



Caracterización Experimental de Sistemas de Iluminación  
para el diagnóstico del Melanoma Cutáneo Mediante  
Imágenes Ópticas Multiespectrales

Tesis que presenta:

**Ing. Román Díaz Reyes**

Para obtener el grado de:  
MAESTRO EN CIENCIAS

En la especialidad de:  
COMPUTACIÓN ÓPTICA

Asesor de tesis:

Dra. Margarita Cunill Rodríguez

Co-asesor de tesis:

Dr. José Alberto Delgado Atencio

Tulancingo de Bravo, Hidalgo  
Octubre 2016

©UPT 2016

El autor otorga a la UPT el permiso de reproducir y distribuir copias en su totalidad o en partes de esta tesis

U

P

T

# Dedicatoria

*A mi familia que siempre ha estado conmigo y me ha apoyado incondicionalmente, en especial a mis padres: Nazario Díaz Cruz y Reyna Reyes Luna que han dado su máximo esfuerzo en mi formación profesional.*

*A mis hermanos y amigos por hacer de este viaje por la vida una experiencia única y compartir conmigo su preciado tiempo.*

*A mi familia de la fe cristiana porque han sido parte importante de mi vida y de mi transformación como un mejor ser humano.*

# Agradecimientos

A mi Señor Jesucristo por ser mi amigo fiel en todo momento y mi sustento en cualquier situación, por difícil que parezca. Por ser de quién tomo fuerzas cuando las mías se agotan y de quién aprendí que si alguno profesa ser sabio, tiene que hacerse ignorante para así llegar a ser sabio, lo cual me ha ayudado a mantenerme siempre en constante aprendizaje en la escuela de la vida, desechando lo malo y reteniendo lo bueno.

A mis asesores: Dra. Margarita Cunill Rodríguez y Dr. José Alberto Delgado Atencio, quienes además de compartir conmigo sus conocimientos y experiencias, los cuales son invaluable, me brindaron su amistad.

A mis profesores del cuerpo de investigación de la maestría en computación óptica, junto a mis asesores, el Dr. Alfonso Padilla Vivanco, el Dr. José Gabriel Ortega Mendoza, la Dra. Carina Toxqui Quitl, el Dr. Enrique González Gutiérrez, el Dr. Sergio Vazquez y Montiel y en el especial al Dr. Juan Carlos Valdiviezo Navarro por apoyarme desde el principio hasta el final del desarrollo de este posgrado.

A mis compañeros de generación por hacer un ambiente agradable y una estancia digna de extrañar en la universidad y a los cuales les deseo mucho éxito en el camino que emprendan.

A la universidad politécnica de Tulancingo por todo lo que representa como institución y a académico y administrativo que día a día hace su mayor esfuerzo por crear los profesionistas que nuestro amado México necesita.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de maestría otorgada, una de las partes fundamentales que hicieron posible la realización de este posgrado.

# Resumen

El diagnóstico temprano de la mayoría de las enfermedades que preocupan a la sociedad actualmente conduce a la oportunidad de que ésta pueda ser erradicada o en su defecto, de que el individuo tenga una mejor calidad de vida, con el medicamento adecuado. En el caso de las lesiones pigmentadas de la piel, en este caso del melanoma cutáneo nodular (tipo de melanoma más común en la población mexicana), la posibilidad de erradicar el cáncer es de aproximadamente un 90% cuando se detecta a tiempo.

Existen diversas técnicas que se utilizan para el análisis de una lesión pigmentada de la piel, entre las más destacadas se encuentran: la inspección visual por parte de un dermatólogo especialista, la dermatoscopia digital y el uso de imágenes multiespectrales. El dispositivo IME fue desarrollado con el objetivo de usarlo como una herramienta de diagnóstico auxiliar en la detección de melanoma cutáneo, sin embargo éste requiere de mejoras en el método de obtención de información, análisis de los datos y finalmente la detección del melanoma cutáneo.

En éste trabajo se realiza un análisis teórico experimental del dispositivo IME considerando las tres áreas ya mencionadas, se trabajó en optimizar la fuente de iluminación, se optimizó la adquisición de las imágenes multiespectrales y mediante un programa creado en MATLAB es posible obtener el espectro de reflexión de una muestra biológica o no biológica. También se trabajó sobre un método de oximetría de retina como teoría base para poder hacer posteriormente este tipo de mediciones en la piel.

# Abstract

Early diagnosis of most diseases that concern society today leads to the opportunity that it can be eradicated or, failing that, that the individual has a better quality of life, with the right medication. In the case of pigmented skin lesions, in this case, nodular melanoma skin (most common type of melanoma in the Mexican population), the possibility of eradicate nodular melanome is approximately 90% when detected early.

There are several techniques used for the analysis of a pigmented skin lesion, among the most prominent are: the visual inspection by a specialist dermatologist, digital dermoscopy and use of multispectral images. The IME device was developed with the aim to use it as a tool diagnostic, for aid in the detection of cutaneous melanoma; however this requires improvements in the method of obtaining information, data analysis and fundamentally detection of cutaneous melanoma.

In this work an experimental theoretical analysis of the device is IME considering the three areas already mentioned, we worked on optimizing the light source, the acquisition of multispectral images are optimized and by a program created in MATLAB is possible to obtain the reflection spectrum a biological or non-biological sample. We also worked on a method of oximetry theory retina as a base to subsequently make such measurements on the skin.

# Índice

	Pág.
Capítulo 1: INTRODUCCIÓN	11
1.1 Motivación	14
1.2 Justificación	14
1.3 Objetivo general	15
1.4 Objetivos particulares	15
Capítulo 2: FUNDAMENTOS TEÓRICOS	16
RESUMEN	16
2.1 INTERACCIÓN DE LA LUZ CON MEDIOS TURBIOS	17
2.1.1 Reflexión y refracción	17
2.1.2 Absorción	19
2.1.2.1 Coeficiente de absorción	20
2.1.2.2 Principales cromóforos de la piel	21
2.1.3 Esparcimiento	21
2.1.3.1 Coeficiente de esparcimiento	22
2.1.3.2 Función de fase	23
2.1.3.3 Principales centros de esparcimiento de la piel	24
2.1.4 Recorrido libre medio	25
2.1.4.1 Recorrido libre medio típico	25
2.1.4.2 Profundidad de penetración óptica	25
2.1.5 Simulación de la reflexión difusa usando el método Monte Carlo Multi Layer	26
2.2 IMÁGENES MULTIESPECTRALES (IME)	28
2.2.1 Formación de imágenes	28
2.2.1.1 Ecuación de Gauss para lentes delgadas	29
2.2.1.2 Relación de dimensión imagen/objeto	30

2.2.1.3 Campo visual	31
2.2.1.4 Tipos de objetos luminosos	32
2.2.2 Sensores de cámaras digitales	33
2.2.2.1 Tipos de sensores	33
2.2.2.2 Eficiencia cuántica	34
2.2.2.3 Profundidad de bit, nivel de gris y rango dinámico	36
2.2.3 Adquisición de imágenes multiespectrales	37
2.2.3.1 Métodos de adquisición	37
2.2.3.2 Espectros de reflexión difusa a partir de IME	41
2.2.3.3 Corrección mediante estándar de reflexión difusa	42
2.3 MODELADO DEL PERFIL LUMINOSO DE LA FUENTE DE ILUMINACIÓN	44
2.3.1 Esquema óptico de la fuente de iluminación	44
2.3.1.1 Bulbo	44
2.3.1.2 Espejo elipsoidal	47
2.3.1.3 Espejo dicróico	48
2.3.1.4 Barra cilíndrica de acrílico	48
2.3.2 Simulación mediante ZEMAX	49
2.3.2.1 Parámetros de la simulación	49
2.3.2.2 Especificación de la fuente y el detector	50
2.3.2.3 Resultados y análisis	50
2.4 REFERENCIAS	52
Capítulo 3: IMPLEMENTACION Y CARACTERIZACIÓN DE UN SISTEMA DE ILUMINACIÓN MULTIESPECTRAL BASADO EN EL USO DE FILTRADO ÓPTICO SINTONIZABLE POR COMPUTADORA.	
RESUMEN	55
3.1 MATERIALES	56
3.1.1 Fuente de iluminación Fiber-Lite MH100	56



3.1.2 Filtro óptico sintonizable VariSpec (VIS)	58
3.1.3 Cámara digital monocromática Point Grey Flea3	59
3.1.4 Lente formador de imágenes computar M2514-MP2	61
3.1.5 Medidor de potencia Newport 2935T-C	63
3.1.6 Detector del medidor de potencia luminosa 918D-SL-OD1	64
3.1.7 Mini-espectrómetro USB4000	65
3.1.8 Fuente de iluminación de halógeno HELLA modelo H7-70	68
3.2 METODOLOGÍA	69
3.2.1 Caracterización de la fuente de iluminación Fiber-Lite MH100	69
3.2.2 Caracterización de una fuente de iluminación basada en una lámpara de halógeno de 70 W.	71
3.2.3 investigación del perfil del haz de iluminación del arreglo SAIME compacto.	72
3.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES	77
3.3.1 Caracterización de la fuente de iluminación Fiber-Liber MH100.	77
3.3.2 Caracterización de una fuente de iluminación basada en una lámpara de halógeno de 70 W.	81
3.3.3 Investigación del perfil de iluminación del arreglo SAIME compacto.	84
3.4 CONCLUSIONES	87
3.5 REFERENCIAS	88
Capítulo 4: SISTEMA DE ADQUISICIÓN Y ANÁLISIS DE IMÁGENES MULTIESPECTRALES.	
RESUMEN	89
4.1 MATERIALES	90
4.1.1 Sistema de iluminación basado en leds.	90
4.1.2 Led de montaje superficial de emisión 610 nm.	91
4.2 METODOLOGÍA	91

4.3 RESULTADOS OBTENIDOS	98
4.3.1 Captura de imágenes multiespectrales.	98
4.3.2 Espectro de reflexión a partir de imágenes multiespectrales.	100
Capítulo 5: MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LA RETINA.	
RESUMEN	107
5.1 INTRODUCCIÓN	108
5.2 MATERIALES	108
5.2.1 Cámara con sensor CMOS de uso científico (sCMOS)	108
5.2.2 computadora de escritorio ensamblada.	111
5.2.3 Microscopio óptico de retina.	111
5.2.4 Tarjeta USAF 1951.	112
5.2.5 Fuente de iluminación.	112
5.2.6 Filtro Newport 549 nm.	112
5.3 METODOLOGÍA	113
5.4 RESULTADOS	120
5.5 CONCLUSIONES	122
5.6 BIBLIOGRAFÍA	123
	124
Capítulo 6: CONCLUSIONES GENERALES	125
Anexos	128
Índice de tablas	135

# Capítulo 1

## INTRODUCCIÓN

Existen diferentes métodos de detección y dependiendo de la aplicación, la complejidad del detector puede ser mínima, o muy alta. Entre los sistemas de detección se encuentran los llamados, sistemas de visión por computadora, que no son más que sistemas que con ayuda de cámaras y procesamiento digital, son capaces de detectar o cuantificar, de acuerdo a ciertos algoritmos pre-programados, una cierta característica de algo o alguien.

Los sistemas de visión por computadora, en especial los que usan cámaras tienen diversas aplicaciones, entre ellas se encuentran las aplicaciones climáticas que hacen uso de cámaras infrarrojas para el censado remoto de las condiciones atmosféricas, aplicaciones de control de calidad en trenes de producción y el área de aplicaciones biomédicas. El área de aplicaciones biomédicas tiene una extensa cantidad de sub campos de aplicación específica, sobre todo por la capacidad, no invasiva de estos sistemas, de extraer información, con la ayuda de algoritmos computacionales específicos, de los tejidos biológicos.

Según datos de la sociedad mexicana de oncología, existen alrededor de 1000 casos de melanoma cutáneo maligno entre la población mexicana y su incidencia se duplica cada diez años, mientras que el 15 % de la población

## Capítulo 1. Introducción

diagnosticada con el melanoma maligno muere por causa de la enfermedad. Entre los métodos de detección, existe el método de inspección visual realizado por los dermatólogos utilizando la conocida regla ABCDE, la cual adquiere su nombre debido a los aspectos visuales que considera del melanoma cutáneo, las cuales son: Asimetría, Bordes, Color, Diámetro y Evolución; sin embargo, también existen los métodos óptico electrónicos de una rama de la tecnología biomédica llamada: dermatoscopia digital.

La dermoscopia digital es usada como un método no invasivo de valoración de lesiones pigmentadas en la piel y constituyen una herramienta de diagnóstico clínico, entre estos instrumentos ópticos electrónicos figuran dos, que son los mayormente usados en el ámbito de detección de cáncer de piel del tipo melanoma, los cuales son: El MelaFind y el SpectroShade. El dispositivo MelaFind es usado en la detección de melanoma maligno y su uso está aprobado por la asociación estadounidense de control de medicamentos e instrumentos de diagnóstico (FDA por las siglas en inglés de *Food and Drug Administration*); sin embargo, también existe el Spectro Shade, el cual no fue diseñado específicamente para la detección del melanoma cutáneo sino que su funcionamiento se centra en la detección de la concentración de tres sustancias fundamentales de la piel: sangre, melanina y colágeno en las zonas de las dermis y la epidermis de la piel.

En el campo de los instrumentos de detección del melanoma cutáneo, en la universidad politécnica de Tulancingo se desarrolló un sistema de adquisición de imágenes multiespectrales, como parte de trabajo de tesis de maestría de la maestra Alicia Montserrat Godínez, en un proyecto PROMEP dirigido por el Dr. José Alberto Delgado Atencio. El dispositivo desarrollado recibió el nombre de IME por el acrónimo de imágenes multi-espectrales. El dispositivo IME es controlado por el software MATLAB R2012a y se auxilia del uso de una tarjeta Arduino Leonardo como medio de control de la

iluminación espectral. Este dispositivo fue probado en elementos imitadores de tejido, denominados phantoms (en inglés), siendo estos los descriptores usados para la primera caracterización del sistema.

El dispositivo IME fue desarrollado por la necesidad que representa el que, la mayoría de los dispositivos como los mencionados anteriormente, hayan sido diseñados para personas de piel con tonos claros, pues al ser usados en personas con tonos de piel más oscuros la efectividad de dichos dispositivos disminuye. También al problema de las zonas de desarrollo tecnológico de los dispositivos se suma el problema del costo, el cual es muy elevado en países de tercer mundo, en los cuales el adquirirlos se convierte en un problema, por ejemplo, un dispositivo MelaFind tiene un precio de \$ 5000.00 USD.

El dispositivo IME desarrollado tiene la ventaja de ser relativamente barato en comparación con los ya existentes, por ello en esta tesis se ha dedicado a la mejora de dicho dispositivo.

El primer aspecto a considerar en la mejora del dispositivo IME, es la optimización de la fuente de iluminación espectral, para lo cual se realizó un análisis del desempeño de tres diferentes fuentes de iluminación monocromática y, posteriormente, se compararon espectralmente entre sí. También se realiza un análisis teórico del desempeño de nuevas fuentes de iluminación que funcionan a base de tecnología de estado sólido. Se realizaron mejoras en el programa de adquisición de imágenes multiespectrales y se implementó un método de extracción de la información de la reflexión difusa para muestras de indistinta naturaleza en el rango espectral de los 400 nm a los 700 nm de longitud de onda del espectro electromagnético. Como último aspecto de mejora del dispositivo IME, se proponen LEDs de montaje superficial para aumentar la practicidad del

dispositivo, para su uso en ambientes clínicos.

### 1.1 MOTIVACIÓN

Los dispositivos creados para la detección del melanoma cutáneo han sido desarrollados para personas de tez blanca, mientras que en las personas de tez morena u oscura la efectividad del dispositivo disminuye, los tres primeros tienen también el inconveniente de ser muy costosos, por ejemplo un dispositivo MelaFind cuesta unos \$ 5 000.00 USD, lo cual dificulta que todos puedan tener acceso, el equipo desarrollado por la Mtra. Alicia Montserrat Godínez tiene un costo relativamente menor sin embargo tiene algunas deficiencias que se pudieran mejorar. Por ejemplo el sistema de iluminación no fue optimizado para la adquisición de las imágenes, el rango espectral no llega al infrarrojo, usar más profundidad de bits, pues solo se trabaja con una profundidad de 8 bits, pero la cámara usada (pointgrey FL3-U3), puede llegar a una profundidad de hasta 16 bits en escala de grises.

### 1.2 JUSTIFICACIÓN

El proyecto realizado para la creación del dispositivo IME tiene importantes avances teniendo un diseño sencillo pero muy funcional, sin dejar de mencionar que su construcción no tendría un precio tan elevado como el de los dispositivos que existen actualmente en el mercado, sin embargo existen algunas deficiencias en el sistema de adquisición de imágenes pues no fue optimizado para las zonas espectrales en los que se obtiene la información sobre los cromóforos presentes en la piel, se asignó un rango de operación e iluminación en las zonas espectrales muy cercanas a los picos de absorción de la hemoglobina, de la bilirrubina y de la melanina, sin embargo no se obtuvieron resultados significativos en el área del infrarrojo cercano, el cual brinda información sobre la concentración de la

melanina.

Las imágenes multi-espectrales son de utilidad para conocer el espectro de absorción de una sustancia, motivo por el cual es necesario aumentar el número de bandas espectrales de modo que se simulará el funcionamiento del dispositivo usando la información de elementos electrónicos y las propiedades ópticas de la piel para, de ser posible, hacer las mejoras físicas y probarlo de acuerdo a los resultados obtenidos en la simulación.

### **1.3 OBJETIVO GENERAL**

Dominar la simulación teórica de sistemas de iluminación multi-espectrales con vista a pre-evaluar el desempeño de prototipos de laboratorio y de uso clínico.

### **1.4 OBJETIVOS PARTICULARES**

- Añadir bandas espectrales al sistema de adquisición de manera que se obtenga su espectro de reflexión.
- Seleccionar las bandas óptimas disponibles en iluminación con LEDs para el sistema de adquisición de imágenes.
- Hacer mejoras en el hardware del dispositivo en iluminación y en el software de adquisición de imágenes.

# Capítulo 2

## FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### RESUMEN

En este capítulo de tesis se abordan algunos principios básicos de óptica y de interacción de la luz en los tejidos biológicos, así como el método de simulación de interacción de la luz en medios multicapa, llamado método Monte Carlo Multi-Layer. También se tratan algunos conceptos usados en el área de adquisición de imágenes multiespectrales en tres campos principales: 1) formación de imágenes, 2) tipos de sensores digitales y 3) sistemas de adquisición de imágenes multiespectrales.

En el apartado final se incluye información general sobre el funcionamiento de una fuente de iluminación donde, haciendo uso del software comercial ZEMAX, se realiza la simulación del desempeño de una fuente de iluminación con espejo elipsoidal cuyo haz emitido es homogeneizado mediante una barra cilíndrica hecha de vidrio BK7, en la cual se analiza la homogenización de dicha barra en dependencia de su longitud.



## 2.1 INTERACCIÓN DE LA LUZ CON MEDIOS TURBIOS

### 2.1.1 Reflexión y refracción

La reflexión es uno de los fenómenos ópticos macroscópicos más fáciles de detectar en la vida cotidiana, por ejemplo: cuando alguien se mira al espejo, al observar las montañas en la superficie un lago o en los colores de los objetos. Este fenómeno ocurre cuando un haz luminoso incide sobre algún objeto, parte del haz es esparcido elásticamente, en la superficie del objeto, hacia atrás, este fenómeno es conocido como reflexión. La refracción sin embargo ocurre cuando un haz luminoso, que incide sobre una interfaz con un índice de refracción relativo diferente de 1, se dobla o cambia su dirección acercándose o alejándose de la normal a la interfaz (este fenómeno óptico es mayormente observable cuando el haz luminoso es delgado). Cuando el rayo pasa de un medio con menor índice de refracción a otro con mayor índice de refracción, éste se acerca a la normal de la interfaz, cuando pasa de un medio con mayor índice de refracción a otro con menor índice de refracción, éste se aleja de la normal, debido a que la velocidad de la luz cambia inversamente proporcional al índice de refracción, cuánto mayor es éste, menor es la velocidad de la luz en el medio.

El índice de refracción de un medio se encuentra definido por la siguiente igualdad:

$$n = \frac{c}{v} \quad (1)$$

Dónde  $n$  es el índice de refracción,  $c$  es la velocidad de la luz en el vacío y  $v$  es la velocidad de la luz en el medio.

La refracción a nivel macroscópico se rige mediante la conocida ley de Snell, en honor a Willebrord Snell Van Royen (1591-1626), científico que la propuso. La ecuación de Snell, considera que los rayos incidentes, reflejados y refractados se encuentran en el plano de incidencia, el cual es perpendicular a la interfaz y paralelo a los rayos: incidente, transmitido y reflejado. La ley de Snell se expresa de manera matemática por la siguiente expresión:

$$n_i \sin(\theta_i) = n_t \sin(\theta_t) \quad (2)$$

Donde  $n_i$  es el índice de refracción del que proviene el rayo luminoso,  $\theta_i$  es el ángulo de incidencia del rayo con respecto al vector normal de la interfaz en el plano de incidencia,  $n_t$  es el índice de refracción al que el rayo se está transmitiendo y  $\theta_t$  es en ángulo de transmisión con respecto a la normal de la interfaz en el plano de incidencia con el que el rayo se ha transmitido [1].

En la figura 2.1 se ejemplifica de una forma simplificada los fenómenos ópticos de reflexión y refracción.

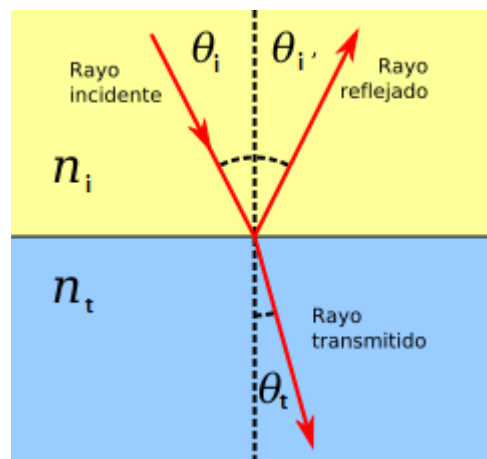


Figura 2.1. Reflexión y refracción en un medio donde  $n_t > n_i$ . Figura tomada de la referencia [2] y modificada ligeramente por el autor de esta tesis.

### 2.1.2 Absorción

Para explicar el fenómeno óptico de la absorción se usará una analogía simple: Si se colocan dos campanas completamente idénticas, si se golpea una campana, ésta producirá vibraciones y la otra simpáticamente vibrará a la misma frecuencia a través de la transferencia de energía, debida al golpe de la campana. La resonancia de la segunda campana tendrá la frecuencia de la señal de la primera campana y por lo tanto la segunda campana absorbe la energía de la campana golpeada.

Para el caso de los fotones, los cuales son ondas electromagnéticas con una frecuencia de vibración y las moléculas, que son sistemas con cargas separadas (campo eléctrico negativo y núcleo positivo), el estado de la separación de las cargas moleculares puede cambiar en una forma cuantificada mediante la absorción de la energía de un fotón, por lo tanto la frecuencia del fotón debe coincidir con la frecuencia asociada con la transición de energía para que la transferencia se produzca y haya absorción de energía radiante en un medio dado. La relación entre frecuencia y energía se encuentra expresada matemáticamente por la ecuación de la energía de un fotón [3]:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (3)$$

Donde E es la energía [Joules], h es la constante de Planck ( $6.62606957(29) \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$ ),  $\nu$  es la frecuencia del fotón [Hertz],  $\lambda$  es la longitud de onda [metros] y c es la velocidad de la luz en el vacío ( $299,792,458 \frac{\text{m}}{\text{s}}$ , que suele aproximarse a  $3 \times 10^8 \frac{\text{m}}{\text{s}}$ ).

### 2.1.2.1 Coeficiente de absorción

Considere un cromóforo ideal como una esfera con un tamaño definido. Considere que esta esfera bloquea la luz incidente y proyecta una sombra, esta sombra proyectada sería el equivalente a la absorción de una partícula. El tamaño efectivo de la sombra se conoce como sección transversal efectiva ( $\sigma_a$  [ $\text{cm}^2$ ]) y puede ser más pequeña o más grande que el tamaño geométrico del cromóforo ( $A$  [ $\text{cm}^2$ ]), y se encuentra relacionada por la constante de proporcionalidad llamada eficiencia de absorción [ $Q_a$ ] la cual es adimensional. La sección transversal efectiva se describe mediante la siguiente ecuación:

$$\sigma_a = Q_a A \quad (4)$$

El coeficiente de absorción  $\mu_a$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] describe un medio que contiene cromóforos en una concentración descrita como densidad volumétrica de partículas  $\rho_a$  [ $\text{cm}^3$ ]. El coeficiente de absorción es esencialmente el área de la sección transversal por unidad de volumen del medio ( $\mu_a = \sigma_a \rho_a$ ). En la figura 2.2 se ejemplifica un elemento absorbente sobre el cual incide un haz paralelo.

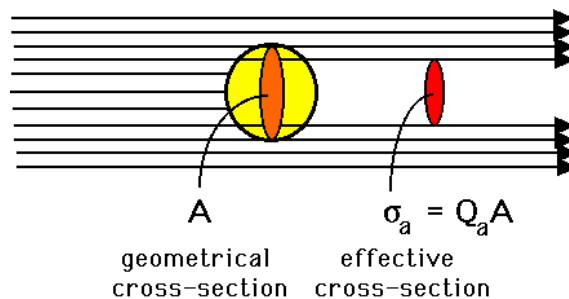


Figura 2.2. Imagen que ejemplifica la interacción de un medio absorbente cuando un haz paralelo incide sobre él [4].

Matemáticamente, la unidad [ $\text{cm}^{-1}$ ] para  $\mu_a$ , es longitud inversa,  $L$  [ $\text{cm}$ ] es

la longitud de camino que recorre el fotón a través del medio, por lo tanto el producto  $\mu_a L$  es adimensional. La probabilidad de supervivencia (transmisión) del fotón después de una longitud de camino  $L$  se calcula mediante la expresión:

$$T = \exp(-\mu_a L) \quad (5)$$

Esta expresión para la supervivencia del fotón es cierta independientemente de la trayectoria del fotón a través del múltiple esparcimiento en un medio óptico turbio [5].

### 2.1.2.2 Principales cromóforos de la piel

En la piel existen moléculas, llamadas cromóforos, que absorben la luz en determinadas longitudes de onda. Un cromóforo es un grupo funcional o parte de una molécula responsable de la absorción. Los principales cromóforos en la piel son la hemoglobina, la melanina y el agua. Entre las longitudes de onda de 600 nm a 1200 nm se tiene una ventana terapéutica debido a que estas longitudes de onda penetran profundamente en el tejido debido a los bajos coeficientes de absorción y esparcimiento en esas regiones del espectro electromagnético [6].

### 2.1.3 Esparcimiento

La mayor parte de la luz que observamos llega a nuestros ojos de forma directa o indirecta. Al observar un árbol, o una casa, se está observando luz solar de reflexión difusa. Al observar las nubes, o el cielo, se está observando luz solar producto del esparcimiento. Esparcimiento es un proceso de absorción y re emisión de fotones, sin pérdida de energía, pero con la posibilidad asociada, que tiene un cambio en la dirección de

propagación del fotón. [7].

### 2.1.3.1 Coeficiente de esparcimiento

El esparcimiento de la luz por una partícula esférica de cierto tamaño puede ser modelado por la teoría de Mie, la cual es reducida al caso de la teoría de Rayleigh si la partícula esférica es mucho más pequeña que la longitud de onda ( $\frac{\lambda}{10}$ ). En un medio que contiene un número considerable de elementos esparcidores con una distribución espacial aleatoria, los fotones usualmente tendrán múltiples eventos de esparcimiento. Si los esparcidores están escasamente distribuidos (cuando la media de la distancia entre partículas es mucho más grande que el tamaño del esparcidor y la longitud de onda juntos), el medio es considerado de baja densidad de esparcimiento. En este caso, los eventos de esparcimiento se consideran unitarios; por lo tanto, la teoría del esparcimiento simple se aplica a cada evento de esparcimiento, en otro caso, el medio es considerado de alta densidad de esparcimiento. En este apartado sólo se considerará el esparcimiento en medios considerados de baja densidad.

El coeficiente de esparcimiento  $\mu_s$ , está definido como la probabilidad de esparcimiento del fotón en un medio por unidad de longitud de camino. El coeficiente de esparcimiento tiene  $100 \text{ cm}^{-1}$  como valor representativo en tejidos biológicos. Para un esparcidor simple, la sección transversal de esparcimiento  $[\sigma_s]$ , que indica la capacidad de esparcimiento, está relacionada con su área de sección transversal geométrica  $[\sigma_g]$  a través de la eficiencia de esparcimiento  $[Q_s]$ :  $\sigma_s = Q_s \sigma_g$ . Para un medio que contenga muchos esparcidores con número de densidad  $N_s$ , el coeficiente de esparcimiento puede ser considerado como el área total de la sección transversal para esparcimiento por unidad de volumen:

$$\mu_s = N_s \sigma_s \quad (6)$$

La probabilidad de no esparcimiento (o transmitancia balística T) después de que un fotón se propague en una longitud de camino “x”, puede ser estimada mediante la ley de Beer:

$$T(x) = \exp(-\mu_s x) \quad (7)$$

[8]

### 2.1.3.2 Función de fase

Cuando ocurre el esparcimiento de la luz, la energía de ésta es redistribuida en todo el medio hasta ser absorbida o salir de éste; la función de fase describe esta redistribución. La función de fase media representa la probabilidad de que un flujo de energía que llega a un elemento de volumen  $dV$  a través de un ángulo sólido  $d\Omega'$  cuyo eje es paralelo a la dirección  $\vec{u}'$ , sea difundido hacia el segundo ángulo sólido  $d\Omega$  con eje paralelo a la dirección  $\vec{u}$ . Existen numerosas normalizaciones de la función de fase, entre las que se encuentra la expresada a continuación:

$$\frac{1}{4\pi} \int_0^{4\pi} p_v(\vec{u}, \vec{u}') d\Omega = 1 \quad (8)$$

Por otro lado, existe un factor que mide el grado de anisotropía esparcimiento, se define como el promedio del ángulo de esparcimiento ponderado por la función de fase y su valor varía entre 1 y -1.

$$g = \frac{1}{4\pi} \int_0^{4\pi} p_v(\vec{u}, \vec{u}') \vec{u} \cdot \vec{u}' d\Omega \quad (9)$$

En la figura 2.3 se ilustra la dependencia del esparcimiento del factor de anisotropía. [9]

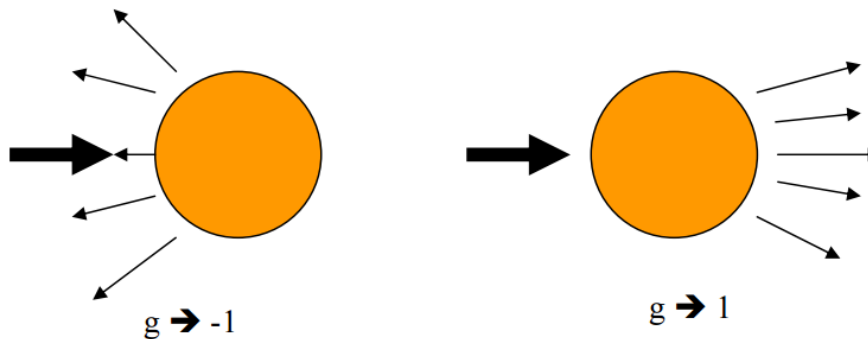


Figura 2.3 Esparcimiento de una partícula esférica [9].

### 2.1.3.3 Principales centros de esparcimientos de la piel

El esparcimiento óptico en tejidos biológicos se origina de la interacción de la interacción de la luz con estructuras, cuyo tamaño va de la membrana celular hasta la célula en sí. En la tabla 2.1 se muestran algunos de los centros de esparcimiento más importantes en las células.

**Tabla 2.1. Estructuras biológicas responsables del esparcimiento de fotones en los tejidos [7].**

Dimensiones	Estructura
Mayor a 10 $\mu\text{m}$	Células
Mayor a 1 $\mu\text{m}$ y menor a 10 $\mu\text{m}$	núcleo y mitocondrias de las células
Mayor a 0.1 $\mu\text{m}$ y menor a 1 $\mu\text{m}$	Lisosomas y vesículas
Mayor a 0.01 $\mu\text{m}$ y menor a 0.1 $\mu\text{m}$	Estrías en las fibrillas de colágeno Agregados macromoleculares
Menor a 0.01 $\mu\text{m}$	Membranas



### 2.1.4 Recorrido libre medio

La interacción de los fotones con diferentes estructuras celulares, da origen al fenómeno óptico llamado esparcimiento elástico. En el esparcimiento para estructuras biológicas, la reemisión tiene una alta probabilidad de ser en la dirección de propagación del fotón para cada evento de esparcimiento; sin embargo, la acumulación de múltiples eventos de esparcimiento resulta en una gradual aleatorización de la dirección de propagación.

#### 2.1.4.1 Recorrido libre medio típico

El recorrido libre medio típico (MFP, por las siglas en inglés de Mean Free Path) en los tejidos está definido como  $1/\mu_t$ , en donde  $\mu_t$  es el coeficiente de transporte, típicamente expresado como la suma del coeficiente de absorción del tejido ( $\mu_a$ ) y el coeficiente de esparcimiento del tejido ( $\mu_s$ ), tomando en cuenta que  $\mu_s \gg \mu_a$  en la mayoría de los tejidos [10], el recorrido libre medio típico se puede simplificar como:

$$MFP = 1/\mu_s \quad (10)$$

#### 2.1.4.2 Profundidad de penetración óptica típica

La profundidad de penetración óptica se define como el inverso del coeficiente de absorción decimal,  $a$ , la profundidad de penetración ( $1/a$ ) es la distancia a la cual la potencia radiante espectral  $P_t$ , disminuye hasta un décimo de su valor incidente  $P_\lambda^o$ . Si se usa el coeficiente de absorción neperiano  $\alpha$  (en este caso  $1/\alpha = \beta$ ), la profundidad de penetración es la distancia a la cual la potencia radiante espectral disminuye hasta  $1/e$  de su valor incidente [11].

