

**ANÁLISIS DE UN SISTEMA DE AUTOFOCO PASIVO MEDIANTE
POLARIZACIÓN**

CARLOS ALBERTO CHACÓN ÁVILA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE FÍSICA
BUCARAMANGA
2009**

**ANÁLISIS DE UN SISTEMA DE AUTOFOCO PASIVO MEDIANTE
POLARIZACIÓN**

CARLOS ALBERTO CHACÓN ÁVILA

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de
FÍSICO**

**Director:
DR. ARTURO PLATA GÓMEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE FÍSICA
BUCARAMANGA
2009**

AGRADECIMIENTOS

A mi Director de tesis, Dr. Arturo Plata Gómez, por permitirme recurrir a su conocimiento y experiencia en este campo; por generarme actitud científica y la confianza necesaria para llevar a cabo este proyecto.

A Carolina Mendoza, por darme su apoyo y contribuir en mi anhelo de progreso, por su amor y dedicación.

A Vicerrectoría de Investigaciones, quienes con su convocatoria Proyectos de Grado Promisorios 2008 decidieron apoyar económicamente la consecución de este trabajo.

A todo el Grupo de Óptica por la aceptación, por los consejos y la amistad de quienes allí trabajan.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. MICROSCOPIA	2
1.1. INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA POR CONTRASTE DIFERENCIAL DE FASE	2
1.2 INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA CONFOCAL	4
2. INSTRUMENTACIÓN ÓPTICA	6
2.1 SISTEMA ÓPTICO	6
2.2 ABERRACIONES	9
2.3 LÍMITES DE RESOLUCIÓN	9
2.4 FUNCIÓN DE TRANSFERENCIA ÓPTICA	11
3. POLARIZACIÓN	13
3.1 EFECTOS DE LA REFLEXIÓN Y TRANSMISIÓN EN LA POLARIZACIÓN DE LA LUZ	13
3.2 INFLUENCIA DE LA POLARIZACIÓN LINEAL EN LA DISTRIBUCIÓN DE INTENSIDAD EN EL FOCO DE UNALENTE	15
4. MEDIDA DE FOCO	17
4.1 FUNCIONES EN EL DOMINIO ESPACIAL.	17
4.1.1 Diferencia al cuadrado	17
4.1.2 Tenegrad	17
4.1.3 Laplaciano	18
4.1.4 Medida de la entropía del histograma	19
4.2 FUNCIONES EN EL DOMINIO FRECUENCIAL	19
4.2.1 Transformada de Fourier	19
4.3 POSICIONAMIENTO Y AUTO-FOCALIZACIÓN	20
5. DEFORMACIONES EN LA IMAGEN	21

5.1 FLUJO ÓPTICO	21
5.2 MEDIOS CONTINUOS	23
5.2.1 Desplazamiento	24
5.2.2 Rotación	25
5.2.3 Deformación	26
6. SISTEMA DE CONTROL DEL MICROSCOPIO	27
6.1 SISTEMA OPTICO	27
6.2 SISTEMA MECÁNICO	30
6.3 SISTEMA ELECTRÓNICO	33
6.4 ILUMINACIÓN	34
6.5 POLARIZACIÓN	35
6.6 MEDIDA DE FOCO	37
6.7 MEDIDA DEL FLUJO ÓPTICO.	44
6.8 INTERFAZ GRAFICA.	46
7. CONCLUSIONES	48
8. TRABAJOS FUTUROS	50
9. RECOMENDACIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	54

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Parámetros del sistema óptico	29
Tabla 2. Tiempos de cómputo de algoritmos de autofocus	42
Tabla 3. Selectividad de algoritmos de autofocus.	42

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Sistema microscopia DIC	2
Figura 2. Estructura fina del espécimen	3
Figura 3. Resolución (a) transversal, (b) axial, para un microscopio confocal	5
Figura 4. Microscopio confocal	5
Figura 5. Formación de la imagen por una lente	8
Figura 6. Separación entre fuentes puntuales	10
Figura 7. point-spread function para aperturas de 0.4 - 0.6 - 0.8 - 1.0	11
Figura 8. Irradiancia de entrada y salida en un sistema	12
Figura 9. Efecto de la reflexión y transmisión en la polarización	15
Figura 10. Densidad de energía en el foco de una lente con polarización	16
Figura 11. Lente iluminada por una lente linealmente polarizada	16
Figura 12. Medida del grado de foco	20
Figura 13. Comparación de plantillas	22
Figura 14. Posibles deformaciones de la imagen	23
Figura 15. Deformaciones vistas por el captor	24
Figura 16. Configuración óptica del sistema autofocus por polarización	27
Figura 17. Sistema mecánico	30
Figura 18. Sistema diseñado	31
Figura 19. Mascara de polarización	32
Figura 20. Analizador	32
Figura 21. Puerto paralelo del PC	33
Figura 22. Sistema de iluminación	34
Figura 23. Mejoras del histograma por iluminación	35
Figura 24. Orientación de los polarizadores	36
Figura 25. Objeto visto bajo varios ángulos de polarización	36

Figura 26. Realce de superficie por variación de polarización	37
Figura 27. Respuesta del algoritmo de autofocus diferencia al cuadrado	38
Figura 28. Respuesta del algoritmo de autofocus Tenegrad Prewitt	39
Figura 29. Respuesta del algoritmo de autofocus Tenegrad Sobel	39
Figura 30. Respuesta del algoritmo de autofocus Laplaciano	40
Figura 31. Respuesta del algoritmo de autofocus Entropía Shannon	40
Figura 32. Respuesta del algoritmo de autofocus Entropía log energy	41
Figura 33. Respuesta del algoritmo de autofocus Transformada de Fourier	41
Figura 34. Respuesta al flujo óptico	44
Figura 35. Correlación para diferentes tamaños de plantilla.	45
Figura 36. Interfaz gráfica visualización	46
Figura 37. Interfaz gráfica botones	47

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Sistema de Autofoco	55

RESUMEN

TITULO: ANÁLISIS DE UN SISTEMA DE AUTOFOCO PASIVO MEDIANTE POLARIZACIÓN*.

AUTOR: CHACÓN AVILA CARLOS ALBERTO**

PALABRAS CLAVES: Polarización, Microscopio Estéreo, medida de Enfoque, Algoritmo de Autoenfoque.

DESCRIPCIÓN:

El propósito de este trabajo fue construir un sistema de autofocus pasivo, que utilizara como principio la polarización de la luz y la combinación de componentes ópticos, para determinar su viabilidad como sistema metrológico.

Para ello se construyó un dispositivo óptico que incorpora lentes, polarizadores, un sistema de captación y un sistema para el procesamiento digital de las imágenes obtenidas, el sistema óptico está basado en un microscopio estereo que, en una primera fase separa dos haces linealmente polarizados en direcciones perpendiculares, en la siguiente fase se recupera la información proveniente de cada componente óptico al pasar por un sistema de lentes; la influencia que tienen los efectos de la polarización en la distribución de intensidad cerca del punto de focalización del sistema óptico es el principio de su funcionamiento; la auto focalización se obtuvo mediante un desplazamiento micrométrico, un motor paso a paso y un circuito controlador del mismo. Un grupo imágenes fue registrada por una cámara realizando desplazamientos del plano focal del sistema, se efectuó un análisis estadístico de las imágenes para la comparación de contrastes e intensidades en diferentes planos imagen y planos objeto, con el fin de asociarlos a puntos de focalización y desfocalización; usando como herramienta computacional el toolbox de procesamiento de imágenes de Matlab y la incorporación de una interfaz gráfica para el fácil manejo del dispositivo.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Física. Director: Dr. Arturo Plata Gómez

ABSTRACT

TITLE: ANALISIS FOR A PASIV AUTOFOCUS SYSTEM THROUGH POLARIZATION*.

AUTHOR: CHACÓN AVILA CARLOS ALBERTO**.

KEY WORDS: Polarization, Stereo Microscopy, Focus Measure, Autofocusing Algorithm.

DESCRIPTION:

The purpose of this work is to building a passive autofocus system that uses as principle the light polarization and the combination of optics components to determine its viability as metrologic system.

For this was make an optic device that incorporate lens, polarized, a catchment system and a system for the digital image processing obtained, the optic system is based on a stereo microscope that in a first phase it separate two linear polarized beams in perpendicular directions, in the next phase is recovered the information from each optic component that have pass across a lens system; the influence that have polarization effects on the intensity distribution near to the focus point of the optic system is the principle of its operation; the autofocus is obtained through a micrometric displacement, an engine step by step and a controller circuit of itself. a group of image must be registered by a CCD making displacements of the focal frame of the system, was made a statistic analysis of the image for the comparison of contrasts and intensity in different image frames and object frames with the purpose of associate them in focalization and unfocalization points; using as computational tool the image processing of matlab and the incorporation of a graphic interface for the easy operation of the device.

* Work of Grade

** Ability of Sciences. School of Physics. Director: Dr. Arturo Plata Gomez

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de autoenfoco son ampliamente utilizados en cámaras fotográficas y de video, el papel que desempeñan consiste en obtener la mejor posición de las lentes y el resultado de esto es una mayor precisión en la focalización de la imagen, sin embargo su desarrollo reviste una gran gama de opciones tecnológicas lo que hace posible que éstos sean utilizados en numerosas aplicaciones, tales como, cálculo de distancias entre objetos en visión computacional, la detección automática de estructuras en microscopía y actualmente la reconstrucción tridimensional.

Los actuales mecanismos de autoenfoco combinan el trabajo óptico con el análisis de la imagen lo que incluye un sistema de captación, digitalización y procesamiento de la misma, los sistemas de autoenfoco más comunes están catalogados como sistemas activos y pasivos. Los sistemas de enfoque activos requieren enviar una señal de referencia para focalizar y en su mayoría incorporan un sistema de triangulación lo cual les permite determinar la posición del objeto observado, los sistemas por ultrasonido e infrarrojo son los más comunes en éste tipo; en los sistemas activos es necesario realizar ajustes del sistema óptico buscando un incremento en el contraste de la imagen mediante el procesamiento en paralelo de la misma, es este último aspecto un compromiso computacional y por ende las técnicas empleadas requieren algoritmos eficientes que disminuyan el tiempo de procesamiento inherente en todo sistema de control.

En este proyecto se incluyen dos técnicas que en conjunto proporcionan una nueva herramienta de trabajo en este campo, la polarización de la luz y la posterior focalización de la imagen, esto involucra un aumento en el contraste de las imágenes y por ende un mejor parámetro discriminante en el proceso de enfoque, sin embargo, es claro que ninguna técnica puede abarcar todos los propósitos y por ello es importante conocer los alcances que este trabajo puede reportar.

Con motivo de establecer la secuencia de los pasos que fueron dados para llevar a término éste trabajo, se presenta inicialmente la documentación teórica, la descripción del montaje realizado y posteriormente los procedimientos realizados para la adquisición de resultados.

1. MICROSCOPIA

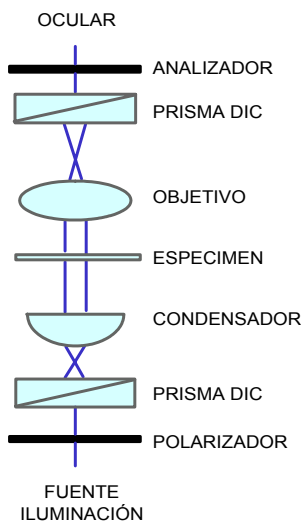
Buscando contextualizar el desarrollo de éste proyecto se analizan dos tipos de microscopia que planteados la bajo una perspectiva propia, enlazan los conceptos de polarización y enfoque que fueron utilizados en este sistema y de esta forma mostrar que están enmarcados dentro del campo de aplicación para el cual fue pensado.

1.1. INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA POR CONTRASTE DIFERENCIAL DE FASE

La microscopía DIC es una herramienta que permite obtener imágenes de alta resolución y es utilizada para el análisis de especímenes biológicos y el desarrollo de semiconductores [1]

Su idea conlleva varios fenómenos ópticos (figura1.)

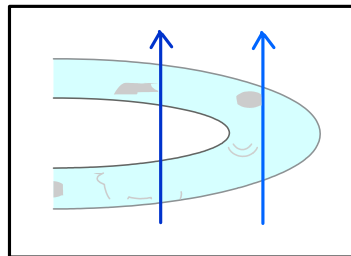
Figura 1. Sistema microscopia DIC



Inicialmente se tiene un haz de luz linealmente polarizado, al hacerlo incidir sobre un prisma Wollaston este hace posible dividirlo en dos haces con diferente ángulo de polarización y una separación que equivale aproximadamente a la resolución de la lente objetivo, esto es debido a que el prisma Wollaston posee una estructura cristalina ópticamente anisotrópica lo que representa diferentes

propiedades ópticas a lo largo de cada dirección en la estructura atómica del cristal, es por ésto que uno de estos rayos viaja más lentamente a través del material birrefringente, así los dos rayos emergen con diferente ángulo de polarización además de una ligera diferencia en fase; estos haces atraviesan el espécimen registrando cambios en la diferencia de camino óptico debidos a la estructura y variaciones espaciales en el índice refractivo del mismo (figura 2).

Figura 2. Estructura fina del espécimen



Como es de esperar, la fase de la onda luminosa puede ser modulada por un objeto transparente sin necesariamente atenuar la amplitud, sin embargo los detectores registran cambios de forma directa en la intensidad y no cambios de fase, es por ello que se requieren técnicas en las cuales se convierta la modulación en fase en una perturbación modulada en amplitud.

Posteriormente la separación entre los dos rayos es eliminada invirtiendo el proceso con otro prisma y los haces pasan a tener el mismo ángulo de polarización, esto es verificado mediante un segundo polarizador ubicado en ángulo recto, que es conocido como analizador. De esta manera en el plano imagen del microscopio los dos haces pueden interferir para producir contraste en amplitud, es decir, son recombinados para producir un patrón de interferencia; la intensidad en el plano imagen está dada por:

$$I = I_o \sin^2 \left(\frac{\Delta}{2} \right) \quad 1$$

Donde Δ representa la diferencia de fase entre los dos haces, este corrimiento de fase es la suma de dos corrimientos, uno producido por el prisma wollaston y el otro es debido a las variaciones de camino óptico del espécimen.

1.2 INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA CONFOCAL

En la microscopía óptica convencional una imagen no focalizada es borrosa, tiene menor definición en los bordes y el promedio de la intensidad en la imagen no cambia, a medida que se consigue focalizar la imagen el resultado es una imagen más contrastante compuesta de todos los planos de observación del espacio objeto; en la microscopía confocal es posible establecer planos de focalización y por lo tanto obtener con precisión imágenes de secciones longitudinales y transversales, haciéndolo idóneo para ser utilizado en la reconstrucción de superficies y el análisis de la estructura interna de especímenes semitransparentes.

El principio del microscopio de escaneo óptico confocal CSOM está centrado en varios aspectos que lo caracterizan [2]; La iluminación puntual, la detección puntual, el escaneo de la imagen y el sistema de lentes confocal.

La iluminación que es focalizada en un punto de la muestra mediante una lente condensadora, es transmitida a través de la muestra y focalizada por una lente objetivo, estas dos lentes coinciden en el foco lo que da su nombre de sistema confocal, la luz es filtrada espacialmente mediante un pinhole, en consecuencia la intensidad de luz recibida por el detector detrás del pinhole forma un punto definido por las leyes de la difracción, solo la iluminación que alcanza el pinhole pertenece a una región de focalización; mediante un patrón de rastreo pixel por pixel en cada plano del objeto se consigue formar una imagen completa (figura 4).

