

**FILTRADO Y SEGMENTADO EN UNA IMAGEN DE ELECTROFORESIS EN  
GEL DE UNA DIMENSIÓN APLICANDO EL ALGORITMO DE LA LUCIÉRNAGA  
VIRTUAL**

**HERNÁN LEONEL PORRAS MELGAREJO**

**CESAR AUGUSTO SALAZAR CENTENO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-MECÁNICAS**

**ESCUELA DE INGENIERÍAS ELÉCTRICA, ELECTRÓNICA Y DE  
TELECOMUNICACIONES**

**BUCARAMANGA**

**2015**

**FILTRADO Y SEGMENTADO EN UNA IMAGEN DE ELECTROFORESIS EN  
GEL DE UNA DIMENSIÓN APLICANDO EL ALGORITMO DE LA LUCIÉRNAGA  
VIRTUAL**

**HERNÁN LEONEL PORRAS MELGAREJO**

**CESAR AUGUSTO SALAZAR CENTENO**

**Trabajo de grado para optar al título de  
Ingeniero Electrónico**

**Director**

**CARLOS RODRIGO CORREA CELY, Ph.D.**

**Codirector**

**JORGE MARIO CRUZ, M.Sc.(c)**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-MECÁNICAS**

**ESCUELA DE INGENIERÍAS ELÉCTRICA, ELECTRÓNICA Y DE  
TELECOMUNICACIONES**

**BUCARAMANGA**

**2015**

## Agradecimientos

A Carlos Rodrigo Correa, Jorge Mario Cruz, Carlos Andrés Niño, Said David Pertuz, Marta Lucía Días, Julián Gómez Rojas y tantos más, quienes nos brindaron gran parte de su valioso tiempo permitiendo el desarrollo de este proyecto.

Hernán Leonel Porras Melgarejo

Cesar Augusto Salazar Centeno

## Dedicatoria

A mi padre Luis Alberto Salazar, a mi madre Yolanda Centeno Rueda y a mi hermana Silvia Johanna Salazar, quienes fueron tanto mi apoyo como mi inspiración durante todo el proceso de mi formación como profesional.

A mis amigos y familiares, quienes estuvieron siempre cerca de mí como soporte fundamental durante toda mi carrera.

Cesar Augusto Salazar Centeno

A mis padres, Hernán Cristóbal y Martha Inés por creer en mí, por sus consejos y su apoyo incondicional a pesar de las adversidades; a mi hermana Laura por sus buenos consejos, a Ingrid por su compañía, cariño y sus palabras de aliento. A todos aquellos que se de alguna manera influyeron para alcanzar este logro.

Hernán Leonel Porras Melgarejo

## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	14
1. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE GRADO.....	18
1.1. OBJETIVO GENERAL .....	18
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
2. MARCO TEÓRICO .....	19
2.1. LA ELECTROFORESIS .....	19
2.2. EL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES .....	19
2.2.1 El contraste .....	20
2.2.2 El filtrado .....	21
2.2.3 El filtro Butterworth.....	22
2.2.4 Los espacios de color RGB y HSV.....	23
2.2.5 La segmentación.....	25
2.3. EL ALGORITMO DE LA LUCIÉRNAGA VIRTUAL .....	28
3. METODOLOGÍA .....	31
3.1. EI PRE-PROCESADO .....	33
3.2. EI FILTRADO .....	33
3.3. LA SEGMENTACIÓN.....	34
3.4. LA IMPLEMENTACIÓN Y EL AJUSTE DEL ALGORITMO DE OPTIMIZACIÓN .....	35
3.5. EL DISEÑO DE UN FILTRO ÓPTIMO .....	38
3.6. OPTIMIZACIÓN DE LA UMBRALIZACIÓN PARA EL SEGMENTADO .....	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40

4.1. EI PRE-PROCESADO .....	40
4.2. EI FILTRADO .....	42
4.3. LA SEGMENTACIÓN.....	44
4.4. LA IMPLEMENTACIÓN Y EL AJUSTE DEL ALGORITMO DE OPTIMIZACIÓN .....	46
4.5. EL DISEÑO DE UN FILTRO ÓPTIMO .....	47
4.6. OPTIMIZACIÓN DE LA “UMBRALIZACIÓN” PARA EL SEGMENTADO.....	51
4.7. RESULTADOS OBTENIDOS PARA IMÁGENES DE ELECTROFORESIS EN GEL.....	57
5. CONCLUSIONES.....	59
BIBLIOGRAFÍA.....	60
ANEXOS .....	62

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Filtro Butterworth orden 3 y orden 5 vs. Filtro ideal.....	22
Figura 2. Espacio de color RGB.....	24
Figura 3. Espacio de color HSV.....	25
Figura 4. Imagen de electroforesis en gel en una dimensión de la proteína de hemolinfa de un <i>Triatoma Dimidiata</i> .....	31
Figura 5. (a) Histograma de la capa de color rojo e (b) Histograma acumulado de la imagen de electroforesis en gel. ....	40
Figura 6. (a) Histogramas RGB original de la imagen de electroforesis e (b) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis con mejora de contraste. ....	41
Figura 7. (a) Imagen original de electroforesis en gel e (b) Imagen de electroforesis en gel con mejora de contraste.....	42
Figura 8. (a) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis con mejora de contraste e (b) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis filtrada.....	43
Figura 9. (a) Imagen de electroforesis en gel con mejora de contraste e (b) Imagen de electroforesis en gel filtrada. ....	44
Figura 10. (a) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis filtrada, (b) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis segmentada.....	45
Figura 11. (a) Imagen de electroforesis en gel filtrada e (b) Imagen de electroforesis en gel segmentada. ....	45
Figura 12. Gráfica filtro Butterworth vs filtro luciérnaga virtual de orden 3. ....	48
Figura 13. Gráfica filtro Butterworth vs filtro luciérnaga virtual de orden 5. ....	49
Figura 14. (a) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis con mejora de contraste e (b) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis con filtrado óptimo. ....	50
Figura 15. (a) Imagen de electroforesis en gel con mejora de contraste e (b) Imagen de electroforesis en gel con filtrado óptimo.....	51
Figura 16. Histograma de la imagen de prueba, Lenna, en escala de grises. ....	54

Figura 17. Histograma de la capa G de la imagen de electroforesis.....56  
Figura 18. Imagen de electroforesis con segmentado optimizado.....57