### **2.1.5 Simulación de la reflexión difusa usando el método Monte Carlo Multi Layer (MCML).**

El método Monte Carlo es una colección de herramientas para estimar valores a través de muestreo y simulación. El método proporciona una solución aproximada a una variedad de problemas matemáticos realizando pruebas estadísticas en una computadora. En todas las aplicaciones del método Monte Carlo, se construye un modelo estocástico en el cual el valor esperado de una cierta variable aleatoria (o combinación de varias variables) es equivalente al valor de una magnitud física determinada.

Este valor esperado se estima con el promedio de múltiples muestras independientes representativas de la variable aleatoria introducida previamente. Para la construcción de la serie de muestras independientes, se usan números que siguen la distribución de la variable que se pretende estimar. El propósito del método es estimar magnitudes desconocidas que son de interés [12]. Al ser un método estadístico de aproximación de resultados, este método ha sido introducido en aplicaciones ópticas, uno de los códigos pioneros y bien probados en el modelado de la propagación de fotones, es el conocido Método Monte Carlo Multi Layer (MCML), el cual tiene un enfoque riguroso pero flexible para simular el transporte de fotones en un sistema multicapa. En este método, las normas locales de transporte de fotones se expresan como distribuciones de probabilidad que describen la distancia de propagación de los fotones entre los sitios de interacción con los tejidos y los ángulos de desviación en la trayectoria del fotón, cuando se produce esparcimiento.

En el método MCML se usan tres sistemas de coordenadas al mismo tiempo: un sistema de coordenadas cartesiano, un sistema de coordenadas polares y un sistema de coordenadas cilíndricas.

El sistema de coordenadas cartesiano se usa para el seguimiento de paquetes de fotones. El origen del sistema de coordenadas coincide con el punto de incidencia del haz sobre la superficie de medio, el eje  $z$  es normal a la superficie y apunta hacia el interior del tejido, y el plano  $xy$  está en la superficie del tejido.

El sistema de coordenadas cilíndrico se usa para registrar la absorción del fotón  $A(r, z)$ , donde  $r$  y  $z$  son la coordenada radial y el eje  $z$  del sistema de coordenadas cilíndrico respectivamente. La reflectancia difusa y la transmitancia total se almacenan en la superficie del tejido en las coordenadas  $R_d(r, \alpha)$  y  $T_t(r, \alpha)$  respectivamente, donde  $\alpha$  es el ángulo entre el fotón que termina y la dirección normal (el eje  $-z$  para la reflectancia y el eje  $z$  para la transmitancia) a las superficies del tejido.

El sistema de coordenadas esférico se mueve, su eje  $z$  se alinea dinámicamente con la dirección de propagación del fotón, se usa para probar el cambio de dirección de propagación de un paquete de fotones. En este sistema de coordenadas esférico, la desviación se actualiza en términos de los cosenos directores del sistema de coordenadas cartesiano.

El programa de propagación de fotones, en un medio turbio, MCML tiene la siguiente lógica de operación: se lanza un paquete de fotones con un peso de uno asignado, se encuentra la distancia de la primera interacción y el paquete de fotones se mueve, si el fotón ha dejado el tejido, se verifica la posibilidad de reflexión interna, si el fotón es reflejado internamente entonces se ajusta su posición adecuadamente y el programa continua, en caso en el que el fotón escapa, sólo se guarda el evento. Para los fotones con los cuales el programa sigue, una fracción del paquete de fotones se absorbe en cada paso del recorrido, se guarda esta fracción y se ajusta el peso del fotón.

Si el peso es mayor que un valor umbral mínimo, entonces el resto del paquete de fotones se esparce en una nueva dirección y se repite el proceso. Si el peso tiene un valor por abajo del mínimo, entonces se aplica un algoritmo para decidir terminar o continuar la propagación del fotón. Si el fotón es rechazado por el algoritmo, se finaliza el evento y se inicia un nuevo paquete de fotones [13].

### **2.1.6 Resultados de la simulación usando el método Monte Carlo Multi Layer**

Se realizó la simulación del esparcimiento en un medio con un índice relativo de 1.48, un coeficiente de absorción de 0.1, un factor de anisotropía de 0.9 y valores de coeficiente de esparcimiento para cada simulación de:  $100 \text{ cm}^{-1}$ ,  $120 \text{ cm}^{-1}$ ,  $140 \text{ cm}^{-1}$ ,  $160 \text{ cm}^{-1}$ ,  $180 \text{ cm}^{-1}$  y  $200 \text{ cm}^{-1}$ , en un medio semi-infinito para el cual se configuró el sistema coordenado de almacenamiento de la información con 0.005 cm de separación en la rejillas en la dirección de los ejes r y z, con un total de 200 elementos de rejilla para el registro del esparcimiento de fotones.

Se realizaron seis simulaciones, con tres millones de fotones lanzados para cada ocasión, en los cuales se observa el comportamiento del esparcimiento de la luz en el tejido en dependencia de dicho coeficiente. Los resultados se visualizan en el anexo 1.

## **2.2 IMÁGENES MULTIESPECTRALES**

### **2.2.1 Formación de imágenes**

Una lente es un elemento homogéneo, isótropo y transparente en el que al menos una de sus caras no es plana y cuya función es hacer converger o

divergir la luz. Normalmente su eje de simetría coincide con el eje óptico, por su forma física, existen diferentes tipos de lentes con geometría: biconvexa, plano-convexa, menisco (positivo o negativo), plano cóncava y bicóncava. Cuando el grosor de la lente es despreciable frente a los radios de curvatura de sus caras se habla de lentes delgadas.

Dependiendo de la lente (convergente o divergente), se formará una imagen del objeto del cual provienen la luz y ésta puede ser real (aquella formada por rayos convergentes que pueden ser recogidos sobre una pantalla o una placa fotográfica) o virtual (imagen meramente subjetiva que no podría ser recuperada mediante una pantalla o película fotográfica, debido a que está formada por rayos divergentes).

### 2.2.1.1 Ecuación de Gauss para lentes delgadas

La ecuación para lentes delgadas, formada por superficies refractoras:  $R_1$  y  $R_2$ , que limitan un material dieléctrico transparente de índice de refracción  $n$  y situada en el aire es:

$$\frac{1}{s'} - \frac{1}{s} = (n - 1) \left( \frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2} \right) \quad (11)$$

Donde  $s$  es la distancia del objeto a la lente y  $s'$  es la distancia de la lente a la imagen del objeto y  $R_1$  junto a  $R_2$  son los radios de curvatura de las superficies esféricas que conforman la lente de índice de refracción  $n$

La ecuación 11 conocida como: fórmula de Gauss para lentes delgadas, también se escribe como:

$$\frac{1}{s'} - \frac{1}{s} = \frac{1}{f} \quad (12)$$

Dónde  $f$  es la distancia focal de la lente, la cual de las ecuaciones (11) y (12) se puede reescribir como:  $\frac{1}{f} = (n - 1)\left(\frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2}\right)$ . Como se puede observar en la ecuación (12), teniendo dos parámetros se puede calcular el tercero.

En la figura 2.4 se muestra un esquema de la formación de la imagen de un objeto luminoso por una lente delgada. Obsérvese que el rayo luminoso (1) que incide paralelo a eje óptico después de refractarse por la lente pasa por su punto focal posterior  $F'$  mientras que el rayo (3) que pasa por el punto focal anterior  $F$  de la lente después de refractarse por la lente viaja paralelo al eje óptico.

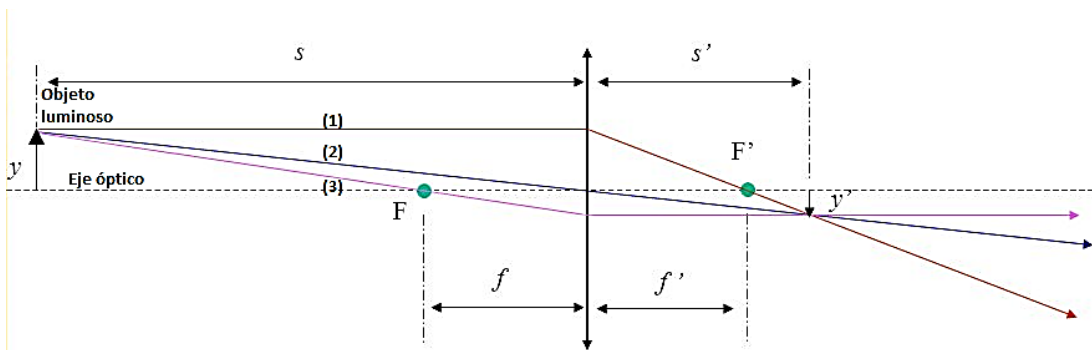


Figura 2.4. Formación de una imagen a través de una lente usando la ecuación de Gauss. Imagen tomada de la referencia [14], modificada ligeramente por el autor de esta tesis al introducir las notaciones usadas en el texto.

### 2.2.1.2 Relación de dimensión imagen/objeto

La relación que existe entre la distancia a la que está el objeto ( $s_o$ ), y la distancia a la que se forma la imagen ( $s_i$ ) se le conoce como distancia conjugada. Partiendo del esquema de constitución de una imagen mostrado

en la figura 2.5, podemos ver que los triángulos CDF y A'B'F son semejantes por ser sus lados prolongación el uno del otro y tener dos lados paralelos, por otro lado, los segmentos DC = BA son iguales, por ser paralelas cortadas por paralelas, conociendo estas condiciones, se puede establecer la relación:

$$\frac{y_i}{y_o} = \frac{s_i - f}{f} \quad (13)$$

Los triángulos ABC y CA'B' también son semejantes por las mismas razones que CDF y A'B'F, por lo tanto, se puede establecer una relación entre la imagen y el objeto mediante la expresión:

$$\frac{y_i}{y_o} = \frac{s_i}{s_o} \quad (14)$$

El cociente  $\frac{y_i}{y_o}$  se denomina aumento lateral o transversal, o relación de amplificación [15].

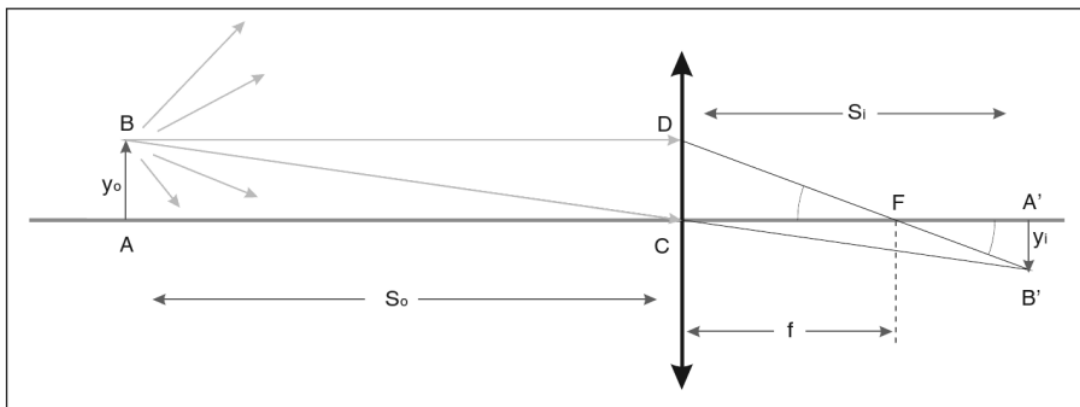


Figura 2.5. Esquema de formación de una imagen para una lente convergente [15].

### 2.2.1.3 Campo visual

El campo visual de la cámara define cuánto ve ésta, y es una función de la distancia focal de la lente que utilizemos y el tamaño del sensor digital (también llamado formato). Para una lente dada, un sensor de formato más grande tiene un campo visual más grande, asimismo para un sensor de tamaño dado, una lente de longitud focal más corta tiene un campo visual más amplio. En figura 2.6 se muestra la relación entre el tamaño de sensor, la distancia focal de la lente y el campo visual [16].

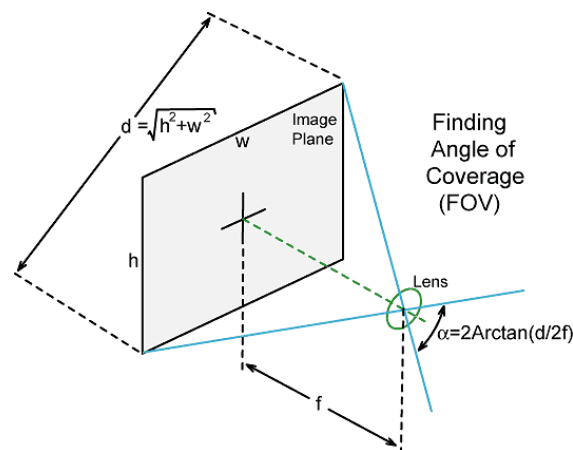


Figura 2.6. Relación entre el campo visual y el plano de la imagen [17].

#### 2.2.1.4 Tipos de objetos luminosos

En el apartado 2.2.1.1 cuando se realizó el análisis de la formación de imágenes mediante lentes delgadas se estaba refiriendo a un objeto. Ahora bien, dicho objeto se puede clasificar en dos grandes grupos, los objetos auto luminosos como es el caso de fuentes de luz (zona de emisión de un LED, filamento de una lámpara de halógeno, las fuentes de arco de mercurio, una luciérnaga, etc.) o los objetos reflectores que en cierta proporción reflejan la luz incidente proveniente de las fuentes luminosas naturales y artificiales existentes [18].



## 2.2.2 Sensores de cámaras digitales

El sensor de las cámaras fotográficas digitales está compuesto por millones de pequeños semiconductores de silicio, los cuales captan los fotones. A mayor intensidad de luz, más carga eléctrica existirá. Estos fotones desprenden electrones dentro del sensor, los cuales se transformarán en valores digitales creando valores para cada píxel.

### 2.2.2.1 Tipos de sensores

Las cámaras digitales cuentan básicamente con tres tipos de sensores, el sensor CCD (*ChargeCoupledDevice*), el sensor CMOS (*Complementary Metal Oxide Semiconductors*) y el sensor Foveon 3.

La ventaja que presentan los sensores CCD es el tamaño y la calidad, debido a que son muy pequeños y permiten reducir también el tamaño de las cámaras, además de provocar menos ruido que los sensores CMOS. Sin embargo, también presenta desventajas, una de ellas es que la detección con luz de baja intensidad a medida que se vaya aumentando la resolución, también tienen un costo elevado y un consumo eléctrico superior a los otros dos sensores.

El sensor CMOS tiene la ventaja de ser mucho más barato y da mejores resultados en ambientes de poca iluminación, no sufre del efecto blooming (El efecto blooming es un resultado del diseño de un sensor, más apreciable en los CCD que en los CMOS que al recibir un exceso de luz, produce más electrones de la capacidad máxima soportada, desbordándose sobre sensores adyacentes. Este defecto del sensor produce un halo alrededor de

los objetos muy luminosos, especialmente visible en bordes oscuros contra fondos claros, donde la luz invade la zona oscura, muchas veces con tintes violetas [19]). Los sensores CMOS tienen un consumo menor de batería con respecto a los sensores CCD. El principal defecto de estos sensores era que, al ser menos sensibles a la luz, obtenían una menor calidad final, aunque en la actualidad con la mejora de la tecnología y la calidad de los dispositivos electrónicos, los resultados obtenidos ya son comparables con los sensores CCD.

También existe el sensor Foveon X3 que, a diferencia de los dos sensores anteriores, discrimina los tres colores en tres capas de sensores que absorben la información correspondiente a su color, por lo que con ellos se obtienen colores más fieles a los originales, con mayor contraste y menos ruido. [20]

Las fuentes de luz de emisión continua son típicamente incapaces de separar las contribuciones del esparramiento y la absorción de la absorbancia óptica medida en un tejido, aunque presentan la ventaja de ser técnicamente sencillos. La formación de imágenes de tejidos biológicos con iluminación difusa y detección mediante un sensor digital (CCD, CMOS, Foveon X3, etc.) es una herramienta muy poderosa para investigar capas superficiales y sub superficiales con una resolución espacial muy elevada. Esta herramienta puede auxiliarse por ejemplo de la luz linealmente polarizada y los analizadores lineales, que pueden ser utilizados para suprimir la reflexión especular proveniente de la superficie del tejido. Generalmente se utilizan longitudes de onda del espectro visible, entre 500 nm y 600 nm, en los que se obtiene una alta sensibilidad para detectar vasos sanguíneos y cambios en la oxigenación, mientras que longitudes de onda mayores a 700 nm son usadas para incrementar la profundidad de penetración óptica (en estas longitudes de onda, se puede obtener información de la corteza de la piel

hasta profundidades de alrededor de 1 mm) mientras que se aprovecha la sensibilidad a cambios en el espacimientto de la luz.

La figura 2.7 muestra los dos tipos de sensores comerciales usados en fotografía.



Figura 2.7. Sensores CCD y CMOS, comúnmente usados en cámaras digitales comerciales [21].

### 2.2.2.2 Eficiencia cuántica

La eficiencia cuántica externa o conversión de eficiencia es definida como la cantidad del número total de paquetes de fotones detectados al contacto con el dispositivo del número total de fotones incidentes. Esta cantidad puede extraerse mediante la siguiente ecuación:

$$\eta = R \frac{hc}{\gamma \lambda q} \quad (16)$$

Donde  $h$  es la constante de Planck ( $6.62606957(29) \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s}$ ),  $c$  es la velocidad de la luz en el vacío,  $\gamma$  es la frecuencia de la luz,  $\lambda$  es la longitud de onda,  $q$  es la cantidad de luz incidente y  $R$  es la respuesta espectral del sensor.

Levine (Levine *et al*, 1992) define la eficiencia cuántica externa como el compromiso de dos componentes,  $\eta_0$  de absorción óptica, y el factor  $p$ , de la

probabilidad de que un fotón excitado escape y contribuya a la corriente fotoeléctrica de acuerdo a esta definición  $\eta = \eta_0 p$ . [22]

### 2.2.2.3 Profundidad de bit, nivel de gris y rango dinámico

La profundidad de bits se define como la cantidad de bits utilizados para definir cada píxel. Cuánto más profundidad de bits, mayor cantidad de tonos pueden representarse. Una imagen RGB está compuesta por tres canales. Por ejemplo, una imagen RGB de 8 bits/píxel contará con 256 valores posibles por canal lo que implica que puede representar más 16 millones posibles de colores. Al crecer el número de píxeles que forman una imagen, el archivo gráfico requiere también más espacio en memoria. La palabra “píxel” significa, traducida, “elemento mínimo de imagen” [23].

Al multiplicar la profundidad en bits con el número de canales, se calcula el espacio en memoria por cada punto.

El rango dinámico es la capacidad de capturar el detalle de la imagen entre luces y sombras, claras y oscuras, es decir el contraste (ver figura 2.8). Dependiendo del rango dinámico, bajo, medio o alto, se obtendrán imágenes con mayor detalle entre los blancos y negros, dado que el rango dinámico está relacionado con la tonalidad de la escena, es aconsejable no aumentar contraste o saturación, ya que bajaría el rango dinámico [24].



Figura 2.8. Imágenes con diferente rango dinámico [24].

### 2.2.3 Adquisición de imágenes multiespectrales

Aunque la espectroscopia de imágenes ha estado disponible como una tecnología de teledetección desde la década de 1960, hasta hace poco, los sistemas de imágenes espectrales comerciales eran principalmente los transportados por el aire que no podrían ser utilizados para la adquisición de imágenes con base en tierra. Por otra parte, la imagen espectral a menudo sólo ha estado disponible para un número limitado de investigadores y profesionales, debido a los altos costos de cámaras espectrales y la complejidad de procesamiento de los datos espectrales correspondientes a un gran número de bandas.

#### 2.2.3.1 Métodos de adquisición

En la actualidad, las tecnologías de imágenes de teledetección coexisten con los sistemas comerciales basados en filtros sintonizables de cristal líquido (LCTFs), filtros sintonizables acústico-ópticos (AOTFs) y cámaras de múltiples CCD. Estas tecnologías comprenden: 1) dispositivos en los que el sensor es fijo al realizar la captura, 2) sistemas de barrido y 3) cámaras multiespectrales de múltiples sensores CCD o CMOS.

Se llama barrido de imágenes al proceso en el que se reúne todo el espectro a la vez para una línea en la imagen. Esta adquisición secuencial de línea se ha utilizado en las dos: cámaras de detección remota y de uso a corta distancia como, por ejemplo, en el control de calidad en líneas de producción. En un generador de imágenes de barrido, la luz entrante es concentrada en una rendija de colimación y posteriormente proyectada sobre una rejilla de difracción, la cual difracta al haz incidente con un ángulo diferente en dependencia a la longitud de onda, como resultado ocurre una separación espectral del haz. La principal ventaja de las cámaras de barrido es el hecho de que todo el espectro se adquiere al mismo tiempo, el inconveniente es que, dado que una línea de la imagen se adquiere en cada exploración, ya sea la cámara o el objeto deben moverse en consecuencia. Esto en sí mismo, no es un problema importante para aplicaciones tales como la teledetección o procesamiento industrial de imágenes, donde la cámara está montada en un satélite en movimiento, una línea de procesamiento o cinta transportadora. Por el contrario, los sensores fijos son generadores de imágenes de banda secuencial, es decir, la escena se adquiere en resolución espacial completa en una longitud de onda de banda indexada a la vez. En un dispositivo de detección fija, la luz pasa a través de la óptica de enfoque y luego se filtra, de modo que sólo un segmento de banda estrecha del espectro incide en el plano focal del sensor, que es típicamente un CCD. En algunos casos, se incluye un conjunto de óptica de relé para evitar distorsiones no deseadas inducidas por los filtros. Estos filtros pueden ser fijos o montados en un mecanismo tipo revolver o filtros sintonizables. Se debe tener en cuenta que el sistema comprende la óptica de enfoque, los filtros sintonizables, que en este caso son LCTFs, la óptica de relé y un detector.

Vale la pena señalar que los filtros sintonizables se basan principalmente en tecnologías de cristal líquido o acústico-óptico. Los AOTFs son dispositivos ópticos de estado sólido que constan de dióxido de telurio ( $\text{TeO}_2$ ) o cristal de cuarzo unido a un transductor. Cuando se aplica una señal de radiofrecuencia al transductor, una onda acústica de alta frecuencia se produce y se propaga a través del cristal. La onda acústica ultrasónica induce un cambio en el índice de refracción que actúa como una red de difracción por transmisión, como resultado en la práctica, la selectividad del filtro a menudo no es fija en toda la gama espectral. En la figura 2.9, se muestra la transmisión típica para un AOTF, donde se ha sintonizado el filtro a intervalos de 10 nm. Obsérvese que la selectividad del filtro se ensancha a medida que se avanza hacia el extremo superior del espectro [25].

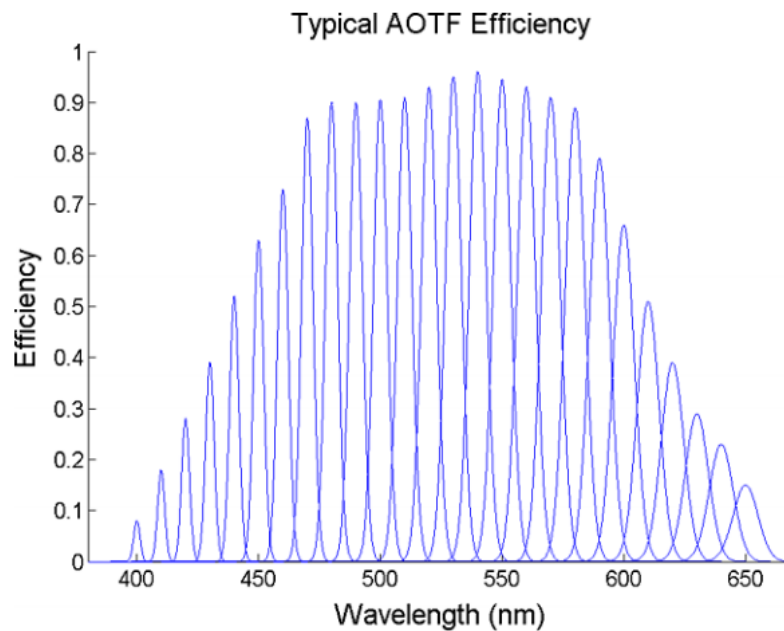


Figura 2.9. Transmisión óptica para un AOTF [25].

A continuación, se describe el filtrado mediante LCTFs, que es el tipo de filtro que se usa en este trabajo de tesis. A diferencia de los filtros AOTFs, los LCTFs se basan en un conjunto de placas de onda de cristal líquido

(combinaciones entrelazadas de polarizadores de cristal líquido lineales). Los LCTFs proporcionan una trayectoria óptica lineal, que proporciona una distorsión muy baja y, por lo tanto, una alta calidad de la imagen. Una desventaja del uso de placas de onda con polarizadores lineales en los LCTFs es que se termina teniendo una baja transmisión en comparación con los AOTFs. En la figura 2.10, se muestra la transmisión típica de filtros de cristal líquido como una función de longitud de onda. Una vez más, se ha sintonizado el filtro a intervalos de 10 nm. Hay que tener en cuenta que la selectividad del filtro es sin cambios con respecto a la longitud de onda.

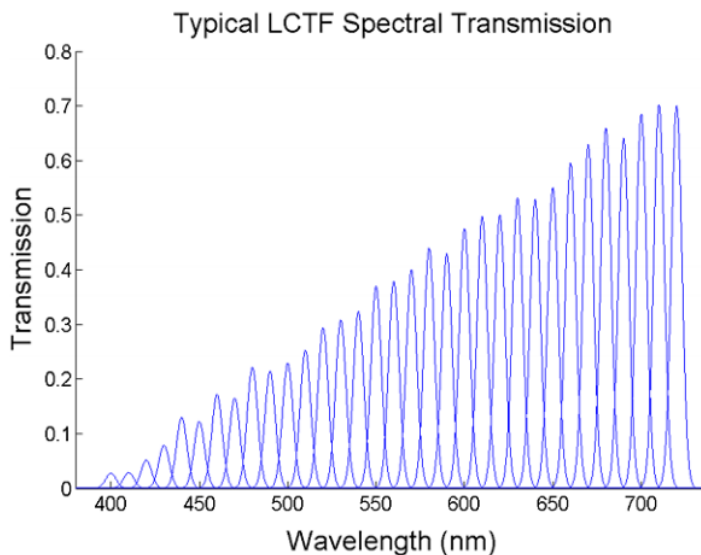


Figura 2.10. Transmisión óptica para un LCTF [25].

Mientras que los AOTFs y LCTFs se emplean a menudo en las cámaras hiperespectrales, imágenes multiespectrales, las cámaras con múltiples sensores CCD proporcionan la capacidad de capturar todo el conjunto de bandas espectrales en todos los píxeles de la imagen al mismo tiempo. Varias cámaras CCD emplean un conjunto de prismas de división de haz para separar la luz entrante a través de la lente. El uso de múltiples sensores



CCD y prismas implica que la complejidad de la cámara se convierte en impráctica para un gran número de bandas. Sin embargo, para algunas bandas de longitud de onda resuelta, los sistemas de adquisición de imágenes de múltiples sensores CCD proporcionan la capacidad adquisición multiespectral en "un solo disparo" [26].

### 2.2.3.2 Espectros de reflexión difusa a partir de IME

La intensidad de la reflexión que se produce en las superficies de los objetos varía con el ángulo de incidencia, da origen a que un sistema de medición se construya con una fuente de luz en órbita alrededor de los objetos de destino, por ejemplo, un espectrógrafo de imágenes, equipado con una cámara monocromática se fija delante del objetivo cilíndrico para adquirir imágenes multiespectrales. A partir de esta configuración, el modelo de reflexión se tiene la configuración mostrada en la figura 2.11.

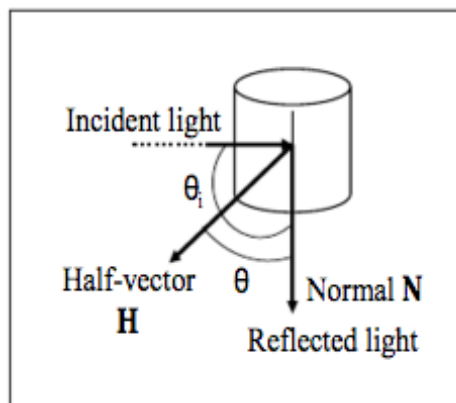


Figura 2.11. Modelo de reflexión presentado para un sistema de medición [27].

En el modelo mostrado en la figura 2.11 la dirección de la reflexión está en la misma dirección que la del vector normal de la superficie a la página, y el ángulo  $\theta$  entre el vector normal  $N$  y el vector intermedio  $H$  es equivalente a la mitad de  $\theta_i$ , el ángulo de incidencia.

De este modo al capturar las imágenes multispectrales, es posible obtener el espectro de reflexión a partir de los datos de iluminación capturados en las imágenes multispectrales [27].

### 2.2.3.3 Corrección mediante estándar de reflexión difusa

El poder hacer uso de herramientas ópticas para el estudio de los tejidos humanos constituye un útil e importante medio de análisis de características de la piel, siendo el uso de estas tecnologías un método no invasivo de diagnóstico, por ejemplo, las mediciones de reflectancia difusa en la piel humana pueden permitir la discriminación entre lesiones pigmentadas de la piel, haciendo uso de los espectros de reflexión de la piel en función de la longitud de onda, que mediante métodos matemáticos de procesamiento digital de imágenes, se extraen de imágenes multispectrales o hiperespectrales. Uno de los métodos que se han utilizado para la extracción de información de los tejidos, es el método del cociente, el cual se define mediante la igualdad:

$$R(\lambda) = \frac{s(\lambda) - D(\lambda)}{\text{Ref}(\lambda) - D(\lambda)} \quad (15)$$

Donde  $S(\lambda)$  es la señal espectral del medio analizado para cada longitud de onda  $\lambda$ ,  $D(\lambda)$  es la señal de oscuridad y  $\text{Ref}(\lambda)$  es la del blanco de referencia.

Este estudio tiene la utilidad de evaluar las diferencias espectrales de la piel sana y las lesiones cutáneas pigmentadas que permiten la discriminación entre sus espectros. Una de las características usadas para diferenciar la piel sana de la piel con melanoma cutáneo, es a través de la medición de sus

espectros de densidad óptica, la cual aumenta visiblemente en la región entre 400 y 650 nm de longitud de onda del espectro electromagnético [28], en la figura 2.12 se muestran los espectros de densidad óptica medidos a partir de imágenes multiespectrales de piel sana y piel con melanoma cutáneo.

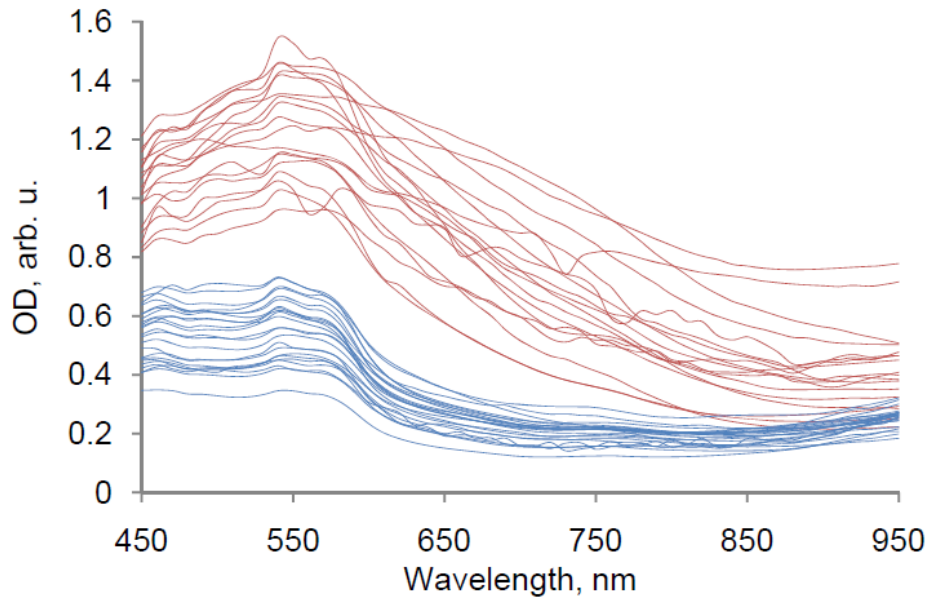


Figura 2.12. Espectro de densidad óptica para melanoma cutáneo (curvas rojas) y piel saludable (curvas azules) [28].

La descripción teórica de la reflectancia difusa medida de un medio turbio (como un tejido biológico) bajo condiciones de iluminación uniforme ha sido desarrollado de acuerdo a diferentes modelos estrictos. El objetivo de esos modelos es describir la relación entre la reflectancia difusa ( $R$ ) y las propiedades ópticas de esos medios, las cuales como sabemos del epígrafe 2.1 son: el coeficiente de absorción ( $\mu_a$ ), coeficiente de esparcimiento ( $\mu_s$ ) y el factor de anisotropía ( $g$ ), donde todos en general son dependientes de la longitud de onda de la radiación óptica que se propaga en el medio turbio.

## **2.3 MODELADO DEL PERFIL LUMINOSO DE LA FUENTE DE ILUMINACIÓN**

### **2.3.1 Esquema óptico de la fuente de iluminación**

El análisis del desempeño de la fuente de iluminación en un sistema de adquisición de imágenes multiespectrales es de una importancia primordial debido a que factores como: la homogeneidad, la composición espectral y la potencia de la luz incidente afectan de forma directa la calidad de las imágenes tomadas puede ser de alta o de baja utilidad. A simple vista en el sistema de iluminación mediante una lámpara de haluro metálico, en la iluminación proporcionada por el sistema al final de la fibra óptica, por medio de un homogeneizador del haz luminoso, se buscó mejorar dicho perfil de iluminación y al mismo tiempo también se realizó la simulación del desempeño de dicho homogeneizador, observándose el desempeño del mismo con diferentes longitudes comerciales, en esta sección se discuten los parámetros y condiciones de dicho sistema de iluminación y las respectivas simulaciones.