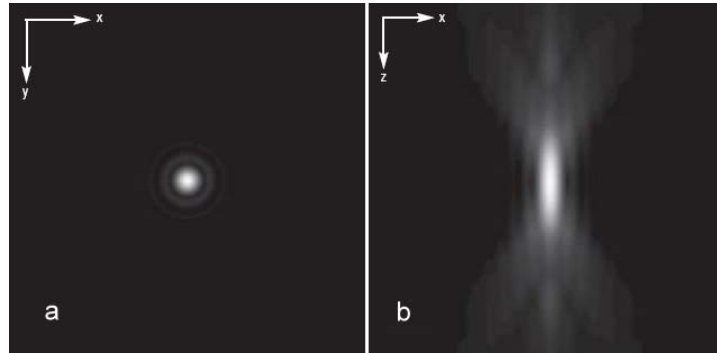
Debido a los efectos de la difracción producidos por las lentes dos puntos separados por una distancia muy pequeña pueden ser resueltos según criterios de Rayleigh si los picos de los patrones de Airy son separados por una distancia:

$$X_{Airy} = 0.4 \frac{\lambda}{AN_{obj}} \quad 2$$

Donde X indica el radio del primer anillo oscuro del patrón de Airy y AN es la apertura numérica de la lente objetivo (figura 3a), esto determina la resolución transversal del microscopio, la resolución axial no considerada en microscopios convencionales está definida por el patrón de airy 3D (figura 3b) también llamado point spread function PSF, dos puntos objeto separados una pequeña distancia son resueltos si los picos de sus patrones de Airy están separados por una distancia:

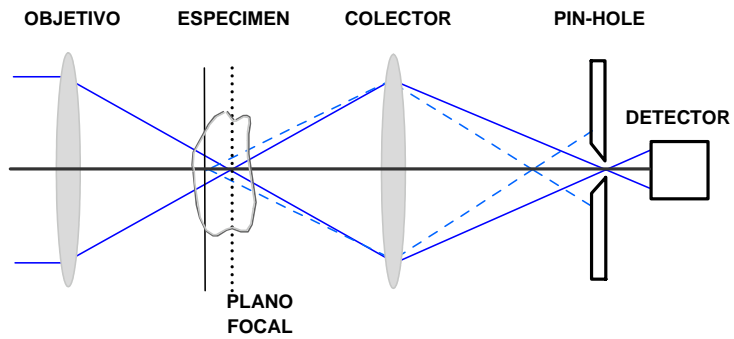
$$Z_{Airy} = 1.4 \frac{\lambda}{AN_{obj}^2} \quad 3$$

Figura 3. Resolución (a) transversal, (b) axial, para un microscopio confocal



La forma que ofrece la PSF corta y cilíndrica en este microscopio es lo que hace que si un objeto está fuera del plano focal la intensidad se reduzca notablemente [3].

Figura 4. Microscopio confocal



2. INSTRUMENTACIÓN ÓPTICA

2.1 SISTEMA ÓPTICO

Según el principio de Huygens cada punto de un objeto dispersa la iluminación incidente en forma de onda esférica. La luz que es reflejada por todos los puntos del objeto se entre cruza, impidiendo la localización de los detalles; para formar una imagen es necesario reasignar la luz proveniente de un punto del objeto a otro punto en el espacio; las lentes convergentes constituyen un instrumento a partir del cual se puede enfocar los rayos que emergieron desde un punto objeto, produciendo así la formación de la imagen, dicha imagen ofrece información tanto de la radiancia o información fotométrica (medida de la intensidad de la luz) como de la distancia o información geométrica de la escena.

El conocimiento de los parámetros que modelan una lente permite el estudio de la formación de las imágenes a través de las misma; considerando la óptica Gaussiana [4], es posible obtener la distancia focal, localización de planos principales y a partir de la formula gaussiana para lentes (12), establecer relaciones entre las posiciones, tamaño de los objetos y las imágenes. Debido a que los sistemas ópticos prácticos consisten no de una lente si no de un conjunto de ellas, es necesario disponer de un sistema que posibilite realizar el análisis de los parámetros involucrados en dichos sistemas [5]; ésto es logrado por métodos matriciales, mediante las matrices de refracción (4) y transmisión (6).

Matriz de refracción

$$R = \begin{bmatrix} 1 & -\frac{(n_t - n_i)}{r} \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad 4$$

Donde los términos n_i , n_t , r y d corresponden a índices de refracción de los medios, el radio y la separación entre los medios respectivamente.

$$D = \frac{(n_t - n_i)}{r} \quad 5$$

D es conocido como potencia de la superficie refractora en el contexto de la óptica geométrica.

Matriz de transmisión

$$T = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ \frac{d}{n_t} & 1 \end{bmatrix} \quad 6$$

El producto de las matrices de transferencia y refracción toma el rayo incidente en la primera cara de la lente y la transporta a la segunda cara de la misma

Sistema matricial para una lente

$$\square = R * T * R \quad 7$$

$$\square = \begin{bmatrix} 1 - d \frac{D_2}{n_2} & -D_1 - D_2 + \frac{D_1 D_2 d}{n_2} \\ \frac{d}{n_2} & 1 - \frac{D_1 d}{n_2} \end{bmatrix} \quad 8$$

Así el término que define la distancia focal de una lente gruesa es:

$$-\frac{1}{f} = -D_1 - D_2 + \frac{D_1 D_2 d}{n_2} \quad 9$$

Con motivo de simplificar las operaciones se asume que se trata de una lente delgada ($d \rightarrow 0$) y por lo tanto T es una matriz unitaria; de este modo la matriz que describe la lente será:

$$\square = R * I * R = \begin{bmatrix} 1 & -(D_1 + D_2) \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad 10$$

La potencia de cualquier lente delgada es igual a la suma de la potencia de sus superficies, que es el inverso de la distancia focal Z_{12} ; expresado en componentes esto se escribe como:

$$\square = \begin{bmatrix} z_{11} & z_{12} \\ z_{21} & z_{22} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & D \\ 0 & 1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & -\frac{1}{f} \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad 11$$

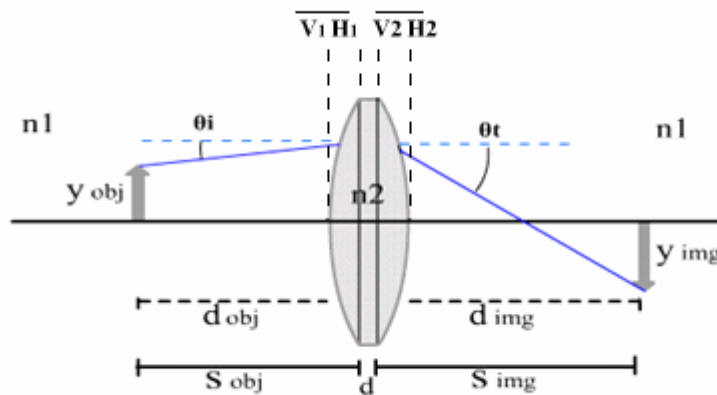
Las relaciones de distancias objeto, imagen y focal están dadas por la fórmula gaussiana para lentes:

$$\frac{1}{S_{obj}} + \frac{1}{S_{img}} = \frac{1}{f} \quad 12$$

Las dimensiones transversales de la imagen formada por el sistema óptico con respecto a las dimensiones del objeto definen lo que conocemos como aumento (figura 5.):

$$M = \frac{Y_{img}}{Y_{obj}} \quad 13$$

Figura 5. Formación de la imagen por una lente



2.2 ABERRACIONES

En todo sistema óptico es posible encontrarse con diferencias respecto a las condiciones ideales de la óptica gaussiana este hecho hace que se presenten inconvenientes cuando se desea trabajar con sistemas de lentes, estos fenómenos son denominados aberraciones y tienen diferentes causas ya sea por naturaleza geométrica o cromática y serán mencionadas brevemente para tenerlas en cuenta en la construcción del sistema.

Las diferencias en la distancia focal de los rayos marginales respecto a los rayos centrales crean un fenómeno conocido como aberración esférica;

Los haces que provienen de afuera del eje óptico con gran apertura hacen que las distancias focales varíen y por lo tanto los aumentos laterales aumenten en relación cuadrática.

Los sistemas ópticos muy diafragmados crean superficies focales de revolución alrededor del eje óptico lo cual crea cierta concavidad, este fenómeno es conocido como astigmatismo; así mismo todos los puntos del plano objeto no se forman en un plano imagen paraxial si no en una superficie curva, el efecto es conocido como curvatura de campo.

La falta de constancia del aumento lateral del sistema óptico cuando aumenta el tamaño del objeto produce distorsiones en la imagen.

La dispersión cromática que producen las lentes es una variación en la posición de la imagen debida al color (cromatismo de posición) y esta variación genera también que el aumento sea diferente para distintos colores (cromatismo de aumento).

Las aberraciones de tercer orden son debidas a efectos no asumidos en la óptica paraxial, observables cuando existen aperturas muy grandes.

2.3 LÍMITES DE RESOLUCIÓN

La imagen de un punto p esta focalizada, si el plano del detector (CCD) ubicado en la posición del detector y perpendicular al plano del eje óptico, coincide con el plano imagen del sistema. La radiancia del punto p es proporcional a la irradiancia resultante de la difracción de Fraunhofer (para una lente distribución de Airy), la cual determina la resolución transversal de lo que conocemos como punto focalizado. La irradiancia de una abertura circular de diámetro D está dada por:

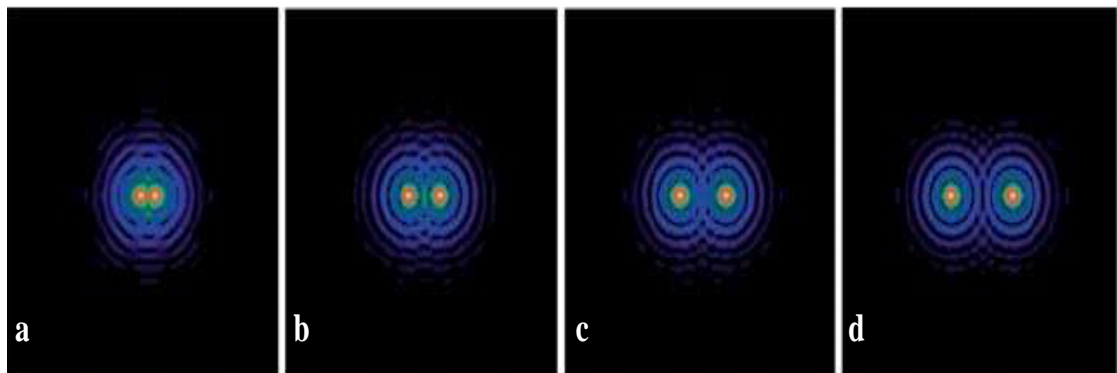
$$I(\theta) = I(0) \left[\frac{2J_1(ka \sin \theta)}{ka \sin \theta} \right] \quad 14$$

El radio del disco de Airy en el caso de una lente de focal f , enfocada en una pantalla es:

$$X_{Airy} = 0.6 \frac{\lambda}{AN_{obj}} \quad 15$$

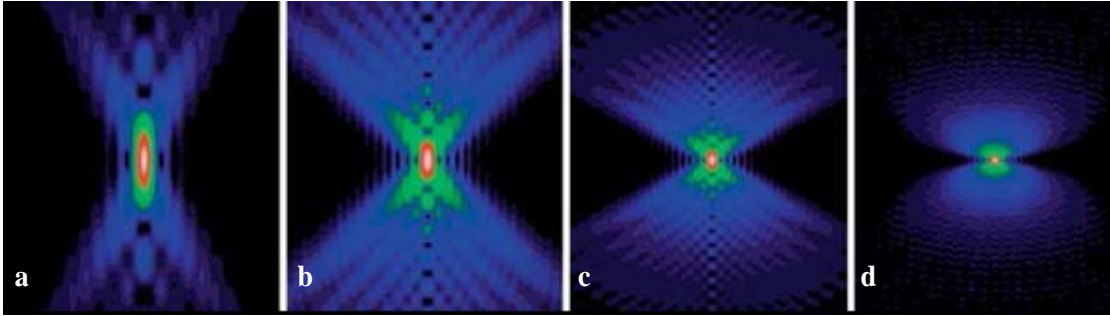
Para obtener una imagen con suficiente resolución según el criterio de Rayleigh, es indispensable hacer que los discos de Airy formados a partir de dos o más fuentes, no se extiendan más allá de del centro geométrico de sus vecinos, es decir, cuando el centro del patrón de Airy de una fuente cae en el primer mínimo del patrón de Airy de otra fuente, la figura 6 muestra el patrón de interferencia de dos fuentes puntuales para una separación entre ellas de λ , 2λ , 3λ , 4λ respectivamente.

Figura 6. Separación entre fuentes puntuales



Para la resolución axial la ecuación 16 provee una aproximación a la profundidad de foco, pero solo es utilizada en el límite de Rayleigh, el cual sugiere que una aberración esférica de $\lambda/4$ disminuye la radiancia del disco de Airy en un 20 por ciento [7]; la figura 7 muestra en escala logarítmica como varía la distribución de amplitud a través del foco para diferentes aperturas numéricas (0.4 - 0.6 - 0.8 - 1.0 respectivamente); al observar la forma cónica de la PSF (point spread function) es posible entender por qué se ve reducida la intensidad cuando el objeto es movido del plano focal.

Figura 7. point-spread function para aperturas de 0.4 - 0.6 - 0.8 - 1.0



$$Z_{Airy} = 2 \frac{\lambda}{AN_{obj}^2} \quad 16$$

2.4 FUNCIÓN DE TRANSFERENCIA ÓPTICA

Bajo criterios de la óptica física, las relaciones de entrada y salida en un sistema lineal pueden ser expresadas matemáticamente como la convolución de la función radiancia objeto y la función de ensanchamiento o respuesta impulsional.

$$I_i(Y, Z) = I_o(y, z) \otimes \partial(y, z) \quad 17$$

En el dominio frecuencial y utilizando el teorema de la convolución esto es expresado como la multiplicación del espectro de frecuencia de la distribución de radiancia de la imagen, con la función de transferencia; lo que muestra que podemos considerar el objeto formado por componentes armónicas de Fourier, componentes que serán transformadas por el sistema óptico.

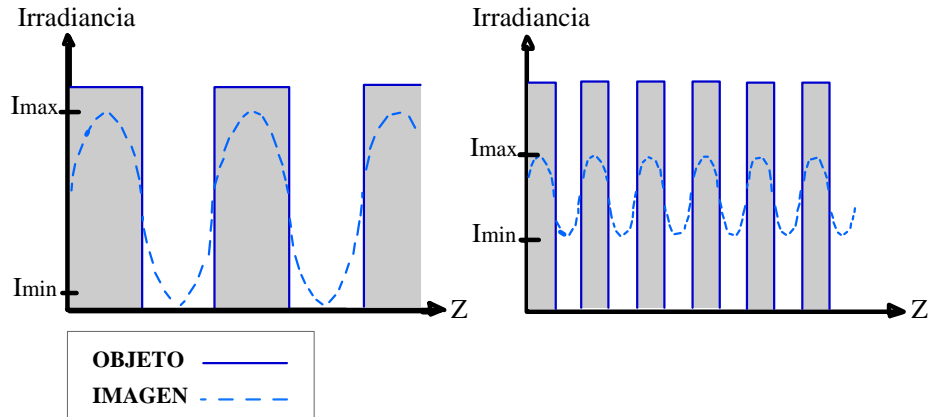
$$F \{I_i(Y, Z)\} = F \{I_o(y, z)\} \bullet F \{\partial(y, z)\} \quad 18$$

Las modificaciones objeto-imagen están relacionadas con los cambios en amplitud y fase introducidos por el sistema, por lo tanto, la función de transferencia óptica de un sistema formador de imágenes permite determinar las especificaciones de diseño.

