Fish by Superconducting Quantum Interference Device Magnetometry. *Journal of Food Science*, Vol 61 (5), 865-869.
- Krane L. (1995) Studie av metoder for deteksjon av kveis. Sluttrapport Forskningsrådsprosjekt 104634/110.
- Sigernes, F., Lorentzen, D.D.A, Heia, K., Svenøe, T. Multipurpose spectral imager. *Applied Optics*, Vol. 39, No. 18, p 3143-3153, 2000. ISSN: 0003-6935.
- Svenning, R. og Gildberg, A. (1995) Utviklingsprosjekt - fjerning av hinner og kveis på torskelever. Rapport Fiskeriforskning.
- Wold, J. P., Westad, F., Heia, K. (2001) Detection of parasites in cod fillets by using SIMCA classification in multispectral images in the visible and NIR region. Submitted to *Applied Spectroscopy*.

VEDLEGG: RAPPORT FRA MATFORSK

OPPDRAGSRAPPORT

MATFORSK - Norsk institutt for næringsmiddelforskning

Osloveien 1, 1430 Ås
Tlf. 64 97 01 00

Rapportnummer:

O-7752-3

Tilgjengelighet:

Åpen

Rapportens tittel: Metoder for deteksjon av parasitter i hvitfisk - sluttrapport	Dato: 08.06.04
Prosjektleder/forfatter: Jens Petter Wold	Prosjektleders signatur:
Avdelingsleder: Marit Risberg Ellekjær	Avdelingsleders signatur:
Avdeling: Analysemetodikk	Prosjektnummer: NFR no.120893/112
Oppdragsgiver: Fiskeriforskning AS	Oppdragsgivers ref:

Sammendrag/ekstrakt:

I et treårig prosjekt har vi ved MATFORSK, i samarbeid med Fiskeriforskning, undersøkt muligheten for å utvikle en automatisk metode for å påvise parasitter (nematoder) i fiskefileter. Største delen av arbeidet har fokusert på multispektral avbildning av parasitt-infiserte fileter i det synlige og nær-infrarøde området, samt utvikling av metoder for automatisk klassifisering av parasittene i disse bildene.

Resultatene viser at nematoder i torskfileter kan påvises automatisk basert på spektrale egenskaper alene. Dette kan gjøres ved bruk av multispektrale bilder og SIMCA klassifisering. Metoden er sensitiv til dybde og farge på parasittene, samt det omkringliggende muskelvevet. Spesifikke klassifikasjonsmodeller må derfor designes for ulike tilfeller. Bilder i det nær-infrarøde området har potensiale til å "se" dypereliggende kveis (ned til ca. 6 mm) bedre enn bilder i det synlige området, men best resultat oppnås ved å kombinere bildekanaler fra begge områdene. Metoden har potensiale for implementering innen dagens fiskeforedlingslinjer, men adskillig arbeid gjenstår for å evaluere og teste metoden.

Rapporten/resultatene skal ikke gjengis i utdrag, uten etter skriftlig godkjenning fra MATFORSK. Det henvises for øvrig til spesielle krav for bruk av MATFORSKs navn i markedsføring.

1. PROSJEKTMEDARBEIDERE VED MATFORSK

Jens Petter Wold (lokal prosjektleder)

Frank Lundby

Frank Westad

2. INNLEDNING

I de tre årene prosjektet har pågått, har vi ved MATFORSK lagt vekt på tre hovedproblemstillinger. Vi har jobbet ett år med hver problemstilling. Denne rapporten er derfor tredelt, der hovedresultatene fra hvert år presenteres i egne kapitler.

Første året ble primært viet til studier av fluorescensegenskaper på fisk og kveis. Tanken var at disse resultatene kunne bidra til utvikle en deteksjonsmetode basert på overflatemålinger, der fluorescerende parasitter ville skille seg ut fra resten av fileten.

Andre året begynte vi å ta multispektrale bilder av filetprøver med kveis. Bilder ble tatt i både det synlige og nær-infrarøde (NIR) området. For å analysere disse bildene utviklet vi analytiske bildeanalyseverktøy basert på multivariate metoder (PCA, Principal Component Analysis). Resultatene fra disse studiene var lovende med tanke på å detektere parasitter i fisk basert utelukkende på spektrale egenskaper.

I det siste året tok vi flere bilder av infiserte fileter for å systematisk undersøke muligheten for å detektere kveis ved ulike dybder i fileten og kveis med varierende farge. Vi videreutviklet bilde-PCA teknikken til et klassifikasjonsverktøy basert på SIMCA klassifisering. Med denne teknikken er det mulig å lage en klassifikasjonsmodell basert på bilder av kveisinfiserte prøver. Denne modellen kan så brukes til å påvise kveis i nye prøver. Tilnærmingen har vist lovende resultater. Metoden og resultatene er presentert i en vitenskapelig artikkel for internasjonal publisering.

FAGLIGE RESULTATER

3. FLUORESCENSSPEKTROSKOPI PÅ FISK OG PARASITTER (FØRSTE ÅR)

I det første året gikk en stor del av tiden i prosjektet med til å utvikle spektroskopi og bildelaboratoriet ved MATFORSK til å bli fleksibelt og brukervennlig i forhold til de oppgaver som skulle utføres i prosjektet. Dette innebar i første rekke at vi tilrettela for presise fluorescens- og transmisjonsmålinger i området fra UV til NIR. Nye kuvetter og filterholdere ble utformet.

Vi optimaliserte betingelsene for multispektral avbildning av filetprøver på størrelse ca. 4×4 cm. Det ble også utviklet enkle bildeanalytiske algoritmer i Matlab spesielt egnet for analyse av multispektrale bilder.

Innledende målinger av fluorescens fra parasitter, sei og torsk ble gjort med interessante resultater.

3.1 Målinger og faglige resultater

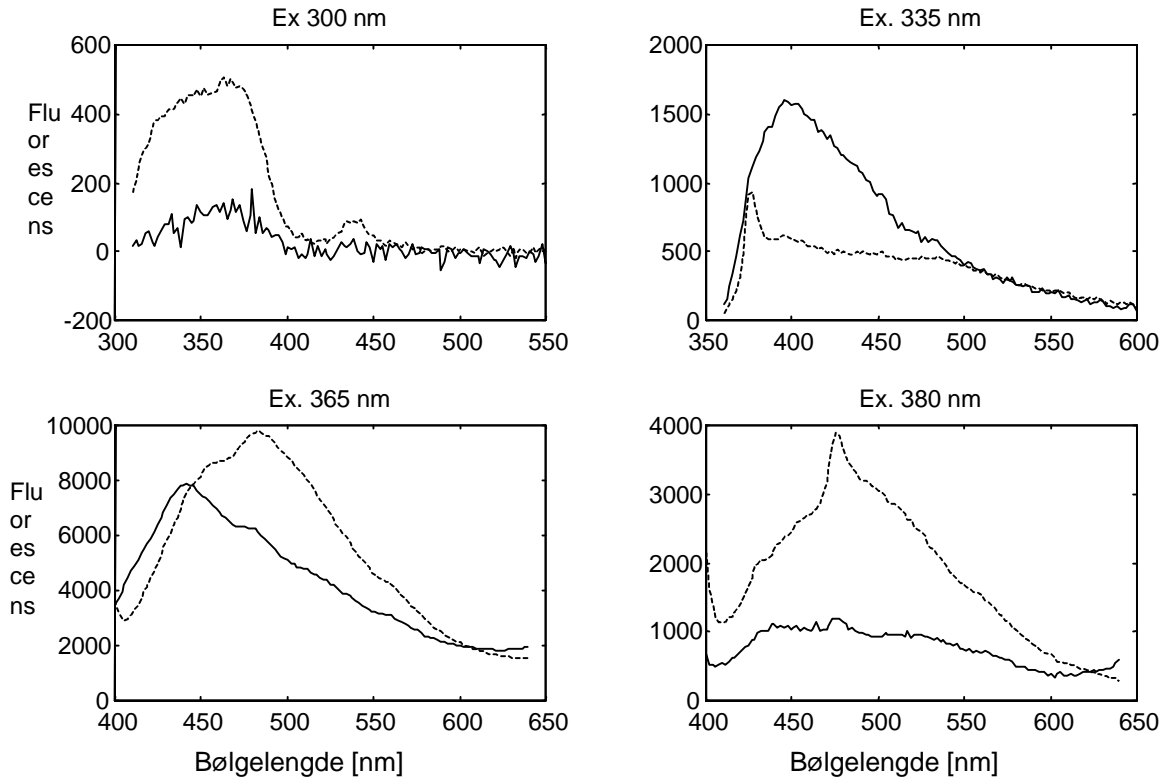
Det er velkjent at parasitter autofluorescerer og har en annen fluorescenssignatur en fiskekjøtt. Frosset *Anisakis simplex* har et eksitasjonsspektrum med maksimum rundt 325-355 nm og et emisjonsspektrum med maksimum rundt 390 nm (Jensen et al. 1989). Den samme gruppen viste at det var mulig å detektere kveis i overflaten av fiskefileter ved bruk av dette prinsippet. Metoden er imidlertid ikke tatt i bruk fordi den kun kan påvise parasitter i overflaten av fileten siden UV-lyset absorberes i svært stor grad.