#### **2.3.1.1 Bulbo**

Las lámparas de halógeno convencionales comúnmente conocidas como bombillos funcionan bajo el principio de reemplazar el gas inerte usado en las lámparas incandescentes por yodo o bromo, sustancias reaccionan con relativa facilidad.

En las lámparas de halógeno el tungsteno alcanza temperaturas próximas a los 3000 °C y en esas condiciones parte del filamento pasa al estado gaseoso, pero las altas temperaturas impiden su reacción con el halógeno, el vapor de tungsteno va disminuyendo su temperatura a medida que se acerca

al vidrio de la lámpara. Cuando la temperatura está por debajo de los 1000 °C, el tungsteno y el halógeno reaccionan formando yoduro de tungsteno o bromuro de tungsteno, según el halógeno presente, evitando de esta manera, el depósito de metal sobre las paredes de la lámpara favoreciendo que ésta no se vuelva opaca. Además el halogenuro de tungsteno formado se difunde a través de los gases y vapores del interior de la lámpara y cuando alcanza la zona próxima al filamento, donde la temperatura es elevada, el halogenuro se descompone liberando al halógeno y depositando el tungsteno sobre el filamento. Este ciclo se conoce con el nombre de ciclo del halógeno, el cual es ilustrado gráficamente en la figura 2.13. El filamento se reconstruye constantemente, por esta razón las lámparas de halógeno tienen una mayor duración que las comunes, brindando además mayor luminosidad [29].

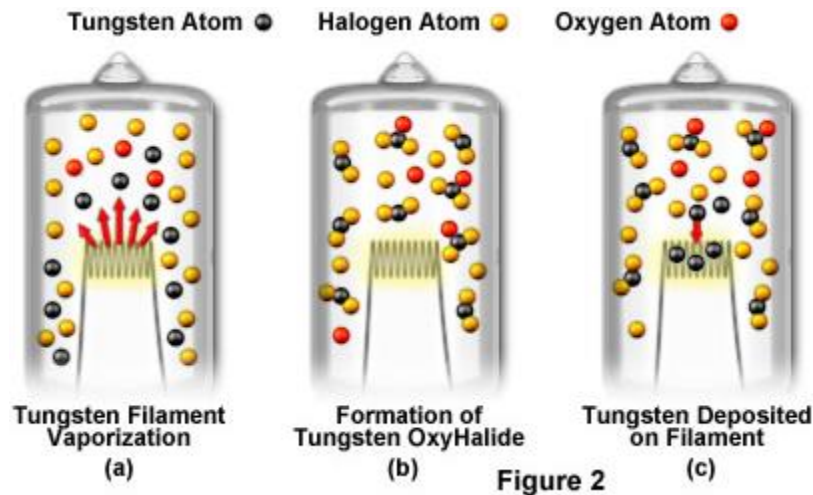


Figura 2.13. Ciclo del halógeno en una lámpara de filamento de tungsteno [30].

Las fuentes de luz incandescentes, incluyendo las versiones antiguas con filamentos de tungsteno y carbono, así como las más recientes, lámparas de halógeno-tungsteno, se han empleado con éxito como una fuente de luz de alta fiabilidad en la microscopía óptica y otras aplicaciones, durante muchas décadas y continúan siendo una de las fuentes de iluminación de elección

para una variedad de modalidades de formación de imágenes. Las lámparas más antiguas equipadas con filamentos de tungsteno y llenas de gas inerte de argón se utilizan con frecuencia en los microscopios didácticos y en las modalidades decampo claro y contraste de fase para la formación de imágenes. Estas fuentes pueden ser lo suficientemente brillante para algunas aplicaciones que requieren luz polarizada. Las lámparas de halógeno-tungsteno, el diseño más avanzado de la clase de lámparas de filamento, generan una distribución continua de luz a través del espectro visible, sin embargo la mayor parte de la energía emitida por estas lámparas se disipa en forma de calor en las longitudes de onda infrarrojas [31]. En la figura 2.14 se muestra el espectro de emisión típico de una lámpara de halógeno para diferentes temperaturas de trabajo del filamento.

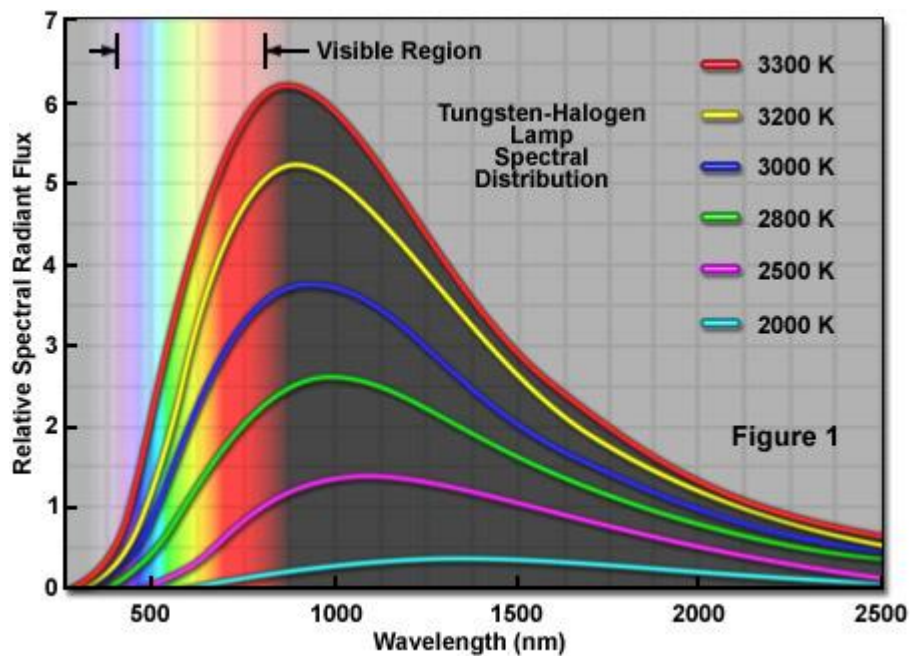


Figura 2.14 Espectro de emisión de las lámparas de halógeno-tungsteno [32].

### 2.3.1.2 Espejo elipsoidal

Las lámparas de arco como las de mercurio y xenón, es decir, las lámparas de haluro metálico usadas en microscopía están equipadas con reflectores elípticos, dentro de los cuales el bombillo es incrustado de fábrica durante la manufactura, alineando la zona de generación de iluminación en el foco del reflector. Las lámparas se han diseñado para generar un punto concentrado de luz a una determinada distancia frente al reflector, ejemplificado en la figura 2.15, debido a su construcción geométrica, generan un punto concentrado de luz a una determinada distancia frente al reflector, esto debido a que el reflector es elíptico por lo que todos los rayos emitidos desde uno de sus focos, se concentran en el otro foco, geoméricamente esto implica que las distancias recorridas, por todos los rayos, son iguales.

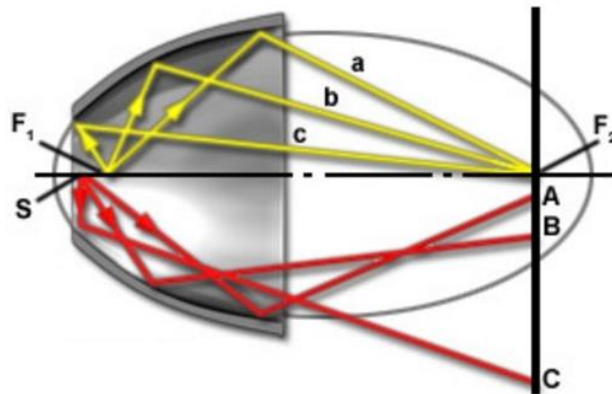


Figura 2.15. Espejo elíptico usado en fuentes de haluro metálico. Imagen tomada de [33] ligeramente modificada.

Los reflectores de las lámparas de haluro metálico son recubiertos por múltiples capas de filtros de interferencia dicromáticos que permiten que gran parte de la radiación térmica (infrarroja) pase a través del reflector, mientras las longitudes de onda del visible y ultravioleta son concentradas en el punto de enfoque. Este diseño asegura la distribución de la intensidad luminosa y la

temperatura de color sean dirigidos al interior de la guía de luz (fibra óptica, homogeneizador, etc.).

### **2.3.1.3 Espejo dicroico**

Los espejos dicroicos solventan la dificultad de la pérdida de luz, porque dejan pasar ciertas bandas de longitud de onda y reflejan otras. El elemento clave de acción de los espejos dicroicos es una capa transparente extremadamente delgada y exactamente controlada sobre una superficie. El espesor de la capa está controlado en la fabricación para que la luz de ciertas longitudes de onda proveniente desde la superficie anterior y la reflejada en la superficie superior sean aditivas. Una variante del sistema de espejos dicroicos hace uso de prismas, en donde las capas de control están depositadas sobre la superficie de los prismas. [34]

### **2.3.1.4 Barra cilíndrica de acrílico**

Entre las guías de luz, existen las fibras ópticas, de las cuales las que tienen un diámetro muy pequeño ( $<10 \mu\text{m}$ ), tienen pequeños ángulos de aceptación y pueden transmitir sólo un modo de un haz láser, conservando coherencia de la luz. Éstas son usadas en medicina para aplicaciones de diagnóstico, algunas incluyen filtros basados en interferencia, estas fibras se conocen como fibras mono modo.

Las fibras con un diámetro mayor a  $80 \mu\text{m}$  tienen un ángulo de aceptación grande, así como también pueden transmitir muchos modos de iluminación, éstas también son llamadas fibras multimodo, y tienen aplicaciones terapéuticas en medicina, debido a que pueden transmitir más alta potencia de luz. Los rayos que ingresan a la fibra pueden ser de un orden u otro, dependiendo del ángulo que éstos formen con el eje principal de la fuente de



iluminación, los rayos de más alto orden pueden hacer más reflexiones dentro de la fibra y por lo tanto viajan una mayor distancia dentro de la fibra, debido a que la luz es reflejada sin pérdidas en la interfaz núcleo/recubrimiento. Un punto de emisión en el extremo final de la fibra óptica puede considerarse como una fuente con un perfil de emisión gaussiano, sin embargo, en una fibra con un diámetro muy grande, debido a los múltiples puntos de salida del haz de la fibra, puede considerarse un perfil de iluminación más homogéneo.

### **2.3.2 Simulación mediante ZEMAX**

La simulación por computadora, hoy día es una de las herramientas más usadas por los desarrolladores de nuevas tecnologías, por los investigadores que buscan un sustento teórico del trabajo que se está realizando. En la óptica existen muchos programas de simulación que se enfatizan en la óptica física u óptica geométrica, uno de los programas más completos de trazo de rayos que se vende comercialmente, es el llamado ZEMAX, el cual es comúnmente usado en diseño óptico, éste corre sobre una plataforma Windows y es usado para el diseño y análisis de sistemas formadores de imágenes y de iluminación, como lentes, fuentes de iluminación. ZEMAX trabaja mediante el trazo de rayos, modelando la propagación de los rayos a través de los sistemas ópticos. La simulación de la homogeneización de un haz de luz proveniente de una fuente de haluro metálico forma parte fundamental en el desarrollo de ésta tesis,

#### **2.3.2.1 Parámetros de la simulación**

La luz proveniente de muchas fuentes de iluminación (Halógeno, Haluro metálico, vapor de sodio, vapor de mercurio, por ejemplo) se encuentra afectada por la naturaleza de su construcción, debido que al tener volumen

no son fuentes puntuales perfectas y el perfil del haz que proporcionan estas fuentes no resulta en una iluminación uniforme sobre la muestra. A efecto de homogeneizar el haz proveniente de la fuente, se la uniformidad del haz de una fuente con espejo elíptico usando un homogeneizador construido de material de vidrio BK7.

### **2.3.2.2 Especificación de la fuente y el detector**

La fuente usada para la simulación del desempeño del homogeneizador está definida como una fuente elíptica, sin especificar la forma mediante la cual se genera la iluminación, sino únicamente la distribución de la luz proveniente del espejo elíptico que tiene la fuente, incidiendo la iluminación sobre un detector. En la simulación se considera que el lugar espacial donde la luz se enfoca, es a la entrada de homogeneizador y se está usando un homogeneizador de 10 cm de longitud y se registra la homogeneidad del haz a 0 cm, a 5 cm y a 10 cm de la salida del homogeneizador.

### **2.3.2.3 Resultados y análisis**

Como se puede observar en la figura 2.16, el haz proyectado es muy uniforme sobre el detector cuando éste detector se encuentra justo a la salida del homogeneizador, sin embargo a medida que se va alejando del mismo, la uniformidad del haz se va perdiendo, condición la cual es indeseable para el dispositivo IME que se está mejorando.

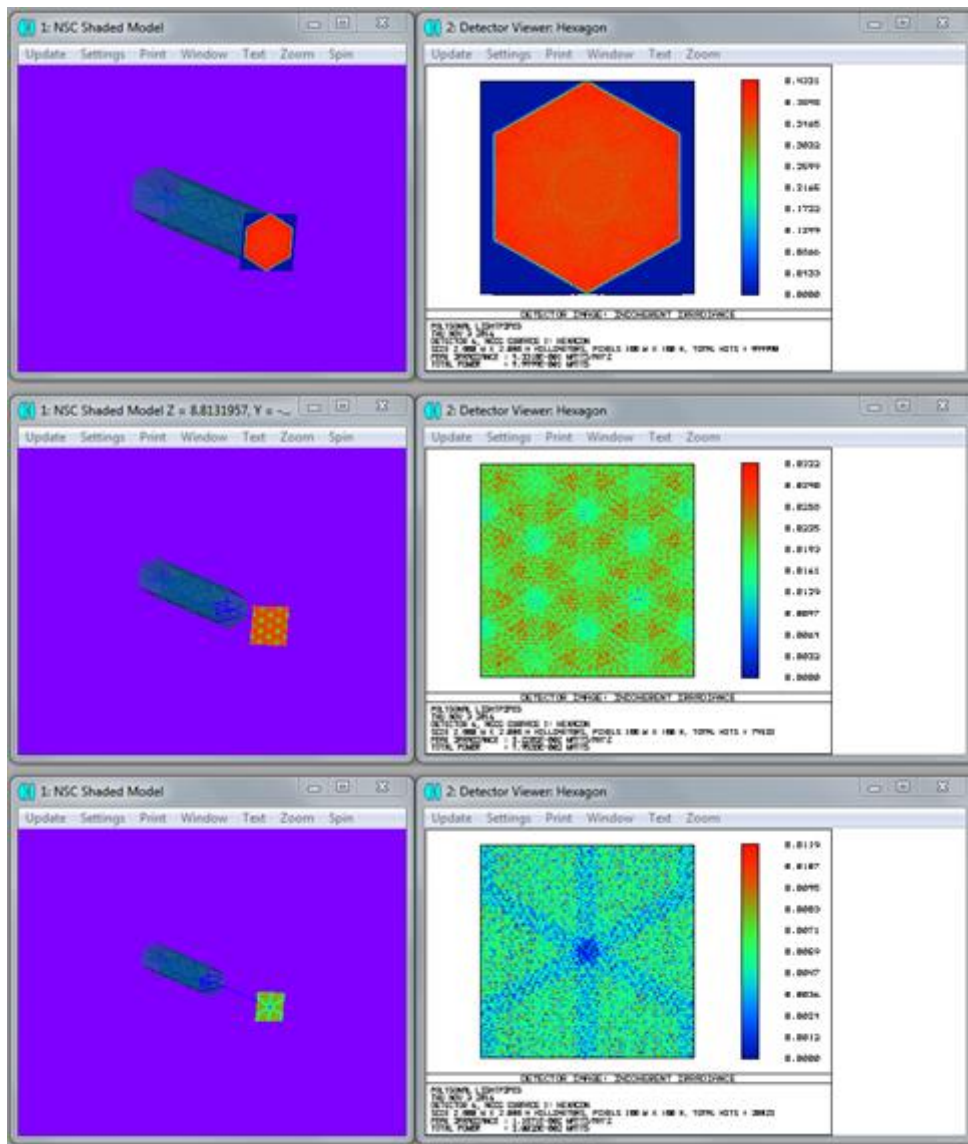


Figura 2.16. Uniformidad de la iluminación proporcionada por una fuente elíptica a través de un homogeneizador de vidrio BK7 simulado a 0 cm, 5 cm y 10 cm de la salida del homogeneizador.

## 2.4 REFERENCIAS

- [1] Hecht, Eugene. Óptica. 3ª Edición. Adelphi University. Addison Wesley. Madrid. 2000. pp. 102.
- [2] Ittay Fidel. Abril del 2008. Difracción, refacción, reflexión de la luz. [Figura].  
Recuperado de: <http://fittaydelruz.blogspot.mx>
- [3] Steven L. Jacques, Scott A. Prah. Absorption. Biomedical Optics. Oregon Graduate Institute. 1998. Recuperado de: <http://omlc.org/classroom/ece532/class3/absorption.html>
- [4] Steven L. Jacques, Scott A. Prah. 1998. Definition and units of scattering coefficient. [Figura].  
Recuperado de: <http://omlc.org/classroom/ece532/class3/gifs/musdef.gif>
- [5] Steven L. Jacques, Scott A. Prah. 1998. Definition and units of scattering coefficient.  
JRecuperado de: <http://omlc.org/classroom/ece532/class3/muadefinition.html>
- [6] Rivera, Manrique Solange Ivette. Diseño de láser de fibra óptica y de yterbio para acupuntura. Tesis IPN. Enero 2011. pp. 21.
- [7] H. C. van de Hulst. Light scattering by small particles. Leiden Observatory. Dover publications. New York, United States.
- [8] Wang, V. Lihong, Wu, Hsin-i Wu. Biomedical Optics. Wiley-interscience. 2007.
- [9] González Trujillo, et al. Light scattering simulation in biological media by Montecarlo method. June 12, 2008.
- [10] Vasilis Ntziachristos. Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology. Nature methods. 2010.
- [11] Bourdelande, J.L., Nonell, S. Glosario de términos usados en fotoquímica. 2ª edición. Recomendaciones de la comisión de fotoquímica de la IUPAC. 1996. pp. 24
- [12] Lihong Wang and S.L. Jacques. Monte Carlo Modeling of Light Transport in Multi-layered Tissues in Standard C. (1998).
- [13] S.A. Prah, M. Keijzer, S.L. Jacques y A.J. Welch. A Monte Carlo model of light propagation in tissue. SPIE Institute. Series IS. (1989). Pp. 102.

- [14] Ambriz Sarita. 2014. Formación de una imagen: Lente convergente. [Figura].  
Recuperado de: <http://slideplayer.es/slide/107824/>
- [15] Perea, González Joaquín, Castelo, Luis Sardina, Munárriz, Jaime Ortiz. La imagen fotográfica. Ediciones Akal. Madrid, España. 2007. Pp. 200-201.
- [16] Iberoptics. Fundamentos básicos de fotogrametría 3D. Madrid, España.  
Recuperado de: [http://www.iberoptics.com/content/fundamentos-basicos-de-fotogrametria-3d\\_18](http://www.iberoptics.com/content/fundamentos-basicos-de-fotogrametria-3d_18)
- [17] Field of visión. 2015. [Figura].  
Recuperado de: <http://www.tsaoyu.com/wp-content/uploads/2015/05/fov.png>
- [18] Jaramillo, José Antonio Sánchez. Física. Editorial MAD. 2ª edición. Centro de estudios vector. Sevilla, España. Noviembre 2004. Pp. 371.
- [19] FotoNostra. Blooming. Diccionario de fotografía y diseño.  
Recuperado de: <http://www.fotonostra.com/glosario/blooming.htm#m1>
- [20] Calleja, José Antonio López, Durante, José Luis Molina, Trabadela, Javier. Fotografía Digital. Ministerio de Educación, cultura y deporte. Secretaria General Técnica. 2015, pp. 25.
- [21] Santos, Antonio. (2011). CCD vs CMOS. [Figura]  
Recuperado de: <https://tecnosinergiamx.com/2011/07/07/ccd-vs-cmos/>
- [22] A. V. Narlikar. The oxford handbook of nanoscience and technology, Volume 3: Applications, Oxford university press. New York, USA. 2010.
- [23] Borges, Malte, et al. Adobe in design 1.5. 1ª edición. Boixareu editores. Barcelona, España. 2000. Pp. 79.
- [24] Muñiz Devesa, Camino Solla. ABC de la ecografía abdominal. 2ª edición. Editorial médica panamericana. Madrid, España. 2011. Pp. 37.
- [25] Robles, Kelly. Imaging Spectroscopy for scene analysis. Editorial Springer. 2013.
- [26] Fabrizio Vagni. Survey of Hyperspectral and Multispectral Imaging Technologies. Technical report. North Atlantic Treaty Organisation. Mayo 2007.

[27] Manabe, Yoshitsugu, “Color and gloss reproduction from multispectral images”, SPIE, 13 junio 2016.

[28] Ilze Diebele, et al. Melanoma-nevus differentiation by multispectral imaging. SPIE-OSA. 2011.

[29] Magnetti, Renée César, “Físico-Química”, Ediciones Personales, Riglos, España

[30] Michael W. Davidson. Ciclo de regeneración del halógeno. [Figura].  
Recuperado de:  
<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/lightsources/images/tungstenlampsfigure2.jpg>

[31] Michael W. Davidson. “Tungsten-halogen incandescent lamps”.  
Recuperado de:  
<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/lightsources/tungstenhalogen.html>

[32] Michael W. Davidson. “Tungsten-Halogen spectral distribution”. [Figura].  
Recuperado de:  
<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/lightsources/images/tungstenlampsfigure1.jpg>

[33] Adam M. Rainey and Michael W. Davidson. “Elliptical and parabolic reflectors”. [Figura].  
Recuperado de:  
<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/tutorials/ellipticalreflectors/ellipticalreflectorsfigure1.jpg>

[34] Bernard Grob, “Televisión práctica y sistemas de video”, Boixareu editores, Barcelona, España 1990, pp. 57.

# Capítulo 3

## **IMPLEMENTACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN SISTEMA DE ILUMINACIÓN MULTIESPECTRAL BASADO EN EL USO DE FILTRADO ÓPTICO SINTONIZABLE POR COMPUTADORA**

### **RESUMEN**

En un Sistema de Adquisición de Imágenes Multiespectrales (SAIME), el sistema de iluminación debe permitir que la muestra sea irradiada con las longitudes de onda necesarias, dependiendo de la aplicación, en un rango espectral determinado. En el presente capítulo, se caracterizan dos sistemas de iluminación, la fuente Fiber-Lite MH100 y una lámpara de halógeno de 70 W, en un rango espectral de 400 a 720 nm de longitud de onda con 7 nm teóricos de ancho de banda espectral a media altura. Se realizó la medición del espectro de emisión usando el mini espectrómetro USB4000 y el medidor de potencia luminosa Newport 2935T-C y se comparó gráficamente la composición espectral de ambas fuentes de iluminación para determinar las ventajas y desventajas de cada una de ellas.

### **3.1 MATERIALES**

A continuación, se describen los materiales utilizados para la implementación y caracterización de un sistema de imágenes multispectrales, basado en el uso de un filtro sintonizable de cristal líquido. Para la caracterización del sistema se utilizaron elementos de medición de uso profesional y que se describirán en esta sección de materiales.

#### **3.1.1 Fuente de iluminación Fiber-Lite MH100**

La fuente Fiber-Lite MH100 es de haluro metálico de mercurio que funciona a 115 VAC 50/60 Hz, para utilizar ésta fuente, después de encender el iluminador, se debe esperar de tres a cinco minutos para lograr la máxima intensidad. Si el iluminador es apagado, debe esperar de 10 a 15 minutos antes de encenderlo nuevamente. La fuente Fiber-Lite MH100 debe encenderse y apagarse la menor cantidad de veces posible ya que encender y apagar frecuentemente esta fuente de iluminación, puede reducir su tiempo de vida útil [1].

La iluminación, generada por el bombillo de haluro metálico, es reflejada hacia el exterior mediante un espejo elíptico, el bombillo es colocado en el foco de la elipse en el interior del espejo, el cual, debido a la geometría de su construcción, tiene la particularidad de que enfocará toda la luz reflejada en el segundo foco de la elipse (ver figura 2.13) donde existe un filtro opaco para la región ultravioleta del espectro electromagnético. Por otra parte, la intensidad de iluminación es controlada en el puerto óptico, mediante un diafragma de iris donde se coloca la fibra óptica que llevará la luz hasta la zona deseada. En la tabla 3.1 se muestran los datos técnicos de la fuente de iluminación. La fuente Fiber-Lite MH100 (figura 3.1) tiene un espectro de



**Capítulo 3. Implementación y caracterización de un sistema de iluminación multispectral basado en el uso de filtrado óptico sintonizable por computadora**

emisión en función de la longitud de onda como el que se muestra en la figura 3.2, proporcionada por el fabricante.

**Tabla 3.1. Datos técnicos de la fuente de luz Fiber-Lite MH100 [2]**

Lámpara	100 W Haluro Metálico (mercurio)
Alimentación	115 VAC 60 Hz, 200 W
Vida de la lámpara	3000 horas, aprox.
Fusible	5 A, 250 V, fusión rápida, 5 x 20 mm
Temperatura de color	5200 °K
Dimensiones	11.7 cm (alto) x 18.4 cm (ancho) x 24.1cm (largo)
Peso	5.5 Kg
Máxima temperatura de la cubierta.	20° sobre la temperatura ambiente



Figura 3.1. Imagen de la fuente de luz Fiber-Lite MH100 [1].

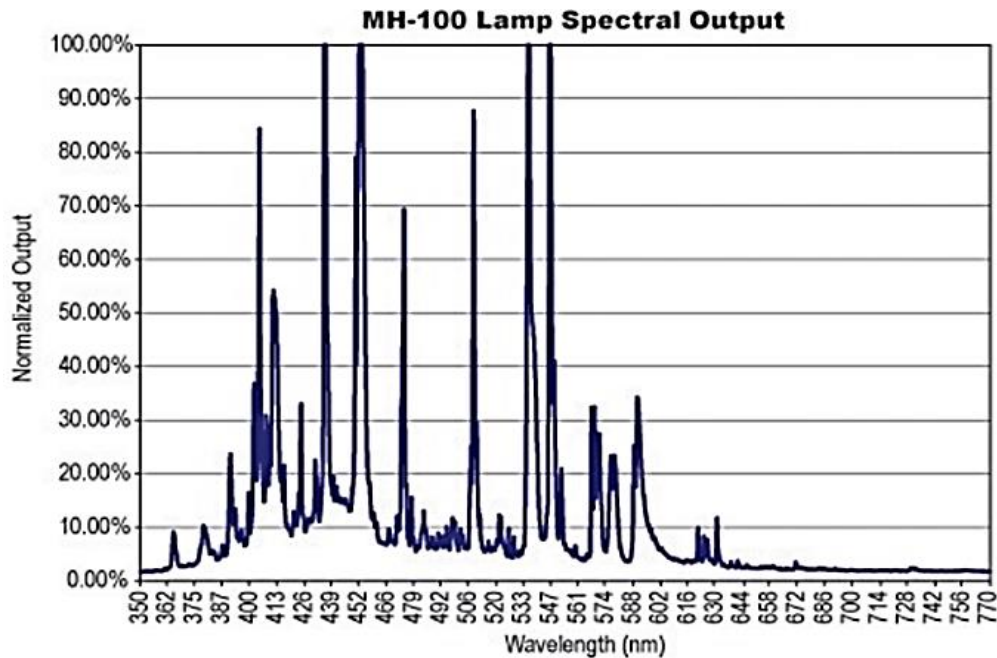


Figura 3.2. Gráfica del espectro de emisión de la fuente de haluro metálico, proporcionado por el fabricante [2].

### 3.1.2 Filtro óptico sintonizable VariSpec™ (VIS)

El filtro sintonizable de cristal líquido (LCTF, por sus siglas en inglés) VariSpec (figura 3.3) funciona como un filtro de interferencia de alta calidad, las longitudes de onda de luz que transmiten son controladas electrónicamente lo cual permite una selección rápida de cualquier longitud de onda en el rango de 400 nm a 720 nm, en el caso del LCTF VariSpec modelo VIS. En la tabla 3.3 se muestran algunas de las características más importantes de este dispositivo [3].

**Tabla 3.2 Especificaciones técnicas del LCTF VariSpec(VIS)**

Rango espectral	400 - 720 nm
Ancho de banda	7, 10 o 20 nm
Apertura	35 mm
Ángulo de aceptación	Ángulo mitad de 7.5°
Tiempo de respuesta	50 ms
Exactitud de longitud de onda	Ancho de banda/8 + 0.5 nm
Máximo rendimiento óptico	500 mW/cm <sup>2</sup>
Temperatura de operación	10 a 40 °C
Temperatura de almacenamiento	-15 a 55 °C
Interfaz de computadora	USB 1.1
Fuente de alimentación	Alimentado por el USB
Software	SDK libre

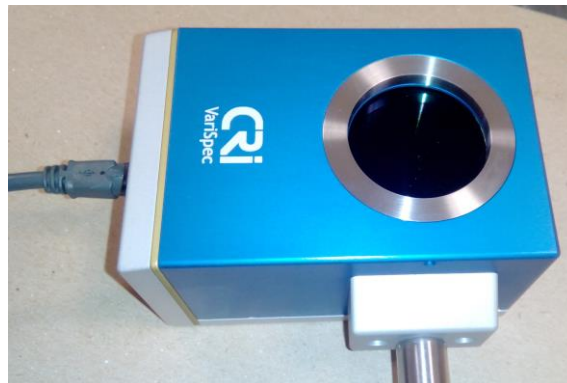


Figura 3.3. Fotografía del filtro sintonizable usado (LCTF VariSpec VIS).

### **3.1.3 Cámara digital monocromática Point Grey Flea3**

La cámara Point Grey Flea3, modelo FL3-U3-13S2M-CS (figura 3.4), proporciona un conjunto de características que incluyen una memoria de 32 MB de almacenamiento en el búfer de alimentación y transmisión de datos mediante tecnología USB 3.0; la cámara también provee procesamiento digital de imágenes incluyendo a la interpolación de color, corrección gamma, etc. Las principales características técnicas de la cámara se encuentran en la

**Capítulo 3. Implementación y caracterización de un sistema de iluminación multispectral basado en el uso de filtrado óptico sintonizable por computadora**

tabla 3, tomadas del manual de usuario [4].

**Tabla 3.3 Especificaciones técnicas de la cámara Point Grey (FL3-U3-13S2M-CS)**

Resolución	1328 x 1048
Cuadros por segundo	120
Megapíxeles	1.3
Color	Monocromático
Nombre del sensor	Sony IMX035
Tipo de sensor	CMOS
Formato del sensor	1/3"
Tamaño del píxel	3.63 $\mu$ m
Rango de exposición	0.008 ms a 1 segundo
Procesamiento de imágenes	Gamma, lookup table, tono, saturación, y nitidez
Búfer de imagen	32 MB
Memoria flash	1 MB de memoria flash
Salida auxiliar	3.3 V, 150 mA máximo
Interfaz	USB 3.0
Requerimientos de potencia	5-24 V via GPIO o 5 V via USB 3.0
Potencia de consumo (Máximo)	<3 W
Dimensiones	29 mm x 29 mm x 30 mm
Masa	35 gramos
Temperatura de operación	0° to 45°C
Temperatura de almacenaje.	-30° to 60°C
Humedad de operación	20 a 80% (sin condensación)
Humedad de almacenamiento	20 a 95% (sin condensación)
Formatos de datos de imagen	Y8, Y16, Mono8, Mono12, Mono16, Raw8, Raw12, Raw16

En la figura 3.5 se muestra la eficiencia cuántica de la cámara monocromática Point Grey modelo FL3-U3-13S2M-CS, el rango espectral de interés se encuentra entre 400 nm y 720 nm, se logra apreciar que la menor eficiencia cuántica de la cámara se encuentra en los 720 nm, la cual es de aproximadamente el 32%, mientras que, en el violeta está en aproximadamente el 51%.



Figura 3.4. Imagen de la cámara monocromática Point Grey FL3-U3-13S2M-CS [5].

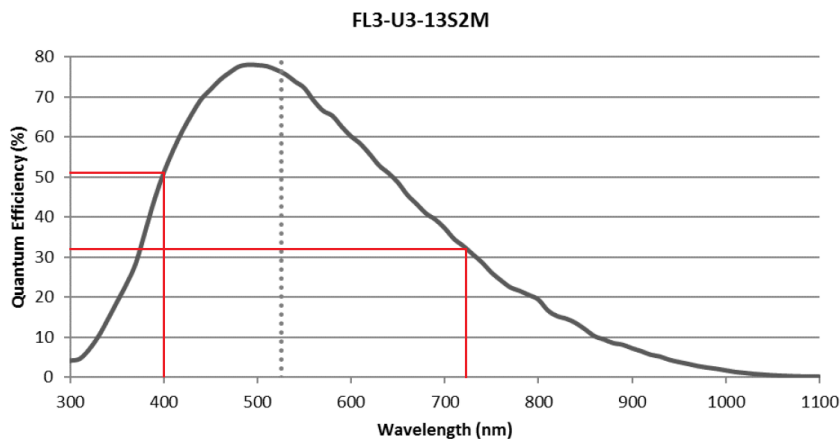


Figura 3.5. Eficiencia cuántica de la cámara Point Grey modelo FL3-U3-13S2M-CS [3], las líneas rojas han sido añadidas para resaltar la eficiencia en el rango espectral de funcionamiento del LCTF VariSpec [5].