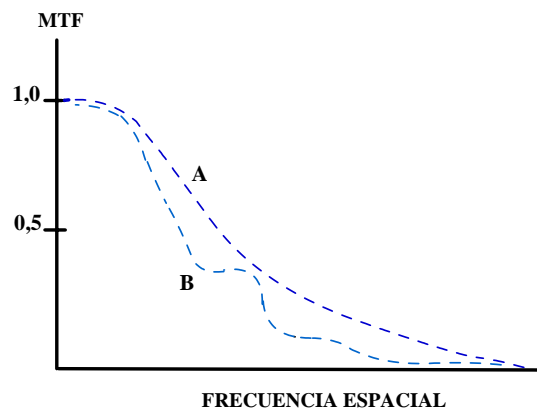
Normalmente es analizado el módulo de la función de transferencia óptica, llamado función de transferencia de modulación FTM, ya que esta expresa la reducción en contraste objeto imagen (figura 8) que es definido como:

$$M = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}}$$

Figura 8. Irradiancia de entrada y salida en un sistema



Es de esperar, que a mayor frecuencia espacial (mayor número de líneas por unidad de longitud) menor contraste o modulación en la imagen; esta función puede representarse junto con la frecuencia espacial, dando como resultado una curva que indica la calidad del sistema óptico. La figura 2.5 muestra la FTM para un sistema de lentes perfecto (A) e imperfecto (B); a una frecuencia cero el valor de la FTM es uno y la frecuencia límite esta dada por la difracción del sistema óptico lo que depende del diámetro de la pupila de entrada. Es necesario aclarar que en el caso de sistemas de microscopía se requieren patrones de línea con resolución micrométrica o nanométrica, por esto se hace muy compleja su medida.



FTM para un sistema óptico (A) perfecto, (B) no perfecto

3. POLARIZACIÓN

Los descubrimientos de Maxwell abrieron el camino para predecir el comportamiento de la luz ya que pueden ser aplicados conceptos de las ondas electromagnéticas; una descripción simplificada de la luz es realizada por medio de las ondas eléctricas, así para un tren de ondas monocromático que se mueve en un medio homogéneo e isótropo, la magnitud E del campo eléctrico puede ser descrito como:

$$E(r, t) = \text{real}[E_o \exp(-jk\vec{r})] \exp(j\omega t) \quad 20$$

Donde E_o es una cantidad real que describe la amplitud de la onda, $\exp(-jk\vec{r})$ es la cantidad compleja que describe la dirección de propagación (polarización) y $\exp(j\omega t)$ es la cantidad compleja que describe la frecuencia de propagación.

El concepto de polarización es concebido como el modo de vibración del vector de campo eléctrico y juega dos papeles importantes en la adquisición de imágenes con sistemas ópticos como ocurre en la microscopía DIC; el primero de ellos es que el contraste por interferencia depende de la polarización de las ondas que contribuyen y el segundo es que la interacción de la luz en la interfaz de dos medios produce cambios en el estado de polarización [8].

3.1 EFECTOS DE LA REFLEXIÓN Y TRANSMISIÓN EN LA POLARIZACIÓN DE LA LUZ

Como se menciona la interacción de la luz en una frontera puede producir cambios en los estados de polarización ya que los coeficientes de reflexión y transmisión dependen de la polarización; para entender esto, analizamos los casos de polarización perpendicular y polarización paralela, en el caso generalizado, cuando una onda incide en una frontera dieléctrica de forma oblicua.

Si el campo eléctrico es perpendicular al plano de incidencia decimos que se trata de polarización perpendicular (figura 9) donde el vector de número de onda tiene componentes cartesianas x, z , el vector de campo eléctrico incidente, reflejado y transmitido por lo tanto es:

$$\begin{aligned}
\bar{E}(x, z) &= a_y E_{io} \exp - j\beta_1 (x \sin \theta_i + z \cos \theta_i) \quad \text{Incidente} \\
\bar{E}(x, z) &= a_y E_{ro} \exp - j\beta_1 (x \sin \theta_r - z \cos \theta_r) \quad \text{Reflejada} \\
\bar{E}(x, z) &= a_y E_{to} \exp - j\beta_2 (x \sin \theta_t + z \cos \theta_t) \quad \text{Transmitida}
\end{aligned}
\tag{21}$$

Donde β es la constante de fase, las variables desconocidas como ángulos e intensidad de campo reflejado y transmitido, son obtenidas a partir de las condiciones de frontera. Si se Satisfacen las leyes de Snell se llega a las expresiones de los coeficientes de reflexión y transmisión para este tipo de polarización [8]:

$$\begin{aligned}
\Gamma_{\perp} &= \frac{E_{ro}}{E_{io}} = \frac{\eta_2 \cos \theta_i - \eta_1 \cos \theta_t}{\eta_2 \cos \theta_i + \eta_1 \cos \theta_t} \quad \text{reflexión} \\
\tau_{\perp} &= \frac{E_{to}}{E_{io}} = \frac{2\eta_2 \cos \theta_i}{\eta_2 \cos \theta_i + \eta_1 \cos \theta_t} \quad \text{Transmisión}
\end{aligned}
\tag{22}$$

Por otro lado, si el campo eléctrico es paralelo al plano de incidencia, los términos de polarización juegan un papel más importante que en el caso anterior, (figura 9) el campo eléctrico cambia su dirección y el fasor de campo eléctrico para cada caso es:

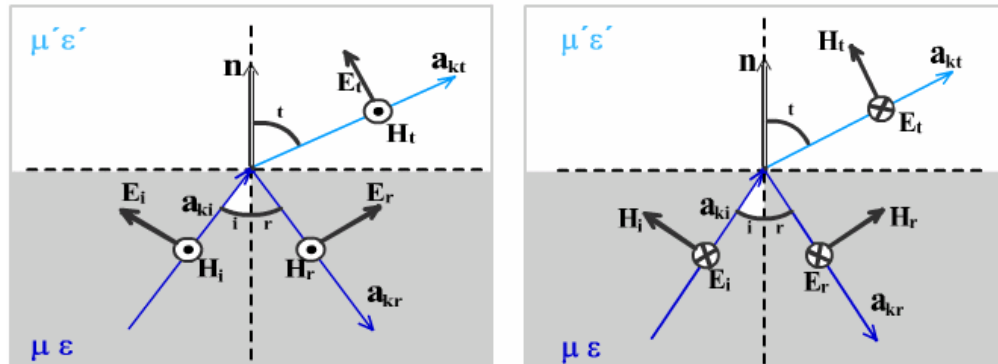
$$\begin{aligned}
\bar{E}(x, z) &= E_{io} (a_x \cos \theta_i - a_z \sin \theta_i) \exp - j\beta_1 (x \sin \theta_i + z \cos \theta_i) \quad \text{Incidente} \\
\bar{E}(x, z) &= E_{ro} (a_x \cos \theta_r + a_z \sin \theta_r) \exp - j\beta_1 (x \sin \theta_r - z \cos \theta_r) \quad \text{Reflejada} \\
\bar{E}(x, z) &= E_{to} (a_x \cos \theta_t - a_z \sin \theta_t) \exp - j\beta_2 (x \sin \theta_t + z \cos \theta_t) \quad \text{Transmitida}
\end{aligned}$$

Simplificando expresiones y estableciendo relaciones entre las ecuaciones anteriores como en el caso de polarización perpendicular, los coeficientes de reflexión y transmisión para polarización paralela son:

$$\begin{aligned}
\Gamma_{\parallel} &= \frac{E_{ro}}{E_{io}} = \frac{\eta_2 \cos \theta_i - \eta_1 \cos \theta_t}{\eta_2 \cos \theta_i + \eta_1 \cos \theta_t} \quad \text{reflexión} \\
\tau_{\parallel} &= \frac{E_{to}}{E_{io}} = \frac{2\eta_2 \cos \theta_i}{\eta_2 \cos \theta_t + \eta_1 \cos \theta_i} \quad \text{Transmisión}
\end{aligned}
\tag{23}$$

Si el medio en el que incide la onda es un conductor (asumido como conductor perfecto) la magnitud de los coeficientes de reflexión y transmisión se reduce a $\Gamma = -1$, $\tau = 0$ lo que conduce a eliminar la componente del campo eléctrico transmitida.

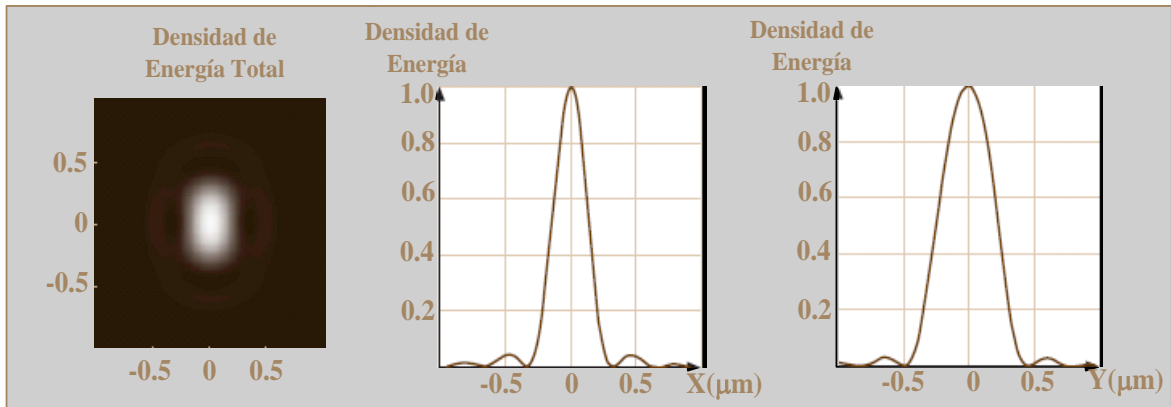
Figura 9. Efecto de la reflexión y transmisión en la polarización



3.2 INFLUENCIA DE LA POLARIZACIÓN LINEAL EN LA DISTRIBUCIÓN DE INTENSIDAD EN EL FOCO DE UNALENTE

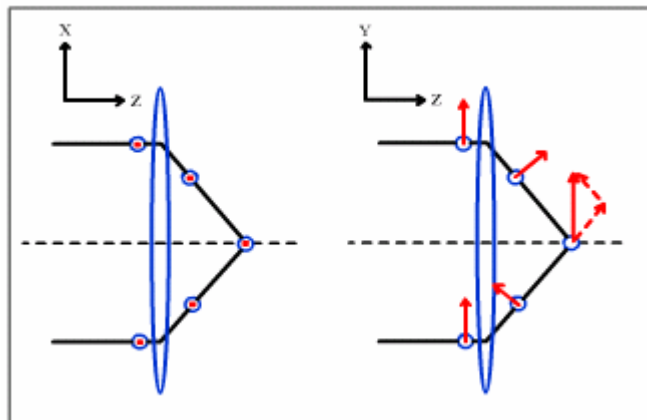
Cuando una lente es iluminada por una onda plana linealmente polarizada, la distribución de intensidad en la región del foco pierde simetría rotacional (figura 10), los vectores de campo eléctrico que son perpendiculares al plano de refracción de los rayos se suman como escalares (figura 11), debido a que las componentes de campo eléctrico en este punto son tratadas según el principio de superposición; sin embargo las componentes de campo eléctrico orientadas de forma paralela al plano de refracción, cambian su dirección después de ser refractadas por la lente, por lo tanto se suman como vectores produciendo una componente transversal de menor tamaño (figura 11); esto fácilmente observado en sistemas con alta apertura numérica donde el carácter vectorial del campo puede producir cambios más drásticos.

Figura10. Densidad de energía en el foco de una lente con polarización



La figura 10 muestra la pérdida de simetría de la densidad de energía en el plano focal de una lente ideal con apertura numérica 1.0, la cual es iluminada por una onda plana linealmente polarizada en la dirección Y con una longitud de onda de 632nm; los cortes en cada eje muestran el aumento en el eje Y asociado a la polarización [6].

Figura 11. Lente iluminada por una lente linealmente polarizada



4. MEDIDA DE FOCO

Adquirir una imagen desde una cámara de video representa un proceso de discretización del espacio y de la intensidad; mediante la cámara es posible obtener una imagen digital que representa una proyección de la escena 3d en una disposición de fotodetectores que cuantifican Intensidades en puntos (x,y) de una matriz CCD.

Esta es imagen discreta o digital, representada en elementos de una arreglo bidimensional de píxeles, donde cada píxel posee un tamaño físico que puede variar según el tipo de cámara de 4 a 15 micras; en cada píxel se tiene un registro de niveles de gris o intensidades en cada banda de color.

El registro realizado por la cámara permite establecer variaciones locales en la imagen como relaciones entre intensidad de píxeles, lo que indica un incremento en el contraste, estas variaciones analizadas bajo parámetros de enfoque hacen posible establecer una aproximación a los planos de focalización; estas técnicas se emplean en el dominio espacial y frecuencial y son utilizadas en visión computacional para medir el nivel de focalización (ζ) de una imagen [10-11-12-]

4.1 FUNCIONES EN EL DOMINIO ESPACIAL.

4.1.1 Diferencia al cuadrado. El método representa la diferencia entre la imagen y su versión desplazada se basa en reconocimiento de las variaciones de intensidad entre píxeles vecinos

$$\zeta = \frac{1}{A} \sum_M \sum_N |I(x, y) - I(x, y+1)|^2 \quad 24$$

Donde $A=M*N$ y designa el número de datos de la imagen e $I(x,y)$ representa las intensidades vibracionales en la imagen.

4.1.2 Tenegrad. Es de esperar que los bordes en una imagen focalizada estén bien definidos es por esta razón que el uso de gradientes (dirección de máxima variación de intensidad) en la imagen, sea una medida confiable del grado de foco y por esto es un método considerado como estándar en este campo; al estimar el

gradiente en la imagen es frecuente el uso de operadores tales como sobel o prewitt como mascarar de convolución y utilizar umbrales para mejorar la medida.

Máscara de sobel:

$$S_x = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad S_y = \begin{pmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{pmatrix} \quad 25$$

Màscara de prewitt:

$$P_x = \begin{pmatrix} -1 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 1 \end{pmatrix} \quad P_y = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad 26$$

La medida del foco de la imagen está dada por:

$$\zeta = \sum_M \sum_N \sqrt{G_x(x, y)^2 + G_y(x, y)^2} \quad 27$$

Donde $G_x(x,y)$ y $G_y(x,y)$ son respectivamente la convolución de la imagen $I(x,y)$ con las máscaras direccionales.

