

**METROLOGÍA ÓPTICA EN MICROSCOPIA  
CONVENCIONAL, INTERFEROMÉTRICA Y  
CONFOCAL CROMÁTICA**

**JOHNSON GARZÓN REYES**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE FÍSICA  
BUCARAMANGA  
2005**

**METROLOGÍA ÓPTICA EN MICROSCOPIA  
CONVENCIONAL, INTERFEROMÉTRICA Y  
CONFOCAL CROMÁTICA**

**JOHNSON GARZÓN REYES**

**Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Naturales  
(Metrología Óptica)**

**Director  
ARTURO PLATA GÓMEZ  
Doctor en Ciencias para el Ingeniero**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE FÍSICA  
BUCARAMANGA  
2005**

A mi madre, mi esposa, mi hija; a  
la memoria de mi padre y  
hermano.

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor expresa sus agradecimientos a:

La Universidad Pontificia Bolivariana, por el apoyo financiero concedido en la comisión de estudios.

La Universidad Industrial de Santander, por el apoyo financiero concedido en la beca de sostenimiento.

COLCIENCIAS, por el apoyo financiero del proyecto de investigación: Nanometrología y Caracterización de Materiales, Código 1102-05-221-99. Años 2000-2001.

Ing. Jairo Augusto Lopera Pérez, Decano de la Escuela de Ingenierías de la Universidad Pontificia Bolivariana, por su confianza y gestión que permitió la realización de mis estudios de doctorado.

Dr. Arturo Plata G., Director de la Tesis, por su contribución, colaboración y confianza en la orientación de este trabajo.

Dr. Oscar Gualdrón por sus excelentes enseñanzas en procesamiento digital de imágenes y computación.

Dr. Jaime Meneses por sus valiosas y oportunas discusiones académicas sobre metrología óptica y reconstrucción 3D, su esposa Martha, sus hijos Camilo y Jaime Andrés por su acogida familiar en Francia.

Dr. René Salazar, investigador del Grupo de Óptica y Tratamiento de Señales de la Universidad Industrial de Santander, por sus excelentes clases sobre metrología óptica.

Dr. Orlando Aya, Investigador del Grupo de Espectroscopía Atómica y Molecular de la Universidad Industrial de Santander, por sus motivadoras clases sobre espectroscopía del láser

Profesores del Grupo de Óptica y Tratamiento de Señales de la Universidad Industrial de Santander por sus enseñanzas y cooperación.

Personal de apoyo administrativo de la Escuela de Física de la Universidad Industrial de Santander por su colaboración.

Ing. Wilson Vesga, de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales de la Universidad Industrial de Santander, por su colaboración en la preparación de las muestras metalográficas.

Dr. Gilbert Tribillon, investigador del Laboratorio de Óptica P. M. Duffieux de la Universidad de Franche-Comté, Besançon, Francia, por su contribución, cooperación y confianza.

Dr. Tijani Gharbi, investigador del Laboratorio de Óptica P. M. Duffieux de la Universidad de Franche-Comté, Besançon, Francia, por su contribución, cooperación y confianza.

La totalidad del grupo de investigadores y personal del Laboratorio de Óptica P. M. Duffieux de la Universidad de Franche Comté, Besançon, Francia, por su amable acogida en la realización de la pasantía internacional.

Dr. Rodrigo Henao, Investigador del Grupo de Óptica y Fotónica de la Universidad de Antioquia, por su colaboración para la realización de la pasantía de investigación en el Instituto de Física de esta Universidad.

Mi adorada madre, por su comprensión, motivación, fortaleza, acompañamiento y apoyo incondicional. Gracias por estar y compartir todos los momentos especiales de mi vida.

Mi bella Nathi y mi adorada hija, por su comprensión, motivación, acompañamiento y apoyo incondicional.

Mi inolvidable hermano Adolfo, por su motivación y ejemplo, a quien Dios sólo le permitió ver el inicio.

A mi cuñada Consuelo, mi sobrina María Alejandra y demás familiares, por su apoyo y acompañamiento.

A mi compadre Sigi, mi comadre Noralba y sus hijos Ángel, Junior y Daniel por su amistad y acogida.

Todos los triunfos nacen cuando  
nos atrevemos a comenzar.

E. Ware

## **CONTENIDO**

	<b>pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>1. METROLOGÍA ÓPTICA EN MICROSCOPIA CONVENCIONAL MEDIANTE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES</b>	6
1.1. <b>INTRODUCCIÓN</b>	6
1.2. <b>FUNDAMENTOS DEL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES</b>	7
1.2.1. Imagen Digital	8
1.2.2. Representación de Imágenes Digitales	10
1.2.3. Fundamentos del Color	13
1.2.4. Modelos de Color	17
1.2.4.1 Modelo de Color RGB	18
1.2.4.2 Modelo de Color CMY	19
1.2.4.3 Modelo de Color YIQ	19
1.2.4.4 Modelo de Color HSI	20
1.2.5 Procesamiento de Imágenes en Color	22
1.2.5.1 Segmentación en el Espacio Vectorial RGB	23
1.2.6 Representación y Descripción de Imágenes Segmentadas	27
1.2.7 Operaciones de Morfología Matemática	27
1.2.8 Segmentación Basada en Fronteras	32
1.2.8.1 Operadores Gradiente	34
1.2.9 Detectores de Bordes Gaussianos	37
1.2.9.1 Detector de Bordes de Canny	38
1.3 <b>RESULTADOS EXPERIMENTALES</b>	39
1.3.1 Segmentación en Color Verdadero	39
1.3.2 Segmentación Basada en Fronteras: Análisis de Microdureza	51

1.4	<b>CONCLUSIONES</b>	57
2.	<b>MICROSCOPIA INTERFERENCIAL</b>	59
2.1	<b>INTRODUCCION</b>	59
2.2	<b>MICROSCOPIA INTERFERENCIAL</b>	62
2.2.1	Descripción General	63
2.2.2	Sistema de Microscopía Interferencial Tipo Mirau	65
2.3	<b>DISPOSITIVO EXPERIMENTAL</b>	66
2.4	<b>ANÁLISIS DE FRANJAS DE INTERFERENCIA</b>	67
2.4.1	Análisis de Franjas de Interferencia de Luz Policromática	67
2.4.2	Análisis de Franjas de Interferencia de Luz Cuasimonocromática	72
2.5	<b>RESULTADOS EXPERIMENTALES</b>	79
2.5.1	Interferograma con Luz Policromática	79
2.5.2	Barrido Axial con Diferentes Fuentes de Iluminación	81
2.5.3	Medición de Espesores en Películas Delgadas Semitransparentes	82
2.5.4	Perfilometría con Luz Policromática	84
2.5.5	Perfilometría con luz Cuasimonocromática	86
2.6	<b>CONCLUSIONES</b>	88
3.	<b>MICROSCOPIA CONFOCAL Y LA CODIFICACION CROMATICA DEL EJE OPTICO</b>	90
3.1	<b>INTRODUCCION</b>	90
3.2	<b>PRINCIPIO DE LA MICROSCOPIA CONFOCAL</b>	91
3.3	<b>CODIFICACION CROMATICA DEL EJE OPTICO</b>	96
3.3.1	Aberración Cromática	96
3.3.2	Lente de Fresnel	98
3.4	<b>MICROSCOPIA CONFOCAL POR ABERRACION CROMATICA LONGITUDINAL</b>	103
3.5	<b>DISPOSITIVO EXPERIMENTAL</b>	105
3.5.1	Sistema de Iluminación	106
3.5.2	Sistema de Codificación Longitudes de Onda - Altura	107
3.5.3	Sistema de Detección	109

3.5.4	Resolución Axial y Transversal del Sistema	111
3.6	<b>RESULTADOS EXPERIMENTALES</b>	115
3.6.1	Reconstrucción 3D	115
3.6.2	Medidas Multicapa	116
3.6.3	Perspectivas de los Sistemas Confocales Cromáticos	121
3.7	<b>CONCLUSIONES</b>	122
4.	<b>CONCLUSIONES GENERALES</b>	124
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	128
	<b>ANEXO</b>	138

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1</b> Esquema de una imagen de color RGB.	12
<b>Figura 2.</b> Elementos de una imagen indexada. El píxel encerrado en el círculo está en una posición arbitraria $(i,j)$ y tiene un valor $k$ , el cual corresponde a la $k$ -ésima fila de la matriz de color.	13
<b>Figura 3.</b> Absorción de la luz por los conos rojo, verde y azul en el ojo humano como función de la longitud de onda.	14
<b>Figura 4. (a)</b> Colores primarios de luz y de pigmento. <b>(b)</b> Diagrama de cromaticidad.	15
<b>Figura 5.</b> Esquema del cubo de color RGB.	18
<b>Figura 6.</b> Tono y saturación en el modelo HSI. El punto es un punto de color arbitrario. El ángulo desde el eje rojo da el tono y la longitud del vector es la saturación. La intensidad de todos los colores en cualquiera de esos planos es dada por la posición del plano sobre el eje de intensidad vertical.	21
<b>Figura 7.</b> Modelo de color HSI basado sobre triángulos.	21
<b>Figura 8.</b> Tres aproximaciones distintas como criterio de color especificado: <b>(a)</b> Esfera. <b>(b)</b> Hiperboloide. <b>(c)</b> Cubo.	24
<b>Figura 9. (a)</b> Imagen original <b>A</b> . <b>(b)</b> Región imagen de interés <b>I</b> . <b>(c)</b> Máscaras espaciales $M^k$ <b>(d)</b> Máscara $M(i,j)$ . <b>(e)</b> Imagen <b>P</b> en color verdadero segmentada <b>(f)</b> Imagen <b>Q</b> en color verdadero segmentada.	26
<b>Figura 10.</b> Perfiles de bordes. Los dos primeros corresponden a modelos idealizados y los dos últimos son los observados.	33
<b>Figura 11.</b> Detección de bordes por operadores de derivación. La banda clara sobre el fondo oscuro es la imagen original y a su derecha se encuentra el perfil de una línea horizontal. Las siguientes son sus derivadas con sus respectivos perfiles.	34
<b>Figura 12.</b> Sistema de adquisición de imágenes.	41
<b>Figura 13. (a)</b> Imagen original. <b>(b)</b> Histograma del plano R. <b>(c)</b> Histograma del plano G. <b>(d)</b> Histograma del plano B.	42
<b>Figura 14. (a)</b> Imagen original <b>A</b> y la región de interés <b>I</b> . En el contexto del experimento las zonas oscuras corresponden al grafito. <b>(b)</b> Histograma del plano R de la imagen <b>I</b> . <b>(c)</b> Histograma del plano G de la imagen <b>I</b> . <b>(d)</b>	

Histograma del plano B de la imagen I.	43
<b>Figura 15.</b> (a) Máscara $M^1$ para el plano R. (b) Máscara $M^2$ para el plano G. (c) Máscara $M^3$ para el plano B.	44
<b>Figura 16.</b> (a) Máscara $M$ . (b) Imagen segmentada en verdadero color. (c) Máscara suavizada, libre de huecos e istmos. (d) Imagen final segmentada. (e) La región de interés corresponde al color negro. (f) Regiones de interés rotuladas con diferentes colores.	44
<b>Figura 17.</b> (a) Región de interés. En el contexto del experimento representa los colores de la matriz ferrítico-perlítica. (b) Histograma del plano R de la imagen I. (c) Histograma del plano G de la imagen I. (d) Histograma del plano B de la imagen I.	45
<b>Figura 18.</b> (a) Máscara $M^1$ para el plano R. (b) Máscara $M^2$ para el plano G. (c) Máscara $M^3$ para el plano B.	46
<b>Figura 19.</b> (a) Imagen segmentada. (b) Imagen binaria de la imagen segmentada. (c) Máscara suavizada, libre de huecos e istmos. (d) Imagen final segmentada. Las regiones de interés <b>I</b> corresponde al color amarillo. (e) Regiones de grafito segmentadas. (f) Regiones de interés <b>I</b> rotuladas con diferentes colores.	47
<b>Figura 20.</b> Rotulado: Valores asignados a cada región.	48
<b>Figura 21.</b> Regiones nodulares de grafito que tienen un factor de forma entre 0.8 y 1.5 y a la vez tienen un área mayor de $2.64839 \times 10^{-4} \text{ mm}^2$ .	50
<b>Figura 22.</b> (a) Esquema del Penetrador Vickers. (b) Huella que produce.	53
<b>Figura 23.</b> Imágenes adquiridas con objetivos de microscopio de 10×, 20×, 50×, con NA de 0.45: (a) Probeta de acero AISI H-13. (b) Probeta de aluminio de fundición.	54
<b>Figura 24</b> (a). Imagen original: Huella de dureza Vickers sobre una muestra de acero AISI H-13 a 1650 aumentos. (b). Imagen resultante después de aplicar el método de Canny para la detección de bordes. (c) Imagen segmentada con los vértices de la región de interés notados como A, B, C, y D.	55
<b>Figura 25</b> (a) Máscara binaria para la imagen original. (b) Perímetro de la máscara binaria.	55
<b>Figura 26.</b> Diferentes tipos de microscopios interferenciales. C: Cámara CCD, LC: Lente condensadora, SR: Superficie de referencia, OM?: Objetivo Mirau, OM: Objetivo de microscopio, DH: Divisor de haz, M: Muestra, E: Espejo, DP: Detector puntual, P: Pinhole. (a) Mirau. (b) Linnik. (c) Michelson. (d) Confocal.	64

<b>Figura 27.</b> Objetivo de microscopio interferométrico Mirau. O: Objetivo, P <sub>1</sub> : Espejo de referencia. A: Lámina separatriz. P <sub>2</sub> : Muestra.	65
<b>Figura 28.</b> Esquema representativo de un sistema de microscopía interferencial tipo Mirau.	66
<b>Figura 29.</b> Señal de salida a lo largo del eje z de un interferómetro iluminado con luz blanca en función de la posición de uno de los espejos terminales. La línea punteada representa la envolvente de las franjas.	70
<b>Figura 30.</b> Representación de diferentes etapas en perfilometría de superficies utilizando luz blanca. <b>(a)</b> Serie de interferogramas obtenidos cuando la muestra es movida en la dirección z. <b>(b)</b> Procesamiento de dos píxeles muestreados en el interferograma usando la detección del pico. La línea punteada corresponde a la envolvente. <b>(c)</b> Localización del pico a lo largo del eje z correspondiente a la altura de la superficie, permitiendo reconstruir su topografía.	71
<b>Figura 31.</b> Frentes de onda que interfieren mostrados de manera separada. <b>(a)</b> Frente de onda a medir. <b>(b)</b> Frente de onda de referencia.	72
<b>Figura 32.</b> Ejemplo de una distribución de fase sin corregir. Los valores son mapeados a niveles de gris.	77
<b>Figura 33.</b> Fase arbitraria discontinua. En este diagrama el eje y, entra al plano de la hoja. Los valores $\phi_{ji}$ representan puntos de la distribución de fase en la fila <i>j</i> -ésima (dirección <i>x</i> ) y columna <i>i</i> -ésima (dirección <i>y</i> ). La numeración rotula cada región.	77
<b>Figura 34.</b> Fase de compensación $\phi_{comp}$ .	79
<b>Figura 35.</b> Distribución de fase arbitraria continua.	79
<b>Figura 36.</b> Franjas de luz blanca obtenidas con una lámpara halógena. Las imágenes fueron obtenidas con una cámara a color. Cada interferograma presenta sus respectivos planos RGB. <b>(a)</b> La muestra es un espejo plano. <b>(b)</b> Muestra es de óxido de silicio.	80
<b>Figura 37.</b> <b>(a)</b> Análisis al variar la posición en <i>z</i> por medio del TPE en una línea de la muestra. <b>(b)</b> Interferograma sintético resultante cuando la fuente de iluminación es luz blanca. <b>(c)</b> Interferograma sintético para una fuente de luz blanca con un filtro interferencial. <b>(d)</b> Perfil del interferogramas sintéticos de luz blanca. <b>(e)</b> Perfil del interferogramas sintéticos de luz blanca con filtro interferencial.	81
<b>Figura 38.</b> <b>(a)</b> Interferograma sintético producido por una película de óxido de silicio semitransparente. <b>(b)</b> Perfil del interferograma sintético.	83

<b>Figura 39.</b> Forma de la película semitransparente de óxido de silicio.	84
<b>Figura 40.</b> Reconstrucción 3D de la muestra de grafito utilizando iluminación policromática.	86
<b>Figura 41.</b> Interferogramas provenientes de una muestra de cobre vidrio para corrimientos de: <b>(a)</b> 0. <b>(b)</b> $\pi/2$ . <b>(c)</b> $\pi$ . <b>(d)</b> $3\pi/2$ . <b>(e)</b> Perfil de cada uno de los interferogramas anteriores obtenido sobre la muestra de vidrio.	87
<b>Figura 42.</b> <b>(a)</b> Fase discontinua. <b>(b)</b> Fase continua.	87
<b>Figura 43.</b> Reconstrucción 3D de la muestra cobre vidrio mediante corrimiento de fase. La parte más alta corresponde al cobre.	87
<b>Figura 44.</b> Diferentes formas de microscopios ópticos de exploración. <b>(a)</b> Microscopio convencional. <b>(b)</b> Una forma de microscopio de exploración convencional. <b>(c)</b> Otra forma de microscopio de exploración convencional. <b>(d)</b> Sistema óptico confocal.	91
<b>Figura 45.</b> Propiedad de seccionamiento óptico o discriminación en profundidad de un sistema óptico confocal.	94
<b>Figura 46.</b> Aberración cromática longitudinal y lateral.	97
<b>Figura 47.</b> Aberración cromática longitudinal. $\lambda_2$ mayor que $\lambda_1$ .	98
<b>Figura 48.</b> Transformación de una onda plana en una onda esférica para una lentilla clásica de refracción.	99
<b>Figura 49.</b> Perfil ideal de una lentilla de Fresnel.	99
<b>Figura 50.</b> Montaje confocal con un elemento dispersivo.	103
<b>Figura 51.</b> Microscopio confocal por aberración cromática longitudinal. L: Láser, $OF_1$ : Fibra óptica 1, $AL_1$ : Lente acromática 1, $BS$ : Divisor de haz, $FL$ : Lente de Fresnel, $AL_2$ : Lente acromática 2, $\Delta\lambda$ : Segmento de longitudes de onda, $O_1$ : Objetivo de microscopio 1, $\Delta\lambda'$ : Segmento de longitudes de onda imagen, $S$ : Muestra, $O_2$ : Objetivo de microscopio 2, $OF_2$ : Fibra óptica 2, $SC$ : Tarjeta espectrométrica.	106
<b>Figura 52.</b> <b>(a)</b> Montaje experimental para generar el supercontinuo. <b>(b)</b> Foto de efecto no lineal en fibra óptica. <b>(c)</b> Espectro de salida (fuente 1).	107
<b>Figura 53.</b> Sistema formador de imágenes, usado para reducir el tamaño del segmento de longitudes de onda producido por el elemento dispersivo.	108
<b>Figura 54.</b> Espectro de intensidad normalizada, detectada para tres posiciones $z$ diferentes sobre el eje óptico (fuente 1).	110
<b>Figura 55.</b> Curva de calibración con la fuente 1 de las posiciones relativas en la dirección axial $z$ en función de la longitud de onda detectada.	111

<b>Figura 56.</b> Respuesta espectral $I(\lambda)$ del sistema, para una longitud de onda $\lambda = 814.9$ nm.	112
<b>Figura 57.</b> Función resolución espectral axial del sistema con la fuente 1.	113
<b>Figura 58.</b> Sistema confocal cromático.	114
<b>Figura 59.</b> (a) Moneda de 0.10 € (b) Región de interés. (c) Región a reconstruir (d) Imagen rango.	115
<b>Figura 60.</b> Topografía de la letra E más pequeña obtenida desde una moneda de 0.10 €.	116
<b>Figura 61.</b> Medida de espesores.	117
<b>Figura 62.</b> Espectro de salida (fuente 2).	118
<b>Figura 63.</b> Espectro de intensidad normalizada, detectada para tres posiciones $z$ diferentes sobre el eje óptico (fuente 2).	118
<b>Figura 64.</b> Curva de calibración con la fuente 2 de las posiciones relativas en la dirección axial $z$ en función de la longitud de onda detectada.	119
<b>Figura 65.</b> Función resolución espectral del sistema con la fuente 2.	120
<b>Figura 66.</b> Medida de espesores ópticos en membranas plásticas (fuente2): (a) Una membrana de plástico. (b) Membrana doble: $\Delta z'_1 = 74.49 \mu\text{m}$ ; $\Delta z'_2 = 63.35 \mu\text{m}$ . (c) Membrana triple: $\Delta z'_1 = 70.37 \mu\text{m}$ ; $\Delta z'_2 = 104.04 \mu\text{m}$ ; $\Delta z'_3 = 33.90 \mu\text{m}$ . (d) Membrana cuádruple: $\Delta z'_1 = 118.43 \mu\text{m}$ ; $\Delta z'_2 = 70.37 \mu\text{m}$ ; $\Delta z'_3 = 102.84 \mu\text{m}$ ; $\Delta z'_4 = 38.79 \mu\text{m}$ .	121
<b>Figura 67.</b> Perspectiva del dispositivo de medida.	122

## LISTA DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1.</b> Regiones de grafito en un campo de observación de $0.1955 \text{ mm}^2$ . Margen de error del 0.05%. Las filas en negrilla corresponden a los valores encontrados para los nódulos de grafito que tienen un factor de forma entre 0.8 y 1.5 y a la vez tienen un área mayor de $2.64839 \times 10^{-4} \text{ mm}^2$ , los cuales son mostrados en la figura 21.	48
<b>Tabla 2.</b> Resultados para la muestra de acero AISI H-13 después de realizar el ensayo de dureza Vickers con una carga de 0.1 kg.	56
<b>Tabla 3.</b> Resultados para la muestra de aluminio de fundición, después de realizar el ensayo de dureza Vickers con una carga de 0.05 kg.	57
<b>Tabla 4.</b> Fase y rango de valores en la expresión para tangente. Los valores en el numerador son $\text{sen}(\phi)$ y en el denominador $\text{cos}(\phi)$ .	77
<b>Tabla 5.</b> Características generales del microscopio confocal cromático.	114

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo.</b> Artículo publicado en la revista Pure and Applied Optics: Chromatic confocal microscopy by means of continuum light generated through a standard single-mode fibre.	pág. 138
---	-------------

## RESUMEN

### **TÍTULO:**

METROLOGÍA ÓPTICA EN MICROSCOPIA CONVENCIONAL, INTERFEROMÉTRICA Y CONFOCAL CROMÁTICA\*

### **AUTOR:**

Johnson Garzón Reyes\*\*

### **PALABRAS CLAVES:**

Segmentación, Espacios de Color, Dureza Vickers, Reconstrucción 3D, Microscopía Interferencial Mirau, Microscopía Confocal, Lente de Fresnel, Aberración Cromática.

### **DESCRIPCIÓN:**

En este trabajo se presentan algunos métodos de metrología óptica en microscopía convencional de reflexión, microscopía interferométrica Mirau y microscopía confocal por aberración cromática longitudinal. En microscopía convencional de reflexión se presenta una técnica de caracterización de imágenes metalográficas usando procesamiento digital de imágenes en verdadero color. El proceso central es la segmentación de la imagen tomando como criterio la combinación lineal de las tres componentes de color RGB. Adicionalmente, se presenta una técnica óptico digital para determinar la dureza Vickers como parámetro de microdureza de materiales duros.

En microscopía interferencial Mirau se presenta la fundamentación física sobre la cual se basan los principios de reconstrucción 3D de superficies y la medida de espesores en películas delgadas a escala nanométricas. Se hace énfasis en dos técnicas de reconstrucción tridimensional, una de ellas es la detección de máximos de intensidad con luz policromática y la otra es la técnica de corrimiento de fase con luz cuasi-monocromática.

En microscopía confocal se presenta un sistema de reconstrucción 3D basado en el principio de multiplexado del foco dado por una lente difractiva de Fresnel. La topografía de un objeto queda codificada en las componentes espectrales detectadas desde el objeto. El sistema está compuesto por un sistema de iluminación novedoso, consistente en un supercontinuo generado por un efecto no lineal en fibra óptica monomodo, un sistema de codificación de longitudes de onda - alturas y un sistema de detección. Para esta técnica también se presenta un método confocal para medir el índice de refracción y espesores de membranas. En todas las anteriores técnicas se presentan los resultados experimentales y sus perspectivas de trabajo.

---

\* Tesis Doctoral.

\*\* Director, Arturo Plata Gómez, Grupo de Óptica y Tratamiento de Señales, Escuela de Física, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

## SUMMARY

### **TITLE:**

OPTICAL METROLOGY IN CONVENTIONAL, INTERFEROMETRIC AND CHROMATIC CONFOCAL MICROSCOPY\*

### **AUTHOR:**

Johnson Garzón Reyes\*\*

### **KEY WORDS:**

Segmentation, Color Spaces, Vickers Hardness, Reconstruction 3D, Mirau Interferencial Microscopy, Confocal Microscopy, Fresnel Lens, Chromatic Aberration.

### **DESCRIPTION:**

In this work, some methods of optical metrology in reflection conventional microscopy, Mirau interferencial microscopy and confocal microscopy by longitudinal chromatic aberration are presented. In reflection conventional microscopy, a characterization technique of metallographic images by mean of digital image processing in true color is showed. The central process is the segmentation of images taking as criterion the linear combination of the three RGB color components. Additionally, a digital optical technique to determine the Vickers hardness as micro-hardness parameter of hard materials is presented.

In Mirau interferencial microscopy, the physical fundamentals of 3D reconstruction of surface and the measurement of thicknesses of thin films to nano-metric scale are decrypted. The emphasis is done for two techniques of three-dimensional reconstruction, one of them is the detection of intensity maximums using polychromatic light and the other is the technique of phase shifting using quasi-monochromatic light.

In chromatic confocal microscopy is presented a system of 3D reconstruction based on the principle of focus multiplexing, which is produced by mean of a Fresnel diffractive lens. The topography of an object is encoding in the spectral components detected from the object. The system is composed by novel illumination system, which is a supercontinuum generated by non linear effect in single mode optical fiber, a wavelength – height codification system and a detection system. Furthermore in this technique, a confocal method for determination of the refractive index and thickness of membranes is developed. For all previous techniques the experimental results and their perspectives of work are presented.

---

\* Doctoral Thesis.

\*\* Director, Arturo Plata Gómez, Grupo de Óptica y Tratamiento de Señales, Escuela de Física, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

## INTRODUCCIÓN

El trabajo que se presenta en este manuscrito está enfocado a la metrología óptica en microscopía convencional de reflexión, microscopía interferométrica tipo Mirau y microscopía confocal por aberración cromática longitudinal. Cada uno de estos temas es abordado en capítulos separados.

En el capítulo 1 se describen dos métodos de segmentación de imágenes metalográficas, el primer método es una técnica para la caracterización de materiales, por medio del procesamiento digital de imágenes en verdadero color. El origen de este método se basa en el hecho de que la mayoría de las técnicas de caracterización y reconocimiento de imágenes metalográficas están basadas en el tratamiento de imágenes en niveles de gris donde la reflectividad cromática selectiva se pierde en estos tratamientos. En particular las imágenes metalográficas provenientes de fundiciones esferoidales y utilizadas en este trabajo, al ser atacadas químicamente con diferentes sustancias, muestran las distintas fases de la fundición. Esta fue la razón primordial que despertó el interés en la segmentación en algún espacio de color. La elección del espacio de color RGB como espacio de trabajo en la segmentación surgió porque en la literatura, este espacio es transformado a otros espacios de color como el HSI, donde la información cromática queda plasmada en el plano H y son muy pocas las propuestas de segmentación en el espacio RGB. La propuesta de segmentación se basa en la selección de regiones que tengan la misma combinación lineal de las tres componentes de color RGB de la región de interés dentro de las muestras metalográficas. La preparación de las muestras y la adquisición de las imágenes se llevo a cabo en el laboratorio de metalografía de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales de la Universidad Industrial de Santander.

El segundo método presentado en el capítulo 1 consiste en una técnica de tratamiento digital de imágenes que permite medir la resistencia a la penetración que

experimentan materiales duros cuando son impactados con una punta de pirámide de diamante. El origen del problema surgió porque en el laboratorio de metalografía de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales de la Universidad Industrial de Santander se cuenta como sistema de impacto, un escleroscopio Leitz Durimet con pirámide de diamante intercambiable para ensayos de dureza Vickers, el cual es operado manualmente. Esto creó la necesidad de implementar un algoritmo computacional basado en el tratamiento digital de imágenes que facilitará las medidas de microdureza, para lo cual se dispuso de un sistema de adquisición de imágenes estándar para el análisis de las muestras impactadas. El algoritmo se basa en la aplicación de operadores diferenciales sobre imágenes. Aunque en la literatura aparecen diferentes métodos de segmentación de bordes, aquí, se eligió el método de Canny por la facilidad de reportar la incertidumbre en las medidas. Adicionalmente, fueron utilizadas diversas operaciones de morfología matemática para mejorar la respuesta de los algoritmos.

En general, en el capítulo 1 se presenta una fundamentación básica en procesamiento digital de imágenes sobre la cual se basan los métodos propuestos de segmentación. Para cada uno de los métodos se muestran los resultados experimentales que validan la eficiencia de los algoritmos.

En el capítulo 2 se presenta la fundamentación física sobre la cual se basan los principios de reconstrucción 3D de superficies y la medida de espesores en películas delgadas semitransparentes a escalas nanométricas, utilizando un microscopio interferométrico tipo Mirau. En la introducción de este capítulo se hace una revisión amplia del estado del arte en este tema. En este capítulo se hace énfasis en dos técnicas de reconstrucción tridimensional, una de ellas es la detección de máximos de intensidad con luz policromática y la otra es la técnica de corrimiento de fase con luz cuasi-monocromática. La técnica de detección de máximos es presentada en la sección 2.4.1, donde se describen las propiedades de los interferogramas producidos por una fuente policromática. De una manera análoga al confocal, el problema radica

en localizar la posición de máxima intensidad del interferograma para todos los puntos de la muestra, desplazando en la dirección axial uno de los brazos del interferómetro.

La técnica de corrimiento de fase es presentada en la sección 2.4.2, donde se describen las propiedades de los interferogramas producidos por una fuente cuasi-monocromática. Esta técnica es especialmente utilizada para medir las distribuciones de fase bidimensionales. Midiendo los cambios de la intensidad para diferentes corrimientos de fase, es posible determinar la fase del frente de onda de prueba relativo al frente de onda de referencia. La señal de intensidad sobre un punto en el detector cambia con la fase. Midiendo la fase para muchos puntos sobre el frente de onda total se puede determinar la forma total del frente de onda. En general el método utiliza variables arbitrarias de la fase de referencia para generar un conjunto de valores de intensidad. El conjunto de valores de intensidad es procesado computacionalmente para obtener una relación entre la fase, la longitud de onda de la fuente de iluminación y el perfil asociado al frente de onda de prueba, el cual da cuenta del perfil de una superficie. En este capítulo se presentan las ventajas y desventajas del método, junto con la manera de hacer la corrección de fase propia del algoritmo.

En ambas técnicas se utilizó un microscopio reflexión metalográfico Eclipse 600 marca Nikon con un objetivo interferométrico tipo Mirau, el cual es descrito en la sección 2.2.2, un transductor piezoeléctrico sincronizado con un sistema de adquisición de imágenes, conformado por una tarjeta de la empresa Matrox de referencia Meteor II y una cámara de video monocroma Sony. A la fecha, éste es el único sistema interferométrico tipo Mirau que existe en Colombia, lo que dio origen a una nueva línea de trabajo en el país. Algunos de los resultados presentados en este capítulo fueron obtenidos con muestras metalográficas donadas por el laboratorio de P. M. Duffieux. Sus perspectivas de trabajo son presentadas al final del capítulo en la sección de conclusiones. El montaje de este sistema fue patrocinado por

COLCIENCIAS mediante el proyecto de investigación: Nanometrología y Caracterización de Materiales, con código 1102-05-221-99, años 2000-2001.

En el capítulo 3 se presentan los fundamentos básicos de la microscopía confocal por aberración cromática longitudinal donde la superficie es medida punto por punto, con la propiedad de discriminación en profundidad basada en un fenómeno de aberración cromática longitudinal. En este sistema óptico confocal se utilizó una lente de fase de Fresnel para generar este fenómeno. En este capítulo se describe cada uno de los sistemas constitutivos del sistema completo. Ellos son: el sistema de iluminación, consistente en un supercontinuo generado por un efecto no lineal en fibra óptica monomodo, el sistema de codificación de longitudes de onda - alturas y el sistema de detección. El supercontinuo generado en la fibra óptica fue reportado y caracterizado por el Grupo de Óptica No Lineal del laboratorio de óptica P. M. Duffieux, como está citado en la sección 3.5.1 (Mussot *et al*, 2003; Courvoisier *et al*, 2004). La utilización de este supercontinuo y la implementación del sistema miniaturizado son unas de las grandes novedades y bondades del dispositivo confocal cromático implementado (Garzón J. *et al*, 2004b). El sistema de codificación longitud de onda - altura está compuesto por la lente difractiva de Fresnel, un sistema de formador de imágenes constituido por dos lentes acromáticas, una de las cuales es un objetivo de microscopio. En esta parte, la lente de Fresnel focaliza cada componente espectral sobre diferentes posiciones a lo largo del eje óptico, formando un segmento de longitudes de onda. Con las dos lentes acromáticas, el segmento de longitudes de onda puede ser ajustado a un rango de medidas a la salida del sistema, produciendo un segmento de longitudes de onda imagen. La señal luminosa reflejada por la superficie del objeto en cuestión y cuya topografía está dentro del segmento de longitudes de onda imagen, es desviada hacia la entrada de un sistema de detección. Esto permite que para cada posición sobre el eje óptico en el segmento de longitudes de onda imagen, una correspondiente longitud de onda sea detectada, así, se genera la codificación de longitudes de onda - altura. El origen de este dispositivo radicó en la necesidad que tiene una empresa de cosméticos francesa en evaluar sus productos

dermatológicos sobre las capas internas de la piel, para lo cual los métodos descritos en las secciones 3.6.1 y 3.6.2 son de vital importancia.

En general, en el capítulo 3 se presenta un método reconstrucción 3D basado en el principio de multiplexado del foco dado por una lente difractiva de Fresnel, y una técnica confocal cromática para medir el índice de refracción y los espesores de membranas. Adicionalmente, se discute la resolución axial y transversal del sistema. Al final del capítulo se presentan las aplicaciones y sus perspectivas de trabajo. Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Óptica P. M. Duffieux de la Universidad de Franche-Comté, Besançon, Francia, dentro del Grupo de Nanometrología y Microsistemas para las Ciencias de la Vida.

# **1. METROLOGÍA ÓPTICA EN MICROSCOPIA CONVENCIONAL MEDIANTE PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES**

## **1.1 INTRODUCCIÓN**

En este capítulo se presentan dos métodos de segmentación de imágenes metalográficas; el primer método es una técnica para la caracterización de materiales, usando procesamiento digital de imágenes en verdadero color; el origen de este método se basa en el hecho de que la mayoría de las técnicas de caracterización y reconocimiento de imágenes metalográficas están basadas en el tratamiento de imágenes en niveles de gris, donde la reflectividad cromática selectiva se pierde en estos tratamientos. El proceso está centrado en la selección de regiones que tengan la misma combinación lineal de las tres componentes de color RGB (Garzón J., Plata A., Vesga W., Meneses J. y Suárez M, 2004a) y está compuesto de los siguientes pasos: preparación de muestras, adquisición de imágenes, segmentación, extracción y representación de parámetros característicos. Las muestras elegidas son provenientes de procesos de fundición, las cuales fueron pulidas y atacadas con diferentes soluciones químicas. El sistema de adquisición consta de un microscopio de reflexión interfazado con una computadora y una cámara CCD a color. Se utilizaron imágenes sintéticas de prueba para conocer la eficiencia de los algoritmos de segmentación. Los parámetros que se calcularon son el área, perímetro, densidad, factor de forma (Leszek W., 1999), los cuales permiten tomar decisiones sobre la calidad y la aceptabilidad industrial del material fundido. La técnica propuesta puede tratar con algunos problemas como la heterogeneidad del fondo y la intersección de regiones.

El segundo método presentado en este capítulo consiste en una técnica de tratamiento digital de imágenes que permite medir la resistencia a la penetración que

experimentan materiales duros, cuando son impactados con una punta de pirámide de diamante. El método utiliza como sistema de impacto, un escleroscopio Leitz Durimet con pirámide de diamante intercambiable para ensayos de dureza Vickers, un sistema de adquisición de imágenes estándar, que consta de una computadora con una tarjeta de adquisición y digitalización, con un equipo complementario que posee un microscopio metalográfico de reflexión y una cámara CCD a color. El proceso está compuesto de los siguientes pasos: elección de muestras, preparación de muestras, ensayo de dureza, adquisición de imágenes, segmentación de imágenes por el método de Canny y cálculo de parámetros característicos (Garzón J. *et al.* 2001a).

En las siguientes secciones de este capítulo sólo se tratará algunos métodos de procesamiento de imágenes en niveles de gris y en verdadero color.

## **1.2 FUNDAMENTOS DEL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES**

El tratamiento digital de imágenes es un conjunto de técnicas matemáticas (Pratt W. K., 1992) que sirve para procesar imágenes dentro de un sistema de cómputo. Algunos de sus procedimientos principales se conocen desde hace varios siglos, pero existen otros extremadamente modernos (Seul M. *et al.*, 2000). Es una ciencia que se encuentra en continua evolución, permitiendo que los algoritmos puedan ejecutarse con mayor velocidad, con imágenes de mejor resolución y que el número de cálculos por realizar en ellos sea cada vez más grande (Moreno V. *et al.*, 1997). Además, se cuenta con *software* que cada vez agrupan un mayor número de algoritmos nuevos que se van desarrollando al ritmo del crecimiento tecnológico.

El tratamiento digital de imágenes se concentra básicamente en las etapas de preprocesamiento y postprocesamiento (Aguilar N., 2004). La primera se encarga de mejorar las imágenes y entre los procedimientos más conocidos se encuentran el filtrado, las técnicas de realce, la restauración, la compresión, etc. Dependiendo de la situación a resolver esta etapa no necesariamente se aplica. El postprocesamiento,

última etapa, se encarga de resolver el problema principal. Esto significa que es la parte inteligente del algoritmo (Rodríguez, R., 1994), en donde se toma el mayor número de decisiones, basándose en diversos criterios empíricos. Entre los procedimientos más comunes se tiene la segmentación, la descripción, el reconocimiento de patrones y la interpretación. El preprocesamiento tiene la ventaja de que la mayoría de sus procedimientos se pueden aplicar en diversos tipos de imágenes, es decir, es más general. En cambio, en el postprocesamiento, casi siempre se deben diseñar algoritmos diferentes para cada tipo de imagen a procesar.

**1.2.1. Imagen Digital.** Las imágenes son funciones bidimensionales de la luz y la intensidad (González R. C. y Woods R. E., 1996), que se pueden representar por una función  $f(x,y)$ , donde el valor o amplitud de  $f$  en las coordenadas espaciales  $(x,y)$  da la intensidad de la imagen en ese punto. Puesto que la luz es una forma de energía,  $f(x,y)$  representa la radiancia de una escena y debe ser estrictamente mayor que cero y finita.

La radiancia de la escena se caracteriza por dos componentes: La iluminación representada por  $i(x,y)$  y la reflectancia representada por  $r(x,y)$ . Su producto define  $f(x,y)$ :

$$f(x,y) = i(x,y)r(x,y) \quad (1.1)$$

Donde:

$$0 < i(x,y) < \infty \quad (1.2)$$

$$0 < r(x,y) < 1 \quad (1.3)$$

A la intensidad de una imagen monocromática  $f$  en las coordenadas  $(x,y)$  se le denomina nivel de gris ( $l$ ) de la imagen en este punto. De las ecuaciones 1.1 a la 1.3, se puede tener que  $l$  está en el rango:

$$L_{\min} \leq l \leq L_{\max} \quad (1.4)$$

En teoría el único requisito sobre  $L_{\min}$  es que sea positiva y sobre  $L_{\max}$  que sea finita.

En la práctica

$$L_{\min} = i_{\min}(x, y)r_{\min}(x, y) \quad (1.5)$$

$$L_{\max} = i_{\max}(x, y)r_{\max}(x, y) \quad (1.6)$$

Así, el intervalo  $[L_{\min} \ L_{\max}]$  recibe el nombre de escala de grises y en la práctica  $L_{\min}$  es el negro y  $L_{\max}$  el blanco.

Una imagen continua  $f(x, y)$  se describe de forma aproximada por una serie de muestras igualmente espaciadas organizadas en forma de una matriz  $N \times M$  como es indicado en la ecuación 1.7, donde cada elemento de la matriz es una cantidad discreta.

$$f(x, y) = \begin{bmatrix} f(0,0) & f(0,1) & \cdots & f(0, M-1) \\ f(1,0) & f(1,1) & \cdots & f(1, M-1) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ f(N-1,0) & f(N-1,1) & \cdots & f(N-1, M-1) \end{bmatrix} \quad (1.7)$$

El término de la derecha de la ecuación 1.7 representa lo que comúnmente se denomina *imagen digital*. A cada elemento de la matriz se denomina *píxel*.

El muestreo y la cuantización en una imagen digital, se pueden expresar de la siguiente manera: Sea  $\mathbf{Z}$  y  $\mathbf{R}$  el conjunto de los números enteros y el conjunto de los números reales respectivamente. El proceso de muestreo puede ser visto como una partición del plano  $x$ - $y$  en cuadrículas, donde las coordenadas del centro de cada cuadrícula son un par de elementos del producto cartesiano  $\mathbf{Z}^2$ :

$$\mathbf{Z}^2 = \{(z_i, z_j) / z_i \in \mathbf{Z} \wedge z_j \in \mathbf{Z}\} \quad (1.8)$$

Por lo tanto,  $f(x,y)$  es una imagen digital sí  $(x,y)$  pertenece a  $\mathbf{Z}^2$  y  $f$  es una función que asigna un valor de nivel de gris  $l$ ,  $l \in \mathbf{R}$ , a cada par de coordenadas  $(x,y)$ . Esta asignación funcional es el proceso de cuantificación. Si  $l$  pertenece a  $\mathbf{Z}$ , la imagen digital  $f(x,y)$  es una función 2D cuyas coordenadas y valores de amplitud son números enteros.

En algunas discusiones y en particular cuando se pretende obtener una imagen rango (Russ J. C., 1995) es ventajoso usar una notación matricial (González R. C. y Woods R. E., 2002) tradicional para denotar la imagen digital y sus elementos:

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} a_{0,0} & a_{0,1} & \cdots & a_{0,M-1} \\ a_{1,0} & a_{1,1} & \cdots & a_{1,M-1} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ a_{N-1,0} & a_{N-1,1} & \cdots & a_{N-1,M-1} \end{bmatrix} \quad (1.9)$$

Claramente:

$$a_{i,j} = f(x=i, y=j) = f(i, j) \quad (1.10)$$

Así las ecuaciones (1.7) y (1.9) son matrices idénticas.

En este trabajo, para el procesamiento de las imágenes y la codificación en imágenes rango se tomarán como máximo 256 niveles de gris.

**1.2.2. Representación de Imágenes Digitales.** Las imágenes digitales se pueden representar de diversas maneras, entre ellas existen cuatro formas muy conocidas que se explican a continuación.

**Imagen Binaria.** Si  $A$  representa una imagen binaria,  $A$  es almacenada como una matriz lógica cuyos elementos  $a_{i,j}$  toman un valor de 0 ó 1. En este formato los *píxeles* de la imagen sólo pueden tomar valores en negro o blanco, es decir, que sólo se utiliza un *bit* de información por cada nivel de gris. Tradicionalmente en la segmentación de imágenes, se busca llegar a este tipo de formato, en el cual el negro representa el fondo y el blanco los objetos buscados. También se puede realizar metrología en las imágenes binarias, lo cual consiste en calcular distancias, perímetros y áreas en ellas. Todo esto no significa que no se pueda realizar segmentación y metrología en otros formatos, sino que en la imagen binaria se facilita la realización de operaciones de morfología matemática y la creación de máscaras para filtrados espaciales y frecuenciales.