### 3.1.4 Lente formador de imágenes Computar M2514-MP2

La lente Computar modelo M2514-MP2 2/3" de 25mm y F1.4, mostrada en

### Capítulo 3. Implementación y caracterización de un sistema de iluminación multispectral basado en el uso de filtrado óptico sintonizable por computadora

la figura 3.6, fue seleccionada debido a la resolución que es capaz de ofrecer, incluyendo un diafragma de apertura y enfoque manuales. En el presente trabajo, se usa una distancia de trabajo de 11.5 cm, con el eje óptico inclinado  $10^\circ$ , aproximadamente, con respecto a la normal del plano de la muestra; los datos técnicos de la lente se muestran en la tabla 3.4, los cuales se han tomado de su hoja de datos [6].

**Tabla 3.4. Características de la lente Computar modelo M2514-MP2**

Longitud focal		25 mm
Radio de apertura máximo		1:1.4
Formato máximo de imagen		8.8 mm x 6.6 mm ( $\phi$ 11 mm)
Rango de operación	Iris	F1.4-F16C
	Enfoque	0.3 m – Inf.
Control del iris		Manual
Apertura efectiva	Frontal	$\Phi$ 17.8 mm
	Posterior	$\Phi$ 12.0 mm
Temperatura de operación		-10 °C - +50 °C
Dimensiones		$\phi$ 33.5 mm 36 mm
Peso		71.2 g
Ángulo de visión	Diagonal (D)	24.9°
	Horizontal (H)	20.0°
	Vertical (V)	15.1°



Figura 3.6. Imagen de la lente computar modelo M2514-MP2 [7].

### **3.1.5 Medidor de potencia Newport 2935T-C**

El medidor de potencia luminosa Newport 2935T-C (ver figura 3.7) está diseñado para proporcionar una amplia combinación de características para medir la potencia óptica y la energía de fuentes cuasi monocromáticas. El uso de los modos de medición y funciones se ha simplificado, con una estructura controlada por el menú intuitivo que proporciona un acceso rápido a todos los modos, características y configuraciones. Este medidor de potencia es un medidor óptico de 2 canales de entrada, diseñado para proporcionar una onda continua y mediciones de fuentes pulsadas, de haces en espacio libre y fuentes basadas en fibra óptica. Estos medidores ópticos con controladores de detectores enfriados, requieren detectores con un conector macho de tipo D-Sub de 15 pines, para el caso de los detectores de silicón. Las características principales se encuentran desglosadas en la tabla 3.5, las cuales fueron tomadas del manual de usuario [7].

**Tabla 3.5. Características principales del medidor de potencia Newport 2935T-C**

Dimensiones	133 mm x 308 mm x 216 mm
Peso	Máx. 12.4 lb.
Conectores	Detector óptico 15-Pin D-Sub, TEC 15-Pin D-Sub (opcional), salida análoga BNC, disparo de salida, disparo de entrada, 9 Pin D-Sub RS-232, USB Host, dispositivo USB
Potencia de consumo	100/120/220/240VAC ± 10%, 50/60 Hz, 70 Watts
Pantalla	LCD gráfica ¼ VGA, 5.7 pulgadas en diagonal
Frecuencia de actualización	≥ 20 Hz
Ambiente de operación	5°C to 40°C; < 70% RH sin condensación
Ambiente de almacenamiento	-20°C to 60°C; < 90% RH sin condensación
Altitud	< 3000m
Categoría de instalación	II
Grado de contaminación	2
Ambiente de utilización	Uso en interiores



Figura 3.7. Imagen del medidor de potencia Newport 2935T-C [7].

### **3.1.6 Detector del medidor de potencia luminosa 918D-SL-OD1**

El fotodetector de silicio para las mediciones de potencia óptica baja, 918D-SL-OD1 de la empresa Newport, mostrado en la figura 3.8, incluye una calibración de la respuesta espectral completa utilizando los estándares NIST, calibrados con equipos de alta precisión y manteniendo la facilidad de la calibración del detector óptico. La calibración estricta y control de procesos permite una incertidumbre de calibración muy pequeña. Cada detector se envía con los datos de calibración, que se almacenan electrónicamente dentro de la EEPROM del detector. Un certificado de calibración, así como las curvas y los datos de calibración reales se envían con cada detector para modos de atenuador y sin atenuador, para garantizar una correcta calibración después de su fabricación. En la tabla 3.6 se muestran los datos técnicos del fotodiodo detector [8].



**Tabla 3.6. Características del detector Newport 918D-SL-OD1**

Rango espectral	400 nm a 1100 nm
Máxima potencia medible con atenuador	2 W
Máxima potencia medible sin atenuador	4 mW
Densidad de potencia, promedio máximo con atenuador	0.3 W/cm <sup>2</sup>
Densidad de potencia, promedio máximo sin atenuador	0.02 W/cm <sup>2</sup>
Incertidumbre de calibración (sin atenuador)	1% @ 400-940 nm 4% @ 941-1100 nm
Incertidumbre de calibración (con atenuador)	1% @ 400-940 nm 4% @ 941-1100 nm
Uniformidad	+2 %
Linealidad	+5 %
Tiempo de subida	2 μs
Material	Silicio
Temperatura de operación	5°C a 50°C, <70% RH



Figura 3.8. Detector Newport 918D-SL-OD1 [8].

### **3.1.7 Mini-espectrómetro USB4000**

El USB4000 es un espectrómetro en miniatura pre configurado para mediciones en la región del UV al visible de 200-890 nm, de la absorción, la transmisión, la reflexión y la emisión de diferentes sustancias o muestras.

Este espectrómetro de alto rendimiento cabe en la palma de la mano y cuenta con un convertidor A/D de 16bits con auto anulación (una mejorada corrección de señal eléctrica oscura), 4 opciones de disparo en total, una corrección de nivel oscuro durante los cambios de temperatura, y un conector de 22 pines con 8 GPIOs programables por el usuario. El módulo USB4000 se puede configurar con diferentes accesorios de la firma Ocean Optics, tales como: fuentes de luz, cubetas, fibra óptica, etc. que permiten diferentes aplicaciones múltiples aplicaciones para la medición de la absorbancia, la transmitancia y la reflectancia. Las interfaces a un ordenador son a través de USB 2.0 o RS-232. La multiplataforma de espectroscopia Spectra Suite se ejecutan en los sistemas operativos Linux, Mac o Windows. El USB4000 opera desde la fuente de + 5V, proporcionada a través del USB, o desde una fuente de alimentación independiente y una interfaz RS-232, el detector utilizado en el espectrómetro es un arreglo CMOS de 3648 elementos de alta sensibilidad de Toshiba, el número de producto es TCD1304AP, debido a que se aplica un recubrimiento a todos los detectores TCD1304AP, por lo que la sensibilidad óptica podría variar respecto a la especificada en la hoja de Toshiba. En la tabla 3.7 se muestran algunas de las características más relevantes del mini-espectrómetro, mostrado en la figura 3.9 [9].

**Capítulo 3. Implementación y caracterización de un sistema de iluminación multispectral basado en el uso de filtrado óptico sintonizable por computadora**

**Tabla 3.7. Características físicas y operacionales del Mini espectrómetro USB4000**

Valores absolutos máximos:	
Especificaciones físicas:	
Dimensiones físicas	89.1 mm x 63.3 mm x 34.4 mm
Peso	190 g
Potencia:	
Potencia requerida	230 mA a +5 VDC
Suministro de voltaje	4.5-5.5 V
Tiempo de encendido	~5 s dependiendo del código
Espectrómetro:	
Diseño	Asimétrico cruzado Czerny-Turner
Longitud focal	42 mm
Longitud focal	68 mm
Conector de entrada de fibra	SMA 905
Detector	Arreglo CCD Toshiba TCD1304AP
Filtros	Rechazo de 2° y 3° orden
Espectroscopio:	
Tiempo de integración	10 $\mu$ s - 10 s
Rango dinámico	3,4 x 10 <sup>6</sup> (sistema); 1300: 1 para una sola adquisición
Relación señal ruido	300: 1 (en señal completa)
Ruido oscuro	50 conteos RMS
Resolución (FWHM)	~1.5 nm
Luz parásita	<0.05% a 600 nm; <0.10% a 435 nm
Canales del espectrómetro	Uno
Condiciones ambientales:	
Temperatura	-30° a +70° C Almacenamiento -10° a +50° C Operación
Humedad	0% - 90% sin condensación
Interfaces:	
USB	USB 2.0, 480 Mbps

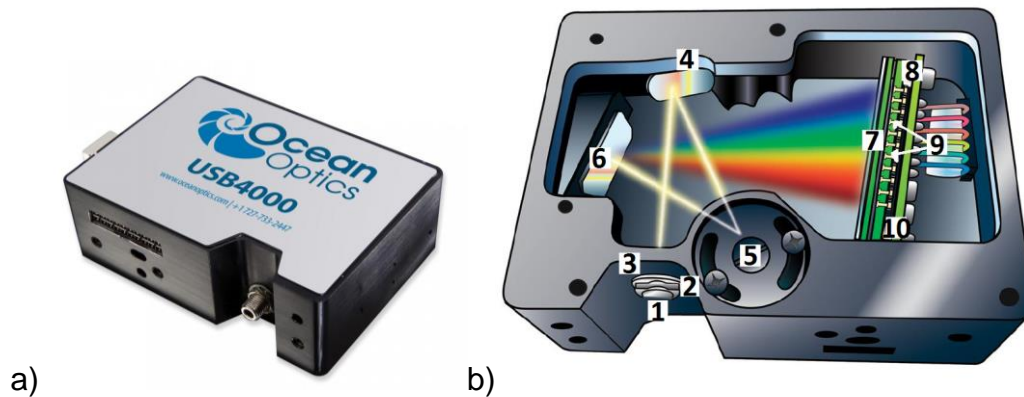


Figura 3.9. a) Imagen del mini espectrómetro USB 4000 y b) configuración óptica interna: 1. entrada la fibra óptica, 2.abertura, 3. filtrado, 4. espejo colimador, 5. rejilla de difracción, 6. espejo director, 7. lente colectora, 8. Detector, 9. Filtro OFLV y 10 filtro de acondicionamiento de señal.

En la figura 3.9 b se muestra una vista interna del mini espectrómetro USB 4000 en el que las mediciones espectrales se realizan de la siguiente manera: La entrada del mini espectrómetro donde se conecta la fibra óptica (1), envía la luz por una apertura (2), mediante filtrado (3), se seleccionan las longitudes de onda dentro del rango de espectrómetro, la luz admitida es colimada por un espejo (4) y mediante una rejilla de difracción (5) la luz es separada, posteriormente un segundo espejo (6) dirige la luz hacia la lente colectora (7) del detector (8), y al final pasa por dos filtros de acondicionamiento de señal (9 y 10) [10].

### 3.1.8 Fuente de iluminación de halógeno HELLA modelo H7-70

También se trabajó con una fuente de halógeno de la marca comercial HELLA modelo H7-70 con una tensión de 12 V y consumo eléctrico máximo de 70 W, según los datos proporcionados por el fabricante en el empaque de dicha lámpara. En la figura 3.10 se muestra una fotografía del bombillo usado.



Figura 3.10. Fotografía de la lámpara de halógeno de 70 W.

## **3.2 METODOLOGÍA**

### **3.2.1 Caracterización de la fuente de iluminación Fiber-Lite MH100.**

Se implementó una fuente de iluminación para el sistema de adquisición de imágenes multiespectrales basado en el uso combinado de la fuente Fiber-Lite MH100 y el filtro sintonizable de cristal líquido VariSpec. A continuación, se describe el procedimiento para su caracterización.

La caracterización de la iluminación monocromática se realizó de forma espectral, la luz es transportada desde la fuente hasta la muestra siguiendo el siguiente camino óptico: la iluminación generada por la fuente Fiber-Lite MH100, es transportada mediante una fibra óptica de 84" de longitud y un diámetro efectivo de 0.5", el haz de luz es colimado por una lente convergente con  $f = 8 \text{ cm}$ , posteriormente el haz pasa a través del filtro VariSpec, una vez obtenido el haz monocromático, a través de un prisma es reflejado  $90^\circ$ , logrando con ello que el haz incida directamente sobre el detector. La cámara se encuentra inclinada, a unos  $25^\circ$  y a 11.5 cm, aproximadamente, se encuentra la cámara monocromática, controlada mediante un programa desarrollado en el software MATLAB® R2014a para realizar el control desintonizar una longitud de onda en el VariSpec y tomar

imágenes simultáneamente, las imágenes tomadas cuentan con una resolución máxima de 1.3 Mp (1328 x 1048 píxeles) y una profundidad de grises de 16 bits. El script usado en MATLAB® captura imágenes en pasos de 10 nm, iniciando en 400 nm hasta 720 nm, rango espectral sintonizable por el VariSpec, con un tiempo de estabilización para la cámara de 2 segundos, las imágenes tomadas se guardan de forma automática en formato de gráficos de red portable (.png), las líneas de código del script mencionado se encuentran disponibles en el anexo 2.

Se realizó la medición de la potencia emitida en función de la longitud de onda para la fuente Fiber-Lite MH100 seleccionando la longitud de onda a medir en el medidor de potencia y en el VariSpec manualmente, debido a que el medidor de potencia no cuenta con soporte para MATLAB®. La medición se realizó 30 minutos aproximadamente después de encender la fuente de iluminación, una vez sin utilizar el atenuador del sensor de silicón y cinco veces con el atenuador colocado, de modo que se observara la repetitividad de las mediciones. Las primeras dos mediciones usando el atenuador y la medición sin usar el atenuador del sensor se realizaron durante la misma sesión, posteriormente transcurridas 2.5 horas, aproximadamente, se realizaron las siguientes tres mediciones para sumar seis en total y cinco usando el atenuador, con el sensor conectado al canal B del medidor de potencia. El arreglo óptico usado para las mediciones se muestra en la figura 3.11, donde la luz es colimada y mediante un diafragma se controla el diámetro del haz que incide sobre el VariSpec que filtra una longitud de onda, creando un haz monocromático que incide sobre el sensor.

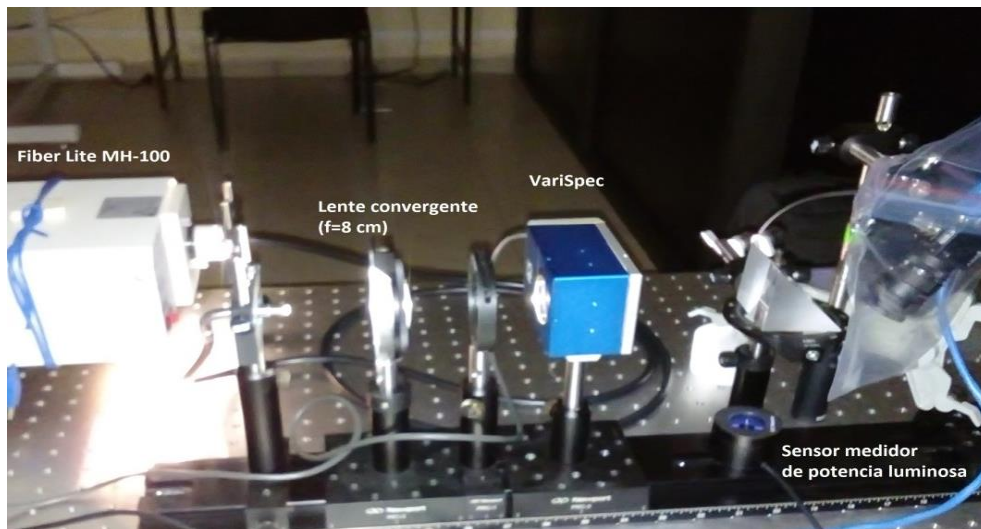


Figura 3.11. Fotografía de la instalación experimental usada para la medición de la potencia de la fuente Fiber-Lite MH100 en función de la longitud de onda.

Después de terminadas las mediciones, los resultados obtenidos se capturaron en un script de MATLAB® y para poder graficarlos y realizar el análisis correspondiente, el cual se discute en la sección de resultados de esta tesis.

### **3.2.2 Caracterización de una fuente de iluminación basada en una lámpara de halógeno de 70 W.**

La fuente de iluminación es uno de los aspectos más fundamentales en los sistemas de adquisición de imágenes, en este sistema de adquisición multispectral, espectro de emisión de la fuente de iluminación es de vital importancia, debido a que su emisión en función de la longitud de onda será pieza clave para la captura de imágenes del SAIME, para el caso de la lámpara Fiber-Lite MH100 la cual tiene una emisión espectral con picos de emisión muy acentuados a lo largo del espectro visible, se precisó de la utilización una fuente de luz de halógeno, la cual tiene un espectro de emisión creciente desde la zona de los 400 nm hacia el infrarrojo. El sistema utilizado es el mismo que se usó para la caracterización espectral de la

fuelle Fiber-Lite MH100, únicamente sustituyendo la fuente por el bombillo de halógeno, colocándolo de forma horizontal en el punto focal de la lente. Se hicieron cuatro mediciones utilizando el atenuador en el sistema. En la figura 3.12 se muestra el espectro de emisión típico de una lámpara de halógeno.

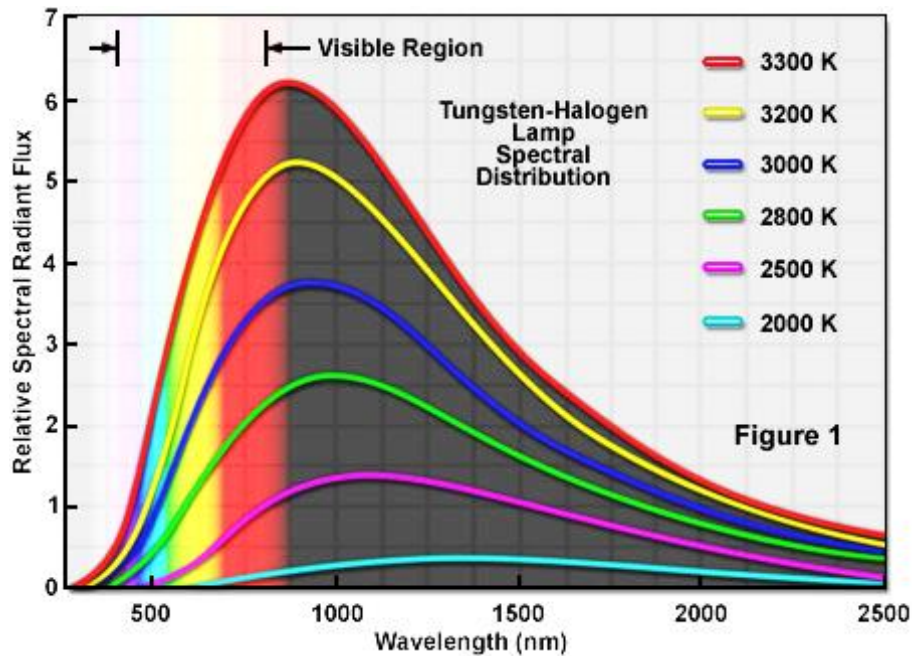


Figura 3.12. Espectro de emisión típico de un bombillo de halógeno [11].

### 3.2.3 Investigación del perfil del haz de iluminación del arreglo SAIME compacto.

Uno de los principales puntos que se buscan mejorar del dispositivo IME, es que éste sea un dispositivo compacto, el cual se pueda usar con practicidad en un ambiente clínico, por lo que se requiere que la fuente de iluminación esté unida a la cámara monocromática.

En la figura 3.13 se muestra una vista general del sistema de iluminación mientras que el arreglo usado para concentrar la iluminación monocromática



en la fibra óptica se muestra en la figura 3.14.



Figura 3.13: Fotografía del arreglo experimental general para la medición del perfil del haz proporcionado al final de la fibra óptica, usado para la toma de imágenes multispectrales.

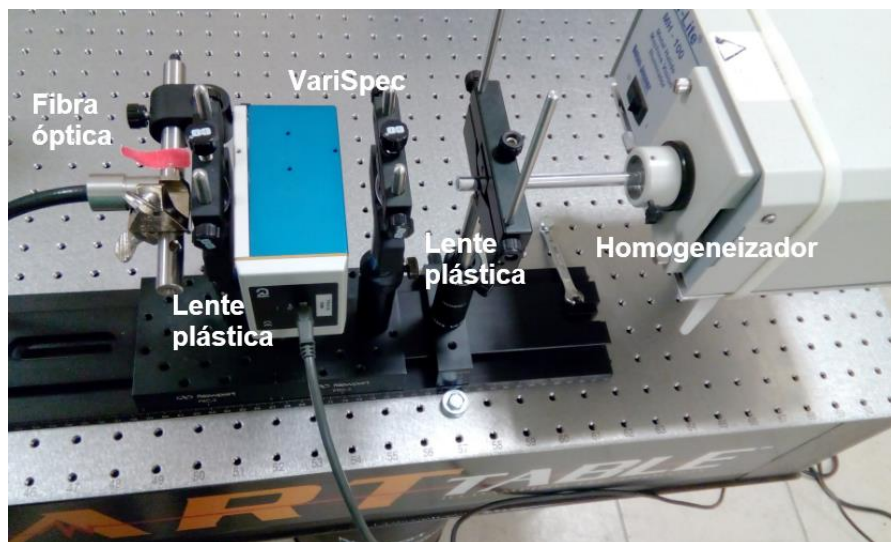


Figura 3.14. Fotografía del arreglo experimental para colimar el haz de luz proporcionado por el homogeneizador, filtración de una longitud de onda (590 nm en este caso) con el VariSpec y concentración del haz sobre la punta de la fibra óptica.

Antes de iniciar con las mediciones del haz con la fibra acoplada a un

costado de la cámara, se realizó la medición del perfil del haz de iluminación, colocando la fibra de forma vertical, a 11.5 cm de distancia de la zona de trabajo. Se midió el perfil del haz que ilumina la zona de aproximadamente 2 cm<sup>2</sup>, que es el campo visual de la cámara utilizando la lente computar. En la figura 3.15 se muestra la configuración experimental que se usó para las mediciones mencionadas.

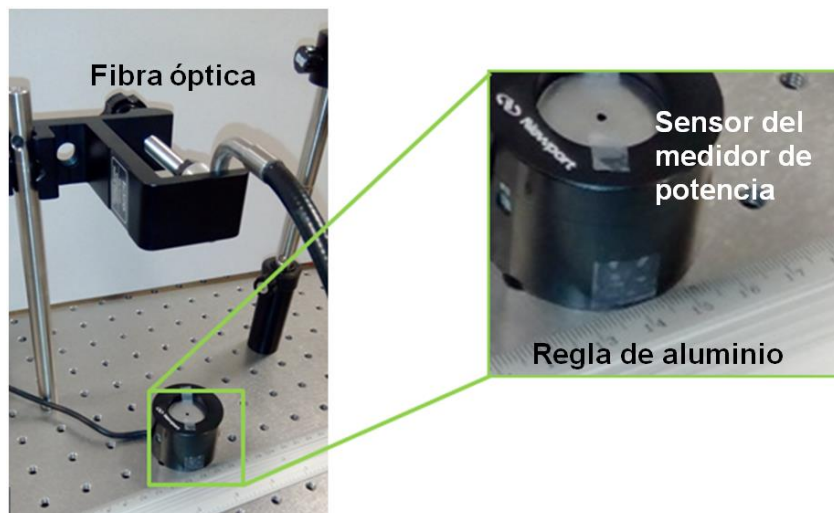


Figura 3.15. Fotografía de la configuración experimental usada para la medición del perfil del haz de luz de la salida de la fibra óptica del orden de 5 mm de diámetro, proporcionado por el arreglo: Fiber-Lite MH100, homogeneizador y VariSpec.

Debido a que sólo se está usando una guía de fibra óptica para transportar la luz desde la fuente hasta donde se usará la cámara, la iluminación proveniente de la fibra óptica hacia la muestra tiene una inclinación, de modo que cuando se hacen las capturas multispectrales, la cámara queda con su eje óptico perpendicular al plano de la muestra, mientras que la salida de luz de la fibra óptica queda inclinado con respecto a la normal del plano de trabajo, lo cual hará que el perfil de la iluminación que se mida en esta nueva configuración será distinto al arreglo que se caracterizó primeramente, mostrado en la figura 3.15.

Se hizo una medición experimental aproximada del ángulo entre el eje óptico de la cámara monocromática y el eje de la fibra óptica para saber de forma cuantitativa cuan inclinada está la punta de la fibra óptica con respecto a la normal del plano de trabajo, el cual es paralelo al eje óptico de la cámara. La configuración experimental se muestra en la figura 3.16, en la cual se observa el sistema completo ajustado a 11.5 cm aproximadamente.

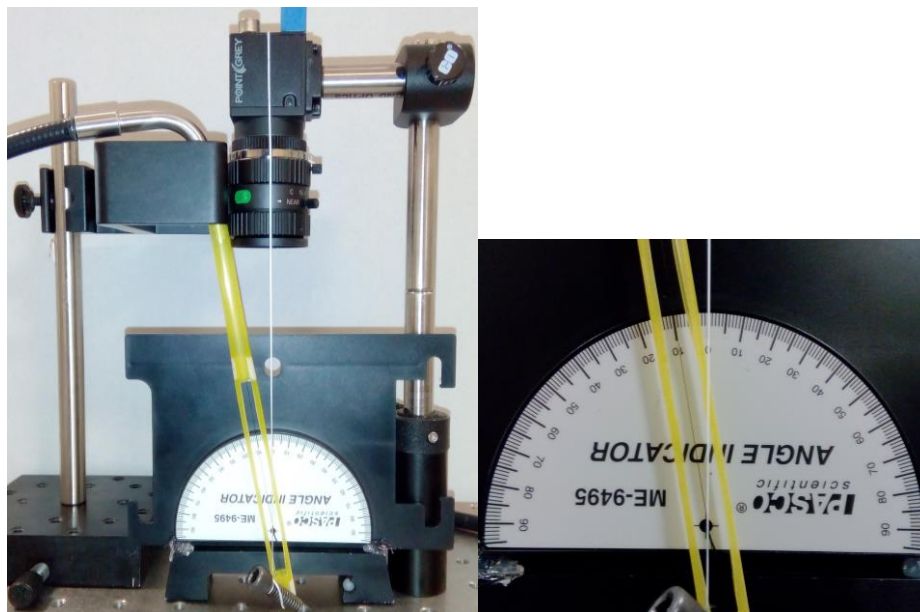


Figura 3.16. Fotografía de la configuración experimental utilizada para obtener una aproximación del ángulo de inclinación con el que la fibra óptica ilumina la muestra a 11.5 cm de distancia de trabajo.

Se realizó con la medición del espectro de iluminación con la fibra óptica sujeta sobre el costado de la cámara lente de la cámara, se realizaron 5 mediciones del perfil de la iluminación para tener además una medida estadística de la homogeneidad del dicho perfil. Las mediciones se realizaron desde el punto donde la iluminación proporcionada por la fibra es cero, para medir la luz proveniente de la fibra se restó la iluminación de fondo mediante

la función “ZERO” del Power Meter de Newport 2935T-C, que consiste en sintonizar la luz de fondo como el cero en el sensor y cuantificar a partir de ese valor la luz añadida a la entrada del sensor, en este caso mediante la fibra. El arreglo experimental usado para iluminar el detector Newport 918D-SL-OD1 se muestra en la figura 3.16.

La medición del haz proporcionada por el sistema se realizó desde el primer cero de intensidad de la luz de la fibra, el cual se encontró desplazando el detector del Power meter auxiliándose de una regla de aluminio colocada sobre la mesa de trabajo como referencia, continuándose la medición hasta el cero de intensidad proveniente de la fibra del otro extremo con el haz centrado el eje de la cámara y del detector simultáneamente.

La medición del perfil de haz proveniente de la fibra, se realizó siguiendo el mismo procedimiento de la fibra perpendicular al objeto de interés. En la figura 3.17 se observa la configuración usada para la medición del perfil del haz a 11.5 cm de distancia de la lente de la cámara sobre el eje óptico, el haz de luz emitido por la fibra óptica se midió manualmente.

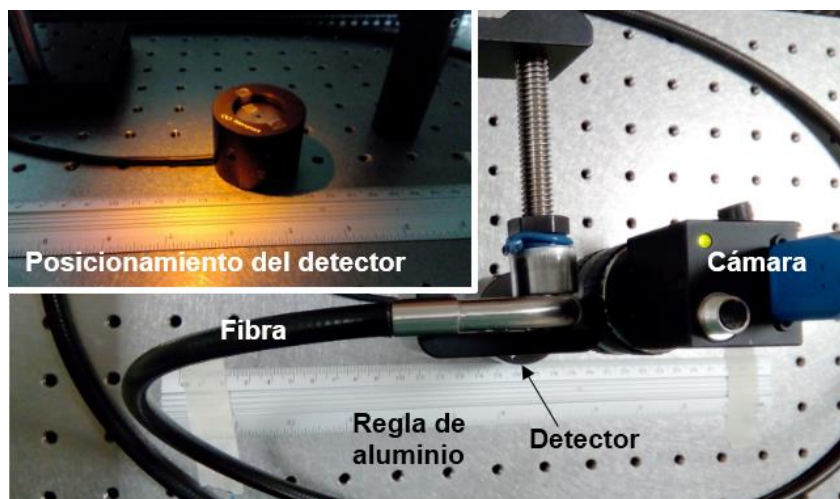


Figura 3.17 Arreglo para la medición de perfil de iluminación proporcionada por el sistema.

### 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se realizaron tres caracterizaciones significativas, de las cuales las primeras dos corresponden a la composición espectral de dos fuentes de iluminación, y la tercera corresponde a la medición del perfil de iluminación del haz de luz sobre la muestra a 11.5 cm de distancia. Los resultados obtenidos se graficaron en MATLAB® y se discuten a continuación.

#### 3.3.1 Caracterización de la fuente de iluminación Fiber-Lite MH100

En la figura 3.18 se puede observar el resultado de graficar los resultados obtenidos de las mediciones de la potencia de la fuente filtrada con el LCTF VariSpec. La gráfica representa el espectro obtenido al medir la emisión de la fuente con el VariSpec sintonizado cada 10 nm desde 400 nm hasta 720 nm, sin embargo, al ser una fuente de haluro metálico, se conoce que tiene picos de emisión muy bien definidos y que no necesariamente se encuentran en las longitudes de onda medidas.

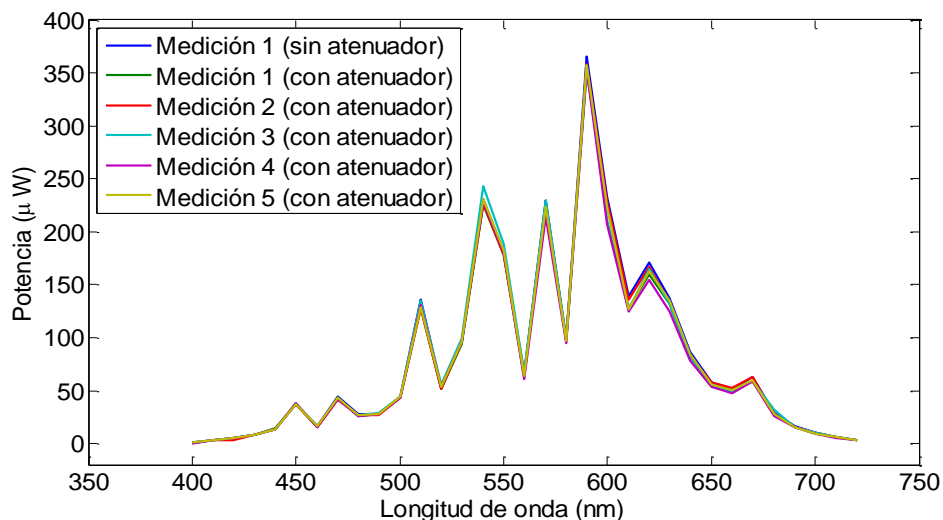


Figura 3.18. Gráfico de la emisión de la fuente en función de la longitud de onda usando el LCTF VariSpec, para generar el haz monocromático y el Newport Power Meter para las mediciones de la potencia emitida.

Como se logra apreciar, el sistema de iluminación tiene un bajo rendimiento en la zona violeta desde 400 nm hasta 450 nm aproximadamente y en la zona del rojo e infrarrojo existe de igual manera un decaimiento de la cantidad de iluminación otorgada por la fuente.

La fuente tiene un espectro de emisión característico (como se puede observar en la figura 3.2) según los datos proporcionados por el fabricante, sin embargo, debido a que el fabricante no proporciona los datos del gráfico que muestra sobre el espectro de emisión de dicha fuente, por lo cual se procedió a medir el espectro de emisión usando el mini espectrómetro USB4000, de donde se obtuvo la curva espectral mostrada en la figura 3.19.

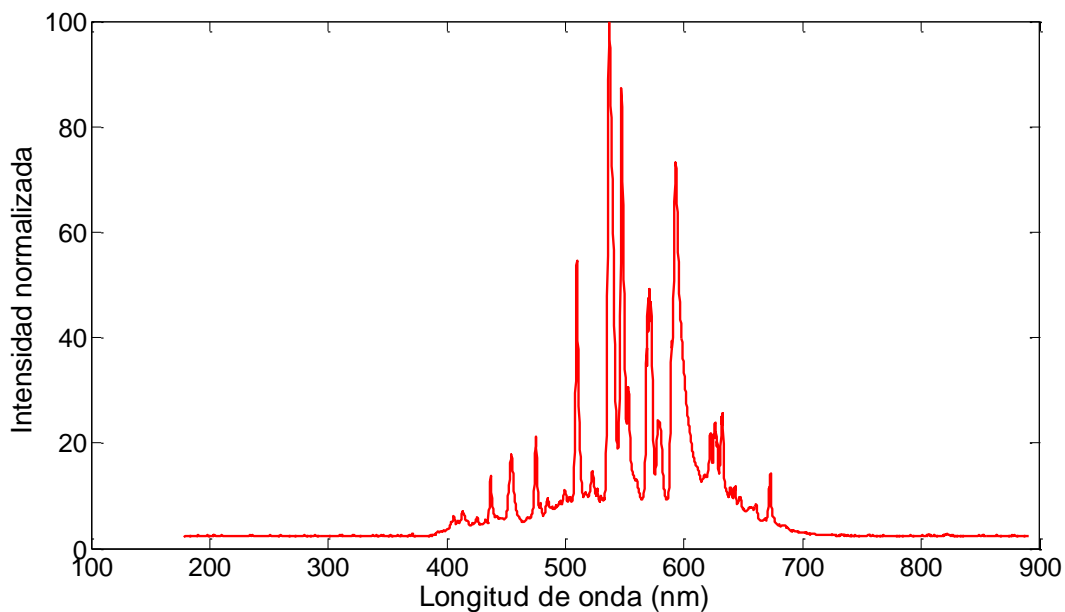


Figura 3.19. Espectro de emisión de la fuente Fiber-Lite MH100 medido usando el mini espectrómetro USB4000

Como se puede observar en esta figura, el espectro de emisión de la fuente es distinto al que es otorgado por el fabricante, sin embargo, es muy parecido al que se obtuvo midiendo la potencia de emisión cada 10 nm.