Etter noe erfaring med fluorescensmålinger med kraftig eksitasjonskilder satte vi spørsmålsteget ved om det likevel kunne være mulig å gjennomlyse fileter med UV-lys, eksitere dyptliggende kveis og dermed øke deteksjonsdybden.

Det ble gjort fluorescensmålinger for 4 ulike eksitasjonsbølglengder, 300, 335, 365 og 380 nm. Målingene ble gjort på sylindriske prøver av fisk med diameter på 5 cm. Figur 1 viser karakteristiske emisjonsspektra for torsk og parasitter. Begge vevstyper har en kraftig synlig fluorescens. Særlig for eksitasjonene 335 og 365 nm lyser parasittene med et blå/fiolett skjær, til forskjell fra torskekjøtt som skaper en jevnere hvit fluorescens. For eksitasjon ved 300 nm er fluorescensen svak og dessuten usynlig for oss (i UV-området), og ved 380 nm er emisjonsspektrene sterkt overlappende men av forskjellig form. For alle eksitasjoner er de karakteristiske forskjellene i fluorescens store nok til at man ved multivariate metoder vil kunne skille mellom parasitt og fisk, vel og merke dersom signalene fra hver av dem er sterke nok. Resultatene stemmer rimelig godt overens med Jensen et al. (1989). Det er interessant å merke seg at fluorescensspektrene fra fisk minner mye om dem man får fra kollagen type I, mens kveisen har en fluorescens svært lik den fra elastin (Wold, 2000). Det er ikke overraskende om ytterhuden (cuticula) til kveis for en stor del består av elastin. Det er sannsynlig at det er disse bindevevskomponentene som gir opphav til fluorescenssignalene, men dette er ikke undersøkt.

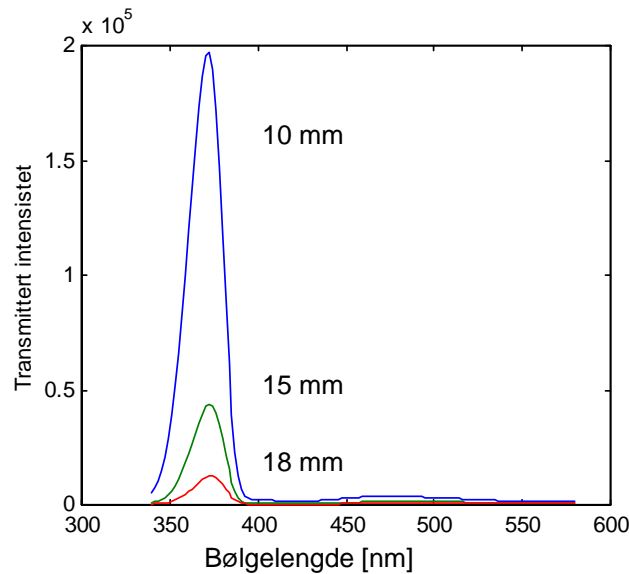
Det må påpekes at fluorescensen fra parasittene var av noe ulik karakter ved samme eksitasjon. Noen lyste mørkt blått mens andre var lysere i blåfargen. Dessuten var fluorescensen tilsynelatende ulikt fordelt på den måten at halve kveisen kunne fluorescere sterkere og med en noe annen blåtone enn den andre delen. Det så ut til at dette mønsteret kunne ha sammenheng med "tarminnhold" i parasittene. Stort tarminnhold (brunt) gir lav fluorescens og visa versa. Det er også uklart om disse variasjonene skyldes forskjeller mellom parasitter av typen *Anisakis simplex* og *Phocanema decipiens*.

For å kartlegge UV-lysets evne til å trenge gjennom fiskefilet ble det gjort transmisjonsmålinger med to filtre, et smalbåndet (10 nm) filter ved 380 nm og et bredbåndet med topp ved 360 nm og med båndbredde mellom 280 og 400 nm. Både torsk og sei (diam. 5 cm) ble gjennomlyst for 3 ulike tykkelser, 10, 15 og 18 mm. Diameter på innfallende lysstråle var 5 cm, lyskilde en 300 W Xenon lampe.



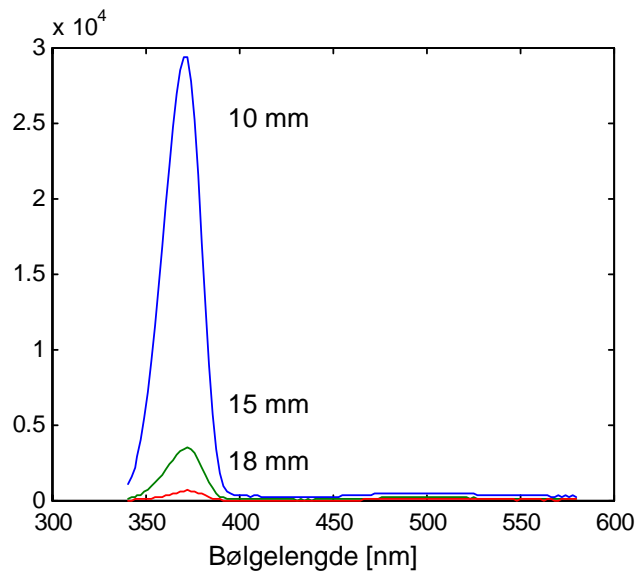
Figur 1 Karakteristiske emisjonsspektra for torsk og parasitter for eksitasjonene 300, 335, 365 og 380 nm. Parasitt_____, torsk-----. Spektrene er målt på ulike mengder kveis og fiskemuskel så intensitetene står ikke i relasjon til hverandre. Formen på spektrene er derimot meget relevante.

Transmisjonsmålinger med UV-lys gir en spesiell visuell effekt; prøvene belyses/gjennomlyses av lys vi ikke kan se (280-400 nm), men likevel lyser hele fiskestykket opp av synlig lys som resultat av fluorescens. Spesielt torskemuskel genererte et relativt kraftig hvitaktig lys. Lyset i seimuskel var svakere, trolig på grunn av kjøttets mørkere farge. Figur 2 viser transmittert lys i torsk som funksjon av filettykkelse og bølgelengde. Det mest overraskende er at UV-lys i høy grad transmitteres gjennom prøvene. Området ovenfor ca. 355 nm ser ut til å transmitteres bra. Intensiteten er ikke målt i absolute enheter så det er vanskelig å angi graden av transmisjon ut ifra disse målingene. Men dersom en sammenligner med den godt synlige fluorescensen som oppsto i området 425-550 nm, er andelen UV-lys langt større.



Figur 2 Transmittert lys + fluorescens ved gjennomlysning av torskfilettykkelser på 10, 15 og 18 mm. Lyskilden besto av lys i området 280-400nm.

Figur 3 viser at transmittert lys i sei tilsvarte omlag 10 % av det som ble transmittert i torsk.

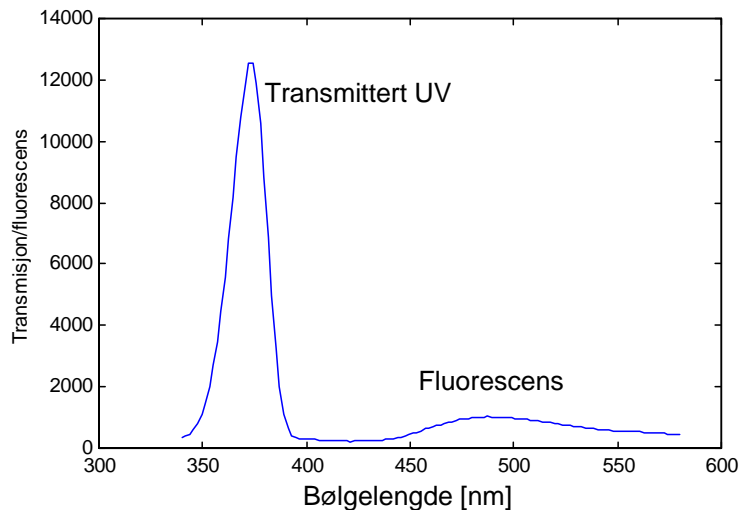


Figur 3 Transmittert lys + fluorescens ved gjennomlysning av seifilettykkelser på 10, 15 og 18 mm. Lyskilden besto av lys i området 280-400nm.