4.1.3 Laplaciano. El uso del operador de segunda derivada es utilizado debido a que este es un filtro pasa alto y como los bordes definidos en una imagen están asociados con frecuencias altas, proporciona una medida de estas frecuencias; como operador de la segunda derivada es utilizado el laplaciano el cual puede ser aproximado con la mascara

$$L = \frac{1}{6} \begin{pmatrix} 0 & -1 & 0 \\ -1 & 4 & -1 \\ 0 & -1 & 0 \end{pmatrix} \quad 28$$

La suma de los valores del resultado de la convolución entrega una medida de foco, sin embargo es posible hacer previamente un cálculo de la varianza del valor absoluto para mejorar el cálculo así:

$$\zeta P = \sum_M \sum_N |L(x, y) - \bar{L}|^2 \quad 29$$

Donde \bar{L} es:

$$\bar{L} = \frac{1}{MN} \sum_M \sum_N |L(x, y)| \quad 30$$

4.1.4 Medida de la entropía del histograma. El histograma de una imagen aquí es utilizado como herramienta cuantitativa, la distribución de los valores de intensidad de los píxeles de una imagen en niveles de gris, es una importante información acerca del contraste de una imagen así como de su rango dinámico, esto es utilizado para hallar la entropía, ya que en una imagen desenfocada el histograma tiende hacia una distribución uniforme [10].

4.2 FUNCIONES EN EL DOMINIO FRECUENCIAL

4.2.1 Transformada de Fourier. Una imagen puede considerarse como una función de dos variables dadas por las coordenadas x e y de un píxel, donde el valor de la función es el valor de intensidad del píxel es decir, está compuesta por señales bidimensionales discretizadas, entonces existe una relación directa entre la imagen y su espectro de frecuencias espaciales, ya que una imagen sin cambios drásticos en sus píxeles, está asociada con frecuencias espaciales bajas, mientras que aquellas que presentan más detalle y sus bordes están mejor definidos está compuesta de frecuencias espaciales altas.

Nivel de foco asociado a la transformada de Fourier discreta esta dado por:

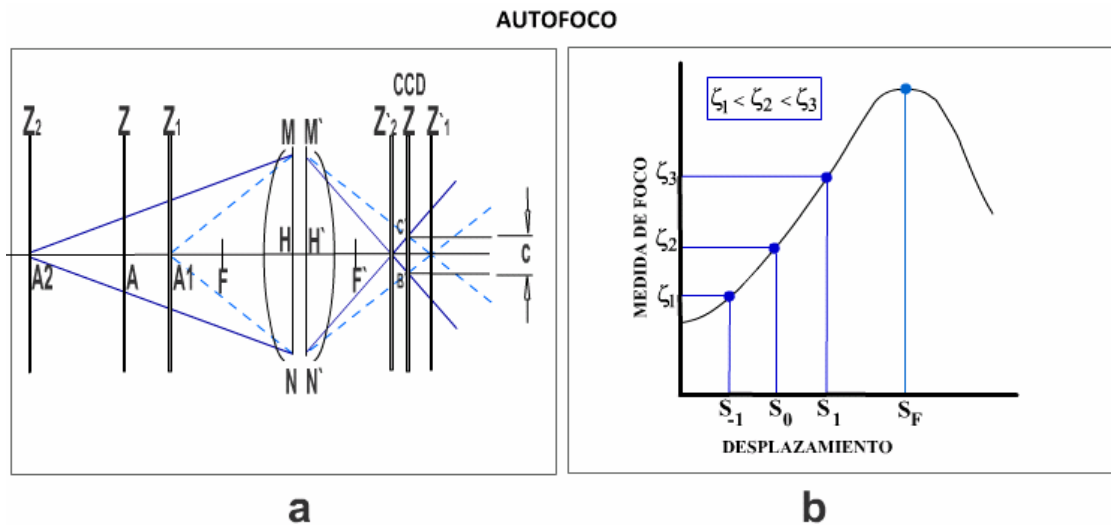
$$\zeta_{DFT} = \frac{1}{MN} \sum_M \sum_N |I(f_x, f_y)| \quad 31$$

Donde $I(f_x, f_y)$ representa la transformada de Fourier de $I(x, y)$.

4.3 POSICIONAMIENTO Y AUTO-FOCALIZACIÓN.

Como se ya se mencionó antes, en los sistemas de autofocus pasivo la búsqueda es efectuada tomando en consideración los algoritmos de medida de foco, éstos asisten la búsqueda de la imagen con mayor contraste ubicada entre los puntos $Z'2$ y $Z'1$ (figura 12a), las limitaciones causadas por los efectos de la difracción producen que la imagen en un rango estrecho registre una imagen más clara en el detector; posición en la cual el plano imagen debe encontrarse junto con el plano de la CCD; ésta condición se logra mediante el registro dinámico de la medida de foco.

Figura 12. Medida del grado de foco



Al observar la gráfica de medida de foco de los algoritmos, es posible encontrar un máximo absoluto que determine la posición de mejor imagen y por lo tanto establecer cuál debe ser el movimiento del sistema mecánico, de esta manera si la medida de foco es computarizada en la posición actual S_0 (figura 12b) tomada como referencia, puede ser comparada con la medida de foco S_{-1} y S_1 que corresponden al sistema desplazado una corta distancia anterior y posterior a la posición S_0 , la relación entre estos datos establece cual es la dirección en la cual debe moverse nuevamente el motor, es decir, si la medida de foco crece el sistema no cambia de dirección, si la medida de foco decrece el sistema cambia de dirección disminuyendo el paso realizado inicialmente, lo que minimiza el intervalo de búsqueda.

5. DEFORMACIONES EN LA IMAGEN

5.1 FLUJO ÓPTICO

Con el fin de analizar los errores cometidos en la construcción del sistema óptico-mecánico producto de la alineación, se pensó en determinar en la imagen los corrimientos perpendiculares al eje óptico, estos se producen cuando el eje perpendicular al captor (CCD) no coincide con el eje de desplazamiento del sistema [16].

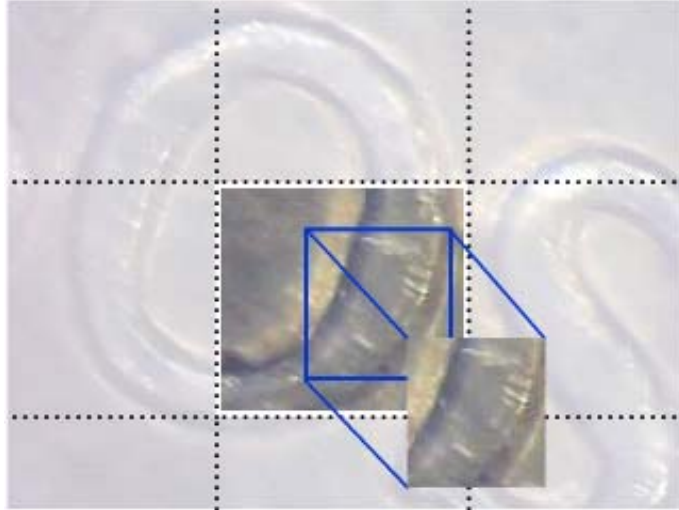
Al tomar una secuencia de video, cada imagen es una función de variables espaciales y temporales que como se mencionó antes son discretas, si las imágenes sufren desplazamientos estos pueden ser considerados de la siguiente forma:

$$I(x, y, t + \tau) = I(x - \Delta x, y - \Delta y, t) \quad 32$$

Lo que indica que una imagen tomada en un tiempo $t+\tau$ se obtiene del movimiento de todos los puntos en la imagen actual, en la ecuación 32 $(\Delta x, \Delta y)$ es el desplazamiento del punto (x, y) ; no obstante encontrar el desplazamiento de un pixel entre dos imágenes consecutivas es una tarea imposible debido a que están involucradas otras variables, por ejemplo el ruido propio de la cámara, así que es fácil confundir un píxel en particular con los píxeles adyacentes, por ello la información local no es útil, es necesario observar una región de la imagen para establecer estos desplazamientos.

La solución planteada para esto es llamada comparación de plantillas (template matching), se basa en la búsqueda de información contenida en una imagen de menor tamaño en otra de mayor tamaño, esta técnica es usada en la detección de objetos y el seguimiento, cuando es aplicada a secuencias de video permite definir el movimiento en diferentes regiones de la imagen.

Figura 13. Comparación de plantillas



La imagen obtenida en un tiempo t es dividida en bloques, cada uno de estos se busca en la vecindad de la imagen adquirida en un tiempo posterior $t+\tau$, la cual es de mayor tamaño; aunque es posible establecer el proceso de búsqueda por diversos métodos, aquí se ha empleado el más sencillo de todos, la correlación cruzada normalizada.

$$\gamma(u, v) = \frac{\sum_{x,y} [f(x, y) - \overline{f_{u,v}}] [t(x-u, y-v) - \bar{t}]}{\left\{ \sum_{x,y} [f(x, y) - \overline{f_{u,v}}]^2 \sum_{x,y} [t(x-u, y-v) - \bar{t}]^2 \right\}^{\frac{1}{2}}} \quad 33$$

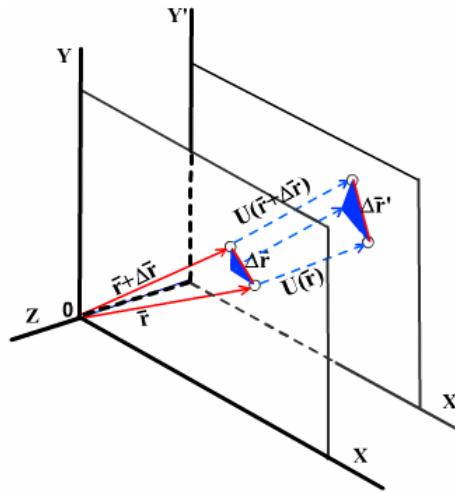
Donde $f(x,y)$ es la imagen, $t(x-u,y-v)$ es la plantilla, $\overline{f_{u,v}}$ es el valor medio de $f(x,y)$ la región bajo la plantilla, esto que es implementado en matlab, calcula la correlación cruzada y la normaliza para entregar los coeficientes de correlación.

5.2 MEDIOS CONTINUOS

El capítulo anterior introduce la idea de que existen deformaciones en la imagen debidas a la pérdida de telecentricidad y la contracción o expansión producidas por el sistema de lentes, estos hechos son los que motivan a realizar un análisis de deformaciones propio de los medios continuos.

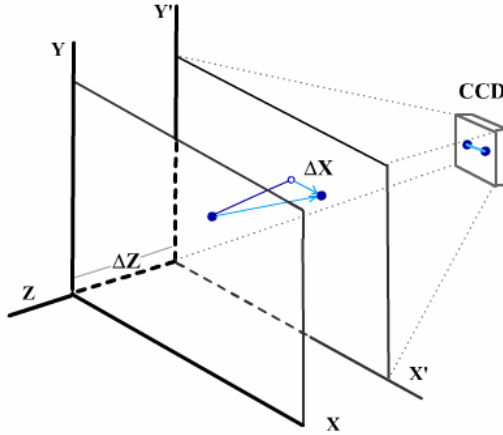
A pesar de insistir en que una imagen es un sistema discreto en el desarrollo de capítulos anteriores, es conveniente hacer un análisis de la imagen como si fuese un cuerpo continuo, de alguna manera buscando establecer analogías con un sólido rígido; en un sólido presentan 6 grados de libertad de los cuales 3 de ellos determinan el movimiento de traslación y los otros 3 el de rotación, la imagen 6.1 muestra la deformación que sufre la imagen cuando el sistema óptico se mueve registrando los planos de enfoque, la imagen sufre cambios que pueden ser debidos a rotaciones, traslaciones y deformaciones entre un plano imagen y otro.

Figura 14. Posibles deformaciones de la imagen



Como se señaló en el capítulo de flujo óptico estos cambios pueden ser hallados estableciendo una correspondencia de parámetros entre una imagen y la otra.

Figura 15. Deformaciones vistas por el captor



5.2.1 Desplazamiento. Estudiando el término $U(\bar{r} + \Delta\bar{r})$ (figura 14) se puede determinar que parte de esta variación corresponde a traslación, rotación y deformación (figura 15).

Haciendo una expansión en series de Taylor para Δr muy pequeños y despreciando los términos superiores a dos [17].

$$U(\bar{r} + \Delta\bar{r}) = U(\bar{r}) + \frac{\partial U}{\partial r} \Delta\bar{r} + \dots \quad 34$$

Donde $\Delta r = \Delta X_i$ con $i=1,2,3$

En esta expresión $U(\bar{r})$ representa el traslado de un punto una distancia $|U(\bar{r})|$ siguiendo la dirección y sentido de dicho vector; mientras que $\frac{\partial U}{\partial r} \Delta\bar{r}$ representa el cambio del segmento Δr , que escrito en términos de sus componentes:

$$\frac{\partial U(r)}{\partial r} = \left(\frac{\partial U}{\partial x} \right)_{i,j} \quad 36$$

Este último es llamado tensor gradiente de desplazamientos (sus elementos miden relaciones de longitud), debido a que es un tensor de segundo orden es posible descomponerlo en la suma de un tensor simétrico y otro anti-simétrico.

$$\frac{\partial U_i}{\partial x_j} = \underbrace{\frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right)}_{\text{simétrico}} + \underbrace{\frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} - \frac{\partial u_j}{\partial x_i} \right)}_{\text{anti-simétrico}} \quad \text{con } i, j = 1, 2, 3 \quad 37$$

Donde la parte simétrica recibe el nombre de tensor de deformación y la parte anti-simétrica recibe el nombre de tensor de rotación:

$$U_i(x_j + \Delta x_j) = \text{desplazamiento} + \text{deformación} + \text{rotación} \quad 38$$

5.2.2 Rotación. La representación del tensor de rotaciones en sus componentes matriciales (**A**).

$$\begin{pmatrix} A_{11} & A_{12} & A_{13} \\ A_{21} & A_{22} & A_{23} \\ A_{31} & A_{32} & A_{33} \end{pmatrix} \quad 39$$

Para un tensor anti-simétrico tendremos:

$$\frac{\partial u_i}{\partial x_i} = 0 \quad \text{y} \quad \frac{\partial u_i}{\partial x_j} = -\frac{\partial u_j}{\partial x_i} \quad 40$$

Finalmente la matriz de rotación estará dada por:

$$A = \begin{pmatrix} 0 & A_{12} & A_{13} \\ -A_{12} & 0 & A_{23} \\ -A_{13} & -A_{23} & 0 \end{pmatrix} \quad 41$$

Esta matriz define el eje alrededor del cual se produce el giro promedio de los pixeles de la imagen y el valor girado.

5.2.3 Deformación. Por otro lado el tensor de deformaciones que aquí será representado por E en forma matricial puede ser escrito como:

$$E = \begin{pmatrix} \varepsilon_{11} & \varepsilon_{12} & \varepsilon_{13} \\ \varepsilon_{21} & \varepsilon_{22} & \varepsilon_{23} \\ \varepsilon_{31} & \varepsilon_{32} & \varepsilon_{33} \end{pmatrix} \quad 42$$

Donde los valores $\varepsilon_{ij} \ll 1$ definen pequeñas deformaciones.

Un tensor real y simétrico es diagonalizable y existen 3 direcciones principales mutuamente perpendiculares asociadas a los autovalores, al diagonalizar la matriz se hacen rotar los ejes cartesianos hasta hacerlos coincidir con los ejes principales.

$$E = \begin{pmatrix} \varepsilon^1 & 0 & 0 \\ 0 & \varepsilon^2 & 0 \\ 0 & 0 & \varepsilon^3 \end{pmatrix} \quad 43$$

Al multiplicar los autovalores por un segmento en alguna de estas direcciones se encuentra el respectivo incremento longitudinal, por esto los ε^i son llamados deformaciones unitarias principales.