Una vez obtenidos los datos, se procedió a seleccionar los picos de emisión más pronunciados en la gráfica obtenida mediante el espectrómetro para optimizar la iluminación monocromática en la captura de imágenes multiespectrales.

Los picos de emisión considerados están en: 406.65, 409.36, 413.90, 425.61, 436.68, 453.81, 475.31, 484.8, 499.67, 509.28, 521.85, 537.34, 547.61, 552.94, 569.82, 570.60, 578.81, 592.82, 622.35, 626.75, 632.69, 639.36, 642.98, 647.54, 660.8 y 673.42 nm de longitud de onda.

En los picos de emisión mostrados en el párrafo anterior, se realizó la medición de la potencia, ésta fue realizada dos veces para corroborar una vez más la repetitividad en las mediciones tal como se realizó para obtener los datos de la figura 3.18.

Los picos de emisión fueron seleccionados con ayuda del mini espectrómetro para obtener la gráfica de la figura 3.20, en ésta se muestra el espectro de emisión con el que se estará iluminando la muestra cuando se realice la captura de imágenes multiespectrales cuando se estén usando dichos picos de emisión de la fuente Fiber-Lite MH100, como método de optimización de la iluminación.

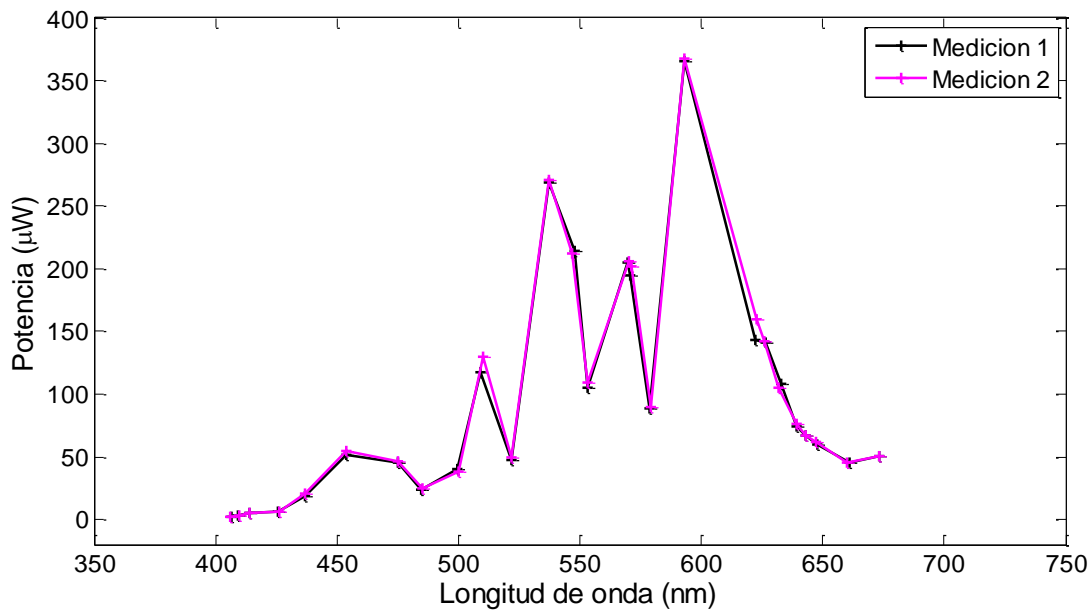


Figura 3.20. Curva de los picos de emisión de la fuente Fiber-Lite MH100 medidos usando el medidor de potencia Newport.

Conocer los picos de emisión de la fuente, permite sintonizarlos en el filtro VariSpec obteniendo la iluminación más eficiente para el sistema de adquisición de imágenes multispectrales, sin embargo, es importante conocer de igual forma la pureza espectral de la emisión “monocromática”, por lo cual se procedió a tomar el espectro de la longitud de onda filtrada por el VariSpec. En el anexo 3 se muestran los espectros obtenidos de la iluminación cuasi monocromática proveniente de la fuente Fiber-Lite MH100 filtrada por el LCTF VariSpec. En la figura 3.21 se muestran los espectros correspondientes a 540, 560 y 580 nm, donde se puede apreciar claramente que la composición espectral de la iluminación no se está realizando realmente con la longitud de onda seleccionada, sino con dos longitudes de onda cercanas, por ejemplo, en el caso de 580 nm, la iluminación contiene dos picos de emisión que son 580 nm y 590 nm.



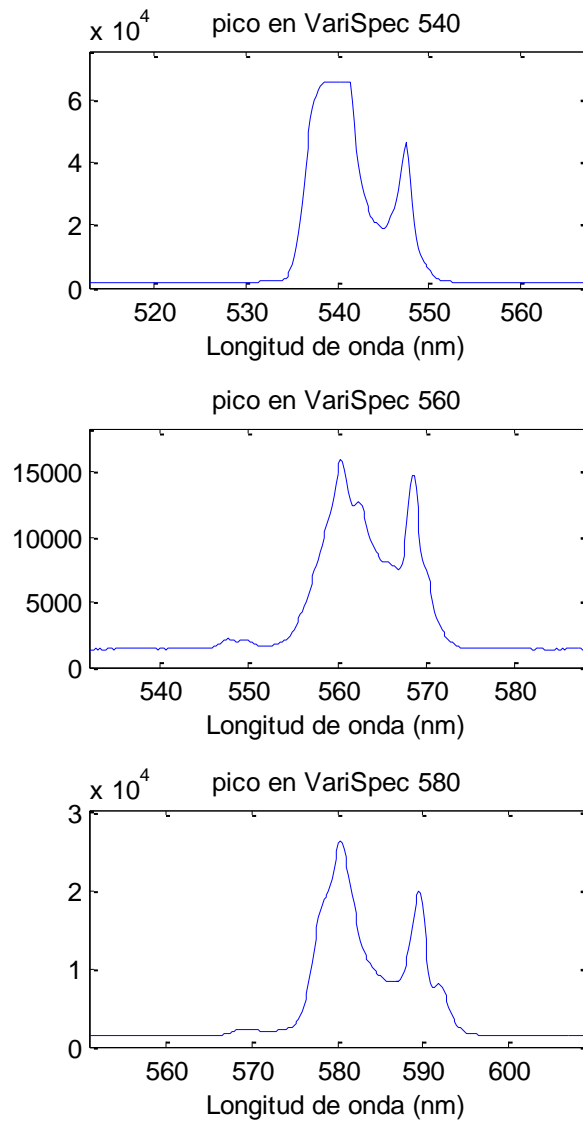


Figura 3.21. Perfil de emisión espectral de la iluminación de la fuente Fiber-Lite MH100 filtrada por el LCTF VariSpec en las longitudes de onda de: 540, 560 y 580 nm, respectivamente

### 3.3.2 Caracterización de una fuente de iluminación basada en una lámpara de halógeno de 70 W.

Fue necesario conocer la pureza espectral de esta fuente de halógeno de 70 W, para lo cual se analizó utilizando el mismo procedimiento que se usó para la caracterización de la fuente Fiber-Lite MH100.

Como primer paso para la caracterización de esta nueva fuente de iluminación que se usará con el dispositivo IME, se midió la potencia en función de la longitud de onda desde 400 nm hasta 720 nm, se graficaron en una escala semilogarítmica y los resultados se muestran en la figura 3.22.

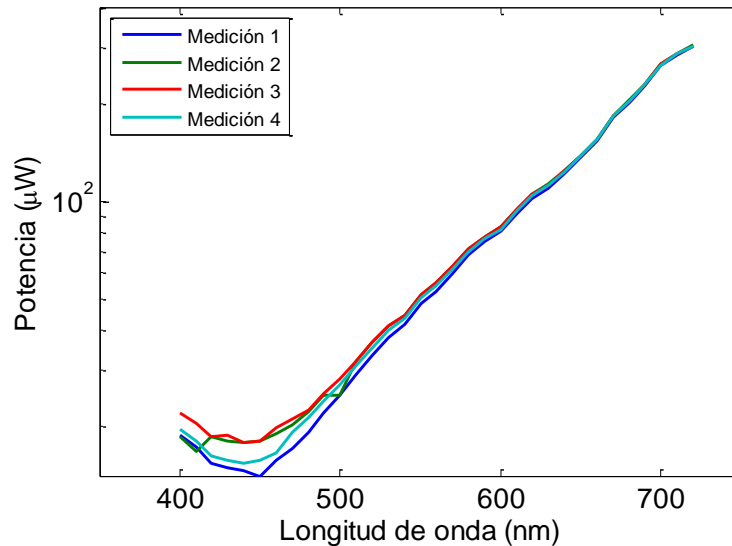


Figura 3.22. Intensidad en función de la longitud de onda del bombillo de halógeno filtrado con el VariSpec.

En la gráfica es posible observar que la fuente tiene una potencia creciente cuanto más se acerca a la región infrarroja y no presenta picos de emisión pronunciados, tal como es el caso de la fuente Fiber-Lite MH100.

En la figura 3.23 se muestran los resultados obtenidos de la medición de espectros en las mismas longitudes de onda que en la fuente Fiber-Lite MH100 en la figura 3.21, en 540, 560 y 580 nm, la medición de los espectros se hizo usando el mini espectrómetro USB400 y se guardaron en un documento de texto para posteriormente leer los datos y graficarlos usando MATLAB® R2014a. En el anexo 4 se muestran las gráficas de la composición espectral de la luz del bombillo de halógeno filtrada por el LCTF VariSpec, en el rango espectral de 400 a 700 nm.

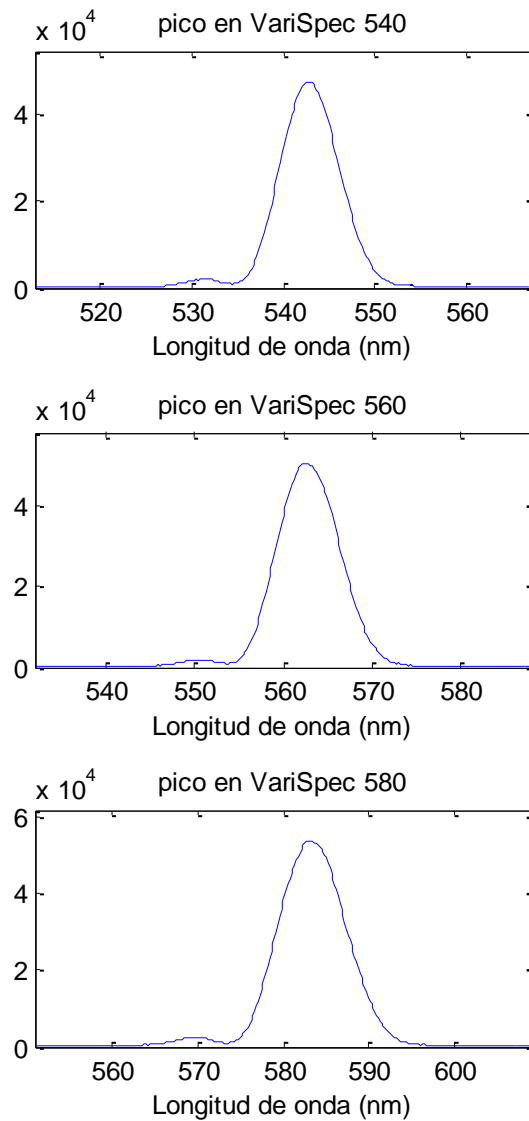


Figura 3.23 Gráfica de la composición espectral de la iluminación proporcionada por la configuración de iluminación de bombillo de halógeno filtrado por el VariSpec, en las longitudes de onda de: 540, 560 y 580 nm, respectivamente.

Mediante el análisis de la composición espectral filtrada mediante el LCTF VariSpec, se puede aseverar que al usar la fuente de luz halógena proporciona una pureza espectral mayor que cuando se usa la fuente de haluro metálico, pues como se observa en las figuras 3.21 y 3.23, al usar la fuente de halógeno se ilumina realmente con una longitud de onda y no con

dos cercanas, así en el caso de la extracción de información de las imágenes multiespectrales, la información obtenida de una imagen espectral de una longitud de onda específica será más exacta cuando se use la luz filtrada por el LCTF VariSpec de la fuente de halógeno.

### **3.3.3 Investigación del perfil de iluminación del arreglo SAIME compacto**

El arreglo SAIME compacto es una de las variantes en la fuente de iluminación usada por el dispositivo IME, esta variante tiene la particularidad de concentrar la iluminación proveniente de la fuente Fiber Lite MH100 mediante dos lentes, la primera es usada para colimar el haz que será filtrado por el VariSpec y la segunda lente es usada para converger el haz colimado en la entrada de la fibra óptica. En este caso se sintonizó el filtro de cristal líquido en 590 nm, debido a que el pico máximo de emisión de la fuente filtrada por el VariSpec se encuentra en esa longitud de onda, el perfil del haz que sale por la fibra óptica es medido a 11.5 cm, distancia a la cual se encuentra el objeto de interés. Se realizaron 5 mediciones del perfil del haz, las primeras dos se hicieron ajustando una única vez la altura de la fibra sobre el detector del medidor de potencia, las siguientes tres se hicieron ajustando cada vez la altura de la fibra a 11.5 cm sobre el detector, posteriormente se graficaron 2 cm del área central de iluminación, la cual sería la iluminación sobre el área de interés si la fibra estuviera dispuesta de forma vertical sobre la muestra a iluminar, posteriormente se promediaron dichas mediciones. En la figura 3.24 se muestran las gráficas de las mediciones realizadas y el promedio de esas mediciones junto con el perfil central de 2 cm graficado.

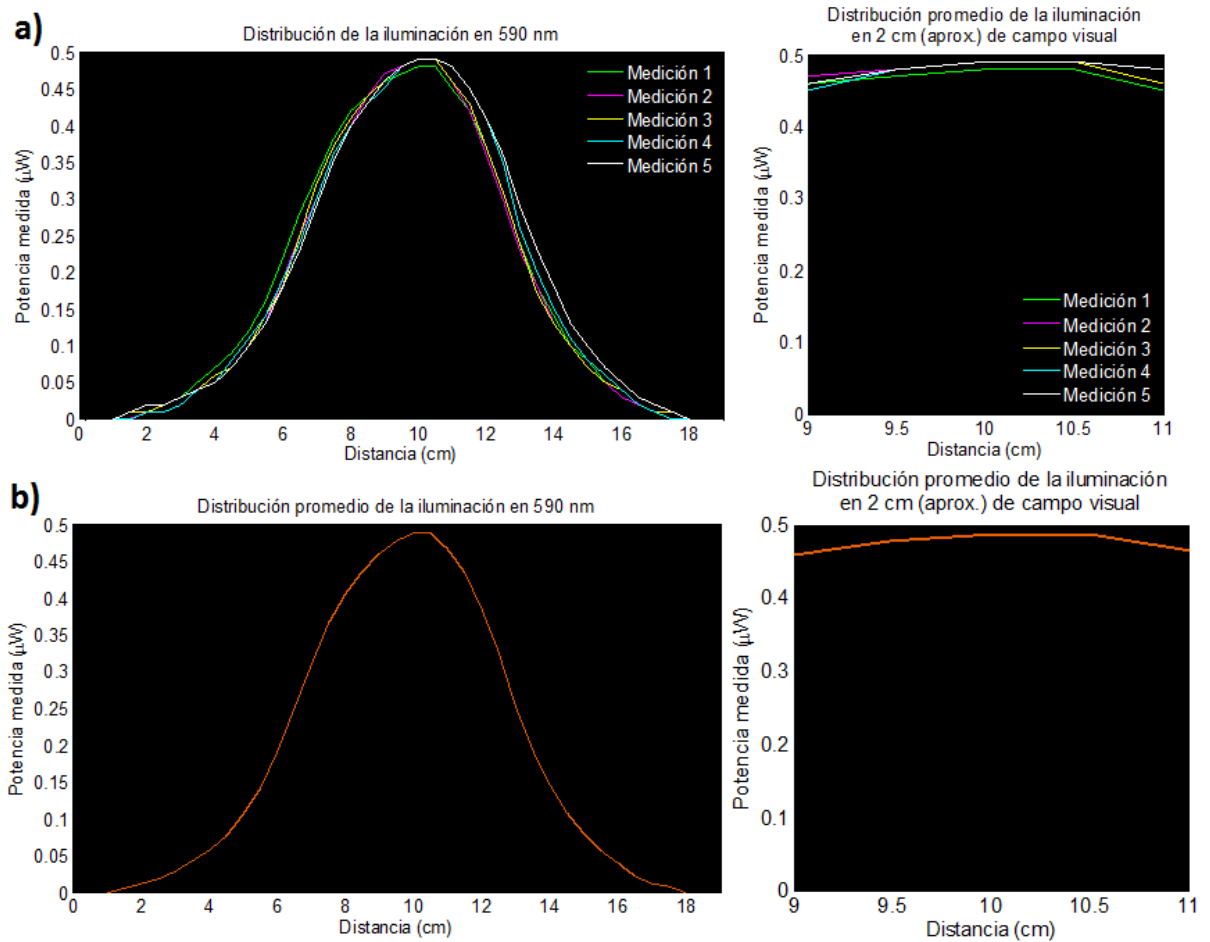


Figura 3.24. Mediciones del perfil del haz realizadas a 11.5 cm de la zona de interés, en a) se muestran las 5 mediciones realizadas y la iluminación de 2 cm centrada en el haz y en b) se muestra el promedio de estas mediciones.

Se tomaron cinco mediciones, ajustando cada vez la altura de la fibra sobre el borde de la cámara la cual permaneció a 11.5 cm del atenuador del detector, aproximadamente. En la figura 3.25 se muestra la gráfica de los perfiles obtenidos por cada medición y la gráfica del promedio de estas mediciones.

### Capítulo 3. Implementación y caracterización de un sistema de iluminación multispectral basado en el uso de filtrado óptico sintonizable por computadora

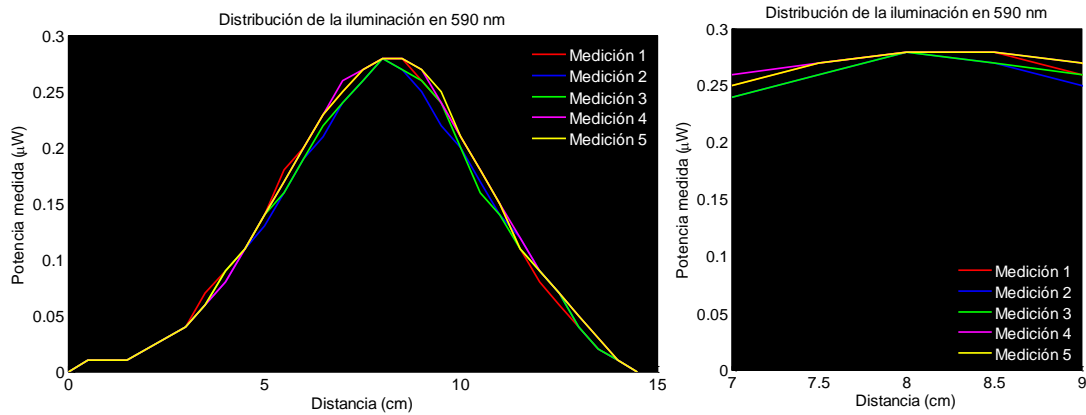


Figura 3.25. Mediciones del perfil del haz proporcionado por el sistema al final de la fibra óptica y medición en el eje óptico de la cámara monocromática considerando 2 cm de campo visual.

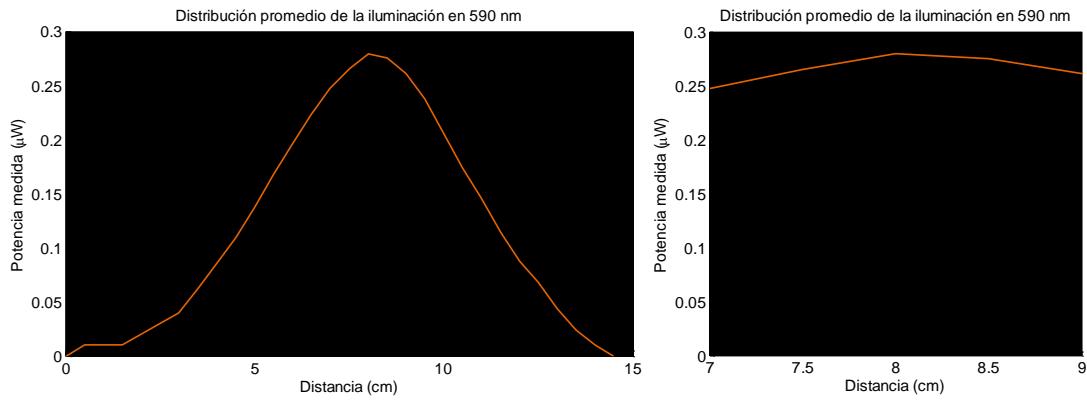


Figura 3.26. Distribución promedio de la iluminación en general y en el campo visual de 2 cm de la cámara monocromática.

### **3.4 CONCLUSIONES**

El análisis teórico de diversas fuentes de iluminación LED, mediante los datos proporcionados por el fabricante, permitió hacer un análisis previo a la compra de los posibles LEDs que compondrían el sistema de iluminación del dispositivo IME, de forma muy significativa, mediante el análisis del desempeño en la captura de imágenes multispectrales de las fuentes de iluminación a las que fue posible acceder, fue posible hacer un comparativo, entre los LEDs que cumplían con algunas propiedades ópticas espectrales, para determinar la compra más óptima. Las mediciones y comparaciones realizadas y mediante el uso de los datos técnicos de la hoja de datos de los fabricantes dieron el soporte necesario para la comparación del desempeño de las fuentes de iluminación utilizadas por el dispositivo actualmente y los LEDs que se adquirieron.

### **3.5 REFERENCIAS**

[1] Dolan-Jenner Industries, “MH-100 Metal Halide Fiber Optic Illuminator Model”.

[2] Dolan-Jenner Industries, “Fiber-Lite MH100 illuminator. Operation manual”.

[3] Edmund optics. “Dolan-Jenner MH-100 Metal Halide Fiber Optic Illuminator Model”.

[4] “Flea® 3 ULTRA-COMPACT + HIGH FRAME RATES + COST-EFFECTIVE”. Hoja de datos.

[5] “Flea3 USB 3.0 Digital Camera Imaging Performance Specification”. Documento de especificaciones del sensor.

[6] “Computar M2514-MP2”. Hoja de datos.

[7] “Model 1935/2935 Series Single and Dual-Channel Optical Meters”. Manual del usuario.

[8] “High Performance Photodiode Sensors 918D SERIES”. Hoja de datos.

[9] “USB4000 Data Sheet”. Hoja de datos.

[10] “USB4000 Fiber Optic Spectrometer Installation and operation manual”. Manual de instalación, documento 211-00000-000-02-201604.

[11] Michael W. Davidson. “Tungsten-Halogen spectral distribution”. [Figura]. Recuperado de:  
<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/lightsources/images/tungstenlampsfigure1.jpg>



# Capítulo 4

## SISTEMA DE ADQUISICIÓN Y ANÁLISIS DE IMÁGENES MULTIESPECTRALES

### RESUMEN

En este capítulo de tesis se realiza un análisis teórico del desempeño de diferentes fuentes de iluminación LED, utilizando los datos ópticos espectrales proporcionados en las hojas de datos técnicos de los fabricantes de dichas fuentes de iluminación. El análisis espectral de los LEDs incluye sólo los del tipo montaje superficial para lograr un diseño más compacto del dispositivo IME. El análisis espectral se realiza gráficamente utilizando los espectros de absorción de las siguientes sustancias: la hemoglobina oxigenada, la hemoglobina desoxigenada, la feomelanina, la eumelanina y el agua, sustancias las cuales fueron seleccionadas por ser cromóforos de la piel. También se realiza un análisis de la composición espectral del anillo de LEDs del dispositivo IME contra la composición espectral de la fuente de halógeno de 70 w y la fuente Fiber-Lite MH100. Se muestran las mejoras del desempeño del SAIME así como los resultados obtenidos en la extracción del espectro de reflexión de forma simple y con el método del cociente.

## 4.1 MATERIALES

En esta sección de materiales, sólo se describirán los nuevos materiales usados para el análisis espectral comparativo entre tres fuentes de iluminación espectral, las cuales son las siguientes: Fiber-Lite MH100, lámpara de halógeno de 70 W y anillo de LEDs del dispositivo IME.

### 4.1.1 Sistema de iluminación basado en LEDs

El sistema de iluminación basado en diodos emisores de luz (LEDs, por las siglas en inglés de Light-Emitting Diode) del dispositivo IME está pensado para lograr la portabilidad de éste, de modo que sea posible trasladarlo a un ambiente clínico. Debido a las características físicas de las fuentes de iluminación: Fiber-Lite MH100 y bombillo de halógeno, no son óptimas para la toma de imágenes multiespectrales de muestras *in vivo*, aunque son de gran utilidad para realizar análisis de muestras biológicas donde no existe movimiento y que dichas muestras se puedan colocar sobre una platina u algún porta objetos para su análisis.

La fuente de iluminación diseñada para este sistema de adquisición de imágenes multiespectrales, es un anillo de 7 LEDs planos con emisión espectral en las siguientes longitudes de onda: blanco (460 nm a 545 nm), azul (470 nm), verde (515 nm), naranja (595 nm), rojo (630 nm), infrarrojo 1 (935 nm) e infrarrojo 2 (935 nm). En la figura 4.1 se muestra una fotografía del anillo de LEDs diseñado para el dispositivo IME.



Figura 4.1. Fotografía del anillo de LEDs usado por el dispositivo IME.

#### 4.1.2 LED de montaje superficial de 610 nm.

Para lograr la portabilidad del dispositivo se usó un LED de montaje superficial con pico de emisión en 610 nm del espectro electromagnético, dicho LED se muestra en la figura 4.2

### 4.2 METODOLOGÍA

Se seleccionaron, de un catálogo de LEDs de montaje superficial, tres familias de LEDs posibles para ser usadas por el dispositivo IME, la diferencia con estos LEDs es que ellos no tienen la flexibilidad de tener una longitud de onda seleccionada, sino que deben ser adquiridos en las longitudes de onda necesarias que permitan la extracción de información con valor diagnóstico. Las familias de LEDs que se consideraron son las siguientes con las longitudes de onda disponibles en cada una de ellas de la página online del proveedor Mouser Electronics:

- SML-51-313068: 470 nm, 560 nm, 570 nm, 590 nm, 603 nm, 605 nm, 620 nm, 624 nm, 630 nm
- SML-D1-313643: 560 nm, 572 nm, 590 nm, 605 nm, 620 nm, 630 nm.

- SML-E1-313074: 470 nm, 527 nm, 560 nm, 572 nm, 590 nm, 605 nm, 606 nm, 620 nm, 624 nm, 630 nm.

Se realizó un análisis gráfico de la emisión espectral de las familias de LEDs y se compararon en cuanto a la potencia emitida, e ancho total a media altura, posteriormente se hizo un análisis utilizando los picos de emisión de las familias de LEDs y los mismos espectros de absorción usados por la caracterización espectral del capítulo 3 de ésta tesis.

En la figura 4.2 se muestra la gráfica en MATLAB de la emisión espectral de tres familias de LEDs, las gráficas fueron realizadas usando datos técnicos de la hoja de datos de cada familia de LEDs, los cuales fueron: La potencia de emisión de luz máxima y la anchura a media altura, mediante la función gauss incluida en MATLAB.

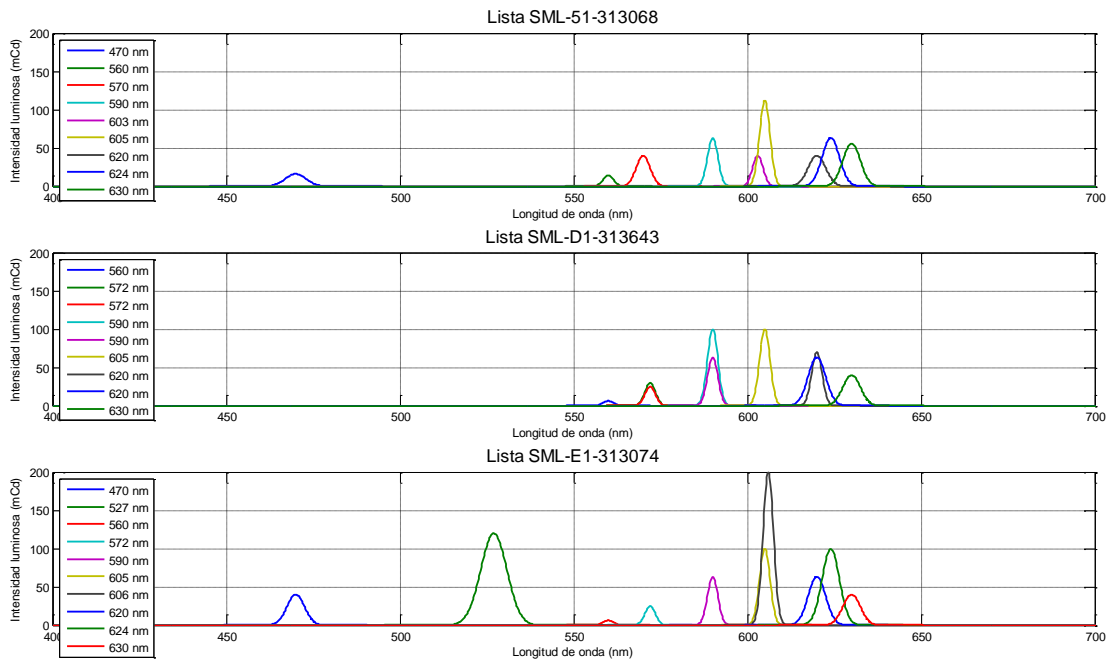


Figura 4.2. Composición espectral de las familias de LEDs, tomando en consideración los datos ópticos proporcionados por el fabricante, ubicados en el espectro electromagnético.

Posteriormente, se analizaron los picos de emisión con los espectros de absorción de los cromóforos: hemoglobina oxigenada, hemoglobina desoxigenada, eumelanina, feomelanina y agua, de modo que el análisis reflejara, de manera gráfica, la cercanía de las longitudes de onda pico de los LEDs a los picos y zonas de absorción de las sustancias. Después de evaluar estas familias de LEDs, debido a su tamaño e intensidad luminosa emitida, se optó por LEDs de mayor tamaño, específicamente de dimensiones 3.5 mm x 2.8 mm y se consideraron todas las longitudes de onda posible en la página del fabricante, en la figura 4.3 se observa el análisis espectral de estos LEDs.

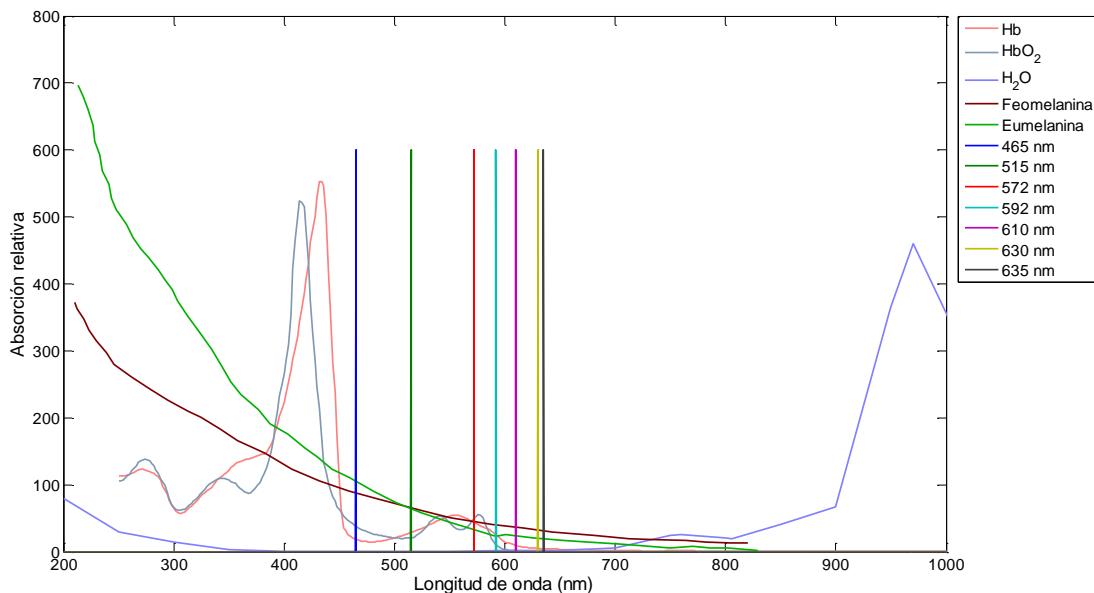


Figura 4.3: Intersección de los espectros de absorción de la hemoglobina, la feomelanina, la eumelanina y el agua con los LEDs de montaje superficial de 3.5 mm x 2.8 mm.