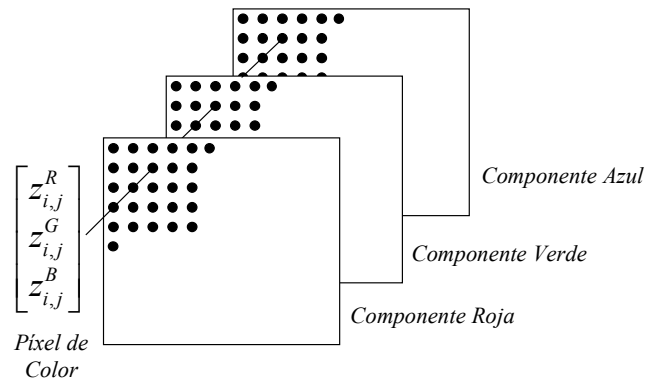
**Imagen en Niveles de Gris.** Si  $A$  representa una imagen en niveles de gris,  $A$  es almacenada como una matriz lógica cuyos elementos  $a_{i,j}$  toman valores desde 0 hasta 255. Como se mencionó anteriormente, se trabajará con imágenes con 256 niveles de gris, en los cuales, el 255 equivale a blanco y el 0 a negro. En esta representación se puede realizar segmentación de una forma más exacta, pero más compleja que la binaria debido a que se tienen más parámetros de entrada.

**Imagen RGB.** Esta forma de representación es la más realista y exacta, ya que proporciona información de tonos, texturas, colores, etc., pero requiere más memoria para guardar la información y más tiempo para realizar los cálculos en las imágenes. Una imagen de color RGB es un sistema de 3 matrices de píxeles de color, donde cada píxel de color es una tripleta correspondiente al rojo (R), verde (G) y azul (B) del espacio de color RGB. Si  $A$  representa una imagen RGB,  $A$  está formada por tres matrices lógicas  $A^1$ ,  $A^2$ ,  $A^3$ , correspondientes a los planos R, G, B, respectivamente. Un elemento de  $A$  en la posición  $(i,j)$  es un píxel de color (vector)  $\mathbf{c}$  de la forma:

$$\mathbf{c}(i, j) = \begin{bmatrix} z_{i,j}^1 \\ z_{i,j}^2 \\ z_{i,j}^3 \end{bmatrix} \equiv \begin{bmatrix} A^1(i, j) \\ A^2(i, j) \\ A^3(i, j) \end{bmatrix} \quad (1.11)$$

Donde los valores  $z_{i,j}^k$ , con  $k = 1, 2, 3$ , toman valores en el intervalo  $[0,1]$ .  $A^k(i, j)$ , con  $k = 1, 2, 3$ , toman valores en el intervalo  $[0,255]$ . La figura 1 muestra un esquema de una imagen RGB.

**Figura 1** Esquema de una imagen de color RGB.

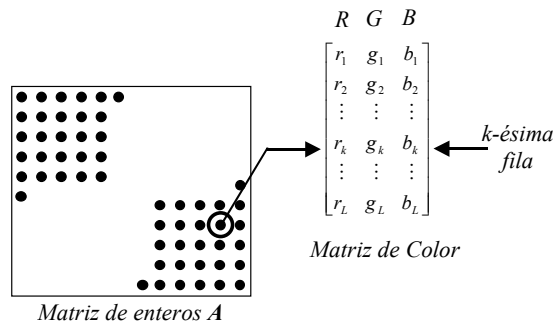


Para una imagen de tamaño  $N \times M$ , hay  $NM$  vectores  $\mathbf{c}(i, j)$ , para  $i = 0, 1, 2, \dots, N-1$  y para  $j = 0, 1, 2, \dots, M-1$ .

**Imagen Indexada.** Una imagen indexada es una imagen de dos componentes: una matriz de enteros y una matriz de colores de  $M$  filas y tres columnas con valores en el intervalo  $[0,1]$ . La longitud de  $M$  define el número de colores de la imagen. Cada fila de la matriz de colores especifica las componentes roja, verde y azul de un único color. Una imagen indexada usa un mapeo directo del valor de intensidad de píxel a valores de la matriz de colores. El color de cada píxel es determinado de la siguiente manera: Sí  $\mathbf{A}$  es una imagen indexada cada elemento  $a_{i,j}$  es un entero, supongamos que sea  $k$ . Este valor de  $k$  corresponde a la fila  $k$ -ésima de la matriz de colores. Así el

color del píxel  $(i,j)$  de  $\mathbf{A}$ , corresponde a la tripleta  $(r_k, g_k, b_k)$  (González R. C. y Woods R. E., 2004). Este procedimiento es ilustrado en la figura 2.

**Figura 2.** Elementos de una imagen indexada. El píxel encerrado en el círculo está en una posición arbitraria  $(i,j)$  y tiene un valor  $k$ , el cual corresponde a la  $k$ -ésima fila de la matriz de color.



**1.2.3. Fundamentos del Color.** En 1666 Isaac Newton descubrió que cuando una haz de luz solar pasa a través de un prisma de cristal, el haz de luz que sale no es blanco sino que está formado por un espectro continuo de colores que van desde el violeta al rojo. Podría decirse que el espectro de color puede dividirse en seis amplias regiones: violeta, azul, verde, amarillo, naranja y rojo (Hecht E., 2000). Sin embargo, cuando se ven todos los colores juntos ningún color del espectro termina bruscamente, más bien se mezcla suavemente con el siguiente.

La idea de color es relativamente simple, los colores que los seres humanos percibimos en un objeto vienen marcado por la naturaleza de la luz reflejada por el objeto. Un cuerpo que refleja luz relativamente equilibrada en todas las longitudes de onda del visible aparece blanco. Un objeto que refleja en un rango limitado del espectro visible muestra algún tipo de sombra de color.

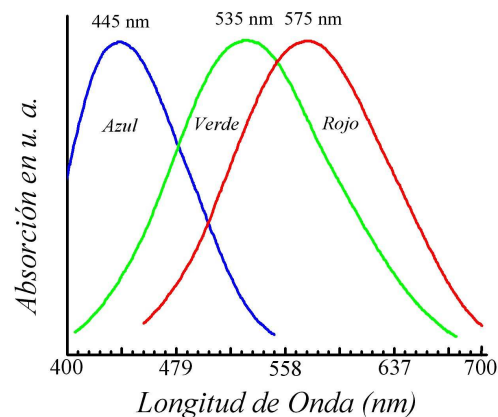
Para una luz con color, el espectro electromagnético de la luz visible va desde los 400 a los 700 nm. Se usan tres cantidades para describir la luz cromática: radiancia (concepto que se vio en la sección 1.2.1), luminancia y brillo (González, R. C. y Woods, R. E., 2002). La luminancia se mide en lúmenes y es una medida de la

cantidad de energía que el observador percibe. El brillo es un descriptor subjetivo que se puede medir difícilmente, lleva asociado el concepto de luz sin color y es el responsable básico de la sensación de color.

En la estructura del ojo humano, los conos son los sensores del ojo responsables de la visión del color. Experimentos detallados han establecido que de los 6 a 7 millones de conos en el ojo humano puede ser divididos en tres categorías de sensores principales correspondientes al rojo, verde y azul. Aproximadamente el 65% de todos los conos son sensibles a la luz roja, el 33 % son sensibles a la luz verde y únicamente el 2% son sensibles a la luz azul, pero son los más sensibles.

La figura 3 muestra las curvas experimentales promedio que detallan la absorción de luz por los conos del ojo correspondientes al rojo, verde y azul.

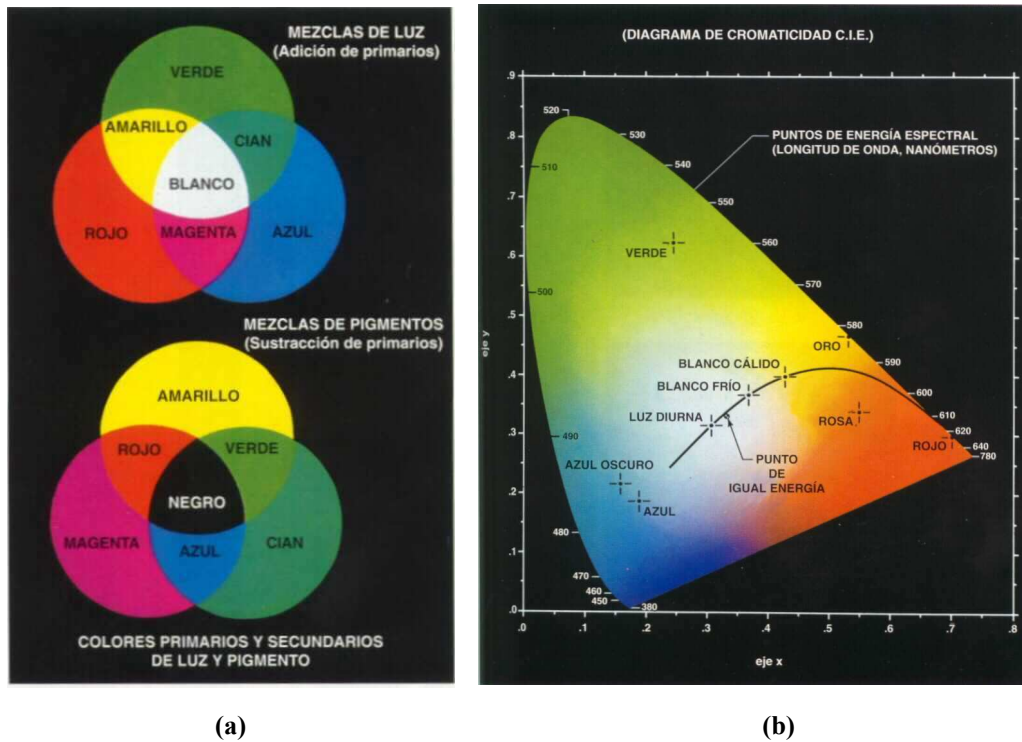
**Figura 3.** Absorción de la luz por los conos rojo, verde y azul en el ojo humano como función de la longitud de onda.



Debido a esto, las características de absorción del ojo humano son vistas como combinaciones variables de los llamados *colores primarios* rojo (R), verde (G) y azul (B). Para propósitos de estandarización, la Comisión Internacional de Iluminación CIE, designó en 1931 los siguientes valores de longitud de onda a los tres colores primarios: azul igual a 435.8 nm., verde igual a 546.1 nm., rojo igual a 700 nm. Estos

valores fueron establecidos antes de obtener las curvas de la figura 3, disponibles desde 1965. Es de tener en cuenta que tener tres longitudes de onda específicas para los tres colores, no significa que estas tres componentes trabajando solas puedan generar todos los colores. Esto no es cierto, salvo que permitamos que las longitudes de onda varíen. Los colores primarios su pueden sumar para obtener los colores secundarios de luz: magenta (rojo más azul), cián (verde más azul) y amarillo (rojo más verde). Mezclando los tres colores primarios o uno secundario con su color primario opuesto, en las proporciones adecuadas se obtiene luz blanca.

**Figura 4. (a)** Colores primarios de luz y de pigmento. **(b)** Diagrama de cromaticidad.



Es importante la distinción entre colores primarios de luz y colores primarios de pigmento. Para estos últimos, un color primario se define como algo que absorbe o sustrae un color primario de luz y refleja o transmite los otros dos. Así los colores primarios de pigmentos son magenta, cián y amarillo, y los colores secundarios son

rojo, verde y azul. Estos colores se muestran en la figura 4 (a). Combinando los tres colores de pigmentos de manera apropiada produce el negro.

Las características generalmente empleadas para distinguir un color de otro son brillo, tono y saturación. Como se mencionó anteriormente, el brillo está relacionado con la noción cromática de intensidad. El tono es un atributo asociado con la longitud de onda dominante en una mezcla de ondas luminosas. Así el tono representa un color dominante tal como lo percibe un observador. La saturación se refiere a la pureza relativa o cantidad de luz blanca mezclada con un tono. Los colores puros en el espectro están completamente saturados. Colores como el rosa (rojo y blanco) es menos saturado, siendo la saturación inversamente proporcional a la cantidad de luz blanca que se añade.

Tono y saturación considerados conjuntamente constituyen la cromaticidad y por lo tanto, un color se puede caracterizar por su brillo y su cromaticidad. Las cantidades de rojo, verde y azul necesarias para formar un color, se denominan los valores triestímulo. En el caso de una imagen RGB, como lo expresa la ecuación 1.11, los valores triestímulo se indican por  $A^k(i,j)$ , con  $k = 1, 2, 3$ . Así un color queda especificado por sus coeficientes tricromáticos  $z^k_{i,j}$ , con  $k = 1, 2, 3$ , definidos como:

$$z^k_{i,j} = \frac{A^k(i,j)}{\sum_{k=1}^3 A^k(i,j)}, \quad k = 1, 2, 3 \quad (1.12)$$

Es evidente que:

$$\sum_{k=1}^3 z^k_{i,j} = 1 \quad (1.13)$$

Para cada longitud de onda de luz del espectro visible, los valores triestímulo necesarios para producir el color correspondiente a dicha longitud de onda en un píxel

de color, se pueden obtener a partir del diagrama de cromaticidad, figura 4 (b), que muestra la composición cromática como una función del rojo (eje  $x$ ) y el verde (eje  $y$ ). A un valor  $z^1_{i,j}$  sobre el eje  $x$ , un valor  $z^2_{i,j}$  sobre el eje  $y$ , le corresponde un valor azul  $z^3_{i,j}$  dado por:

$$z^3_{i,j} = 1 - (z^1_{i,j} + z^2_{i,j}) \quad (1.14)$$

Las posiciones de los diferentes colores espectrales, del violeta al rojo, están indicadas alrededor del contorno en forma de lengua. Estos son los colores puros del espectro electromagnético. Los puntos que no están en el borde sino que están en el interior representan una mezcla de colores espectrales. El punto de igual energía, corresponde a fracciones iguales de los tres colores primarios, el cual representa el estándar CIE para la luz blanca. Los puntos situados en el mismo borde de la carta de cromaticidad, se dicen que están completamente saturados. A medida que un punto se aleja del borde y se aproxima al punto de igual energía, se añade cada vez más luz blanca al color y se hace menos saturado. La saturación es nula en el punto de igual energía.

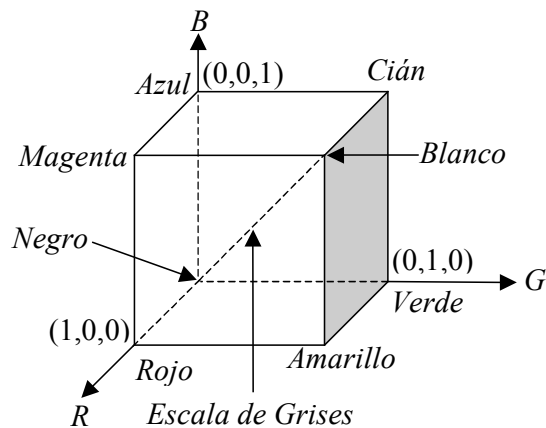
Un segmento que una dos cualesquiera puntos del diagrama, define todas las variaciones cromáticas que se puedan tener combinando estos dos colores. Una línea trazada desde el punto de igual energía hasta un punto cualquiera del borde de la carta, definirá toda la escala de sombras de un color particular. La extensión a tres colores de este procedimiento consiste en trazar líneas rectas que conectes los tres puntos cromáticos. El resultado es un triángulo y cualquier color del interior del mismo se puede generar por las diversas combinaciones de los tres colores iniciales.

**1.2.4. Modelos de Color.** El propósito de un modelo de color es facilitar la especificación de los colores en algún formato estándar. En esencia un modelo de color es una especificación de un modelo de coordenadas 3D y un subespacio dentro de ese sistema donde cada color se representa por un punto único (González, R. C. y

Woods, R. E., 2002). La mayoría de los modelos de color se orientan hacia el hardware como monitores, impresoras o aplicaciones de manipulación de color. El modelo orientado al hardware más común es el RGB (rojo-verde-azul) para monitores en color, el CMY (cián-magenta-amarillo) para impresoras en color y el YIQ (luminancia-fase-cuadratura) para la difusión de la TV en color. Entre los modelos más utilizados para el procesado de imágenes está el HSI (tono-saturación-intensidad) y el HSV (tono-saturación-valor). Los modelos de color utilizados con más frecuencia para el procesado de imágenes son los RGB, YIQ y HSI. En las siguientes subsecciones se presentarán las características más importantes de ellos.

**1.2.4.1. Modelo de color RGB.** En el modelo RGB cada color aparece en sus componentes primarias espectrales rojo, verde y azul. El modelo está basado en un sistema de coordenadas cartesianas. El subespacio de color de interés es el cubo mostrado en la figura 5 (González, R. C. y Woods, R. E., 2002; Garzón J. *et al.* 2004a). En el gráfico se puede observar las combinaciones apropiadas para los colores primarios, secundarios, escala de grises, el color blanco y color negro.

**Figura 5.** Esquema del cubo de color RGB.



Como se explicó en la sección 1.2.2, una imagen RGB consiste de tres planos de imagen independientes, uno por cada color primario. Así el empleo del modelo RGB

para el procesamiento de imágenes adquiere sentido cuando las propias imágenes están expresadas en forma natural en términos de los tres planos de color. De forma alternativa, la mayoría de cámaras a color empleadas para la adquisición de imágenes digitales utilizan el formato RGB, lo que por sí solo hace de este un modelo importante para el procesamiento de imágenes.

**1.2.4.2. Modelo de color CMY.** Como se indicó anteriormente, cián, magenta y amarillo son los colores secundarios de luz o bien los colores primarios de pigmento. La mayoría de dispositivos que depositan pigmentos coloreados sobre papel, tales como impresoras y fotocopiadoras necesitan una entrada CMY o una conversión interna de RGB a CMY. Esta conversión se realiza mediante la siguiente operación:

$$\begin{bmatrix} C \\ M \\ Y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} \quad (1.15)$$

**1.2.4.3. Modelo de color YIQ.** El modelo YIQ también se conoce como NTSC (Molina, R., 1998) y se utiliza en las emisiones comerciales de televisión a color para los Estados Unidos, debido a que tiene la cualidad de separar la información de niveles de gris (Y) con la del color (I y Q). Esto fue algo que se necesitó cuando ocurrió la transición de la televisión en blanco y negro a color, ya que se requería que los antiguos televisores siguieran funcionando con la nueva tecnología. Básicamente, el YIQ es una recodificación del RGB, utilizada por su eficacia en la transmisión y para mantener la compatibilidad con los estándares de televisión en blanco y negro. La componente Y (luminancia) proporciona toda la información necesaria para mostrar una imagen en niveles de gris, es decir que dicha componente corresponde a la imagen en niveles de gris de la imagen a color. Las componentes I (fase) y Q (cuadratura) se conocen como crominancia e identifican todo lo referente al color. La conversión de RGB a YIQ se define como:

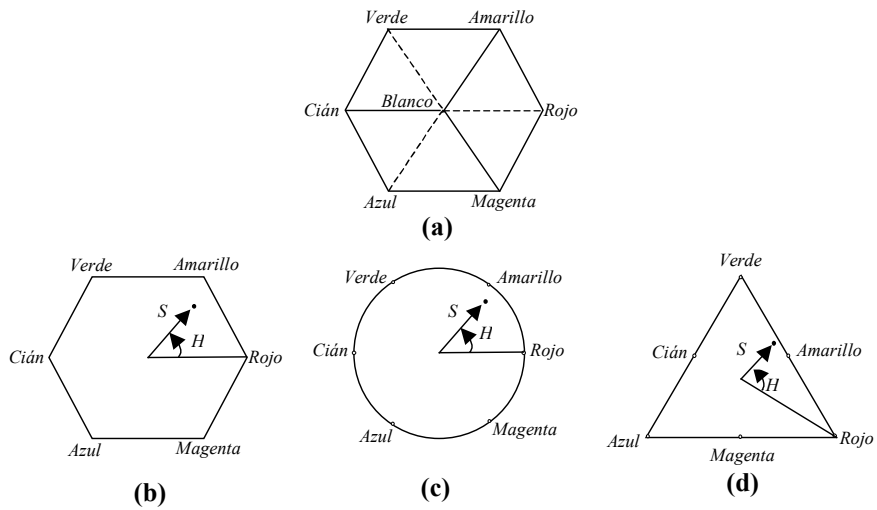
$$\begin{bmatrix} Y \\ I \\ Q \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.299 & 0.587 & 0.114 \\ 0.596 & -0.275 & -0.321 \\ 0.212 & -0.523 & 0.311 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \end{bmatrix} \quad (1.16)$$

La ventaja principal del modelo YIQ desde el tratamiento digital de imágenes es que la luminancia (Y) y la información del color (I y Q) están desacopladas, esto permite aplicar al plano Y los métodos desarrollados para niveles de gris, dejando los demás planos iguales. También se puede realizar segmentación en color, aplicando los métodos sólo a los planos de la crominancia.

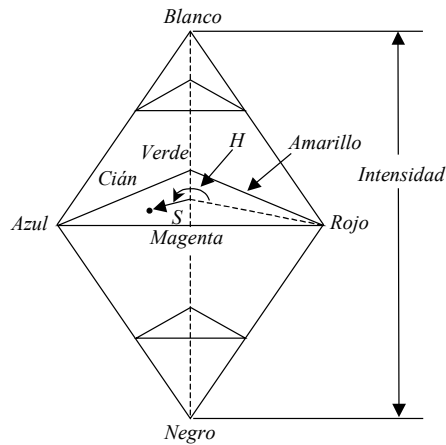
**1.2.4.4. Modelo de color HSI.** El sistema visual humano no es capaz de interpretar adecuadamente el modelo RGB, ya que el ojo humano reconoce tonos, intensidades y saturaciones. Por ello se ha creado este modelo de color, que tiene tres planos llamados H (tono), S (saturación) e I (Intensidad) (González, R. C. y Woods, R. E, 2002). El tono es un atributo que describe un color puro, por ejemplo el rojo, verde, azul, naranja, amarillo, etc. La saturación indica que tanto está mezclado el tono con el color blanco, es decir, que tanta pureza existe en el color. Por último, la intensidad. En este modelo la componente de intensidad se encuentra totalmente desacoplada de las componentes de color, lo que permite realizar operaciones definidas para imágenes en niveles de gris en la componente de intensidad. Las componentes del modelo HSI se determinan a partir del cubo unidad del modelo RGB. Sí la escala de grises es colocada de manera perpendicular al plano de la hoja, dejando el blanco en la parte superior, su vista sería un hexágono como el que muestra la figura 6(a). En este plano se ve que los colores primarios están separados  $120^\circ$ , los colores secundarios están separados  $60^\circ$  desde los primarios, lo cual significa que el ángulo entre los secundarios también es  $120^\circ$ . La figura 6(b) muestra la misma forma hexagonal y un punto de color arbitrario. El tono del punto está determinado por un ángulo desde un punto de referencia. Usualmente un ángulo de  $0^\circ$  desde el eje rojo designa un tono de 0 y el tono aumenta en el sentido contrario a las manecillas del reloj desde ese eje. La saturación (distancia desde el eje vertical) es la longitud del

vector desde el origen hasta el punto. Se puede observar que el origen está definido por la intersección del plano de color con el eje de intensidad vertical.

**Figura 6.** Tono y saturación en el modelo HSI. El punto es un punto de color arbitrario. El ángulo desde el eje rojo da el tono y la longitud del vector es la saturación. La intensidad de todos los colores en cualquiera de esos planos es dada por la posición del plano sobre el eje de intensidad vertical.



**Figura 7.** Modelo de color HSI basado sobre triángulos.



Es usual ver los planos del espacio HSI definidos en términos de hexágonos, triángulos o aún círculos, como la muestra la figura 6(c) y 6(d). La figura 7, muestra el modelo HSI basado sobre triángulos de color.

Sí  $\mathbf{A}$  es una imagen RGB su conversión al modelo HSI para cada píxel está dada por:

$$H = \begin{cases} \theta & \text{sí } A^3 \leq A^2 \\ 360 - \theta & \text{sí } A^3 > A^2 \end{cases} \quad (1.17)$$

Con:

$$\theta = \cos^{-1} \left\{ \frac{\frac{1}{2}[(A^1 - A^2) + (A^1 - A^3)]}{\left[ (A^1 - A^2)^2 + (A^1 - A^3)(A^2 - A^3) \right]^{1/2}} \right\}$$

$$S = 1 - \frac{3}{(A^1 + A^2 + A^3)} [\min(A^1, A^2, A^3)] \quad (1.18)$$

$$I = \frac{1}{3}(A^1 + A^2 + A^3) \quad (1.19)$$

Donde se asume que los valores  $A^1$ ,  $A^2$  y  $A^3$  se han normalizado y el ángulo  $\theta$  es medido con respecto al eje rojo en el espacio HSI (González, R. C. y Woods, R. E, 2002).

**1.2.5. Procesamiento de Imágenes en Color.** El procesamiento de imágenes en color está dividido en dos grandes áreas: procesamiento en verdadero color y procesamiento en pseudocolor o falso color. En la primera área, las imágenes en cuestión son adquiridas con cámaras a color o escáner a color. Esta área está dividida en dos categorías. En la primera categoría, se procesa cada componente de imagen de manera individual y luego se forma una imagen de color procesada compuesta desde las componentes procesadas individualmente. En la segunda categoría, se trabaja directamente sobre los píxeles de color. Debido a que las imágenes en verdadero color tienen tres componentes, los píxeles de color son realmente vectores, como lo establece la ecuación 1.11, En la segunda área, el problema consiste en asignarle un

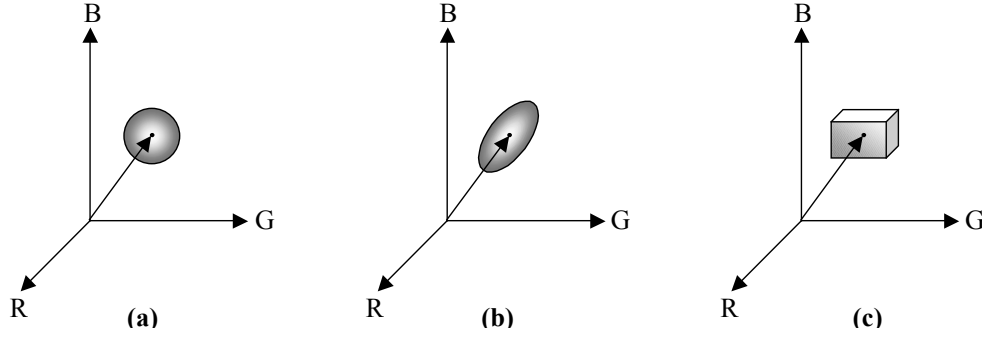
color a una intensidad monocroma particular o rango de intensidades. El término pseudocolor o falso color es usado para diferenciar los procesos de asignación de colores a imágenes monocromas desde los procesos asociados con imágenes en verdadero color. El principal uso del pseudocolor es para la visualización humana e interpretación de los eventos en escala de gris en una imagen o secuencia de imágenes, basándose en el hecho de que los humanos podemos discernir cientos de matices de color e intensidades, comparados únicamente con dos docenas de matices de gris.

Es evidente que algunos de los métodos en escala de grises sean aplicables de manera directa al procesamiento de imágenes en color (Millán M. S. *et al.*, 2004). Otros métodos requerirán de alguna reformulación para que sean consistentes con las propiedades de los espacios de color, teniendo en cuenta que el procesamiento de las componentes de color de manera individual no siempre equivale al procesamiento directo sobre un espacio vectorial de color (Valencia E. y Millán M. S., 2004; Corbalán M. *et al.*, 2002).

**1.2.5.1. Segmentación en el Espacio Vectorial RGB.** El procedimiento de segmentación es un área que da buenos resultados usando vectores de color RGB. El objetivo es segmentar objetos de un rango de color específico en una imagen RGB. Un procedimiento posible dada una muestra de puntos de color representativos de los colores de interés es estimar el color “promedio” que se desea segmentar. Este procedimiento tiene como objetivo de segmentación el de clasificar cada píxel de color en una imagen dada con respecto a un rango específico (González, R. C. y Woods, R. E, 2002). Para realizar esta comparación se requiere de una medida de similitud. Una de las más simples es la distancia Euclídea, si  $\mathbf{a}$  es el vector de color promedio y  $\mathbf{z}$  denota un punto arbitrario del espacio RGB, se dice que  $\mathbf{z}$  es similar a  $\mathbf{a}$  si la distancia entre ellos es menor que un umbral determinado  $D_0$ . La distancia entre  $\mathbf{z}$  y  $\mathbf{a}$  es dada por:

$$D(\mathbf{z}, \mathbf{a}) = \|\mathbf{z} - \mathbf{a}\| = \left[ (\mathbf{z} - \mathbf{a})^T (\mathbf{z} - \mathbf{a}) \right]^{1/2} \quad (1.20)$$

**Figura 8.** Tres aproximaciones distintas como criterio de color especificado: (a) Esfera. (b) Hiperboloide. (c) Cubo.



La condición  $D(\mathbf{z}, \mathbf{a}) \leq D_0$  define una esfera sólida en el espacio RGB de radio  $D_0$ . Los puntos contenidos dentro o sobre la superficie de la esfera, figura 8(a), satisfacen el criterio de color especificado mientras que los puntos fuera de la esfera no la satisfacen. Codificando estos dos conjuntos de puntos en una imagen con cero y unos, produce una imagen segmentada binaria. Este procedimiento puede ser generalizado involucrando en la condición de umbralización la matriz de covarianza, para lo cual la superficie no sería una esfera sino un elipsoide sólido, figura 8(b). Ambos procesos son computacionalmente robustos para imágenes de tamaño práctico, aún si la raíz cuadrada no se calcula. Una manera posible de superar esta falencia es usar como superficie una caja centrada en  $\mathbf{a}$ , figura 8(c), donde sus dimensiones a lo largo de cada eje de color se escogen de acuerdo a un factor proporcional (factor de t-student  $t_s$ ) a la desviación estándar de las muestras de cada eje. Entonces la dimensiones de la caja sobre cada eje rojo se extienden desde  $(a_R - t_s \sigma_R)$  a  $(a_R + t_s \sigma_R)$ , donde  $a_R$  denota la componente roja del vector promedio  $\mathbf{a}$  y  $\sigma_R$  denota la desviación estándar de las componentes rojas de los puntos de la muestra. Análogamente se obtienen las otras dos dimensiones. La segmentación se logra con el mismo criterio utilizado con la esfera y el elipsoide. La ventaja con respecto a los otros métodos es que el cálculo

computacional de las desviaciones estándar se realiza una vez usando los datos de color de la muestra.

La segmentación en el espacio RGB que se propone en esta sección se basa en la construcción de máscaras espaciales creadas a partir de las muestras de color de interés. A continuación se describirá el método.

**Segmentación por Máscaras Espaciales RGB.** Este método consta de varios pasos (Garzón J. *et al.*, 2004a). Un primer procedimiento para la segmentación es separar como nueva imagen la región de interés (subespacio de la imagen original), la cual es también una imagen RGB. A esta nueva imagen la denominaremos **I** y a la imagen original la llamaremos **A**. Las imágenes **A** e **I**, son descompuestas en sus tres planos de imagen RGB, que denotaremos  $A^k$  e  $I^k$  respectivamente, con  $k = 1, 2, 3$ . El segundo paso consiste en crear las máscaras  $M^k$  con  $k = 1, 2, 3$ , de la misma dimensionalidad de  $A^k$ , bajo la siguiente condición:

$$M^k(i, j) = \begin{cases} 1 & \text{sí } A^k(i, j) \in I^k \\ 0 & \text{sí } A^k(i, j) \notin I^k \end{cases}, \quad k = 1, 2, 3 \quad (1.21)$$

Para el tercer paso se crean dos posibilidades. Una primera posibilidad es crear la máscara  $M$  como resultado de la multiplicación entrada por entrada, de las tres máscaras  $M^k$ :

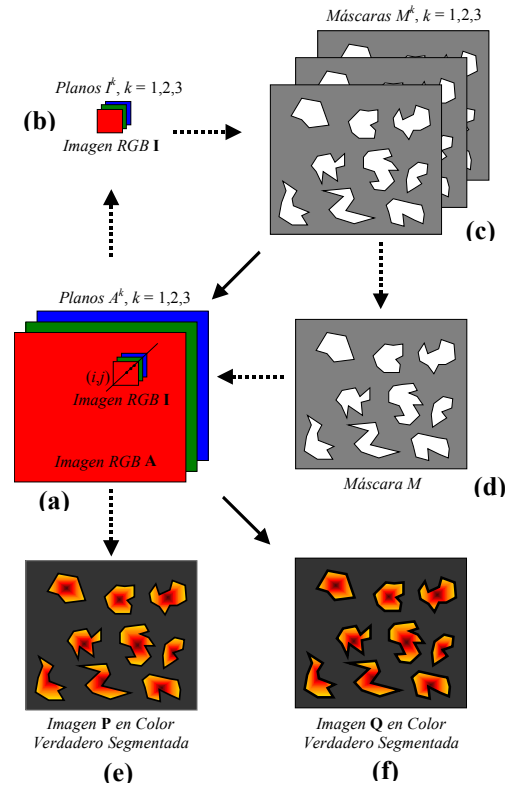
$$M(i, j) = \prod_{k=1}^3 M^k(i, j) \quad (1.22)$$

Con la máscara  $M$  se haría de nuevo la multiplicación directa, entrada por entrada, con cada uno de los planos  $A^k$ , lo que daría origen a que los tres planos de la imagen **A** estén segmentados:

$$P^k(i, j) = A^k(i, j)M(i, j), \quad k = 1, 2, 3 \quad (1.23)$$

La combinación de ellos da origen a una imagen **P** en color verdadero segmentada. Es de notar que este procedimiento segmentará únicamente las regiones que tienen exactamente la misma combinación lineal de color RGB del subespacio **I** correspondiente a la región de interés.

**Figura 9.** (a) Imagen original **A**. (b) Región imagen de interés **I**. (c) Máscaras espaciales  $M^k$  (d) Máscara  $M(i, j)$ . (e) Imagen **P** en color verdadero segmenta (f) Imagen **Q** en color verdadero segmenta.



La segunda posibilidad consiste en segmentar cada plano de la imagen **A**, multiplicando las máscaras  $M^k$  con los respectivos planos imagen  $A^k$ :

$$Q^k(i, j) = A^k(i, j)M^k(i, j), \quad k = 1, 2, 3 \quad (1.24)$$

La combinación de estas tres matrices, da como resultado una imagen **Q** en color verdadero segmentada, pero con la posibilidad de tener combinaciones de color proveniente del subespacio **I** correspondiente a la región de interés.

La figura 9 muestra un esquema representativo del método y en la sección de resultados experimentales se presenta la aplicación de este método a la segmentación de imágenes metalográficas a color en microscopía convencional.

**1.2.6. Representación y Descripción de Imágenes Segmentadas.** Después de segmentar una imagen en regiones, el conjunto de píxeles segmentados se representan y se describen en forma adecuada para un posterior procesado. Básicamente el representar una región implica dos posibilidades:

- Realizar la representación en función de sus características internas, es decir en los píxeles que comprenden la región.
- Representar una región en función de sus características externas o contornos, es decir de su frontera.

La representación basada en la región se utiliza más cuando se buscan propiedades como color y textura. La representación basada en fronteras se usa más cuando el énfasis es en la forma. En cualquier caso, los rasgos que hemos de seleccionar como descriptores deben ser insensibles a cambios como variaciones de tamaño, traslaciones, rotaciones, etc. Una de las herramientas más útiles en la representación y descripción de imágenes segmentadas son las operaciones de morfología matemática, las cuales serán presentadas en la siguiente subsección.

**1.2.7. Operaciones de Morfología Matemática.** Las operaciones de morfología matemática permiten extraer componentes de una imagen que son útiles para la representación y descripción de la forma de una región, tales como contornos, esqueletos. También son de interés para el preprocesado y postprocesado, tales como

filtrado morfológico, la reducción y el recortado. Adicionalmente son de interés para la descripción cualitativa y cuantitativa de los objetos, tales como área, perímetro, etc.

El lenguaje de la morfología matemática es la teoría de conjuntos y los conjuntos en la morfología matemática representan las formas de los objetos (Maragos, P. A. y Schafer R. W., 1986). Muchas de las operaciones de morfología matemática que se presentan a continuación se pueden formular en imágenes en niveles de gris (Molina R., 1998), pero aquí nos centraremos en imágenes binarias, que para efectos de la metrología óptica en esta sección, son las más apropiadas. Es importante presentar las operaciones morfológicas tratando con algún detalle dos de ellas: la dilatación y la erosión, que son la base de la mayoría de las operaciones morfológicas.

**Operaciones básicas sobre conjuntos.** Sean  $A$  y  $B$  son conjuntos en un  $n$ -espacio  $Z^n$  con elementos  $a = (a_1, \dots, a_n)$  y  $b = (b_1, \dots, b_n)$  respectivamente, siendo ambas  $n$ -uplas. La traslación de  $A$  por  $x \in Z^n$  representada por  $(A)_x$ , se define como:

$$(A)_x = \{c / c = a + x, \text{ para algún } a \in A\} \quad (1.25)$$

La reflexión de  $B$ , representada por  $\hat{B}$ , se define como:

$$\hat{B} = \{x / x = -b, \text{ para algún } b \in B\} \quad (1.26)$$

El complemento del conjunto  $A$  es:

$$A^c = \{x / x \notin A\} \quad (1.27)$$

Finalmente, la diferencia entre  $A$  y  $B$ , representada por  $A - B$ , se define como:

$$A - B = \{x / x \in A, \wedge, x \notin B\} \quad (1.28)$$

**Dilatación Binaria.** La dilatación es la transformación morfológica que combina dos vectores usando la suma. Si  $A$  y  $B$  son conjuntos de  $Z^2$  con elementos  $a = (a_1, a_2)$  y  $b = (b_1, b_2)$  respectivamente, entonces la dilatación de  $A$  por  $B$  es el conjunto de todos los posibles vectores que son suma de pares de elementos, uno de  $A$  y el otro de  $B$ . Más formalmente la dilatación de  $A$  por  $B$ , representada por  $A \oplus B$ , se define mediante:

$$A \oplus B = \{c \in Z^2 / c = a + b, \text{ para algún } a \in A, \wedge, b \in B\} \quad (1.29)$$

Otra definición igualmente equivalente es:

$$A \oplus B = \{x / (\hat{B})_x \cap A \neq \phi\} \quad (1.30)$$

Donde  $\phi$  representa al conjunto vacío. En la práctica los conjuntos  $A$  y  $B$  no son simétricos. El primer elemento de la dilatación,  $A$ , está asociado a la imagen que se está procesando y el segundo recibe el nombre de elemento estructural, el cual es la forma que actúa sobre  $A$  para producir  $A \oplus B$

**Erosión Binaria.** Es la transformación morfológica que combina dos conjuntos utilizando el concepto de inclusión. Si  $A$  y  $B$  son conjuntos de  $Z^2$ , entonces la erosión de  $A$  por  $B$  es el conjunto de todos los elementos  $x$  para los que  $x + b \in A$ , para todo  $b \in B$ . La erosión de  $A$  por  $B$  se nota:

$$A \ominus B = \{x \in Z^2 / x + b \in A \text{ para todo } b \in B\} \quad (1.31)$$

La utilidad de la erosión puede apreciarse mejor cuando ésta se expresa de forma diferente. La erosión de una imagen,  $A$ , por un elemento estructural,  $B$ , es el conjunto de todos los elementos  $x \in Z^2$  para los cuales  $B$  trasladado por  $x$  está contenido en  $A$ .

Otra manera de definir la erosión, está dada por:

$$A \ominus B = \{x \in Z^2 / (B)_x \subseteq A\} \quad (1.32)$$

Mientras que la dilatación puede representarse como la unión de los traslados, la erosión puede representarse como la intersección de los traslados negativos. La erosión se concibe usualmente como la reducción de la imagen original. En términos de teoría de conjuntos, el conjunto erosionado se suele pensar que siempre está contenido en el original.

**Apertura y Cierre.** Por los conceptos antes vistos se puede ver que la dilatación y la erosión están muy relacionadas con la forma. La dilatación expande una imagen y la erosión la contrae. La dilatación y la erosión usualmente se emplean por pares, bien la dilatación seguida por la erosión o al revés. En cualquier caso, la aplicación sucesiva de dilataciones y erosiones elimina los detalles menores del objeto sin distorsionar su forma global. Las dos formas más importantes de operaciones morfológicas, basadas en la dilatación y erosión son las operaciones de apertura y cierre. La apertura generalmente suaviza el contorno de una imagen, rompe istmos estrechos y elimina protuberancias delgadas. El cierre tiende a suavizar secciones de contornos, pero en oposición a la apertura, generalmente fusiona separaciones estrechas y entrantes delgados y profundos, elimina pequeños huecos y rellena agujeros del contorno.

La apertura de un conjunto  $A$  por un elemento de estructura  $B$ , representada por  $A \circ B$  se define como:

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B \quad (1.33)$$

Que dice que la apertura de  $A$  por  $B$  es simplemente la erosión de  $A$  por  $B$ , seguida por una dilatación del resultado por  $B$ .

El cierre del conjunto  $A$  por un elemento de estructura  $B$ , representado por  $A \bullet B$ , se define como:

$$A \bullet B = (A \oplus B) \ominus B \quad (1.34)$$

Que dice que el cierre de  $A$  por  $B$  es simplemente la dilatación de  $A$  por  $B$ , seguida por una erosión del resultado por  $B$ .

Otras operaciones morfológicas que se basan en erosiones y dilataciones simples son utilizadas para extraer fronteras, componentes conexas, envolventes conexas y el esqueleto de una región. También es posible elaborar varios métodos para rellenar, aumentar, disminuir y podar regiones, veamos algunas:

**Extracción de fronteras.** La frontera de un conjunto  $A$ , que se nota  $\beta(A)$ , se puede obtener primero erosionando  $A$  por  $B$ , y realizando posteriormente la diferencia entre  $A$  y su erosión. Es decir:

$$\beta(A) = A - (A \ominus B) \quad (1.35)$$

**Relleno de regiones.** El relleno de regiones se basa en un conjunto de dilataciones, complementaciones e intersecciones. Si  $A$  representa un conjunto que contiene un subconjunto cuyos elementos son puntos 8-conexos del contorno de una región y los puntos no frontera que determinan el complementario de  $A$ , son cero, el relleno de este contorno se empieza de la siguiente manera: Se toma un punto  $p$  dentro de contorno con el objetivo es rellenar la región entera con unos. Este punto  $p$  tiene el valor de uno al comenzar el procedimiento. Luego se aplica de manera iterativamente la siguiente relación:

$$X_k = (X_{k-1} \oplus B) \cap A^c \quad k = 1, 2, 3, \dots \quad (1.36)$$

Donde  $X_0 = p$  y  $B$  es el elemento estructurante. El algoritmo termina en la iteración  $k$  si  $X_{k-1} = X_k$ . La unión de los  $X_k$  y  $A$  es la frontera junto con la región rellena.

Es importante notar que el proceso anterior, rellenaría la región entera si no se hace intersección con  $A^c$ , sin embargo esta intersección limita el proceso a la región de interés (este tipo de dilatación recibe a veces el nombre de *dilatación condicionada*). Es obvio que el proceso se puede extender a cualquier número de subconjuntos siempre que conozcamos puntos dentro de ellos.

**Extracción de componentes conexas.** Supongamos que  $Y$  representa una componente conexa contenida en un conjunto  $A$  y supongamos que conocemos un punto  $p$  que pertenece a dicha región. Entonces, la siguiente iteración puede utilizarse para extraer  $Y$ .

$$X_k = (X_{k-1} \oplus B) \cap A \quad k = 1, 2, \dots \quad (1.37)$$

Donde  $X_0 = p$  y  $B$  es un elemento estructurante apropiado, la condición de convergencia se establece como  $X_{k-1} = X_k$  con  $Y = X_k$ .

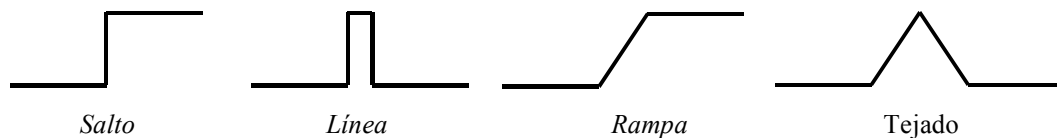
**1.2.8. Segmentación basada en Fronteras.** Los primeros pasos de la segmentación tratan en la identificación de rasgos de la imagen que son relevantes para estimar la estructura y las propiedades de los objetos en la escena (Castleman K. R., 1996). Los bordes corresponden a los cambios locales significativos en una imagen y son, probablemente los rasgos más importantes para el análisis de la misma. Para una definición simplificada de un borde se podría decir que es una discontinuidad de algún tipo en la función de intensidad de la imagen. Pero, existen muchos tipos de bordes, los cuales están asociados a la textura de los objetos, variación de la reflectancia de los objetos, sombras. Teniendo en cuenta estos efectos, un borde se

definiría de manera más apropiada como un cambio local significativo en la intensidad de la imagen o su derivada.