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Funciones prueba estándar seleccionadas para el ajuste de FA. Fuente: autores.....	36
Tabla 2. Valores de prueba para los parámetros del algoritmo.....	37
Tabla 3. Resultados funciones. Fuente: autores.....	46
Tabla 4. Umbrales óptimos según el algoritmo de la luciérnaga virtual. ....	52
Tabla 5. Comparación de umbrales Otsu y Luciérnaga virtual.....	55
Tabla 6. Resultados de las etapas del procesamiento de las imágenes de electroforesis en gel de agarosa de <i>Hemolinf</i> a, de las proteínas del antígeno <i>Fasciola</i> y de <i>Rhodniux Prolixus</i> . ....	58

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Implementación y ajuste del algoritmo de la luciérnaga virtual .....	62
ANEXO B. Ejecución del algoritmo de la luciérnaga virtual .....	63
ANEXO C. Diseño de filtros óptimos.....	77
ANEXO D. Optimización de la umbralización .....	79

## RESUMEN

### TÍTULO:

Filtrado y segmentado en una imagen de electroforesis en gel de una dimensión aplicando el algoritmo de la luciérnaga virtual<sup>1</sup>

### AUTORES:

Cesar Augusto Salazar Centeno

Hernán Leonel Porras Melgarejo<sup>2</sup>

### PALABRAS CLAVE:

*Electroforesis en gel, bandas características, pixeles, RGB, HSV, contraste, filtro, segmentación, algoritmo, optimización.*

### DESCRIPCIÓN:

El presente documento describe en forma detallada las actividades relacionadas con el análisis de una alternativa propuesta en nuestro grupo de investigación CEMOS para la *corrección y mejora* de las imágenes producto de la electroforesis en gel, con el propósito de reducir posibles interpretaciones erróneas de éstas durante un estudio clínico.

Para ello, se contó con la valiosa colaboración del **Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular (GIEM)**, adscrito a la facultad de salud de la Universidad Industrial de Santander (UIS), quien suministró las imágenes de electroforesis en gel en una dimensión, correspondientes a la "electroforesis de gel de agarosa con antígenos de insectos (*Triatoma Dimidiata o Pito*) y de parásitos (*Fasciolla*)".

A título de conclusión general, se observó que la implementación del algoritmo de la luciérnaga virtual demostró ser una alternativa válida y poderosa, tanto para el diseño de filtros mostrando una respuesta visual similar a la de cualquier otro filtro pero con una pendiente significativamente más cercana a la ideal, como para la mejora de la técnica de detección de objetos por segmentación multinivel combinada con los espacios de color y, en conjunto, con la selección óptima de umbrales dados por el algoritmo de la luciérnaga virtual.

Como resultado, se obtuvo un filtro óptimo de tercer orden con 12% más de error, y uno de quinto orden con 3% menos de error, con respecto al filtro Butterworth teórico de los mismos órdenes. Además, en el caso de la segmentación, se logró una precisión y una sensibilidad mayor (de 0,9% y de 1,4%, respectivamente) a las alcanzadas con el *método de Otsu* tradicional.

---

<sup>1</sup> Proyecto de grado

<sup>2</sup> Facultad de ingenierías Físico Mecánicas. Escuela de Ingeniería Eléctrica, Electrónica y de Telecomunicaciones Director Ph.D. Carlos Rodrigo Correa Cely – Codirector Msc. Jorge Mario Cruz

## ABSTRACT

### TITLE:

Filtering and segmented of a gel electrophoresis image in one dimension applying the firefly algorithm.<sup>3</sup>

### AUTHORS:

Cesar Augusto Salazar Centeno

Hernán Leonel Porras Melgarejo <sup>4</sup>

### KEY WORDS:

*Gel electrophoresis, characteristic bands, pixels, RGB, HSV, contrast, filter, segmentation, algorithm, optimization.*

### DESCRIPTION:

This document describe a detail way of activities related with an analysis of alternative propose in our research group CEMOS for correction and improvement of gel electrophoresis images, with the purpose to reduce the wrong interpretation about these in a clinical study.

For that, it was counted with the valuable collaboration of “**Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular (GIEM)**”, ascribed at the “**facultad de salud de la Universidad Industrial de Santander (UIS)**” who supplied the gel electrophoresis images in one dimension, corresponding to “agarose gel electrophoresis of insect antigens (*Triatoma Dimidiata or Pito*) and parasites (*Fasciolla*)”.

In general conclusion, it was observed that the implementation of the firefly algorithm proved a valid and powerful alternative for filter design, showing a similar visual response in compare with other filters but having a slop significantly more close to the ideal, and improvement the “detección de objetos por segmentación multinivel combinada con espacios de color” technique, jointly with the optimal selection of threshold given by the firefly algorithm.

As a result, it was obtained an optimal filter of third order with 12% more error, and one fifth order with 3% less error, with respect of the Butterworth filter theorist of these orders respectively. Additional, in the case of the segmentation, it was succeeded a more precision and recall compared with the traditional Otsu method.

---

<sup>3</sup> Bachelor Thesis

<sup>4</sup> Physics Mechanical Engineering Faculty. Electrical, Electronic and Telecommunicatios Engineering School. Advisor Ph.D. Carlos Rodrigo Correa Cely – Co-advisor Msc. Jorge Mario Cruz

## INTRODUCCIÓN

La electroforesis en gel es un método comúnmente usado para el análisis de macromoléculas, como las proteínas, las enzimas y los ácidos nucleicos (ADN y ARN). Esta técnica consiste en forzar el desplazamiento de las moléculas en un gel coloide sólido por medio de una diferencia de potencial eléctrico. En éste gel, por lo general de agarosa o poliacrilamida, se redistribuyen las macro-moléculas en función de su forma y tamaño, generando un conjunto de bandas características. Luego, éstas se resaltan con un tinte fluorescente para finalmente ser capturadas como una imagen<sup>5</sup>. Las imágenes resultantes de la electroforesis en gel se utilizan en diversas aplicaciones clínicas, entre las más frecuentes se encuentran: la determinación del fenotipo de un individuo, las pruebas de histocompatibilidad, de antígeno leucocitario humano (HLA) y de paternidad. Adicionalmente tienen un uso en aplicaciones particulares como: la estimación de la masa molecular y del punto isoeléctrico tanto de proteínas como de ácidos nucleicos, y el análisis de las variaciones en las enzimas<sup>6 7</sup>. Sin embargo, la interpretación de estas imágenes puede verse comprometida por problemas como bajo contraste, altos niveles de

---

<sup>5</sup> PADILLA PEÑA, Carmen Alicia y Otros. Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico [En línea]. Universidad de Cordoba, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular [Córdoba, España] UCO, 2011 [Citado 7 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/17%20ELECTROFORESIS%20ACS%20NUCLEICOS%20GELES%20AGAROSA.pdf>