Dichos LEDs están colocados en un anillo de aluminio con diámetro interior 3.2 cm equivalente al diámetro exterior de la lente usada por la cámara Point Grey cuya secuencia de encendido y apagado es controlado mediante MATLAB R2014a haciendo uso de un Arduino Leonardo mediante una interfaz serial, el encendido de los LEDs y la captura de imágenes monocromáticas se realiza mediante un script desarrollado por la mtra. Alicia

Montserrat Godínez en el trabajo de tesis mencionado en el capítulo 1 de esta tesis, el cual fue creado en MATLAB R2012a.

En esta fuente de iluminación la luz proveniente de los LEDs incide inclinada sobre la muestra ubicada a 11.5 cm de distancia, el eje óptico de la cámara de adquisición de imágenes queda perpendicular a la superficie sobre la cual se coloca la muestra.

El anillo de LEDs fue caracterizado espectralmente midiendo la potencia emitida a 11.5 cm sobre el atenuador del sensor del medidor de potencia, y el perfil de onda del haz emitido por los LEDs de este sistema de iluminación, la configuración experimental para medir la potencia luminosa emitida por este anillo se muestra en la figura 4.4.



Figura 4.4: Anillo de LEDs sobre la cámara monocromática a 11.5 cm para la caracterización espectral.

Se hizo la medición del espectro de cada uno de los LEDs usando el mini espectrómetro USB4000 y posteriormente se hace la medición de la potencia luminosa a la distancia anteriormente mencionada. El espectro medido en combinación con la potencia luminosa se muestra en la figura 4.5.

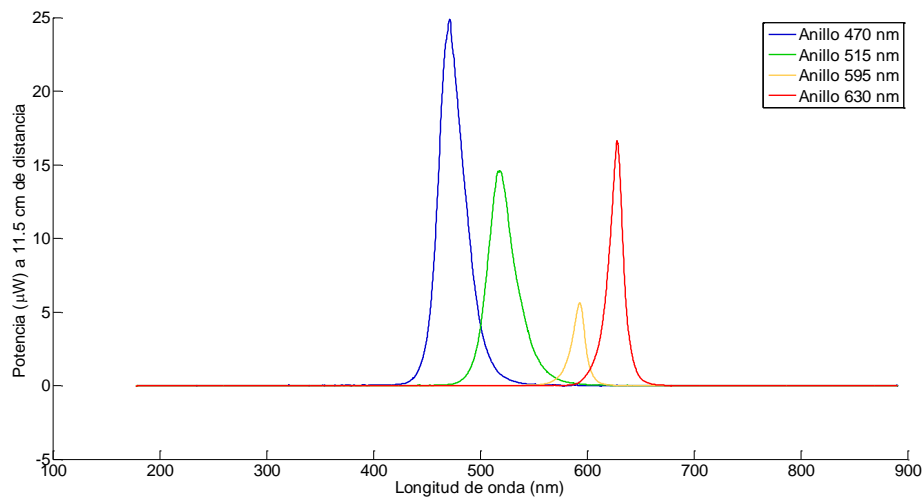


Figura 4.5: Espectro y potencia luminosa medidos a 11.5 cm de la cámara monocromática.

Con el objetivo de aumentar la portabilidad del dispositivo, se hizo una nueva configuración de iluminación con la fuente Fiber-Lite MH100 de forma que la fibra se encontrara de la misma forma que el anillo de LEDs, con la finalidad de comparar la iluminación de estas dos fuentes así como también la de un LED de montaje superficial de 610 nm y se analizó la luz emitida con el miniespectrómetro USB4000. El registro de la luz emitida por cada uno de ellos fue analizada con el miniespectrómetro, para lo cual se realizó la configuración experimental como la que se muestra en la figura 4.6.

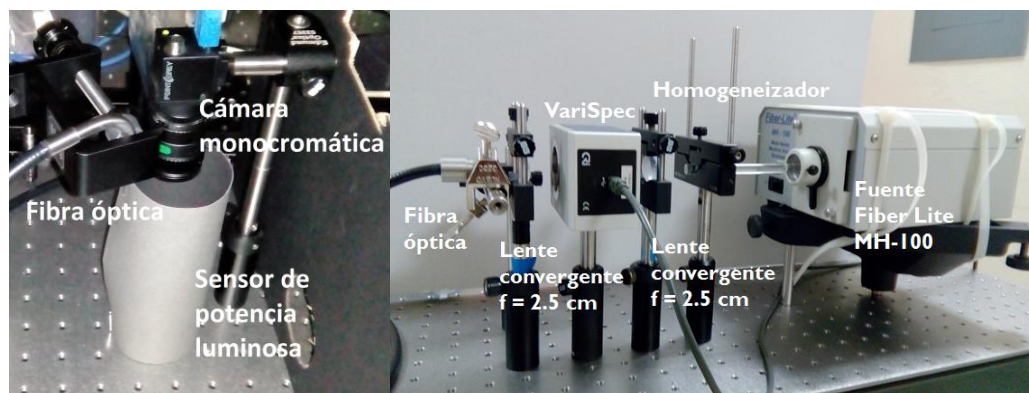


Figura 4.6: Configuración experimental para la caracterización espectral de la iluminación.

El espectro de la iluminación se muestra en la figura 4.7, en la que se puede observar de forma clara un ancho de banda espectral menor en sistema de iluminación formado por la fuente Fiber-Lite MH100 filtrada por el VariSpec que en el formado por los LEDs planos del anillo.

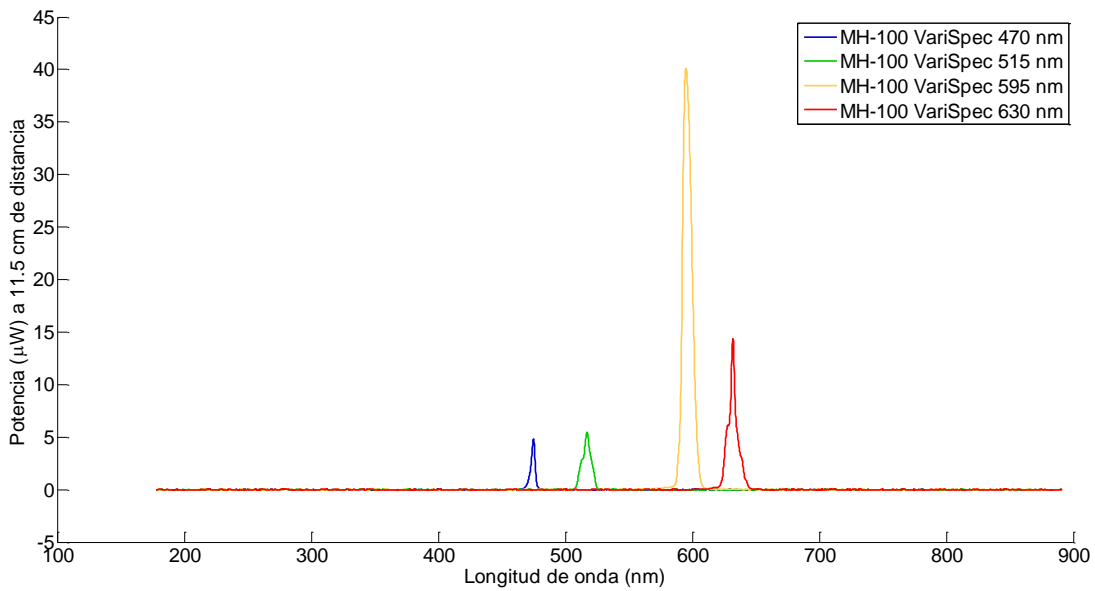


Figura 4.7: Iluminación proporcionada por el sistema Fiber-Lite MH100 – VariSpec a 11.5 cm de distancia del campo de trabajo.

Finalmente se analizó la emisión espectral del LED de 611 nm usando una fuente de corriente con 0.02 A y 2.2 V de alimentación con corriente directa, a ésta se le hizo una adaptación para poder usar el LED de montaje superficial sin tener que soldarlo, en la figura 4.8 se observa la configuración usada para dicha caracterización.





Figura 4.8: LED de montaje superficial colocado en un costado de la lente de la cámara, para servir de fuente de iluminación.

Una vez obtenidas las características espectrales de estas fuentes de iluminación, se procedió a realizar el análisis de la composición espectral de cada una de ellas, usando un software desarrollado en MATLAB para graficar los espectros y usando los valores de potencia luminosa a 11.5 cm, tomados para cada una de estas configuraciones. Se puede observar en la gráfica de la figura 4.9 que la iluminación con la que se toman las imágenes multiespectrales para cada uno de las fuentes de iluminación es distinta, tanto en la composición espectral como en la potencia emitida, los cuales son factores clave, pues el sensor CMOS de la cámara monocromática tiene menor sensibilidad en el área del infrarrojo.

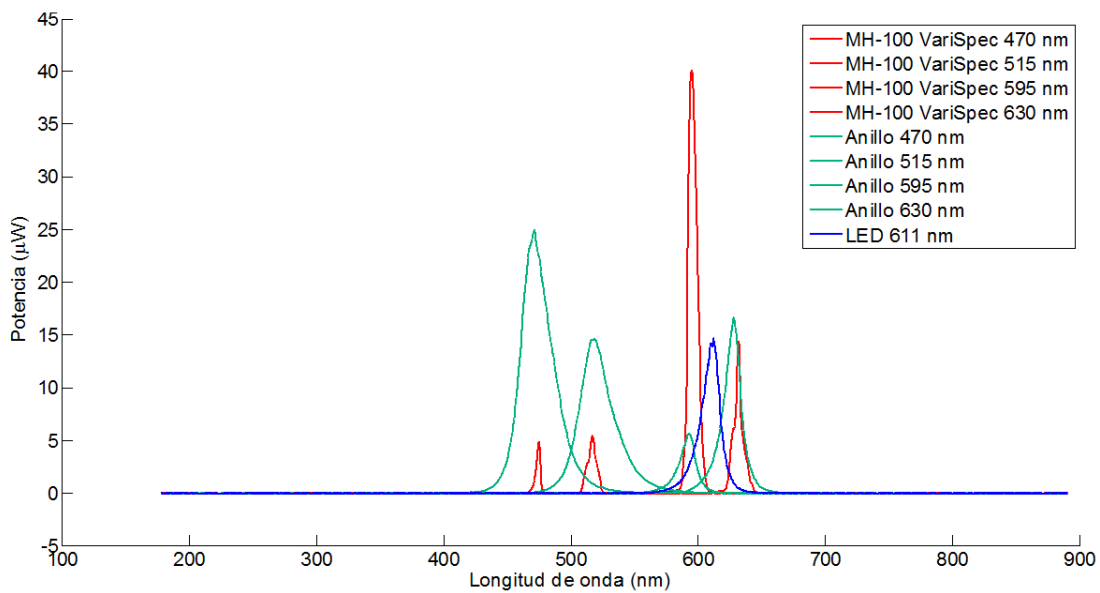


Figura 4.9: Análisis espectral de las tres fuentes de iluminación considerando el área de trabajo a 11.5 cm.

Como se puede observar en la figura 4.9, la emisión por parte del anillo de LEDs incluye un ancho de banda espectral mayor, mientras que en la combinación Fiber-Lite MH100 – VariSpec se tiene un ancho de banda mucho menor, el cual oscila en entre 7 y 8 nm según las mediciones de los espectros y el cálculo realizado en MATLAB R2014a de ancho de banda a media altura, calculo que es aproximadamente igual a 7.5 nm según los datos proporcionados por el fabricante.

### 4.3 RESULTADOS OBTENIDOS

#### 4.3.1 Captura de imágenes multispectrales.

El análisis de diferentes fuentes de iluminación ha sido fundamental para conocer el comportamiento que se puede esperar del sistema al tomar las imágenes multispectrales, solamente con el objetivo de evaluar el

desempeño de la cámara monocromática, se tomaron imágenes usando la fuente Fiber-Lite MH100 junto con el LCTF VariSpec. Anteriormente el dispositivo IME tomaba imágenes monocromáticas usando el anillo de LEDs como fuente principal, pero las imágenes que la cámara proporcionaba no eran monocromáticas, sino en escala de grises en el espacio de color RGB, por lo tanto, para extraer información de las imágenes se requería hacer un procesamiento adicional, pues se puede pasar a escala de grises usando un promedio de los canales RGB o hacer la extracción de la información de las imágenes usando los tres canales.

En el caso de usar los canales del espacio de color RGB, al promediar los valores de dichos canales para usar la imagen en escala de grises agrega un procesamiento digital a la imagen lo cual es indeseable para la extracción de información a partir de la imagen y, en el segundo caso, la acción tendrá un coste computacional que se reflejará en una mayor demora del programa de extracción de información.

El script desarrollado en MATLAB R2012a descrito en la tesis titulada: “Desarrollo, Implementación y Prueba de un Algoritmo para la Adquisición Automatizada de Imágenes Multiespectrales y la Detección del Borde de Lesiones Pigmentadas de la Piel” [10] fue modificado en MATLAB R2014a, usando un script básico de captura y almacenamiento de las imágenes espectrales. En dicho script, para la captura de imágenes multiespectrales, se usó: el controlador “winvideo”, el espacio de color RGB y una resolución de 0.78 Mp (1024x768 pixeles) con 8 bits de profundidad de color. Las modificaciones de mejora de este script de adquisición de imágenes en esta versión modificada consistieron en: usar el controlador “pointgrey”, el cual está diseñado especialmente para la cámara monocromática que se está usando para la adquisición de imágenes monocromáticas, lo que permitió capturar las imágenes en un espacio de color monocromático y 16 bits de

profundidad de grises con una resolución máxima de 1.3 megapíxeles (1328x1048), las cuales son las características máximas de la cámara, la segunda modificación consistió en la reducción se redujo del tiempo de adquisición entre cada imagen de un tiempo inicial de 3 segundos a un tiempo mejorado de 1 segundo, cambiando la secuencia de encendido de LEDs y la pausa para la captura de la siguiente imagen.

### **4.3.2 Espectro de reflexión a partir de imágenes multiespectrales**

En el diagnóstico de las lesiones pigmentadas de la piel es importante conocer, como ya se ha mencionado anteriormente, la concentración de cromóforos en la lesión, para que sea de ayuda en el diagnóstico de melanoma cutáneo, el cual es el propósito principal de este dispositivo. Mediante el uso de la iluminación de la fuente Fiber-Lite MH100 filtrada con el LCTF VariSpec, se tomaron pilas de imágenes de 400 nm a 720 nm de muestras de sangre oxigenada sobre papel adhesivo impregnado de pelusas de un abrigo de algodón, al cual se le añadieron líneas de color rojo y verde y una gota de sangre de pollo oxigenada, con el objetivo observar el espectro de reflexión difusa obtenido mediante el espectrómetro USB4000. El espectro medido mostrado en la figura 4.10, es el obtenido mediante el uso del USB4000 con el software SpectraSuite.

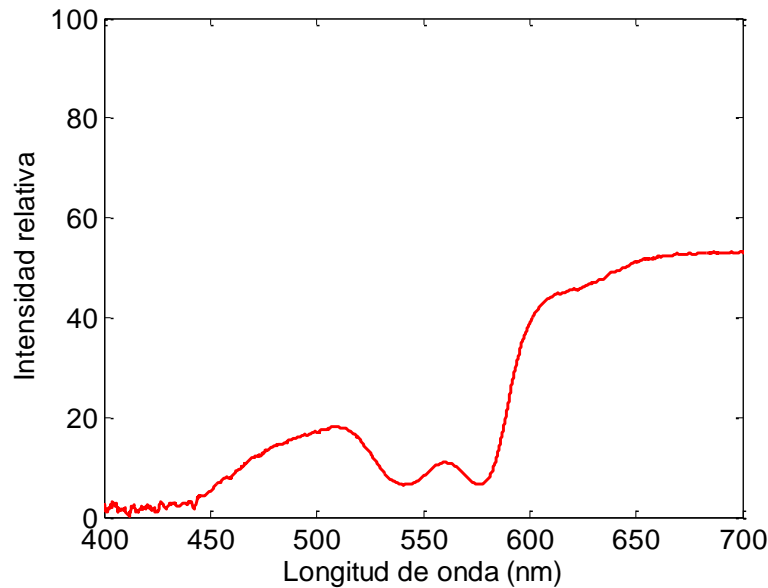


Figura 4.10: Espectro de reflexión difusa de sangre de pollo oxigenada, obtenido de forma experimental.

Para las etapas de adquisición de las imágenes multiespectrales y procesamiento y obtención de información de las mismas mediante MATLAB R2014a, se crearon dos programas. El primer programa, utilizado para capturar y guardar las imágenes multiespectrales, realiza un proceso automático sintonizando la longitud de onda deseada en el VariSpec y realiza la captura de la escena mediante comunicación serial usando MATLAB R2014a. El segundo programa es usado para la extracción de información de las imágenes multiespectrales, en este proceso se utiliza la imagen tomada a 550 nm de longitud de onda, la cual es mostrada como referencia para seleccionar de forma interactiva seis puntos de interés sobre la imagen de la muestra, y a partir de ellas obtener el patrón de reflexión, puesto que estas imágenes aún cuentan con reflexión especular y difusa, en la figura 4.11 se muestran la zona de interacción y la zona de despliegue de las gráficas de los puntos seleccionados en la imagen.

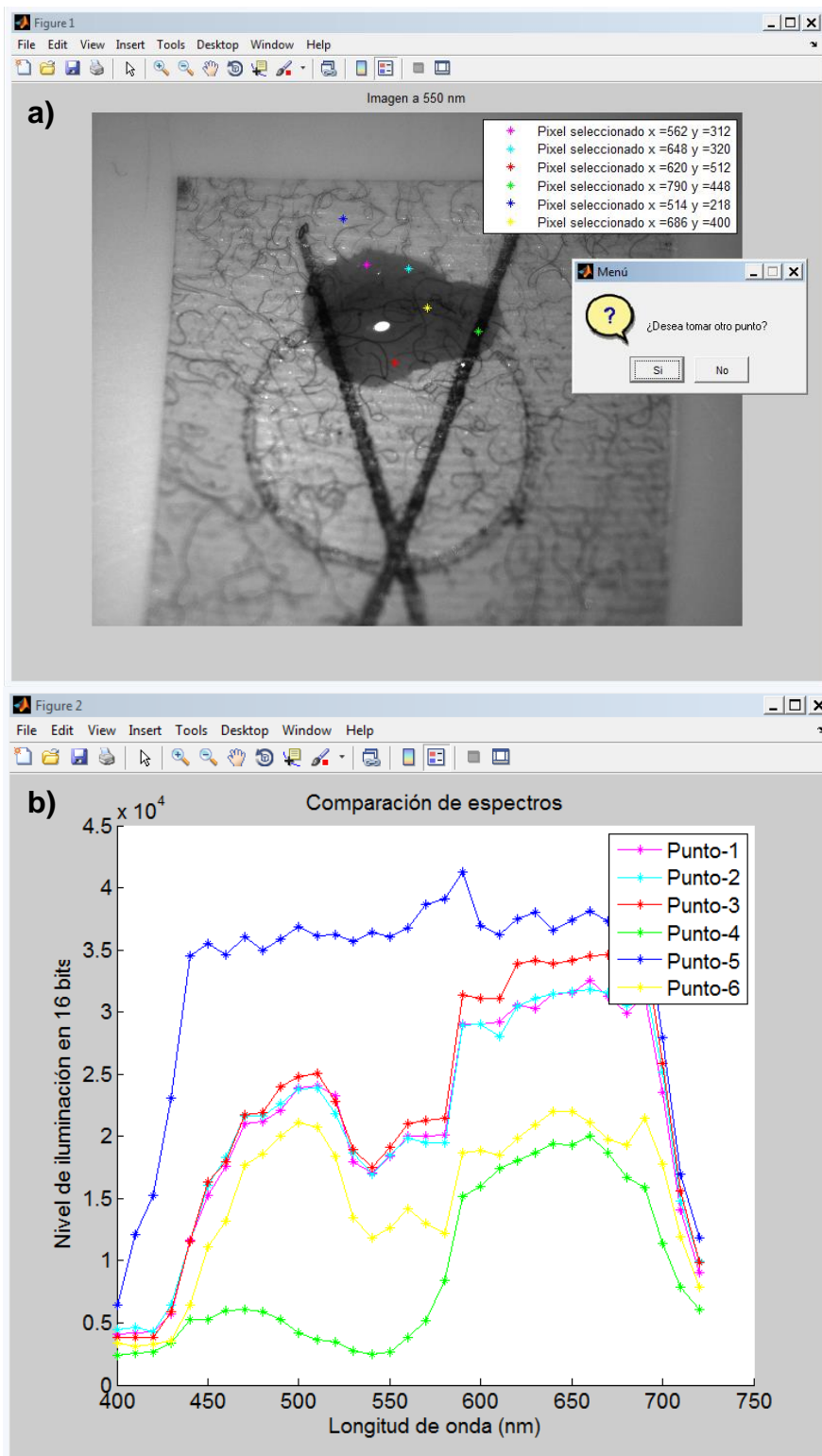


Figura 4.11: Obtención del espectro de reflexión usando MATLAB. En a) se puede observar la imagen de referencia y en b) los espectros de reflexión de cada punto seleccionado.

En la figura 4.11 a) se observan 6 puntos de la imagen que han sido seleccionados, los primeros tres son puntos donde sólo existe sangre de pollo sobre el papel adhesivo, el punto 4 pertenece a una zona donde existe tinta roja (líneas) sobre verde (círculo) de la marca Paper Mate, el punto 5 pertenece a una zona sólo de papel adhesivo y el punto 6 pertenece a una zona donde existe sangre sobre tinta verde. En las primeras tres gráficas se logra apreciar un espectro de reflexión muy parecido al que se obtuvo usando el USB4000, mientras que en el número 4 se observa una disminución general del espectro de reflexión pues se incluyen las dos tintas lo que implica que las sustancias combinadas son absorbentes en todo el espectro a diferentes proporciones y el punto seis está en una zona donde existe sangre sobre tinta verde, por lo que se observa la absorción en las zonas más lejanas al verde, es decir aproximadamente de 560 nm hacia longitudes de onda más grandes.

Finalmente como método de optimización, se implementó el método del cociente, para minimizar los errores de medición debidos a la falta de uniformidad en el perfil luminoso sobre la muestra, en la figura 4.12 se observan las mejoras obtenidas en los espectros obtenidos de las imágenes multiespectrales, siendo más próximos entre sí los que se obtuvieron con la implementación de dicho método (ver figura 4.12) que los que se obtuvieron de las imágenes solo de la muestra (ver figura 4.13).

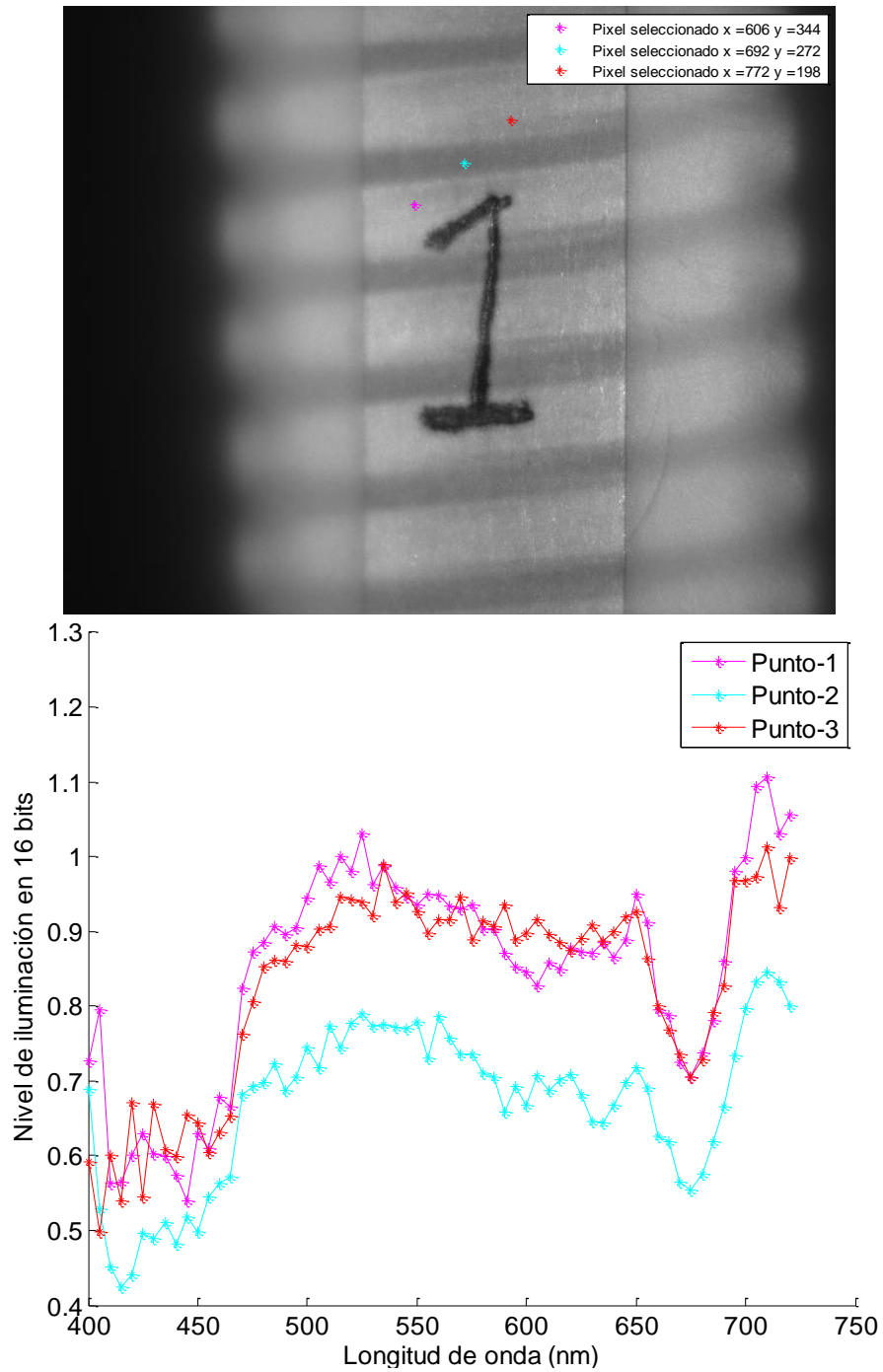


Figura 4.12. Espectros de una hoja verde adhesiva en tres zonas con distintos niveles de iluminación, usando el método del cociente para la corrección del perfil de iluminación.



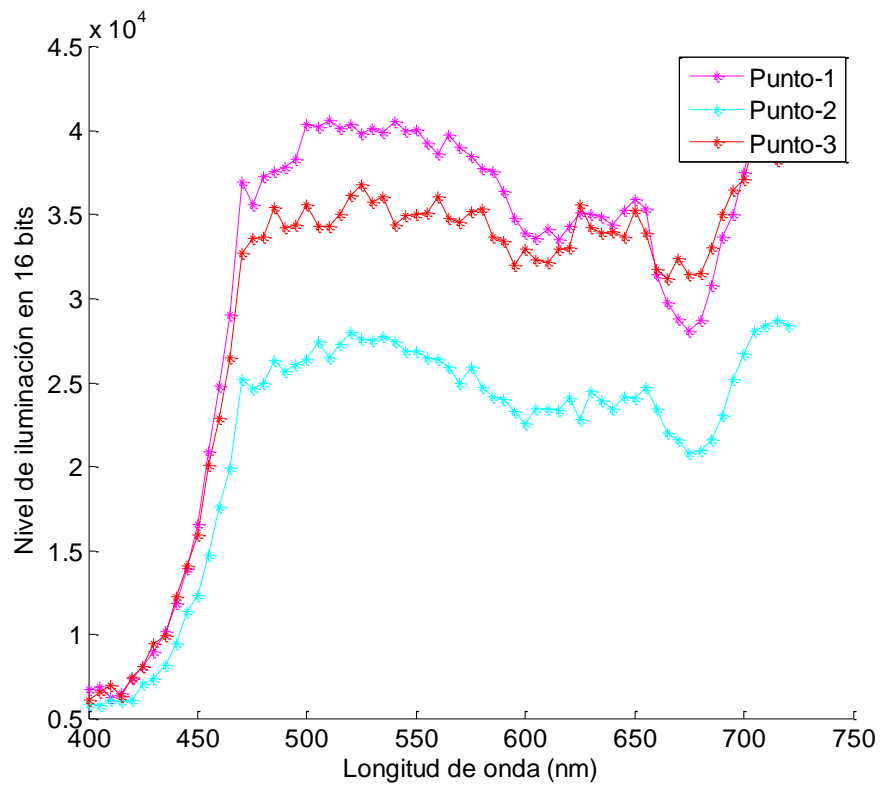
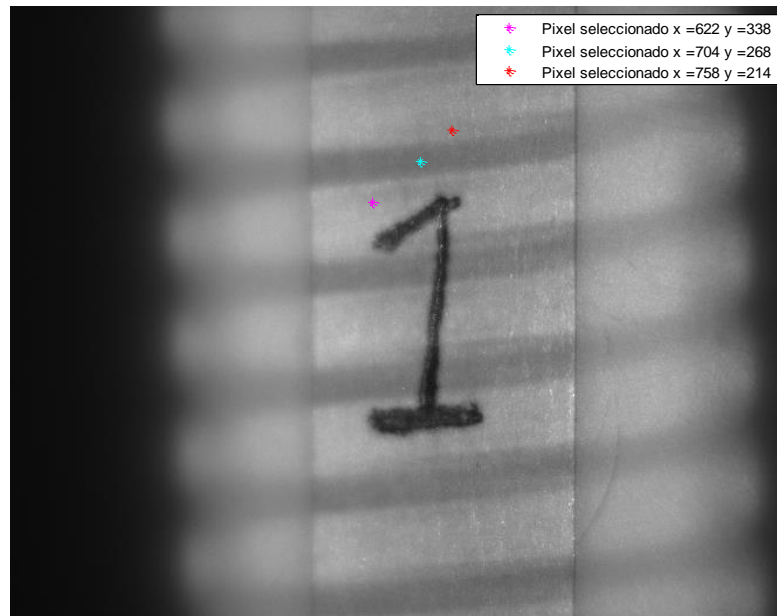


Figura 4.13. Espectros de la misma hoja verde adhesiva de la figura 4.12 en tres zonas con distintos niveles de iluminación obtenidos usando únicamente las imágenes de la muestra.

#### **4.4 CONCLUSIONES**

Al realizar esta implementación de extracción de información al dispositivo IME, se está añadiendo la posibilidad de extracción de información de los tejidos o muestras de las que se estén adquiriendo imágenes multiespectrales, como se ha podido observar, los resultados obtenidos son muy parecidos a los obtenidos con un espectrómetro, en este caso el USB4000, lo cual brinda una posibilidad más la dispositivo IME de obtener información de los tejidos y brindar mayores datos de utilidad al momento de realizar un diagnóstico asistido por dicho dispositivo.

# Capítulo 5

## MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE LA RETINA

### RESUMEN

En este capítulo de la tesis se muestra un método óptico computacional para la extracción de propiedades ópticas, usando un sistema óptico de la compañía Carl Zeiss, utilizado para explorar la retina en ojos humanos *in vivo*. El sistema se basa en adquisición de imágenes en una determinada longitud de onda en el dominio del espacio y la frecuencia (SFDI, por las siglas en inglés: Spatial Frequency Domain Imaging). Las pruebas fueron realizadas en phantoms de la retina del ojo humano, los cuales tienen diferentes propiedades de esparcimiento óptico. Se espera en un trabajo futuro poder trasladar esta técnica para extraer propiedades ópticas en la piel humana.

## 5.1 INTRODUCCIÓN

Los sistemas de imágenes en el dominio de la frecuencia espacial, SFDI, han sido examinados últimamente debido a que son muy útiles en la medición de las propiedades ópticas en grandes campos de visión a la vez. Un sistema de imágenes en el dominio espacio-frecuencia está basado en la iluminación estructurada, mediante patrones de alta frecuencia, para extraer la función de transferencia de la modulación (MTF, por las siglas en inglés de Modulation Transfer Function), la cual es el equivalente de Fourier de la función de punto extendido en cada punto de la imagen. De las imágenes obtenidas es posible extraer mediante procedimientos matemático computacionales, la extracción de algunas propiedades ópticas de los medios en cuestión.

Se realizó un trabajo en el que se implementa un método de captura única para la adquisición de imágenes en el dominio de la frecuencia espacial desarrollado por Jean Vervandier y Sylvian Gioux.

## 5.2 MATERIALES

Los materiales usados para la construcción del sistema SFDI y la adquisición de las imágenes para la evaluación del sistema, son propiedad Universidad Internacional de la Florida, el sistema se construyó en el laboratorio 333 del edificio Viertes House de dicha universidad.

### 5.2.1 Cámara

Como instrumento de adquisición de las imágenes multiespectrales, se usó una cámara de la firma pco, denominada pco.edge 5.5, que cuenta con un sensor CMOS del tipo científico, el cual es denominado sCMOS. Los datos técnicos de dicha cámara se muestran en la tabla 5.1 y en la figura 5.1

se muestra la eficiencia cuántica de dicha cámara, datos que fueron tomados del documento de datos técnicos proporcionado por el fabricante [1].