At UV-lys i området 365 nm kan transmitteres gjennom hele filettykkelsen innebærer at også dyptliggende parasitter vil bli eksitert og dermed fluorescere med sin karakteristiske signatur. Om dette skal bidra til å lette deteksjonen av kveis betinger det at intensiteten på det emitterte lyset er sterk nok til at det kan detekteres på overflaten av fileten. Emittert lys bør ha en intensitet som overstiger den mengde synlig lys som normalt absorberes av kveisen (hvis mengden absorbert lys er større

vil dette fenomenet trolig synes bedre på overflaten enn fluorescensen og en mulig gevinst vil utebli).

Som nevnt er selve fluorescensen så kraftig at fileten lyses opp (Figur 4 viser fluorescens i forhold til transmittert lys for fileten på 18 mm). På denne måten kan kveis sees som mørke kontraster mot det lyse fiskekjøttet slik de vanligvis detekteres med synlig lys. Om dette fenomenet er bedre egnet til å detektere dyptliggende kveis enn vanlig gjennomlysning må undersøkes nærmere.



Figur 4 Transmittert UV sammenlignet med generert florescens av UV-lyset i 18 mm tykk torskefilet

3.3 Konklusjon fluorescens

Resultatene med fluorescens er interessante. Egenskapene ved transmisjonsfluorescens kan undersøkes nærmere for å finne ut om metoden kan forbedre deteksjonsgraden kontra bruk av synlig lys. Rent visuelt så det imidlertid ut til at det ikke var lettere å se parasittene på denne måten sammenlignet med vanlig gjennomlysning. Det videre arbeidet ble derfor konsentrert om multispektral avbildning av fileter som var gjennomlyst på konvensjonelt vis.

4. MULTISPEKTRALE BILDER OG PCA (ANDRE ÅR)

I det andre prosjektåret konsentrerte vi oss om opptak og analyser av multispektrale bilder fra bildelaboratoriet ved Matforsk. Vi så primært på torsk og seifileter med naturlig forekommende eller implanterte parasitter.

4.1 Målinger og faglige resultater

4.1.1 Metode

Multispektrale bilder av gjennomlyste fileter ble tatt på følgende måte: Sirkulære propper av filet (D=5.5 cm) ble skåret ut og lagt i en kuvette (indre diameter på 5.5 cm) med kvartsglass i bunnen. Prøven ble belyst fra undersiden med en 300 W Xenon-lampe. Vi optimaliserte ikke for å oppnå helt homogen belysning siden lysfeltet vil være helt eller delvis diffust bare få millimeter inn i prøven. Vi målte på prøvetykkelser på mellom 1 og 3 cm.

Ca. 50 cm over fileten henger et følsom CCD-kamera med et 102 mm objektiv som slipper igjennom UV-lys. Foran objektivet er det en skuff der ulike filtre kan skyves inn. De multispektrale bildene bygges opp ved at det tas ett bilde for hvert filter. Systemet er foreløpig ikke automatisk så filtrene skiftes ut manuelt. Eksponeringstiden velges individuelt for hvert filter. Filtrene som ble brukt er angitt i tabell 1.

Bølgelengde [nm]	Båndbredde [nm]
350	100
380	10
400	40
450	40
500	40
550	40
600	40
650	40
700	40
900	10
925	10
975	10
1050	10

Tabell 1

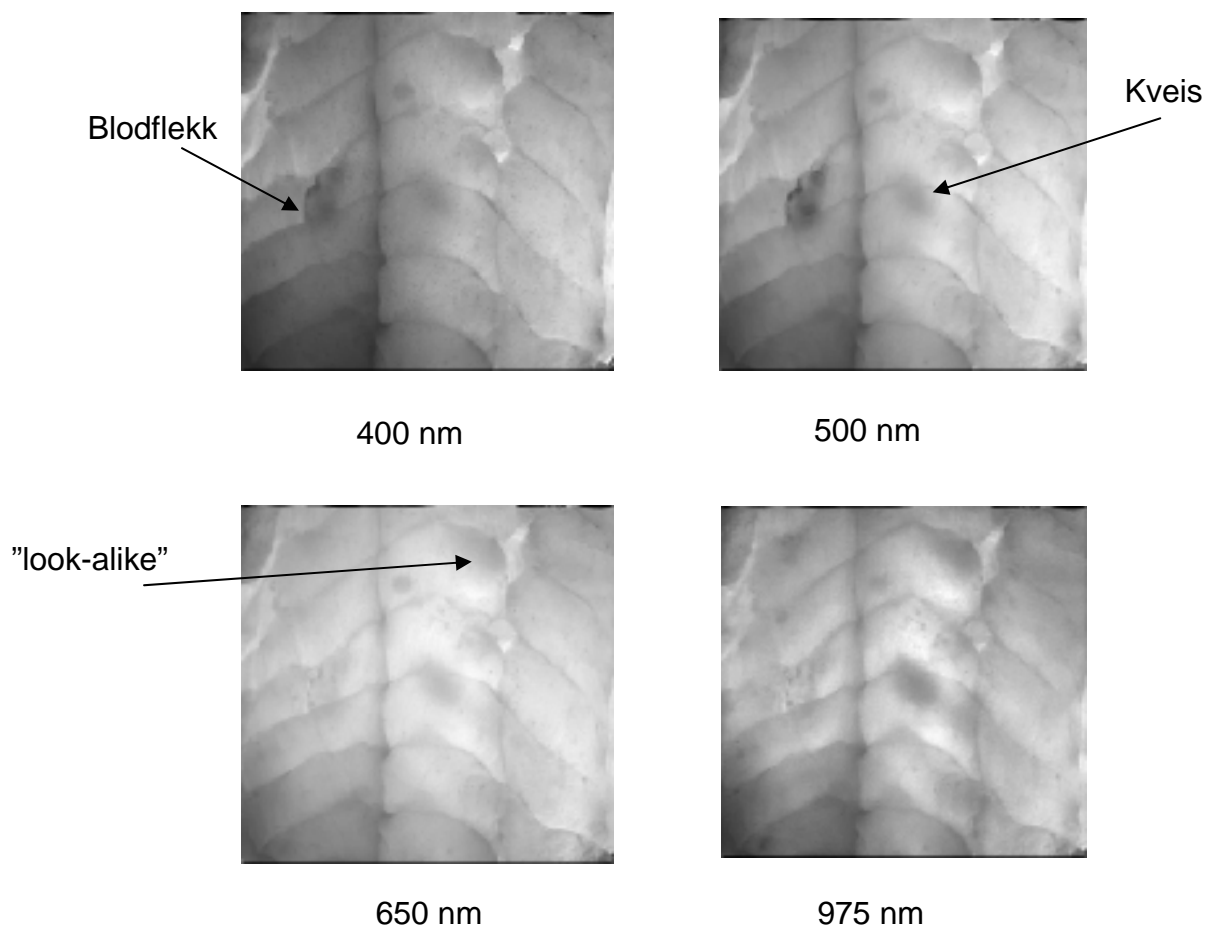
Av tabellen fremgår det at de fleste av filtrene har relativt stor båndbredde. Erfaringsmessig har det vist seg at det ikke er nødvendig å ha meget smale interferensfiltre. Dette kommer blant annet av at de spektrale karakteristikkene til både kveis og fiskemuskel er forholdsvis glatte med få brå variasjoner som funksjon av bølgelengde. Bredere filtre gir også kraftigere intensitet på signalene hvilket kan gi raskere eksponeringstider.

4.1.2 Resultater og diskusjon

De fleste bildene ble tatt med en eksponeringstid på 0.5 sekunder. Bilder tatt i UV og NIR området trengte generelt noe lengre eksponeringstid (1-5 sek.) på grunn av høy absorpsjon, særlig i UV, og smale båndpassfiltre.

Figur 5 viser fire bilder av samme prøve tatt ved ulike bølgelengder. Prøven er ca. 1.5 cm tykk og kveisen er synlig med det blotte øyet, ca. 3 mm under overflaten. På denne prøven er det også en bloduttredelse i overflaten. Av figuren fremgår det at særlig blodflekken endrer seg med bølgelengden. Den er mest fremtredende fra 400 til 500 nm. Fra 650 nm og opp til 1050 nm er den nesten ikke synlig. Kveisen synes mer eller mindre på alle bildene. Det er interessant å merke seg at den også er godt synlig i NIR området. Dette er et område med mindre lysspredning enn i det synlige området, hvilket er gunstig med tanke på deteksjon av dyptliggende kveis.