<sup>6</sup> LEAL Esmeide, LEAL Nallig. Automatización de la Prueba HLA Mediante Análisis de Imágenes de Gel de Electroforesis Empleando Visión Artificial [En línea]. Revista Prospectiva de la facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma del Caribe [Barranquilla, Colombia] prospectiva, 2010 [Citado 7 Nov. 2014] disponible en Internet: [http://www.uac.edu.co/images/stories/publicaciones/revistas\\_cientificas/prospectiva/volumen-8-no-1/articulo2-v8n1.pdf](http://www.uac.edu.co/images/stories/publicaciones/revistas_cientificas/prospectiva/volumen-8-no-1/articulo2-v8n1.pdf)

<sup>7</sup> García Pérez.Hilda Marilín. Electroforesis en geles de poliacrilamida: fundamentos, actualidad e importancia [En línea]. Biblioteca virtual en salud de Cuba [Ciudad de La Habana, Cuba] Universo Diagnóstico, 2000 [Citado 7 Nov. 2014] disponible en Internet: [http://bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1\\_2\\_00/uni07200.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1_2_00/uni07200.htm)

ruido y variaciones de intensidad en los niveles de grises, entre otros<sup>8</sup>. Por esta razón, se emplean procedimientos para mejorar el contraste, además de metodologías de procesamiento de imágenes para hacer más claras las bandas características, propias de la electroforesis, y así evitar las malas interpretaciones de éstas<sup>9 10</sup>.

Por otra parte, el procesamiento digital de imágenes consiste en mejorar, comprimir, restaurar, analizar y reconstruir las imágenes<sup>11</sup>. En el caso particular del proceso de mejorar las imágenes, éste es posible si los filtros a implementar se seleccionan de manera apropiada teniendo en cuenta la naturaleza del problema. Entre los filtros más empleados en las aplicaciones prácticas, se encuentran los filtros de media, de media ponderada, de mediana, adaptativos y Gaussianos<sup>12</sup>. En el caso específico de las imágenes de electroforesis en gel, que necesitan un suavizado en sus bandas características, el Butterworth es el filtro digital que mejor se ajusta debido a su respuesta en frecuencia similar a la de un filtro ideal pasa bajos. Sin embargo, una vez se selecciona el filtro a utilizar, éste se debe ajustar a las especificaciones de

---

<sup>8</sup> BAJLA Ivan, HOLLANDER Igor, BURG Kornel. Improvement of electrophoretic gel image analysis". [En línea] Austrian Research Centers Seibersdorf [Bratislava, Slovak Republic] Measurement science review, 2001 [citado 23 Sep. 2014] disponible en Internet: <http://www.measurement.sk/Papers3/Bajla.pdf>

<sup>9</sup> LEAL Esmeide, LEAL Nallig. Automatización de la Prueba HLA Mediante Análisis de Imágenes de Gel de Electroforesis Empleando Visión Artificial [En línea]. Revista Prospectiva de la facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma del Caribe [Barranquilla, Colombia] prospectiva, 2010 [Citado 7 Nov. 2014] disponible en Internet: [http://www.uac.edu.co/images/stories/publicaciones/revistas\\_cientificas/prospectiva/volumen-8-no-1/articulo2-v8n1.pdf](http://www.uac.edu.co/images/stories/publicaciones/revistas_cientificas/prospectiva/volumen-8-no-1/articulo2-v8n1.pdf)

<sup>10</sup> NIJMEIJER Raymond. procesamiento de imagenes in Ilwis 3.0 Academic User`s Guide. [En línea] Faculty of Geo-Information Science and Earth Observation of the University of Twente [Enschede, The Netherlands]. ITC-ILWIS,2001. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://www.itc.nl/external/unesco-rapca/Casos%20de%20estudios%20SIG/02%20Sensores%20remotos/sensores%20remotos.pdf>

<sup>11</sup> K. S. THYAGARAJAN, Digital Imagen Processing with application to digital cinema, 1st ed. Focal press, 2005.

<sup>12</sup> SARRÍA Francisco Alonso, "Sistemas de información Geográfica," [En línea]. SIGMUR SIG y teledetección en la Universidad de Murcia. [Murcia, España]. Universidad de Murcia, 2006. [citado 23 Sep. 2014] disponible en Internet: <http://www.um.es/geograf/sigmur/teledet/tema06.pdf>.

su aplicación. En el caso del Butterworth, esta tarea se centra en encontrar **los coeficientes** y el orden **de su función de transferencia**, que hagan mínima la diferencia entre su comportamiento con el comportamiento ideal. En la literatura existen numerosos trabajos enfocados en el diseño de filtros a través de diversas técnicas de optimización, algunos de ellos emplean los novedosos y relativamente recientes métodos de optimización no convencional<sup>13 14 15 16 17</sup>.

En este trabajo de investigación se implementó una metodología alternativa para el procesamiento de imágenes de electroforesis en gel, mejorando el contraste con la información suministrada por el histograma; suavizando sus trazos por medio de un filtro Butterworth; y segmentándola a través de la técnica de detección de objetos por segmentación multinivel combinada<sup>18</sup>. Adicionalmente, se realizó un proceso de filtrado y de segmentado óptimo empleando el algoritmo de la luciérnaga virtual.

---

<sup>13</sup> J. Lira Chávez, Tratamiento digital de imágenes multispectrales, 2 ed. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2010.

<sup>14</sup> ENGIN AYTEN Umut, ACAR VURAL Revna, YILDIRIM Tulay. "Low-pass filter approximation with evolutionary techniques". [en línea] Department of Electronics and Communication Engineering Yildiz Technical University Besiktas [Istanbul, Turkey]. ELECO, 2011. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: [http://www.emo.org.tr/ekler/8f9f98ae2905e38\\_ek.pdf](http://www.emo.org.tr/ekler/8f9f98ae2905e38_ek.pdf)

<sup>15</sup> TRIGOS GUEVARA William Javier, MEZA GARCÍA, Ángel Gabriel, "Solución numérica del modelo no lineal de un circuito en condiciones DC, haciendo uso de la meta heurística UPSO en arquitecturas híbridas," Universidad Industrial de Santander, 2013.

<sup>16</sup> H. CASTRO RUEDA and M. OTERO CORZO, "El algoritmo del murciélago virtual (BAT ALGORITHM) como estrategia para el diseño óptimo de filtros pasa-bajas," Universidad Industrial de Santander, 2014.