6. SISTEMA DE CONTROL DEL MICROSCOPIO

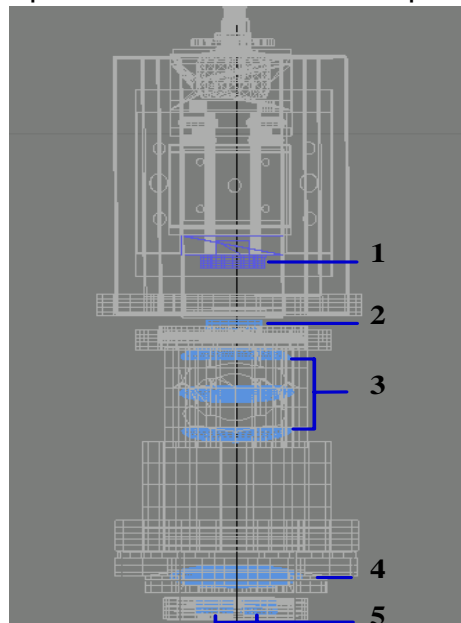
Ya que el dispositivo debía ser estable y práctico, se intentaron varios montajes preliminares con resultados poco satisfactorios, para finalmente iniciar el montaje tomando como base un microscopio estéreo.

6.1 SISTEMA OPTICO

En la primera etapa de construcción del dispositivo para el análisis de autofocus mediante polarización, fueron definidos parámetros de diseño, éstos son la base de mecanismo ya que de ellos depende el correcto desarrollo en la toma de datos; se analizó el sistema óptico, el cual convenientemente debía integrar inicialmente dos polarizadores en la etapa de división de los haces y un tercero en la etapa de unión, todos ellos con una libertad de giro de 90 grados.

Los elementos ópticos deben estar dispuestos con el mínimo descentramiento y permitiendo el desplazamiento de cualquiera de los dispositivos con el fin posteriormente corregir errores; la configuración empleada para el sistema mostrada en la figura 16 permite analizar los efectos de la polarización y la focalización de un punto del objeto observado, bajo dos ángulos de visión; además del sistema de lentes incorpora una cámara, un mecanismo de traslación para observar los efectos de la focalización y una fuente para iluminación.

Figura 16. Configuración óptica del sistema autofocus por polarización



El sistema óptico está formado por la lente propia del microscopio estéreo (no mostrada en la figura), la lente #4 detrás de los polarizadores (figura 16), la lente #3 que consiste en un paquete de lentes de corrección y la cámara web #1. Las lentes están representadas por 3 matrices y la distancia que las separa es l_1, l_2 . El sistema matricial estará definido por:

$$a = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} \end{bmatrix} \quad 44$$

Donde las componentes matriciales están dadas por:

$$a_{11} = 1 - \frac{l_1}{f_2} - \frac{l_2}{f_3} + \frac{l_1 l_2}{f_2 f_3} - \frac{l_1}{f_3}$$

$$a_{12} = \frac{1}{f_1} + \frac{1}{f_2} + \frac{1}{f_3} - \frac{l_1}{f_1 f_2} - \frac{l_2}{f_2 f_3} - \frac{l_1 + l_2}{f_1 f_3} + \frac{l_1 l_2}{f_1 f_2 f_3} \quad 45$$

$$a_{21} = l_1 + l_2 - \frac{l_1 l_2}{f_2}$$

$$a_{22} = 1 - \frac{l_1}{f_1} - \frac{l_2}{f_1} - \frac{l_2}{f_2} + \frac{l_1 l_2}{f_1 f_2}$$

Como ya se mencionó en el capítulo 2, el término que define la distancia focal efectiva del sistema de lentes es a_{12} , mientras la ecuación 46 localiza los puntos principales (figura 5) [5]:

$$V_1 H_1 = \frac{1 - a_{11}}{-a_{12}} = 185.1 \text{ mm} \quad 46$$

$$V_2 H_2 = \frac{a_{22} - 1}{-a_{12}} = -196.7 \text{ mm}$$

En el plano imagen del sistema de lentes (figura 16), fue ubicada una cámara web de referencia Hc 338, con resolución VGA, y sensor tecnología cmos a color y su tasa de captura es de 30 frames/segundo, el tamaño del sensor es de 4.86x3.64 mm. La tabla 1.1 muestra las características del sistema óptico para una distancia objeto en particular y para las distancias focales de las tres lentes utilizadas; la misma tabla muestra el valor de la distancia focal efectiva, distancia imagen, tamaño imagen y el aumento del sistema.

Tabla 1. Parámetros del sistema óptico

D Obj	Tam Obj	Focales (mm)			Distancia entre lentes		Focal efectiva	D Img	Tam Img	Aumento
		F1	F2	F3	D1	D2				
100mm	1mm	120	120	220	100mm	60mm	360mm	138.88mm	1.39mm	1.39

El valor teórico ponderado para la distancia imagen es de 138.88mm, sin embargo se encontró experimentalmente una mejor imagen a la distancia de 180mm respecto a la lente 3 (figura 16), por lo tanto el error entre la parte teórica y la experimental arroja un valor del 29.6%. El aumento que es mostrado en la tabla 1 se obtuvo con la ecuación 13 mencionada en el capítulo 2 y los resultados fueron comparados con el obtenido tomando la imagen de una escala graduada, bien enfocada; determinando la cantidad de pixeles que ocupaba en la matriz CCD; y tomando como tamaño de pixel estándar un valor de 15.18 μm . tomadas de las especificaciones del fabricante, hay que recordar que la cámara es VGA y los pixeles en promedio son mayores que en otras cámaras. Se calcula la separación de las marcas con la función improfile de MATLAB, el resultado arrojado es un aumento de 1.63, el error medido comparado con el valor teórico es de 17.2%.

Se buscó trabajar con aperturas numéricas no muy grandes, el plano de observación es de 3 mm x 2,5 mm y la imagen consta de 4,86mm x 3,64mm lo cual es conveniente para evitar alejarse de la región paraxial, donde las aberraciones por astigmatismo y curvatura de campo tienen mayores contribuciones.

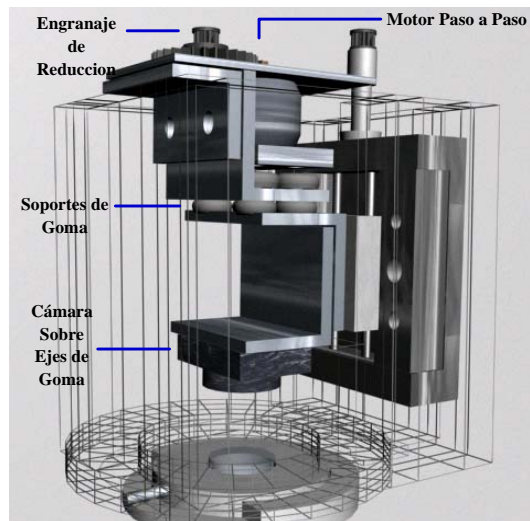
Cada una de las lentes utilizadas en el sistema tiene correcciones cromáticas y de distorsión, lo que hace prever que el sistema en gran medida esté libre de estos tipos de aberración. La apertura numérica o índice de aceptación de luz es 0.64, medida desde la base del microscopio hasta el sistema de división del haz.

En el sistema de autofocus convencional es necesario mover el sistema de lentes, mientras en un microscopio es posible mover la muestra, sin embargo, debido al espacio disponible en la base del microscopio para ubicar el sistema de desplazamiento y al alto torque necesario para efectuar el movimiento de las lentes, se optó por realizar desplazamientos de la cámara, es decir, realizar desplazamientos del plano imagen.

6.2 SISTEMA MECÁNICO

El movimiento de la cámara es efectuado por un desplazamiento micrométrico que permite por vuelta un recorrido de $500\ \mu\text{m}$ y máximo de 1cm equivalente aproximadamente a 6800 pasos; se instaló un sistema de engranajes que proporciona una reducción del número de vueltas en relación $1/7$, registrando un paso de $71,4\ \mu\text{m}$ para el giro completo del engranaje de menor diámetro. Ya que el motor produce 48 pasos, es decir, realiza un recorrido angular de 7.5 grados por paso, el desplazamiento micrométrico debe moverse $1.488\ \mu\text{m}$ con error de 1.184% .

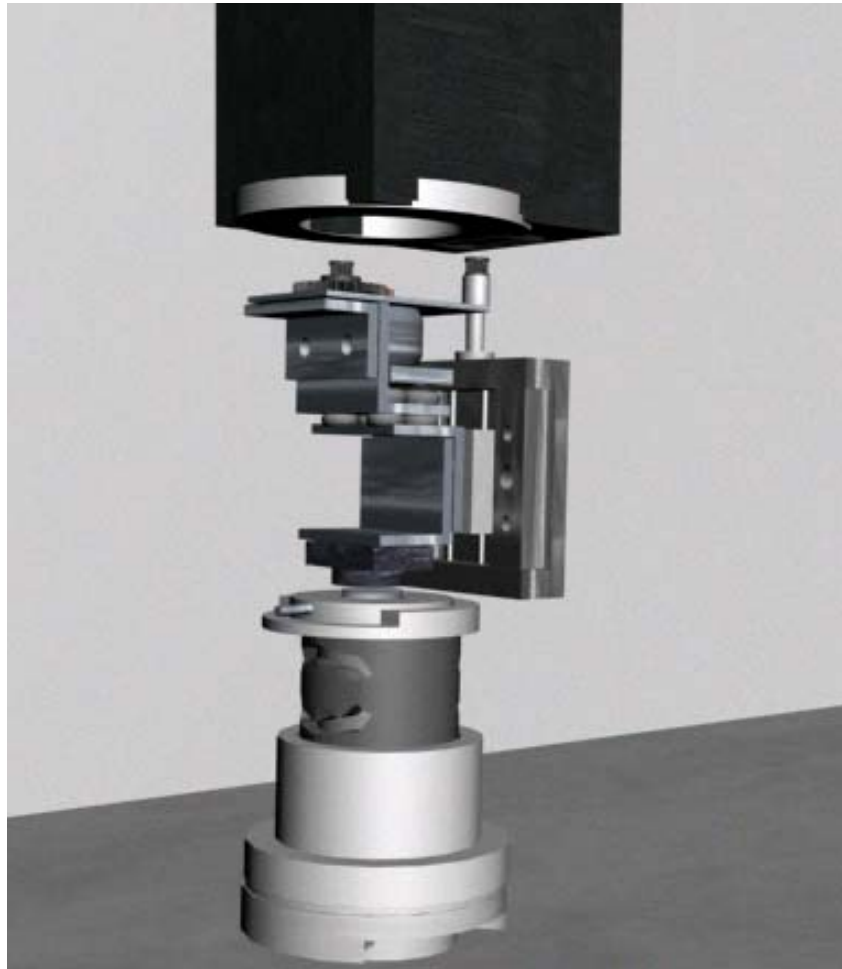
Figura 17. Sistema mecánico



Para evitar que el motor montado sobre el micrométrico transmita las vibraciones al resto del sistema, un problema que implica movimientos indeseados en la cámara, fueron colocados soportes de goma entre la base de la cámara y el motor, con el fin de amortiguar las vibraciones producidas por este y por otro lado evitar resonancias.

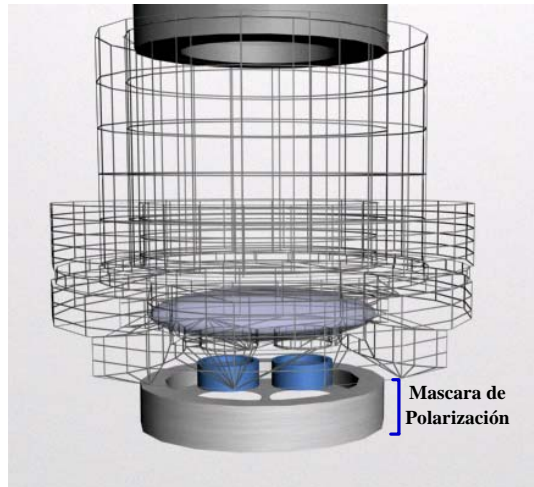
Las piezas de la estructura que soportan el micrométrico, la cámara, el sistema eléctrico, las lentes y los polarizadores, fueron diseñadas en madera inicialmente y luego fabricadas a partir de plástico, aluminio, cobre y resina poliéster utilizada en procesos de moldeo y laminación (figura 18).

Figura 18. Sistema diseñado



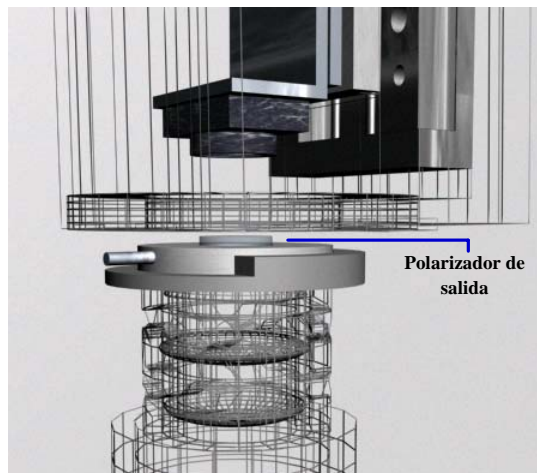
En el sistema polarizador el objetivo que se busca, es dividir la lente objetivo en dos mitades con diferente polarización lineal, esto se consigue creando una máscara con dos aberturas ligeramente separadas (figura 19), que permitan observar desde dos puntos de vista el objeto

Figura 19. Mascara de polarización



Un tercer polarizador ubicado a la salida del sistema (figura 20) antes de la cámara, permite seleccionar las componentes de polarización.

Figura 20. Analizador



La separación anteriormente mencionada se logra entre la lente objetivo propia del microscopio y la máscara que agrupa los polarizadores, sin embargo se necesita unir la información formando la imagen que proviene de estas aberturas (máscara de polarización) en el captor CCD. La unión se consigue mediante un segunda lente convergente #4 (figura 16) que focaliza los haces que atraviesan las

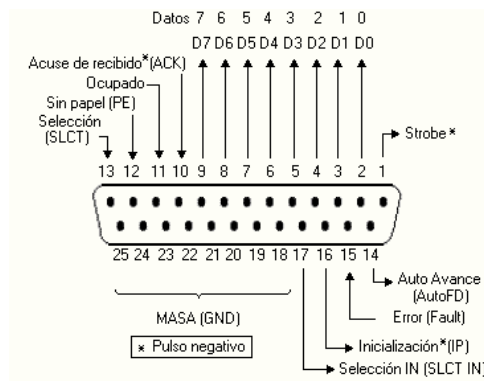
aperturas de los polarizadores, y una tercera lente #3 que es ubicada para acortar la distancia a la cual se produce la imagen.

6.3 SISTEMA ELECTRÓNICO

Para el sistema electrónico se implemento un circuito de control de un motor paso a paso unipolar de 4 fases, con 2 cables comunes para alimentación. El circuito está dividido en tres etapas, una etapa digital conformada por la señal proveniente del puerto paralelo del computador, una etapa de aislamiento proporcionada por el opto-acoplador 4N37 una etapa de potencia proporcionada por un transistor 2N3053, que sirve como interruptor para permitir la corriente a través de la fase del motor. La comunicación PC-circuito se realizo mediante puerto paralelo cuyo conector BD25 se muestra en la figura 21.

Escribiendo datos en dirección hexadecimal en el bus de salida, fue posible controlar el motor y realizar los movimientos necesarios para efectuar la auto-focalización; solo se utilizaron los pines 2 al 5 del puerto paralelo (figura 21) uno para cada fase del motor. Con esta configuración es posible acoplar un segundo motor si fuese necesario realizar movimientos de un segundo motor, o un tercero es recomendado utilizar motores Bipolares o crear la electrónica de multiplexado.