Las discontinuidades pueden ser de dos tipos:

- Discontinuidad de salto: Aquí la intensidad cambia abruptamente de un valor en un lado de la discontinuidad a otro valor diferente en el lado opuesto.
- Discontinuidad de línea: Las intensidades cambian abruptamente volviendo en poco espacio a su valor inicial. Pero debido al proceso de digitalización, lo que se observa son rampas y tejados como se observa en la figura 10.

**Figura 10.** Perfiles de bordes. Los dos primeros corresponden a modelos idealizados y los dos últimos son los observados.

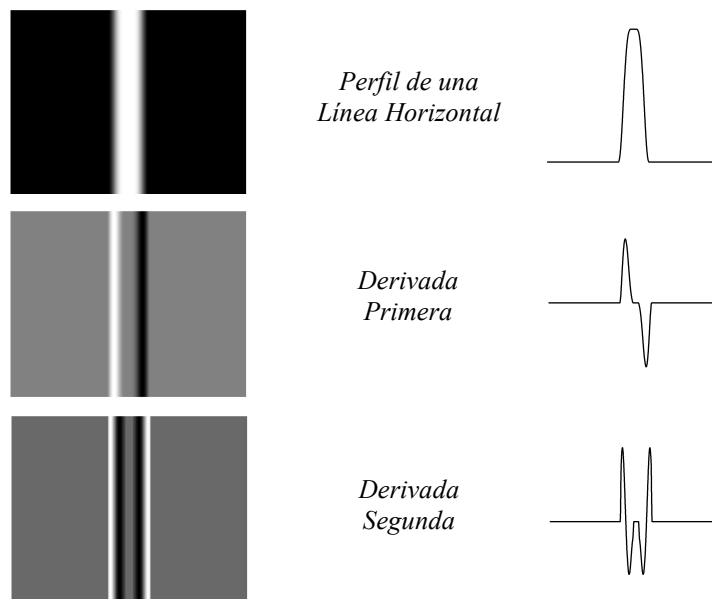


En lo sucesivo de este trabajo se supone que las regiones en cuestión son lo suficientemente homogéneas para que la transición entre dos de ellas se pueda determinar sobre la base de las discontinuidades del nivel de gris solamente. Cuando esta suposición no es válida, se deben tener en cuenta otras técnicas de segmentación basadas en umbralización combinada con efectos de iluminación (Aguilar N, 2004; Aguilar N, Garzón J. Salazar A. y Pérez F., 2004; Millán *et al.*, 2001; Abril H., 2000) y segmentación orientada a regiones (Molina R., 1998).

Básicamente la idea que subyace en la mayor parte de la técnicas de detección de bordes es la aplicación sobre la imagen de un operador local de derivación de orden uno o dos. La figura 11 muestra una configuración de bordes: banda clara sobre fondo oscuro y el perfil del nivel de gris a lo largo de una línea de exploración horizontal de la imagen y la primera y segunda derivada del perfil. Por ejemplo, los cambios

locales significativos están asociados con un pico local en la primera derivada, adicionalmente el signo de la segunda derivada se puede utilizar para determinar si un píxel del borde que está situado en un lugar oscuro o claro del mismo. Se observa que la derivada segunda tiene un paso por cero, lo cual puede servir para localizar borde de una imagen.

**Figura 11.** Detección de bordes por operadores de derivación. La banda clara sobre el fondo oscuro es la imagen original y a su derecha se encuentra el perfil de una línea horizontal. Las siguientes son sus derivadas con sus respectivos perfiles.



Este argumento para el perfil unidimensional se puede aplicar a un borde de cualquier orientación. La primera derivada en un punto de la imagen se obtiene utilizando el módulo del gradiente en ese punto y la derivada segunda se obtiene de forma similar utilizando el laplaciano.

**1.2.8.1. Operadores Gradiente.** Basándose en el hecho de que la detección de bordes esencialmente es una operación de detección de cambios de intensidad locales significativos (Aranda J. *et al*, 1993), se puede ver que en una dimensión los cambios, los de salto, están asociados con un pico local de la primera derivada. En un caso

bidimensional el objetivo es tener un operador isotrópico que determine la “fuerza” de un borde independientemente de su dirección en la imagen (Molina R., 1998).

Consideremos la imagen de intensidades  $f(x,y)$ , con coordenadas  $x$  et  $y$ . Supongamos que la rotamos. Consideremos un punto  $(x,y)$  y su rotación  $\theta$ , que nos produce  $(x',y')$ , según:

$$x' = x \cos(\theta) + y \text{sen}(\theta) \quad (1.38)$$

$$y' = -x \text{sen}(\theta) + y \cos(\theta) \quad (1.39)$$

Las derivadas de los dos sistemas se relacionan mediante:

$$\frac{\partial f}{\partial x'} = \frac{\partial f}{\partial x} \cos(\theta) + \frac{\partial f}{\partial y} \text{sen}(\theta) \quad (1.40)$$

$$\frac{\partial f}{\partial y'} = -\frac{\partial f}{\partial x} \text{sen}(\theta) + \frac{\partial f}{\partial y} \cos(\theta) \quad (1.41)$$

Como se está interesado en operadores isotrópicos, entonces un análisis matemático simple prueba que:

$$\left(\frac{\partial f}{\partial x'}\right)^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y'}\right)^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y}\right)^2 \quad (1.42)$$

Para encontrar la dirección en la que se produce el cambio, es decir la dirección del borde, se considera la ecuación de la derivada parcial en la dirección  $x'$ . Podemos entonces obtener el ángulo  $\theta$  para la cual esta derivada parcial es máxima. Para ello se resuelve:

$$\frac{d}{d\theta} \left( \frac{\partial f}{\partial x'} \right) = 0 \quad (1.43)$$

De donde:

$$\theta = \arctg \left( \frac{\partial f}{\partial y} / \frac{\partial f}{\partial x} \right) \quad (1.44)$$

Sustituyendo este  $\theta$  en la fórmula de derivada parcial tendremos que el máximo cambio vale:

$$M = \sqrt{\left( \frac{\partial f}{\partial x} \right)^2 + \left( \frac{\partial f}{\partial y} \right)^2} \quad (1.45)$$

Las operaciones anteriores tienen operaciones de raíces cuadradas los cuales pueden ser computacionalmente lentos, por tanto se deben realizar aproximaciones de estas funciones que son computacionalmente menos costosas.

Los algoritmos para la detección de bordes tienen tres pasos:

- **Filtrado:** Puesto que el cálculo del gradiente basado en los valores de intensidad de un número finito de puntos es muy susceptible al ruido, normalmente se filtra la imagen inicialmente para mejorar el rendimiento del detector con respecto al ruido. Este proceso debe aplicarse con cuidado puesto que el emborronamiento oculta los bordes.
- **Realce:** Este paso es esencial para determinar cambios en la intensidad de los vecinos de un punto. El proceso es básicamente el cálculo del gradiente.
- **Detección:** Muchos puntos en una imagen tienen un gradiente no nulo. Obviamente no todos ellos son bordes para todas las aplicaciones. Es

necesario determinar que puntos son bordes. Un criterio ampliamente usado es la umbralización (Rioja, L. T. y Abelló, I. A., 1998).

**1.2.9. Detectores de Bordes Gaussianos.** La idea esencial en la detección de bordes de salto, es encontrar punto en la imagen que tengan máximo gradiente. Muchas de las investigaciones en la detección de bordes está dedicada a la aproximación numérica del gradiente en imágenes. Los saltos en la imágenes reales no son abruptos ya que estos son suavizados por los filtros paso inherentes a los procesos de captación de imágenes, análogamente las imágenes son distorsionadas por el ruido. Por tanto cualquier proceso de detección de bordes basado en fronteras debe por una parte suprimir el ruido y por otra localizar los bordes tan precisos como sea posible. Es así que cuando se selecciona el filtro de alisamiento se deben cumplir dos criterios: debe ser suave y de banda limitada para reducir el número de frecuencias en las que puede producirse el cambio y segundo que la respuesta se casi puntual. Aunque estos dos criterios entran en conflicto, la distribución que optimiza simultáneamente ambos es la distribución guassiana.

El filtro de alisamiento gaussiano 2D,  $G(x,y)$  viene dado por:

$$G(x, y) = c \exp\left[-\frac{x^2 + y^2}{2\sigma^2}\right] \quad (1.46)$$

Donde  $x$  e  $y$  son las coordenadas de la imagen,  $\sigma$  es la desviación típica de la distribución de probabilidad y  $c$  en una constante de normalización. Si consideramos un operador que sea la combinación de un filtro gaussiano con una aproximación de gradiente tendremos un operador que es sensible al borde en la dirección del máximo cambio. Dentro de este modelo se encuentra el detector de Canny, que se explica a continuación.

**1.2.9.1. Detector de Bordes de Canny.** El detector de bordes de Canny (Mathworks, 2002; González, R. C. y Woods, R. E, 2004) se resume como sigue:

1. La imagen  $f(x,y)$  es suavizada mediante un filtro gaussiano con una desviación estándar  $\sigma$  para reducir el ruido:

$$S(x, y) = G(x, y, \sigma) * f(x, y) \quad (1.47)$$

$S(x,y)$  representa la imagen suavizada.

2. Se calcula el gradiente de la imagen suavizada usando una aproximación  $2 \times 2$  de las primeras diferencias y que producen las matrices  $P(i,j)$  y  $Q(i,j)$  para las derivadas parciales en  $x$  e  $y$ .

$$P(i, j) \approx [s(i+1, j) - s(i, j) + s(i+1, j+1) - s(i, j+1)]/2 \quad (1.48)$$

$$Q(i, j) \approx [s(i, j) - s(i, j-1) + s(i+1, j) - s(i+1, j-1)]/2 \quad (1.49)$$

Las diferencias finitas son promediadas sobre un cuadrado  $2 \times 2$  de forma que las derivadas parciales se calculan en el mismo punto de la imagen. La magnitud y orientación del gradiente se pueden calcular mediante:

$$M(i, j) = \sqrt{P(i, j)^2 + Q(i, j)^2} \quad (1.50)$$

$$\theta(i, j) = \tan^{-1}(Q(i, j), P(i, j)) \quad (1.51)$$

Donde la función  $\tan^{-1}$  toma dos argumentos y genera un ángulo sobre el círculo en todas las direcciones posibles. La matriz  $M(i,j)$  tendrá valores

grandes donde el gradiente sea grande. Un punto del borde es definido como un punto cuya intensidad es localmente máxima en la dirección del gradiente.

3. Los puntos borde determinados en el paso anterior, dan origen a crestas en la imagen de magnitud del gradiente. El algoritmo entonces se lleva hasta la superficie de esas crestas y se establece cero a todos aquellos píxeles que no están sobre la cumbre de la cresta, para dar una línea delgada a la salida. Este procedimiento se conoce con el nombre de supresión de no máximos. Los píxeles de la cresta son umbralizados usando dos umbrales,  $T_1$  y  $T_2$ , con  $T_1 < T_2$ . Los píxeles de las crestas con valores mayores a  $T_2$ , se dicen que son píxeles de borde “fuertes”. Píxeles con valores entre  $T_1$  y  $T_2$  se dicen que son píxeles de borde “débiles”.
4. Finalmente, el algoritmo ejecuta conexiones incorporando píxeles débiles que son 8-conectados a píxeles fuertes.

### 1.3 RESULTADOS EXPERIMENTALES

**1.3.1 Segmentación en Color Verdadero.** A continuación se presenta una aplicación del método de segmentación en el espacio vectorial RGB explicado en la sección 1.2.5.1, basado en el método de segmentación por máscaras espaciales (Garzón J. *et al.*, 2004a). El proceso central es la segmentación de la imagen tomando como criterio la combinación lineal de las tres componentes del espacio RGB. A partir de este criterio se logró evaluar el contenido de nódulos de grafito en las muestras metalográficas provenientes de procesos de fundición esferoidal, donde se evalúan parámetros característicos como el área, perímetro, densidad, factor de forma. El método presentado consta de los siguientes pasos: preparación de muestras, adquisición de imágenes, segmentación, extracción representación de parámetros característicos.

**Preparación de muestras.** Las muestras elegidas fueron tomadas de procesos de fundición y luego sometidas a un proceso de preparación metalográfico y a un posterior ataque químico para obtener una mejor definición de las fases de la fundición presentes en las muestras (Vesga W., 2000). Los pasos fueron los siguientes:

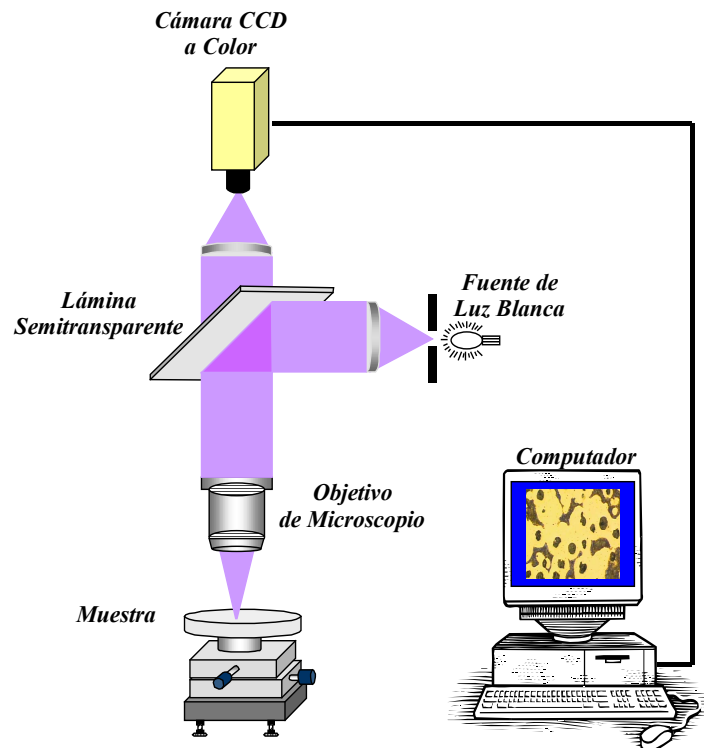
1. *Seccionamiento:* Para el fácil manejo de las muestras se hizo el seccionamiento con un disco de corte de carburundun.
2. *Montaje:* Con el fin de mejorar el manejo de las muestras se realizó un montaje por compresión, utilizándose resina fenólica.
3. *Desbaste Grueso:* Realizado generalmente para remover el exceso de resina, aristas y otras imperfecciones. El material utilizado para este desbaste fue lija de 120 y 180 grit, utilizando agua como lubricante.
4. *Desbaste Fino:* El desbaste fino involucra la utilización de abrasivos, donde cada paso de manera sucesiva elimina la deformación del paso anterior. El papel con carburo de silicio fue el más utilizado para estos procedimientos.
5. *Pulido Grueso:* En este paso se busca eliminar las rayas y la deformación producida por los desbastes con lijas. En nuestro caso utilizamos pasta de diamante de tres micras con lubricantes a base de aceite y paño de seda.
6. *Pulido Final:* En este paso se eliminan por “completo” las rayas, y las deformaciones de la superficie. Aquí se logra un acabado óptimo para el análisis de la muestra. Para nuestra situación utilizamos un paño de pelo corto (mastermex o microcloth) utilizando pasta de una micra y se finaliza con alúmina de 0.05 micras o sílica coloidal del mismo tamaño de partícula.

7. *Ataque:* Posteriormente las probetas se atacan con el fin de observar su estructura y poder cuantificar las fases presentes. La solución utilizada para atacar nuestras muestras fue nital al 2%.

Las muestras utilizadas para el anterior procedimiento fueron provenientes de una fundición esferoidal de matriz ferrítico-perlítica.

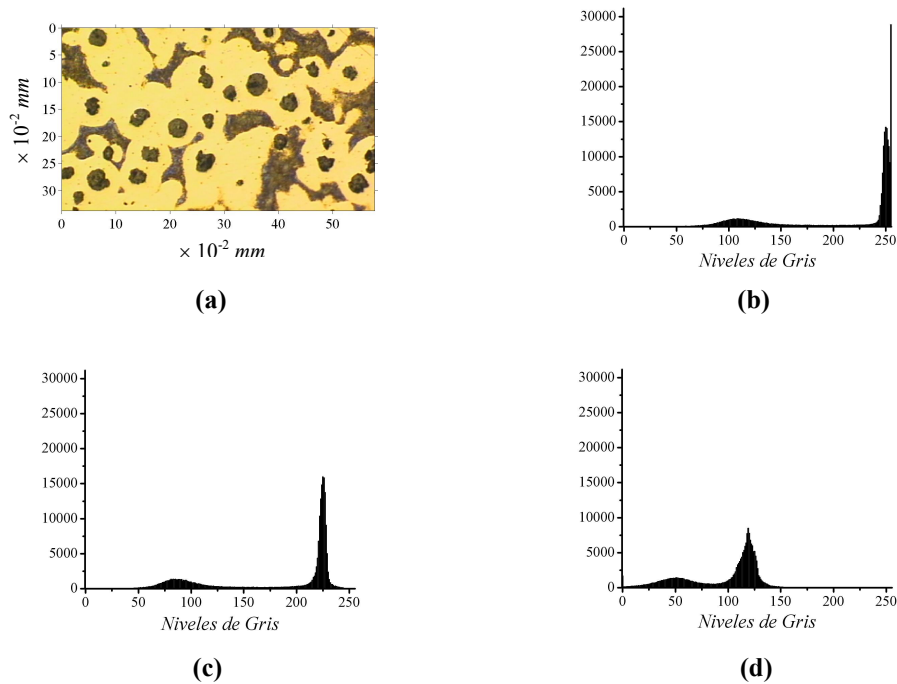
**Adquisición de Imágenes** El sistema de adquisición de imágenes es un equipo Leica Qwin versión Q5000MC estándar, el cual consta de un computador con una tarjeta de adquisición y digitalización ELVIS II, con un equipo complementario que consta de un microscopio óptico BX30M por reflexión para el análisis metalográfico y una cámara CCD a color marca JVC. Ver figura 12. El campo de observación a cien aumentos tiene un área de  $0.1955 \text{ mm}^2$ .

**Figura 12.** Sistema de adquisición de imágenes.



La figura 13 muestra la imagen metalográfica RGB de fundición esferoidal a segmentar y sus respectivos histogramas correspondientes a los planos R, G y B. En esta imagen las regiones de color oscuros corresponden material grafito y las amarillas corresponden a la matriz ferrítico-perlítica.

**Figura 13.** (a) Imagen original (b) Histograma del plano R. (c) Histograma del plano G (d) Histograma del plano B.



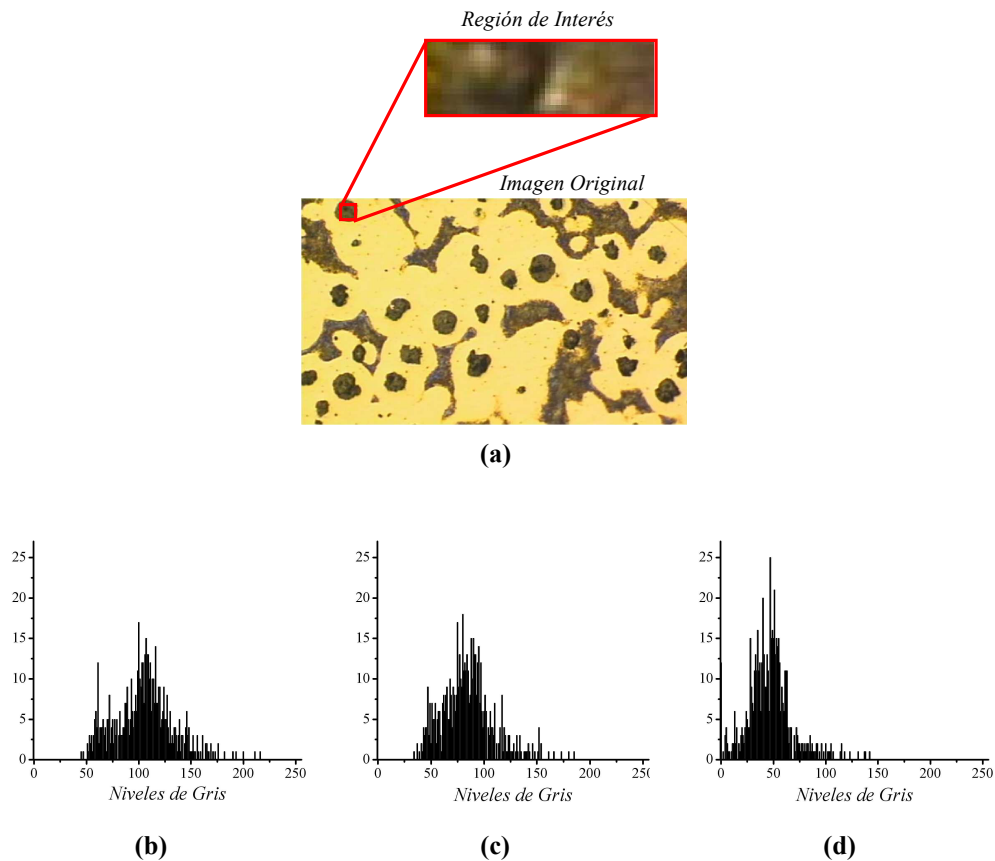
**Segmentación en el espacio RGB.** En esta sección aplicaremos el modelo de segmentación por máscaras espaciales RGB, explicadas en la sección 1.2.5.1. La imagen A es mostrada en la figura 13(a). La imagen I es la región de interés, la cual es mostrada en la figura 14(a).

La figura 15 muestra las máscaras  $M^k$  con  $k = 1, 2, 3$ , de la misma dimensionalidad de  $A^k$ , encontradas a partir de los valores  $I^k$  determinados por la ecuación 1.21.

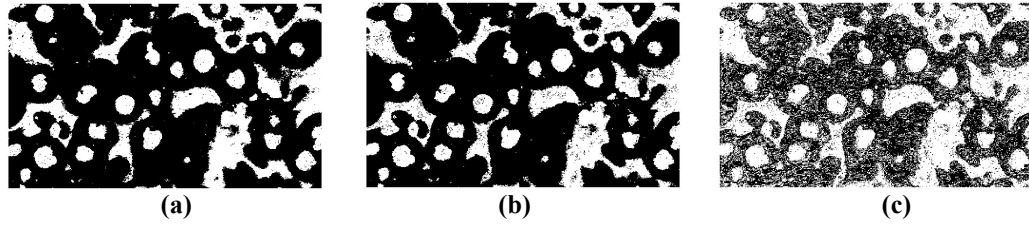
Tomando la primera posibilidad, se crea la máscara  $M$  como resultado de la operación definida por la ecuación 1.22. La figura 16(a) muestra este resultado.

Continuando con el procedimiento,  $M$  multiplica entrada por entrada, con cada uno de los planos  $A^k$ , lo que da origen a que los planos segmentados  $P^k$  definidos por la ecuación 1.23. La combinación de ellos da origen a una imagen  $\mathbf{P}$  en color verdadero segmentada, la cual es mostrada en la figura 16(b). Esta imagen segmentada presenta valores de píxel  $(0,0,0)$  dentro de las regiones de interés (regiones con grafito) por lo que se procede a extraer componentes conexas de la imagen que son útiles para la representación y descripción de la forma de una región.

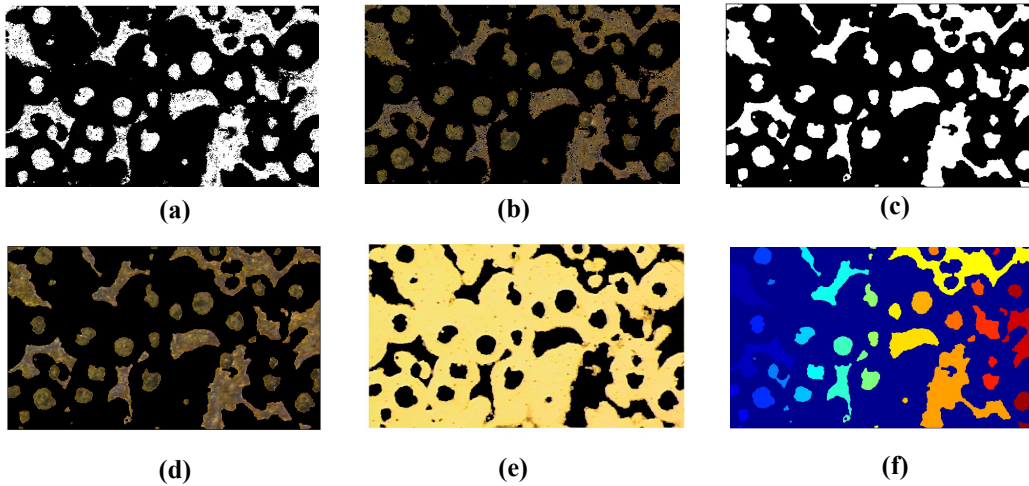
**Figura 14.** (a) Imagen original  $\mathbf{A}$  y la región de interés  $\mathbf{I}$ . En el contexto del experimento las zonas oscuras corresponden al grafito. (b) Histograma del plano R de la imagen  $\mathbf{I}$ . (c) Histograma del plano G de la imagen  $\mathbf{I}$  (d) Histograma del plano B de la imagen  $\mathbf{I}$ .



**Figura 15.** (a) Máscara  $M^1$  para el plano R. (b) Máscara  $M^2$  para el plano G. (c) Máscara  $M^3$  para el plano B.



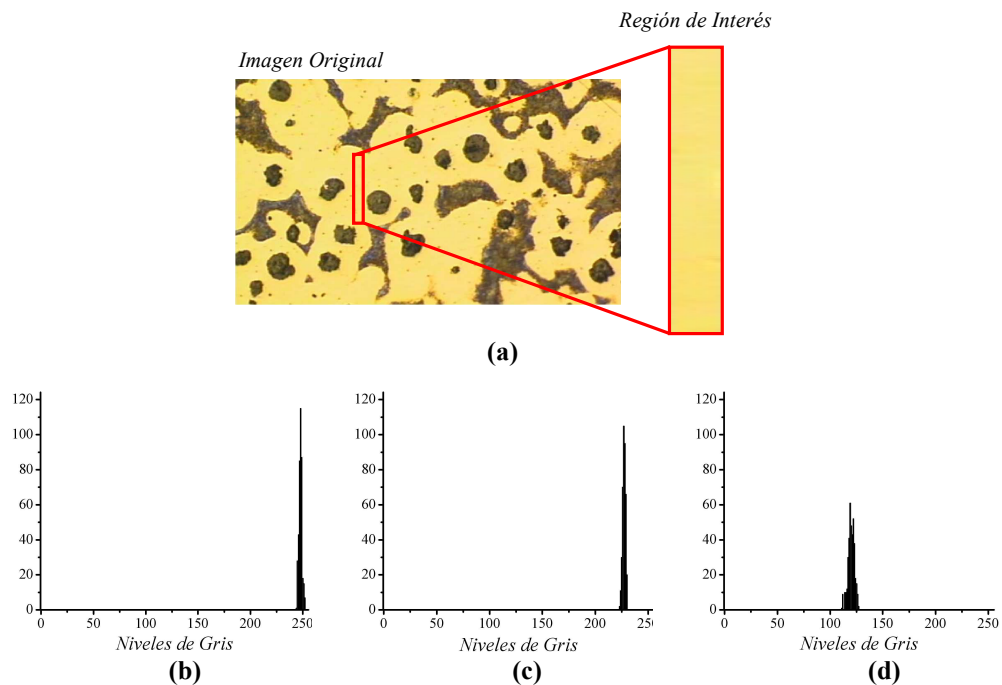
**Figura 16.** (a) Máscara  $M$ . (b) Imagen segmentada en verdadero color. (c) Máscara suavizada, libre de huecos e istmos. (d) Imagen final segmentada. (e) La región de interés corresponde al color negro (f) Regiones de interés rotuladas con diferentes colores.



Así el proceso siguiente consiste en suavizar el contorno de las regiones de interés, romper istmos estrechos, eliminar protuberancias delgadas, fusionar separaciones estrechas y entrantes, delgadas y profundas, eliminar pequeños huecos y rellenar agujeros del contorno. Para ello, se toma la máscara  $M$  o la imagen binaria de  $P$  y se le aplica de manera iterativa un algoritmo de “limpieza” basado en operaciones de morfología matemática definidas en la sección 1.2.7. La figura 16(c) muestra el resultado. En este procedimiento se segmentó únicamente las regiones que tienen exactamente la misma combinación lineal de color RGB del subespacio  $I$  correspondiente a la región de interés. La figura 16(d) muestra el resultado final de la segmentación. Las regiones de color negro corresponden a los valores de píxel

(0,0,0). Si el negativo de la máscara de la figura 16(c) es utilizada, las regiones de interés corresponderían a las de color negro de valor (0,0,0), como lo muestra la figura 16(e). Seguidamente la imagen segmentada se rotula con un número entero positivo y se visualiza en falso color. El número uno corresponde a la primera región (1) de la parte superior izquierda. En forma descendente se encuentra la región dos (2), tres (3),... Cuando finaliza en esa dirección se continúa con la región de la parte superior siguiente. Cada color representa una región distinta que a nivel computacional tiene un valor distinto, lo cual permite identificar de manera precisa cada región. Para la imagen original A, se rotularon 49 regiones, figura 20.

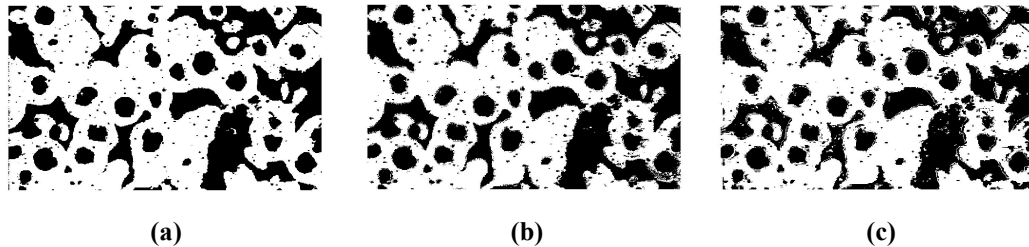
**Figura 17.** (a) Región de interés. En el contexto del experimento representa los colores de la matriz ferrítico-perlítica (b) Histograma del plano R de la imagen I. (c) Histograma del plano G de la imagen I (d) Histograma del plano B de la imagen I.



Como fue explicado en la sección 1.2.5.1, una segunda posibilidad de segmentación en el espacio RGB consiste en segmentar cada plano de la imagen  $A$ , multiplicando las máscaras  $M^k$  con los respectivos planos imagen  $A^k$ , como lo expresa la ecuación 1.24, dando como resultado tres planos de color  $Q^k$ , con  $k = 1,2,3$ , segmentados. La

combinación de estas tres matrices, da como resultado una imagen  $\mathbf{Q}$  en color verdadero segmentada, pero con la posibilidad de tener combinaciones de color del subespacio  $\mathbf{I}$  correspondiente a la región de interés. Como ejemplo de esta segunda posibilidad se tomo como sub-espacio  $\mathbf{I}$  una región de la matriz ferrítico-perlítica, la cual es presentada en la figura 17(a). Al igual que en el procedimiento anterior, se construyen las máscaras  $M^k$ , con  $k = 1,2,3$ , tal como lo establece la ecuación 1.21. La figura 18 muestra los resultados.

**Figura 18.** (a) Máscara  $M^1$  para el plano R. (b) Máscara  $M^2$  para el plano G. (c) Máscara  $M^3$  para el plano B.

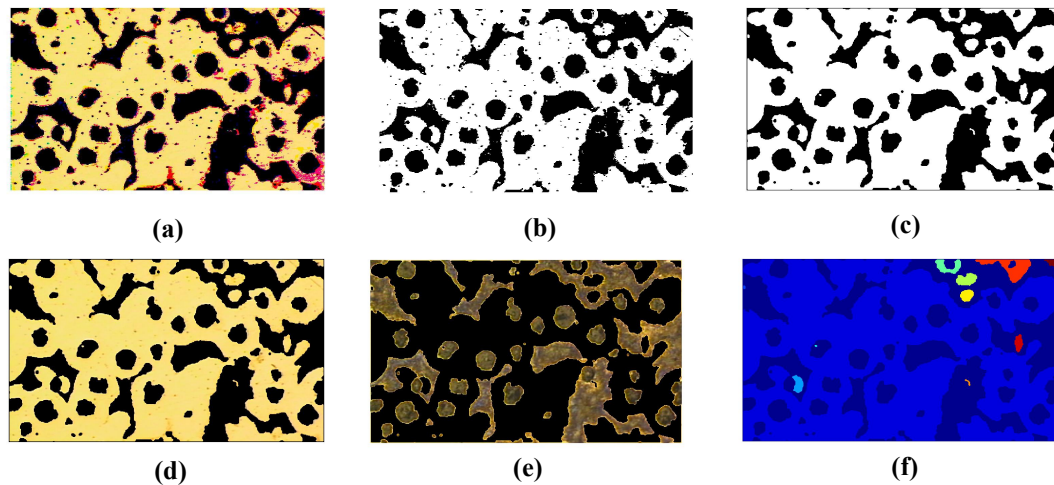


Posteriormente las máscaras  $M^k$  se multiplican con los respectivos planos imagen  $A^k$  bajo la forma establecida en la ecuación 1.24, produciendo las matrices  $Q^k$ , con  $k = 1,2,3$ , cuya combinación produce la imagen segmentada  $\mathbf{Q}$  en color verdadero, la cual es mostrada en la figura 19(a). Se puede observar el surgimiento de algunas combinaciones de color proveniente de los valores de píxel de  $Q^k(i,j)$ ,  $k = 1, 2, 3$ , que tienen sólo una o dos componentes iguales de  $I^k(i,j)$ ,  $k = 1, 2, 3$ .

En busca de regiones conexas, eliminación de istmos, huecos y suavizado de regiones de interés, se binariza la imagen segmentada  $\mathbf{Q}$ , figura 19(b), y se la aplica un algoritmo iterativo de morfología matemática de erosión y dilatación. El resultado es mostrado en la figura 19(c). Esta imagen se convierte en una nueva máscara que actúa sobre cada plano  $A^k$ , con  $k = 1,2,3$ . Para producir una imagen final RGB segmentada, figura 19(d). Con el negativo de la imagen 19(c) se segmentan las regiones de grafito, figura 19(e). Al igual que en el primer procedimiento las regiones amarillas

correspondientes a la matriz ferrítico-perlítica son rotuladas mediante una codificación en falso color. Cada color representa una región distinta que a nivel computacional tiene un valor entero positivo distinto, lo cual permite identificar y cuantificar cada región.

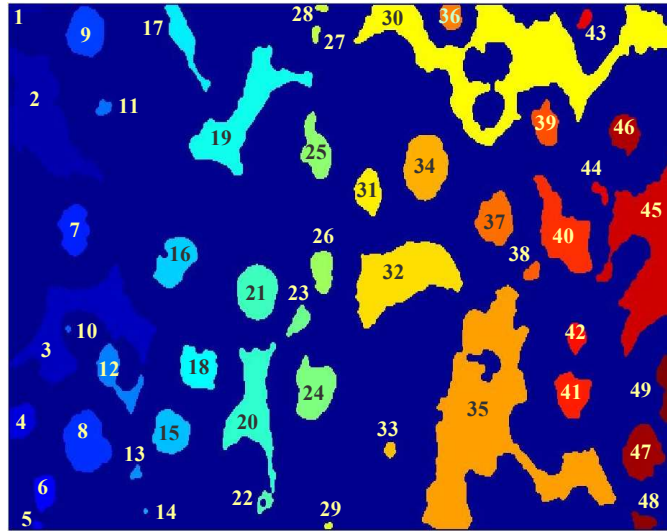
**Figura 19.** (a) Imagen segmentada (b) Imagen binaria de la imagen segmentada (c) Máscara suavizada, libre de huecos e istmos. (d) Imagen final segmentada. Las regiones de interés I corresponde al color amarillo (e) Regiones de grafito segmentadas (f) Regiones de interés I rotuladas con diferentes colores.



**Extracción y representación de parámetros característicos.** El objetivo de la segmentación en esta situación es encontrar las regiones nodulares de grafito, las cuales se pueden obtener a partir de los resultados presentados en la figura 16(d) o 19(e). Estas regiones nodulares definen regiones de interés para la clasificación de las fundiciones esferoidales de acuerdo a su estructura.

Los parámetros característicos calculados para cada región fueron: área, perímetro, porcentaje relativo y el factor de forma definido como  $4A/\pi d^2$ , donde  $d$  es el diámetro y  $A$  es el área superficial de la región analizada. Basándose en los resultados presentados en la figura 16(d), la figura 20 muestra los valores asignados a cada región. La tabla 1 muestra los valores calculados para todas las regiones de la figura 20.

**Figura 20.** Rotulado: Valores asignados a cada región.



**Tabla 1.** Regiones de grafito en un campo de observación de  $0.1955 \text{ mm}^2$ . Margen de error del 0.05%. Las filas en negrilla corresponden a los valores encontrados para los nódulos de grafito que tienen un factor de forma entre 0.8 y 1.5 y a la vez tienen un área mayor de  $2.64839 \times 10^{-4} \text{ mm}^2$ , los cuales son mostrados en la figura 21.

Región	Área en $\text{mm}^2$	Perímetro en mm	Factor de Forma	Porcentaje %
1	0.000191585	0.10106	0.4715	0.099
2	0.003318945	0.42355	0.4650	1.708
3	0.003346429	0.57921	0.2507	1.722
<b>4</b>	<b>0.000426641</b>	<b>0.10513</b>	<b>0.9703</b>	<b>0.220</b>
5	0.000039329	0.02916	1.1622	0.020
<b>6</b>	<b>0.000346372</b>	<b>0.09360</b>	<b>0.9938</b>	<b>0.178</b>
<b>7</b>	<b>0.000654681</b>	<b>0.13327</b>	<b>0.9264</b>	<b>0.337</b>
<b>8</b>	<b>0.001195399</b>	<b>0.17600</b>	<b>0.9699</b>	<b>0.615</b>
<b>9</b>	<b>0.000827867</b>	<b>0.14209</b>	<b>1.0306</b>	<b>0.426</b>
10	0.000018054	0.01662	1.6434	0.009
11	0.000102807	0.05087	0.9986	0.053
12	0.000645251	0.20856	0.3729	0.332
13	0.000064858	0.03934	1.0534	0.033
14	0.000011499	0.01221	1.9393	0.006
<b>15</b>	<b>0.000710225</b>	<b>0.13565</b>	<b>0.9701</b>	<b>0.366</b>

16	0.000798428	0.16108	0.7734	0.411
17	0.000613167	0.20211	0.3773	0.316
<b>18</b>	<b>0.000721494</b>	<b>0.14989</b>	<b>0.8071</b>	<b>0.371</b>
19	0.002455543	0.45204	0.3020	1.264
20	0.001831221	0.39219	0.2992	0.943
<b>21</b>	<b>0.000992774</b>	<b>0.15633</b>	<b>1.0209</b>	<b>0.511</b>
22	0.000120632	0.08732	0.3976	0.062
23	0.000223325	0.08342	0.8065	0.115
<b>24</b>	<b>0.001004158</b>	<b>0.17498</b>	<b>0.8242</b>	<b>0.517</b>
25	0.000669285	0.15871	0.6678	0.344
<b>26</b>	<b>0.000425146</b>	<b>0.10750</b>	<b>0.9246</b>	<b>0.219</b>
27	0.000065318	0.04069	0.9914	0.034
28	0.000047494	0.03561	0.9415	0.024
29	0.000030014	0.02476	1.2309	0.015
30	0.008045576	1.42670	0.0994	4.141
<b>31</b>	<b>0.000512659</b>	<b>0.11462</b>	<b>0.9807</b>	<b>0.264</b>
32	0.002878389	0.35471	0.5750	1.481
33	0.000080613	0.04103	1.2033	0.042
<b>34</b>	<b>0.001253818</b>	<b>0.17736</b>	<b>1.0018</b>	<b>0.645</b>
35	0.008891153	1.13260	0.1742	4.576
<b>36</b>	<b>0.000264839</b>	<b>0.07969</b>	<b>1.0481</b>	<b>0.136</b>
<b>37</b>	<b>0.000820967</b>	<b>0.14616</b>	<b>0.9659</b>	<b>0.423</b>
38	0.000128452	0.05731	0.9829	0.066
<b>39</b>	<b>0.000466315</b>	<b>0.11496</b>	<b>0.8868</b>	<b>0.240</b>
40	0.001598696	0.27333	0.5378	0.823
<b>41</b>	<b>0.000658016</b>	<b>0.13361</b>	<b>0.9264</b>	<b>0.339</b>
42	0.000233100	0.07834	0.9547	0.120
43	0.000107752	0.05053	1.0607	0.056
44	0.000114997	0.06240	0.7423	0.059
45	0.004205461	0.61804	0.2767	2.164
<b>46</b>	<b>0.000499434</b>	<b>0.11496</b>	<b>0.9498</b>	<b>0.257</b>
<b>47</b>	<b>0.000918370</b>	<b>0.15803</b>	<b>0.9243</b>	<b>0.473</b>
48	0.000171806	0.07528	0.7619	0.088
49	0.000569008	0.15328	0.6087	0.293

De estos resultados se extrae el porcentaje de ferrita dentro del campo de observación de la muestra y se determina la calidad de la fundición (American Society for Testing & Materials, 1995). Los valores calculados son los siguientes:

Campo de observación a cien aumentos:  $0.1955 \text{ mm}^2$

Porcentaje total de ferrita en el campo de observación: 68%.

Número de nódulos de grafito con un factor de forma entre 0.8 y 1.5, con área mayor de  $2.64839 \times 10^{-4} \text{ mm}^2$ : 18

**Figura 21.** Regiones nodulares de grafito que tienen un factor de forma entre 0.8 y 1.5 y a la vez tienen un área mayor de  $2.64839 \times 10^{-4} \text{ mm}^2$ .



El algoritmo de segmentación en el espacio RGB que hemos propuesto fue probado con imágenes sintéticas y con imágenes de muestras de latón, de grafito, perlita y ferrita atacadas con diferentes soluciones que cambiaban el contenido cromático, mostrando resultados satisfactorios en la elección de las regiones de interés y al igual que las segmentaciones que se realizan con imágenes en niveles de gris y en falso color; este algoritmo es sensible a la intersección de regiones y a la heterogeneidad del fondo.

El algoritmo funciona para cualquier imagen RGB. La aplicación más frecuente que se hizo estuvo enfocada a la caracterización de muestras metalográficas y se proyecta realizar un estudio estadístico en este campo.

### **1.3.2 Segmentación Basada en Fronteras: Análisis de Microdureza.**

A continuación se presenta una técnica óptico digital para determinar la dureza Vickers como parámetro de microdureza de muestras metalográficas. Los índices de dureza se utilizan principalmente como base de comparación de materiales, donde se establecen especificaciones para su manufactura y tratamiento térmico (Garzón J. *et al.*, 2001a). Esto es útil, para el control de calidad y para efectuar correlaciones con otras propiedades de un material. El propósito en esta sección es presentar un método basado en el tratamiento digital de imágenes que permita medir la resistencia a la penetración que experimentan materiales duros, cuando son impactados con una punta de pirámide de diamante. El método utiliza como sistema de impacto, un escleroscopio Leitz Durimet con pirámide de diamante intercambiable para ensayos de dureza Vickers, un sistema de adquisición de imágenes estándar, que consta de una computadora con una tarjeta de adquisición y digitalización, con un equipo complementario que posee un microscopio metalográfico de reflexión y una cámara CCD a color. El proceso está compuesto de los siguientes pasos: elección de muestras, preparación de muestras, ensayo de dureza, adquisición de imágenes, segmentación de imágenes por el método de Canny y cálculo de parámetros característicos.

**Elección y Preparación de Muestras.** Las muestras elegidas fueron un acero AISI H13 y aluminio de fundición, las cuales fueron sometidas a un proceso de preparación metalográfico. Los pasos fueron los siguientes:

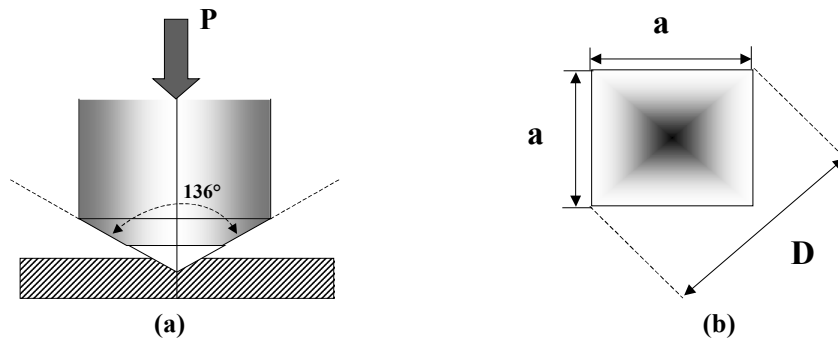
1. *Seccionamiento:* Para el fácil manejo de las muestras se hizo el seccionamiento con un disco de corte de carburundun.