Det er også andre områder på prøven som har tilsvarende gråtonekarakteristikk som kveisen. Det kan være skyggeeffekter av lysspredning, muskelfiber orientering eller tykkelsesvariasjoner. Dette er effekter som gjør overflaten på en gjennomlyst filet forholdsvis komplisert sett med bildeanalyse øyne, og de gjør at det er vanskelig å skille ut kveisen fra de andre konturene. I figuren er det angitt et området som kan se ut som kveis ("look-alike").



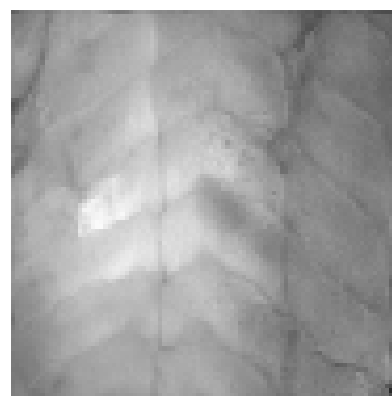
Figur 5 Multispektralt bilde av filetprøve med kveis og blodflekk.

Multispektrale bilder inneholder mye informasjon som kan være vanskelig å få oversikt over. Vår strategi har vært å kjøre en PCA analyse i den spektrale retningen. Dette er en egenverdi-transformasjon som resulterer i et sett nye bilder, prinsipal komponent (PC) bilder, som inneholder mesteparten av den opprinnelige informasjonen. Hovedvariasjonen ligger da i de første PC bildene. Variasjonen i de nye bildene er statistisk uavhengige og beskriver derfor hver for seg særegne spektrale fenomener i det opprinnelige multispektrale bildet.

Figur 6 viser de 6 første PC bildene til det samme multispektrale bildet som er vist deler av i Figur 5.



PC 1



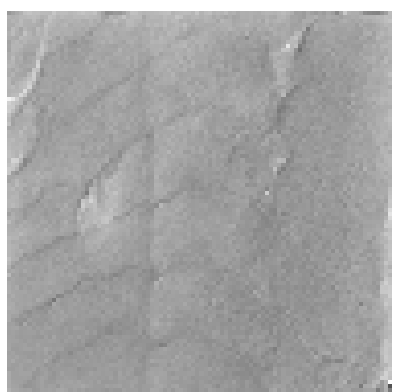
PC 2



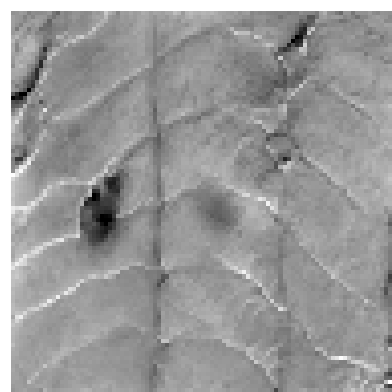
PC 3



PC 4



PC 5

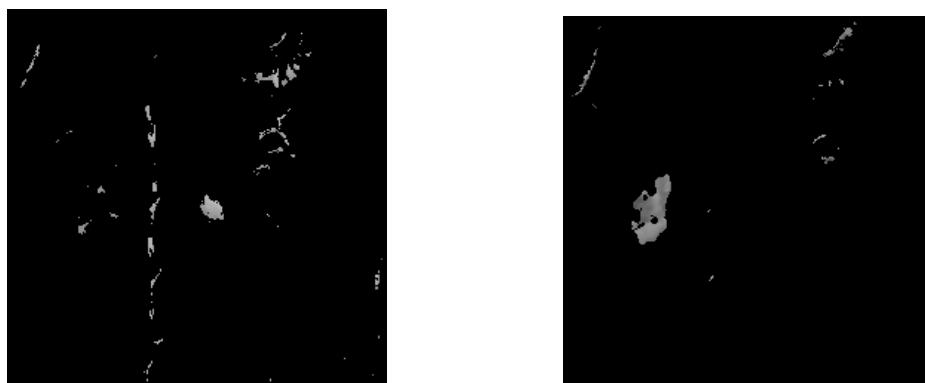


PC 6

Figur 6 PC bilder 1-6

PC1 representerer gjennomsnittsbildet og kan på sett og vis sees på som et standard svart hvitt bilde som dekker det synlige området. I dette bildet ser vi både blod og kveis, men det er ikke lett å skille det ene fra det andre. Etter hvert som antall komponenter stiger avtar variasjonen i bildet. PC 4 og P6 er histogramutjevnet for å fremheve kontrastene. I PC 4 ser vi kveisen som en lys flekk, mens i PC 6 er kveisen mørkere og blodflekken tydelig svart. Disse to bildene kan alene brukes for å segmentere ut både blod og kveis. Blodflekken kan terskles godt ut, mens når man terskler i forhold til kveisen får man også med seg striper med bindevev. Figur 7 viser graden av vellykket terskling. Det er gjennomgående også på andre bilder at vi får med oss striper med bindevev når kveisen terskles ut. Det skyldes at kveisen har en spektral signatur som i stor grad tilsvarer bindevevets. Dette er nødvendigvis ikke noe problem. Det er viktig å huske på at dette foreløpig er en segmentering i det spektrale domenet. Standard bildeanalyseteknikker for segmentering der man tar hensyn til morfologien, kan trolig skille mellom bindevevsstriper og kveisen som har en annen mer avrundet form.

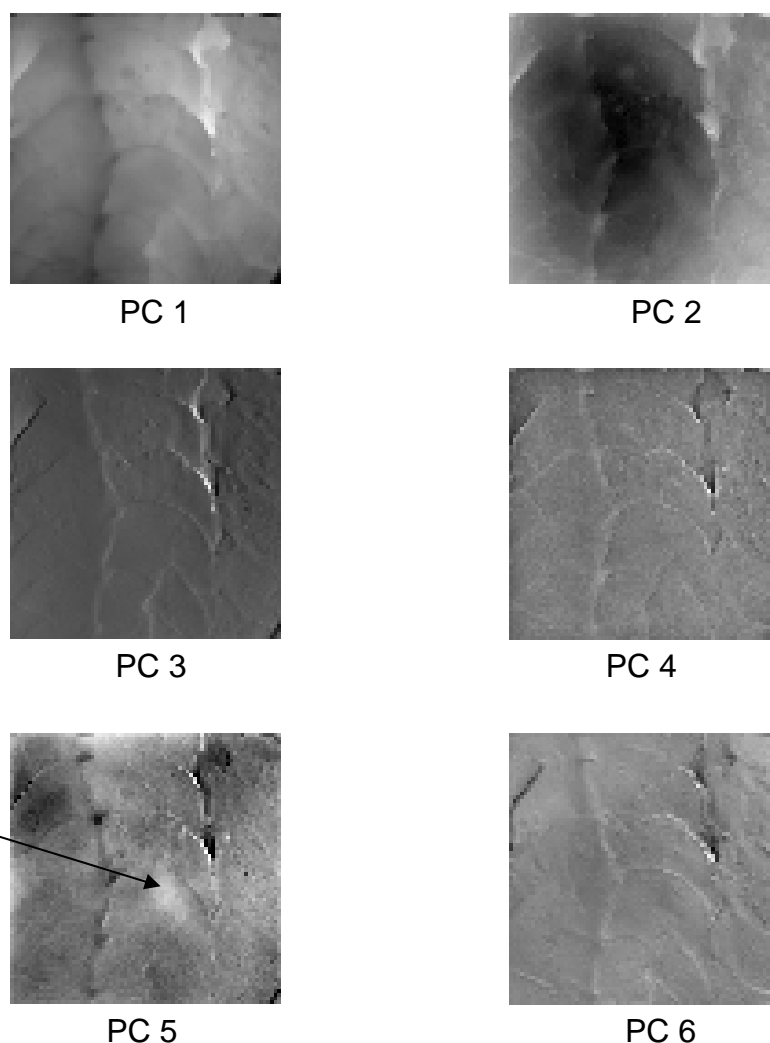
Som en foreløpig konklusjon kan vi si at multispektrale bilder på en forholdsvis enkel måte kan bringe oss langt mot en god segmentering av både kveis og blodflekker.



Figur 7 Segmentert kveis og blodflekk

Det største problemet med deteksjon av kveis er den kraftige lysspredningen i fiskekjøtt. Selv om det skulle ligge en helt svart gummiring et stykke inne i fileten så vil den være umulig å se på grunn av diffus lysspredning. Lysspredningen avtar med bølgelengden på lyset, og vil følgelig være noe mindre i NIR området sammenlignet med det synlige. Det at vi får kontrast for kveisen i NIR området er derfor meget interessant i forhold til det å kunne påvise den lenger inn i fisken.

Figur 8 viser de seks første PC bildene av en prøve der kveisen er umulig å se med det blotte øyet. Den ligger ca. 7-8 mm nedi fileten.