<sup>17</sup> YANG, Xin-She. "Firefly algorithm, Lévy flights and global optimization". In: Research and Development in Intelligent Systems XXVI. Incorporating Applications and Innovations in Intelligent Systems. [en línea] Springer, 2010. [Cambridge, UK] ARXIB ORG. Cornell University, 2010. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://arxiv.org/pdf/1003.1464.pdf>

<sup>18</sup> GIL VÁZQUEZ, Pablo y otros. "Detección de objetos por segmentación multinivel combinada de espacios de color". [en línea] Universidad de Alicante. Departamento de Física, Ingeniería de Sistemas y Teoría de la Señal. [Alicante, España]. Federación Internacional de Automatización. Comité Español de Automática, 2004. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://core.ac.uk/display/16356075>

El presente documento se encuentra organizado de la siguiente manera: En el capítulo 1 se describe la propuesta de investigación aprobada; en seguida, se presentan brevemente los conceptos básicos relacionados con el trabajo realizado; luego, en el capítulo 3, se detallan los pasos realizados para el cumplimiento de los objetivos propuestos; así, en el capítulo 4 se muestran y se analizan los principales resultados obtenidos con la metodología planteada; y por último, en el capítulo 5, se condensan las conclusiones más importantes de este trabajo de investigación.

## **1. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE GRADO**

El presente trabajo de grado, en modalidad de investigación, propone y demuestra una alternativa para la corrección y la mejora de las imágenes producto de la electroforesis en gel, a modo de reducir las posibles interpretaciones erróneas de éstas durante un estudio clínico. Para lo anterior, se emplea un filtro óptimo y una mejora a la “*umbralización*”, utilizando el algoritmo de optimización de la luciérnaga virtual.

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Optimizar el filtrado y segmentado en una imagen de electroforesis en gel de una dimensión.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Para dar cumplimiento al objetivo general del trabajo de grado, se requiere:

1. Contrastar las tonalidades en una imagen de electroforesis en gel de una dimensión.
2. Diseñar un filtro pasa bajas para una imagen de electroforesis en gel de una dimensión.
3. Optimizar el filtro pasa bajas usando el método de la luciérnaga virtual.
4. Segmentar una imagen de electroforesis en gel de una dimensión para mejorar la percepción de sus características.
5. Optimizar el segmentado a color con el método de la luciérnaga virtual.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. LA ELECTROFORESIS

La electroforesis en gel es un método con el cual se separan las macro-moléculas, presentes en una matriz gelatinosa, utilizando una diferencia controlada de potencial eléctrico. Con ello, se genera un desplazamiento de las moléculas, en función de su masa y su carga eléctrica. Este desplazamiento no es homogéneo, debido a los fenómenos de fricción y de difusión, producidos por la diferencia finita de temperaturas<sup>19</sup>. Entre las funciones principales de la electroforesis, se destacan: separar e identificar los elementos pertenecientes al ADN, brindando así, la posibilidad de diferenciarlos en masa y carga<sup>20</sup>.

### 2.2. EL PROCESAMIENTO DIGITAL DE IMÁGENES

El procesamiento de imágenes se origina frente a la necesidad del hombre por querer utilizar características propias como solución a los problemas de percepción

---

<sup>19</sup> TOVAR FRANCO, Jairo Alfonso. Biología Celular. Programa de Postgrado. Cursos Básicos. Módulos 1 y 2. Electroforesis, [en línea] Pontificia Universidad Javeriana 1998. [Bogotá Colombia.]. Universidad Javeriana, 1998. [ Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/electroforesis.html>

<sup>20</sup> QUERCI Maddalena. “Análisis de la presencia de organismos genéticamente modificados en muestras de alimentos”. Sesión 5. Electroforesis en gel de agarosa. [En línea] European commission. European union reference laboratory for GM food and feed. [ Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20ES/User%20Manual%20ES%20full.pdf>

y manipulación de las imágenes, diferenciándose en interpretación humana y procesamiento de datos digitales<sup>21</sup>.

Por su parte, una imagen digital se define como una función bidimensional  $f(x, y)$  discretizada tanto en luminosidad como en coordenadas espaciales. Ésta se representa como una matriz cuyos índices localizan un punto (o pixel) en el espacio de la imagen, y su valor corresponde al nivel de gris que varía entre 0 y 255, para el caso específico de la escala de 1 byte utilizada con frecuencia.

Con lo anterior, el tratamiento digital de imágenes se compone de tres etapas principales: la adquisición de la imagen digital, en donde la información se obtiene a través de un sensor-receptor mediante la emisión o la reflexión de luz; el procesamiento de la imagen, que consiste en mejorar la percepción de las imágenes tanto en los humanos como en las máquinas; y finalmente, la presentación al observador<sup>22</sup>. A continuación se presentan algunos conceptos básicos, relacionados con el procesamiento digital de imágenes.

### **2.2.1 El contraste**

El contraste se define como la diferencia de luminosidad entre un pixel y su entorno. Por tanto, es más fácil distinguir un objeto de su fondo en una imagen con mayor contraste, que en una con contraste nulo. Por esta razón, esta propiedad es importante para la interpretación correcta de una imagen.

En el procesamiento de imágenes digitales, para encontrar cuantitativamente el contraste, se emplea la herramienta estadística conocida como el histograma. El

---

<sup>21</sup> ESCALANTE RAMÍREZ Boris. Procesamiento digital de imágenes [En línea]. UNAM facultad de ingeniería, división de ingeniería eléctrica 2006. [Mexico D.F., Mexico]. UNAM 2006. [Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://verona.fi-p.unam.mx/boris/teachingnotes/Introduccion.pdf>

<sup>22</sup> ESCALANTE RAMÍREZ Boris. Procesamiento digital de imágenes [En línea]. UNAM facultad de ingeniería, división de ingeniería eléctrica 2006. [Mexico D.F., Mexico]. UNAM 2006. [Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://verona.fi-p.unam.mx/boris/teachingnotes/Introduccion.pdf>

histograma de una imagen corresponde a la representación del número de píxeles en cada uno de los niveles de luminosidad, entre 0 (negro) y 255 (blanco), por cada capa de color en el espacio de representación de la imagen<sup>23</sup>. Por último, se dice que una imagen tiene buen contraste cuando sus píxeles se encuentran uniformemente distribuidos<sup>24</sup>.