2. *Montaje:* Con el fin de mejorar el manejo de las muestras se realizó un montaje por compresión, utilizándose bakelita.
3. *Desbaste Grueso:* Realizado generalmente para remover el exceso de bakelita, aristas y otras imperfecciones. El material utilizado para este desbaste fue lija de 240, 320, 400 y 600 grit, utilizando agua como lubricante.
4. *Desbaste Fino:* El desbaste fino involucra la utilización de abrasivos, donde cada paso de manera sucesiva elimina la deformación del paso anterior. Se utilizó paño de billar con polvo fino de óxido de magnesio para la probeta de acero y para la probeta de aluminio el pulido se hizo en paño microcloth, utilizando alúmina gamma como abrasivo.
5. *Pulido Final:* En este paso se eliminan las rayas y las deformaciones de la superficie. Aquí se logra un acabado óptimo para el análisis de la muestra. Para nuestra situación utilizamos un paño de pelo corto microcloth utilizando pasta de una micra y se finaliza con alúmina de 0.05 micras o sílica coloidal del mismo tamaño de partícula.

**Ensayo de Dureza.** El ensayo de dureza mide la resistencia de la superficie de un material a la penetración por un objeto duro. El ensayo de dureza Vickers (HV) es una prueba de microdureza, donde se producen penetraciones tan pequeñas que se requiere de un microscopio para obtener su medida. La máquina Vickers, se puede emplear para la medida de la máxima o mínima dureza, esto debido al tipo especial de penetrador empleado y la gran amplitud con que se puede variar las cargas aplicadas. Los resultados se expresan en carga por unidad de área de la huella. El penetrador tipo Vickers (Kell G. L., 1963) es un diamante tallado en forma de pirámide cuadrangular cuyas caras opuestas forman un ángulo de  $136^\circ$ . Ver figura 22(a).

Para determinar las cifras de dureza Vickers (Askeland D. R., 1998) es preciso medir exactamente las diagonales de la huella, Ver figura 22(b), para esto, se emplea un microscopio metalográfico y su valor numérico está dado por el cociente entre la carga aplicada  $P$ , expresada en kg, y el área  $A$  de la huella, expresada en  $\text{mm}^2$ , así  $HV = P/A$ . El área de impresión piramidal es igual a  $4a$  ( $a$ : arista de la impresión), multiplicado por la mitad de la altura,  $S$ , de una de las caras triangulares, es decir,  $A=2aS$ . Entre la longitud de la diagonal  $D$  expresada en mm, del cuadrado base y su lado, existe la relación  $a = D/2^{1/2}$ , con lo que se obtiene  $A = 2DS/2^{1/2}$ . El ángulo entre dos caras opuestas del penetrador es de  $136^\circ$  y ese mismo debe ser formado por las caras opuestas de la huella, entonces la altura  $S$  de una de ellas puede obtenerse en función del lado o de la diagonal del cuadrado base.

**Figura 22.** (a) Esquema del Penetrador Vickers. (b) Huella que produce.



$$S = \frac{D}{2\sqrt{2} \text{ sen } 68^\circ} \quad (1.52)$$

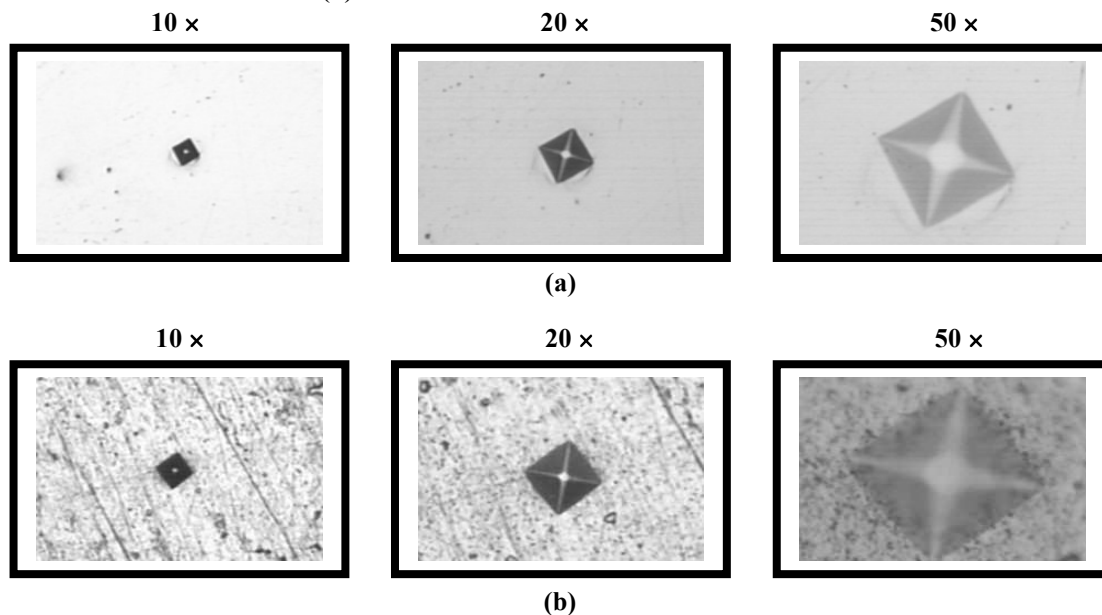
Por tanto, para la dureza Vickers se obtiene que:

$$HV = 1.854 \frac{P}{D^2} \quad (1.53)$$

**Adquisición de las Imágenes de Dureza.** Como sistema de adquisición se utilizó el sistema de adquisición de imágenes Leica Qwin versión Q5000MC estándar, ver figura 12.

Las imágenes digitales correspondientes a las muestras elegidas, acero AISI H13 y aluminio de fundición, se presentan en la figura 23, las cuales no tuvieron la necesidad de ser preprocesadas, debido a su alta reflectividad, dando origen a un alto contraste entre el fondo y la región de interés.

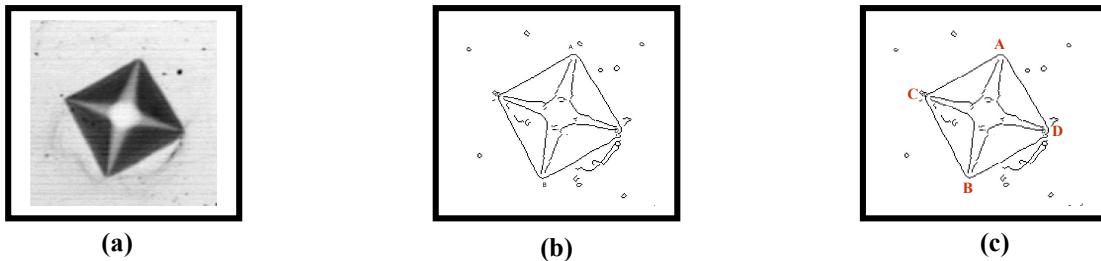
**Figura. 23.** Imágenes adquiridas con objetivos de microscopio de 10×, 20×, 50×, con NA de 0.45: (a) Probeta de acero AISI H-13. (b) Probeta de aluminio de fundición.



**Segmentación.** La segmentación se realizó de acuerdo a nuestro objetivo, que fue el de detectar la huella de impacto del penetrador de diamante sobre la muestra, para lo cual, se aplicó un algoritmo de segmentación basado en fronteras, tal como se explicó en las secciones 1.2.8 y 1.2.9, en particular el método de Canny, sección 1.2.9.1, donde se utilizó un valor de desviación estándar de 1 y dos umbrales distintos, uno para detectar bordes fuertes y otro para detectar bordes débiles conectados con los bordes fuertes de 0.00625 y 0.015625 respectivamente. La imagen resultante es una imagen binarizada de contornos. El resultado de este procedimiento es presentado en

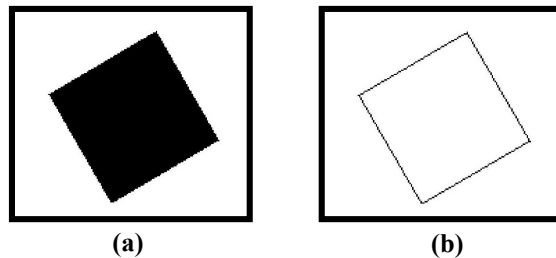
la figura 24(b) donde se ha aplicado el método de Canny para la detección de bordes a la imagen de la figura 24(a).

**Figura 24 (a).** Imagen original: Huella de dureza Vickers sobre una muestra de acero AISI H-13 a 1650 aumentos. **(b).** Imagen resultante después de aplicar el método de Canny para la detección de bordes. **(c)** Imagen segmentada con los vértices de la región de interés notados como A, B, C, y D.



De la imagen resultante figura 24(b), se toman los vértices de la región de interés, figura 24(c), en nuestro caso están notados con las letras A (vértice superior), B (vértice inferior), C (vértice izquierdo), D (vértice derecho).

**Figura. 25 (a)** Máscara binaria para la imagen original. **(b)** Perímetro de la máscara binaria.



Seguidamente se construye una máscara binaria del rombo ABCD de la siguiente manera: primero, se calcula la pendiente promedio “ $m$ ” de las rectas que pasa por los puntos AC y DB, luego se calcula los términos independientes  $b_1$  y  $b_2$ , asociados a los segmentos AC y DB respectivamente. Después, se delimitan las regiones que cumplen con las condiciones descritas por las ecuaciones (1.54) y (1.55)

$$mx + b_1 < y \tag{1.54}$$

$$mx + b_2 \rangle y \quad (1.55)$$

Siendo  $(x,y)$ , las coordenadas de la imagen. Un procedimiento análogo se realiza para los segmentos CB y AD. El resultado es mostrado en la figura 25.

**Representación y Descripción.** Ya habiendo obtenida la imagen binaria del rombo de interés, se calculó el área de impresión piramidal, el perímetro, la diagonal promedio y la dureza Vickers (HV) definida en la ecuación (1.53). Aquí, se tuvo en cuenta el campo de observación y la escala real generada por los diferentes objetivos de microscopio utilizados en la adquisición de las imágenes. La tabla 2, resume los resultados obtenidos para la muestra de acero AISI H-13 después de realizar el ensayo de dureza Vickers con una carga de 0.1 kg.

**Tabla 2.** Resultados para la muestra de acero AISI H-13 después de realizar el ensayo de dureza Vickers con una carga de 0.1 kg.

Aumentos	1650	660	330
Campo de Observación $\mu\text{m} \times \mu\text{m}$	$67.2 \times 115.2$	$167.3 \times 286.8$	$335.3 \times 574.8$
Área de Impresión Piramidal $\text{mm}^2$	$2.188 \times 10^{-4}$	$2.104 \times 10^{-4}$	$2.138 \times 10^{-4}$
Perímetro $\mu\text{m}$	59.52	56.88	55.56
Diagonal D $\mu\text{m}$	$20.14 \pm 0.40$	$19.75 \pm 0.90$	$19.91 \pm 1.90$
HV $\text{kg}/\text{mm}^2$	457.0384	475.2852	467.7268

La tabla 3 resume los resultados obtenidos para una muestra de aluminio de fundición después de realizar el ensayo de dureza Vickers con una carga de 0.05 kg.

En las tablas 2 y 3, se ha teniendo en la cuenta que los aumentos presentados corresponden a los aumentos registrados por la cámara CCD en el sistema de

adquisición de la figura 12, donde se involucra los aumentos del microscopio (500, 200, 100) y los del proyectivo (3.3).

**Tabla 3.** Resultados para la muestra de aluminio de fundición, después de realizar el ensayo de dureza Vickers con una carga de 0.05 kg.

<b>Aumentos</b>	1650	660	330
Campo de Observación $\mu\text{m} \times \mu\text{m}$	$67.2 \times 115.2$	$167.3 \times 286.8$	$335.3 \times 574.8$
Área de Impresión Piramidal $\text{mm}^2$	$4.199 \times 10^{-4}$	$3.883 \times 10^{-4}$	$3.802 \times 10^{-4}$
Perímetro $\mu\text{m}$	77.18	72.18	69.93
Diagonal D $\mu\text{m}$	$27.90 \pm 0.40$	$26.83 \pm 0.90$	$26.55 \pm 1.90$
HV $\text{kg}/\text{mm}^2$	119.32	128.78	131.51

Las medidas realizadas en la muestra de acero. AISI H-13 con el escleroscopio Leitz, dan un valor de  $20 \mu\text{m}$  para la diagonal, con una incertidumbre de  $\pm 2.5 \mu\text{m}$ , lo que da un intervalo de medida de HV entre  $366.22$  y  $605.39 \text{ kg}/\text{mm}^2$ . Para la muestra de aluminio, el valor de la diagonal hallada con el escleroscopio Leitz, fue de  $27 \mu\text{m}$ , con una incertidumbre de  $\pm 2.5 \mu\text{m}$ , lo que da un intervalo de medida de HV entre  $106.52$  y  $154.43 \text{ kg}/\text{mm}^2$ .

#### 1.4 CONCLUSIONES

Se han presentado dos métodos de segmentación de imágenes metalográficas. El primer método es una técnica para la caracterización de materiales, usando procesamiento digital de imágenes en verdadero color, específicamente la aplicación de un algoritmo de segmentación cromática mediante máscaras espaciales RGB; el segundo método consistió en una técnica de tratamiento digital de imágenes que permite medir la resistencia a la penetración que experimentan materiales duros, cuando son impactados con una punta de pirámide de diamante.

El primer método es útil en la determinación de la calidad de las fundiciones esferoidales. El método tiene la ventaja sobre la forma tradicional (niveles de gris) de realizar la segmentación, debido a que las fases de la fundición pueden ser caracterizadas dependiendo del ataque químico que se le realicen a las muestras. Diferentes sustancias aplicadas a las probetas hace que estas presenten una cromaticidad distinta. Aunque se hubiera podido realizar la segmentación en otros espacios de color, este método es una propuesta diferente a las maneras tradicionales de segmentación de imágenes en el espacio RGB. Los resultados obtenidos muestran la eficiencia del método. Este método permitirá evaluar las fases de una fundición así como el contenido de un material específico, de acuerdo a su cromaticidad. Para imágenes más complejas, como por ejemplo las imágenes tomadas en superficies afectadas por la corrosión (Choi K. Y. y Kim S. S., 2005) este método permitiría evaluar y caracterizar la corrosión en categorías como color y características de forma, lo cual sería una de las principales perspectivas de este trabajo.

El segundo método es la aplicación de un algoritmo de segmentación de bordes gaussiano ampliamente conocido, como lo es el detector de bordes de Canny. Básicamente su aplicación consistió en disminuir el error en la medida de la diagonal de la huella dejada por el penetrador Vickers de un escleroscopio Leitz ( $\pm 2.5 \mu\text{m}$ ), sobre un material duro. Los resultados muestran un error en la medida de la diagonal de  $\pm 2$  píxeles multiplicado por el factor de escala asociado a los aumentos del sistema óptico sobre la imagen adquirida. Los errores para los diferentes aumentos del sistema, están mostrados en los valores de la diagonal D, de las tablas 2 y 3. En suma se puede decir que el valor de menor incertidumbre sobre la medida de la diagonal se logra a 1650 aumentos y finalmente la utilización del método de Canny radicó en la facilidad de reportar el error en las imágenes segmentadas.

## 2. MICROSCOPIA INTERFERENCIAL

### 2.1 INTRODUCCIÓN

El uso de la interferometría tiene una gran historia. Ya en 1665 Hooke notó que los colores vistos en un patrón de interferencia en luz blanca son sensibles al espaciado entre superficies reflectantes, publicado por Johonnot, S. 1899 Phys. Mag. Ser. 5, 47 5001 (Hecht E. y Zajac A., 1986). De ahí en adelante han habido numerosas aplicaciones físicas que utilizan los principios de la interferometría y probablemente el primer estudio registrado de franjas de interferencia producidas por luz esparcida se encuentran en el libro de Optiks de Sir Isaac Newton, Libro Dos, Parte IV, 1704 (Hecht E., 1998). En 1893 Michelson usó la luz blanca para estimar el tamaño de una serie de muestras patrones escalonadas como parte de un procedimiento de comparar longitudes de onda de luz con el prototipo internacional del metro. Aunque los principios básicos de la interferometría de luz blanca y de múltiples colores son conceptos fundamentales de la óptica, la implementación práctica de esos principios en instrumentos automatizados es un desarrollo relativamente reciente. Es así como Flournoy *et al.*, (1972) reportan un instrumento capaz de medir espesores de 2.5 – 500  $\mu\text{m}$  con una resolución de 0.005  $\mu\text{m}$ , usando un interferómetro de barrido mecánico y un detector de intensidad electrónico. Relativamente son pocos los métodos reportados para la representación de la topografía de una superficie con instrumentos de luz blanca. Uno de los primeros sistemas prácticos automatizados para la medida de la topografía de una superficie usando interferometría de luz blanca, fue patentado por Balasubramanian (1982), otros han sido implementados submuestreando los interferogramas de luz blanca (Deck. L y De Groot P., 1993). También nuevos sistemas se han patentado recientemente (De Groot P., 1995a.), el cual, para medir el perfil de una superficie analiza los interferogramas de luz blanca en el dominio frecuencial espacial (De

Groot P. y Deck L., 1995); la otra variante (Kim S. W. y Kim G. H., 2003) muestra un método para medir perfil del espesor tridimensional y el índice de refracción de películas delgadas dieléctricas transparentes.

En la actualidad, existen dos nuevas técnicas, las cuales compiten en la formación de imágenes 3D en el modo de reflexión, ellas son: el CPM (Coherence Probe Microscopy), la cual es usada para inspección de superficies y perfilometría, particularmente en la industria de los dispositivos semiconductores, y la otra es la tomografía de coherencia óptica (TCO), la cual es usada para el diagnóstico médico en oftalmología y dermatología. Ambos tipos de técnicas están basadas en la interferometría de coherencia baja (ICB), en la cual el gating\* de coherencia es usado para el seccionamiento óptico. Aunque ambas técnicas son formas ICB, su implementación es diferente. En CPM se utiliza un interferómetro como el interferómetro de Michelson, usando como fuente de iluminación una lámpara de Tungsteno-Halógena, donde la interferencia toma lugar en la sección de la muestra que está localizada dentro de la longitud de coherencia relativa al haz de referencia. Esta técnica es usada para la perfilometría de superficies, registrando una serie de imágenes 2D con una cámara CCD a medida que la muestra es barrida axialmente alrededor del foco, estas imágenes son procesadas para extraer la localización de la superficie desde el pico de la visibilidad de las franjas o de la fase de las franjas. El efecto del seccionamiento óptico resulta análogo al utilizado en microscopía confocal.

Aunque el principio de TCO es idéntico al CPM, la incorporación es diferente (Ferchera A. F., *et al.*, 2002). En TCO la señal dispersada desde los tejidos gruesos es muy débil. Aquí la fuente es reemplazada por un diodo láser súper luminiscente, el cual exhibe un ancho de banda espectral más pequeño que una fuente de luz blanca, pero en la actualidad se investiga como fuentes de iluminación, la utilización de súper continuos que van desde el visible hasta el lejano infrarrojo, generados por efectos no

---

\* Gating: Término que en inglés significa la acción o efecto de seleccionar partes de una señal que existen dentro de un intervalo de tiempo o de amplitud preestablecidos.

lineales en fibras ópticas (Courvoisier C. *et al.*, 2004). En TCO la muestra es iluminada punto por punto, así que es necesario un tiempo considerable para la construcción de la imagen 3D; la apertura numérica de los objetivos de microscopio son pequeñas y su profundidad de foco es grande, así que el barrido se lleva a cabo trasladando el espejo del haz de referencia. En lugar de una técnica de corrimiento de fase, se utiliza una técnica de heterodinaje (Sommargren G. E., 1981; Greivenkamp J. E., 1984; Malacara D., Servin M., y Malacara Z., 1998b). En TCO el seccionamiento óptico surge de la longitud de coherencia limitada de la radiación incidente, pero si la apertura numérica del objetivo es grande, resulta un seccionamiento óptico adicional similar a la formación de imágenes confocales. Los microscopios resultantes son llamados microscopios de coherencia óptica (MCO).

Con el advenimiento del láser se hizo posible crear nuevas configuraciones de interferómetros, como el Dyson, Mirau y Watson (Gifkins, 1982) los cuales fueron acoplados a sistemas de registro automatizados y de alta resolución, donde todos ellos son configuraciones interferométricas de dos frentes de onda. Ambos frentes de onda llegan desde una misma fuente de luz y sus caminos son separados por un divisor de haz. La principal ventaja de utilizar un láser como fuente de luz radica en la facilidad de obtener el patrón de franjas debido a su gran coherencia, pero lo que es una ventaja puede ser también una desventaja debido a posibilidad de crear patrones de franjas secundarios, adicionando los efectos vibracionales que en interferometría de corrimiento de fase (ICF) afectan la precisión de la altura (De Groot P., 1995b;). Con este tipo de iluminación es acostumbrado utilizar algoritmos de CF (Escalona R., y Iglesias E., Vicens J., 1994; Sandoz P., 1996; Sandoz P. *et al.*, 1999), o de transformada de Fourier (Takeda M., *et al.*, 1982; Su X. y Chen W., 2001), para obtener la forma de las superficies de los objetos a reconstruir.

El interés en estas técnicas interferométricas en este capítulo es el monitoreo de superficies y la medida de espesores de películas delgadas a escala nanométricas. Cuando la fuente de iluminación es policromática, el monitoreo de superficies

usualmente involucran algoritmos de detección de máximos (Caber P. J., 1993; Larkin K. G., 1996; Plata A., 1997; Bowe B. y Toal V., 1998; Park M. C. y Kim S. W., 2000 ), corrimientos de fase (Sandoz P., 1996; Sandoz P., Devillers R., y Plata A., 1997), transformada de Hilbert (Chim S. S. C., y Kino G. S., 2000), transformada wavelet (Sandoz P., 1997), entre otras (Chen F., *et al.*, 2000). En este capítulo sólo se hará énfasis en dos técnicas de reconstrucción tridimensional, una de ellas es la detección de máximos de intensidad con luz policromática y la otra es la técnica de corrimiento de fase con luz cuasi-monocromática. En ambas técnicas se utiliza un microscopio de reflexión con un objetivo interferométrico tipo Mirau (Kino G. S. y Chim S. S. C., 1990), el cual será descrito en secciones posteriores, así como la fundamentación física en la que se basan los principios de reconstrucción tridimensional. Finalmente se presentan los resultados experimentales y las conclusiones junto con las perspectivas del trabajo.

## **2.2 MICROSCOPIA INTERFERENCIAL**

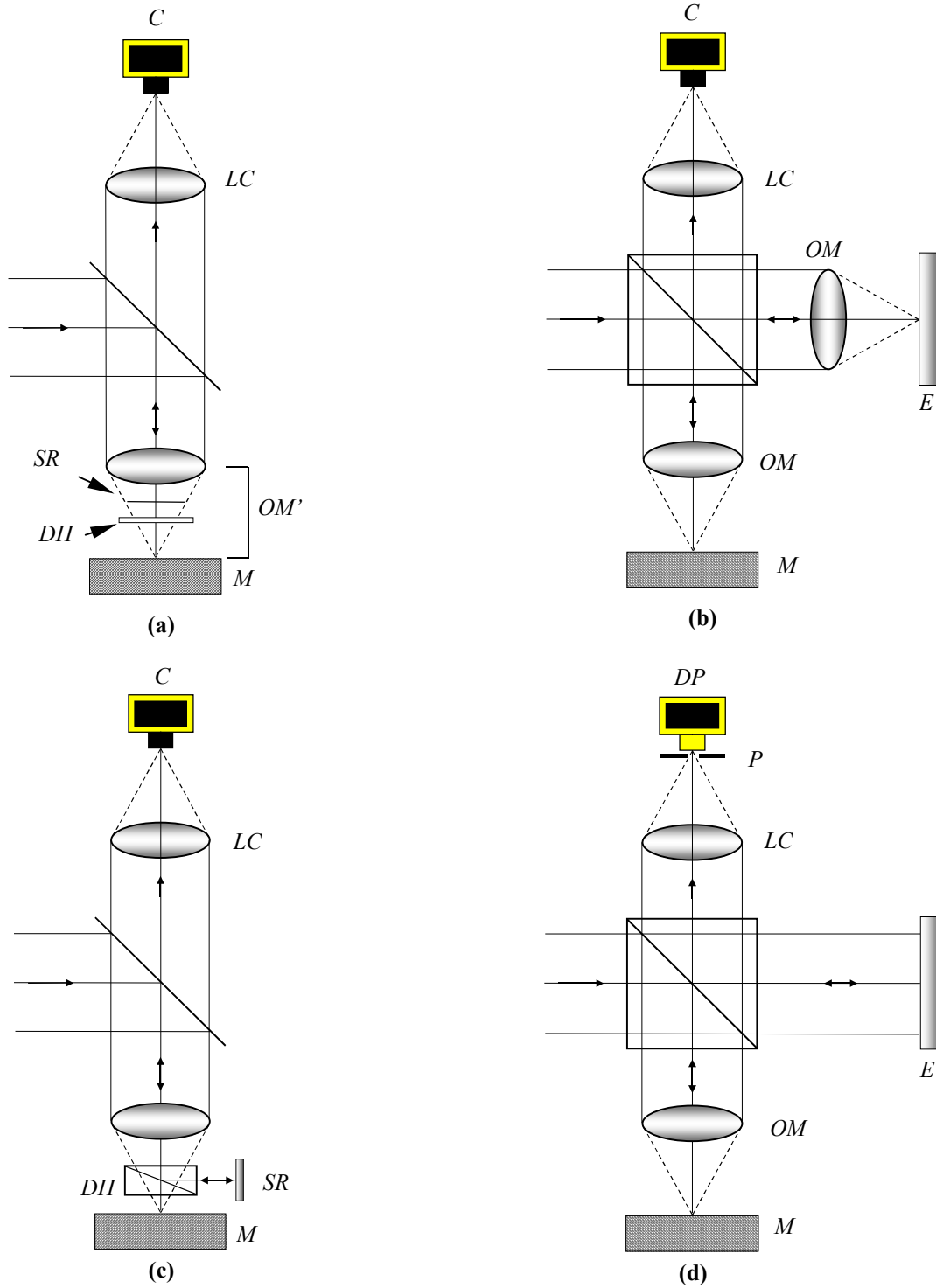
Los microscopios interferométricos generalmente utilizados en la perfilometría de superficies producen un interferograma superponiendo dos frentes de ondas, uno de los cuales es típicamente un frente de onda de referencia plano y el otro un frente de onda distorsionado cuya forma va a ser medido. Un interferómetro puede medir pequeñas deformaciones del frente de onda con alta precisión, del orden de una fracción de longitud de onda. La precisión de un interferómetro dado depende de muchos factores como la calidad óptica de sus componentes (Schwider J. *et al.*, 1983; Kino G. S. y Chim S. S. C., 1990; Joenathan C., 1994), los métodos de medida (Brophy C. P., 1990, Hibino K., *et al.*, 1995; Larkin K. G., 1996; Kinnstaetter K., *et al.*, 1998), las propiedades de la fuente de iluminación (Biegen J. F., 1989) y también las perturbaciones externas como las turbulencias y las vibraciones mecánicas (De Groot P, 1995b). En la literatura hay muchas descripciones de estos sistemas (Török P. y Kao F. J., 2003) pero aquí sólo se describirán los más importantes, y sólo se hará énfasis en el sistema interferométrico tipo Mirau.

**2.2.1 Descripción General.** Basados en los principios básicos de la interferometría, se han creado varios esquemas de microscopios interferométricos útiles para la perfilometría de superficies. Entre estos esquemas se tienen los microscopios interferométricos tipo Mirau, Link, Michelson y Confocal (Ver figura 26), cada uno con varias ventajas y desventajas. Para magnificaciones altas es ventajoso utilizar el microscopio interferencial de Linnik en el cual se adaptan dos objetivos de microscopio con aperturas numéricas altas con corrección de aberraciones cromáticas y esféricas. La principal desventaja de este tipo de microscopio es su sensibilidad a las vibraciones y a las corrientes de aire, sin embargo estas vibraciones son evitadas en tomografía de coherencia óptica empleando técnicas de heterodinaje que rechazan las variaciones de frecuencia baja en la señal. Los microscopios interferenciales Mirau y Michelson requieren de un solo objetivo de microscopio (Deck. L y De Groot P., 1994). La diferencia entre estos dos tipos es el posicionamiento del divisor de haz y la superficie de referencia. En el sistema Mirau el divisor de haz y el espejo de referencia están posicionados entre el objetivo y la superficie de prueba, mientras que en el del tipo Michelson se usa un objetivo de microscopio con una gran distancia de trabajo para acomodar el divisor de haz entre el objetivo y la superficie de prueba. Estos dos métodos, y en particular el Michelson son de apertura limitada, comparada con lo sistemas confocal y Linnik. Por otro lado, el concepto de microscopio interferencial confocal es quizá diferente de los otros métodos. Este tipo de microscopio está basado en la técnica de detección punto por punto, lo cual requiere de un pinhole\*\* en frente de un detector. Debido a esto, la distorsión del frente de onda del haz de referencia se puede ignorar. En la práctica desde luego, el tamaño del pinhole debe ser finito y el frente de onda del haz de referencia sobre el área del pinhole afecta el desempeño total. El pinhole puede ser reemplazado por una fibra monomodo. En este caso, la fibra actúa como un detector coherente, así que únicamente son detectados las componentes del objeto y el haz de referencia que se adaptan al perfil (Garzón J. *et al.*, 2004b; Shi K. *et al.*, 2004).

---

\*\* Término que en inglés se refiere a una lámina con un orificio muy diminuto.

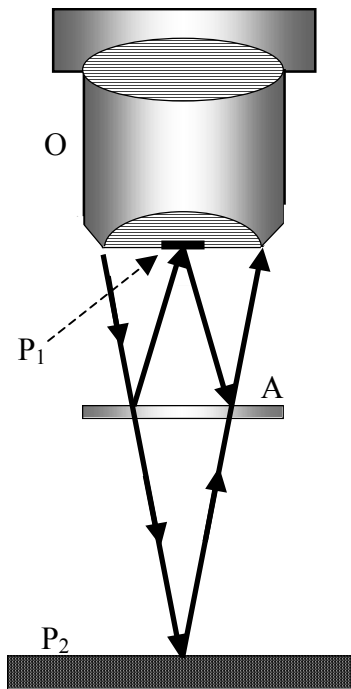
**Figura 26.** Diferentes tipos de microscopios interferenciales. C: Cámara CCD, LC: Lente condensadora, SR: Superficie de referencia, OM': Objetivo Mirau, OM: Objetivo de microscopio, DH: Divisor de haz, M: Muestra, E: Espejo, DP: Detector puntual, P: Pinhole. **(a)** Mirau. **(b)** Linnik. **(c)** Michelson. **(d)** Confocal.



En este trabajo se utilizó un sistema de microscopio tipo Mirau, su descripción se presenta en la siguiente sección.

**2.2.2 Sistema de Microscopia Interferencial Tipo Mirau.** Un sistema de microscopio tipo Mirau está constituido por microscopio de reflexión el cual tiene un objetivo de microscopio tipo Mirau.

**Figura 2.7.** Objetivo de microscopio interferométrico Mirau. O: Objetivo, P<sub>1</sub>: Espejo de referencia. A: Lámina separatriz. P<sub>2</sub>: Muestra.



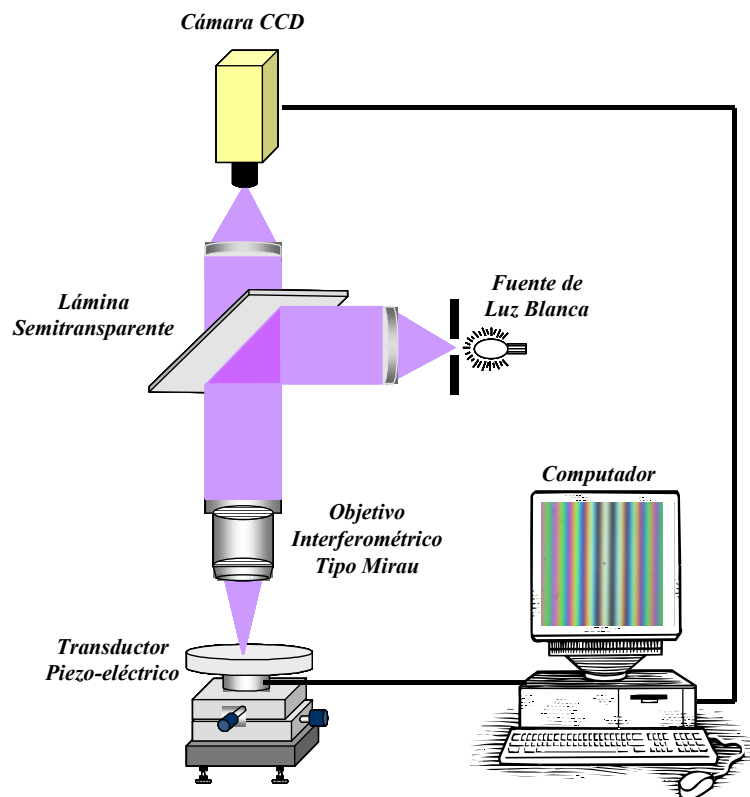
**Objetivo Mirau.** El objetivo interferométrico Mirau, figura 27, tiene una placa semi-reflectiva A entre el objetivo y la muestra, y un espejo de referencia P<sub>1</sub> sobre el centro de su componente frontal. Cuando un haz pasa a través del objetivo, parte de él se transmite hacia la muestra y parte se refleja por la presencia de la lámina separatriz A. El haz reflejado va al espejo de referencia P<sub>1</sub>, regresa a A y se superpone con el reflejado por el objeto P<sub>2</sub>. Así la señal de correlación de los dos haces es vista por el objetivo O. El contacto óptico se lleva a cabo cuando el camino óptico entre la lámina

semitransparente A y el espejo de referencia  $P_1$  es igual al camino óptico entre la lámina semitransparente A y el objeto  $P_2$  (Kino G. S. y Chim S. S. C., 1990).

### 2.3 DISPOSITIVO EXPERIMENTAL.

La figura 28 muestra el diagrama de un sistema de microscopía interferencial Mirau. El sistema está constituido por un microscopio de reflexión metalográfico Eclipse 600, marca Nikon, acondicionado con un objetivo Mirau de 20× de apertura numérica (NA) de 0.4 y una distancia de trabajo (WD) de 3.4 mm, un transductor piezoeléctrico (TPE) marca Jena, sincronizado con un sistema de adquisición de imágenes el cual está conformado por una tarjeta de la empresa Matrox de referencia Meteor II y una cámara de video monocroma Sony..

**Figura 28.** Esquema representativo de un sistema de microscopía interferencial tipo Mirau.



El TPE es manejado por un sistema de control digital que consta de una interfase, un convertidor analógico digital que convierte señales TTL en diferencias de potencial y un amplificador graduable que permite variar la dinámica de los desplazamientos axiales en un rango máximo de 13.5  $\mu\text{m}$ , con desplazamientos discretos de 3,3 nm. En este dispositivo, la muestra está sujeta al TPE y a la vez el TPE está sobre un portaobjetos acondicionado con microdesplazamientos que permiten tener dos grados de libertad rotacionales y dos traslacionales, para un total de cinco grados de libertad. El campo de observación del sistema es de 309.120  $\mu\text{m} \times 231.840 \mu\text{m}$  dado por una escala de 0.483  $\mu\text{m}/\text{píxel}$ , así la resolución trasversal del sistema es de 0.684  $\mu\text{m}$ , correspondiente a la diagonal de un píxel.

## 2.4 ANÁLISIS DE FRANJAS DE INTERFERENCIA

**2.4.1 Análisis de Franjas de Interferencia de Luz Policromática.** Si en el sistema mostrado en la figura 28 se utiliza una iluminación policromática, incoherente espacialmente y de banda ancha, las reflexiones sobre la muestra, localizada en el TPE, son combinadas con las reflexiones provenientes del espejo de referencia, localizado en el objetivo Mirau. El campo eléctrico  $E(t)$  de la luz que llega al detector es la superposición de la luz que proviene de la muestra y el espejo de referencia:

$$E(t) = E_s(t) + E_r(t + \tau) \quad (2.1)$$

Donde  $E_s$  y  $E_r$  son respectivamente las amplitudes ópticas del haz señal y de haz referencia. La cantidad  $\tau$  es el tiempo de retraso debido a la diferencia de longitud en los caminos ópticos de los dos haces. La intensidad medida por el detector está dada por:

$$I_d(\tau) = \langle |E|^2 \rangle = \langle [E_s(t) + E_r(t + \tau)][E_s^*(t) + E_r^*(t + \tau)] \rangle \quad (2.2)$$

Así:

$$I_d(\tau) = I_s + I_r + 2(I_s I_r)^{1/2} \text{Re}\{\gamma(\tau)\} \quad (2.3)$$

Donde  $\gamma(\tau)$  es el grado complejo de coherencia mutua, expresado como:

$$\gamma(\tau) = \frac{\langle E_s^*(\tau) E_r(t+\tau) \rangle}{(I_s I_r)^{1/2}} \quad (2.4)$$

En general el grado complejo de coherencia mutua incluye los efectos de coherencia espacial y temporal. Para un interferómetro de amplitud como el interferómetro Mirau, la coherencia espacial se puede despreciar para un único punto sobre la fuente incoherente espacialmente, así la coherencia mutua se reduce a la auto-coherencia o coherencia temporal, en este caso:

$$I_d(\tau) = I_s + I_r + 2(I_s I_r)^{1/2} \text{Re}\{\gamma_{1c}(\tau)\} \quad (2.5)$$

Donde  $\text{Re}\{\gamma_{1c}(\tau)\}$  denota la parte real del grado complejo de coherencia temporal de la fuente de luz. Su forma normalizada está dada por  $\gamma_{11}(\tau)$ :

$$\gamma_{11}(\tau) = \frac{\Gamma_{11}(\tau)}{\Gamma_{11}(0)} \quad (2.6)$$

Donde  $\Gamma_{11} = \langle E(t+\tau)E^*(\tau) \rangle$ . La subscripción 11, corresponde a un único punto sobre la fuente incoherente. El grado complejo de coherencia normalizado de la fuente de luz es dado por la transformada de Fourier de la densidad espectral de energía. Sí la fuente de luz policromática tiene una densidad espectral de energía gaussiana:

$$G(f) = G_0 \exp\left[-\left(\frac{f - \bar{f}}{\Delta f}\right)^2\right] \quad (2.7)$$

Donde  $G_0$  es una constante,  $\Delta f$  representa el ancho espectral de la fuente y  $\bar{f}$  es la frecuencia media, el grado complejo de coherencia temporal  $\gamma_{11}(\tau)$  estará dado por:

$$\gamma_{11}(\tau) = G_0 \int_{-\infty}^{\infty} \exp\left[-\left(\frac{f - \bar{f}}{\Delta f}\right)^2\right] \exp(-i2\pi f\tau) df \quad (2.8)$$

Teniendo en cuenta que  $\gamma_{11}(0) = 1$ , se tiene que:

$$\gamma_{1c}(\tau) = \exp[-(\pi\tau\Delta f)^2] \exp(-i2\pi\bar{f}\tau) \quad (2.9)$$

Así la ecuación 2.3, se puede escribir como:

$$I(\tau) = I_s + I_r + 2(I_s I_r)^{1/2} \exp[-(\pi\tau\Delta f)^2] \cos(2\pi\bar{f}\tau) \quad (2.10)$$

o

$$I_d(\tau) = I_0 [1 + V(\tau) \cos(2\pi\bar{f}\tau)] \quad (2.11)$$

Donde  $I_0$  es la intensidad del fondo,  $V$  es la función contraste de las franjas o envolvente del patrón de franjas observado. Esta función  $V$  está dada por:

$$V(\tau) = \frac{2(I_s I_d)^{1/2}}{I_s + I_d} \exp[-(\pi\tau\Delta f)^2] \quad (2.12)$$

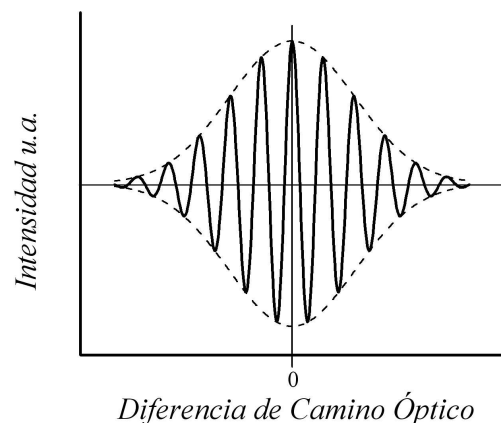
Sí en el sistema de la figura 28 el origen de coordenadas es tomado sobre un punto  $z$  en la dirección axial, donde los dos caminos ópticos son iguales, y la superficie de

prueba es movida a lo largo del eje  $z$  en una serie de pasos de tamaño  $\Delta z$ , entonces la intensidad sobre un punto  $(x,y)$  en el plano de la imagen correspondiente a un punto del objeto de altura  $h$ , se puede escribir como:

$$I_d(\tau) = I_s + I_r + 2(I_s I_r)^{1/2} \gamma\left(\frac{p}{c}\right) \cos\left[\left(\frac{2\pi}{\bar{\lambda}}\right)p + \phi_0\right] \quad (2.13)$$

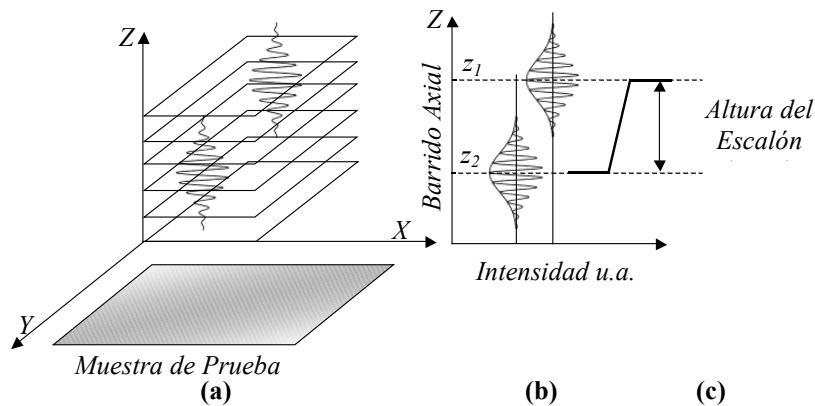
Donde  $I_s$  e  $I_r$  son las intensidades de los dos haces que actúan independientemente,  $\gamma(p/c)$  es el grado complejo de coherencia (correspondiente a la visibilidad de la envolvente de las franjas de interferencia), y  $\cos\left[\left(\frac{2\pi}{\bar{\lambda}}\right)p + \phi_0\right]$  es una modulación cosenoidal donde  $\bar{\lambda}$  corresponde a la longitud de onda media de la fuente,  $p = 2(z - h)$  es la diferencia de las longitudes de los caminos ópticos atravesados por los dos haces y  $\phi_0$  es la diferencia del corrimiento de fase debido a las reflexiones sobre el divisor de haz y los espejos. La figura 29, muestra las variaciones de intensidad dadas sobre el punto de la imagen cuando un objeto es barrido axialmente.

**Figura 29.** Señal de salida a lo largo del eje  $z$  de un interferómetro iluminado con luz blanca en función de la posición de uno de los espejos terminales. La línea punteada representa la envolvente de las franjas.



Cada píxel produce en la dirección  $z$  patrones de interferencia similares, figura 30(a). Estos patrones se pueden procesar para obtener la envolvente de las variaciones de intensidad (función visibilidad). Por tanto se puede determinar la amplitud del pico de las variaciones de intensidad y la localización del pico a lo largo del eje de barrido, figura 30(b). Los valores de la amplitud del pico dan una imagen de auto foco del objeto de prueba (análogo a la técnica utilizada en microscopía confocal), mientras los valores de localización de esos picos a lo largo del eje de barrido producen la altura de la superficie sobre el correspondiente punto. Figura 30(c).