Figura 21. Puerto paralelo del PC



El circuito se alimenta con una fuente de 6v a 600mA, fue diseñado en ORCAD y la pcb en EAGLE, buscando minimizar las dimensiones para no sobrepasar el área ya asignada dentro del sistema.

6.4 ILUMINACIÓN

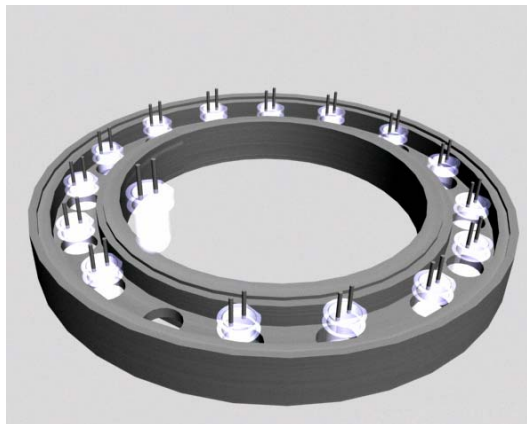
La iluminación juega un papel importante en un microscopio ya que la formación de la imagen $I(x,y)$ en un sistema óptico se puede considerar como el producto de la componente de la reflectancia $R(x,y)$ y la iluminación $L(x,y)$.

$$I(x, y) = R(x, y)L(x, y) \quad 47$$

Una vez fue realizado el dispositivo se observó pérdida de iluminación debido a los diversos componentes que utiliza, en consecuencia el contraste en las imágenes era muy bajo; El histograma de los niveles de gris de las imágenes mostraba una clara tendencia a localizar todos sus valores en la zona central, por esto fue necesario incrementar los niveles de iluminación sobre las muestras, requiriendo para esto iluminación incoherente altamente uniforme en la región de observación.

La solución se consiguió diseñando un anillo de leds de iluminación blanca (aunque las frecuencias tienden hacia el azul); el anillo está conformado por 16 leds (figura 22) a los cuales previamente se les eliminó la parte superior (lente condensadora) permitiendo de esta forma obtener un haz más amplio que garantizara la iluminación en la región central.

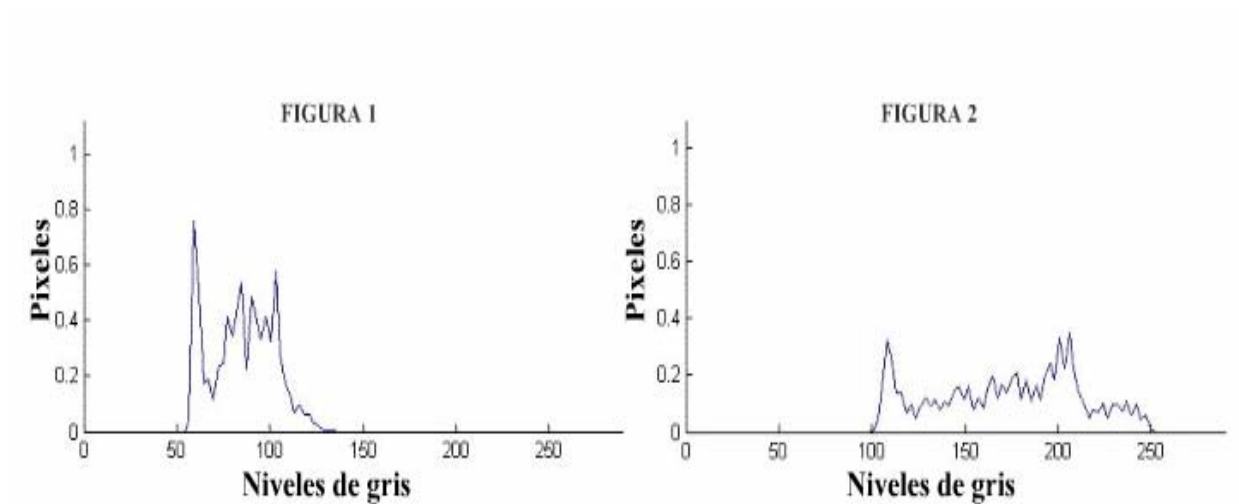
Figura 22. Sistema de iluminación



El anillo cuenta con un potenciómetro de $10K\Omega$ que permite variar la intensidad de los leds; la configuración electrónica de los mismos es de 4 grupos en paralelo de 4 leds en serie cada uno y se utilizó una fuente de 12V y 500mA para evitar el sobrecalentamiento del mismo.

Fue utilizado un espectrofotómetro propiedad del laboratorio de óptica para Medir el espectro de frecuencias de la fuente y definir el ancho de línea de las frecuencias de radiación, se determina la longitud de coherencia para la fuente; el valor establecido es de 7.65mm.

Figura 23. Mejoras del histograma por iluminación

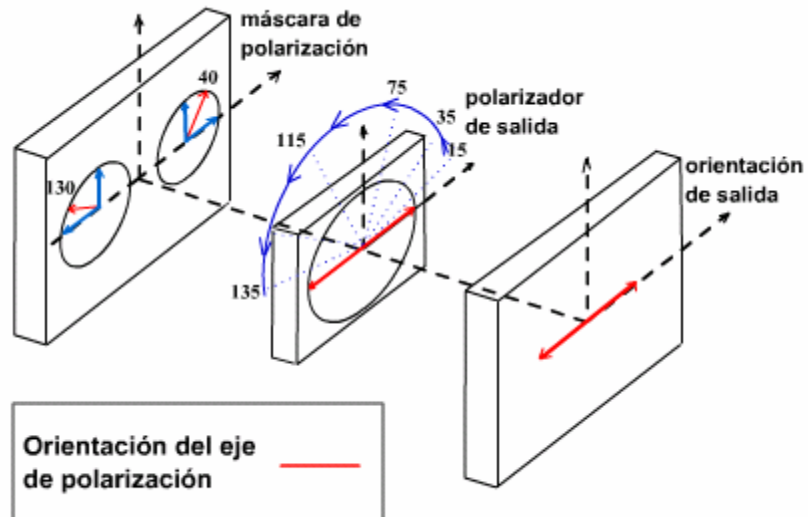


El histograma de la figura 7.5 pertenece a una imagen sin la iluminación del anillo, comprueba que la imagen tiene poco contraste y tendencia a ser oscura mientras la figura 2, muestra la misma imagen pero con iluminación propia del anillo de leds, en esta se observa que hay un mejor contraste y las intensidades se ubican en los tonos medios.

6.5 POLARIZACIÓN

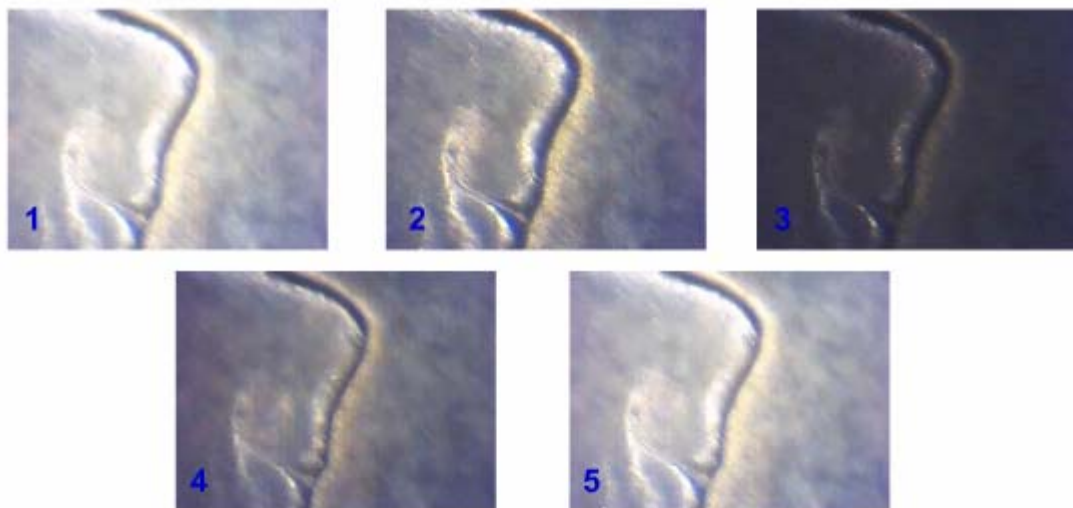
El sistema de autofocus basado en la polarización contiene 3 polarizadores lineales, dos ubicados en la máscara de polarización y el tercer polarizador ubicado frente al captor, llamado aquí polarizador de salida. Debido a las dimensiones de estos fue necesario construirlos utilizando para ello fragmentos de pantallas de cristal líquido, los cuales poseen características propias de la polarización lineal (figura 11), es de aclarar que el proceso de corte es muy complicado lo que introduce defectos no predecibles en la óptica.

Figura 24. Orientación de los polarizadores



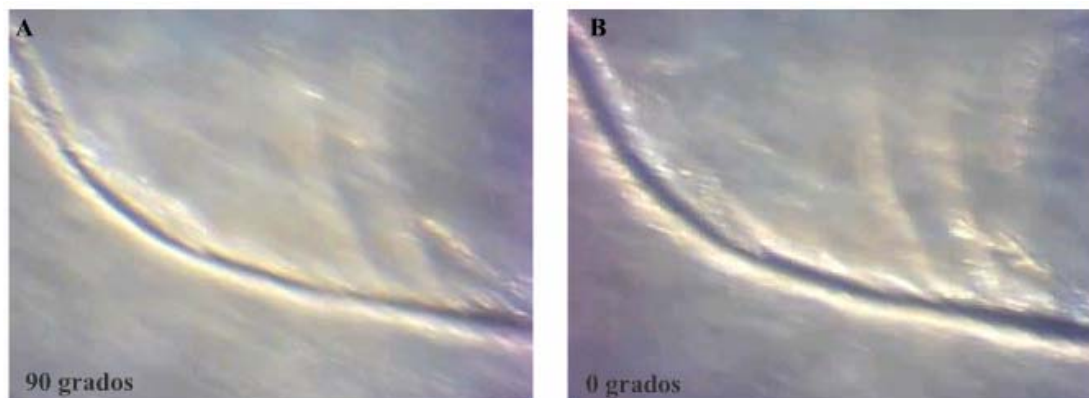
Los resultados de las imágenes para diferentes ángulos de polarización son mostrados en la (figura 25), definiendo una clara tendencia de contraste en valores cercanos a 15 y 135 grados, con ángulos de orientación de los polarizadores de la máscara de 40 y 130 grados (figura 24).

Figura 25. Objeto visto bajo varios ángulos de polarización



Las imágenes (figura 25) muestran una sección de la superficie de una moneda de 20 pesos pequeña y fueron tomadas girando el polarizador de salida ángulos de 15, 35, 75, 115, 135 grados respectivamente (figura 24), observándose que se producen los mismos resultados, para ángulos de polarización de 15 y 135 grados (figura 25 1 - 5) y de manera muy cercana entre 35 y 115 grados (figura 25 2 - 4); existe una clara diferencia ya que se hacen más evidentes las variaciones de topografía.

Figura 26. Realce de superficie por variación de polarización



Para una superficie con relieve se produce un cambio en el efecto de profundidad, debido a la ligera variación en el ángulo de observación ya que se ubico uno de los polarizadores en la misma orientación del polarizador de salida es decir 40 y 130 grados (figura 26 A-B).

Se emplearon 6 técnicas de medida de foco y los resultados son reportados en las figuras (27 a 32). El sistema presentó un buen comportamiento bajo ángulos de 15 y 135 grados.

6.6 MEDIDA DE FOCO

Se aplico la medida de foco para la configuración del eje de polarización de la máscara en 40 y 130 grados, mientras el polarizador de salida se iba rotando los ángulos de 15, 35, 75, 115, 135 grados ya que como se mencionó anteriormente presentan mejor iluminación; en las demás configuraciones la perdida de intensidad se debe a que las componentes de la onda polarizada son de menor tamaño. Se descartaron también los ángulos en los cuales cualquier polarizador de la máscara de polarización coincidiera con los ejes del polarizador de salida, de esta forma se evita recibir la iluminación proveniente de un solo polarizador de la

máscara; Los algoritmos de diferencia la cuadrado, tenegrad, laplaciano, entropía y Fourier, fueron analizadas con la resolución de la cámara es decir 320x240 pixeles procesando los tres canales de color.

Debido a que la cámara tiene ajuste automático del color, se debió esperar en cada proceso de búsqueda, hasta que se consiguiera este ajuste; los intervalos mostrados en las figuras 27 a 32 deben ser multiplicados por 16 para obtener el valor de pasos mínimo registrado por el motor, por ejemplo entre 300 y 350 se realizaron 800 pasos de $1.488\mu\text{m}$; el tiempo de respuesta de estos algoritmos se muestra en la tabla 3.