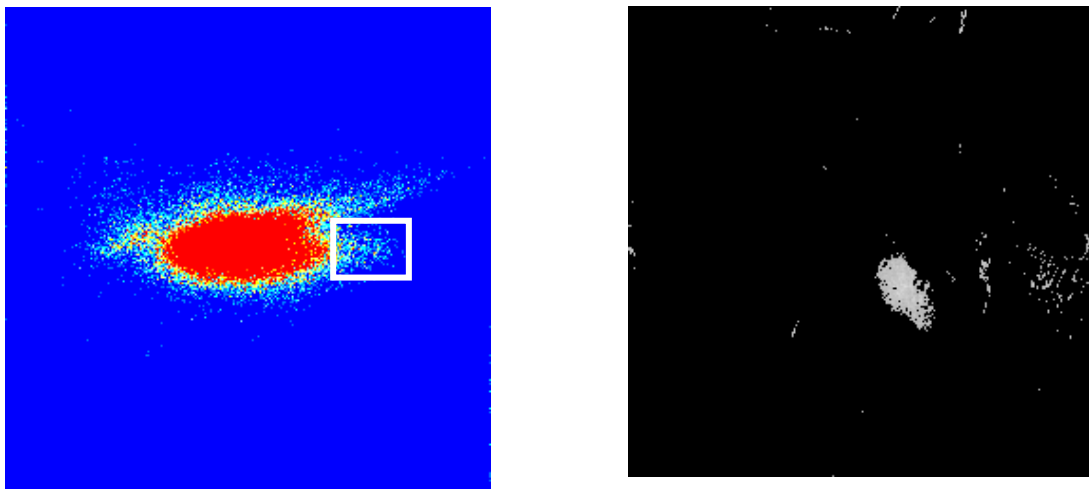


Figur 8 Dyptliggende kveis synes i PC 5.

Av PC 1 ser vi at kveisen ikke er synlig i det som kan sammenlignes med et vanlig bilde. Det mørke feltet i PC2 angir et område med mye mørk muskel på undersiden av fileten. I PC5 synes kveisen som en lys flekk. Hvis vi plottes gråtonene i PC4 og PC5 mot hverandre får vi et todimensjonalt histogram som viser hvordan grupper av piksler clustrer seg (Figur 9). Dette histogrammet kan vi bruke til segmentering ved å markere interessante områder. Det markerte området kan så "mappes" tilbake til billedet, der vi ser hvilket område de representerer.

Den lille gruppen til høyre i histogrammet er pikslene som hører til kveisen. Når disse velges ut (en form for terskling) så segmenteres kveisen ut i tillegg til noen små detaljer.

Det som gjør at vi kan påvise denne dyptliggende kveisen er bruk av lys i NIR-området. På originalbildene kan man se en meget svak antydning til kveisen i bilder for 925, 975 og 1050 nm. Når disse bildene slås sammen blir kontrasten sterkere, og når de sammenlignes med bilder i det synlige området så utgjør kveisen en forskjell som er mulig å detektere.



Figur 9 2D histogram som viser piksel-grupperinger (venstre). Det markerte området representerer den dyptliggende kveisen (høyre).

Deteksjon av kveis på rundt 8 mm dybde er ifølge litteraturen en slags verdensrekord. Dette skyldes nok i første rekke at det er mulig å ta gode bilder i NIR-området der spredningen er relativt liten. Det er også meget viktig å ha et godt kamera med stor dynamikk som gjør det mulig å fange opp små kontraster. Samtidig er det viktig å huske på at fiskekjøtt er et svært komplekst materiale sett fra et optisk synspunkt. Dersom kveisen hadde ligget et annet sted i fisken, på samme dybde kunne den ha vært vanskeligere å se. Dette kommenteres i kapittel 5.

Tilsvarende målinger og analyser som dem vist over er gjort på en rekke filetprøver. Resultatene er rimelig konsistente. Alle viste resultater gjelder for torsk. Når det gjelder sei så ser det vanskeligere ut på grunn av gråfargen og en langt mer fargerik mørk muskulatur. I det videre arbeidet konsentrerte vi oss kun om torsk.

4.2 Oppsummering andre år

Resultatene som ble oppnådd var lovende. Både det å segmentere kveis på grunnlag av spektroskopi og det å detektere dypere liggende kveis var gode resultater. Forsøksforholdene skilte seg ikke dramatisk fra dem man opplever ute i industrien, og metoden vil være overførbart til et on-line system.

I det videre arbeidet valgte vi å legge større vekt på avbildning i NIR området, siden dette viste seg egnet til å påvise dypere liggende kveis. Vi ønsket også å se på muligheten for å utvikle klassifikasjonsmodeller som automatisk kan påvise parasitter i nye bilder.

5. MULTISPEKTRALE BILDER OG SIMCA KLASSIFISERING (TREDJE ÅR)

I år 2000 fortsatte vi ved MATFORSK å ta multispektrale bilder av kveisinfiserte fiskefileter. Vi holdt oss til torsk, siden det er et enklere råstoff å jobbe med enn for eksempel sei. Et datasett på 25 multispektrale bilder i området fra 400 – 1100 nm ble generert. Bildene ble tatt på både skinnside og innside av filetene. Alle prøver var ca. 2 cm tykke. Målsetningen var å utvikle en eller flere modeller basert på noen av bildene, og bruke disse til å automatisk gjenkjenne kveis i andre bilder.

Til nå hadde vi brukt PCA til dekomposisjon av de multispektrale bildene for å vurdere mulighetene for å få til en spektral segmentering. Denne metoden egener seg godt til analyse av bilder. For å utvikle en klassifikator som automatisk kan påvise kveis i nye bilder, måtte vi imidlertid bruke noe mer sofistikerte statistiske verktøy.

Tre ulike metoder ble forsøkt:

Partial least squares regression (PLS): Såkalt blokk-PLS ble brukt for å se om det var en egnet metode for deteksjon av parasitter. Piksler i bildet som tilhørte kveis fikk verdien 1, mens andre piksler fikk verdien 0. En PLS regresjon ble så gjort der bildekanalene utgjorde X og Y bestod av 0 og 1'ere.

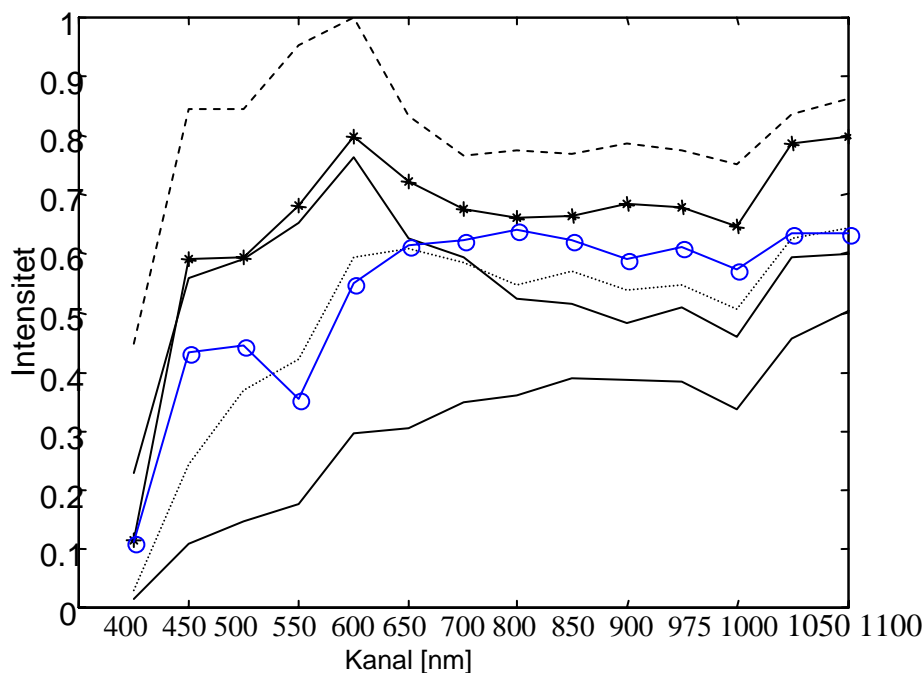
SIMCA klassifisering: (Soft Independent Modelling of Class Analogies) Man velger ut de pikslene som tilhører en eller flere kveis. En PCA gjøres på disse. Dimensjonaliteten til PCA modellen valideres med kryssvalidering der to tilhørighetskriterier legges til grunn: størrelse på residualene og størrelse på leverage. Metoden er beskrevet av Svante Wold (1976) og statistikken som ligger til grunn finnes i Edwards Jackson (1991). Når riktig dimensjonalitet er funnet (gjerne 2-4 prinsipal komponenter i våre tilfeller) kan modellen brukes til å klassifisere nye bilder.