**Figura 30.** Representación de diferentes etapas en perfilometría de superficies utilizando luz blanca. **(a)** Serie de interferogramas obtenidos cuando la muestra es movida en la dirección  $z$ . **(b)** Procesamiento de dos píxeles muestreados en el interferograma usando la detección del pico. La línea punteada corresponde a la envolvente **(c)** Localización del pico a lo largo del eje  $z$  correspondiente a la altura de la superficie, permitiendo reconstruir su topografía.



**Detección de máximos.** La Detección de máximos es una técnica que aprovecha la propiedad de los interferogramas producidos por una fuente policromática. Según la ecuación 2.11, las franjas se encuentran moduladas por una envolvente  $V(\tau)$  presentando un máximo de intensidad en puntos donde la diferencia de camino óptico es cero. Como se dijo anteriormente, el problema radica en localizar la posición de máxima intensidad del interferograma para todos los puntos de la muestra, desplazando en dirección  $z$  uno de los brazos del interferómetro Mirau, es decir que el método busca que el desplazamiento  $z$  realizado por el TPE sea tal que la franja brillante del interferograma recorra todos los puntos de la muestra almacenando estas

posiciones en una imagen de 256 niveles o más, donde cada nivel se asocia con una altura. Si  $\Delta z$  es el paso del TPE la resolución axial del sistema queda determinado por:

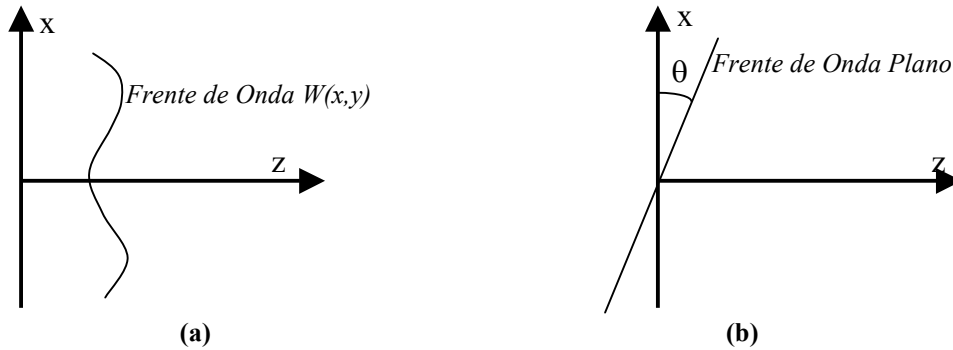
$$R = \Delta z \left[ \frac{z}{256} + 1 \right] \quad (2.14)$$

#### 2.4.2 Análisis de Franjas de Interferencia de Luz Cuasimonocromática.

Consideremos un interferograma de dos ondas con un frente de onda plano, el cual tiene una inclinación positiva alrededor del eje  $y$ , y un frente de onda de prueba cuyas deformaciones con respecto a una superficie plana sin inclinación están dadas por  $W(x, y)$ . Esta inclinación es positiva cuando es presentado como en la figura 31. La amplitud compleja del campo eléctrico en el plano de observación, donde las ondas interfieren, es la suma de las dos ondas:

$$E(x, y) = E_s(x, y) \exp[ikW(x, y)] + E_r(x, y) \exp[i(k x \text{sen} \theta)] \quad (2.15)$$

**Figura 31.** Frentes de onda que interfieren mostrados de manera separada. **(a)** Frente de onda a medir. **(b)** Frente de onda de referencia.



Donde  $E_s$  es la amplitud óptica del haz de luz del frente de onda bajo prueba,  $E_r$  es la amplitud óptica del haz de luz con el frente de onda de referencia y  $k = 2\pi/\lambda$ . Aquí la intensidad  $I_d(x, y)$  está dada por:

$$I_d = \langle E E^* \rangle = \langle E_s^2 \rangle + \langle E_r^2 \rangle + 2\langle E_s E_r \rangle \cos k[x \sin \theta - W(x, y)] \quad (2.16)$$

Donde se ha introducido la inclinación opcional  $\theta$  alrededor del eje  $y$  entre los dos frentes de onda. Entonces la función intensidad  $I_d(x, y)$  se puede expresar como:

$$I_d(x, y) = I_s(x, y) + I_r(x, y) + 2\sqrt{I_s(x, y) I_r(x, y)} \cos \phi(x, y) \quad (2.17)$$

$I_s(x, y)$  e  $I_r(x, y)$  son las intensidades de los dos haces y la diferencia de fase entre ellos es dada por  $\phi(x, y) = k[x \sin \theta - W(x, y)]$ . Por conveniencia la ecuación 2.17 se puede escribir como:

$$I(x, y) = a(x, y) + b(x, y) \cos \phi(x, y) \quad (2.18)$$

Al usar una fuente de luz monocromática las variaciones de los valores  $a(x, y)$  y  $b(x, y)$  dentro del interferograma son más suaves que las variaciones del término del coseno. Este resultado implica que si la deformación del frente de onda del haz de prueba se debe a la forma de una superficie, entonces la información de la topografía se encuentra codificada en la fase del término del coseno (Takeda M., *et al.*, 1982).

La intensidad máxima en la vecindad del punto  $(x, y)$  en este interferograma está dado por:

$$I_{\max}(x, y) = I_s(x, y) + I_r(x, y) + 2\sqrt{I_s(x, y) I_r(x, y)} \quad (2.19)$$

y el mínimo de intensidad en la misma vecindad es dado por:

$$I_{\min}(x, y) = I_s(x, y) + I_r(x, y) - 2\sqrt{I_r(x, y) I_s(x, y)} \quad (2.20)$$

A partir de la ecuaciones 2.18, 2.19 y 2.20 se puede encontrar que la intensidad de la interferencia, medida por la visibilidad  $V$ , también llamada profundidad de la modulación o contraste del patrón de interferencia y definida por  $V(x,y)=(I_{\max} - I_{\min})/(I_{\max} + I_{\min})$  (Saleh B. E. A. y Teich M. C, 1991), toma la forma:

$$V(x,y) = \frac{2\sqrt{I_r(x,y)I_s(x,y)}}{I_r(x,y) + I_s(x,y)} = \frac{b(x,y)}{a(x,y)} \quad (2.21)$$

Algunas veces la ecuación 2.17, se puede escribir como:

$$I(x,y) = I_0(x,y)\{1 + V(x,y)\cos\phi(x,y)\} \quad (2.22)$$

donde  $I_0(x,y) = a(x,y)$  es la intensidad media.

**Interferometría de Corrimiento de Fase.** La interferometría de corrimiento de fase es un método especialmente utilizado para medir las distribuciones de fase bidimensionales. Midiendo los cambios de intensidades para diferentes corrimientos de fase, es posible determinar la fase del frente de onda de prueba relativo al frente de onda de referencia. La señal de intensidad sobre el punto  $(x,y)$  en el detector cambia con la fase como:

$$I_d(x,y,\varphi) = I_0(x,y)\{1 + V(x,y)\cos(\phi(x,y) - \varphi_i)\} \quad (2.23)$$

Donde  $\phi(x,y)$  es la fase sobre el origen, la cual va a ser medida y  $\varphi_i$  es un corrimiento de fase conocido con respecto al origen. Midiendo la fase para muchos puntos sobre el frente de onda total se puede determinar la forma total del frente de onda.

En general el método utiliza variables arbitrarias de la fase de referencia para generar un conjunto de  $I_i$  valores de intensidad. Esto se logra variando  $\varphi_i, i = 1, 2, \dots, R$ , en un periodo de  $2\pi$ , sobre el patrón de franjas:

$$\varphi_i = \frac{(i-1)2\pi}{R} \quad i=1,2,\dots,R \quad (2.24)$$

Considerando únicamente un punto  $(x_o, y_o)$  sobre la pupila de salida del interferómetro, entonces la ecuación. (2.23) puede ser escrita como:

$$I_i = I_0 \{1 + V \cos(\phi - \varphi_i)\} \quad (2.25)$$

El conjunto de valores  $I_i$  es procesado haciendo uso de las propiedades de ortogonalidad de las funciones trigonométricas. Entonces generamos dos expresiones con las cuales se calcula la fase. Ellas son:

$$\sum_{i=1}^R I_i \cos \varphi_i = I_0 V \cos \phi \frac{R}{2} \quad (2.26)$$

$$\sum_{i=1}^R I_i \sin \varphi_i = I_0 V \sin \phi \frac{R}{2} \quad (2.27)$$

Dividiendo (2.26) en (2.27) produce la fase.

$$\tan \phi = \frac{\sum_{i=1}^R I_i \sin \varphi_i}{\sum_{i=1}^R I_i \cos \varphi_i} \quad (2.28)$$

Para el caso de un microscopio provisto de un objetivo interferométrico tipo Mirau, la ecuación 2.28 puede utilizarse para deducir el perfil  $z_D(x, y)$  de una superficie:

$$z_D(x, y) = \frac{\lambda_0 \phi(x, y)}{4\pi} \quad (2.29)$$

**Algoritmo de 4 Pasos para la Detección de la Fase.** Dado que en la ecuación 2.18 se tienen tres incógnitas, es decir,  $a(x, y)$ ,  $b(x, y)$  y  $\phi(x, y)$ , sólo se necesitan tres medidas de la señal para determinar el valor de fase  $\phi(x, y)$ , sin embargo pequeños errores de medida pueden tener gran impacto en el resultado. En tal caso, el método de los cuatro pasos,  $R = 4$  (cuatro imágenes) en la ecuación 2.24, da mejores resultados. Algunos autores han propuesto más pasos, (Malacara D., Servin M., y Malacara Z., 1998a), pero en este trabajo se optó por  $R = 4$ . Estos valores de intensidad son medidos usando cuatro valores diferentes de fase, los cuales se pueden obtener a partir de las ecuaciones 2.18, 2.24 y 2.25:

$$\begin{aligned} I_1(x, y) &= a(x, y) + b(x, y) \cos[\phi(x, y)] \\ I_2(x, y) &= a(x, y) + b(x, y) \cos[\phi(x, y) - \pi/2] \\ I_3(x, y) &= a(x, y) + b(x, y) \cos[\phi(x, y) - \pi] \\ I_4(x, y) &= a(x, y) + b(x, y) \cos[\phi(x, y) - 3\pi/2] \end{aligned} \quad (2.30)$$

A partir de la ecuación 2.28 el valor de fase es:

$$\tan \phi = \frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3} \quad (2.31)$$

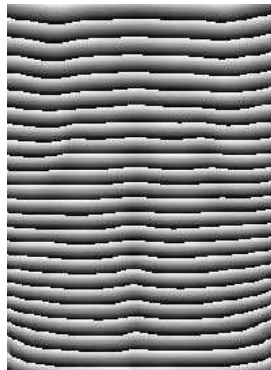
**Corrección de Fase.** Para la técnica antes expuesta observamos que al calcular los valores de fase dados por la ecuación 2.31 o en general la 2.28, la función arcotangente involucra un proceso de estimación de fase como el ilustrado en la tabla 4, por lo cual la fase toma valores entre  $-\pi$  y  $\pi$  presentándose una discontinuidad en ella. Un ejemplo del mapa de fase es dado en la figura 32 (Garzón R. J. *et al.*, 2002a),

donde la dinámica  $2\pi$  es representada en niveles de gris. Negro representa el valor de fase  $-\pi$  y blanco el valor de  $\pi$ . Todos los otros niveles de gris intermedios representan valores de fase mapeados linealmente.

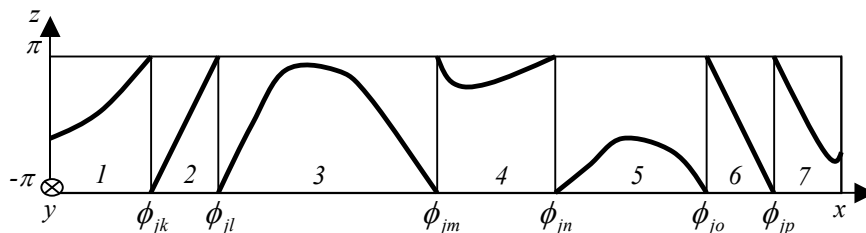
**Tabla 4.** Fase y rango de valores en la expresión para tangente. Los valores en el numerador son  $\text{sen}(\phi)$  y en el denominador  $\text{cos}(\phi)$ .

$\text{sen}(\phi)$	$\text{cos}(\phi)$	Fase Ajustada	Rango de Valores de $\phi$
$> 0$	$> 0$	$\phi$	$0 - \pi/2$
$> 0$	$< 0$	$\pi - \phi$	$\pi/2 - \pi$
$< 0$	$< 0$	$\phi + \pi$	$\pi - 3\pi/2$
$< 0$	$> 0$	$2\pi - \phi$	$3\pi/2 - 2\pi$
$> 0$	$0$	$\pi/2$	$\pi/2$
$0$	$< 0$	$\pi$	$\pi$
$< 0$	$0$	$3\pi/2$	$3\pi/2$
$0$	$\geq 0$	$0$	$0$

**Figura 32.** Ejemplo de una distribución de fase sin corregir. Negro representa el valor de fase  $-\pi$  y blanco el valor de  $\pi$ . Todos los otros niveles de gris intermedios están mapeados linealmente.



**Figura 33.** Fase arbitraria discontinua. En este diagrama el eje  $y$ , entra al plano de la hoja. Los valores  $\phi_{ji}$  representan puntos de la distribución de fase en la fila  $j$ -ésima (dirección  $x$ ) y columna  $i$ -ésima (dirección  $y$ ). La numeración rotula cada región.



La figura 33 muestra la discontinuidad de una fila de otra fase arbitraria. Para eliminar las discontinuidades es necesario realizar una corrección de fase, trayendo como consecuencia una ambigüedad en la determinación de las variaciones de fase mayores a  $2\pi$  entre puntos adyacentes. Esto hace que en un momento dado no todos los puntos de una muestra específica puedan ser calculados, produciendo errores sistemáticos en las medidas de algunos parámetros (Stout K. J. *et al.*, 1995) de una superficie. Algunos métodos que intentan superar esta falencia involucran la aplicación simultánea de detección de máximos (iluminación policromática) y corrimiento de fase (iluminación cuasimonocromática) (Suárez M. A. *et al.*, 2004) simultáneamente.

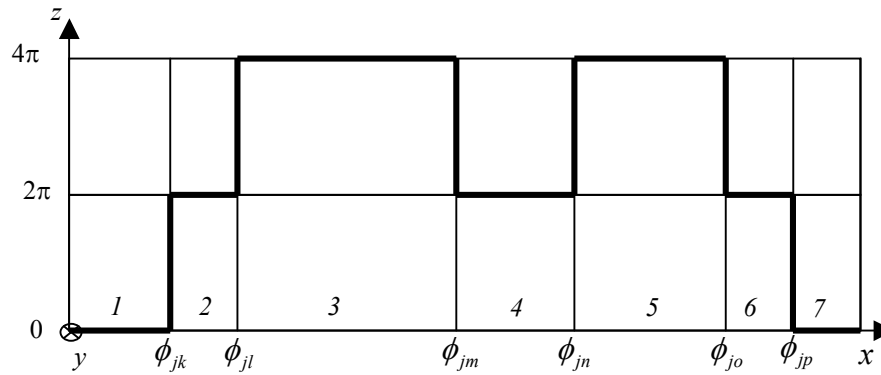
Para superar las discontinuidades, construimos una fase de compensación mediante la aplicación recursiva de la siguiente expresión (De Groot P. y Deck. L, 1995; Garzón J. *et al.*, 2002a):

$$\phi_j = \phi_j - 2\pi \text{Int} \left\{ \frac{\phi_j - \phi_{j\pm 1}}{2\pi} \right\} \quad (2.32)$$

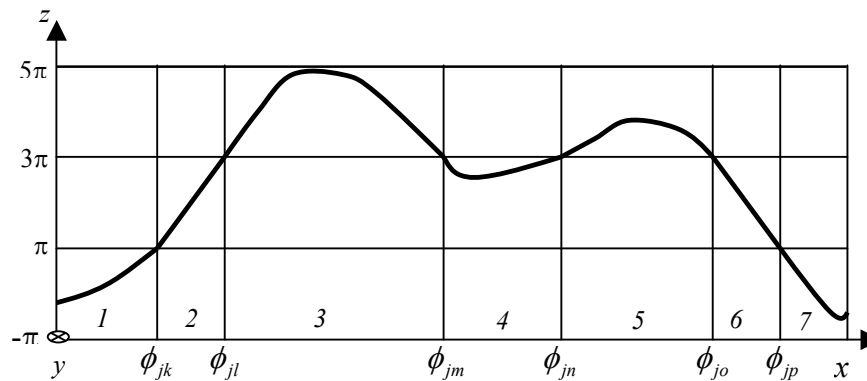
Donde el signo  $\pm$  se aplica si la recursión está en la dirección de incremento o decremento de los valores de  $j$ . La función  $\text{Int}\{ \}$  retorna el valor del entero más cercano a su argumento, y es usado para forzar la continuidad entre los valores adyacentes de la fase. Es decir, que el segundo término del miembro derecho de la ecuación 2.32 define la fase de compensación  $\phi_{comp}$ . El resultado de aplicar esta relación sobre la distribución de fase mostrada en la figura 33 es presentada en la figura 34.

Después de obtener la fase de compensación  $\phi_{comp}$ , se suma a la distribución de fase original para producir una distribución de fase continua; el resultado es mostrado en la figura 35.

**Figura 34.** Fase de compensación  $\phi_{comp}$



**Figura 35.** Distribución de fase arbitraria continua.



De esta manera la información codificada en la fase mediante la ecuación 2.29, queda dispuesta en una imagen rango, cuya visualización 3D muestra la forma de la superficie.

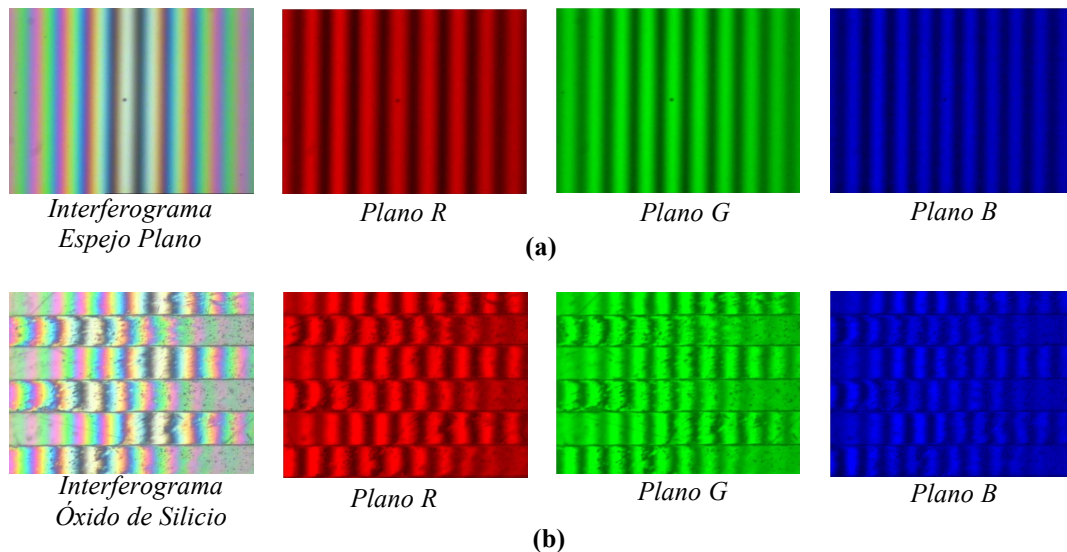
## 2.5 RESULTADOS EXPERIMENTALES

En esta sección se presentan los resultados experimentales obtenidos con el sistema implementado en la figura 28.

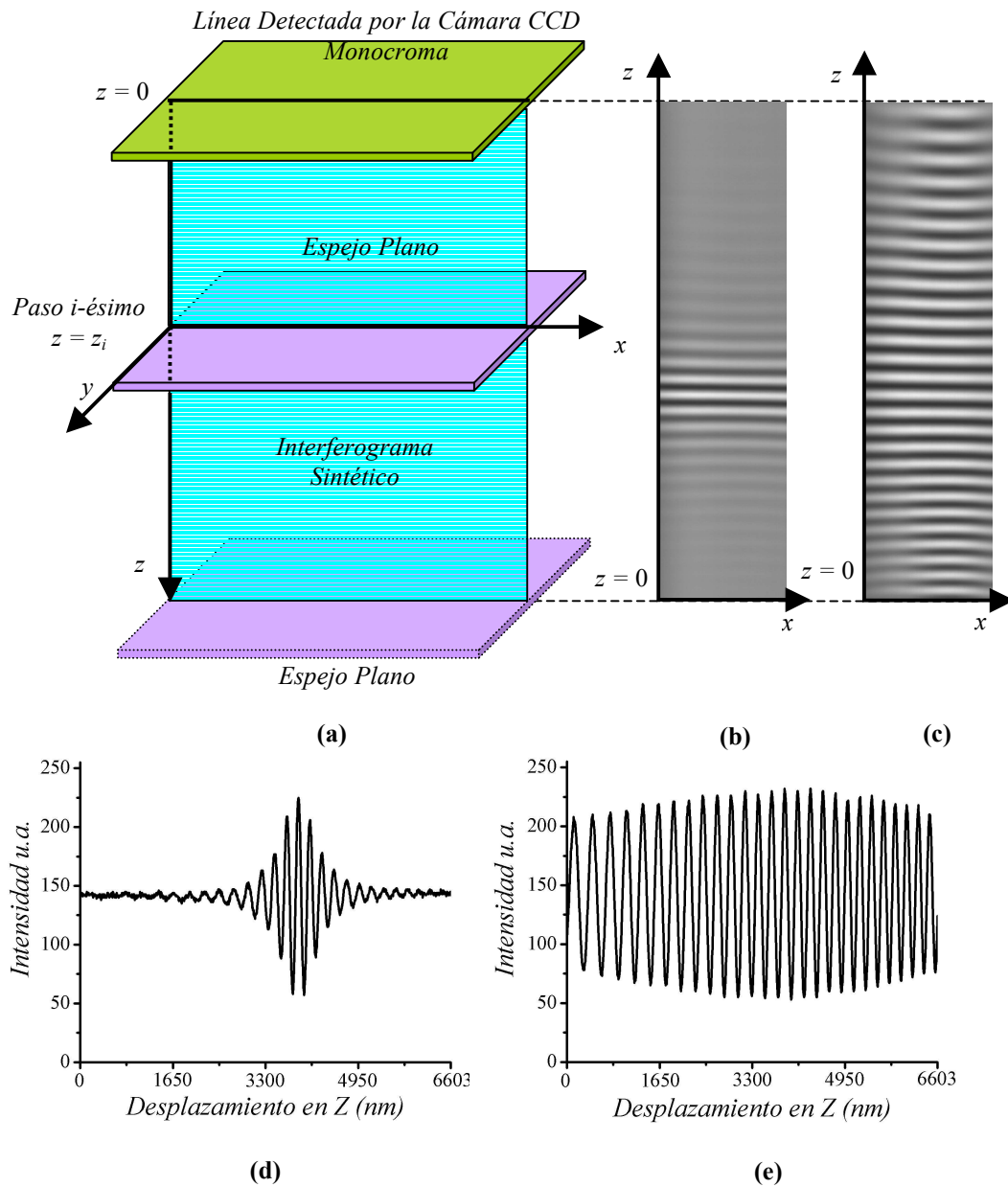
**2.5.1 Interferogramas con Luz Policromática.** La figura 36(a), muestra el interferograma de luz blanca obtenido utilizando un espejo plano como muestra. Aquí la fuente de iluminación es una lámpara halógena, la cual genera un espectro continuo

en el rango visible del espectro electromagnético. Los diferentes interferogramas de las componentes espectrales de la fuente de iluminación se superponen, generando un interferograma policromático. La franja del centro corresponde a la franja de orden cero. La imagen fue tomada con una cámara CCD a color de la compañía JVC. El interferograma fue producido con un objetivo de microscopio Mirau, de 20X de apertura numérica de 0.4. El Campo de observación fue de 160  $\mu\text{m}$  por 150  $\mu\text{m}$ . La figura 36(b) presenta el interferograma policromático sobre una muestra de óxido de silicio. Tanto en la figura 36(a) como en la 36(b) se observan los planos RGB de la imagen en color verdadero del interferograma. En esta situación se puede observar el filtrado que hace la cámara CCD, los cuales podrían asociarse a interferogramas monocromas. Su estudio en un barrido axial del TPE es una de las principales perspectivas de la interferometría diferencial (Desse, J. M. 1997) en color verdadero, en busca de algoritmos útiles para la reconstrucción 3D y para el análisis de las propiedades de reflectividad cromática de muestras.

**Figura 36.** Franjas de luz blanca obtenidas con una lámpara halógena. Las imágenes fueron obtenidas con una cámara a color. Cada interferograma presenta su respectivos planos RGB .(a) La muestra es un espejo plano.(b) Muestra es de óxido de silicio.



**Figura 37** (a) Análisis al variar la posición en  $z$  por medio del TPE en una línea de la muestra. (b) Interferograma sintético resultante cuando la fuente de iluminación es luz blanca. (c) Interferograma sintético para una fuente de luz blanca con un filtro interferencial. (d) Perfil del interferogramas sintéticos de luz blanca. (e) Perfil del interferogramas sintéticos de luz blanca con filtro interferencial.



**2.5.2 Barrido Axial con Diferentes Fuentes de Iluminación.** Ajustando el portaobjetos del microscopio por medio de los microdesplazamientos rotacionales, figura 28, se puede ensanchar la franja de orden cero, en busca del paralelismo con el

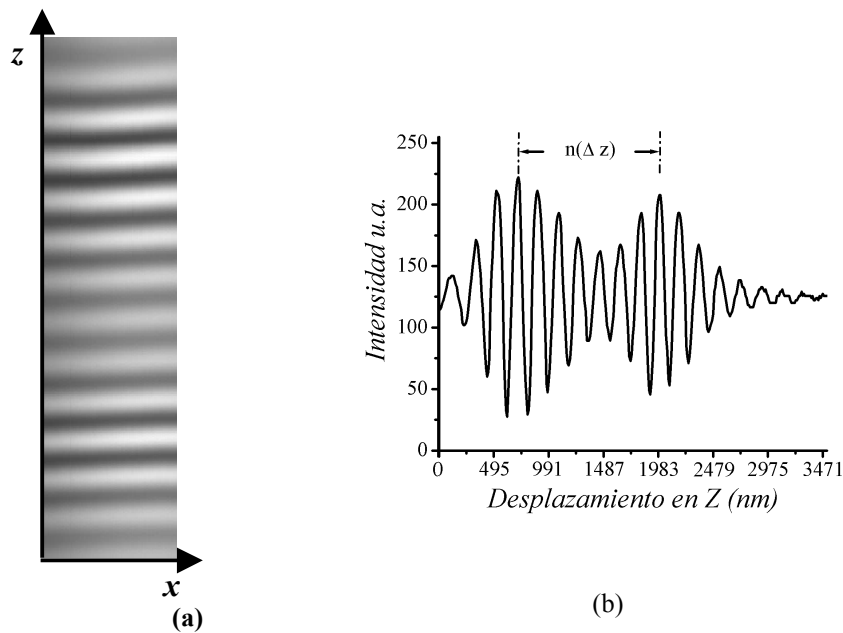
espejo de referencia. Seguidamente se realiza un barrido axial a pasos de 3,3 nm por medio del TPE y a medida que este se desplaza se registran los valores de intensidad de una línea en la dirección x de un sensor CCD monocroma. La figura 37(a) muestra las coordenadas del sensor CCD. La figura 37(b) muestra el interferograma sintético resultante cuando la fuente de iluminación es luz blanca proveniente de la lámpara halógena. La figura 37(c) muestra el interferograma sintético resultante cuando la fuente de iluminación de luz blanca es filtrada con un filtro interferencial de  $632 \pm 10$  nm. Cada fila del interferograma sintético corresponde a la distribución de intensidad luminosa registrada por la CCD sobre una fila del objeto y a una posición  $z_i$  de TPE. El número de filas del interferograma sintético corresponde al número de desplazamientos realizados por el TPE. Las figuras 37(d) y 37(e) muestran los cortes de los interferogramas sintéticos de luz blanca y luz blanca con filtro interferencial respectivamente; claramente se observa en ambas situaciones la forma de la envolvente predicha en la ecuaciones 2.12 y 2.21. En el interferograma sintético de luz blanca se puede observar la posición en la cual el espejo entra en contacto óptico con el espejo de referencia. Las longitudes de coherencia medidas para ambas fuentes fueron de  $3.75\mu\text{m}$  y  $9\mu\text{m}$  respectivamente. La longitud de onda promedio de la fuente de luz blanca fue de 551 nm.

**2.5.3 Medición de Espesores en Películas Delgadas Semitransparentes.** Ante la variedad de métodos (Alexandrov S. y Chemyh I. V., 2000) para conocer el espesor y el índice de refracción de algunos materiales semitransparentes, existe otra característica que se puede observar en la interferometría con luz blanca y es la variación del interferograma cuando se introduce una muestra que contiene una película delgada semitransparente (Shabana H. M., 2004). En principio el espesor de una película delgada está determinado por la diferencia de posiciones  $(x,y,z_f) - (x,y,z_i)$ . El interferograma sintético presenta dos sistemas de franjas, uno es producido por la interferencia entre los trenes de onda reflejados por la cara superior de la película delgada y el espejo de referencia; el otro sistema de franjas es producido por la

interferencia entre los trenes de onda reflejados por la superficie inferior de la muestra y el espejo de referencia.

En la figura 38 se presenta el interferograma sintético producido por una película de óxido de silicio semitransparente. En la parte inferior de la imagen, figura 38(a) observamos las franjas de interferencia cuando la cara superior de la película delgada entra en contacto óptico con el espejo de referencia. En la parte alta observamos las franjas de interferencia cuando la superficie inferior de la muestra entra en contacto óptico con el espejo de referencia; en este lugar el haz incidente ha atravesado el espesor de la película delgada y se ha reflejado. Sí el espesor óptico de la muestra,  $\Delta z'$ , es mayor que la longitud de coherencia, podemos observar dos patrones de franjas por separado, como en este caso.

**Figura 38.** (a) Interferograma sintético producido por una película de óxido de silicio semitransparente. (b) Perfil del interferograma sintético.



Sí  $f(x, y)$  representa la topografía de la cara inferior de la película y  $f'(x, y)$  la topografía de la cara superior, se tiene entonces que el espesor óptico  $\Delta z'(x, y)$  en el punto  $(x, y)$  está dado por:

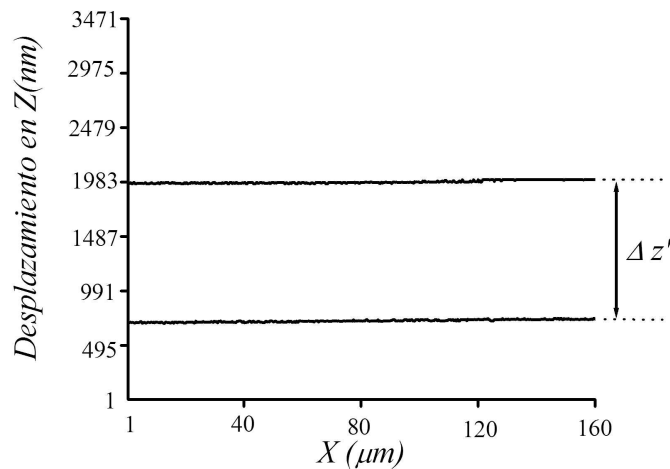
$$\Delta z'(x, y) = |f'(x, y) - f(x, y)| \quad (2.33)$$

Donde  $\Delta z'$  es la distancia entre los dos máximos, como se muestra en la figura 38(b). Involucrando el índice de refracción  $n$ , el espesor de  $e(x, y)$  está dado por:

$$e(x, y) = \frac{\Delta z'(x, y)}{n} \quad (2.34)$$

A partir del interferograma sintético se puede determinar la forma de la película delgada y el espesor de todos los puntos de la línea. En la figura 39, se muestra el resultado obtenido. La película tiene una forma plana. Para un valor del índice de refracción de 1.553, el espesor de la película  $e(x, y)$ , es de 829.74 nm con una resolución de 10 nm.

**Figura 39.** Forma de la película semitransparente de óxido de silicio.



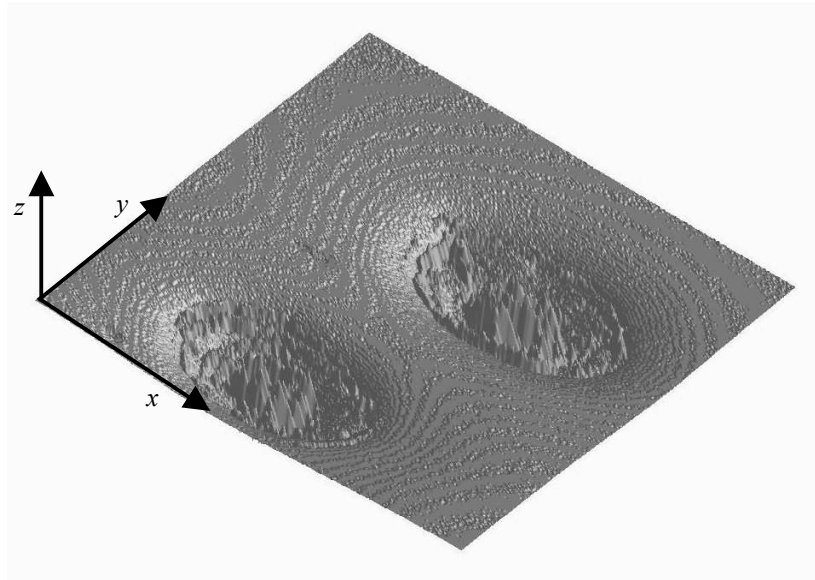
**2.5.4 Perfilometría con Luz Policromática.** La perfilometría con luz policromática fue implementada con base en la detección de máximos de intensidad explicada en la sección 2.4.1.

El método fue implementado mediante un sistema sincronizado entre el manejo del TPE y el sistema de adquisición de las imágenes. Se conservaron en memoria dos matrices. Una matriz de valores de intensidades máximas (MVIM) y la matriz de las posiciones de los máximos (MPM). La MVIM se actualiza para cada posición del TPE. Para una primera posición del TPE se almacena una primer MVIM. Para la segunda posición del TPE se compara punto a punto la imagen en esta posición con la MVIM anterior. Si en algún o algunos puntos aumenta la intensidad, el valor de intensidad para este o estos puntos se actualizan en la MVIM y seguidamente se almacena la posición del TPE para este o estos puntos en la MPM. Este procedimiento se realiza de manera sucesiva para cada paso del TPE. Al finalizar los desplazamientos del TPE, se tienen dos matrices con diferente información, una da información de los valores de los máximos de intensidad del interferograma para cada punto de la muestra y la otra da la posición de los máximos equivalente a la topografía de la muestra.

Con el objetivo de eludir errores en los puntos en los cuales no se alcanza a localizar el máximo, se conserva igualmente una matriz de intensidades mínimas. Así la diferencia entre la matriz de máximos y la matriz de mínimos da la información de la dinámica del interferograma, que sirve de criterio selectivo de los puntos no calculados, para los cuales es acostumbrado aplicar un filtrado no lineal para interpolar la información de la superficie.

Utilizando como fuente de iluminación la lámpara halógena y aplicando el algoritmo de detección de máximos de intensidad sobre una muestra de fundición esferoidal de grafito con matriz ferrítico perlítica, (ver capítulo 1, sección 1.3.1) se obtuvo la reconstrucción 3D de su superficie. El resultado es presentado en la figura 40. El objetivo interferométrico utilizado fue de 20 $\times$ , con una NA de 0.4 y WD de 3.4. El paso del TPE fue de 3.3 nm, el campo de observación fue de 309.120  $\mu\text{m}$   $\times$  231.840  $\mu\text{m}$ . La Altura entre el punto más bajo y el punto más alto, fue de 220 nm.

**Figura 40.** Reconstrucción 3D de la muestra de grafito utilizando iluminación policromática.

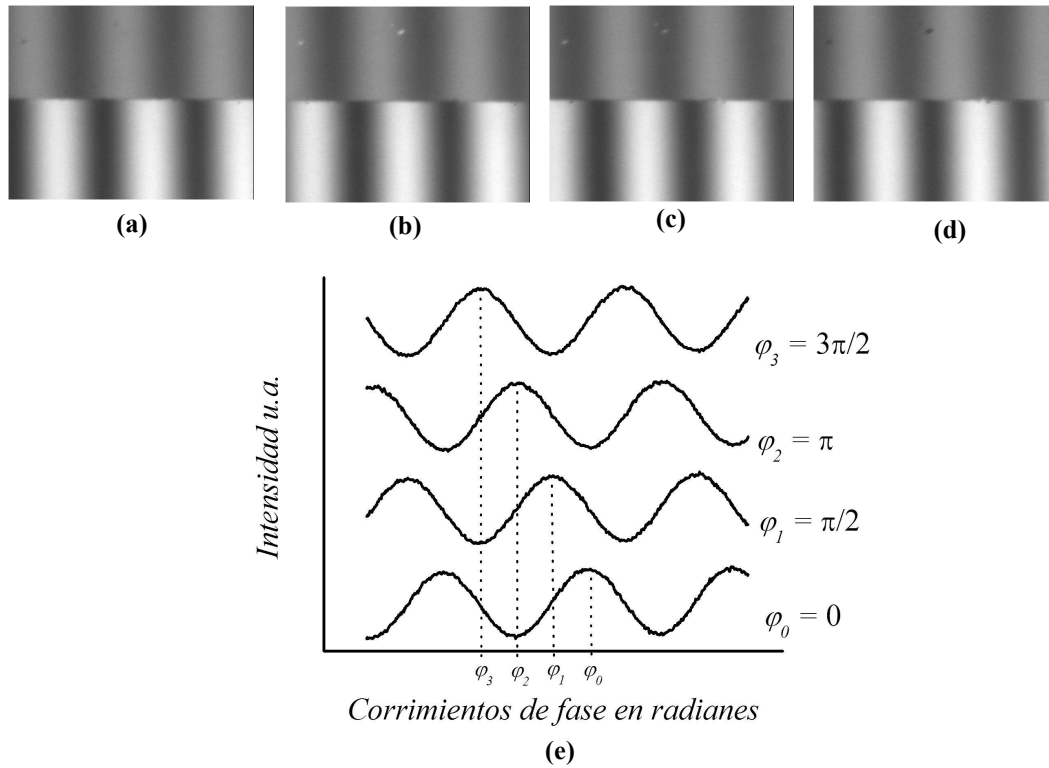


**2.5.5 Perfilometría con Luz Cuasimonocromática.** Como se mencionó en la sección 2.4.2, la perfilometría en luz cuasimonocromática está basado en el comportamiento del interferograma producido por una fuente cuasimonocromática. Para este experimento se tomó una muestra de cobre vidrio, un objetivo interferométrico Mirau de 20X con NA de 0.4 y WD de 3.4, y una fuente de iluminación cuasimonocromática de una longitud de onda de 528.9 nm. La fase fue calculada utilizando la técnica de corrimiento de fase a cuatro imágenes como lo estipula las ecuaciones 2.30. La figura 41 muestra los respectivos corrimientos.

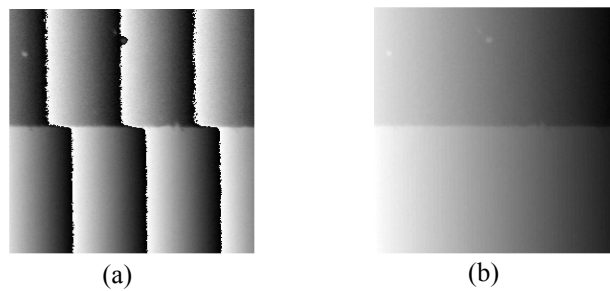
La discontinuidad en la fase hace que se aplique el método de corrección de fase explicado en la sección 2.4.2. La figura 42(a), muestra la fase discontinua y la figura 42(b) muestra la fase corregida.

Para observar la topografía de la muestra se realiza una visualización 3D de la imagen rango presentada en la figura 42(b). La figura 43 presenta este resultado.

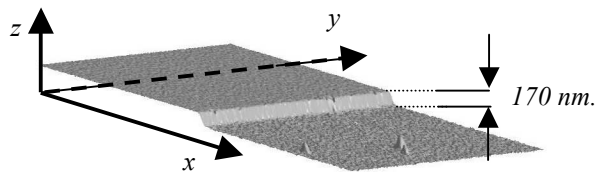
**Figura 41.** Interferogramas provenientes de una muestra de cobre vidrio para corrimientos de: **(a)** 0. **(b)**  $\pi/2$ . **(c)**  $\pi$ . **(d)**  $3\pi/2$ . **(e)** Perfil de cada uno de los interferogramas anteriores obtenido sobre la muestra de vidrio.



**Figura 42.** **(a)** Fase discontinua. **(b)** Fase continua.



**Figura 43.** Reconstrucción 3D de la muestra cobre vidrio mediante corrimiento de fase. La parte más alta corresponde al cobre.



## 2.6 CONCLUSIONES

Se ha implementado un sistema de microscopia interferencial Mirau que permite obtener la topografía de una superficie de una manera no destructiva, con una resolución axial de 10 nm y resolución transversal de 0.683  $\mu\text{m}$ , que dan cuenta de los detalles de una superficie para su posterior caracterización (Surface Roughness, 1984; Zahouani. H, 1989; Zahouani. H *et al.*, 1989). Para el dispositivo implementado, se hizo un análisis de las franjas de interferencia en luz blanca y cuasi-monocromática.

Para el caso de iluminación con luz blanca se hizo una descripción del método de detección de máximos de intensidad para la reconstrucción 3D de superficies. Mediante la construcción de interferogramas sintéticos se mostró el desempeño del sistema en la medida del índice de refracción y espesores en películas semitransparentes.

Para el caso de iluminación cuasi-monocromática se implementó un método de reconstrucción 3D basado en la interferometría de corrimiento de fase, donde se midieron los cambios de intensidades para cuatro corrimientos de fase, lo que permitió determinar la fase del frente de onda deformado por la superficie, relativo al frente de onda de referencia. Adicionalmente, se implementó un modo de corregir la fase, dado que el método de estimación de la fase presenta el resultado de manera discontinua, trayendo como consecuencia una indeterminación en el cálculo de la fase si sus discontinuidades son mayores a  $2\pi$ , siendo superada por la perfilometría de superficies con luz blanca.

Ambas técnicas comparten una perspectivas de trabajo, que consiste en la implementación en paralelo del algoritmo de detección de máximos (iluminación policromática) y corrimiento de fase (iluminación cuasi-monocromática), mediante la utilización de un cabezal doble en el microscopio de reflexión que permita posicionar

dos cámaras de video monocromáticas CCD. Este sistema buscaría la complementariedad de los métodos y la mejora de la dinámica de trabajo.

El sistema Mirau con luz blanca o en general con luz policromática, tiene una gran perspectiva de trabajo en tomografía de coherencia óptica, sí el método de creación de interferogramas sintéticos para la medición de espesores se puede implementar en tejidos vivos, como la piel (Courvoisier C. *et al.*, 2004). También se puede pensar en la reconstrucción 3D de las capas internas de este tejido, obviamente optimizando el sistema en cuanto a su fuente de iluminación y trabajando con un objetivo Mirau de mayor apertura numérica y mayor distancia de trabajo.

Otro estudio posible estará encaminado al análisis de reflectividad, cambios de fase por reflexión y evaluación de parámetros de textura (Garzón J. *et al.*, 2002b.) de muestras metalográficas.

Otra perspectiva está asociada a los registros de los interferogramas en verdadero color, lo cual permitiría explorar diferentes maneras de codificar la topografía de una superficie, pensando en la variedad de espacios de color, como los presentados en la sección 1.2.4. Para tal efecto, sería interesante hacer los registros con una cámara a color 3CCD caracterizada. Su estudio en un barrido axial del TPE es una de las principales perspectivas de la interferometría diferencial.

### **3. MICROSCOPIA CONFOCAL Y LA CODIFICACION CROMATICA DEL EJE OPTICO**

#### **3.1 INTRODUCCION**

La técnica de exploración confocal es atractiva en varias aplicaciones de formación de imágenes de microscopía, debido a la capacidad de mejorar la resolución, la recolección de luz dispersada y la discriminación en profundidad. Este método tiene especial interés en aplicaciones tales como: formación de imágenes de muestras biológicas y materiales semiconductores, donde se requiere una alta definición transversal y longitudinal. En esta técnica, el seccionamiento óptico o propiedad de discriminación en profundidad ha llegado a ser la principal motivación para el uso de microscopios confocales.