### 2.2.2 El filtrado

El filtrado tiene como objetivo suavizar y eliminar el ruido presentes en las imágenes. Para ello, se emplean diferentes tipos de filtros de forma matricial, como:

- **El filtro de la media** consiste en una matriz cuadrada ( $n \times n$ ), con elementos iguales a  $1/n^2$ , que asigna el valor promedio de la matriz de muestra en cada sección de la imagen.
- **El filtro de la media ponderada** es una matriz compuesta por elementos de diferente valor, en la que uno de ellos tiene mayor peso con relación a los demás.
- **El filtro de la mediana** es una matriz compuesta de manera tal, que el valor final del píxel es un valor real de la imagen y no un valor promedio
- **El filtro adaptativo** es aquel que modifica sus coeficientes para cada uno de los píxeles en función del histograma de la imagen.

---

<sup>23</sup> ATIENZA VANACLOING Vicente. El histograma de una imagen digital [En línea]. Universidad politécnica de valencia 2011. [Valencia, España]. UPV 2011. [ Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet:

<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12711/EI%20histograma%20una%20imagen%20digital.pdf?sequence=1>

<sup>24</sup> NIJMEIJER Raymond. procesamiento de imagenes in Ilwis 3.0 Academic User`s Guide. [En línea] Faculty of Geo-Information Science and Earth Observation of the University of Twente [Enschede, The Netherlands]. ITC-ILWIS,2001. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet:

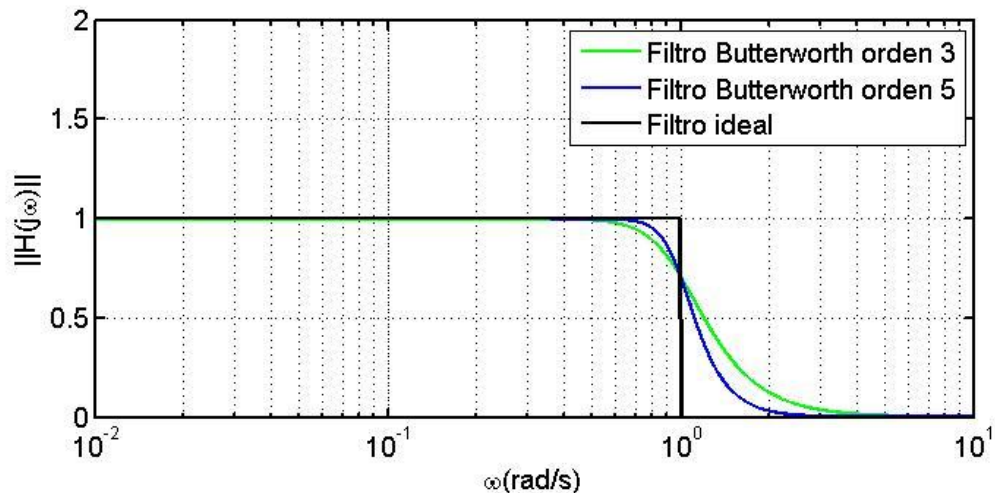
<http://www.itc.nl/external/unesco-rapca/Casos%20de%20estudios%20SIG/02%20Sensores%20remotos/sensores%20remotos.pdf>

- El filtro **Gaussiano** es una matriz cuyos elementos toman valores de una distribución Gaussiana en dos dimensiones<sup>25</sup>.

### 2.2.3 El filtro Butterworth

El filtro Butterworth se caracteriza por tener una respuesta plana en la banda de paso, hasta la frecuencia de corte  $2\pi f_c$ ; una pendiente pronunciada a partir de esta frecuencia con pendiente de  $20n$  dB por década, siendo  $n$  el orden del filtro, y una respuesta en su banda de rechazo cercana a cero. Estas tres características, dadas por su función de transferencia, hacen del comportamiento del filtro Butterworth muy cercano al de un filtro ideal pasa bajas<sup>26</sup>. Lo anterior se observa en la Figura 1.

Figura 1. Filtro Butterworth orden 3 y orden 5 vs. Filtro ideal.



En el caso particular de los filtro Butterworth de orden tres y de orden cinco, sus funciones de transferencias se encuentran dadas por (1) y (2), respectivamente. Los coeficientes de la ecuación característica del filtro de orden tres en (1) son  $b_0 = 1$ ,

<sup>25</sup> SARRÍA Francisco Alonso, “Sistemas de información Geográfica,” [En línea]. SIGMUR SIG y teledetección en la Universidad de Murcia. [Murcia, España]. Universidad de Murcia, 2006. [citado 23 Sep. 2014] disponible en Internet: <http://www.um.es/geograf/sigmur/teledet/tema06.pdf>.

<sup>26</sup> NILSSON, James W. y RIEDEL, Susan A. Circuitos eléctricos. 6ed. Madrid: Pearson Educación, 2005

$b_1 = 2$  y  $b_2 = 2$ ; y los del filtro de orden cinco en (2), son  $b_0 = 1$ ,  $b_1 = 3,236$ ,  $b_2 = 5,236$ ,  $b_3 = 5,236$  y  $b_4 = 3,236$ .

$$H(s) = \frac{b_0}{s^3 + b_2s^2 + b_1s + b_0} \quad (1)$$

$$H(s) = \frac{b_0}{s^5 + b_4s^4 + b_3s^3 + b_2s^2 + b_1s + b_0} \quad (2)$$

Ahora bien, un filtro Butterworth bidimensional, para aplicaciones en el procesamiento de imágenes, se define matemáticamente como,

$$H(x, y) = \left( 1 + \left[ \frac{D(x, y)}{D_0} \right]^{2n} \right)^{-1}, \quad (3)$$

donde  $H(x, y)$  se relaciona con la función distancia ( $D(x, y)$ ), la distancia de corte ( $D_0$ ), y el orden del filtro ( $n$ ). Se debe tener en cuenta que la distancia  $D(x, y)$ , es directamente proporcional a la frecuencia y tiene unidades espaciales. De esta manera, al diseñar un filtro bidimensional, se deben considerar los términos de distancias de corte y de ancho de distancia, en vez de la frecuencia de corte y el ancho de banda, relacionadas con los filtros unidimensionales.