Fuzzy clustering: Man angir typisk spektral karakteristikk for kveis. Ved bruk av statistiske rutiner basert på fuzzy clustering kan bildet deles i to clutre: kveis og ikke-kveis.

Vi vil i denne rapporten konsentrere oss om SIMCA klassifisering, da den ga rimelig gode resultater og er en praktisk anvendelig metode. Fuzzy clustering viste at det var mulig å skille bildene i to clustre, der det ene clusteret var kveis. Metoden er imidlertid ganske treg og tungt anvendelig. PLS hadde vi stor tro på. Det viste seg imidlertid at variasjonen i gruppen "ikke-kveis" var så stor (variasjon fra lys og mørk muskel, blod, skinnrester etc.), at gode modeller ikke kunne oppnås. Prediksjon av nye kveis var ikke mulig med denne teknikken.

5.1 Resultater med SIMCA klassifisering

Før vi presenterer klassifiseringsresultater er det interessant å se på typiske spektrale egenskaper for de ulike typene vev som inngår i bildene. Figur 10 viser gjennomsnittlige absorpsjonsspektre fra bildearealer av mørk og lys muskel, blod, skinnrester, samt to parasitter (en dyptliggende [4 mm] og en like under overflata [1-2 mm]).



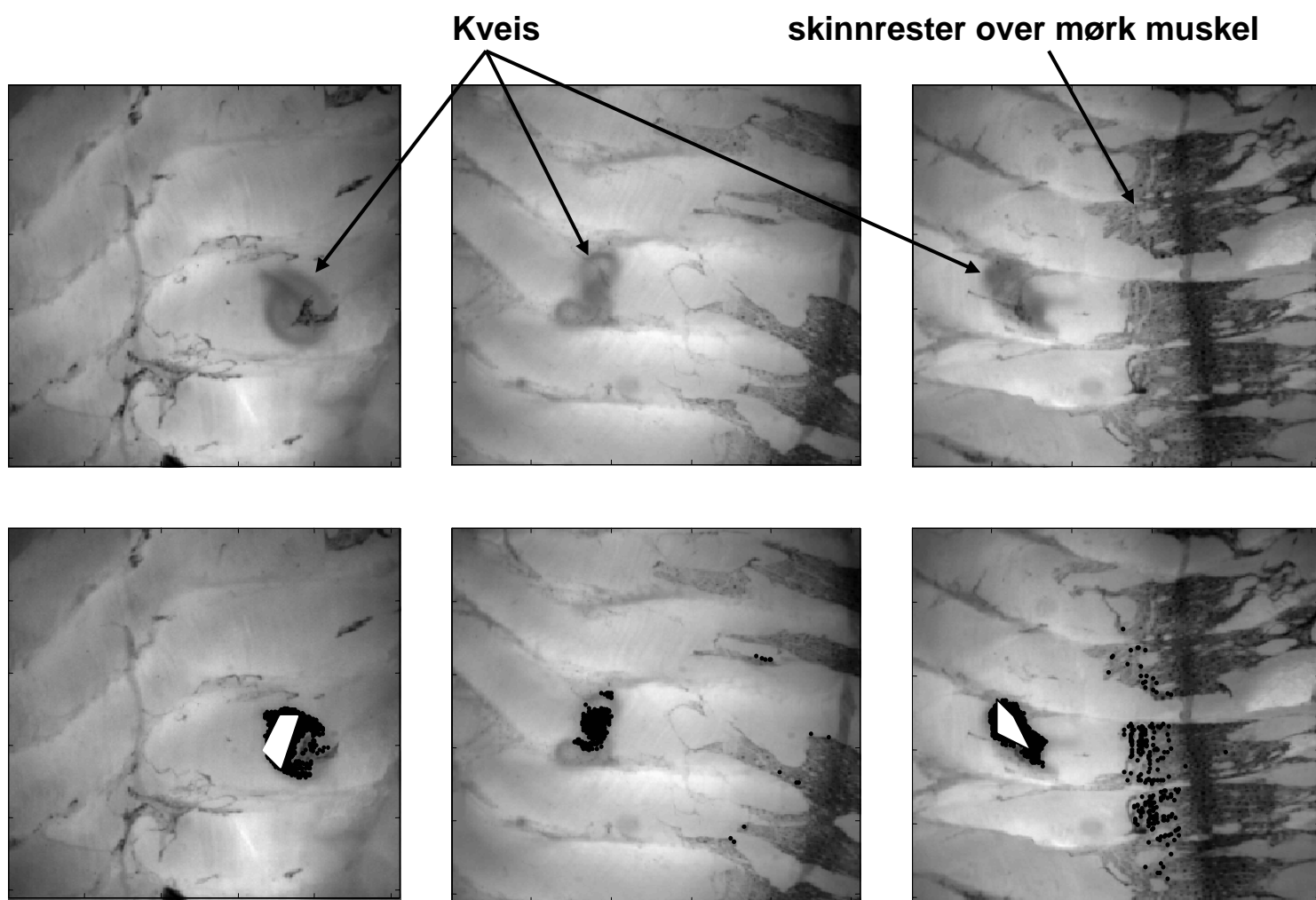
Figur 10 Typiske spektrale karakteristika av ulike komponenter i fiskefilet slik de ble målt i bildene. Parasitter: _____, lys muskel: _____, mørk muskel: - - - - - , skinnrester: ____*____, blod: -----o-----. Parasittspekteret med lavest intensitet er fra en parasitt nær overflata av fileten, den andre er fra parasitt noe dypere (ca. 4mm).

Man kan se at transmisjonen i hvit muskel er høyest for alle bølgelengder. Ved 400 nm er transmisjonene generelt lav for alle typer vev, mens blod og mørk muskel har relativt lav transmisjon ved 500 og 550 nm (mørk muskel inneholder mye blod). Signaturene til de to parasittene er ganske forskjellige siden de er målt ved ulike dybder i fileten. Den dypere parasitten har høyere transmittans og dermed lavere kontrast i forhold til lys muskel. Legg imidlertid merke til at transmisjonen til den dype parasitten er forholdsvis lav i NIR området, lavere enn alle komponenter i fileten. Dette indikerer igjen at bilder i NIR området kan gi bedre kontrast for dype parasitter enn bilder i det synlige området.

På de neste sidene vises fire eksempler på hvordan SIMCA klassifisering kan anvendes til å lage modeller, og hvilke muligheter metoden gir for å påvise kveis som er vanskelig å se selv for mennesker.

Eksempel 1

I dette eksempelet har vi med tre multispektrale bilder av tre ulike fiskeprøver. De har alle naturlig forekommende kveis på omtrent samme dybde (1 – 3 mm). Alle bilder er tatt på skinnsiden av filetene, og det er lett å se rester av skinn. En SIMCA modell ble laget for de pikslene som var innesluttet i de hvite markerte områdene. Kryssvalidering gav en modell på 4 komponenter. Denne modellen ble så brukt til å klassifisere de resterende pikslene i alle 3 bilder.



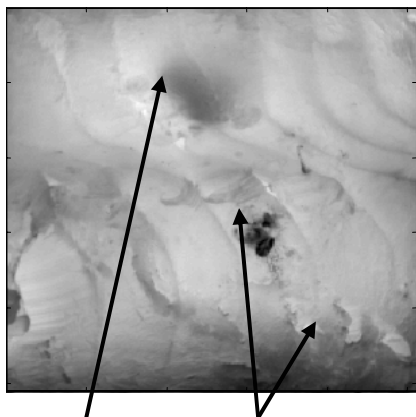
Figur 11 Øverste rad viser bilde av tre prøver fra forskjellige fileter. Parasittene er naturlig forekommende på 1 – 3 mm dybde. Nederste rekke viser de samme bildene, men med klassifiseringsresultater. SIMCA modellen er basert på pikslene innenfor begge de hvite områdene. Modellen er så testet på alle pikslene i alle bildene, og de svarte punktene angir dem som er klassifisert som "kveis".

De svarte punktene angir klassifisert område. Man kan se at resultatet er rimelig godt. Modellen kan klassifisere resten av de to parasittene som modellen var basert på. I tillegg klassifiserer den mesteparten av den helt "fremmede" parasitten (i det midterste bildet). Det er en del feilklassifiseringer som alle er knyttet opp til skinnrester. Disse feilklassifiserte pikslene er imidlertid relativt spredt (synes ikke så godt på disse små bildene) og vil trolig kunne fjernes med et enkelt medianfilter. Medianfilteret vil ikke fjerne parasittene. Eksempelet indikerer at det er mulig å automatisk påvise synlige kveis med denne metoden.