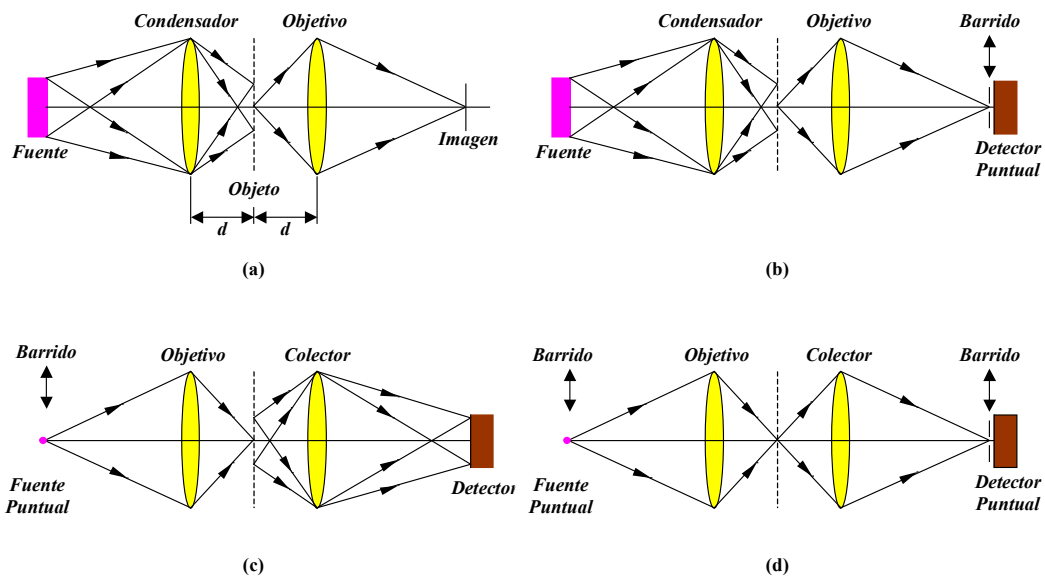
En los sistemas confocales clásicos, la altura de cada punto de una superficie es medida por la localización en la dirección z que lleva a la detección del máximo de intensidad. Entre los varios sistemas existentes se encuentran los dispositivos que exploran paralelamente todos los puntos de la superficie y los sistemas donde la superficie es medida punto por punto.

En este capítulo se presenta el principio de la microscopía confocal donde la superficie es medida punto por punto, con la propiedad de discriminación en profundidad basada en un fenómeno de aberración cromática longitudinal. En este sistema óptico confocal se utilizó una lente de Fresnel para generar este fenómeno, por lo cual se presentan las expresiones características de la aberración cromática longitudinal. Adicionalmente se presentan las características del dispositivo experimental junto con las discusiones de los resultados y perspectivas del trabajo.

### 3.2 PRINCIPIO DE LA MICROSCOPIA CONFOCAL

En esta sección se describe un modelo simple de formación de imágenes en microscopios convencionales para llegar a una forma equivalente de microscopios de exploración (Wilson, 1990), que a la vez nos permite sugerir las modificaciones que llevan a un sistema de microscopía confocal.

**Figura. 44** Diferentes formas de microscopios ópticos de exploración. **(a)** Microscopio convencional. **(b)** Una forma de microscopio de exploración convencional. **(c)** Otra forma de microscopio de exploración convencional. **(d)** Sistema óptico confocal.



La figura 44(a) ilustra los elementos básicos de un microscopio óptico convencional. En esencia, el objeto es iluminado por una mancha de luz desde una fuente extendida, por medio de una lente condensadora. Luego se forma la imagen de la mancha iluminada del objeto por medio de una lente objetivo en el plano imagen, donde finalmente puede ser vista por el observador. En este caso, la resolución depende principalmente de la lente objetivo. Un microscopio de exploración puede ser construido simplemente por el barrido de un detector puntual a través del plano imagen, con el fin de medir la intensidad de la imagen para cada punto del objeto, figura 44(b). De esta manera se puede construir una imagen punto por punto, la cual

puede ser almacenada en un computador y mostrada sobre una pantalla de televisión. La figura 44(c) muestra un sistema óptico análogo, el cual usa una fuente puntual y un detector de área grande. Aquí la primera lente, la lente objetivo, explora la muestra, punto por punto, con un “punto” de luz finamente enfocado, mientras que la segunda lente sirve meramente para colectar la luz transmitida. La lente colectora es análoga a la lente condensadora en microscopía convencional, así juega un menor papel en la determinación de la resolución.

Para hacer que la segunda lente contribuya a la resolución de manera significativa, se necesita que se convierta en una lente formadora de imágenes, más que una lente colectora. Esto se lleva a cabo usando un detector puntual en lugar de un detector de área grande. Ésta es la forma de un microscopio de exploración confocal, figura 44(d). Aquí la luz proveniente de una fuente puntual explora una región muy pequeña del objeto y el detector puntual garantiza que únicamente la luz proveniente de alguna área pequeña es detectada. Aquí una imagen es construida barriendo la fuente y el detector de manera simultánea. En la práctica esto se puede mostrar de manera más conveniente barriendo el haz de luz o el objeto, más que el detector y también operando el sistema en reflexión. En esta configuración confocal simétrica, se puede ver que ambas lentes juegan igual papel en la formación de la imagen.

El uso del detector puntual hace que la segunda lente forme la imagen de la región del objeto examinado por la primera lente. Así, ambas lentes son empleadas simultáneamente para la formación de la imagen del objeto, lo que implica una mejor resolución. Esto puede ser explicado por el principio de Lukosz (Wilson, 1990), el cual establece en esencia, que la resolución puede aumentar a expensas del campo de observación. Una manera de tomar ventaja del principio de Lukosz es colocar una abertura extremadamente pequeña muy cerca del objeto. La resolución entonces queda determinada por el tamaño de la abertura más que por la radiación. En microscopía confocal no se usa una abertura física en el plano focal. En lugar de ello

se utiliza la imagen retroproyectada de un detector puntual en conjunción con la fuente puntual enfocada.

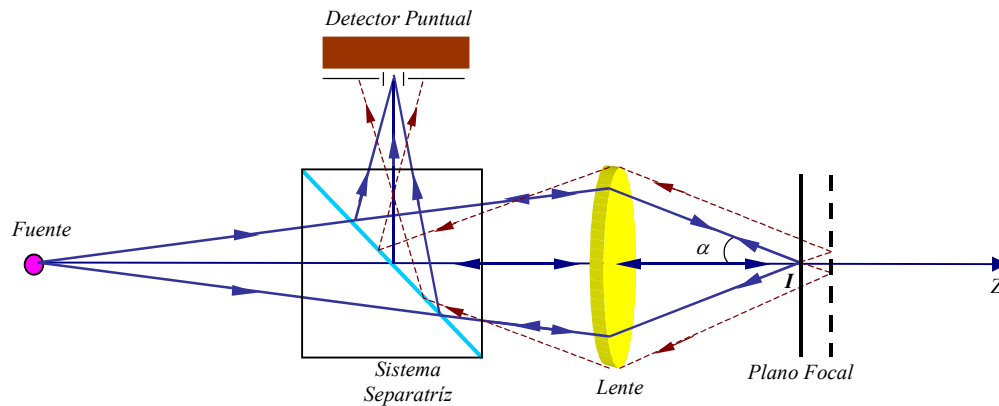
El principio de microscopía confocal fue descrito por primera vez y patentado por Minsky (1957), y en la forma de exploración en serie por Baer (1968), Petràn y Hadravsky (1970). La motivación para todos esos esfuerzos fue el requerimiento de obtener una imagen desde una sección prescrita de un objeto traslúcido grueso sin presencia de la información fuera de foco desde planos circundantes. La luz proveniente desde el espécimen es enfocada a través de una pequeña abertura, así se garantiza que la información es obtenida únicamente desde un nivel particular del espécimen. La imagen confocal únicamente contiene detalles del objeto que provienen del plano focal.

El seccionamiento óptico o la propiedad de discriminación en profundidad (Sheppard y Wilson, 1978) es una de las mayores motivaciones para usar microscopios confocales y es la base de muchos de los novedosos modos para formar imágenes (Neil *et al*, 1997, Swoger *et al*, 1998, Török *et al*, 1998a, Török *et al*, 1998b, Halon *et al*, 2001, Tiziani *et al*, 2001, Vuille *et al*, 2001), reconstruir superficies (Albert *et al*, 2000, Lee y Wang, 2001, Garzón *et al*, 2003, Garzón *et al*, 2004b ) y medir espesores multicapa (Courvoisier *et al*, 2004, Garzón *et al*, 2004d), en estos instrumentos.

La figura 45 muestra un microscopio confocal en el modo de reflexión, donde existen tres puntos conjugados: la fuente de iluminación, su imagen  $I$  a través del objetivo, y el detector puntual. Si una muestra es colocada de manera tal que un punto de la superficie se confunda con el punto  $I$ , entonces la luz reflejada se focaliza exactamente sobre el detector. En ese caso la intensidad detectada es máxima y se dice que el sistema es confocal. Si se desplaza la muestra a lo largo del eje óptico  $z$ , de manera que no cualquier punto sobre la superficie se superponga con el punto  $I$ , entonces la luz reflejada no se focaliza sobre el detector y la intensidad detectada disminuye. Este caso representa una característica puntual. La luz reflejada sobre el

detector disminuye a medida que el ángulo entre la normal a la superficie y el eje óptico aumenta. Esa sensibilidad a la orientación de la superficie está limitada por la apertura numérica,  $\text{sen}(\alpha)$ , del objetivo. Para una superficie cualquiera, las inclinaciones locales no podrían superar un valor límite determinado por la apertura numérica. Un estudio más detallado muestra que la sensibilidad al desplazamiento de la muestra y la respuesta impulsional depende de la longitud de onda y de apertura numérica del objetivo. Por otra parte la naturaleza de la muestra modifica también la sensibilidad longitudinal. Numerosos trabajos teóricos y experimentales de sistemas confocales (Neil *et al*, 1997) han sido realizados para modelizar la respuesta axial de sistemas confocales. De esta manera el sistema discrimina las características que no están dentro de la región focal de la lente.

**Figura 45.** Propiedad de seccionamiento óptico o discriminación en profundidad de un sistema óptico confocal.



Un método simple de dar una medida de su intensidad es barrer axialmente un reflector perfecto a través del foco y medir la intensidad de la señal detectada en función de su posición (Wilson, 1990), donde esta intensidad estará dada por:

$$I(u) = \left( \frac{\text{sen}\left(\frac{1}{2}u\right)}{\frac{1}{2}u} \right)^2 \quad (3.1)$$

donde  $u$  es una coordenada axial normalizada relativa a la distancia real axial  $z$  desde la posición de reflector plano a la posición del plano focal.

$$u = \frac{8\pi}{\lambda} z \text{sen}^2\left(\frac{1}{2}\alpha\right) \quad (3.2)$$

$\lambda$  es la longitud de onda y  $\text{sen}(\alpha)$  es la abertura numérica. La variación de la intensidad como función de  $z$  o  $u$  constituye la base de la perfilometría usada en microscopía confocal. Como la muestra es desplazada a lo largo del eje óptico, la intensidad detectada reproduce la respuesta longitudinal  $I(z)$ . La intensidad máxima es detectada cuando la muestra está exactamente en el foco, es decir,  $u = 0$ . Desde un punto medido a otro vecino, el desplazamiento longitudinal  $z$  de la muestra necesario para conservar la intensidad máxima detectada, corresponde a variación de altura de los dos puntos. Para obtener un perfil bidimensional, varios sistemas confocales han sido propuestos. Entre ellos podemos distinguir:

- i) Dispositivos para los cuales la superficie es analizada por medio de un objetivo sin desplazamiento lateral  $x$ - $y$  de la muestra. Para este caso todos los puntos son secuencialmente iluminados mediante el barrido lateral de un haz de iluminación o a través de un disco de Nipkow (Xiao *et al*, 1988, Tiziani y Uhde, 1994). La evolución de la intensidad detectada en función de la posición  $z$  de la superficie es paralelamente tratada para todos los puntos de la superficie mediante una unidad electrónica específica. En estos sistemas la superficie está limitada al campo de observación del

objetivo, el cual es muy pequeño cuando la magnificación de la lente es grande.

- ii) Sistemas donde el perfil de la superficie es medido punto por punto. Para cada punto de la superficie, la posición  $z$  del objetivo es mecánicamente barrida para detectar la posición que lleva al máximo de intensidad reflejada. Los tres desplazamientos mecánicos a lo largo de los ejes  $x$ ,  $y$ ,  $z$  son necesarios para la obtención del perfil de la superficie.

El dispositivo que se trata en este capítulo forma parte de la familia de sistemas del tipo ii), donde el perfilómetro necesita desplazamiento laterales  $x$  ó  $x$ - $y$  para barrer regiones unidimensionales o bidimensionales respectivamente. Su ventaja radica en que se lleva a cabo una codificación de longitudes de onda sobre el eje óptico usando una lente de Fresnel como elemento dispersivo, para eliminar el desplazamiento mecánico en la dirección  $z$  (Garzón et al, 2003, Garzón et al, 2004b). Aunque algunos sistemas confocales cromáticos han sido ya presentados y discutidos (Baer, 1968, Akinyemi et al, 1992, Maly, et al, 1994, Tiziani y Uhde, 1994, Perrin et al, 1995, Perrin, 1996, Hasman, 1999, Dechet, 2001, Pritis et al, 2003), este sistema presenta una mayor ventaja en una arquitectura más sencilla, miniaturizada y con una fuente de iluminación que ofrece un espectro amplio y estable, desde los 400 nm a 1100 nm. Este espectro fue obtenido mediante un efecto no lineal en una fibra óptica estándar monomodo, mediante la utilización de un microchip láser pulsado (Mussot et al, 2003, Courvoisier et al, 2004). Los detalles del dispositivo experimental se presentarán en la sección 3.5.

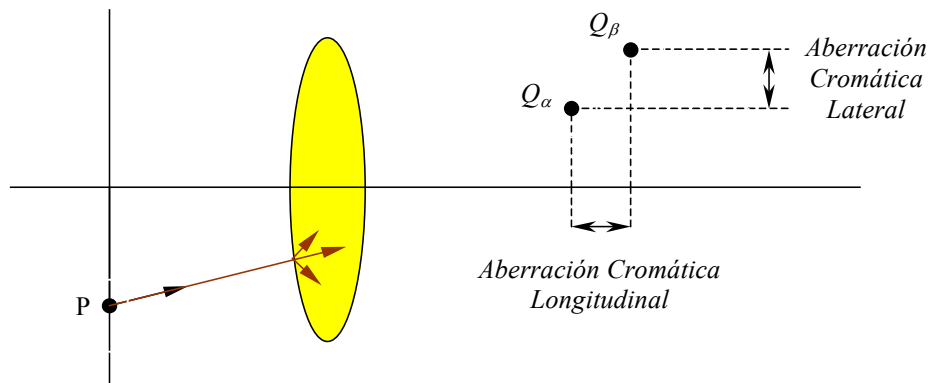
### **3.3 CODIFICACIÓN CROMÁTICA DEL EJE ÓPTICO**

**3.3.1 Aberración Cromática.** Un sistema óptico no forma una figura geoméricamente similar de la imagen ideal de un objeto, es decir que afecta la aberración. Se distinguen las aberraciones presentes en luz monocromática de las que tienen lugar en presencia de luz policromática. En nuestro caso nos interesan las

aberraciones asociadas a la luz policromática llamadas aberraciones cromáticas. Las aberraciones cromáticas tienen dos orígenes. Una, es una consecuencia de la variación del índice de refracción del medio (elemento refractante) en función de la longitud de onda de la luz incidente sobre el sistema y la otra, es consecuencia de las condiciones geométricas de interferencia constructivas cuando actúan elementos difractantes (Kunz y Rossi, 1992, Sinzinger y Testorf, 1995). Éste es el caso de la lente difractante de Fresnel, la cual fue utilizada en nuestro experimento y será tratada en la siguiente sección.

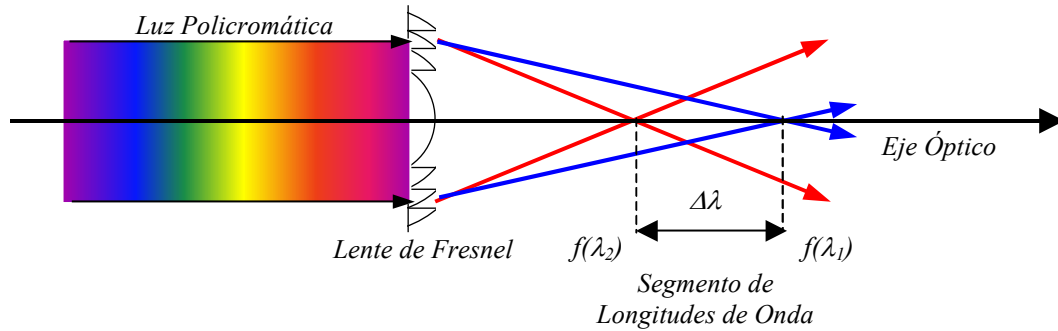
En presencia de aberración cromática en un sistema óptico, si  $Q_\alpha$  y  $Q_\beta$  son las imágenes del punto  $P$  para dos longitudes de onda diferentes, entonces las proyecciones  $Q_\alpha Q_\beta$  en las direcciones paralela y perpendicular al eje óptico son conocidas como aberración cromática longitudinal y lateral respectivamente (Born y Wolf, 1975b). La figura 46. presenta una ilustración de esta situación.

**Figura 46** Aberración cromática longitudinal y lateral.



En este experimento, se está interesado únicamente en la aberración cromática longitudinal, donde la posición del foco imagen varía con la longitud de onda. En este caso, los focos de las diferentes componentes espectrales están extendidas a lo largo del eje óptico. Una única longitud de onda, corresponde a una única distancia focal.

**Figura 47** Aberración cromática longitudinal.  $\lambda_2$  mayor que  $\lambda_1$ .



Sí  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  son dos cualesquiera componentes espectrales de la fuente de iluminación, entonces sus focos  $f(\lambda_1)$  y  $f(\lambda_2)$  están localizados sobre posiciones diferentes a lo largo del eje óptico, tal como lo muestra la figura 47. Esta distribución de longitudes de onda sobre el eje óptico constituye la base de la codificación cromática, que será explicada con más detalles en la sección 3.5.2.

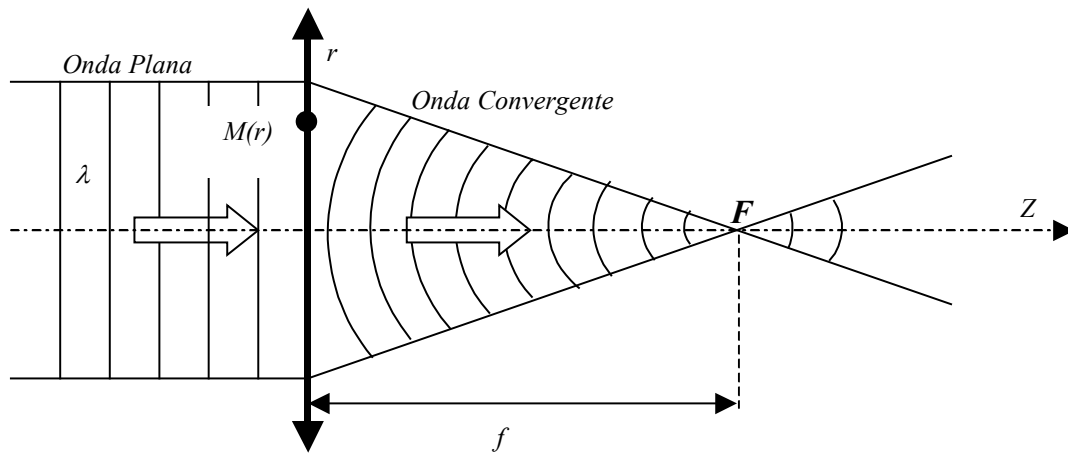
**3.3.2 Lente de Fresnel.** Consideremos la lente mostrada en la figura 48, de distancia focal  $f$ , para una longitud de onda  $\lambda_d$ . Sea  $M(r)$  un punto de la lente situado sobre un círculo de radio  $r$ , centrado sobre el eje óptico. El camino óptico desde el punto  $M$  al foco  $F$  está definido de la siguiente manera:

$$\delta(r) = \sqrt{f^2 + r^2} \quad (3.3)$$

Donde se ha asignado al índice de refracción del aire el valor 1. La fase de una onda monocromática plana incidente sobre una lente refractante en la dirección del eje óptico es constante sobre toda la abertura de la lente. Cuando cruza la onda plana es transformada en una onda esférica siguiendo la transformación de fase  $\varphi(r)$  (Perrin, 1996):

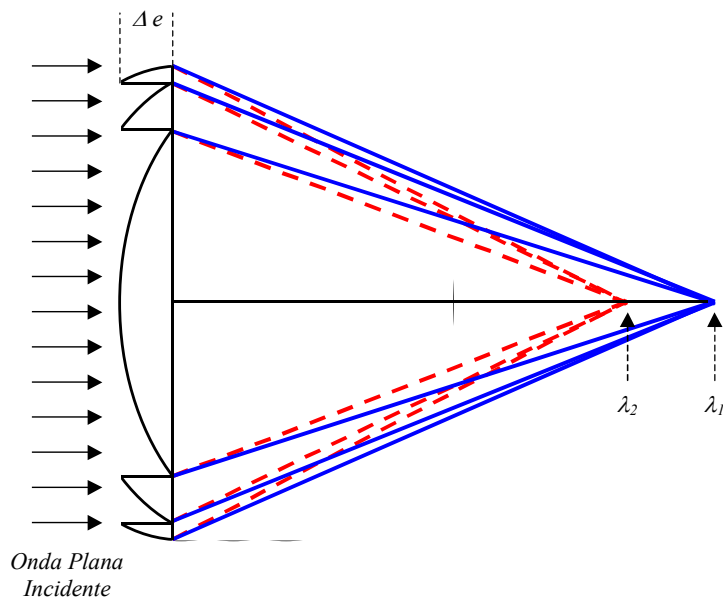
$$\varphi(r) = k[\delta(0) - \delta(r)] \quad (3.4)$$

**Figura 48.** Transformación de una onda plana en una onda esférica para una lente clásica de refracción.



Donde  $k$  representa el número de onda, igual a  $2\pi/\lambda$  y  $\delta$  es el camino óptico definido por la relación 3.3.

**Figura 49.** Perfil ideal de una lentilla de Fresnel.



Sí esta función  $\varphi(r)$  es modificada de manera que siempre esté comprendida entre 0 y  $2\pi$ , se obtiene una nueva repartición de fase llamada diente de sierra, característica de una lentilla de Fresnel, representada en la figura 49. Ésta nueva repartición es idéntica

a la repartición de fase  $\varphi(r)$  de una lente plano convexa de módulo  $2\pi$ . La fabricación clásica de una lente plano convexa confiere al perfil de una de sus caras una forma esférica, la cual es valorada por una débil abertura numérica ( $f \gg r$ ).

La lentilla de Fresnel con un perfil de fase ideal es un elemento difractante que no presenta más que un orden de difracción. En comparación con una lentilla clásica, la lentilla de Fresnel presenta una aberración cromática mucho más marcada.

En la lentilla de Fresnel, la distribución de fase es introducida por una variación del espesor del elemento óptico el cual presenta algunas discontinuidades correspondientes a los saltos de fase de  $2\pi$  (Jahns y Walker, 1990). Esas discontinuidades del espesor  $\Delta e$  son tales que la diferencia de camino óptico correspondiente son exactamente igual a una longitud de onda de diseño  $\lambda_d$  (Sweeney y Sommargren, 1995, Sandoz, 1993, Perrin, 1996):

$$\Delta e = \frac{\lambda_d}{n-1} \quad (3.5)$$

$n$  denota el índice de refracción del material de la lentilla. Cada porción de la lentilla donde el espesor es continuo es llamado zona o más precisamente anillo (Faklis y Morris, 1995). Para cada haz que delimita los anillos, la fase, dada por la ecuación 3.4, es igual a un múltiplo de  $2\pi$ . Esto conduce a la siguiente expresión para la distancia focal (Nishihara y Suhara, 1993):

$$f(\lambda) = \frac{r_1^2}{2\lambda} \quad (3.6)$$

Donde  $r_1$  denota el radio del anillo central de la lentilla y  $\lambda$  la longitud de onda. A fin de comprender el comportamiento de una lentilla de Fresnel, es importante involucrar el fenómeno de difracción descrito por el principio de Huygens-Fresnel. De acuerdo a

este principio, en el interior de cada zona, cada punto de la superficie de la onda puede ser considerada como una fuente de una nueva perturbación esférica llamada onda secundaria. El nuevo frente de onda es construido a partir de la envolvente de las ondas secundarias. A causa del espesor del elemento óptico, una porción de onda plana llega a ser una porción de onda esférica durante el paso de una zona. La intensidad sobre el foco resulta de la interferencia constructiva de todas las porciones de ondas esféricas desfasadas un múltiplo de  $2\pi$ , cuando la condición 3.3 es satisfecha. El perfil de fase de cada zona introduce la aparición de un solo orden de difracción. La condición de interferencia constructiva 3.3 se cumple para una longitud de onda particular, para la cual la lente de Fresnel es construida (Kiryanov *et al*, 2001). Para una longitud de onda suficientemente cercana a la longitud de onda con la cual se diseñó la lente de Fresnel, junto con la ecuación 3.6, se puede obtener la relación de proporcionalidad directa entre la variación de la distancia focal con la variación en la longitud de onda:

$$\frac{\Delta f}{f} = \frac{\Delta \lambda}{\lambda} \quad (3.7)$$

La variación total de la distancia focal depende del ancho espectral de la fuente. Estas dos variables son mucho más dependientes que en el caso de una lentilla simple. Éste es un detalle importante para la codificación del eje óptico, en donde se puede construir una relación biyectiva entre la posición del foco y las longitudes de onda constitutivas de la fuente de iluminación.

Los parámetros geométricos de la lente de Fresnel usada son:

- Diámetro 8 mm,
- Distancia focal  $f(\lambda_d)$  de 25 mm para una longitud de onda  $\lambda_d$  de 633 nm.

A partir de la relación 3.6, se puede obtener que para el primer orden de difracción, la

posición focal cumple la siguiente relación (Dobson et al, 1997):

$$f(\lambda) = f(\lambda_d) \frac{\lambda_d}{\lambda} \quad (3.8)$$

Expresando la ecuación (3.8) como una expansión de Taylor alrededor de la longitud de onda de diseño de la lente se obtiene la relación:

$$f(\lambda) = \frac{f(\lambda_d)\lambda_d}{\lambda} = \sum_{n=0}^{\infty} (-1)^n f(\lambda_d) \left( \frac{\lambda - \lambda_d}{\lambda} \right)^n \quad (3.9)$$

La ecuación. (3.9) puede ser aproximada a una función cuadrática cuando los términos de orden superior sean despreciados, produciendo:

$$f(\lambda) \approx 3f(\lambda_d) - 3f(\lambda_d) \left( \frac{\lambda}{\lambda_d} \right) + f(\lambda_d) \left( \frac{\lambda}{\lambda_d} \right)^2 \quad (3.10)$$

Sí  $f(\lambda_1)$  y  $f(\lambda_2)$  son calculados para  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  respectivamente, entonces se crea un segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda$ , como lo muestra la figura 47, el cual queda definido por la relación:

$$\Delta\lambda = f(\lambda_1) - f(\lambda_2) \quad (3.11)$$

Para realizar una codificación cromática longitudinal de  $z$ , cada posición focal  $f(\lambda)$  se puede convertir a posiciones relativas  $z_\lambda$  sobre el eje óptico mediante la relación (Garzón *et al*, 2004b):

$$z_\lambda = f(\lambda) - f(\lambda_0) \quad (3.12)$$

donde  $f(\lambda_0)$  es una posición focal de referencia. En la siguiente sección se fusionará la microscopía confocal con la aberración cromática longitudinal, tema principal de este capítulo.

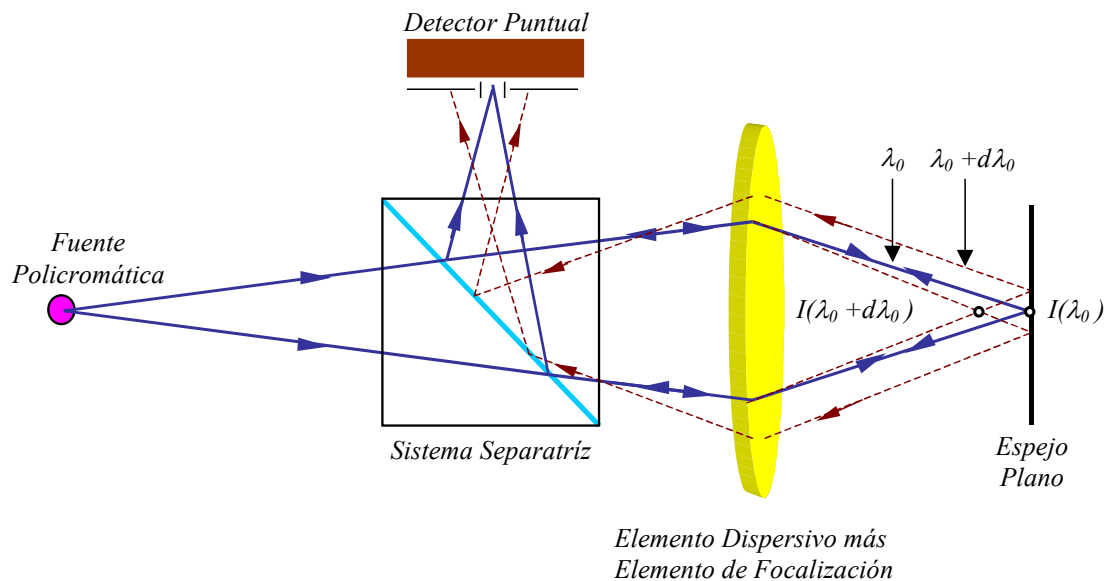
### 3.4 MICROSCOPIA CONFOCAL POR ABERRACION CROMATICA LONGITUDINAL

Como se vió en la sección 3.2, la variación de la intensidad como función de  $z$  ó  $u$  constituye la base de la perfilometría usada en microscopía confocal, ecuación (3.1). Si la muestra es desplazada a lo largo del eje óptico, la intensidad detectada da cuenta de la respuesta longitudinal  $I(z)$ . La intensidad máxima es detectada cuando la muestra está exactamente en el foco:

$$u=0 \tag{3.13}$$

En este caso, la codificación de la altura se basa en la variación de la posición en  $z$ , bajo la condición dada por la ecuación 3.13.

**Figura 50.** Montaje confocal con un elemento dispersivo.



Para un sistema confocal en luz policromática que cuente con el beneficio de la aberración cromática longitudinal, figura 50, la codificación se hace en el dominio espectral. Aquí los puntos conjugados son la fuente policromática, el punto  $I(\lambda_0)$  sobre el espejo plano y el pequeño orificio a la entrada del detector que en este caso es un espectrómetro. Sí suponemos que  $\lambda_0$  es la longitud de onda para la cual la muestra está en el foco, entonces la condición establecida por la ecuación 3.13 queda expresada como  $u(\lambda_0) = 0$ . Sí el valor de la longitud de onda llega a ser  $\lambda_0 + d\lambda_0$ , debido a la dispersión cromática axial, entonces la distribución de la intensidad a lo largo del eje óptico queda desplazada y la posición de la muestra no corresponde a la posición del foco para la longitud de onda  $\lambda_0$ . En este caso,  $u(\lambda_0 + d\lambda_0) \neq 0$ , figura 50. Teniendo en cuenta que los puntos focales están en función de la longitud de onda  $\lambda$ , o del número de onda  $k$  y la ecuación 3.6, la ecuación 3.12 se puede escribir de la siguiente manera:

$$z_k = \frac{1}{4\pi} r_1^2 (k - k_0) \quad (3.14)$$

donde,  $k_0 = 2\pi / \lambda_0$  y  $\lambda_0$  es una longitud de onda de referencia. Combinando las ecuaciones 3.2 y 3.14, la variación de la intensidad a la entrada del espectrómetro está dada por:

$$I(u') = \left( \frac{\text{sen}\left(\frac{1}{2}u'\right)}{\frac{1}{2}u'} \right)^2 \quad (3.15)$$

donde  $u'$  está expresada como:

$$u' = \frac{r_1^2}{\pi} \sin^2\left(\frac{1}{2}\alpha\right) (k^2 - k_0 k) \quad (3.16)$$

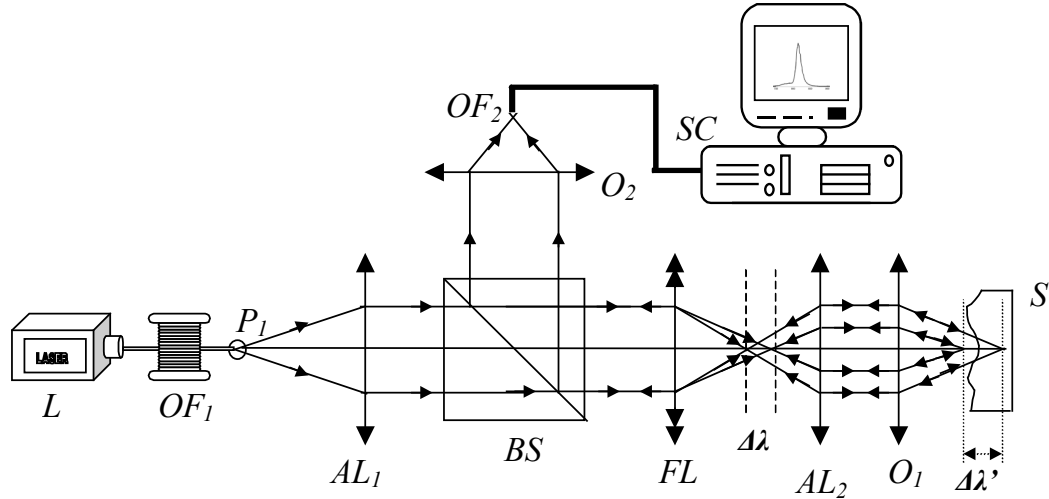
Para este sistema, la codificación de la altura es dada por la longitud de onda y se observa la componente espectral de la fuente de luz para en la cual se satisface la condición  $u'=0$ . Debido a que  $z$  es función del número de onda  $k$ , entonces la respuesta de intensidad  $I(z)$  de un sistema confocal clásico llega a ser función de la longitud de onda  $I(\lambda)$  o el número de onda  $I(k)$ . En resumen, para un sistema clásico de microscopía confocal la información de la altura es dada por la posición  $z$  que lleva la intensidad detectada máxima y en sistemas confocales por aberración cromática longitudinal la información de intensidad máxima es trasladada al dominio espectral y la información de la altura es dada por la respuesta espectral máxima y su sensibilidad está relacionada con el ancho de la respuesta espectral  $I(\lambda)$  o  $I(k)$ , para cada plano de observación, donde se puede observar que la dispersión a lo largo del eje óptico tiene una correspondiente dispersión lateral que puede ser registrada por un espectrómetro. Esto constituye una base importante para evaluar la resolución axial de un sistema de microscopía confocal por aberración cromática longitudinal la cual será tratada en la sección 3.5.4.

### 3.5 DISPOSITIVO EXPERIMENTAL

La figura 51 muestra el diagrama del dispositivo experimental utilizado, basado en el principio de aberración cromática longitudinal en microscopía confocal.

El sistema, perfilómetro está compuesto por un sistema de iluminación, un sistema de codificación longitud de onda – altura, y un sistema de detección. Los tres puntos conjugados son la fuente de iluminación policromática localizada sobre  $P_1$ , el punto focal  $P(\lambda)$  para una longitud de onda  $\lambda$  sobre el intervalo  $\Delta\lambda'$ , y el punto  $OF_2$ , donde está ubicada la entrada al sistema de detección.

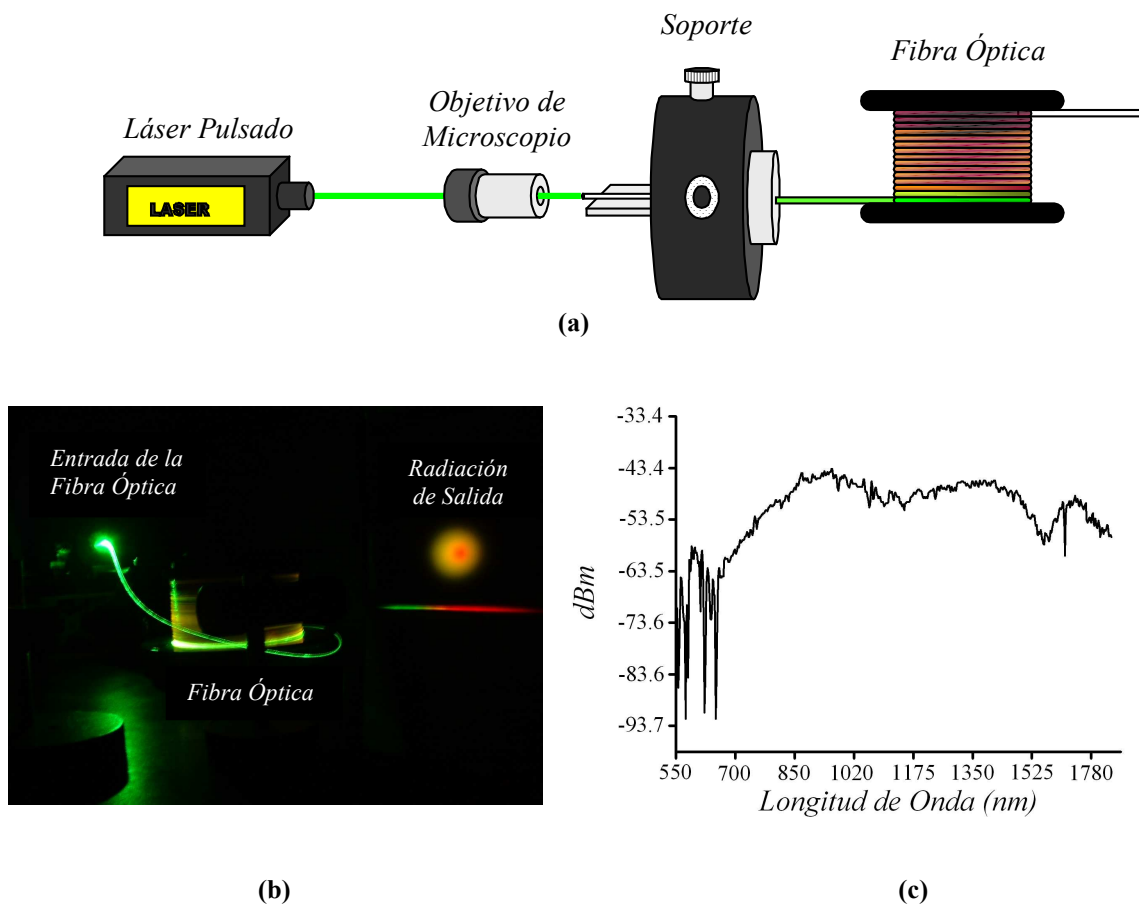
**Figura 51** Microscopio confocal por aberración cromática longitudinal. L: Laser,  $OF_1$ : Fibra óptica 1,  $AL_1$ : Lente acromática 1,  $BS$ : Divisor de haz,  $FL$ : Lente de Fresnel,  $AL_2$ : Lente acromática 2,  $\Delta\lambda$ : Segmento de longitudes de onda,  $O_1$ : Objetivo de microscopio 1,  $\Delta\lambda'$ : Segmento de longitudes de onda imagen,  $S$ : Muestra,  $O_2$ : Objetivo de microscopio 2,  $OF_2$ : Fibra óptica 2,  $SC$ : Tarjeta espectrométrica.



**3.5.1 Sistema de Iluminación.** La principal característica del sistema es la fuente de iluminación  $P_1$ , donde se utilizó un supercontinuo desde los 400 nm a los 1000 nm generado en fibra óptica monomodo estándar. La generación del supercontinuo en la fibra se origina a partir de un proceso preliminar de mezcla de cuatro ondas con adaptación de fase multimodo, seguido de una dispersión Raman estimulada de cascada doble, iniciada por un láser pulsado de longitud de onda de 532 nm. Este efecto no lineal ya ha sido estudiado (Ranka *et al*, 2000, Dudley *et al*, 2001, Provino *et al*, 2001) y descrito en detalle por Mussot *et al*, (2003), y por Courvoisier *et al*, (2004). La figura 52 muestra el montaje experimental y el súper continuo generado, inyectando radiación láser de 532 nm ( $L$ ), con una potencia promedio de 10 mW, un ancho del pulso de 0.6 ns, una tasa de repetición entre 8 kHz-13kHz, por medio de un objetivo de microscopio de 40 $\times$ , con apertura numérica de 0.4, sobre una fibra monomodo estándar ( $OF_1$ ) de 600 m de longitud, con apertura numérica de 0.15 y su núcleo de 8  $\mu\text{m}$  de diámetro, lo que convierte a la fibra óptica en una excelente fuente de iluminación policromática puntual o fuente pinhole (Dabbs y Glass, 1992). Para efectos de este trabajo, denotaremos esta fuente de iluminación como fuente 1. Con la

fuente de iluminación 1 sobre  $P_1$  se genera una iluminación policromática colimada mediante la lente  $AL_1$ , la cual tiene una distancia focal de 20 mm. Como se puede observar en la figura 51, la iluminación policromática colimada incide sobre el sistema de codificación longitud de onda-altura, el cual se explicará en la sección siguiente.

**Figura 52.** (a) Montaje experimental para generar el superpuntuo. (b) Foto de efecto no lineal en fibra óptica (c) Espectro de salida (fuente1).

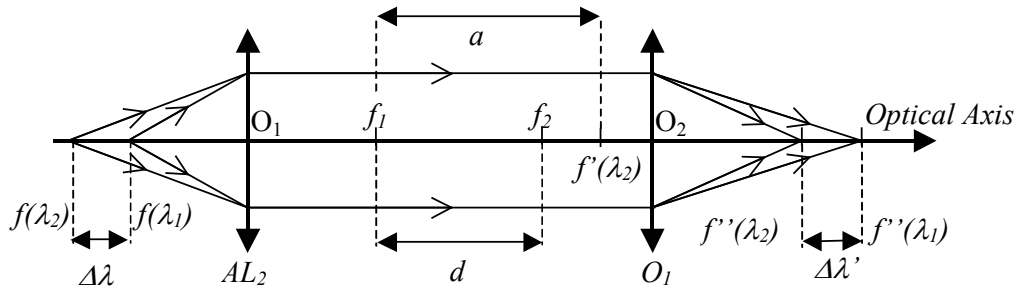


**3.5.2 Sistema de Codificación Longitudes de Onda – Altura.** El sistema de codificación longitud de onda altura está compuesto por una lente difractiva de Fresnel  $FL$  de 8 mm de diámetro, con distancia focal  $f(\lambda_d)$  de 25 mm para una longitud de onda  $\lambda_d$  de 633 nm, un sistema de formador de imágenes constituido por

dos lentes acromáticas  $AL_2$  y  $O_1$ , figura 51.  $FL$  produce el fenómeno de aberración cromática longitudinal, donde cada componente espectral es focalizada sobre diferentes posiciones a lo largo del eje óptico, formando un segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda$ , definido por la ecuación (3.11). Las lentes  $AL_2$  y  $O_1$  han sido introducidas para variar la longitud del segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda$  de acuerdo a un rango de medida deseado dentro del perfilómetro.

La figura 53 muestra el esquema del sistema formador de imágenes usado para reducir el tamaño del segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda$ . En la figura 53,  $f_1$  es la distancia focal de  $AL_2$  y  $f_2$  es la distancia focal de  $O_1$ . Así,  $f_1 + f_2 + d$  es la distancia de separación entre  $AL_2$  y  $O_1$ .  $f(\lambda_1)$  y  $f(\lambda_2)$  son las longitudes focales de la lente de Fresnel  $FL$  para dos componentes espectrales extremas  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  respectivamente.

**Figura 53.** Sistema formador de imágenes, usado para reducir el tamaño del segmento de longitudes de onda producido por el elemento dispersivo.