#### 2.2.4 Los espacios de color RGB y HSV

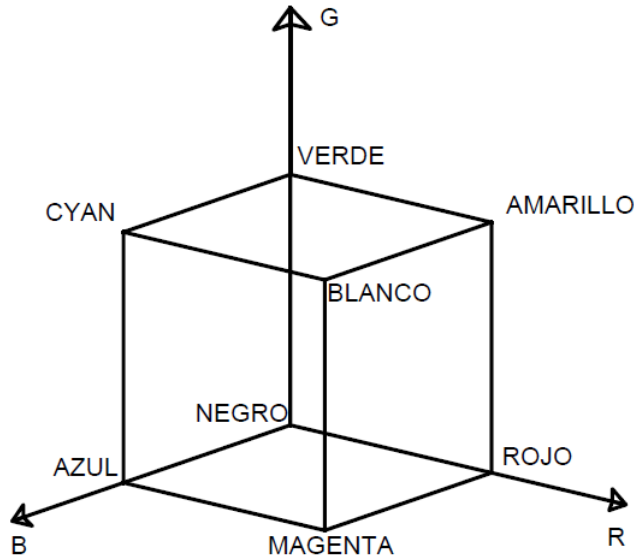
Existen diferentes formas de representar los tonos de color en una imagen, algunas de ellas son los espacios RGB y HSV. El espacio RGB es comúnmente utilizado en la industria para la obtención de imágenes a color, y se representa por un cubo en coordenadas rectangulares (Figura 2), donde cada eje representa la intensidad de los colores rojo (R), verde (G) y azul (B). El color negro se representa como la

ausencia de estos colores y el blanco como el máximo valor de cada uno de ellos<sup>27</sup>

<sup>28</sup> <sup>29</sup>

Por otro lado, el espacio de color HSV es una representación geométrica que toma la forma de un cono de base cuasi-hexagonal (Figura 3). En ésta, cada color se relaciona con los componentes tales como el matiz (o la clase de color), la saturación (o la pureza) y la intensidad (o brillo). Es última representa también la claridad o la oscuridad en una imagen<sup>30</sup>.

Figura 2. Espacio de color RGB.



<sup>27</sup> K. S. THYAGARAJAN, Digital Imagen Processing with application to digital cinema, 1st ed. Focal press, 2005.

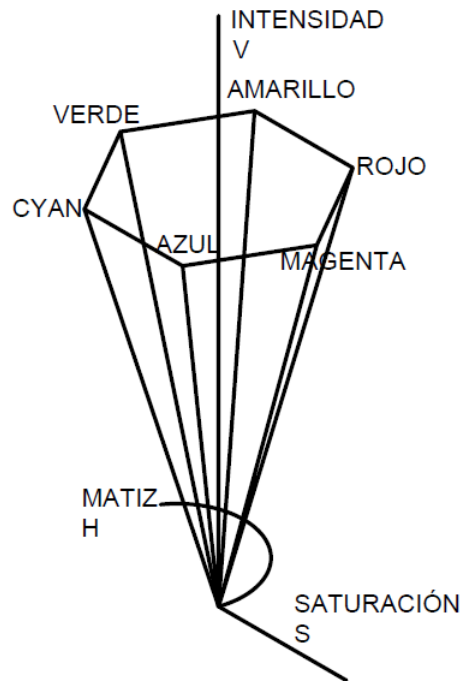
<sup>28</sup> SARRÍA Francisco Alonso, "Sistemas de información Geográfica," [En línea]. SIGMUR SIG y teledetección en la Universidad de Murcia. [Murcia, España]. Universidad de Murcia, 2006. [citado 23 Sep. 2014] disponible en Internet: <http://www.um.es/geograf/sigmur/teledet/tema06.pdf>.

<sup>29</sup> J. Lira Chávez, Tratamiento digital de imágenes multiespectrales, 2 ed. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2010.

<sup>30</sup> HASSANZADEH Tahereh, VOJODI Hakimeh, MOGHADAM AME. "An image segmentation approach based on maximum variance intra-cluster method and firefly algorithm" [En línea]. Natural Computation (ICNC), 2011 [Qazvin, Iran]. IEEE 2011. [Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6022379>

Fuente. Detección de objetos por segmentación multinivel combinada de espacios de color<sup>31</sup>.

Figura 3. Espacio de color HSV.



Fuente. Detección de objetos por segmentación multinivel combinada de espacios de color. Fuente: 26

### 2.2.5 La segmentación

La segmentación es de gran importancia en el tratamiento de imágenes, ya que permite reconocer objetos en una fotografía digital, mediante la disminución de las variaciones en su iluminación, que afectan directamente las características de los

---

<sup>31</sup> Gil Vázquez, Pablo y otros. "Detección de objetos por segmentación multinivel combinada de espacios de color". [en línea] Universidad de Alicante. Departamento de Física, Ingeniería de Sistemas y Teoría de la Señal. [Alicante, España]. Federación Internacional de Automatización. Comité Español de Automática, 2004. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://core.ac.uk/display/16356075>

objetos en la imagen. Por lo general, la segmentación se implementa en la detección de bordes (o contornos) y en la búsqueda de regiones con propiedades homogéneas. Asimismo, ésta se fundamenta en la detección de umbrales, o “*umbralización*”, en los espacios de color RGB y HSV. Sin embargo, para segmentar correctamente una imagen se debe elegir en forma apropiada el número de umbrales a utilizar. Ya que si el número de umbrales es muy bajo (sub-segmentación), se detectarán menos regiones que las deseadas, provocando que el objeto de interés se mezcle con el entorno. Por el contrario, si este número es muy grande (sobre-segmentación), las regiones detectadas excederán lo esperado y como consecuencia, el objeto se subdividirá en pequeñas partes que lo componen. Estos problemas se asocian principalmente a la presencia de sombras, al brillo no-uniforme o a algún tipo de similitudes en los tonos de color de la imagen, que aparecen cuando se utiliza un número diferente de umbrales<sup>32</sup>.

Para evitar este tipo de problemas, se emplean las bien conocidas técnicas de segmentación. Una de ellas, comúnmente usada en la literatura, es el método de Otsu. Éste consiste en una multi-umbralización para detectar objetos a partir de aproximaciones utilizando información estadística de los histogramas. Así, es posible agrupar los píxeles de una imagen en diferentes clases (o regiones) por medio de su histograma, en conjunto con la umbralización de la varianza de cada clase (*inter-cluster*) y la varianza entre clases (*intra-cluster*)<sup>33</sup>. A continuación se describen las ecuaciones y los pasos del método de Otsu.