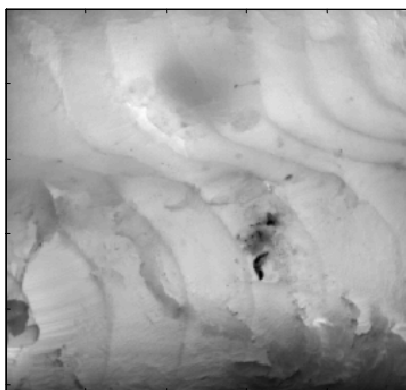
Eksempel 2

I neste eksempel er det 3 bilder av en og samme fiskeprøve, men det er implantert tre ulike kveis, en i hvert bilde. De tre kveisene har forskjellig farge. En er mørk brun, en er lys brun, mens den siste er gul/hvit. De ligger på ca. 4-5 mm dybde og synes derfor kun som vage skygger i bildene. Man kan imidlertid se at den mørke parasitten gir best kontrast, mens den lyse er vanskelig å skjelne (Figur 12). Den lyse var umulig å påvise med det blotte øyet dersom man ikke visste om den.

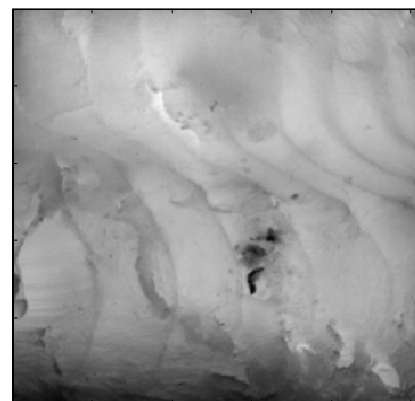
Mørk brun parasitt



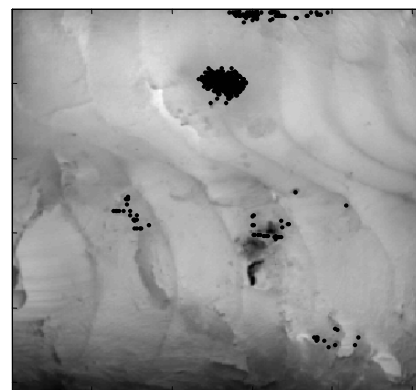
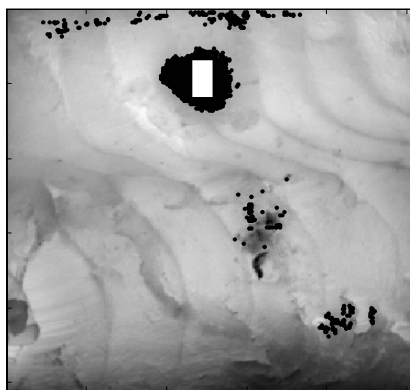
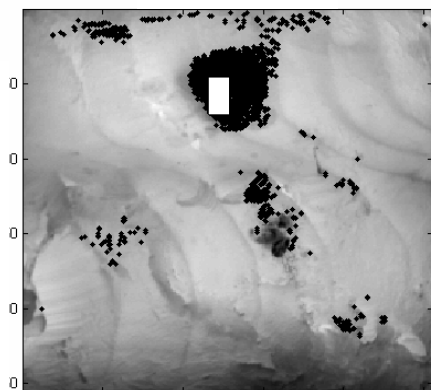
Lys brun parasitt



Gul/hvit parasitt



Parasitt Blod



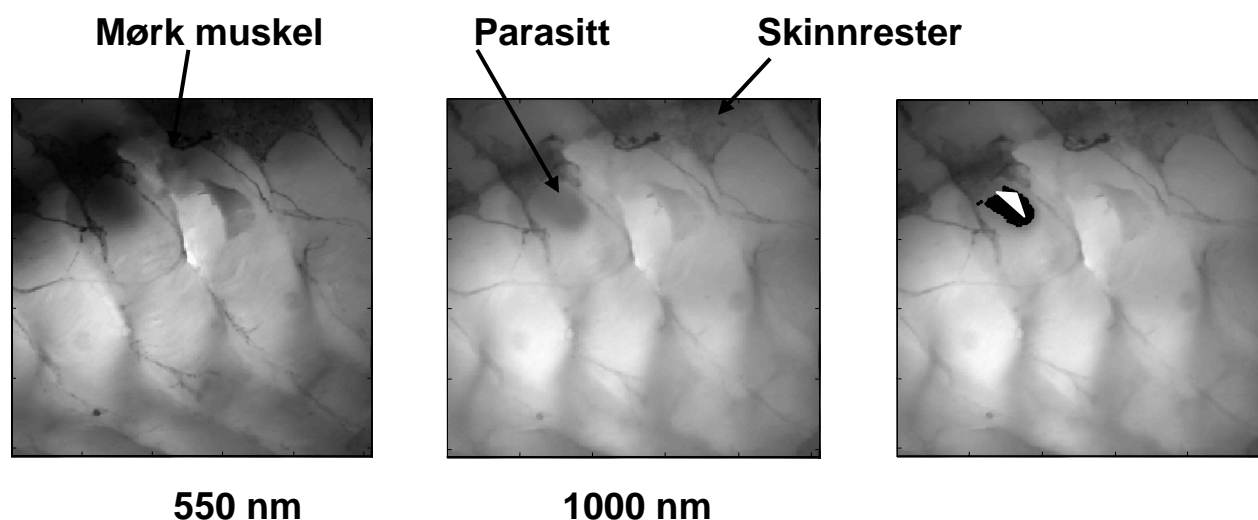
Figur 12 Øverste rad viser bilde av samme fiskeprøve, men med forskjellige parasitter. Parasittene er av ulik farge og er implantert på samme plass, ca 4-5 mm ned i fileten. Nederste rekke viser de samme bildene, men med klassifiseringsresultater. SIMCA modellen er basert på pikslene innenfor begge de hvite områdene. Modellen er så testet på alle pikslene i alle 3 bildene, og de svarte punktene angir dem som er klassifisert som "kveis".

Klassifisering ble gjort på samme vis som i eksempel 1. Det er interessant at en modell basert på de to mørkeste parasittene er i stand til å påvise den lyse parasitten. Man kunne tenke seg at om man bare bruker NIR kanaler i modellene, så ville man være uavhengig av fargen på parasitten. Det viser seg imidlertid at uten fargekanalene blir klassifiseringen vesentlig dårligere. Likedan, om man lager modell

uten NIR kanalene, så blir klassifiseringen meget upresis. En konklusjon er dermed at det er nødvendig å ha med både synlige og NIR kanaler for å få til best mulig klassifisering.

Eksempel 3

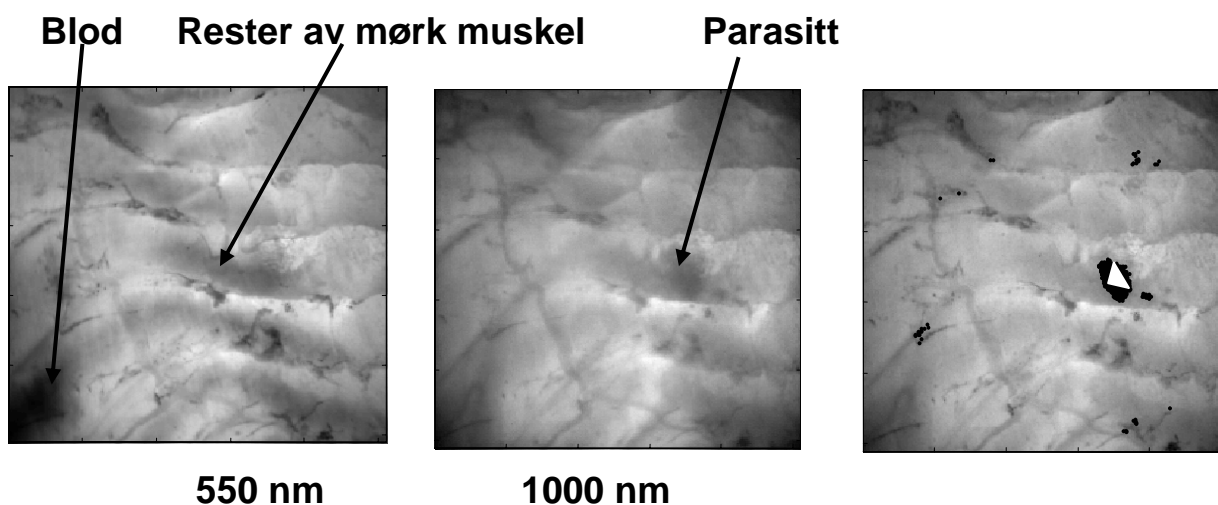
Dette eksempelet viser klassifisering av en parasitt som ligger under og delvis til siden for mørk muskel. Parasittene var umulig å påvise ved vanlig inspeksjon på lysbord, hovedsakelig fordi den var skjult av den mørke muskelen. Det er mulig å få inntrykk av dette ved å se på bildet ved 550 nm (figur 13). Ved 1000 nm er parasitten synlig, på grunn av lavere absorbans i den mørke muskelen. En 4 komponents SIMCA modell basert på cirka 1/3 av parasitten (indikert til høyre i Figur 13) kunne klassifisere resten av bildet uten feilklassifiseringer. Dette indikerer at det er mulig å påvise parasitter i eller under mørk muskel. Dette vil trolig være meget vanskelig ved menneskelig inspeksjon.