Figura 27. Respuesta del algoritmo de autofocus diferencia al cuadrado

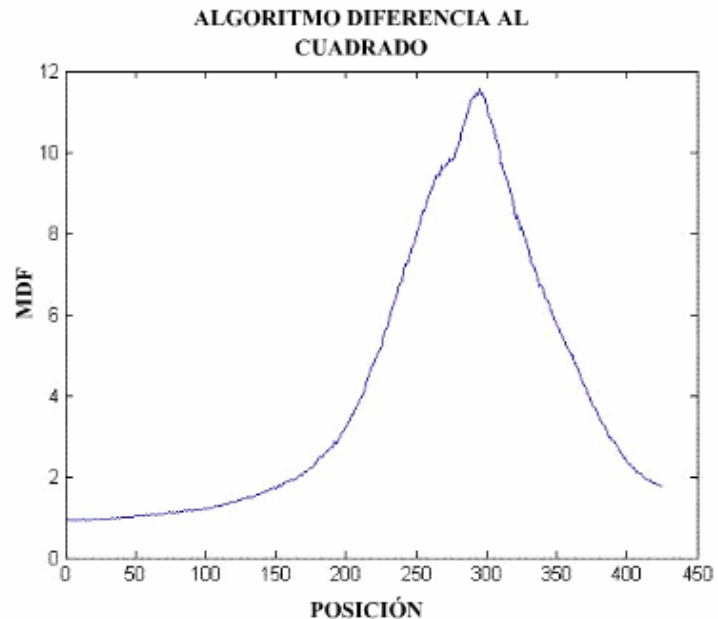


Figura 28. Respuesta del algoritmo de autofocus Tenegrad Prewitt

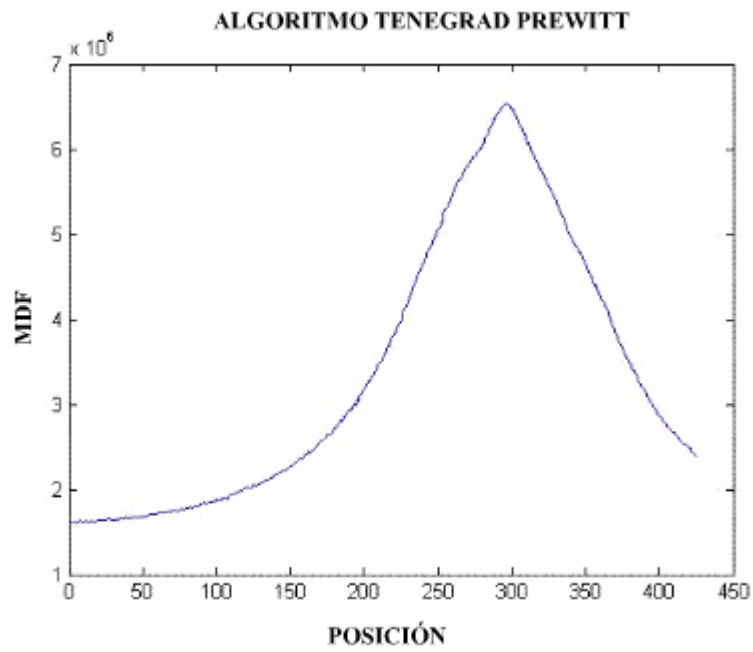


Figura 29. Respuesta del algoritmo de autofocus Tenegrad Sobel

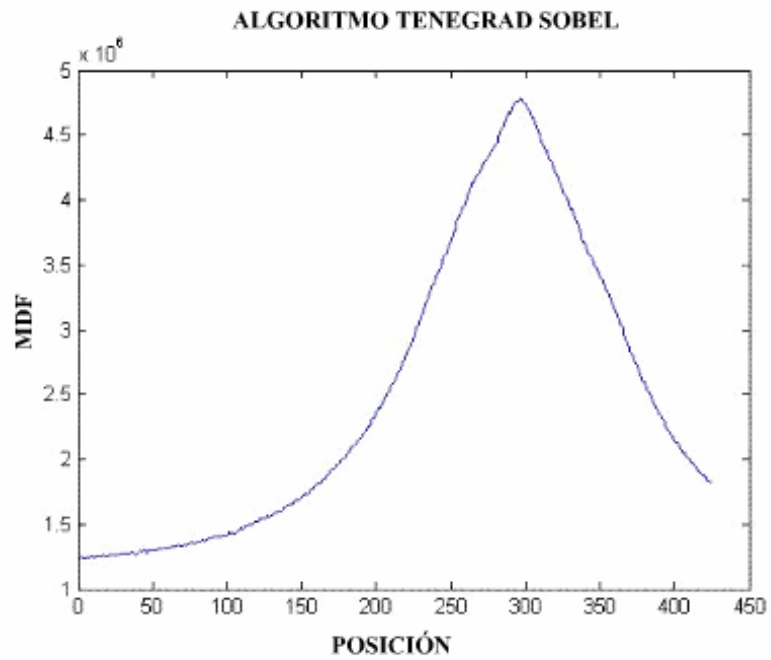


Figura 30. Respuesta del algoritmo de autofocus Laplaciano

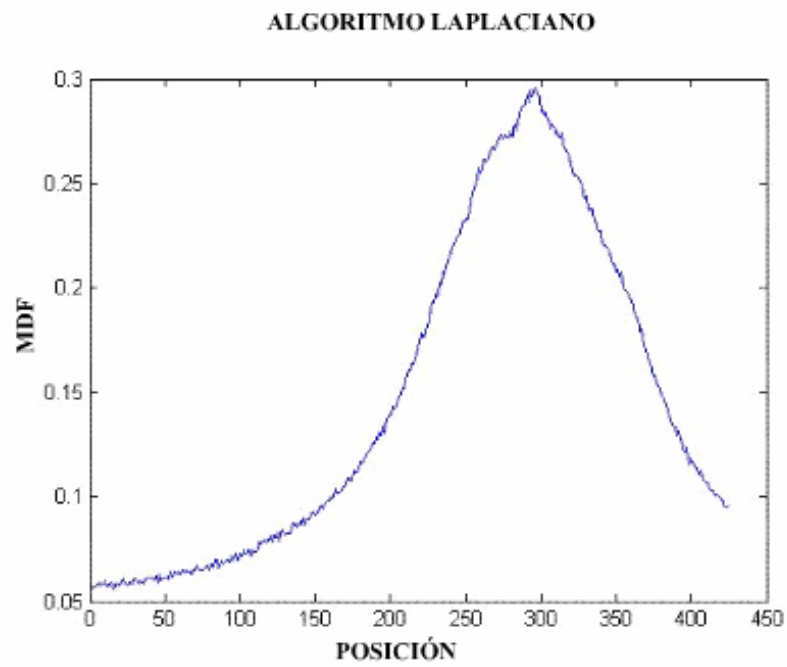


Figura 31. Respuesta del algoritmo de autofocus Entropía Shannon

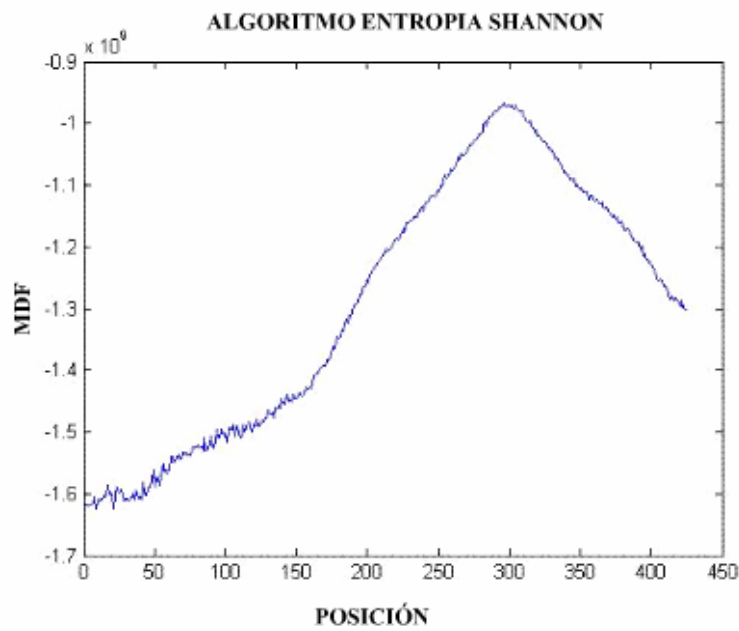


Figura 32. Respuesta del algoritmo de autofocus Entropía log energy

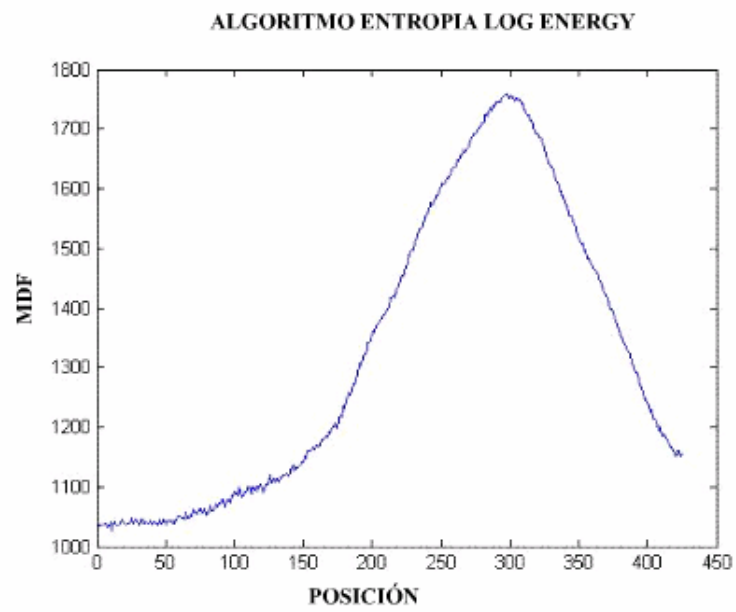
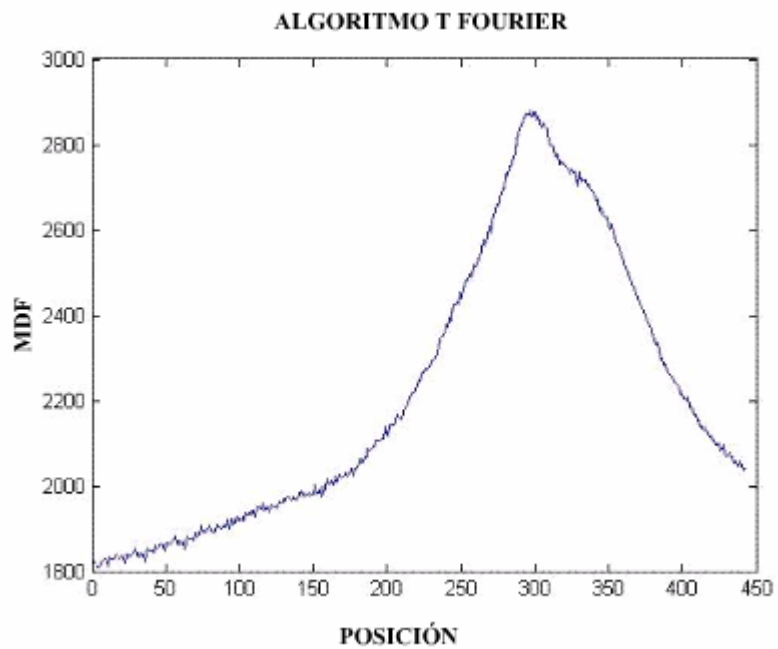


Figura 33. Respuesta del algoritmo de autofocus Transformada de Fourier



La tabla 2 muestra la selectividad de la medida de foco; este criterio verifica que la función se eleve hasta el punto máximo desde el 95% al 100% de la función y regrese al 95%, tomando como valor la base del triangulo formado, así la mayor selectividad pertenece al algoritmo que presente menor longitud de la base del triangulo mencionado, se tomo de cada curva el mejor registro para cada método de focalización y los ángulos en que se encuentra el polarizador de salida (figura 24.)

Tabla 2. Tiempos de cómputo de algoritmos de autofocus

ALGORITMO	15°	35°	75°	115°	135°
Diferencia al cuadrado	12	21	20	22	10
Tenegrad	16	26	27	25	17
Laplaciano	27	28	33	26	22
Entropía del histogram	85	90	150	100	90
T Fourier	35	42	48	40	37

Los tiempos mostrados en la tabla 3 corresponden al tiempo promedio empleado para procesar los datos con cada algoritmo en 100 mm de recorrido de focalización, fue censado el promedio para 10 datos por cada sistema de medida de foco; como se puede observar los tiempos son muy cercanos, el 80% del tiempo empleado en la búsqueda se debe a los tiempos de respuesta del motor y no del algoritmo de autofocus, aunque estos algoritmos por lo general son muy cortos, lo que es importante porque minimizan el tiempo adicional introducido por costo computacional.

Tabla 3. Selectividad de algoritmos de autofocus.

MDF	Diferencia al Cuadrado	Tenegrad Sobel	Tenegrad Prewitt	Laplaciano	Entropía Low Energy	Entropía Shannon	T Fourier
Tiempo (s)	120.437	132.343	131.666	115.466	111.801	112.241	154.90

El algoritmo diferencia al cuadrado muestra una buena respuesta en la medida de foco ya que genera un pico más pronunciado, la selectividad (tabla 2) es mayor para un ángulo de polarización de 15 y 135 lo que conlleva a encontrar con mayor precisión la imagen focalizada; es posible seleccionar un área de interés para hacer más rápido el proceso y evitar información indeseada.

En los algoritmos tenegrad por sobel y prewitt se espera que la curva cambie para ambos operadores, ya que los pesos de la derivada son diferentes, pero el valor de la selectividad no cambia de forma considerable, en la tabla 2 se considero el algoritmo sobel ya que las graficas representaron mejor comportamiento que en el caso de prewitt. Si se compara con el algoritmo de diferencia al cuadrado el pico de focalización es menos pronunciado y el tiempo de cómputo es mayor.

En el algoritmo laplaciano se observa un pico mucho menos pronunciado, ya que la selectividad es menor que en los casos anteriores, también presenta mayor sensibilidad al ruido, lo que puede deberse a variaciones temporales en la iluminación o el ruido de la cámara, situaciones que cambian de una imagen a otra.

En el algoritmo entropía del histograma, no se observa un pico pronunciado, ya que los valores de selectividad son muy grandes, por lo tanto no lo hacen una buena técnica para aplicar en este sistema de autofocus; también se observa ruido en la medida de foco. El tiempo del proceso es menor que en los casos anteriores. En la tabla 2 se muestra el valor de selectividad de log energy debido a que presenta mejor respuesta en las graficas analizadas.

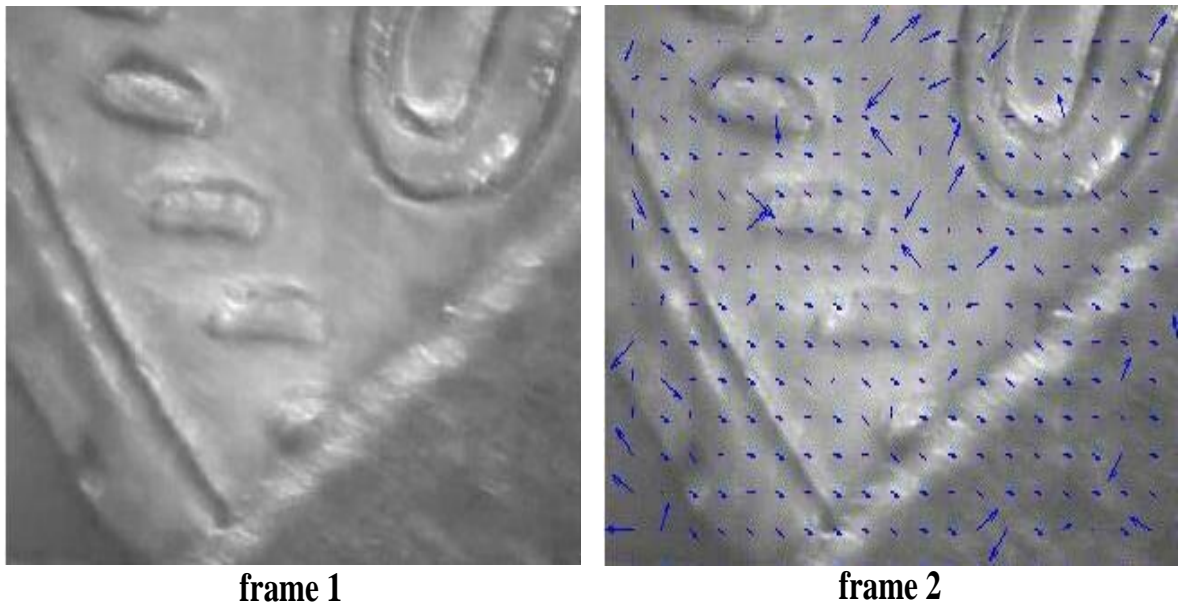
En el algoritmo de transformada rápida de Fourier es necesario dimensionar las imágenes, los valores de largo y ancho deben corresponder a términos potencia de dos para que el algoritmo funcione correctamente, además ya que la frecuencia espacial de una imagen hace referencia al rango en el cual las intensidades del pixel cambian, se debe realizar un filtrado de frecuencias bajas.

Teniendo en cuenta que las frecuencias altas se pueden ubicar alrededor de los ejes que dividen la imagen de componentes frecuenciales, fue necesario utilizar una máscara en forma de anillo, que actúa como un filtro pasa alto, eliminando así mismo la frecuencia central que aporta muy poca información, la selectividad esta disminuida en comparación con algoritmos como diferencia al cuadrado tenegrad y laplaciano y el tiempo de computo es mayor que en todos los casos.