**Tabla 5.1. Especificaciones técnicas de la cámara pco.edge 5.5**

Tipo de sensor	CMOS científico (sCMOS)
Nombre del sensor	CIS2521
Resolución	2560 x 2160 píxeles
Tamaño del píxel	6.5 x 6.5 micrómetros
Rango dinámico	30 000:1 (89.5 dB)
Rango espectral	370 nm a 1100 nm
Tiempo de exposición	500 us a 2 s
Profundidad de color	16 bits
Cuadros por segundo	100
Consumo eléctrico	10 -28 VDC, 32 W máx.
Peso	1.010 kg
Temperatura de operación	+10 °C a +40 °C

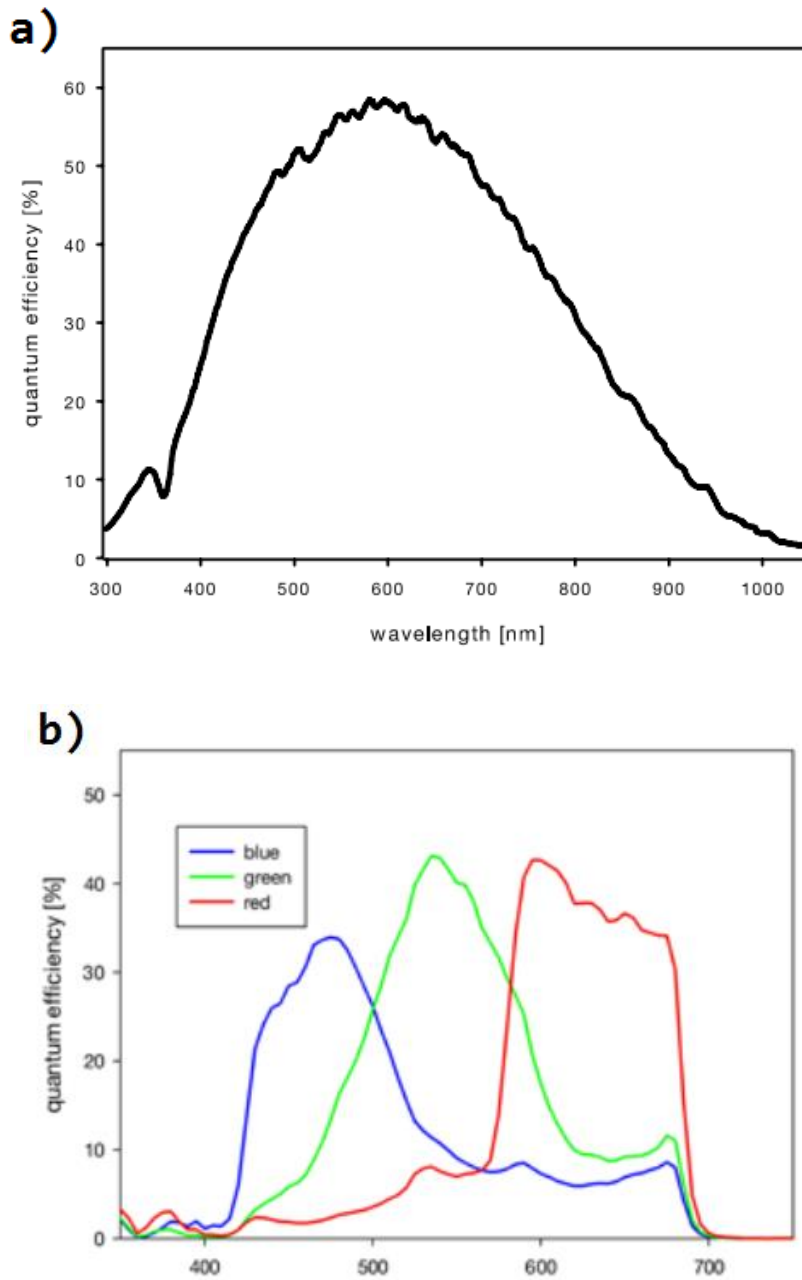


Figura 5.1. Curvas de eficiencia cuántica del sensor de la cámara para la captura de imágenes monocromáticas (a) e imágenes a color (b) [1].

### 5.2.2 Computadora de escritorio ensamblada.

El sistema de adquisición de imágenes es controlado mediante el software comercial MATLAB R2013a, utilizando una computadora ensamblada con las siguientes características técnicas: Un procesador Xeon E5-2699 a 2.20 GHz, memoria RAM de 16 GB y memoria de video de 2 GB.

### 5.2.3 Microscopio óptico de retina

El sistema constituye casi en su totalidad la estructura óptica del microscopio de retina de la marca Carl Zeiss modelo FF5. Este microscopio es usado por los oftalmólogos para realizar inspecciones visuales de la retina del ojo humano. En la figura 5.2 se muestra una fotografía de dicho instrumento óptico de diagnóstico.

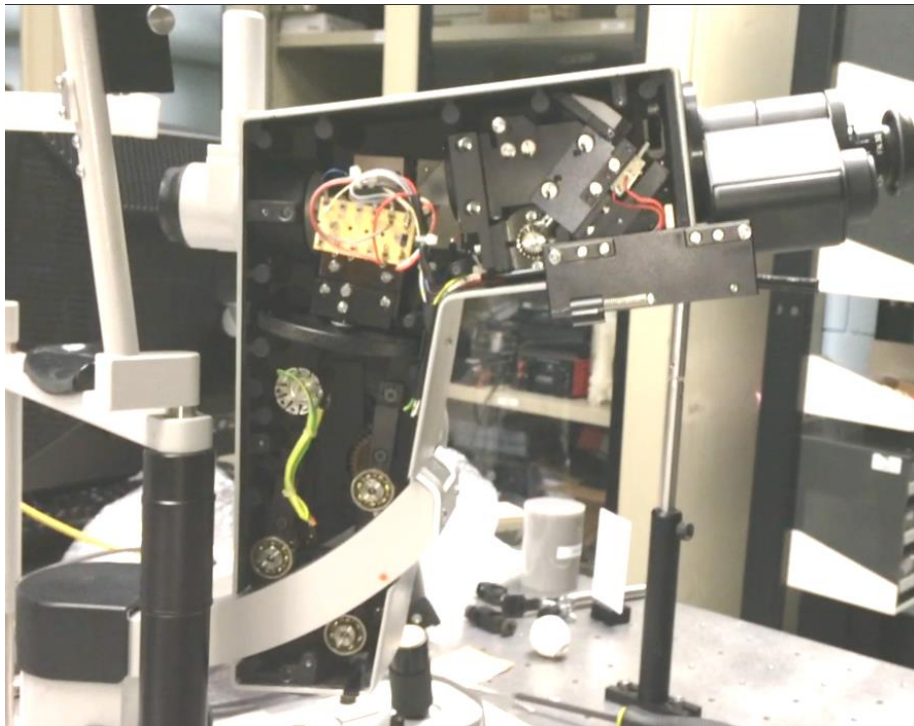


Figura 5.2. Fotografía del microscopio óptico usado como sistema de proyección de franjas.

#### 5.2.4 Tarjeta USAF 1951

Se utilizó la tarjeta USAF 1951 como muestra para la medición de la resolución del sistema, se usó esta tarjeta debido a que, en primera instancia, estaba disponible en el laboratorio y había sido acondicionada para poder ser sujeta en el contenedor de agua donde el phantom es sumergido y también por su amplio uso en análisis de resolución de cámaras digitales. En la figura 5.3 se muestra una imagen de la tarjeta utilizada.

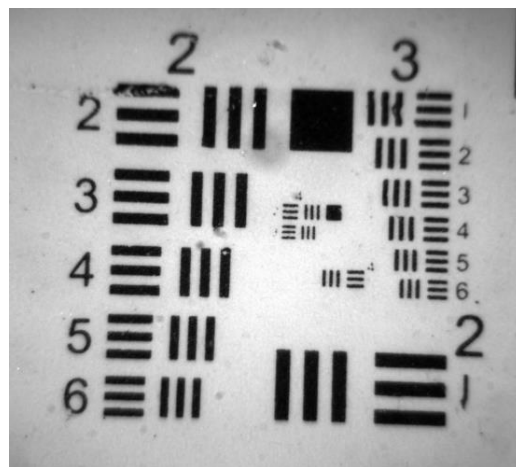


Figura 5.3. Fotografía de la Tarjeta USAF 1951, tomada a través del sistema óptico.

#### 5.2.5 Fuente de iluminación

Como fuente de iluminación se usó un LED verde de 550 nm, cuya intensidad de iluminación es controlada mediante una fuente de corriente directa de 12 V con un suministro eléctrico máximo de 1 W de potencia.

#### 5.2.6 Filtro Newport de 549 nm

La fuente de iluminación fue acondicionada usando un filtro óptico con banda de transmisión en los 549 nm. En la figura 5.4 se puede apreciar el tipo de filtro utilizado.





Figura 5.4. Filtro pasa banda de 549 nm con 15 nm de ancho de banda a media altura [2].

### 5.3 METODOLOGÍA

La teoría SFDI, explicada brevemente, consiste en el análisis de la MTF de un medio turbio. El sistema de adquisición de imágenes en el dominio de la frecuencia espacial hace mediciones de acuerdo a la calibración realizada con imitadores de tejidos biológicos (*phantoms*, en inglés) de propiedades ópticas conocidas. Los modelos usados para obtener los parámetros ópticos son: la Teoría de la Difusión como una solución aproximada de la ecuación de Transferencia Radiativa (ETR) y el método Monte Carlo como una solución numérica de esta ecuación. Con ambos métodos se puede simular la reflexión difusa y evaluar y extraer las propiedades ópticas a partir de las mediciones realizadas [3].

Se construyó un SFDI utilizando el sistema óptico formador de imagen de la retina FF5 diseñado por la empresa alemana Carl Zeiss. El sistema usado para la adquisición de las imágenes fue la cámara pco.edge 5.5; como fuente de iluminación se utilizó un LED verde de 550 nm a 1 W de potencia de consumo eléctrico y para reducir su ancho de banda de aproximadamente 100 nm a 15 nm, se usó un filtro de la firma Edmund optics de 549 nm con ancho de banda a media altura de 15 nm. El control de la cámara se hizo mediante el software modificado de una interfaz gráfica desarrollada en MATLAB versión R2013a, que fue diseñada para la toma de imágenes en un

colposcopio. Finalmente, para caracterizar la amplificación y la potencia de resolución del sistema se usó la tarjeta USAF 1951.

Se trabajó en hallar la posición del plano conjugado de la muestra, primeramente, en la entrada de luz del sistema óptico probando a diferentes planos; sin embargo no se encontró una distancia en la que el patrón de franjas estuviera enfocado sobre la muestra, la que para este caso particular fue la tarjeta USAF 1951.

El dispositivo óptico utilizado tiene la característica de proyectar un anillo de luz sobre el cristalino del ojo humano, dicho anillo de luz, debido a las características ópticas del ojo, se proyecta como una macha de luz en la retina, la cual en el phantom imitador del ojo humano, se encuentra representada por la tarjeta USAF 1951. En la figura 5.5 se aprecia el anillo de luz de 550 nm proyectado sobre la lente que imita al cristalino; sin embargo, como se muestra en la figura 5.6, el patrón de luz sobre la muestra no contiene las franjas que se desean proyectar. Este resultado se obtuvo siempre que se colocó el patrón de franjas a diferentes planos fuera del instrumento óptico.

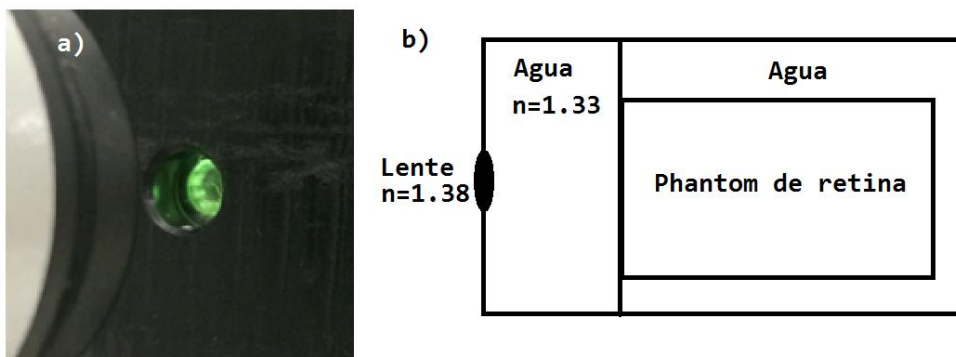


Figura 5.5. Anillo de luz sobre la lente del phantom del ojo humano (a), el cual incluye 2 capas: la primera es la lente que imita al cristalino y la segunda es el agua en la que se encuentra inmersa la muestra (b).

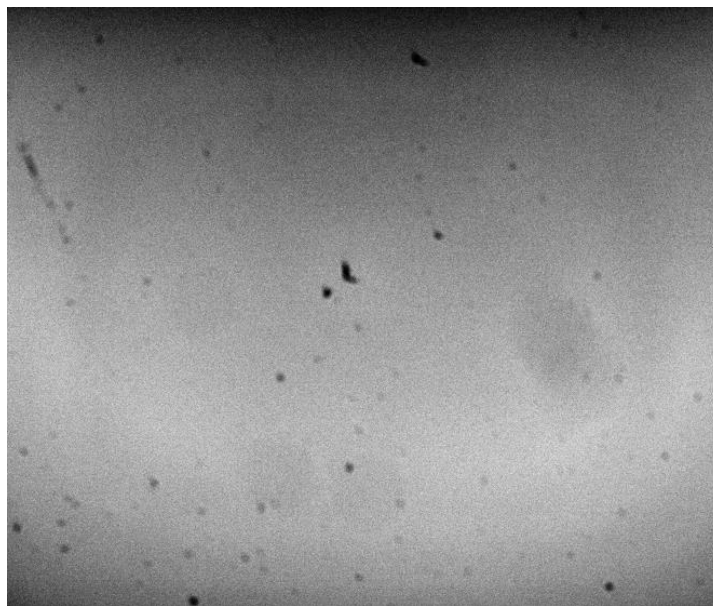


Figura 5.6. Imagen del patrón proyectado sobre la muestra (no se observa el patrón de franjas en este plano).

Debido a que no se contó con el manual de usuario del instrumento ni tampoco fue posible hallarlo en la página web del fabricante, se procedió a abrir el equipo para poder ver la configuración óptica interna, Una vez abierto, en el interior del instrumento óptico se encontró el plano conjugado en el que el patrón puede ser proyectado sobre la muestra.

El patrón de franjas fue colocado en el plano conjugado de la muestra (ver figura 5.7) y, debido a que se encontraba en la posición correcta, es posible observar el anillo de luz sobre la lente del phantom (ver figura 5.8) y a su vez el patrón de franjas proyectado correctamente sobre la tarjeta USAF 1951 como lo muestra la figura 5.9.

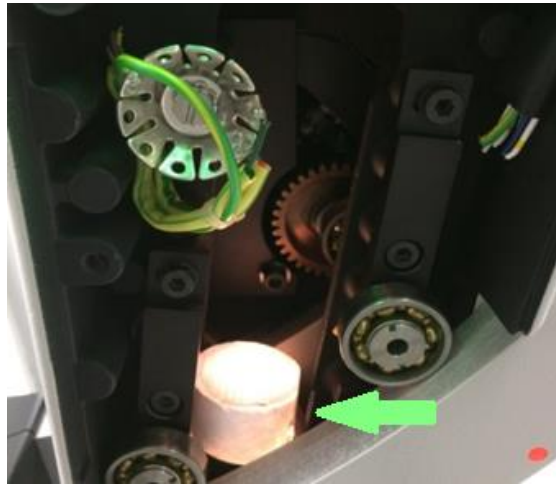


Figura 5.7. Patrón de franjas colocado sobre la lente de la entrada de iluminación del instrumento.

El patrón de franjas sinusoidal que se utilizó para proyectar el patrón de iluminación requerido fue creado utilizando el lenguaje de programación MATLAB; se buscaba una frecuencia espacial de las franjas igual o mayor a  $0.2 \text{ mm}^{-1}$ , sin embargo, debido a la calidad de la impresora láser utilizada, HP pro 200, no fue posible mejorar la frecuencia obtenida de aproximadamente 3.87 ciclos por mm sobre la muestra, según el proceso de medición desarrollado, el cual se explicará más adelante (ver figura 5.12).

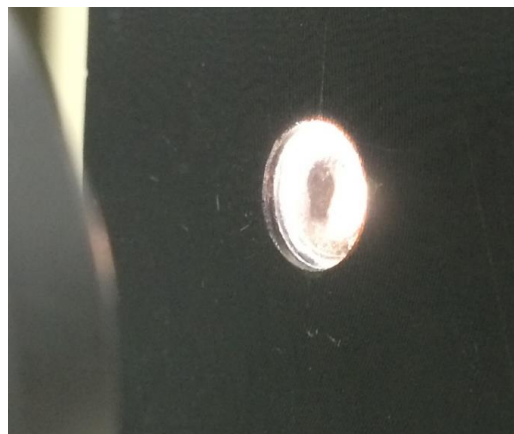


Figura 5.8. Anillo de luz proyectado sobre la lente que imita al cristalino del ojo humano.

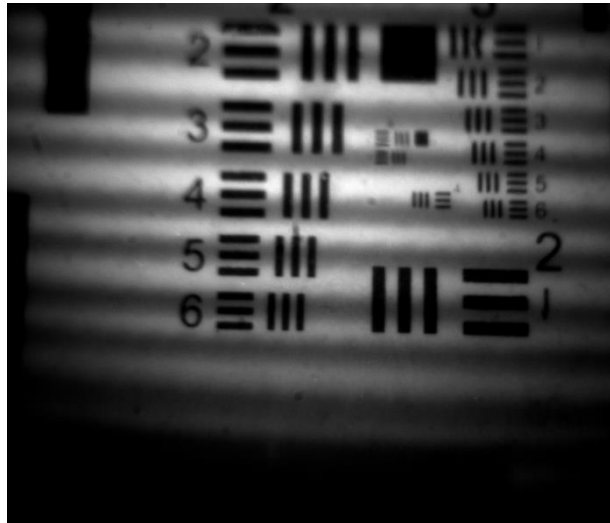


Figura 5.9. Patrón de franjas proyectado sobre la muestra (imagen adquirida usando el software de la cámara poco.edge 5.5.)

Se hizo un programa en MATLAB para obtener el tamaño del píxel del sistema y las líneas por milímetro proyectadas sobre la muestra. La estimación del tamaño del píxel de acuerdo al programa creado sigue los pasos enunciados a continuación:

- Carga de la imagen de la tarjeta USAF adquirida con el sistema (ver figura 5.10)
- Selección de los extremos de una de las líneas horizontales de la tarjeta USAF 1951, grupo 2, elemento 3. En este paso el programa contará la distancia horizontal, entre los puntos seleccionados, en número de píxeles.
- División de la longitud de la línea de acuerdo a los datos técnicos de la tarjeta [4] entre la cantidad de píxeles, el resultado obtenido es el tamaño del píxel del sistema.

El cálculo del tamaño del píxel se realizó con el objetivo de conocer la frecuencia, en ciclos por milímetro, del patrón de franjas proyectado sobre la muestra, para lo cual se siguió el siguiente procedimiento:

- Se toma un vector del eje x, a continuación, es suavizado y graficado. El suavizado del vector se realiza con el objetivo de observar mejor la variación sinusoidal de la iluminación a lo largo de la imagen y poder detectar los picos de la señal.
- Se seleccionan cinco picos para obtener un promedio, en píxeles, del espacio entre líneas.
- El ciclo promediado es multiplicado por el tamaño del pixel del sistema calculado previamente, obteniéndose de esta manera la distancia promedio, en micrómetros, de los cinco picos seleccionados (ver figura 5.11).
- Finalmente, para obtener los ciclos por milímetro, se creó un algoritmo básico que utiliza la siguiente lógica de funcionamiento:
  - Se suma el promedio de las distancias, obtenido en el paso anterior, hasta obtener el primer número mayor a 1000, al mismo tiempo se ejecuta un contador que almacena la cantidad de veces que se ha sumado el valor promedio de la distancia entre picos.
  - Se restan 1000 unidades al valor final y la diferencia es dividida entre el valor de un ciclo, el resultado es restado del número almacenado en el contador de ciclos, obteniéndose de esta forma los ciclos por milímetro en la muestra (ver figura 5.12).

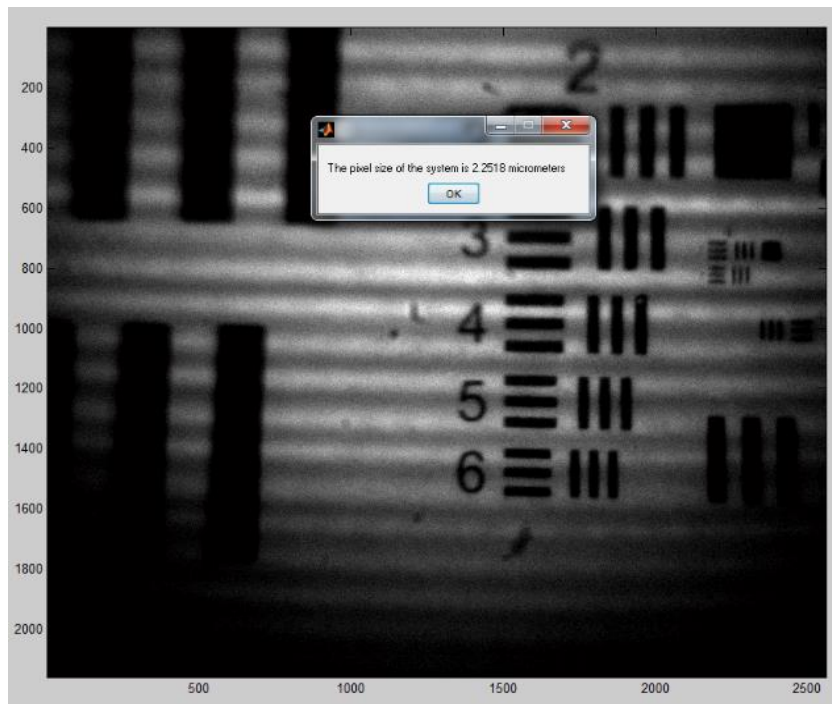


Figura 5.10. Despliegue del resultado del cálculo del tamaño del píxel del sistema.

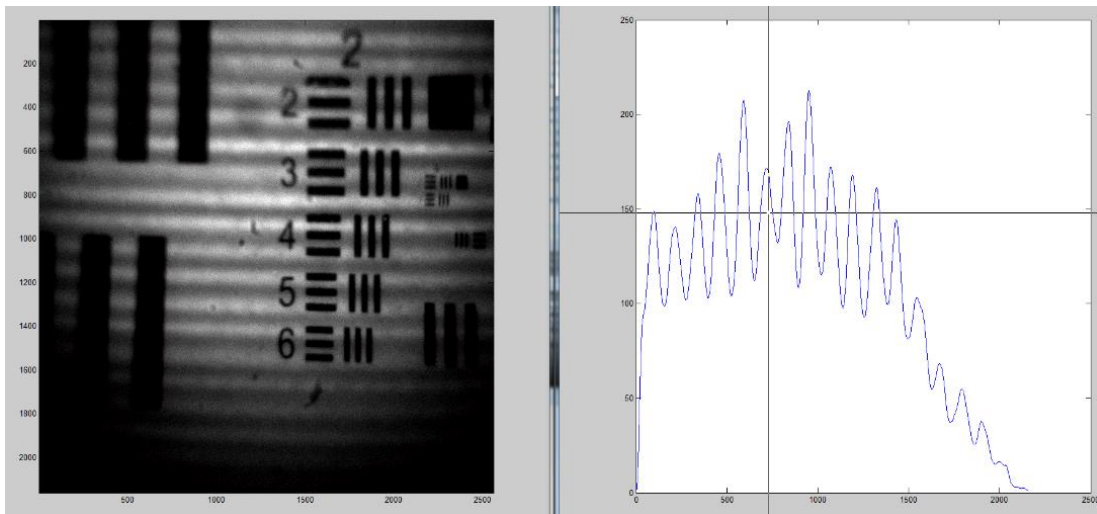


Figura 5.11. Selección de los cinco picos para obtener la distancia promedio entre los picos del patrón de franjas.

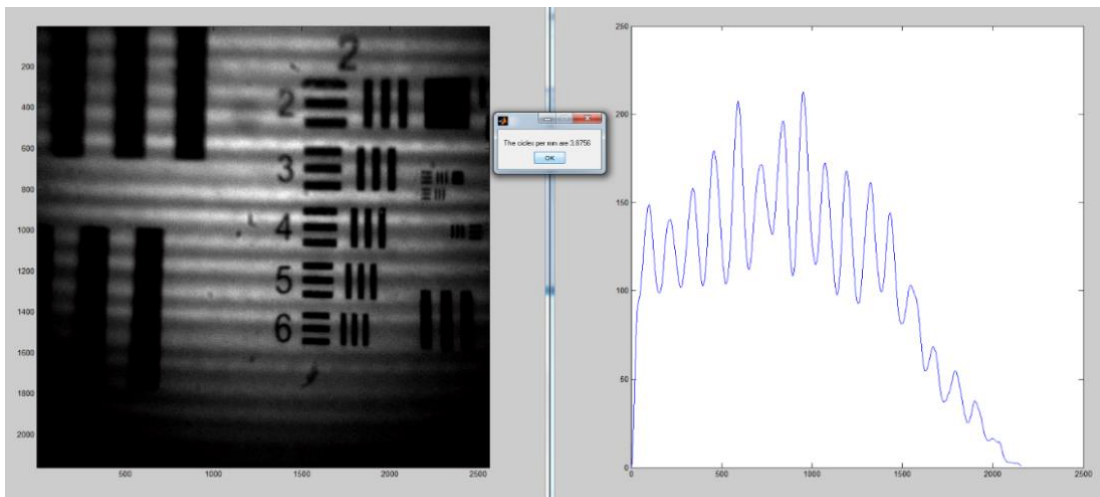


Figura 5.12. Cuadro de diálogo que muestra la frecuencia espacial del patrón de franjas en la imagen capturada.

## 5.4 RESULTADOS

Una vez finalizada la caracterización del SFDI, se procedió a hacer la captura de imágenes, utilizando MATLAB R213a, mediante una interfaz gráfica modificada, que fue diseñada inicialmente para trabajar con un colposcopio. Se hizo la captura de imágenes de 23 phantoms con diferentes propiedades de esparcimiento óptico, atribuidas mediante diferentes concentraciones de  $\text{TiO}_2$ , se utilizó un tiempo de exposición de 200 ms y se tomaron 5 imágenes secuenciales, la cuales se almacenaron en un archivo del tipo `images_stack.mat`.

Terminada la adquisición de imágenes se inició el procesamiento digital para extraer las propiedades ópticas de los phantoms a los que se les tomaron las imágenes, debido a que sus propiedades son conocidas, serán usados como medio de calibración para el SFDI.



Para la extracción de las propiedades ópticas fue necesario dividir la imagen en el dominio espacio - frecuencia, en sus componentes AC y DC. El procedimiento de la separación de la imagen adquirida en sus componentes en el dominio del espacio y la frecuencia se realizó de manera automática, utilizando el procedimiento descrito en [3], el cual de manera muy resumida consiste en tomar una fila o columna transversal a las líneas que el sistema de iluminación proyecta sobre la muestra y aplicar la transformada rápida de Fourier, aplicando un suavizado al vector, lo que facilita la búsqueda del primer mínimo del espectro, el cual una vez identificado será el punto en donde se separará, el vector no suavizado, en dos vectores, antes del mínimo para AC y después del mínimo para DC. Finalmente usando la transformada inversa de Fourier se procesarán los dos vectores obtenidos de forma separada, constituyendo las dos nuevas imágenes.

En la figura 5.13 se muestra la imagen original y en la figura 5.14 se muestra sus componentes AC y DC obtenidas de forma automática. Debido a la calidad de las imágenes obtenidas de manera automática, se implementó el algoritmo de manera que se puede establecer la frecuencia de corte manualmente, el resultado se muestra en la figura 5.15 y como se puede observar las componentes AC y DC, obtenidas de forma manual con una frecuencia de corte de 10 en el espectro del vector en procesamiento, son muy similares a las obtenidas de manera automática.

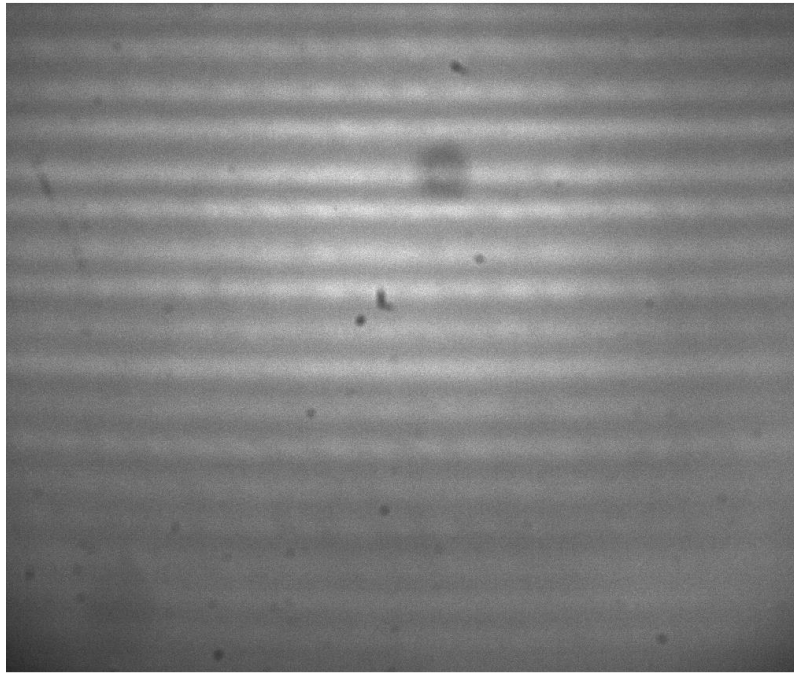


Figura 5.13. Imagen original de la que se extraen las componentes AC y DC.

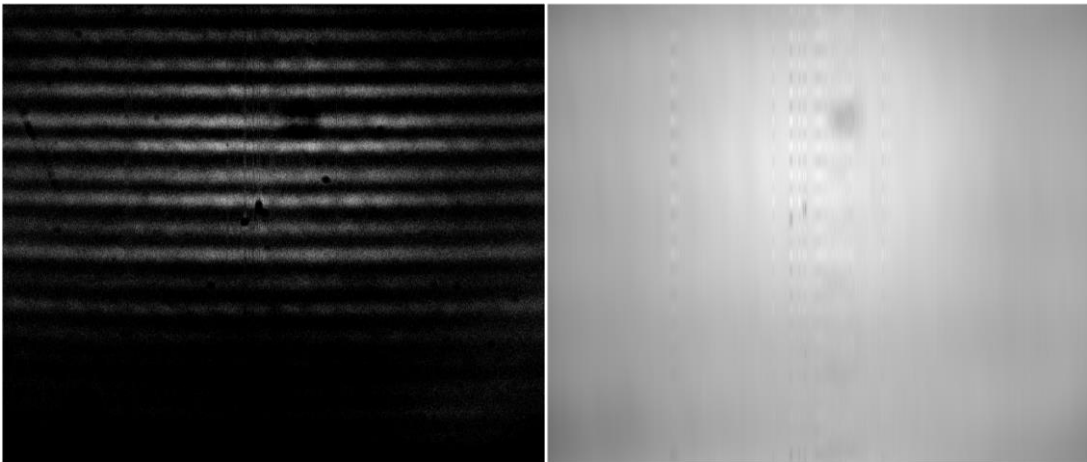


Figura 5.14. Componentes AC y DC obtenidas de manera automática.

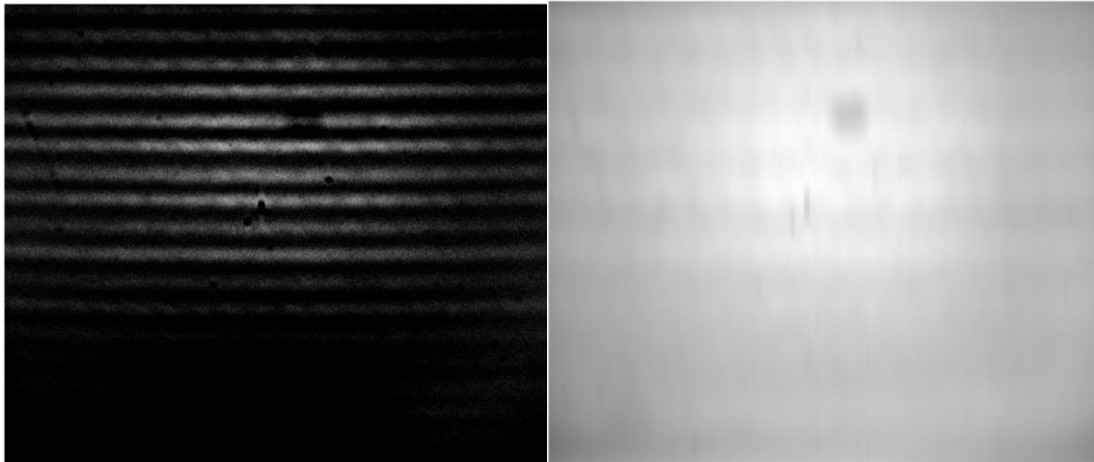


Figura 5.15. Componentes AC y DC extraídas de manera manual.

## 5.5 CONCLUSIONES

Se trabajó en la construcción del SFDI para la extracción de las propiedades ópticas de la muestra, empezando en este caso con phantoms imitadores de retina humana. En el trabajo llamado: “*Single snapshot imaging of optical properties*” de Jean Vervandier y Sylvian Gioux, se usa el método de fotografía única para la generación de las dos imágenes, una en el dominio del espacio y otra en el dominio de la frecuencia, dónde también mediante el uso de un SFDI se obtienen las propiedades ópticas, por lo que aunque en se trabajó en un sistema diseñado para oximetría de retina, se piensa que es posible utilizar este método para mediciones de oximetría en piel humana, y de esta manera contribuir al desarrollo del dispositivo IME, proporcionando un método de medición de saturación de oxígeno en la sangre, lo cual será de mucha utilidad en el diagnóstico de melanoma cutáneo.

## 5.6 BIBLIOGRAFÍA

[1] Manual de usuario pco.edge 5.5. PCO-TECH Inc. 6930 Metroplex Drive Romulus, Michigan 48174, USA.