---

<sup>32</sup> Gil Vázquez, Pablo y otros. “Detección de objetos por segmentación multinivel combinada de espacios de color”. [en línea] Universidad de Alicante. Departamento de Física, Ingeniería de Sistemas y Teoría de la Señal. [Alicante, España]. Federación Internacional de Automatización. Comité Español de Automática, 2004. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://core.ac.uk/display/16356075>

<sup>33</sup> HASSANZADEH Tahereh, VOJODI Hakimeh, MOGHADAM AME. “An image segmentation approach based on maximum variance intra-cluster method and firefly algorithm” [En línea]. Natural Computation (ICNC), 2011 [Qazvin, Iran]. IEEE 2011. [Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6022379>

Primero se debe calcular la probabilidad de que un tono de gris,  $P_i$ , se encuentre en la imagen como,

$$P_i = \frac{n_i}{n}, \quad (4)$$

donde  $n_i$  y  $n$  son el número de píxeles en un valor de gris determinado y el número total de píxeles en la imagen, respectivamente. Ahora, una vez son conocidos los valores de  $P_i$  en la imagen, se determina la probabilidad acumulada para cada clase con un solo umbral  $u$  de la siguiente manera,

$$\omega_1 = \sum_{i=0}^u P_i \quad y \quad \omega_2 = \sum_{i=u+1}^{l-1} P_i, \quad (5)$$

Siendo  $\omega_1$  y  $\omega_2$  las probabilidades de las clases 1 y 2, respectivamente; y  $l$  es el pixel con el valor máximo de gris dentro de la imagen. Con lo anterior, se calcula el valor promedio de cada clase ( $\mu_1$  y  $\mu_2$ ) como,

$$\mu_1 = \frac{1}{\omega_1} \sum_{i=0}^u iP_i \quad y \quad \mu_2 = \frac{1}{\omega_2} \sum_{i=u+1}^{l-1} iP_i \quad (6)$$

y, de igual manera, se halla la varianza para cada clase ( $\sigma_1^2$  y  $\sigma_2^2$ ) como,

$$\sigma_1^2 = \frac{1}{\omega_1} \sum_{i=0}^u (i - \mu_1)^2 \cdot P_i, \quad y \quad \sigma_2^2 = \frac{1}{\omega_2} \sum_{i=u+1}^{l-1} (i - \mu_2)^2 \cdot P_i. \quad (7)$$

Finalmente, se determina la varianza de cada clase ( $\sigma_\omega^2$ ) y la varianza entre clases ( $\sigma_B^2$ ) con (8) y (9), que definen las ecuaciones del método de Otsu para un umbral  $u$ .

$$\sigma_\omega^2 = \omega_1 \sigma_1^2 + \omega_2 \sigma_2^2 \quad (8)$$

$$\sigma_B^2 = \omega_1 (\mu_1 - \mu_T)^2 + \omega_2 (\mu_2 - \mu_T)^2 = \omega_2 \omega_1 (\mu_2 - \mu_1)^2 \quad (9)$$

Sin embargo, las expresiones para  $\sigma_\omega^2$  y  $\sigma_B^2$  se pueden generalizar fácilmente para varios umbrales  $u$ , como,

$$\sigma_{\omega}^2 = \sum_{i=1}^u \omega_i \sigma_i^2, \quad (10)$$

$$\sigma_B^2 = \sum_{i=0}^u \omega_i (\mu_i - \mu_T)^2. \quad (11)$$

### 2.3. EL ALGORITMO DE LA LUCIÉRNAGA VIRTUAL

El algoritmo de optimización de la luciérnaga virtual (FA, de sus siglas en inglés *Firefly Algorithm*), desarrollado por Yang en 2010<sup>34</sup>, toma como referencia el comportamiento de las luciérnagas y su sistema de atracción basado en los destellos de luz, o intensidades lumínicas ( $l_x$ ), de cada individuo. El valor de  $l_x$  es directamente proporcional a la función objetivo  $y$ , a su vez, a la atracción  $\beta$  (12). Por tanto, la luciérnaga virtual más atractiva en el enjambre corresponde a la mejor solución, y con ello, la posición más influyente en el desplazamiento de las demás luciérnagas dentro del dominio de búsqueda. Para calcular la atracción  $\beta$  se tiene en cuenta la intensidad lumínica percibida por cada luciérnaga, que varía en función del coeficiente de absorción del medio ( $\gamma$ ) y de la separación ( $r_{ij}$ ) entre el agente receptor ( $i$ ) y el emisor ( $j$ ), como

$$\beta = \beta_0 e^{-\gamma r_{ij}^2}, \quad (12)$$

donde  $\beta_0$  es el parámetro de atracción inicial. El valor de  $r_{ij}$  entre las luciérnagas  $i$  y  $j$  en las posiciones  $x_i$  y  $x_j$ , se determina con la distancia Euclidiana en (13).

$$r_{ij} = \|x_i - x_j\| = \sqrt{\sum_{k=1}^d (x_{i,k} - x_{j,k})^2} \quad (13)$$

---

<sup>34</sup> YANG, Xin-She. "Firefly algorithm, Lévy flights and global optimization". In: Research and Development in Intelligent Systems XXVI. Incorporating Applications and Innovations in Intelligent Systems. [en línea] Springer, 2010. [ Cambridge, UK] ARXIB ORG. Cornell University, 2010. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://arxiv.org/pdf/1003.1464.pdf>

Con lo anterior, cuando la luciérnaga  $i$  es atraída hacia  $j$ , ésta se desplaza hacia  $j$  de acuerdo con

$$x_i = x_i + \beta_0 e^{-\gamma r_{ij}^2} (x_j - x_i) + \alpha \cdot \left( \text{rand} - \frac{1}{2} \right), \quad (14)$$

donde el segundo término de (14) describe la atracción, y el tercero representa la aleatoriedad en el proceso de búsqueda, con base en el parámetro de control  $\alpha$ . Los valores más comunes, encontrados en la literatura, para los parámetros de control del algoritmo de la luciérnaga virtual son  $\alpha = 1$ ,  $\beta_0 = 1$  y  $\gamma = 1$ <sup>35 36</sup>. A continuación, se presenta el pseudocódigo del algoritmo de la luciérnaga virtual.

Pseudocódigo 1. Algoritmo de la luciérnaga virtual (FA)<sup>37</sup>.

1. Definir la función objetivo  $f(x)$ ,  $x = [x_1, \dots, x_d]^T$  y el criterio de parada, y especificar los parámetros de control del algoritmo  $(n, \alpha, \beta_0, \gamma)$ .
2. Distribuir aleatoriamente las  $n$  luciérnagas en el dominio de búsqueda.
3. Especificar cómo varía la intensidad de luz  $l_x$  en función de  $f(x)$ .
4. Para las luciérnagas  $i = 1, 2, \dots, n$ , hacer:
  5. Para las luciérnagas  $j = 1, 2, \dots, n$ , hacer:
    6. Si  $I_j > I_i$ , Mover luciérnaga  $i$  hacia  $j$ .