El sistema formador de imágenes está dispuesto de manera que  $f(\lambda_1)$  está sobre la posición focal de  $AL_2$ , así la imagen final  $f'(\lambda_1)$  está localizada en el punto focal de  $O_1$ .  $f(\lambda_2)$  está situado sobre una distancia mayor que  $f_1$ .  $d$  puede ser ajustado de manera tal que la posición de la imagen final  $f'(\lambda_2)$  esté sobre una distancia menor que  $f'(\lambda_1)$ . Usando la relación de Newton (Born y Wolf, 1975a) el sistema formador de imágenes satisface las siguientes relaciones:

$$\Delta\lambda a = f_1^2 \quad (3.17)$$

$$\Delta\lambda(a-d)=f_2^2 \quad (3.18)$$

Por tanto, la ecuación final que describe el segmento de longitudes de onda imagen  $\Delta\lambda'$  es:

$$\Delta\lambda' = \frac{f_2^2}{f_1^2 - d(\Delta\lambda)} (\Delta\lambda) \quad (3.19)$$

Así, el segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda'$  puede ser ajustado a un rango de medidas deseado a partir de los valores de  $f_1$ ,  $f_2$  y  $d$ . Experimentalmente un valor de 3.87 mm fue obtenido para el segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda$  para las componentes espectrales extremas de 700 nm ( $\lambda_1$ ) y 938 nm ( $\lambda_2$ ) de la fuente 1. Adicionalmente, un valor para el segmento de longitudes de onda imagen  $\Delta\lambda'$  de 0.2 mm fue ajustado, usando un lente acromática ( $AL_2$ ) de 20 mm de distancia focal y un objetivo de microscopio  $O_1$  de 50× con una distancia de trabajo de 13.5 mm.

La señal luminosa reflejada por la superficie del objeto  $S$ , figura 51, cuya topografía esté dentro del intervalo  $\Delta\lambda'$ , es desviada hacia la entrada de un sistema de detección  $OF_2$ , por medio del divisor de haz  $BS$  y un objetivo de microscopio  $O_2$  de 10× y apertura numérica de 0.4. Esto permite que para cada posición  $z$  en el intervalo  $\Delta\lambda'$  una correspondiente longitud de onda sea detectada, lo que permite realizar la codificación de longitudes de onda altura. Este tema se tratará con más detalle en la siguiente sección.

**3.5.3 Sistema de Detección.** La señal luminosa proveniente del divisor de haz e inyectada con el objetivo de microscopio  $O_2$  sobre  $OF_2$  es trasladada a un espectrómetro digital (PC2000-ISA Tarjeta Espectrométrica de Ocean Optics), figura 51, el cual tiene un ancho de banda que va desde los 341.73 nm a los 1001.58 nm, con una resolución de 0.34 nm. Por medio del espectrómetro, la componente espectral

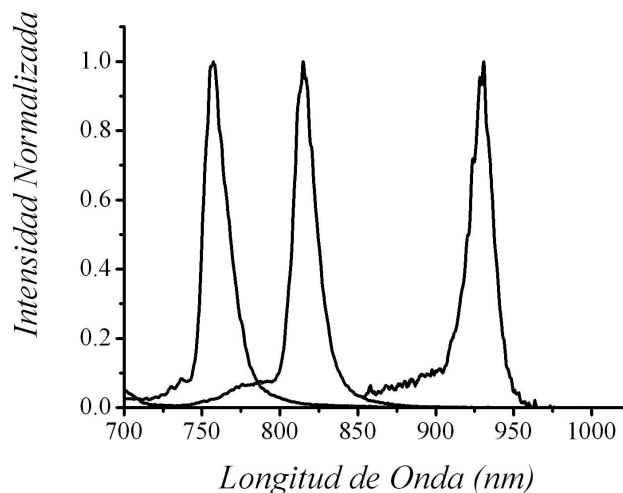
más intensa es extraída desde el espectro digitalizado y la conversión longitud de onda altura es realizada por medio de un procedimiento de calibración experimental de la siguiente manera: usando un espejo plano se obtuvieron las respuestas espectrales  $I(\lambda)$  para diferentes posiciones  $z$  dentro del segmento de longitudes de onda imagen  $\Delta\lambda'$ .

La figura 54 muestra tres respuestas espectrales normalizadas, para tres posiciones diferentes  $z$ . Para diversas posiciones, la componente espectral más intensa de  $I(\lambda)$  en cada registro, es utilizada para construir una curva de calibración. Por medio de una aproximación polinomial cuadrática, cualquier posición sobre el intervalo  $\Delta\lambda'$  puede ser interpolada:

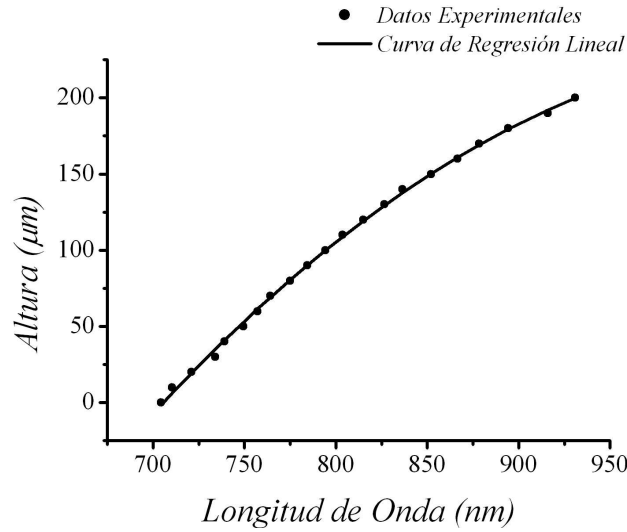
$$Z_1(\lambda) = (-17.43 \times 10^{-4} \lambda^2 + 3.74\lambda - 1770.55) \mu m \quad (3.20)$$

El resultado es mostrado en la figura 55, el cual representa la curva de calibración del perfilómetro. El subíndice 1 de la ecuación 3.20 denota la curva de calibración para la fuente 1.

**Figura 54.** Espectro de intensidad normalizada, detectada para tres posiciones  $z$  diferentes sobre el eje óptico (fuente 1).



**Figura 55.** Curva de calibración con la fuente 1 de las posiciones relativas en la dirección axial  $z$  en función de la longitud de onda detectada.



**3.5.4 Resolución Axial y Transversal del Sistema.** En sistemas confocales clásicos, la respuesta impulsional 3D,  $I(x,y,z)$ , es un parámetro muy importante para caracterizar el sistema formador de imágenes confocales (Offside *et al*, 1988). Experimentalmente, la respuesta impulsional longitudinal ( $x=0$  y  $y=0$ ) puede ser obtenida barriendo axialmente (dirección -  $z$ ) un espejo plano y midiendo la energía a salida del sistema. Así,  $I(z)$  se puede aproximar a la relación 3.1. Usando la codificación cromática, la respuesta impulsional 3D,  $I(x,y,z- z_\lambda)$ , está centrada sobre la posición  $z_\lambda$  para una longitud de onda dada. Entonces la correspondiente respuesta impulsional policromática longitudinal para una longitud de onda  $\lambda$  dada puede expresarse como:

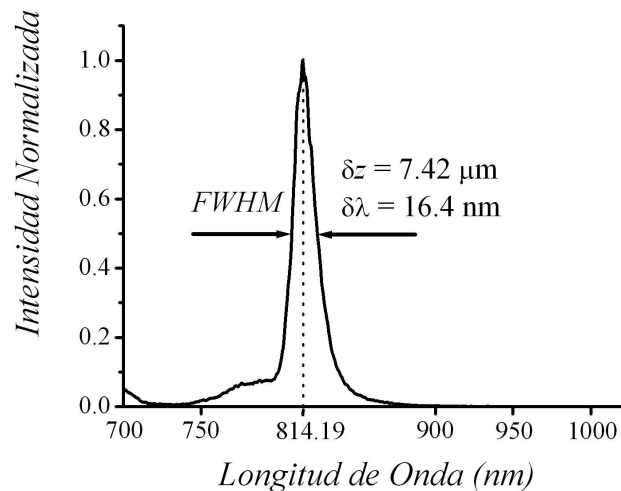
$$I(z) = \left[ \frac{\sin\left(\frac{4\pi}{\lambda}(z - z_\lambda)\sin^2\frac{\alpha}{2}\right)}{\frac{4\pi}{\lambda}(z - z_\lambda)\sin^2\frac{\alpha}{2}} \right]^2 \quad (3.21)$$

Como se mencionó en la sección precedente, si se coloca perpendicularmente al eje óptico un espejo plano en la una posición  $z_o$  dentro del segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda'$ , se puede conocer las componentes espectrales de la señal reflejada. Esta señal reflejada es la superposición:

$$I(\lambda) = \int I(x, y, z_o - z_\lambda) dx dy \quad (3.22)$$

Experimentalmente, el espectro medido de la señal reflejada  $I(\lambda)$  se ve afectado principalmente por la respuesta impulsional del sistema de detección. Entonces  $I(\lambda)$  puede ser definido como la respuesta espectral del sistema. La figura 56 muestra la respuesta espectral típica de este perfilómetro.

**Figura 56.** Respuesta espectral  $I(\lambda)$  del sistema, para una longitud de onda  $\lambda = 814.9$  nm.

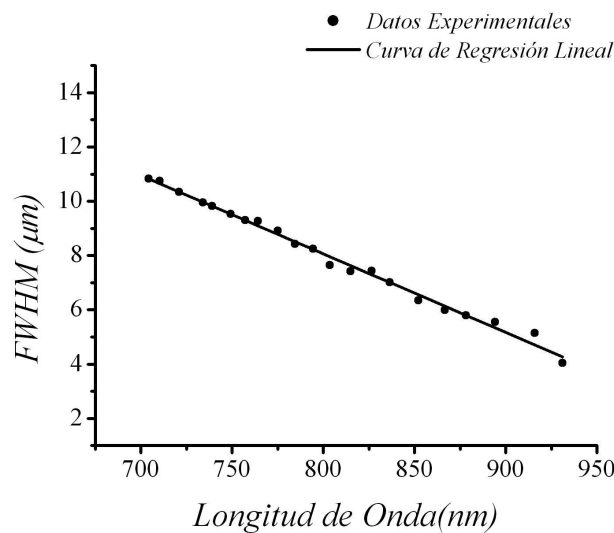


El valor  $\text{FWHM}_1$  (Full Width Half Maximal) de  $I(\lambda)$  se usa para definir la resolución axial de este sistema confocal cromático (El subíndice 1 denota el valor calculado para la fuente 1). La resolución axial está asociada con la incertidumbre en detectar la longitud de onda donde aparece la componente espectral más intensa dentro de la respuesta espectral del sistema. En vista de que la respuesta espectral depende de la

distribución de las componentes cromáticas sobre el eje óptico, el valor  $FWHM_1$  tiene diferentes valores (Garzón J. *et al.*, 2004c). La figura 57 muestra los valores de  $FWHM_1$  como función de la componente espectral más intensa de  $I(\lambda)$ . Por medio de una regresión lineal se obtiene la función resolución espectral axial del sistema:

$$FWHM_1(\lambda) = -0.289\lambda + 31.01 \quad (3.23)$$

**Figura 57.** Función resolución espectral axial del sistema con la fuente 1.



Desde 700 nm a 938 nm, los valores experimentales de  $FWHM_1$  cambian desde los 10.78  $\mu\text{m}$  a 3.09  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Por otra parte, la resolución lateral  $LR$ , de acuerdo a la ecuación clásica de Rayleigh (Born y Wolf, 1975c):

$$LR = \frac{1.22\lambda}{2NA} \quad (3.24)$$

es una cantidad proporcional a la longitud de onda e inversamente proporcional a la apertura numérica de objetivo usado ( $O_i$ ). Desde los 700 nm a 938 nm los valores de  $LR$  cambian desde 0.94  $\mu\text{m}$  to 1.27  $\mu\text{m}$ , respectivamente, pero nuestro sistema

requiere desplazamientos transversales  $x$ - $y$  para inspeccionar regiones bidimensionales.

**Tabla 5.** Características generales del microscopio confocal cromático

<b>Característica del Microscopio Confocal Cromático</b>			
Sistema de Iluminación (Fuente 1)	Tipo		Fibra Óptica Monomodo Estándar
	Longitud		600 m
	Diámetro		8 $\mu\text{m}$
	Apertura numérica		0.15
	Rango espectral disponible		500 nm. - 1800 nm.
	Rango espectral utilizado		700 nm - 938 nm
Sistema de Codificación Longitud de Onda- Altura	Lente de Fresnel	Diámetro	8 mm
		Longitud Focal	25 mm para 633 nm
	Rango de Medida		200 $\mu\text{m}$
	Resolución Lateral		10 $\mu\text{m}$
	Resolución Axial (FWHM)		10.78 $\mu\text{m}$ – 3.09 $\mu\text{m}$
Sistema de Detección	Banda espectral		341.73 - 1001.58 nm
	Resolución		0.34 nm

**Figura 58.** Sistema confocal cromático.



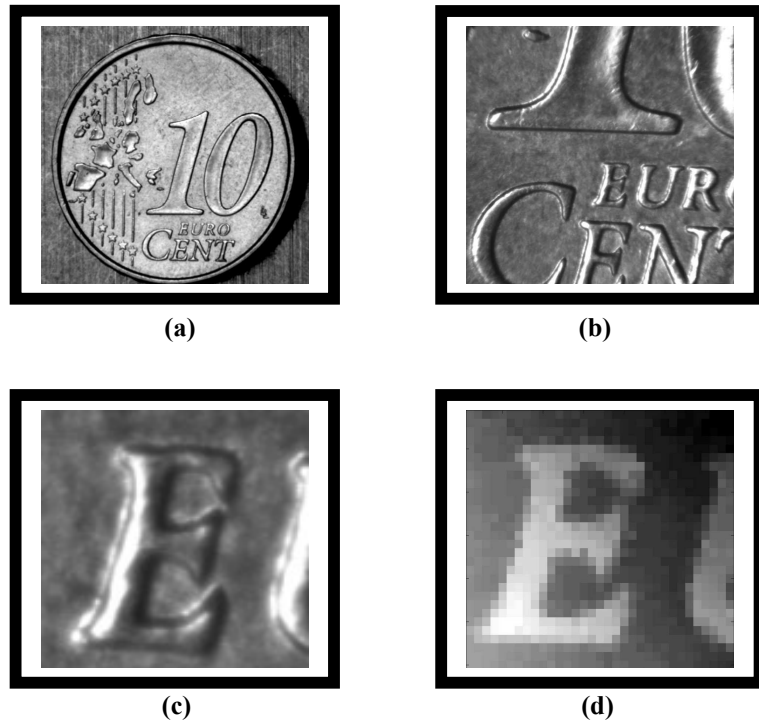
Experimentalmente, el desplazamiento transverso  $x$ - $y$  implementado consta de dos plataformas de traslación de  $10\ \mu\text{m}$  de resolución, lo cual define la resolución lateral del dispositivo. La tabla 5 resume las características de microscopio confocal cromático.

La figura 58 muestra una fotografía del sistema. Como se podrá observar, la miniaturización del sistema es evidente. Su longitud es de aproximadamente  $12\ \text{cm}$  y su diámetro en la región más ancha es de  $2.0\ \text{cm}$ . Los resultados experimentales se presentarán en la próxima sección.

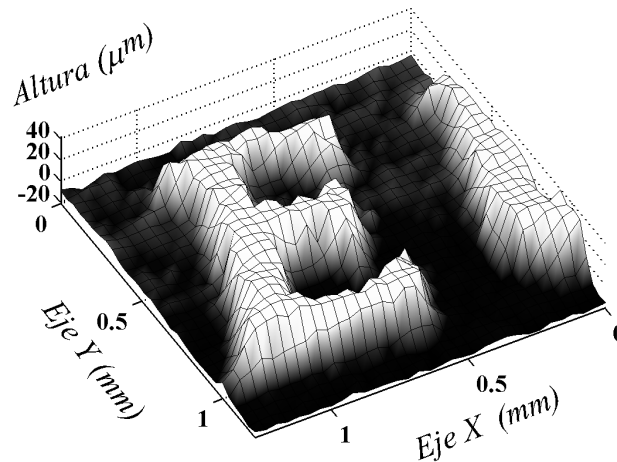
### 3.6 RESULTADOS EXPERIMENTALES

**3.6.1 Reconstrucción 3D.** Para realizar la reconstrucción tridimensional de una superficie con el sistema confocal cromático, se coloca una muestra en una plataforma de desplazamiento micrométrico  $x$ - $y$ , cuya topografía esté contenida dentro de la dinámica definida por el segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda'$ . Para cada desplazamiento en el plano  $x$ - $y$ , se identifica la componente espectral para la cual la intensidad es máxima. Mediante la curva de calibración, se interpola el valor de  $z$  relativo. Seguidamente se construye la imagen rango, la cual es una matriz  $[I_{ij}]_{n \times m}$  cuya dimensionalidad  $n \times m$  depende del número de desplazamientos en las direcciones  $x$  y  $y$ , respectivamente. Cada elemento  $(i,j)$  de  $I$  tiene la información de  $z$  codificada en 256 niveles de gris. La resolución transversal de este sistema confocal cromático dependió de la plataforma de desplazamiento  $x$ - $y$ , la cual fue de  $10\ \mu\text{m}$  en ambas direcciones. Como muestra se tomó una moneda de  $0.10\ \text{€}$  y se reconstruyó la letra E más pequeña. Las figuras 59(a), (b) y (c) ilustran el sector a reconstruir. La figura 59(d), muestran la imagen rango obtenida. Después de haber calculado la topografía remanente, la cual es la diferencia entre la topografía de la superficie y su plano promedio, se realiza la visualización 3D de la imagen rango. La figura 60 muestra tal resultado.

**Figura 59.** (a) Moneda de 0.10 €. (b) Región de interés. (c) Región a reconstruir. (d) Imagen rango.



**Figura 60.** Topografía de la letra E más pequeña obtenida desde una moneda de 0.10 €.



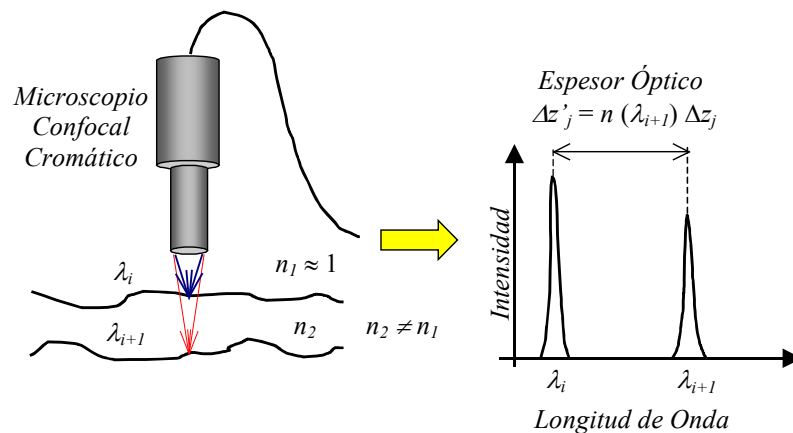
**3.6.2 Medidas Multicapa.** Dentro de las características particulares del sistema de microscopía confocal cromática está la posibilidad de realizar medidas de espesores de membranas (Garzón J. *et al.*, 2004d). La membrana debe tener un espesor tal, que

esté contenida dentro del segmento de longitudes de onda  $\Delta\lambda'$ . Para cada interfase una componente espectral de  $\Delta\lambda'$  es detectada. La figura 61 muestra un diagrama de este método de medida. Así, para cada distribución de intensidad se halla la longitud de onda para la cual la condición  $u'=0$  de la ecuación 3.15 se satisface. Seguidamente se calcula cada valor  $z(\lambda_i)$  relativo mediante la curva de calibración. El subíndice  $i$  denota la  $i$ -ésima interfase. Por tanto el espesor óptico de la capa  $j$ -ésima  $\Delta z'_j$  está dado por:

$$\Delta z'_j = n(\lambda_{i+1})|z(\lambda_i) - z(\lambda_{i+1})| = n(\lambda_{i+1})\Delta z_j \quad (3.25)$$

Donde  $|\cdot|$  denota el valor absoluto,  $n(\lambda_{i+1})$  el índice de refracción de la membrana para la longitud de onda  $i+1$ -ésima,  $\Delta z_j$  denota el espesor de la membrana. Si  $\Delta z_j$  es conocido,  $n(\lambda_{i+1})$  puede ser calculado.

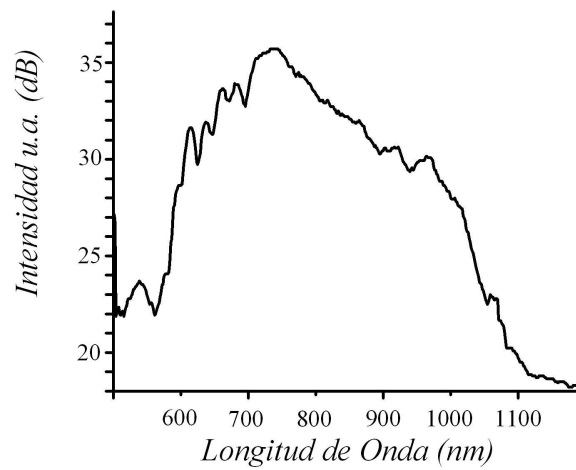
**Figura 61.** Medida de espesores.



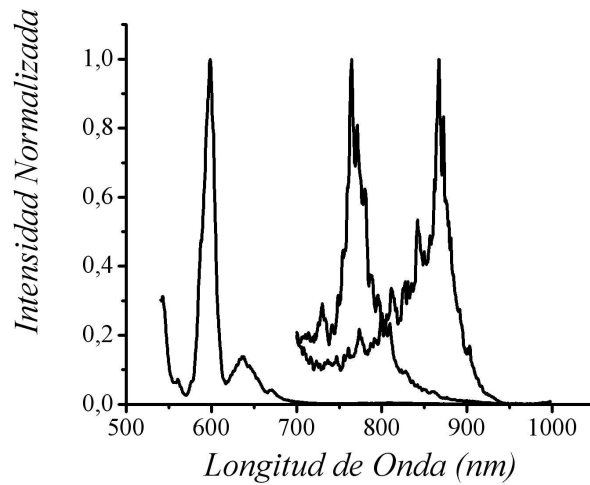
Experimentalmente las medidas multicapa en membranas se realizaron con un supercontinuo de mayor energía en el sistema de iluminación (fuente 2), cuyas componentes espectrales van desde 541.6 nm a 867 nm. En esta situación, el supercontinuo fue generado inyectando radiación láser de 815 nm, con potencia promedio de 22 mW, ancho de pulso de 0.6ns y una rata de repetición de 7 kHz sobre

una fibra monomodo estándar de 600 m de longitud. La figura 62 muestra el supercontinuo obtenido. La codificación de longitud de onda altura se hizo mediante un procedimiento análogo al de las secciones 3.5.2. y 3.5.3 La figura 63 muestra la respuesta espectral normalizada para tres posiciones  $z_\lambda$  diferentes sobre el segmento de longitud de onda  $\Delta\lambda$ .

**Figura 62.** Espectro de salida (fuente 2).



**Figura 63.** Espectro de intensidad normalizada, detectada para tres posiciones  $z$  diferentes sobre el eje óptico (fuente 2).

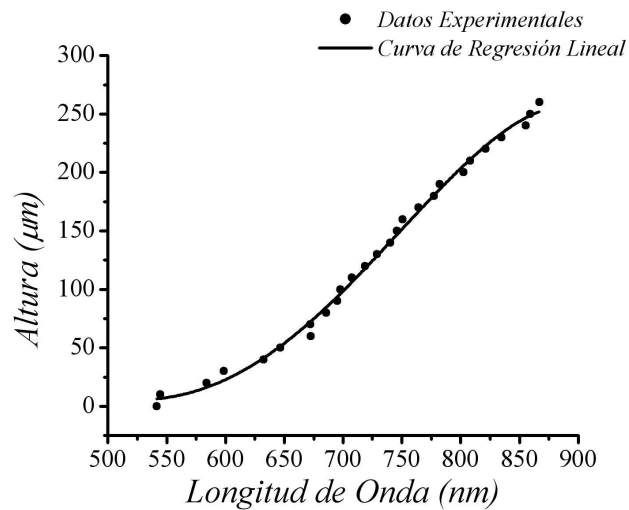


Para diversas posiciones, la componente espectral más intensa de  $I(\lambda)$  en cada registro, es utilizada para construir una curva de calibración. Por medio de una aproximación polinomial de orden cuatro, cualquier posición sobre el intervalo  $\Delta\lambda'$  puede ser interpolada:

$$Z_2(\lambda) = (-2.055 \times 10^{-8} \lambda^4 + 4.826 \times 10^{-5} \lambda^3 - 3.927 \times 10^{-2} \lambda^2 + 13.232 \lambda - 1536.043) \mu m \quad (3.26)$$

La curva de calibración obtenida es mostrada en la figura 64.

**Figura 64.** Curva de calibración con la fuente 2 de las posiciones relativas en la dirección axial  $z$  en función de la longitud de onda detectada.

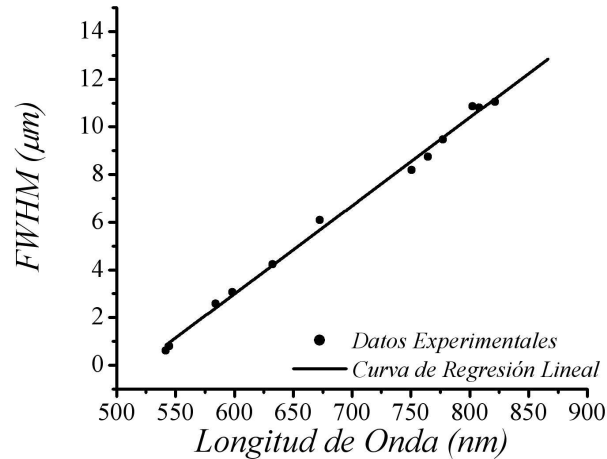


Como se mencionó en la sección 3.5.4, el valor FWHM de  $I(\lambda)$  se usa para definir la resolución axial de este sistema confocal cromático. Los valores obtenidos con este supercontinuo establece la siguiente función de resolución axial:

$$FWHM_2(\lambda) = (0.037\lambda - 19.202) \mu m \quad (3.27)$$

Desde 541.6 nm a 867 nm los valores de  $FWHM_2$  cambian de 0.83  $\mu\text{m}$  a 12.86  $\mu\text{m}$ , respectivamente. La dinámica de trabajo definida por  $\Delta\lambda'$  fue de 500  $\mu\text{m}$ . La figura 65 muestra el comportamiento de la función de resolución espectral  $FWHM_2$ .

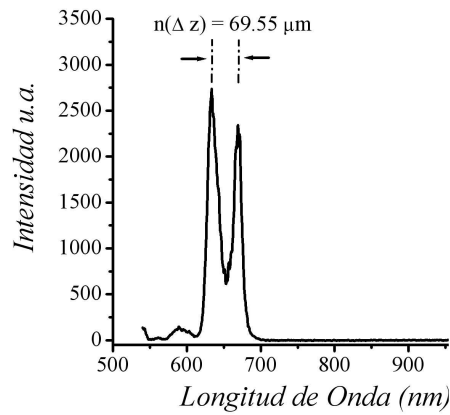
**Figura 65.** Función resolución espectral del sistema con la fuente 2.



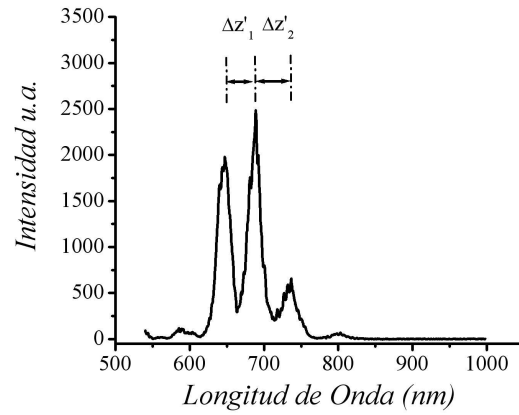
Con base en éstas nuevas condiciones del dispositivo, la figura 66 muestra los resultados experimentales de medidas multicapa de membranas plásticas de diferente espesor (Garzón J. *et al.*, 2004d). En la figura 66(a), el espaciado entre los dos picos principales indica la medida del espesor óptico de la membrana. A partir de la curva de calibración dada por la ecuación 3.26 el valor medido para  $\Delta z'$  fue de 69.55  $\mu\text{m}$ . Para un valor de  $\Delta z$  conocido, se obtuvo un índice de refracción  $n$  de 1.38, para una longitud de onda de 669.15 nm. De la figura 66(b) a la figura 66(d) se muestran los resultados obtenidos para membranas multicapa de plástico.

Para concluir esta sección se puede decir que este método ofrece la posibilidad de estudiar las variaciones del índice de refracción de un material con la longitud de onda sin necesidad de utilizar un espectrómetro de alta resolución.

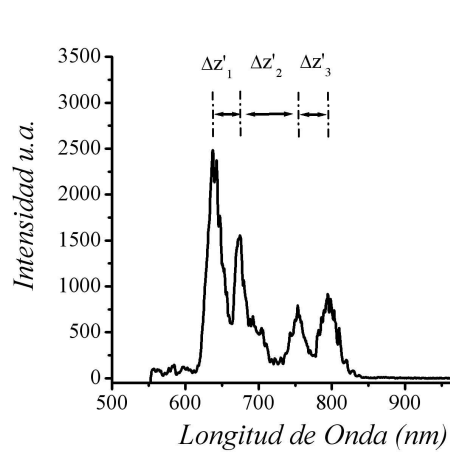
**Figura 66.** Medida de espesores ópticos en membranas plásticas (fuente2): (a) Una membrana de plástico. (b) Membrana doble:  $\Delta z'_1 = 74.49 \mu\text{m}$ ;  $\Delta z'_2 = 63.35 \mu\text{m}$ . (c) Membrana triple:  $\Delta z'_1 = 70.37 \mu\text{m}$ ;  $\Delta z'_2 = 104.04 \mu\text{m}$ ;  $\Delta z'_3 = 33.90 \mu\text{m}$ . (d) Membrana cuádruple:  $\Delta z'_1 = 118.43 \mu\text{m}$ ;  $\Delta z'_2 = 70.37 \mu\text{m}$ ;  $\Delta z'_3 = 102.84 \mu\text{m}$ ;  $\Delta z'_4 = 38.79 \mu\text{m}$ .



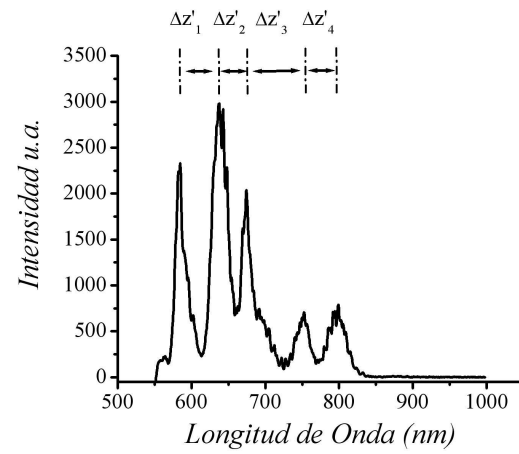
(a)



(b)



(c)



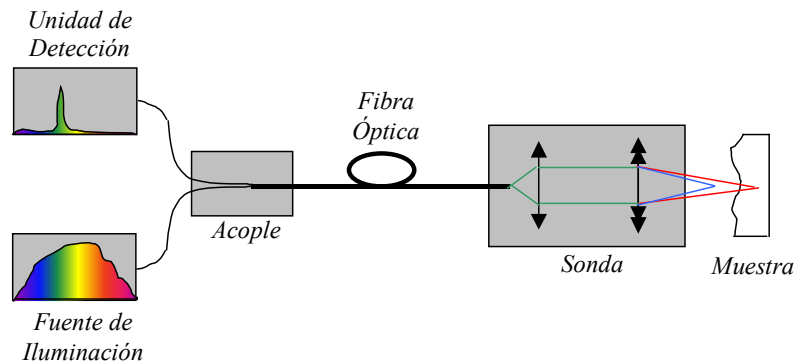
(d)

**3.6.3 Perspectivas de los Sistemas Confocales Cromáticos.** Los sistemas confocales cromáticos son muy útiles en una gran variedad de aplicaciones espectroscópicas, pero en particular en tomografía óptica (Morgner *et al*, 2000) y microscopía. Con una fuente de iluminación en el mediano y lejano infrarrojo es posible utilizar este sistema para determinar el espesor de tejidos vivos como la piel y

membranas externas del ojo humano. Si las distribuciones espectrales de las capas internas son detectadas es posible realizar una reconstrucción 3D de esas superficies, tema que en la actualidad es motivo de investigación. Adicionalmente, estos sistemas permiten caracterizar las propiedades ópticas de membranas moviéndolas sobre el segmento de longitudes de onda de salida. Técnicamente es un sistema atractivo por su miniaturización, bajo costo y su inmediata compatibilidad con los sistemas de conexión convencionales.

La figura 67 muestra las perspectivas del sistema optimizado, donde el divisor de haz puede ser reemplazado por un acople en fibra óptica.

**Figura 67.** Perspectiva del dispositivo de medida.



### 3.7 CONCLUSIONES

Se ha presentado el desempeño de un sistema confocal miniaturizado de dispersión cromática longitudinal, basado en un supercontinuo que fue generado a través de una fibra monomodo estándar. El sistema tiene las siguientes ventajas: Primero, dada las dimensiones de la fibra, se puede decir que la fuente de iluminación puede ser considerada como una fuente puntual con una banda espectral amplia, que permiten una gran dinámica axial de trabajo. Segundo, la apertura numérica reducida de la fibra óptica en la fuente de iluminación elimina los pinhole usados en microscopía

confocal clásica. Tercero, la manera de codificación de la longitud de onda versus altura, elimina el uso de los sistemas de translación axial propios de la microscopía confocal convencional. Cuarto, la detección se basa en la identificación de la componente espectral máxima del espectro digitalizado. Esto facilita la minimización de los efectos de absorción de la radiación por parte del objeto. Quinto, El sistema es sensible a las componentes espectrales detectadas. Debido a esto, la resolución axial definida a través del valor FWHM varía con la componente espectral detectada más intensa. Los valores de FWHM se pueden reducir, escogiendo objetivos de microscopio con una apertura numérica más grande o seleccionando un supercontinuo que genere un seccionamiento confocal más agudo en conjunción con la resolución espectral del sistema de detección.

Teniendo en cuenta que el tamaño de la mancha de iluminación sobre la superficie del objeto es menor de  $10\ \mu\text{m}$ , la resolución lateral depende del sistema de desplazamiento transversal  $x$ - $y$ . El sistema permite estudiar objetos delgados sin necesidad de utilizar un espectrómetro de alta resolución. El sistema ofrece una manera de conocer el índice de refracción y el espesor de una o varias membranas, lo cual convierte al sistema en una herramienta útil para aplicaciones médicas, debido a que puede ser utilizado como tomógrafo, pues con él se pudieran realizar las medidas de las capas internas de la piel, capas externas del ojo humano y sus respectivas reconstrucciones 3D; aunque estos resultados todavía no se han obtenido con este sistema, forma parte de las grandes perspectivas de este trabajo. Adicionalmente, si el sistema es optimizado con un acople en fibra óptica, como lo muestra la figura 67, lo convertiría en un sistema atractivo por su miniaturización, bajo costo y su inmediata compatibilidad con los sistemas de conexión convencionales en fibra óptica, con lo cual pudiera ser manipulado de manera remota.

## 4. CONCLUSIONES GENERALES

Con el objetivo de tener una síntesis de los principales resultados obtenidos en este trabajo, es necesario hacer algunos comentarios para cada capítulo, teniendo en la cuenta las perspectivas de trabajo para investigaciones posteriores.

En el capítulo 1, se hizo una revisión conceptual básica de los fundamentos del procesamiento digital de imágenes, haciendo énfasis en la segmentación de imágenes en el espacio de color RGB y la segmentación basada en fronteras mediante el detector de bordes de Canny. Se muestran los resultados experimentales obtenidos con la propuesta de segmentación en color verdadero mediante máscaras espaciales RGB, aplicada a imágenes metalográficas provenientes de fundiciones esferoidales y la segmentación basada en fronteras aplicada al análisis de microdureza.

Debido a que las probetas de una fundición esferoidal deben ser preparadas para su caracterización y dentro de esa preparación involucra el ataque químico, trae como consecuencia que las probetas presenten una cromaticidad distinta dependiendo de la sustancia aplicada. Es así, como la segmentación cromática toma importancia. El método de segmentación cromática utilizado, se basó en la segmentación mediante máscaras espaciales RGB, que aparte de tener ventaja sobre la forma tradicional en niveles de gris de realizar la segmentación, es una propuesta diferente de segmentación de imágenes en el espacio RGB. Los resultados obtenidos muestran la eficiencia del método. Las perspectivas de este método están en la ciencia de los materiales. Un ejemplo de ello está en la evaluación y caracterización cromática de la corrosión en superficies.

El segundo método es la aplicación de un algoritmo de segmentación de bordes gaussiano ampliamente conocido, como lo es el detector de bordes de Canny. Básicamente su aplicación consistió en disminuir el error en la medida de la diagonal

de la huella dejada por un penetrador tipo Vickers sobre un material duro. La utilización del método de Canny radicó en la facilidad de reportar el error en las imágenes segmentadas. Los resultados experimentales evidenciaron la eficiencia del método.

En el capítulo 2 se presentó la fundamentación física sobre la cual se basan los principios de reconstrucción 3D de superficies y la medida del índice de refracción y el espesor de películas delgadas a escalas nanométricas. Se hizo una descripción general de los sistemas de microscopía interferencial y se hizo énfasis en el sistema interferométrico tipo Mirau, el cual fue implementado con una resolución axial de 10 nm y una resolución transversal de 0.683  $\mu\text{m}$ . Para el dispositivo implementado, se hizo un análisis de las franjas de interferencia en luz policromática y cuasi-monocromática.

Para el caso de iluminación policromática, se hizo una descripción del método de reconstrucción 3D implementado, el cual fue el de detección de máximos de intensidad. Se mostró el desempeño del sistema no solo en la reconstrucción 3D, sino también en la medida del índice de refracción de películas semitransparentes, así como la medida de espesores mediante la construcción de interferogramas sintéticos. En este punto, se puede observar la gran perspectiva que se tiene en tomografía de coherencia óptica, si se piensa que el método de creación de interferogramas sintéticos para la medición de espesores se puede aplicar a tejidos vivos, como la piel, la córnea, entre otros. También se puede pensar en la reconstrucción 3D de las capas internas de estos tejidos, obviamente con una fuente de iluminación policromática caracterizada en su ancho espectral y potencia, un objetivo Mirau de mayor apertura numérica y mayor distancia de trabajo.

Por otra parte, se debe contemplar la posibilidad de hacer registros de interferogramas en verdadero color, lo cual permitiría explorar otras maneras diferentes de codificar la topografía de una superficie, pensando en los diversos espacios de color donde se

podría trabajar junto con la variedad de transformadas que se pueden explorar. Para tal efecto, sería interesante hacer los registros con una cámara a color 3CCD caracterizada, analizar el filtrado que hace la cámara en cada canal, y su estudio en un barrido axial contribuiría al desarrollo de la interferometría diferencial.

La perfilometría de superficies con el microscopio interferométrico Mirau también fue implementada con iluminación cuasi-monocromática, donde el método utilizado para la reconstrucción 3D se basó en la interferometría de corrimiento de fase, para lo cual se midieron los cambios de intensidades para cuatro corrimientos de fase, lo que permitió determinar la fase del frente de onda deformado por la superficie, relativo al frente de onda de referencia. Adicionalmente se implementó un método de corrección de fase, dado que el método de estimación de la fase presenta el resultado de manera discontinua, trayendo como consecuencia una indeterminación en el cálculo de la fase si sus discontinuidades son mayores a  $2\pi$ .

Las anteriores técnicas tienen una perspectiva común, y es la implementación en paralelo de los algoritmos de detección de máximos (iluminación policromática) y corrimiento de fase (iluminación cuasi-monocromática), mediante la utilización de un cabezal doble en el microscopio de reflexión que permita posicionar dos cámaras CCD monocromáticas. Este sistema buscaría la complementariedad de los métodos y la mejora de la dinámica de trabajo.

Otro estudio posible estará encaminado al análisis de reflectividad, cambios de fase por reflexión y evaluación de parámetros de textura de muestras metalográficas.

En el capítulo 3, se ha presentado el desempeño de un sistema confocal miniaturizado de dispersión cromática longitudinal. El sistema implementado ofrece varias ventajas, una de ellas está en el sistema de iluminación, donde se utilizó una fibra óptica que elimina el uso de los pinhole ampliamente usados en microscopía confocal clásica. La iluminación que ésta suministra tiene una banda espectral amplia que permite una

gran dinámica axial de trabajo. En suma puede considerarse como una fuente de iluminación puntual.

Otra ventaja está en la manera de codificación de la longitud de onda versus altura, pues se eliminó el uso de los sistemas de translación axial propios de la microscopía confocal convencional.

En vista de que la detección se basó en la identificación de la componente espectral máxima del espectro digitalizado, se facilitó la minimización de los efectos de absorción de la radiación por parte del objeto, pero el sistema es sensible a las componentes espectrales detectadas. Esto trajo como consecuencia que la resolución axial variara con la componente espectral más intensa detectada. Aquí la perspectiva está en la mejora de la resolución axial, implementado el sistema con un objetivo de microscopio con una apertura numérica más grande. En cuanto a la resolución lateral de 10  $\mu\text{m}$ , su resultado dependió del sistema de desplazamiento transversal  $x$ - $y$ .

El sistema permite estudiar objetos delgados sin necesidad de utilizar un espectrómetro de alta resolución. El sistema ofrece una manera de conocer el índice de refracción y el espesor de una o varias membranas, lo que convierte al sistema en una herramienta útil para aplicaciones médicas, debido a que puede ser utilizado como tomógrafo, pues con él se podrían realizar las medidas de las capas internas de la piel, capas externas del ojo humano y sus respectivas reconstrucciones 3D; aunque estos resultados todavía no se han obtenido con este sistema, forma parte de las grandes perspectivas de este trabajo.

Finalmente el sistema se puede optimizar con un acople en fibra óptica, como muestra la figura 67, lo cual lo convertiría en un sistema atractivo por su miniaturización, bajo costo y su inmediata compatibilidad con los sistemas de conexión convencionales en fibra óptica, dando la posibilidad de ser manipulado de manera remota.

## BIBLIOGRAFÍA

Abril Báez, H., *Evaluación del grado de pilling en tejidos textiles mediante análisis de imágenes*. Tesis Doctoral en Ciencias Físicas, Universitat Politècnica de Catalunya, Terrassa. p p. 210, 2000.

Aguilar N., *Detección de anomalías en telas por tratamiento digital de imágenes*. Trabajo de Grado para optar al título de Ingeniero Electrónico, Universidad Pontificia Bolivariana, p. 7, Mayo de 2004.

Aguilar N, Garzón J. Salazar A., y Pérez F., *Determination of textile local defects by digital image processing*. Proc. SPIE. 5622, pp. 177-181, 2004.

Akinyemi O., Boyde A., Browne M. A., Hadravsky M. y Petran. M., *Chromatism and confocality in confocal microscopes*, Scanning, Vol. 14, pp. 136-143, 1992.

Albert O., Sherman L., Mourou G., Norris T. B. y Vdovin G., *Smart microscope: an adaptive optics learning system for aberration correction in multiphoton confocal microscopy*, Opt. Lett., Vol. 25, No.1, pp. 52-54, 2000.

Alexandrov S. y Chemyh I. V., *Interference Method for determination of the refractive index and thickness*, Opt. Eng., Vol. 39(9), pp. 2480 – 2486, 2000.

American society for testing & materials. *Standard practice for etching of metallographic specimens*. Philadelphia, Ed. 3, p. 8, 1995.

Aranda J. J., Montes de Oca, G. y Rodríguez, G. M. *Modificación al algoritmo laplaciano no lineal para el mejoramiento de bordes en una imagen*, Ingeniería Electrónica, Automática y Comunicaciones. Vol. 14, No. 1, pp .79-83. La Habana 1993

Askeland Donald R. *Ciencia e ingeniería de los materiales*, Internatinal Thomson Editores, Edición 3, México, pp. 142- 143, 1998.

Baer S. C., US Patent, Specification 3547512, *Optical apparatus providing focal-plane-specific illumination*, 1968.

Balasubramanian N., US Patent, Specification 4340306, *Optical system for surface topography measurement*, 1982.

Biegen J. F., *Calibration requerements for Mirau and Linnik microscope interferometers*. Appl. Opt., Vol. 28, No. 11, pp. 1972-1974, 1989.

Born M. y Wolf E., *Principles of Optics*, Pergamon Press, 5th ed., New York: Pergamon, p. 152, 1975a.

Born M. y Wolf E., *Principles of Optics*, Pergamon Press, 5th ed., New York: Pergamon, p. 175, 1975b.