[2] 549nm CWL, 25mm. (Figura).

Recuperado de: <http://www.edmundoptics.com/images/catalog/1002595.jpg>

[3] Jean Vervandier and Sylvain Gioux, "*Single snapshot imaging of optical properties*", Department of medicine, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, USA, Biomedical optics, 2013.

[4] T-20 USAF 1951 Chart Standard Layout Product Specifications

# Capítulo 6

## CONCLUSIONES GENERALES

El dispositivo IME como herramienta de uso diagnóstico, tiene primeramente el propósito general del uso del mismo como un instrumento de detección de propiedades ópticas y concentraciones de sustancias en tejidos biológicos, principalmente enfocado en tejidos humanos, más específicamente en el tejido cutáneo. La investigación tuvo como propósito primordial la mejora y optimización del dispositivo IME, primeramente, con el sistema de iluminación.

El sistema de iluminación usado por el dispositivo IME fue diseñado inicialmente para operar con una fuente de iluminación espectral a base de LEDs; sin embargo, mediante el análisis de dos fuentes de iluminación alternas la fuente de iluminación Fiber-Lite MH100 y la lámpara de halógeno de 70 W, las cuales son de diferente naturaleza de funcionamiento y mediante los resultados mostrados se puede observar que el espectro de emisión de la lámpara tiene una importancia transcendental en la información que se obtiene si se usa una u otra fuente de iluminación. En lámpara de haluro metálico se puede deducir, mediante lo observado, que no tendría un desempeño óptimo debido a las variaciones en el espectro de emisión en función de la longitud de onda, además de proporcionar una iluminación inconsistente, cuando es filtrado mediante el LCTF VariSpec, lo cual se

manifiesta en un espectro de emisión con dos picos cercanos de al menos de 10 nm de distancia, el uno del otro, por otro lado la fuente de halógeno tiene un espectro creciente hacia la región del infrarrojo, por lo que al no presentar picos de emisión en todo su espectro la vuelve, a través del uso con el VariSpec, en la fuente de iluminación más eficiente para la su uso con el dispositivo IME; sin embargo, este sistema se vuelve impráctico para realizar mediciones en un ambiente clínico, por lo que la aplicación del sistema con esta fuente de iluminación se restringe a su uso en el laboratorio con muestras biológicas inanimadas.

Lograr que el dispositivo IME sea más compacto es uno de los retos más difíciles de enfrentar, sobre todo por el consumo eléctrico y el espacio que ocupan las fuentes de iluminación utilizadas en aplicaciones ópticas profesionales. El uso de los diodos emisores de luz fue una alternativa elegante de sustitución de las fuentes de iluminación convencionales usadas en este tipo de aplicaciones, debido al consumo eléctrico relativamente bajo y al espacio muy reducido que utilizan; sin embargo, la naturaleza del material de fabricación hace que no se tenga una amplia gama de longitudes de onda disponibles y la combinación de elementos ópticos para la obtención de nuevas longitudes de onda mediante la combinación de las ya existentes vuelve a aumentar la robustez de los dispositivos que utilizan estas fuentes de iluminación LED, por lo que el compromiso entre la flexibilidad de uso del dispositivo y la eficiencia del mismo se convierte en un compromiso difícil de lograr. Los LEDs que fueron seleccionados para el dispositivo IME tienen la característica de haber sido seleccionados por tener el pico de emisión en zonas clave del espectro electromagnético que son de utilidad para la extracción de concentración de tres cromóforos de la piel: hemoglobina: oxigenada y desoxigenada, melanina: eumelanina y feomelanina y el agua; sin embargo, solo se llegó hasta la adquisición de dichos LEDs, sin llegar a evaluar su desempeño.

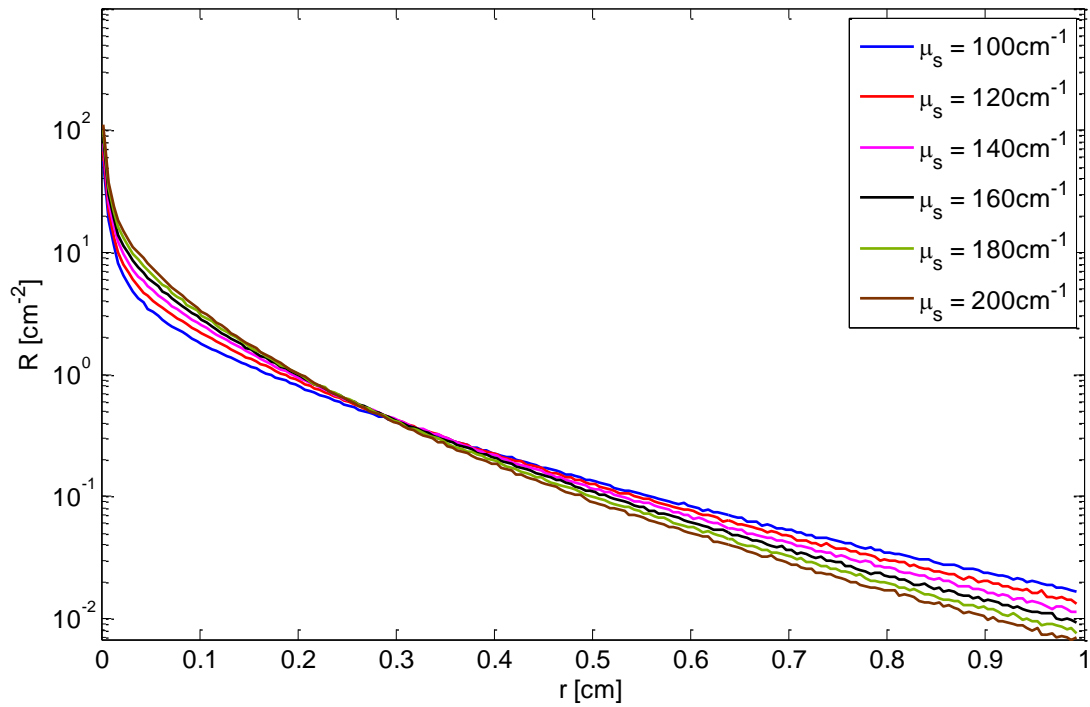
Las mejoras aplicadas al software de adquisición que consistieron en la optimización del tiempo de captura de las imágenes, el aumento a la máxima resolución de adquisición de las imágenes y el aumento de la profundidad de bits, fueron de utilidad en la implementación del método de adquisición de espectro de reflexión y espectro de reflexión difusa de la muestra en cuestión.

El método de oximetría para venas en la retina, podría ser de gran utilidad, aunque se necesita un método efectivo que permita el cambio del sistema de adquisición de imágenes al sistema en el dominio espacio frecuencia en el mismo dispositivo IME.

El dispositivo IME, con los materiales correctos y los métodos adecuados podría ser de gran trascendencia en el campo de aplicación principal, el cual es la detección del melanoma cutáneo, sin dejar de mencionar las aplicaciones generales en las que sería de gran utilidad como un instrumento más de medición de propiedades ópticas en medios biológicos y no biológicos.

# Anexos

**Anexo 1.** Reflexión difusa radial, simulación con tres millones de fotones.





**Anexo 2.** Líneas de código del script usado para la toma de las imágenes multispectrales.

```
clear all; close all; clc;

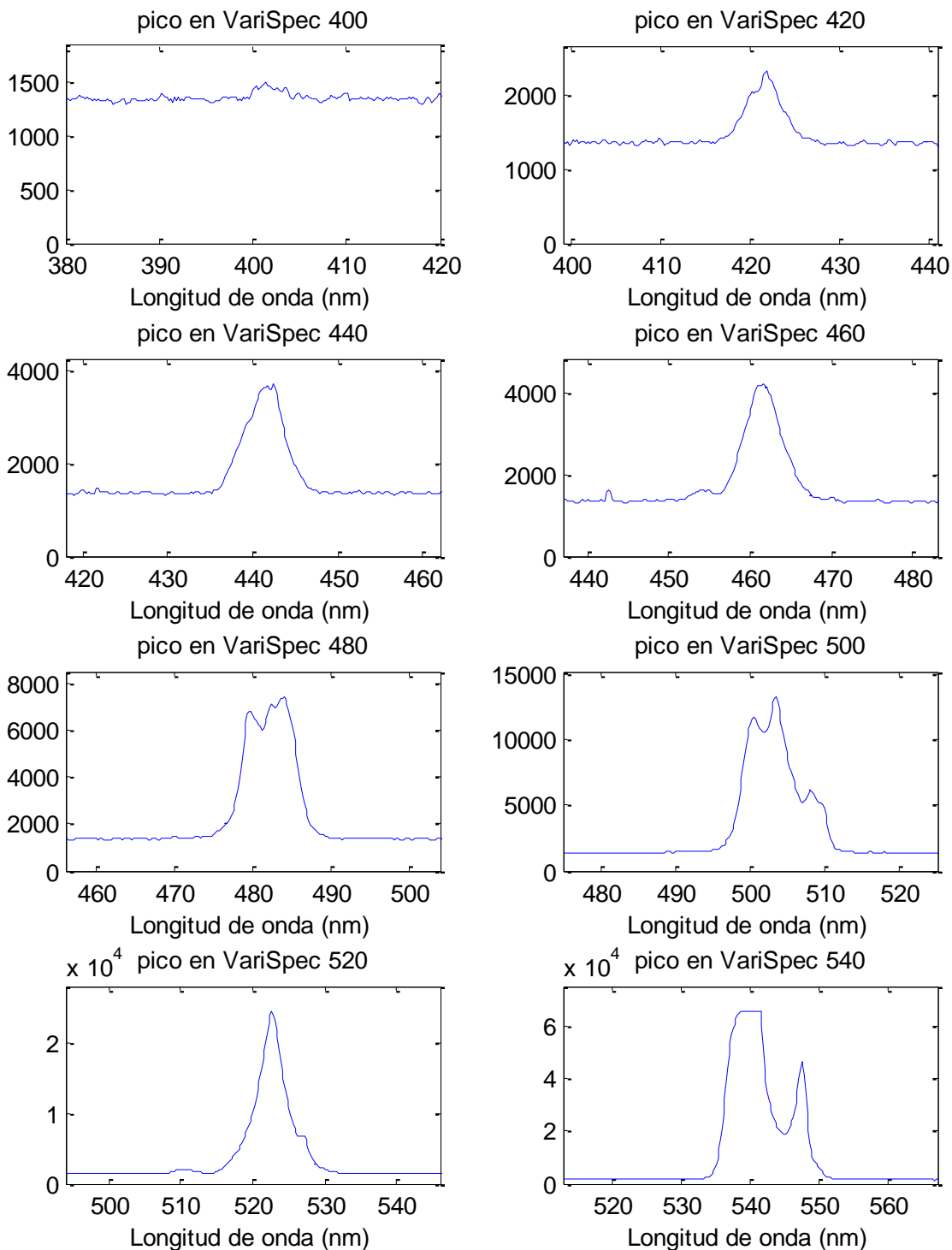
% Nombre de la etiqueta de las imágenes a adquirir
m1 = 'Teflon';
% Tiempo de espera de para entre capturas
t1 = 1;
% Paso de las longitudes de onda
paso = 5;

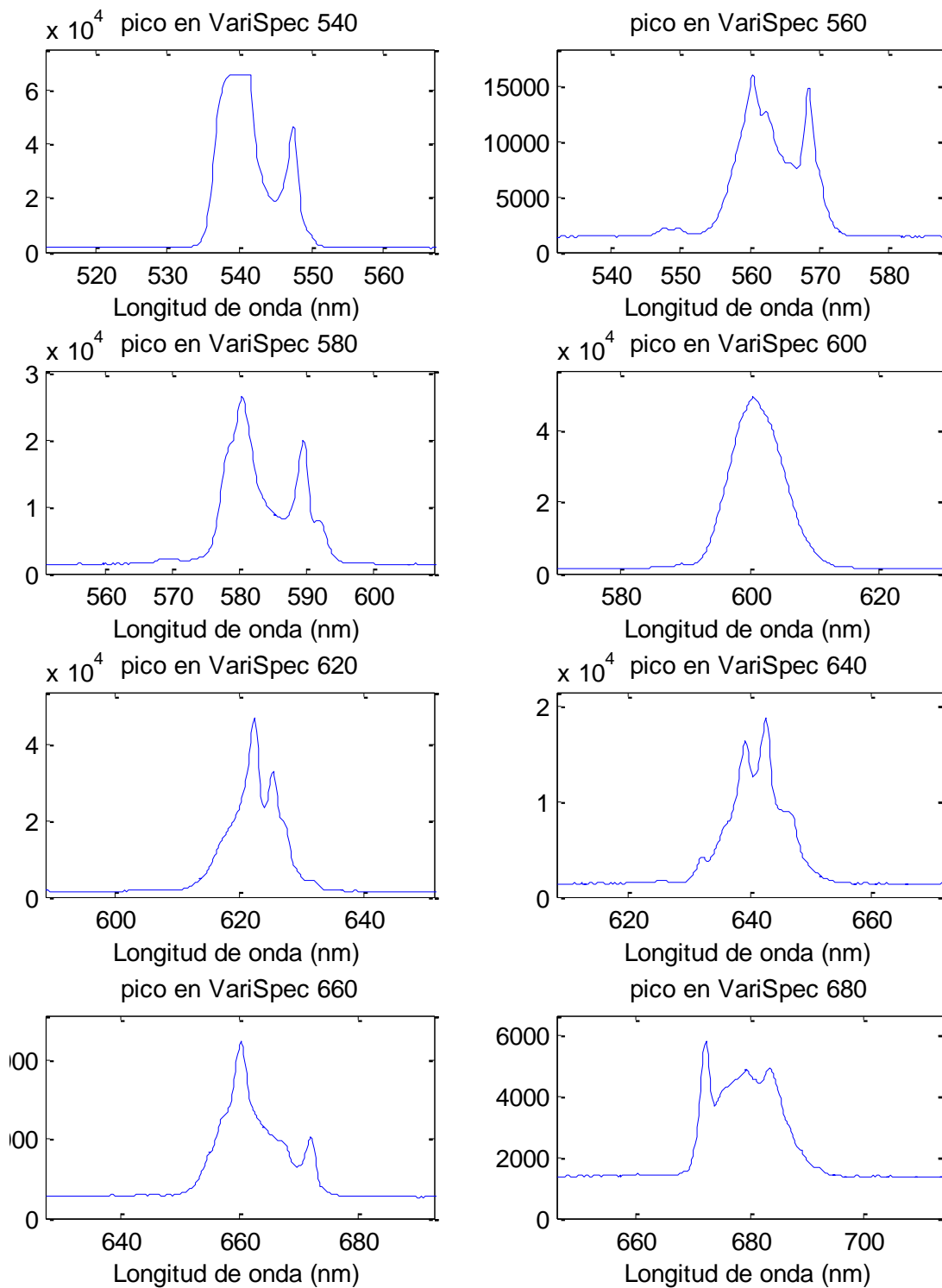
% Abrir comunicación con el puerto del filtro
VsOpen ('COM8');
% Comunicación con la CCD
vid = videoinput ('pointgrey', 1,
    'F7_Mono16_1328x1048_Mode0');
% Muestrar información del driver
imaqhwinfo(vid);
% Previsualizar el video en tiempo real
preview (vid)
% Lapso para ajustar el enfoque de la cámara antes de inicia
    la captura de
% imágenes
% Selección de una longitud de onda para ajustar la cámara
VsSetWavelength (590);
hmsg = msgbox('Puede enfocar...');
pause(1);
delete(hmsg);
pause

% Tiempo inicial para medir lo que dura el procesamiento
tic
for w = 400:paso:720 % Rango de longitud de onda
    % Selecciona longitud de onda en el filtro
    VsSetWavelength (w);
    [err1, w1] = VsMex(10);
    % Muestra la temperatura del filtro
    VsGetTemperature;
    [err2, temp] = VsMex (30);
    % Captura una imagen
    pause(t1)
    sample = getsnapshot(vid);
```

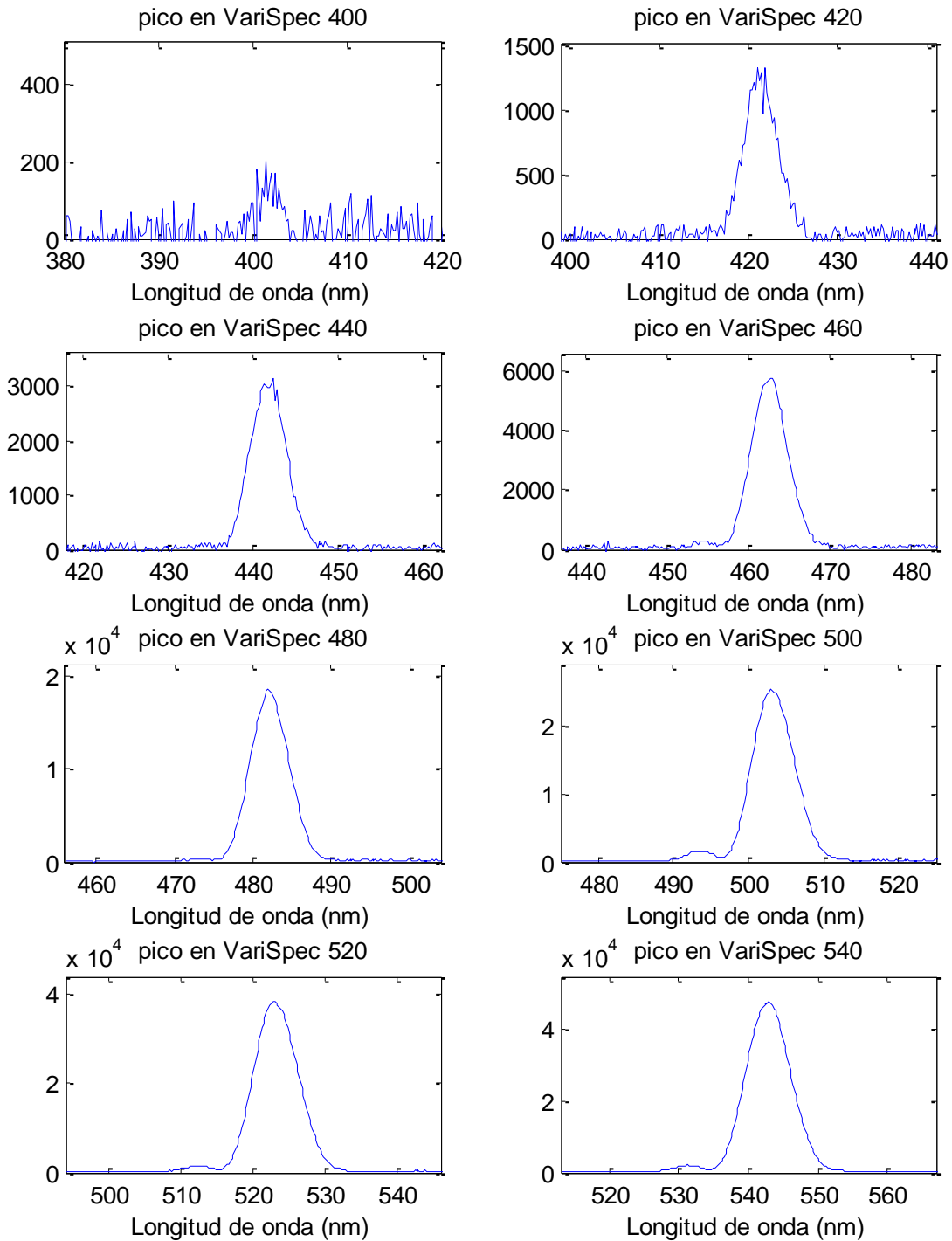
```
figure (1)
% Muestra a la imagen capturada
imshow(uint16(sample));
title(['Longitud de onda = ',num2str(w),' nm Temperatura
= ',num2str(temp),' °C']);
% Guardar imagen
imwrite (uint16(sample),[m1, num2str(w),'nm.png']);
end
X1 = toc;
hb = msgbox(['Tiempo transcurrido = ',num2str(X1),'
segundos']);
disp(X1)
stoppreview (vid); % Detener el video
closepreview (vid); % Cerrar el video
delete (vid); % Borrar y liberar el objeto creado
clear vid;
VsClose; % Cerrar sesión con el filtro
```

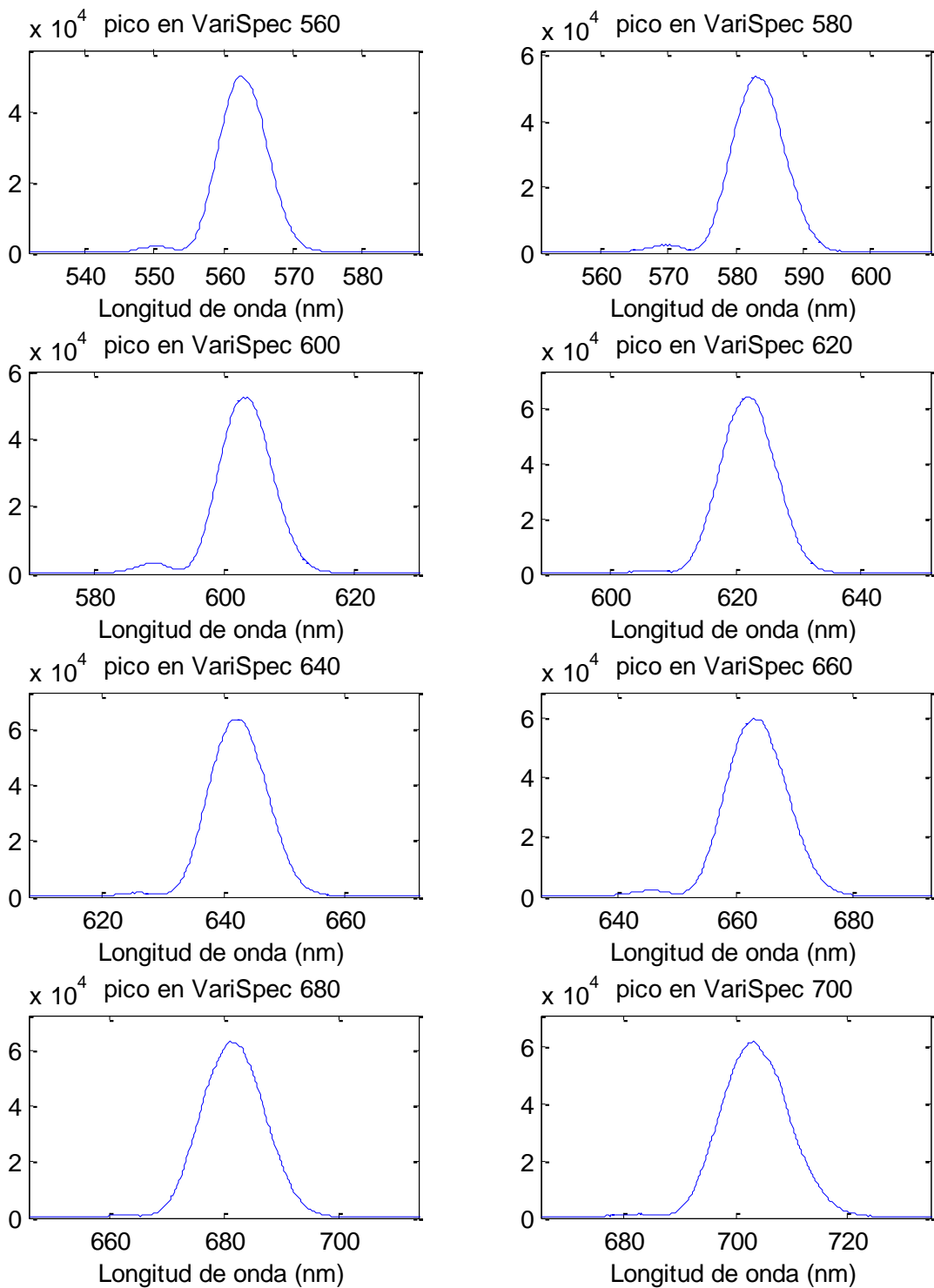
**Anexo 3.** Espectros obtenidos de la iluminación cuasi monocromática proveniente de la fuente Fiber-Lite MH100 filtrada por el LCTF VariSpec.





**Anexo 4.** Espectros de la composición espectral de la luz del bombillo de halógeno filtrada por el LCTF VariSpec, en el rango espectral de 400 a 700 nm.





# Índice de tablas

	Pág.
Tabla 2.1. Estructuras biológicas responsables del esparcimiento de fotones en los tejidos [7].	24
Tabla 3.1. Datos técnicos de la fuente de luz Fiber-Lite MH100	57
Tabla 3.2 Especificaciones técnicas del LCTF VariSpec(VIS)	59
Tabla 3.3 Especificaciones técnicas de la cámara Point Grey (FL3-U3-13S2M-CS)	60
Tabla 3.4. Características de la lente Computar modelo M2514-MP2	62
Tabla 3.5. Características principales del medidor de potencia Newport 2935T-C	63
Tabla 3.6. Características del detector Newport 918D-SL-OD1	65
Tabla 3.6. Características del detector Newport 918D-SL-OD1	67
Tabla 5.1. Especificaciones técnicas de la cámara pco.edge 5.5	109

# Índice de figuras

	Pág.
Figura 2.1. Reflexión y refracción en un medio donde $n_t > n_i$ .	18
Figura 2.2. Imagen que ejemplifica la interacción de un medio absorbente cuando un haz paralelo incide sobre él.	20
Figura 2.3 Esparcimiento de una partícula esférica.	24
Figura 2.4. Formación de una imagen a través de una lente usando la ecuación de Gauss.	30
Figura 2.5. Esquema de formación de una imagen para una lente convergente.	31
Figura 2.6. Relación entre el campo visual y el plano de la imagen.	32
Figura 2.7. Sensores CCD y CMOS.	35
Figura 2.8. Imágenes con diferente rango dinámico.	37
Figura 2.9. Transmisión óptica para un AOTF.	39
Figura 2.10. Transmisión óptica para un LCTF.	40
Modelo de reflexión presentado para un sistema de medición.	41
Figura 2.12. Espectro de densidad óptica para melanoma cutáneo (curvas rojas) y piel saludable (curvas azules).	43
Figura 2.13. Ciclo del halógeno en una lámpara de filamento de tungsteno.	45
Figura 2.14 Espectro de emisión de las lámparas de halógeno-tungsteno.	46
Figura 2.15. Espejo elíptico usado en fuentes de haluro metálico.	47
Figura 2.16. Uniformidad da la iluminación proporcionada por una fuente elíptica a través de un homogeneizador de vidrio BK7 simulado a 0 cm, 5 cm y 10 cm de la salida del homogeneizador.	51
Figura 3.1. Imagen de la fuente de luz Fiber-Lite MH100.	57
Figura 3.2. Gráfica del espectro de emisión de la fuente de haluro	58



metálico, proporcionado por el fabricante.	
Figura 3.3. Fotografía del filtro sintonizable	59
Figura 3.4. Imagen de la cámara monocromática Point Grey FL3-U3-13S2M-CS.	61
Figura 3.6. Imagen de la lente computar modelo M2514-MP2.	62
Figura 3.7. Imagen del medidor de potencia Newport 2935T-C.	64
Figura 3.8. Detector Newport 918D-SL-OD1.	65
Figura 3.9. a) Imagen del mini espectrómetro USB 4000 y b) configuración óptica interna: 1. entrada la fibra óptica, 2. abertura, 3. filtrado, 4. espejo colimador, 5. rejilla de difracción, 6. espejo director, 7. lente colectora, 8. Detector, 9. Filtro OFLV y 10 filtro de acondicionamiento de señal.	68
Figura 3.10. Fotografía de la lámpara de halógeno de 70 W.	69
Figura 3.11. Fotografía de la instalación experimental usada para la medición de la potencia de la fuente Fiber-Lite MH100 en función de la longitud de onda.	71
Figura 3.12. Espectro de emisión típico de un bombillo de halógeno.	72
Figura 3.13: Fotografía del arreglo experimental general para la medición del perfil del haz proporcionado al final de la fibra óptica, usado para la toma de imágenes multiespectrales.	73
Figura 3.14. Fotografía del arreglo experimental para colimar el haz de luz proporcionado por el homogeneizador, filtración de una longitud de onda (590 nm en este caso) con el VariSpec y concentración del haz sobre la punta de la fibra óptica.	73
Figura 3.15. Fotografía de la configuración experimental usada para la medición del perfil del haz de luz de la salida de la fibra óptica del orden de 5 mm de diámetro, proporcionado por el arreglo: Fiber-Lite MH100, homogeneizador y VariSpec.	74
Figura 3.16. Fotografía de la configuración experimental utilizada para obtener una aproximación del ángulo de inclinación con el que la	75

fibra óptica ilumina la muestra a 11.5 cm de distancia de trabajo.	
Figura 3.17 Arreglo para la medición de perfil de iluminación proporcionada por el sistema.	76
Figura 3.18. Gráfico de la emisión de la fuente en función de la longitud de onda usando el LCTF VariSpec, para generar el haz monocromático y el Newport Power Meter para las mediciones de la potencia emitida.	77
Figura 3.19. Espectro de emisión de la fuente Fiber-Lite MH100 medido usando el mini espectrómetro USB4000.	78
Figura 3.20. Curva de los picos de emisión de la fuente Fiber-Lite MH100 medidos usando el medidor de potencia Newport.	80
Figura 3.21. Perfil de emisión espectral de la iluminación de la fuente Fiber-Lite MH100 filtrada por el LCTF VariSpec en las longitudes de onda de: 540, 560 y 580 nm, respectivamente.	81
Figura 3.22. Intensidad en función de la longitud de onda del bombillo de halógeno filtrado con el VariSpec.	82
Figura 3.23 Gráfica de la composición espectral de la iluminación proporcionada por la configuración de iluminación de bombillo de halógeno filtrado por el VariSpec, en las longitudes de onda de: 540, 560 y 580 nm, respectivamente.	83
Figura 3.24. Mediciones del perfil del haz realizadas a 11.5 cm de la zona de interés, en a) se muestran las 5 mediciones realizadas y la iluminación de 2 cm centrada en el haz y en b) se muestra el promedio de estas mediciones.	85
Figura 3.25. Mediciones del perfil del haz proporcionado por el sistema al final de la fibra óptica y medición en el eje óptico de la cámara monocromática considerando 2 cm de campo visual.	86
Figura 3.26. Distribución promedio de la iluminación en general y en el campo visual de 2 cm de la cámara monocromática.	86
Figura 4.1. Fotografía del anillo de LEDs usado por el dispositivo IME.	91

Figura 4.2. Composición espectral de las familias de LEDs, tomando en consideración los datos ópticos proporcionados por el fabricante, ubicados en el espectro electromagnético.	92
Figura 4.3: Intersección de los espectros de absorción de la hemoglobina, la feomelanina, la eumelanina y el agua con los LEDs de montaje superficial de 3.5 mm x 2.8 mm.	93
Figura 4.4: Anillo de LEDs sobre la cámara monocromática a 11.5 cm para la caracterización espectral.	94
Figura 4.5: Espectro y potencia luminosa medidos a 11.5 cm de la cámara monocromática.	95
Figura 4.6: Configuración experimental para la caracterización espectral de la iluminación.	95
Figura 4.7: Iluminación proporcionada por el sistema Fiber-Lite MH100 – VariSpec a 11.5 cm de distancia del campo de trabajo.	96
Figura 4.8: LED de montaje superficial colocado en un costado de la lente de la cámara, para servir de fuente de iluminación.	97
Figura 4.9: Análisis espectral de las tres fuentes de iluminación considerando el área de trabajo a 11.5 cm.	98
Figura 4.10: Espectro de reflexión difusa de sangre de pollo oxigenada, obtenido de forma experimental.	101
Figura 4.11: Obtención del espectro de reflexión usando MATLAB. En a) se puede observar la imagen de referencia y en b) los espectros de reflexión de cada punto seleccionado.	102
Figura 4.12. Espectros de una hoja verde adhesiva en tres zonas con distintos niveles de iluminación, usando el método del cociente para la corrección del perfil de iluminación.	104
Figura 4.13. Espectros de la misma hoja verde adhesiva de la figura 4.12 en tres zonas con distintos niveles de iluminación obtenidos usando únicamente las imágenes de la muestra.	105
Figura 5.1. Curvas de eficiencia cuántica del sensor de la cámara para	110

la captura de imágenes monocromáticas (a) e imágenes a color (b).	
Figura 5.2. Fotografía del microscopio óptico usado como sistema de proyección de franjas.	111
Figura 5.3. Fotografía de la Tarjeta USAF 1951, tomada a través del sistema óptico.	112
Figura 5.4. Filtro pasa banda de 549 nm con 15 nm de ancho de banda a media altura.	113
Figura 5.5. Anillo de luz sobre la lente del phantom del ojo humano (a), el cual incluye 2 capas: la primera es la lente que imita al cristalino y la segunda es el agua en la que se encuentra inmersa la muestra (b).	114
Figura 5.6. Imagen del patrón proyectado sobre la muestra (no se observa el patrón de franjas en este plano).	115
Figura 5.7. Patrón de franjas colocado sobre la lente de la entrada de iluminación del instrumento.	116
Figura 5.8. Anillo de luz proyectado sobre la lente que imita al cristalino del ojo humano.	116
Figura 5.9. Patrón de franjas proyectado sobre la muestra (imagen adquirida usando el software de la cámara poco.edge 5.5.)	117
Figura 5.10. Despliegue del resultado del cálculo del tamaño del píxel del sistema.	119
Figura 5.11. Selección de los cinco picos para obtener la distancia promedio entre los picos del patrón de franjas.	119
Figura 5.12. Cuadro de diálogo que muestra la frecuencia espacial del patrón de franjas en la imagen capturada.	120
Figura 5.13. Imagen original de la que se extraen las componentes AC y DC.	122
Figura 5.14. Componentes AC y DC obtenidas de manera automática.	122
Figura 5.15. Componentes AC y DC extraídas de manera manual.	123