Figur 13 Prøve der parasitten ligger delvis under mørk muskel. Høyre bilde viser området som SIMCA modellen var basert på (hvit trekant), og pikslene som den klassifiserer som "kveis" (svarte punkter).

Eksempel 4

Siste eksempel viser en parasitt som ligger ca. 6 mm ned i fileten. Den var ikke synlig ved manuell inspeksjon. Igjen kan det sees at parasitten er vanskelig å se i det synlige området (550 nm), mens en vag skygge er fremtredende i NIR området (Figur 14). En 2 komponents SIMCA modell basert på ca. halve parasitten klassifiserer resten av parasitten og i tillegg noen piksler knyttet til hovedsakelig bindevev.



Figur 14 Bilde av filet med dyptliggende kveis (ca. 6 mm). Parasitten er delvis skjult av et tynt lag med mørk muskel. Høyre bilde viser området som SIMCA modellen var basert på (hvit trekant), og pikslene som den klassifiserer som "kveis" (svarte punkter).

5.2 Oppsummerende diskusjon

Eksemplene indikerer at det er mulig å segmentere parasittene basert på kun spektrale egenskaper. Både lett synlige og dyptliggende parasitter ser ut til å ha spektrale signaturer som er tilstrekkelig for en rimelig god klassifisering. En slik spektral tilnærming til problemet er trolig overlegen i forhold til metoder som baserer seg på kun morfologisk segmentering i gråtone eller fargebilder. Morfologiske metoder vil være vanskelige å bruke, siden parasittene i utgangspunktet kan ha enhver form, og ofte kan de ligne på normale strukturer i fileten. I en reell prototype, vil en kombinasjon av de to metodene være nødvendig. Første steg vil være en spektral gjennomgang av fileten. Andre steg vil være å raffinere klassifiseringsresultatet ved bruk av et eller flere morfologiske filtre for å fjerne feilklassifiseringer.

SIMCA klassifisering ser ut til å være en egnet metode for problemstillingen. En vesentlig fordel er at ikke alle pikslene i bildet må tilskrives en klasse når man lager modeller. Kun piksler som tilhører parasitter blir modellert som "kveis", mens alle andre piksler (fra skinn, lys og mørk muskel, blod, bein etc.) blir ikke modellert i det hele tatt. I komplekse bilder som dette, kan dette være en nødvendig tilnærming. Grunnen til at PLS ikke egnet seg var at "ikke kveis" klassen var for variert til at det var mulig å lage en god modell. Med SIMCA kunne vi tilsvarende lage en egen modell som påviser blodflekker om vi ønsket det.

Det nødvendige antall komponenter i modellene varierer trolig med parasittens egenskaper, samt dens posisjon i fileten. En modell for deteksjon av mørk brune parasitter i lys muskel trenger muligens færre komponenter enn en modell som skal påvise lyse parasitter i mørk muskel. Det er opplagt at det er nødvendig å lage flere

ulike modeller for å gjennomføre en vellykket screening av fileter. Modeller må designes for å søke etter parasitter på forskjellige dybder og av ulik farge. Egne modeller for mørk og lys muskel bør også utvikles. Vår erfaring tilsier også at egne modeller for skinnside og innside av filetene også bør lages. Det siste har å gjøre med at muskelstrukturen på de to sider er forskjellig, og vil resultere i ulike spektrale egenskaper. Hver modell bør baseres på flere parasitter for å oppnå tilfredsstillende robusthet.

Resultatene indikerer at bilder i NIR området har potensiale til å "se" dypere enn de i det synlige området. Dette stemmer overens med det som er rapportert av Petursson (1991). Resultatene understreker imidlertid, at en kombinasjon av synlig og NIR trolig vil gi de beste resultatene. Særlig fargefiltre rundt 500-550 nm er nødvendige for å separere parasitter fra blod, mørk muskel og skinnrester.

Man må huske at disse forsøkene er gjort under forholdsvis ideelle forhold. Den største forskjellen fra en reell fileteringslinje, er at alle prøver hadde en fast tykkelse på 2 cm. Forsøkene har vist at SIMCA klassifiseringen er sensitiv til variasjoner i lysintensitet. I et reelt system er det derfor viktig å normalisere bildene med hensyn til intensitet ved å kompensere for tykkelsesvariasjoner. Det eksisterer kommersielt tilgjengelige kamerasystemer som kan måle tykkelsesfordeling på fileter, så dette bør være mulig.

Andre krav til et slikt system; et sensitivt kamera med god oppløsning, en bredbånds lyskilde samt de nødvendige filtre. Alt utstyr er lett tilgjengelig hyllevare. Det vil imidlertid være en utfordring å designe et system som kan ta for eksempel 8 bildekanaler og prosessere disse når kravet fra fiskerinæringa er én fillet per sekund.

Avslutningsvis må det påpekes at fiskemuskel er et særdeles komplekst råmateriale, særlig med tanke på optiske egenskaper. Lysspredning og absorpsjon vil definere de målte egenskapene som et klassifikasjonssystem må ta utgangspunkt i. Disse egenskapene vil sannsynligvis variere med fiskens kvalitet; ferskhet, fangstmetode, pre-prosessering, størrelse og fangstsesong. Systematiske undersøkelser av ulike typer råstoff må utføres for å evaluere metoden og dens robusthet.

6. KONKLUSJON

Nematoder i torskefileter kan påvises automatisk basert på spektrale egenskaper ved bruk av multispektrale bilder og SIMCA klassifisering. Metoden er sensitiv til dybde og farge på parasittene, samt det omkringliggende muskelvevet. Spesifikke klassifikasjonsmodeller må derfor designes for de ulike tilfellene. Bilder i det nær-infrarøde området har potensiale til å "se" dypere liggende kveis (ned til ca. 6 mm) bedre enn bilder i det synlige området, men best resultat oppnås ved å kombinere bildekanaler fra begge områdene. Metoden har potensiale for implementering innen dagens fiskeforedlinglinjer, men adskillig arbeid gjenstår for å evaluere og teste metoden.

7. FORMIDLING

Internasjonale vitenskapelige publikasjoner

Jens Petter Wold, Frank Westad and Karsten Heia. 2001. Detection of parasites in cod fillets by using SIMCA classification in multispectral images in the visible and NIR region. Submitted to Applied Spectroscopy.

Foredrag

Jens Petter Wold. 2001. Deteksjon av parasitter i fisk ved bruk av multispektrale bilder og SIMCA klassifisering. 13. Norsk kjemometrisymposium. Geilo 19.-21. mars

Jens Petter Wold, Knut Kvaal & Karsten Heia. 2000. Spectral imaging of foods. NOBIM konferansen. Trondheim

Jens Petter Wold og Karsten Heia. 2000. Deteksjon av kveis i fiskefileter???
Temadag om fisk, Matforsk

Matnyttig: har du denne også, en

Referanser

Edwards Jackson, J. 1991. A users guide to Principal Components. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Jensen, A. Aa., Reenberg S. And Munck L. 1989. Fluorescence analysis in fish and meat technology. In *Fluorescence analysis in foods* ed. Munck L. Longman Scientific & Technical, New York.

Peturson, J. 1991. Optical spectra of fish flesh and quality defects in fish in Fish Quality Control by Computer Vision ed. L. F. Pau. and R. Olafsson. Marcel Dekker, New York.

Wold, J. P. Rapid quality assessment of meat and fish by using near-infrared spectroscopy, autofluorescence spectroscopy and image analysis. 2000. Doctor scientiarum thesis (2000:3) , Agricultural University of Norway.

Wold, S., 1976. Pattern recognition by means of disjoint principal component models. Pattern recognition 8, 127-139.



Fiskeriforskning

Hovedkontor Tromsø:
Muninbakken 9-13
Postboks 6122
N-9291 Tromsø
Telefon: 77 62 90 00
Telefaks: 77 62 91 00
E-post: post@fiskeriforskning.no

Avdelingskontor Bergen:
Kjerreidviken 16
N-5141 Fyllingsdalen
Telefon: 55 50 12 00
Telefaks: 55 50 12 99
E-post: office@fiskeriforskning.no

Internett: www.fiskeriforskning.no

ISBN 82-7251-471-0
ISSN 0806-6221