Born M. y Wolf E., *Principles of Optics*, Pergamon Press, 5th ed., New York: Pergamon, p. 419, 1975c.

Bowe B. y Toal V., *White light interferometric surface profiler*. Opt. Eng. Vol. 37(6), pp. 1796-1799, 1998.

Brophy C. P., *Effect of intensity error correlation on the computed phase of phase shifting interferometry*, J. Opt. Soc. Am. A, Vol. 7, No. 4, 1990.

Caber P. J. *Interferometric profiler for rough surfaces*, Appl. Opt. Vol. 32, No.19, pp. 3438-3441, 1993.

Castleman Kenneth R., *Digital image processing*. 2.ed. New Jersey: Prentice-Hall, pp. 447-486. 1996.

Chen F., Brown G. M. y Song M., *Overview of three-dimensional shape measurement using optical methods*. Opt. Eng. Vol. 39(1), pp. 10-22, 2000.

Chim S. S. C., y Kino G. S., *Three-dimensional image realization in interference microscopy*, Appl. Opt. Vol. 31, No.14, pp. 2550-2553, 2000.

Choi K. Y. y Kim S. S., *Morphological analysis and classification of types of surface corrosion damage by digital image processing*. Corrosion Science (47), pp 1-15, 2005.

Corbalán M., Millán M. S. y Yzuel M. J., *Color pattern recognition with CIELAB coordinates*, Optical Engineering. Vol. 41 No. 1, pp.130-137, 2002.

Courvoisier C., Mussot A., Bendoula R., Sylvestre T., Garzón Reyes J., Tribillon G., Wacogne B., Gharbi T., y Maillotte H., *Broadband Supercontinuum in a Microchip-Laser-Pumped Conventional Fiber: Toward Biomedical Applications*, Laser Physics, Vol. 14, No. 4, pages 507-514, 2004.

Dabbs T., y Glass M., *Single-mode fibers used as confocal microscope pinholes*, Appl. Opt., Vol. 31, No. 6, pp. 705-706, 1992.

De Groot P. y Deck. L. *Three-dimensional imaging by sub-Nyquist sampling of white-light interferograms*, Optics Letters. Vol. 18, No.17, pp. 1462-1464, 1993.

De Groot P., US Patent, Specification 5398113, *Method and apparatus for surface topography measurement by spatial-frequency analysis of interferograms.*, 1995 a.

De Groot P., *Vibration in phase-shifting interferometry.* J. Opt. Soc. Am., Vol. 12 No. 2, pp. 354 - 365, 1995 b.

De Groot P. y Deck. L, *Surface profiling by analysis of white-light interferograms in the spatial frequency domain.* Journal of Modern Optics, Vol. 42, No. 2, pp. 389-401, 1995.

Dechet J., *Etude et realization d'un capteur de distance base sur le principe de l'aberration chromatique en microscopie confocale,* Dess SMTII rapport de stage, U.F.R. des Sciences et Techniques de l'Universite de Franche-Comté, Besançon, 2001.

Deck. L y De Groot P. *High-speed noncontact profiler based on scanning white-light interferometry.* Appl. Opt. Vol. 33, No. 31, pp. 7334-7338, 1994.

Desse J. M. *Three-color differential interferometry,* Appl. Opt. Vol. 36, No.28, pp. 7150-7156. 1995.

Dobson S. L., Sun P. C. y Fainman Y., *Diffraction lenses for Chromatic Confocal Imaging.* Appl. Opt., Vol. 36, No. 20, pp 4744-4748, 1997.

Dudley J.M., Provino L., Maillotte H., Grossard N., Windeler R.S., Eggleton B. J., y Coen S., *Supercontinuum generation in air-silica microstructured fibers with nanosecond and femtosecond pulse pumping,* J. Opt. Soc. Am. B, 19, pp. 765 –771, 2001a.

Dudley J. M., Provino L., Grossard N., Maillote H., Windeler R. S., y Eggleton B. J., *Compact broadband continuum source based on microchip laser pumped microstructured fibre,* Electronics Letters, Vol. 37, No. 9, pp. 1-2, 2001b.

Escalona R., Iglesias E. y Vicens J. *Realization of a phase shifting interferential microscope and its application to the high resolution profilometry.* Instrumentation and development, Vol. 3, No. 4, pp 53-58. 1994.

Faklis D. y Morris G M. *Spectral properties of multiorder diffractive lenses.* Appl. Opt., Vol. 34, No. 14, pp 2462-2468, 1995.

Ferchera A. F., Hitzenbergera C.K., Stickera M., Zawadzki R., Karamatac B., Lasserc T. *Dispersion compensation for optical coherence tomography depth-scan signals by a numerical technique.* Opt. Com. Vol. 204, pp 67-64, 2002.

Flournoy P. A., McClure R. W., Wyntes G.. *White-Light Interferometric Thickness Gauge*". Appl. Opt. **9**, pp. 1907-1915, 1972.

Garzón J., Gómez N., Plata A. y Moreno O. J., *Análisis de Microdureza por Tratamiento Digital de Imágenes*, Memorias del I Congreso Internacional de Materiales y II Encuentro Nacional de Ciencia y Tecnología de Materiales. UIS, Nov. de 2001a.

Garzón J., Suárez M. A. y Plata A., *Reconstrucción Tridimensional de Muestras Metalográficas Utilizando un Sistema CAM*, Memorias del I Congreso Internacional de Materiales y II Encuentro Nacional de Ciencia y Tecnología de Materiales. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Nov. de 2001b.

Garzón J., Salazar A., Meneses J. y Rueda J., *Reconstrucción Tridimensional de una Espalda para el Diagnostico Médico Utilizando la Técnica de Corrimiento de Fase*. Desarrollos Recientes en Métodos Numéricos para Ingeniería y Ciencias Aplicadas. Editado por la Sociedad Venezolana de Métodos Numéricos en Ingeniería. Edición primera, Caracas Venezuela, pp. BI 31- 38, 2002a.

Garzón J., Plata A., Suárez M. *Determinación de parámetros de textura locales en muestras materiales utilizando un sistema CAM interferométrico*, Revista Colombiana de Física, Vol. 34, No. 1, pp 187 –190. 2002b.

Garzón J., Meneses J., Plata A., Tribillon G., y Gharbi T., *Chromatic confocal profilometer*, Revista Colombiana de Física, Vol. 35, No. 2, 2003.

Garzón J., Plata A., Vesga W., Meneses J. y Suárez M., *Método policromático para la caracterización de imágenes metalográficas*, Memorias del VII Encuentro Nacional de Óptica, Editado por la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, 2004a.

Garzón J., Meneses J., Tribillon G., Gharbi T. y Plata A. *Chromatic confocal microscopy by means of continuum light generated through a standard single-mode fibre*, Pure Appl. Opt., 6, pp. 544 - 548, 2004b.

Garzón J., Meneses J., Plata A., Tribillon G., y Gharbi T., *Axial resolution of a chromatic dispersion confocal microscopy*, Proc SPIE, 5622, pp. 805-810, 2004c.

Garzón J., Meneses J., Plata A., Tribillon G., y Gharbi T., *Chromatic confocal method for determination of the refractive index and thickness*, Proc SPIE , 5622, pp. 805-810, 2004d.

Gifkins R. C. *Optical Microscopy of Metals*. Sir Isaac Pitman and Sons Ltd. Melbourne and London, pp. 71-101. 1982.

González, R. C. y Woods, R. E., *Tratamiento digital de imágenes*. Wilmington, Addison Wesley Iberoamericana, pp.32-40, 1996.

González R. C. y Woods R. E., *Digital Image Processing*,. Pearson, Prentice Hall New Jersey. p. 55, 282-348; 2002.

González R. C., Woods R. E., Eddins S. L., *Digital Image Processing Using MATLAB*. Ed. 2, Pearson, Prentice Hall, New Jersey, pp. 194-241, 389; 2004.

Greivenkamp J. E. *Generalized data reduction for heterodyne interferometry*, Optical Engineering. Vol. 23, No.4, pp. 350-352, 1984.

Hanlon D. N., Todd I., Peekstok E., Rainforth W. M. y van der Zwaag S., *The application of laser scanning confocal microscopy to tribological research*, WEAR 251, pp 1159-1168, 2001.

Hasman E., Keren S., Davidson N., y Friesem A. A., *Three-dimensional optical metrology with color-coded extended depth of focus*, Opt. Lett., Vol. 24, No.7, pp. 439-441, 1999.

Hecht E. y Zajac A. *Óptica*. Addison-Wesley Iberoamericana S. A. Wilmington, Delaware, E. U. A. p. 337, 1986.

Hecht E. *Óptica*. Addison-Wesley Iberoamericana S. A. Wilmington, Delaware, E. U. A. p. 432, 1998.

Hibino K., Oreb B. F., Farrant D. I. y Larkin K. G., *Phase-Shifting for Non sinusoidal Waveforms with Phase-Shift Errors*. J. Opt. Soc. Am. Vol. 12, No.4, pp. 761-768, 1995.

Jahns J. y Walker S. J., *Two-dimensional array of diffractive microlenses fabricated by thin film deposition*, Appl. Opt., Vol. 29, No. 7, pp 931-936, 1990.

Joenathan C. *Phase-Measuring Interferometry: New Methods and Error Analysis*. Appl. Opt. Vol. 33, No.19, pp. 4147-4155, 1994.

Kehl G. L., *Fundamentos de la práctica metalográfica*, Ed. Aguilar, Madrid, pp. 210-228, 1963.

Kim Seung Woo y Kim Gee Hong, US Patent, Specification 6545763, *Method for measuring thickness profile and refractive index using white light scanning interferometry and recording medium therefore*, 2003.

Kinnstaetter K., Lohmann A. W., Schwider J. y Streibl N., *Accuracy of Phase Shifting Interferometry*,. Appl. Opt. Vol. 27, No. 24, pp. 5082-5089, 1988.

Kino G. S. y Chim S. S. C. *Mirau correlation microscope*, Applied Optics. Vol. 29, No.26, pp. 3775-3783,1990.

Kiryanov V. P., Nikitin V. G., Verkhogliad A. G., *Development and research of the scanning method for testing of diffraction optical elements*, Measurement Science Review, Vol. 1, No.1, pp. 159-162, 2001.

Kunz R. E., y Rossi M., *Phase-matched fresnel elements*, Opt. Com., Vol. 97, No.1,2. pp. 6-9, 1993.

Larkin K. G. *Efficient nonlinear algorithm for envelope detection in white light interferometry*, J. Opt. Soc. Am. A. Vol. 13, No.4, pp. 832-843 , 1996.

Lee C. H., y Wang J., *Noninterferometric differential confocal microscopy with 2-nm depth resolution*, Opt. Com., No. 135, pp. 233-237, 1997.

Leszek W., *Image analysis applications in materials engineering*, pp. 179-208. CRC Press, New York, 1999.

Malacara D., Servin M., y Malacara Z., *Interferogram analysis for optical testing*. New York, Ed. Marcel Dekker, pp. 169-243. 1998a.

Malacara D., Servin M., y Malacara Z., *Interferogram analysis for optical testing*. New York, Ed. Marcel Dekker, pp 256. 1998b.

Maly M. y Boyde A., *Real-time stereoscopic confocal reflection microscopy using objective lenses with linear longitudinal chromatic dispersion*, Scanning, Vol. 16, pp. 187-192, 1994.

Maragos P. A. y Schafer R. W. *Morphological skeleton representation and coding of binary images*. IEE Transactions On Acoustics, Speech, and Signal Processing. Vol. ASSP-34, No. 5; p.1228-1243, 1986.

Mathworks, *Image processing toolbox: for use with Matlab*. User's Guide. Versión 3. p.10-10, 2002.

Millán, M. S. et al., *Automatic quality control of textile webs by image processing*, Proc. SPIE. Vol. 3572; pp.349-352. 2001.

Millán M. S. y Valencia E., *Laplacian filter based on color difference for image enhancement*, Proc. SPIE. 5622, 1259-1264, 2004

Minsky M., US Patent, Specification 3013467, *Microscopy apparatus*, 1957.

Molina R., *Introducción al procesamiento y análisis de imágenes digitales*, Departamento de la Computación, Universidad de Granada. pp. 59-69, 137-158, 239-261. 1998.

Moreno V., Díaz R. J. y Irizar M. *Elementos componentes de un sistema de procesamiento de señales o imágenes*. Ingeniería Electrónica, Automática y Comunicaciones. La Habana. Vol. 18 No. 1; p.92-100, 1997.

Morgner U., Drexler W., Kärtner F. X., Li X.D., Pitris C., Ippen E. P. y Fujimoto J. G., *Spectroscopic optical coherence tomography*, Opt. Lett., Vol. 25, No. 2, 2000.

Mussot A., Sylvestre T., Provino L. y Maillotte H., *Generation of a broadband single-mode supercontinuum in a conventional dispersion-shifted fiber by use of a subnanosecond microchip laser*, Opt. Lett., Vol. 28, No. 19, 2003.

Neil A A, Juškaitis R y Wilson T., *Method of obtaining optical sectioning by using structured light in conventional microscope*, Opt. Lett., Vol. 22, No. 24, 1997.

Nishihara H. y Suhara T., *Progress in Optics*. ed. E. Wolf, Amsterdam: North Holland, Vol 24, p. 3, 1993.

Offside M. J., See C. W., y Somekm M. G., *Axial resolution of a confocal scanning optical microscope*, Proc. SPIE, Vol. 1028, pp18-27.1988.

Park M. C. y Kim S. W., *Direct quadratic polynomial fitting for fringe peak detection of white light scanning interferograms*. Opt. Eng., Vol 39(4), pp. 952-959, 2000.

Perrin H., *Methodes d'interferometrie et de microscopie confocale en lumiere polychromatique appliquees a la profilometrie optique*, Thèse de Docteur en Sciences pour l'Ingénieur, Université de Franche-Comté, No. d'ordre: 487, 1996 .

Perrin H., Sandoz P. y Tribillon G. *Longitudinally dispersive profilometer*, Pure Appl. Opt., 4, pp 219-228, 1995.

Petràn M. y Hadravsky M., US Patent, Specification 3517980, *Method and arrangement for improving the resolving power and contrast*, 1970.

Pitris C., Bouma B. E. y Shiskov M., *A GRISM-based probe for spectrally encode confocal microscopy*, Optics Express, Vol. 11, No. 2, pp. 120-124, 2003.

Plata A., *Algorithmes de Détection de Phase Dédiés à L'interférométrie en Lumière Polychromatique: Application et Apport des Systèmes Adaptatifs à la Profilométrie*, Thèse Doctorale, Université de Franche-Comté, Besançon, France (1997).

Pratt W. K. *Digital image processing*, John Willey & Sons, USA, 1992.

Provino L., Dudley J.M., Maillotte H., Grossard N., Windeler R.S. y Eggleton B. J. *Compact broadband continuum source based on a microchip laser pumped microstructured fibre*. Elec. Lett., 37, 9, pp 558-560, 2001.

Ranka J. K., Windeler R. S., y Stentz A. J., *Visible continuum generation in air-silica microstructure optical fibers with anomalous dispersion at 800 nm*, Opt. Lett., Vol. 25, No.1, pp. 25-27, 2000.

Rioja L. T. y Abelló I. A., *Segmentación por umbralamiento*. Ingeniería Electrónica, Automática y Comunicaciones. La Habana. Vol. 19, No. 1, pp.83-87. 1998.

Rodríguez R., *Estrategias de procedimientos obtenidas con un sistema inteligente para el procesamiento digital de imágenes*. Ingeniería Electrónica, Automática y Comunicaciones. La Habana. Vol. 15, No. 1, pp.91-96. 1994

Russ J. C., *The image processing handbook*, CRC Press. USA, pp. 49-51, 1995.

Saleh B. E. A. y Teich M. C., *Fundamentals of Photonics*, J. W. Goodman Editor. pp. 360, 1991.

Sandoz P., Thèse, *Profilométrie en lumière polychromatique et par microscopie confocale: Application au contrôle de l'aspect visuel de pièces en plastique moulé*, L'U.F.R. des sciences et techniques de l'Université de Franche-Comte, Besançon.1993.

Sandoz P., *An algorithm for profilometry by white-light phase-shifting interferometry*, Journal of Modern Optics. Vol. 43, No.8, pp. 1545-1554, 1996.

Sandoz P., Devillers R., y Plata A. *Unambiguous profilometry by fringe-order identification in white-light phase-shifting interferometry*. Journal of Modern Optics, Vol. 44, No. 3, pp. 519-534, 1997.

Sandoz P., *Wavelet transform as a processing tool in white-light interferometry*, Optics letters. Vol. 22, No.14, pp. 1065-1067,1997.

Sandoz P., Calatroni J. y Tribillon G. *Potential of a wavelength sampling approach for profilometry by phase shifting interferometry*. Journal of Modern Optics, Vol. 46, No. 2, pp 327-339, 1999.

Schwider J., Burow R., ElssnerK. E., Grzanna J., Spolaczyk R. y Merkel K., *Digitalwave-front measuring interferometry: some systematic error sources*. Appl. Opt., Vol. 22, No. 21, pp. 3421-3432, 1983.

Seul M., O'Gorman L. y Sammon M. J., *Practical algorithms for image analysis*. Cambridge University Press. First edition 2000.

Shabana H. M., *Determination of film thickness and refractive index by interferometry*, Polymer testing, Vol. 23, pp. 695-702, 2004.

Sommargren Gary. E., *Optical Heterodyne profilometry*, Appl. Opt. Vol. 20, No. 4, 1981.

Sheppard C. J. R. y Wilson T., *Depth of field in the scanning microscope*, Opt. Lett., Vol. 3, No. 3, 1978.

Shi K., Li P., Yin S. y Liu Z. *Chromatic confocal microscopy using supercontinuum light*. Optics Express, Vol. 12, No. 10, pp. 2096-2101, 2004.

Sinzinger S. y Testorf M., *Transition between diffractive and refractive micro-optical components*, Appl. Opt., Vol. 34, No. 26, pp 5970-5976, 1995.

Stout K. J., Sullivan P. J., Dong W. P., Mainsah E., Luo N., Mathia T. G., y Zahouani H. *The Development of Methods for Characterization of Roughness en Three Dimensions*. Commission of the European Communities, Brussels, (ISBS 7044 13132), 1990.

Su X., y Chen W., *Fourier transform profilometry: a review, optics and laser in engineering*, 35, pp 263-284, 2001.

Suárez M. A., Plata A., Meneses J. y Garzón J. *Reconstrucción Topográfica Combinando Simultáneamente Métodos de Luz Monocromática con Luz Blanca*. Memorias del VII Encuentro Nacional de Óptica, 2004.

*Surface Roughness - ISO, Terminology - Part 1: Surface and its Parameters*, International Standard ISO 4287/1, 1984.

Sweeney D. W., y Sommargren G. E., *Harmonic diffractive lenses*, Appl. Opt., Vol. 34, No.14, pp. 2469-2475, 1995.

Swoger J., Lindek S., Stefany T., Haar F. –M., y Stelzer E. H. K.. *A confocal fiber-coupled single-lens theta microscope*, Review of Scientific Instruments, Vol. 69, No.8, pp. 2956-2963, 1998.

Takeda M., Hideki I. y Kobayashi S., *Fourier transform method of fringe pattern analysis for computer based topography and interferometry*. J. Opt. Soc. Am. Vol. 72, No. 1. pp 156-160, 1982.

Tiziani H. J., Haist T., y Reuter S., *Optical inspection and characterization of microoptics using confocal microscopy*, Optics and Lasers in Engineering, Vol. 36, pp 403-415, 2001.

Tiziani H. J., y Uhde H. M., *Three-dimensional image sensing by chromatic confocal microscopy*, Appl. Opt., Vol. 33, No.10, pp. 1838-1843, 1994.

Török P., Higdon P. D., y Wilson T., *On the general properties of polarized light conventional and confocal microscopes*, Opt. Com., No. 148, pp. 300-315, 1998a.

Török P., Higdon P. D., Juškaitis R., y Wilson T., *Optimising the image contrast of conventional and confocal optical microscopes imaging finite sized spherical gold scatterers*(Full length article), Opt. Com., No. 155, pp. 335-341, 1998b.

Török Peter y Kao Fu-Jen, *Optical Imaging and Microscopy*, London, Springer, 2003.

Valencia E y Millán M. S, *Measuring small color differences in the nearly neutral region by 3CCD camera*, Proc. SPIE, 5622, 1253-1258, 2004.

Vuille F., Lehmann R., y Plamann K., *Light efficiency Vs. image acquisition time: considerations for parallel confocal microscopy applied to biological tissue observation*, Opt. Com., No. 195, pp. 361-369, 2001.

Vesga W., *Determinación y cuantificación microestructural de fundiciones esféricas de matriz ferrítico-perlítica*. Trabajo de Grado, UIS, 2000.

Wilson T. *Confocal microscopy*. London: Academic Press, 1990.

Xiao G. Q., Corle T. R., Kino G. S., *Real-time confocal scanning optical microscope*, Appl. Phys. Lett., Vol. 53, N° 8, pp. 716-718, 1988.

Zahouani. H., Thèse, *Measurement and Characterisation of 3D surface Topography*. L'U.F.R. des Sciences et Techniques de l'Universite de Franche-Comte, Besançon, 1989.

Zahouani H., Assoul M. y Mignot J., *3D Measurement of Surface Topography: Problems and Perspective*,. Revue de Métrologie, **67**(4), pp. 383-389, 1989.

## ANEXO

**Artículo publicado en la revista Pure and Applied Optics:** Chromatic confocal microscopy by means of continuum light generated through a standard single-mode fibre.

# Chromatic confocal microscopy by means of continuum light generated through a standard single-mode fibre

J Garzón R<sup>1,2</sup>, J Meneses<sup>1,3</sup>, G Tribillon<sup>1</sup>, T Gharbi<sup>1</sup> and A Plata<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire d'Optique P M Duffieux, UMR-6603 CNR/Université de Franche-Comté, 16 route de Gray, 25030 Besançon Cedex, France

<sup>2</sup> Grupo de Óptica y Espectroscopía, Centro de Ciencia Básica, Universidad Pontificia Bolivariana, AA 56006, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Laboratorio de Óptica y Tratamiento de Señales, Escuela de Física, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

E-mail: jgarzonr10@epm.net.co

Received 28 October 2003, accepted for publication 18 March 2004

Published 23 April 2004

Online at [stacks.iop.org/JOptA/6/544](http://stacks.iop.org/JOptA/6/544)

DOI: 10.1088/1464-4258/6/6/008

## Abstract

In this paper a confocal profilometer using longitudinal chromatic aberration is presented. The system uses a novel polychromatic illumination source generated by means of non-linear effects in a standard single-mode optical fibre. A wavelength–height codification is realized using the chromatic aberration of a Fresnel lens. The height decoding is obtained by the spectral analysis of the detected light, identifying the most intense spectral component coming from the sample. The height sensitivity of the profilometer is variable and it is related to the full width half maximal value (FWHM) of the system's spectral response. From 700 to 938 nm the experimental value of the FWHM changes from 10.78 to 3.9  $\mu\text{m}$  respectively.

**Keywords:** confocal microscopy, chromatic aberration, 3D reconstruction

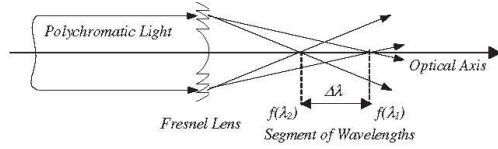
## 1. Introduction

The confocal scanning technique is attractive in various microscopic imaging applications because of its capabilities for superior resolution, rejection of scattered light and depth discrimination. This method drew special interest in applications such as imaging biological samples and semiconductor materials, in which high definition in both transverse and longitudinal dimensions is required. In this technique, the optical sectioning or depth discrimination property has become the main motivation for using confocal microscopes, and it is the basis of many of the novel imaging modes of these instruments [1]. The height of each point of the surface is measured by the  $z$ -location of the sample along the optical axis that leads to the maximum detected intensity. Among the various existing systems, we distinguish two different implementations.

The first is the systems where a two-dimensional region is analysed through an objective without any mechanical  $x$ - $y$ -displacement. In this case, all points of the surface are sequentially illuminated by lateral scanning of the illuminating spot or through a Nipkow disc [2]. The evolution of the detected intensity versus  $z$ -position of the surface is treated in parallel for all points of the surface by a specific electronic unit. In these systems the surface is limited to the objective field, which is very small for high magnification lenses.

The second is the systems where the profile is measured point by point. For each point of the surface, the  $z$ -position of the objective is mechanically scanned to detect the position that leads to the maximum reflected intensity. One- or two-dimensional regions of the surface may be analysed by  $x$ - or  $x$ - $y$ -displacements of the surface.

Our system belongs to the second type of confocal system, where the profiler needs  $x$  or  $x$ - $y$  lateral displacements to scan



**Figure 1.** The longitudinal chromatic aberration.  $\lambda_2$  is greater than  $\lambda_1$ .

one- or two-dimensional regions respectively. Its advantage is to eliminate the  $z$  mechanical displacement by means of an axial wavelength encoding using the strong chromatic dispersion of a Fresnel lens. Some chromatic confocal systems have already been presented and discussed [3–6], except that our system is based on the identification of the most intense spectral component of the detected spectrum. Additionally, our experiment uses a polychromatic point source which offers a wide and stable spectrum generated by means of standard single-mode fibre using a nanosecond microchip laser [7–9].

This paper is organized as follows: in section 2, we explain some basic chromatic dispersion principles and the topography encoding by means of longitudinal chromatic aberration in the confocal microscopy technique. In section 3, we describe the experiment together with the results and the resolution capabilities of the system. In section 4, we give some conclusions.

## 2. Chromatic dispersion and confocal microscopy

The chromatic aberration is the deformation of an image due to the dispersion phenomenon of non-monochromatic light through the lenses of an optical system. In this experiment we are interested only in the longitudinal aberration, where the position of the focus image varies with the wavelength. In this case, different spectral components are focused on the optical axis at different positions. If  $\lambda_1$  and  $\lambda_2$  are two different spectral components of the illumination source, then its focal distances  $f(\lambda_1)$  and  $f(\lambda_2)$  are localized on different positions along the optical axis (figure 1). This situation can be achieved by means of a diffractive system [10, 11].

The chromatic dispersion properties can be characterized by [12]

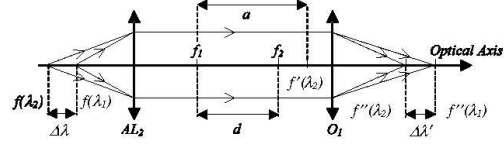
$$f(\lambda) = \frac{r_1^2}{2\lambda}, \quad \text{for order } +1 \quad (1)$$

where  $f$  is the focal position,  $\lambda$  is the operating wavelength and  $r_1$  is the innermost radius of the Fresnel lens. For the first diffractive order, the focal position of a diffractive lens follows the relation [13]

$$f(\lambda) = f(\lambda_d) \frac{\lambda_d}{\lambda} \quad (2)$$

where  $\lambda_d$  and  $f(\lambda_d)$  are the design wavelength and the corresponding design focal length, respectively. Expressing equation (2) as a Taylor expansion around the design wavelength and eliminating the high order terms, the chromatic dispersion can be expressed as

$$f(\lambda) \approx 3f(\lambda_d) - 3f(\lambda_d) \left( \frac{\lambda}{\lambda_d} \right) + f(\lambda_d) \left( \frac{\lambda}{\lambda_d} \right)^2. \quad (3)$$



**Figure 2.** Optical imaging system used to reduce the segment of wavelengths  $\Delta\lambda$ .

If  $f(\lambda_1)$  and  $f(\lambda_2)$  are calculated for  $\lambda_1$  and  $\lambda_2$  respectively, then a segment of wavelengths  $\Delta\lambda$  is created (figure 1) and it is defined by

$$\Delta\lambda = f(\lambda_1) - f(\lambda_2). \quad (4)$$

Experimentally the segment of wavelengths  $\Delta\lambda$  defined by equation (4) can be adjusted to a desired measurement range. Figure 2 shows a scheme of an optical imaging system useful for reducing the segment of wavelengths  $\Delta\lambda$ . The system is composed of achromatic lenses  $AL_2$  and a microscopy objective  $O_1$ . If the focal distance of  $AL_2$  is  $f_1$  and  $f_2$  is the focal distance of  $O_1$ , then  $f_1 + f_2 + d$  is the separation distance between  $AL_2$  and  $O_1$ . The optical imaging system is arranged so that  $f(\lambda_1)$  is on the focal position of  $AL_2$ , thus the final image  $f''(\lambda_1)$  is placed in the focal point of  $O_1$ .  $f(\lambda_2)$  is situated at a greater distance than  $f_1$ .  $d$  can be adjusted in such a way that the final image position  $f''(\lambda_2)$  is at a smaller distance than  $f''(\lambda_1)$ . Using the Newton equation [14] the imaging system satisfies

$$\Delta\lambda a = f_1^2 \quad (5)$$

$$\Delta\lambda'(a - d) = f_2^2. \quad (6)$$

Therefore the final expression to obtain  $\Delta\lambda'$  is

$$\Delta\lambda' = \frac{f_2^2}{f_1^2 - d(\Delta\lambda)} (\Delta\lambda). \quad (7)$$

Thus, the segment of wavelengths image  $\Delta\lambda'$  can be adjusted to the desired measurement range using  $f_1$ ,  $f_2$  and  $d$ .

In order to realize a longitudinal chromatic codification of  $z$ , every focal position  $f''(\lambda)$  can be converted to  $z$  relative positions by

$$z_\lambda = f''(\lambda) - f''(\lambda_0) \quad (8)$$

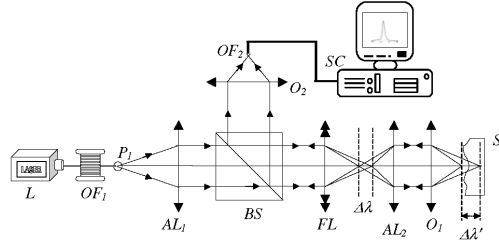
where  $f''(\lambda_0)$  is a reference focal position into the segment of wavelengths image  $\Delta\lambda'$ .

On the other hand, in a classical confocal system the point spread function (PSF)  $I(x, y, z)$  is an important parameter for the characterization of confocal imaging systems. The longitudinal PSF ( $x = 0$  and  $y = 0$ ) can be measured, axially scanning ( $z$ -direction) a mirror and measuring the output power of the system. So,  $I(z)$  can be approximated as [15]

$$I(z) \approx I(u) = \left( \frac{\sin(\frac{1}{2}u)}{\frac{1}{2}u} \right)^2 \quad (9)$$

where  $u$  is an axial coordinate related to the  $z$ -position of the mirror and defined by

$$u = \frac{8\pi}{\lambda} z \sin^2 \left( \frac{1}{2}\alpha \right) \quad (10)$$



**Figure 3.** Confocal microscopy by longitudinal chromatic aberration. L, laser; OF<sub>1</sub>, optical fibre 1; AL<sub>1</sub>, achromatic lens 1; BS, beam splitter; FL, Fresnel lens; AL<sub>2</sub>, achromatic lens 2; Δλ, segment of wavelengths; O<sub>1</sub>, microscopy objective 1; Δλ', segment of wavelengths image; S, sample; O<sub>2</sub>, microscopy objective 2; OF<sub>2</sub>, optical fibre 2; SC, spectrometer card.

where  $\lambda$  is the wavelength and  $\sin(\alpha)$  is the numerical aperture, NA. Using the chromatic codification, the PSF  $I(x, y, z - z_\lambda)$  is centred on the  $z_\lambda$ -position for a given wavelength. Then, the corresponding longitudinal PSF for a wavelength  $\lambda$  can be written as

$$I(z) = \left[ \frac{\sin\left(\frac{4\pi}{\lambda}(z - z_\lambda) \sin^2 \frac{\alpha}{2}\right)}{\frac{4\pi}{\lambda}(z - z_\lambda) \sin^2 \frac{\alpha}{2}} \right]^2. \quad (11)$$

Placing a mirror perpendicularly to the optical axes at the  $z_0$ -position in the segment of wavelengths, the spectral components of the reflected signal can be calculated by the superposition

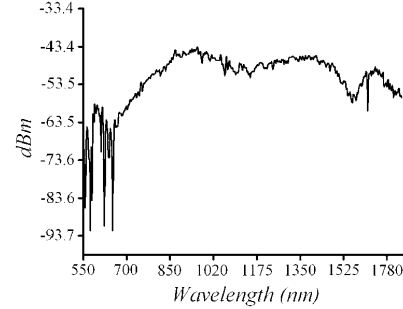
$$I(\lambda) = \int I(x, y, z_0 - z_\lambda) dx dy. \quad (12)$$

Experimentally, the measured spectrum of the reflected signal  $I(\lambda)$  is affected principally by the impulse response of the detection system.  $I(\lambda)$  can be defined as the spectral response of the system. In section 3, a typical spectral response of our experimental profiler and the criteria of resolution are provided.

### 3. Experiment and results

Figure 3 shows our experimental set-up based on the longitudinal chromatic aberration in confocal microscopy. The three conjugated points of this device correspond to the polychromatic illumination source located on P<sub>1</sub>, to the focal point P( $\lambda$ ) for a determined wavelength  $\lambda$  on the interval Δλ' and the point OF<sub>2</sub>, where the detection system input is located. The profiler is composed of an illumination system, a wavelength–height codification system and a detection system.

The illumination system is composed of a pulsed laser of 532 nm (L), with an average power of 10 mW, pulse width of 0.6 ns, repetition rate between 8 and 13 kHz and a standard single-mode fibre (OF<sub>1</sub>) of 600 m of length, with numerical aperture of 0.15 and its core of 8 μm diameter. The main characteristic in our system is the illumination source where a supercontinuum spectrum from 700 to 1000 nm was used. The spectrum was generated by means of a non-linear effect in standard single-mode optical fibre (OF<sub>1</sub>) using a



**Figure 4.** Supercontinuum generated in a single-mode optical fibre using pulsed laser radiation.

nanosecond microchip laser (L). Such an effect has been already presented by Provino *et al* [7–9]. Figure 4 shows a standard supercontinuum spectrum generated [9] focusing the pulsed laser (L) upon a standard single-mode optical fibre (OF<sub>1</sub>). Considering the dimension of the fibre diameter (OF<sub>1</sub>), the polychromatic illumination source can be considered as a point source. This source is located on P<sub>1</sub>.

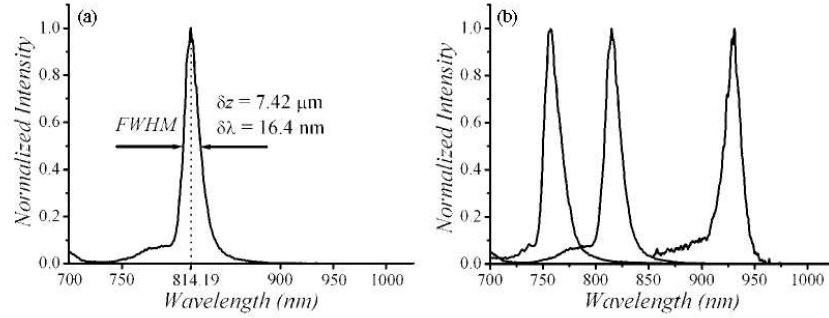
The wavelength–height codification system is composed of an achromatic lens (AL<sub>1</sub>) with a focal distance of 20 mm, a diffractive Fresnel lens (FL) of 8 mm diameter with focal distance  $f(\lambda_d)$  25 mm and numerical aperture 0.16 for a wavelength  $\lambda_d$  of 633 nm, donated by the Swiss Centre for Electronics and Microtechnology, an achromatic lens (AL<sub>2</sub>) of 20 mm focal distance and a measuring microscope objective of 50× (O<sub>1</sub>) manufactured by Nikon, with numerical aperture of 0.45 and a working distance of 13.8 mm.

The detection system is composed of a beam splitter (BS), a 10× microscope objective (O<sub>2</sub>) with numerical aperture of 0.4, a digital spectrometer (SC) of band width from 341.73 to 1001.58 nm and 0.34 nm resolution (PC2000-ISA spectrometer card from Ocean Optics), which has an optical fibre input (FO<sub>2</sub>) of 50/125 μm.

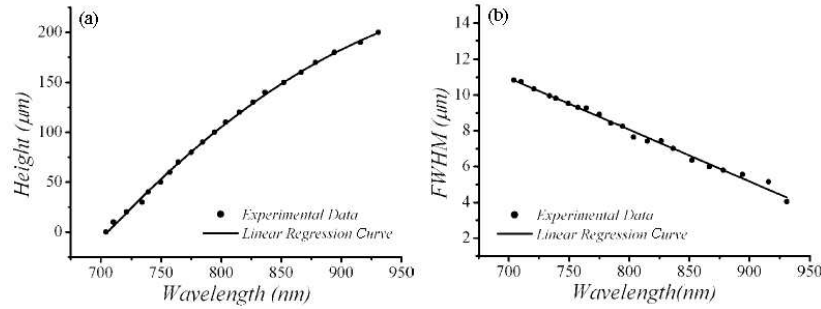
The achromatic lens AL<sub>1</sub> produces a collimated polychromatic illumination. FL produces the longitudinal chromatic aberration phenomenon where every spectral component is focused at different positions along the optical axis, forming in this way a segment of wavelengths Δλ defined by equation (4).

The achromatic lenses AL<sub>2</sub> and O<sub>1</sub> were adapted to vary Δλ according to equation (7). The values obtained of Δλ and Δλ' for the extreme spectral components of 700 nm ( $\lambda_1$ ) and 938 nm ( $\lambda_2$ ) were 3.87 and 0.2 mm respectively.

The luminous signal reflected by the object surface S is deflected toward the detection system by means of the beam splitter BS. The microscope objective O<sub>2</sub> injects the signal into the optical fibre input FO<sub>2</sub>. Then, the luminous signal reflected is digitized by the spectrometer card SC. Figure 5(a) shows a typical normalized spectral response  $I(\lambda)$  of our experimental profiler when the object S is a plane mirror. Axially scanning the plane mirror, the spectral response  $I(\lambda)$  for different  $z$ -positions inside the segment of wavelengths image Δλ' of 0.2 mm was measured, where the scanning pitch was 10 μm. Figure 5(b) shows the normalized spectral response for three different  $z$ -positions. The most intense



**Figure 5.** (a) Normalized spectral response  $I(\lambda)$  of the system. In this case,  $\lambda = 814.9$  nm is the most intense spectral component. (b) Spectrum detected for three different positions on the optical axis  $z$ .



**Figure 6.** (a) Calibration curve of the relative position  $z$  as a function of the detected wavelength. (b) FWHM as a function of the detected wavelength.

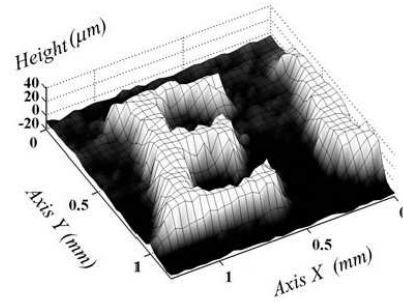
spectral components are extracted from digitized spectra, with a resolution of 0.34 nm given by the spectrometer card. Therefore, a calibration curve between the  $z$ -position of the plane mirror and the most intense spectral component of  $I(\lambda)$  was obtained. This calibration curve establishes the wavelength–height conversion by means of a quadratic approximation which obeys equation (3). Figure 6(a) shows the calibration curve of our profiler.

In our system, the axial resolution is related to the measurement of the full width half maximal value (FWHM) of the spectral response  $I(\lambda)$  (figure 5(a)). The FWHM for every spectral response  $I(\lambda)$  on the different  $z$ -positions inside the segment of wavelengths image  $\Delta\lambda'$  was measured. Figure 6(b) shows the FWHM as a function of the most intense spectral component of  $I(\lambda)$ . By mean of a linear regression, a spectral resolution function was obtained:

$$\text{FWHM}(\lambda) = -0.289\lambda + 31.01. \quad (13)$$

This function defines the axial resolution of our set-up. From 700 to 938 nm the values of the FWHM change from 10.78 to 3.09  $\mu\text{m}$  respectively.

On the other hand, the lateral resolution LR, according to the classic Rayleigh equation ( $\text{LR} = 1.22\lambda/2\text{NA}$ ), is an amount proportional to the wavelength and inversely proportional to the numerical aperture of the objective used ( $O_1$ ). From 700 to 938 nm the LR values change from 0.94 to 1.27  $\mu\text{m}$  respectively, but our system requires  $x$ – $y$  lateral displacements to inspect two-dimensional regions.



**Figure 7.** Topography of the smaller letter E obtained from a 0.10 euro coin.

Experimentally, the transverse displacement  $x$ – $y$  implemented to explore the surface of an object was accomplished by two translation stages of 10  $\mu\text{m}$  of resolution, which defines the lateral resolution of our device.

Finally, the surface profile of the smaller letter E on a 0.10 euro coin was rebuilt using the chromatic confocal profiler. Figure 7 shows the measured profiles.

#### 4. Conclusions

The performance of a system of chromatic confocal microscopy by means of a supercontinuum light generated

through a standard single-mode optical fibre has been presented. The system has the following advantages: first, the illumination source can be considered as a point source with a wide spectral band that allows us a great axial work dynamics. Second, the reduced numerical aperture of the optical fibre in the illumination source eliminate the pinholes used in classical confocal microscopy. Third, the wavelength–height codification eliminates the scanning axial device used in classical confocal microscopy. Fourth, the detection is based on the identification of the most intense spectral component of the digitized spectrum. Therefore, the system is sensitive to the detected spectral components. Due to this, the axial resolution defined through the FWHM varies with the most intense detected spectral component. The values of FWHM can be reduced, choosing microscope objectives with higher numerical aperture, selecting the spectral band of the illumination source inside the far infrared or improving the confocal sectioning of the detecting fibre in conjunction with the spectral resolution of the spectrometer card. Having in mind that the size of the illumination spot on the surface of the object is smaller than  $10\ \mu\text{m}$ , the lateral resolution depends on the transverse displacement system  $x$ – $y$ .

#### Acknowledgment

The authors wish to thank the Optical Society of America for permission to re-use in this paper figure 1 of reference [9].

#### References

- [1] Neil A A, Juškaitis R and Wilson T 1997 Method of obtaining optical sectioning by using structured light in conventional microscope *Opt. Lett.* **22** (24)
- [2] Xiao G Q, Corle T R and Kino G S 1988 Real-time confocal scanning optical microscope *Appl. Phys. Lett.* **53** 716
- [3] Baer S C 1968 Optical apparatus providing focal-plane-specific illumination *US Patent Specification* 3547512
- [4] Akinyemi O, Boyde A, Browne M A, Hadravsky M and Petran M 1992 Chromatism and confocality in confocal microscopes *Scanning* **14** 136–43
- [5] Maly M and Boyde A 1994 Real-time stereoscopic confocal reflection microscopy using objective lenses with linear longitudinal chromatic dispersion *Scanning* **16** 187–92
- [6] Perrin H, Sandoz P and Tribillon G 1995 Longitudinally dispersive profilometer *Pure Appl. Opt.* **4** 219–28
- [7] Dudley J M, Provino L, Maillotte H, Grossard N, Windeler R S, Eggleton B J and Coen S 2001 Supercontinuum generation in air–silica microstructured fibers with nanosecond and femtosecond pulse pumping *J. Opt. Soc. Am. B* **19** 765–71
- [8] Provino L, Dudley J M, Maillotte H, Grossard N, Windeler R S and Eggleton B J 2001 Compact broadband continuum source based on a microchip laser pumped microstructured fibre *Electron. Lett.* **37** 558–60
- [9] Musso A, Sylvestre T, Provino L and Maillotte H 2003 Generation of a broadband single-mode supercontinuum in a conventional dispersion-shifted fiber by use of a subnanosecond microchip laser *Opt. Lett.* **28** 1820–2
- [10] Faklis D and Morris G M 1995 Spectral properties of multiorder diffractive lenses *Appl. Opt.* **34** 2462–8
- [11] Jahns J and Walker S J 1990 Two-dimensional array of diffractive microlenses fabricated by thin film deposition *Appl. Opt.* **29** 931–6
- [12] Nishihara H and Suhara T 1993 *Progress in Optics* vol 24, ed E Wolf (Amsterdam: North-Holland) p 3
- [13] Dobson S L, Sun P-C and Fainman Y 1997 Diffractive lenses for chromatic confocal imaging *Appl. Opt.* **36** 4744–8
- [14] Born M and Wolf E 1975 *Principles of Optics* 5th edn (New York: Pergamon) p 152
- [15] Wilson T 1990 *Confocal Microscopy* (London: Academic)