6.7 MEDIDA DEL FLUJO ÓPTICO.

Los resultados observados en el flujo óptico utilizado en diferentes secuencias, muestran que efectivamente se producen movimientos indeseados. La tendencia en la orientación de los vectores de flujo resulte hace posible precisar la magnitud y dirección en que se produjo el desplazamiento de la imagen, el algoritmo implementado recorta las imágenes del primer y segundo frame en fragmentos, cuadrados no menores de 16 x16 y 24 x24 pixeles respectivamente y correlaciona los recortes del primero con los del segundo. Para evitar truncamiento en el proceso, el algoritmo verifica que la correlación entre estos pueda realizarse, eliminando así las regiones homogéneas y con poco detalle en la imagen.

Figura 34. Respuesta al flujo óptico

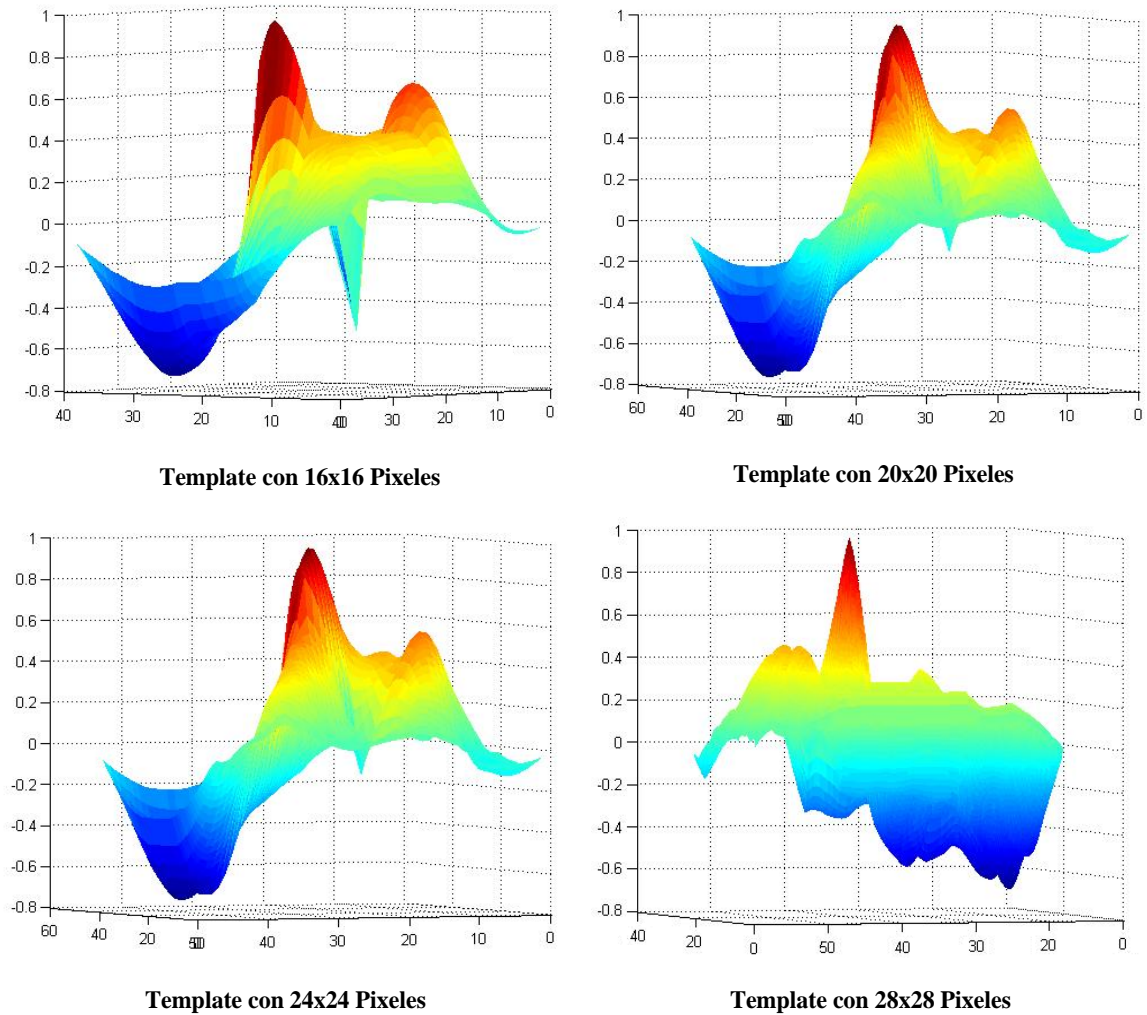


La imagen 34 muestra el flujo registrado tomando como punto de partida la imagen correspondiente al frame 1 de una secuencia de imágenes, los vectores mas grandes muestran indiscutiblemente los errores cometidos durante el proceso, mientras que los vectores pequeños son orientados en su mayoría hacia la misma dirección; las imágenes analizadas pertenecen a frames consecutivos en donde el desplazamiento entre la primera y segunda imagen corresponde a 68 pasos ó 101,184 micras. Las traslaciones que sufre la imagen no pueden ser mayores que el tamaño de las plantillas utilizadas en el proceso de correlación, de lo contrario la cantidad de errores registrados aumenta considerablemente.

Existen regiones no registradas en las cuales no se muestra dirección de flujo ya que estas fueron estimadas por el programa como regiones con poca información.

Figura 35. Correlación para diferentes tamaños de plantilla.

GRAFICOS DE CORRELACIÓN



Las imágenes de los picos de correlación mostrados en la figura 35 indican que al incrementar el tamaño del patrón de búsqueda, el máximo absoluto, es un poco más agudo, ya que se tienen más detalles para su discernimiento y es de esperar entonces que la localización sea mejor; hay una leve disminución del tamaño de los máximos locales lo que minimiza los falsos positivos aunque esto conlleva a disminuir también la resolución del flujo.

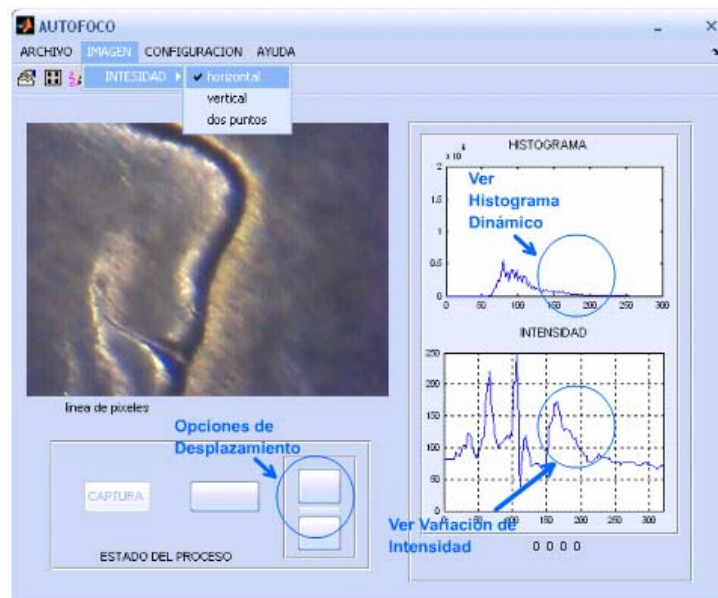
6.8 INTERFAZ GRAFICA.

Se diseñó una herramienta de interfaz que permite configurar la adquisición de las imágenes, así como establecer parámetros del proceso, de esta manera se posibilita la extracción dinámica de los datos y el control de los mismos.

El sistema de adquisición está provisto de una cámara y un desplazamiento mecánico, dispositivos pueden ser monitoreados desde la interfaz grafica, esta herramienta se desarrolló en la versión 7.4 de MATLAB bajo la plataforma de Windows XP y requiere para su correcto funcionamiento salida de puerto paralelo y puerto usb.

La interfaz cuenta con una ventana que permite interactuar con las opciones básicas establecidas cómo menús de archivo, imagen, configuración y ayuda; además cuenta con opciones de clic sobre botones e imágenes para generar acciones.

Figura 36. Interfaz gráfica visualización



MENU ARCHIVO

Permite guardar datos cómo; resultado del histograma y de intensidades de una línea en particular de pixeles e imágenes capturadas en el proceso de adquisición.

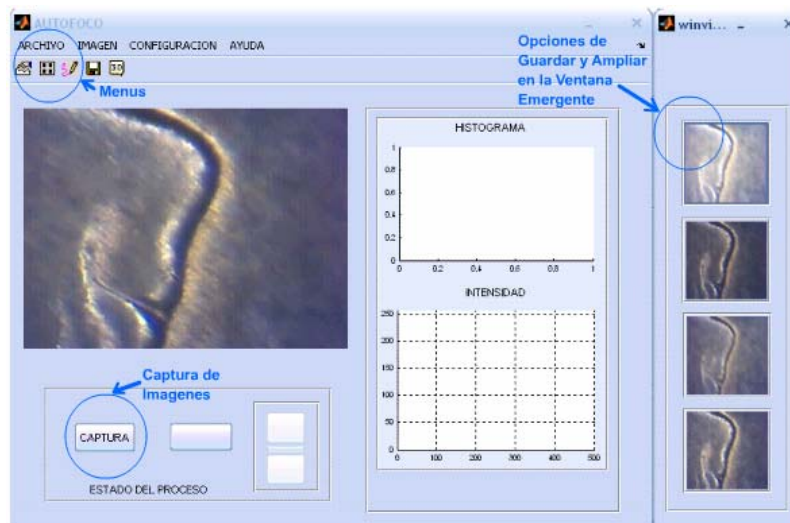
MENU IMAGEN

Se utiliza para seleccionar la forma en que se adquiere el arreglo de pixeles que se muestra en la gráfica de intensidad, permitiendo tomar una línea de pixeles horizontales, verticales o el entorno de pixeles vecinos, para graficar sus intensidades.

MENU CONFIGURACION

Sirve para configurar el desplazamiento máximo que debe realizar el sistema y cuantos pasos debe efectuar antes de evaluar el algoritmo de autofocus en la imagen actual. Existen también las opciones de visualizar imagen en ventana emergente, con el fin de poder elegir de un grupo de imágenes cuál será guardada, indicando con un clic izquierdo sobre la imagen a guardar esta será almacenada, con clic derecho será ampliada.

Figura 37. Interfaz gráfica botones



7. CONCLUSIONES

- Esta técnica permite resolver detalles generados por cambios en la topografía del material que generan diferencias en la iluminación de la muestra y pueden ser visualizados gracias al ángulo de reflexión de la luz que incide en el objeto y las variaciones en el estado de polarización del sistema.
- Se ha implementado una técnica que permite resaltar características de una muestra para emplearlas en el proceso de enfoque automático, encontrándose una buena respuesta en algoritmos de autofocus como, Diferencia al cuadrado, Laplaciano y Tenegrad; en el caso de medida de la Entropía y Transformada de Fourier los resultados no son satisfactorios.
- Se diseñó y construyó un sistema de captura de imágenes para un microscopio estéreo, que permite el almacenamiento y el rastreo de las imágenes mediante una interfaz de control.
- Se construyó un sistema óptico con polarización para un estereoscopio, que genera nuevas aplicaciones en el análisis de superficies metálicas, ya que los efectos de polarización por reflexión son mayores que en superficies dieléctricas.
- Se planteó la implementación de la técnica de correlación para determinar deformaciones y rotaciones, en materiales que se observen de forma dinámica.
- La técnica de template matching junto al análisis de las deformaciones puede servir como herramienta para la reconstrucción de una imagen adquirida mediante la focalización de planos, es decir, establecer imágenes de rango, ya que predice los defectos de alineación del sistema óptico y entrega parámetros de corrección de forma rápida y completa.
- El sistema puede ser empleado para la reconstrucción tridimensional ya que se encuentra que al realizar barridos perpendiculares al eje de observación se

generan planos de focalización, distinguiéndose regiones de mayor y menor contraste en una misma imagen las cuales cambian paulatinamente con el paso establecido por el motor.

8. TRABAJOS FUTUROS

- A partir del barrido de las imágenes es posible establecer regiones de focalización en diferentes planos, esto con el fin de generar la reconstrucción tridimensional del objeto.
- Analizar las diferencias que se puedan encontrar al cambiar la posición fija del polarizador de salida y colocarlo sobre el sistema de captura móvil.
- Realizar medidas comparativas con los datos que se obtengan en el registro de deformaciones por template matching y deformaciones reales, para establecer si los criterios empleados muestran buenos resultados.
- Verificar los efectos que produce la iluminación coherente para observar tanto efectos de fase como de polarización en microscopia de baja resolución.

9. RECOMENDACIONES

- En el desarrollo del sistema no se tuvo en cuenta desplazamientos en el plano que es perpendicular al eje óptico. Incluir un desplazamiento mecánico en esta dirección permite cambiar la región de observación de la muestra.
- Al hacer coincidir el eje del polarizador de salida con cualquiera de los ejes de los polarizadores de la máscara de polarización, es posible observar solo una región de la lente, lo que cambia el ángulo de observación obteniendo un sistema estereoscópico por polarización.
- Es necesario colocar un sistema eléctrico que posibilite el retorno del sistema mecánico automáticamente, esto contribuye a la autocorrección de las posiciones en caso de fallas en el programa o fallas eléctricas.
- Es necesario cambiar los polarizadores puestos en la máscara de polarización, para evitar los defectos introducidos en la óptica, que se generan en el proceso de corte.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. T. R. Corle and G. S. Kino, *Confocal Scanning Optical Microscopy and Related Imaging Systems* Academic, San Diego, Calif., 1996!.)
2. Confocal scanning optical microscopy and related imaging systems. Timothy Gordon. academic press.1996.
3. Microscopy techniques for materials science.A clarke, Eberhardt .woodhead publishing.England.2002.
4. J.Ant´o Roca, N.Corominas, *Optica Instrumental*, Barcelona, (1996) .
5. E.Hecht, *O´ptica*, Tercera Edicio´n, Addison Wesley, Espan˜a, 2000.
6. Handbook of lasers and optics, frank trager, Springer Science,usa,2007
7. Handbook of Optical Systems, physical image formation, vol 2 ,W singer,M totzeck,H Gross, wiley-vch, Germany,2005.
8. Polarization engineering for lcd projection, M Robinson, J Chen, G Sharp, Wiley, USA, 2005.
9. Fundamentos de electromagnetismo para ingenier´ıa, D.Cheng, Addison Wesley,Mexico,1998.
10. Jarvis, R. A., "a perspective on range finding techniques for computer visi3n", IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence pp. 122-139 (March, 1983).
11. J.K.Tyan ."Analysis and application of autofocusing and three-dimensional shape recovery techniques based on image focus and defocus", ph.D Thesis, Dept, of electrical Eng, Stony Brook New York 1997.
12. Sistema de adquisici3n autom´atica de im´agenes para microscopio 3ptico, H. Iba˜nes,S.. pertus, Universidad Industrial de Santander, Escuela de Electr3nica,1997.
13. Visione computazionale, A Fusiello, Universit`a di verona 2004.

14. Polarised light in Science and Nature, D Pye Institute of Physics, Piladelphia, Iop, publishing,2001.
15. Depth from focusing and defocusing Y.Xiong, S.Shafer, Carnegie Mellon University, Pennsylvania,1993.
16. Nuevo algoritmo para el cálculo de flujo óptico y su aplicación al registro de imágenes, F.Solorio,J Zaleta, Instituto Politecnico Nacional, MEXICO,2003.
17. *Teoría de la elasticidad*, L.D. Landau. Reverté ,1997.

ANEXOS

Anexo A. Sistema de Autofoco