---

<sup>35</sup> HASSANZADEH Tahereh, VOJODI Hakimeh, MOGHADAM AME. "An image segmentation approach based on maximum variance intra-cluster method and firefly algorithm" [En línea]. Natural Computation (ICNC), 2011 [Qazvin, Iran]. IEEE 2011. [Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6022379>

<sup>36</sup> RUBIO LARGO Álvaro y otros. "Algoritmo multiobjetivo inspirado en el comportamiento de las luciérnagas para resolver el problema RWA". [En línea]. Actas del VIII Congreso Español sobre Metaheurísticas, Algoritmos Evolutivos y Bioinspirados, 2012 [Albacete, España]. Actas del VIII Congreso Español sobre Metaheurísticas. [ Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: [http://www.congresomaeb2012.uclm.es/papers/paper\\_7.pdf](http://www.congresomaeb2012.uclm.es/papers/paper_7.pdf)

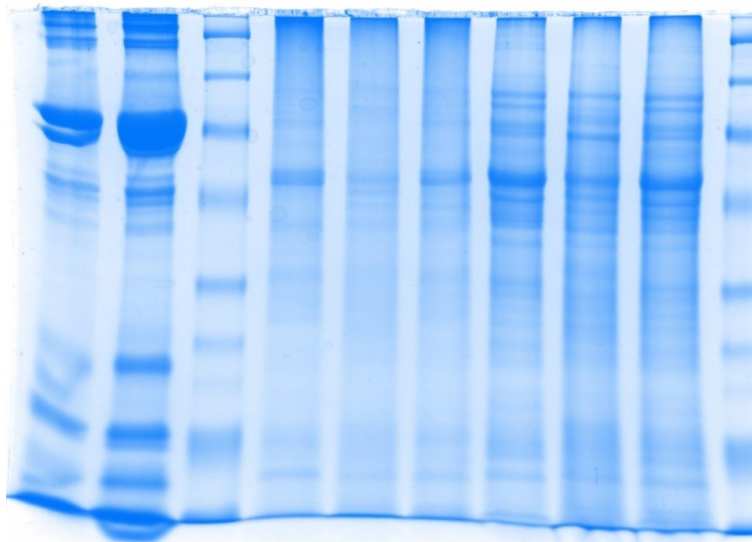
<sup>37</sup> YANG, Xin-She. "Firefly algorithm, Lévy flights and global optimization". In: Research and Development in Intelligent Systems XXVI. Incorporating Applications and Innovations in Intelligent Systems. [en línea] Springer, 2010. [ Cambridge, UK] ARXIB ORG. Cornell University, 2010. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://arxiv.org/pdf/1003.1464.pdf>

7. Evaluar la nueva solución y actualizar el valor de  $I_i$ .
8. Ordenar las luciérnagas por intensidades, de mayor a menor.
9. Verificar el criterio de parada. Si se cumple, terminar e imprimir  $x$ . De lo contrario, volver a 4.

### 3. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de este trabajo de investigación, se utilizaron las imágenes de electroforesis en gel en una dimensión, suministradas por el **Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular (GIEM)**, adscrito a la facultad de salud de la **Universidad Industrial de Santander (UIS)**. Estas imágenes se obtuvieron a través del método de electroforesis en gel de agarosa con antígenos de insectos (*Triatoma Dimidiata o Pito*) y de parásitos (*Fasciola*). En la Figura 4 se presenta una muestra de las imágenes que se estudiaron. Además, para la realización de este trabajo, se utilizó un computador personal con procesador AMD A10-5745M APU, 6 GB de RAM y sistema operativo Microsoft® Windows™ 8.1.

Figura 4. Imagen de electroforesis en gel en una dimensión de la proteína de hemolinfa de un *Triatoma Dimidiata*.



Fuente. **Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular de la Facultad de Salud de la UIS.**

Como criterio de comparación, se evaluó qué tan precisas y sensibles son las máscaras finales de segmentación, obtenidas tanto con el método de Otsu como

con el algoritmo de la luciérnaga virtual, con respecto a una máscara ideal basada en la información proporcionada por **GIEM**. Para ello, se emplean dos términos que describen la información obtenida: verdadero (*True*) y falso (*False*). Sin embargo, se consideraron los “verdaderos positivos” (*tp*) y los “falsos positivos” (*fp*)” como referencia a las predicciones positivas que son correctas o incorrectas, respectivamente. De igual manera, se tuvieron en cuenta los “verdaderos negativos” (*tn*) y los “falsos negativos” (*fn*) para las predicciones negativas que son correctas o incorrectas<sup>38</sup>. En el caso específico de la segmentación, éstas corresponden a los puntos que coinciden (o no) entre las máscaras obtenidas con cada método y la máscara ideal. Por tanto, la precisión se define como la fracción de las instancias recuperadas relevantes, y la sensibilidad como la fracción de las instancias relevantes recuperadas; estas dos medidas se calculan con (15) y (16).

$$\text{Precisión} = \frac{tp}{tp + tn} * 100\% \quad (15)$$

$$\text{Sensibilidad} = \frac{tp}{tp + fn} * 100\% \quad (16)$$

El presente trabajo de investigación se desarrolló a través de las siguientes etapas: en la primera, se preparó la imagen de estudio; en la segunda, se aplicaron diferentes filtros comúnmente usados en la literatura; en la tercera etapa, se procedió a segmentar la imagen; seguidamente, se implementó y ajustó el algoritmo de optimización de la luciérnaga virtual (FA), utilizando funciones de prueba estándar; por último, en la cuarta y la quinta etapa, se diseñó un filtro Butterworth y

---

<sup>38</sup> D. W POWERS, “Evaluation: from precision. Recall and f-factor to ROC.,” School of Informatics and Engineering Flinders [En línea]. SIE, 2007 [Adelaide, Australia]. Technical Report [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: [http://david.wardpowers.info/BM/Evaluation\\_SIETR.pdf](http://david.wardpowers.info/BM/Evaluation_SIETR.pdf).

se optimizó la umbralización para la imagen de electroforesis en gel. A continuación, se detallan cada una de éstas.

### **3.1. EI PRE-PROCESADO**

Inicialmente, se separó la imagen en sus tres capas RGB y se encontraron sus histogramas correspondientes. Con el histograma original de cada capa, se obtuvo un histograma acumulado que se corrigió posteriormente con el valor original de cada pixel. Cabe resaltar que cada capa de la imagen tiene un histograma, por lo que el proceso de generar un histograma acumulado y remplazarlo, se hizo para cada una de ellas por separado. Como último paso, se solaparon las tres capas RGB para dar lugar a la imagen de electroforesis con el contraste modificado. De esta manera, se obtuvo una nueva imagen de electroforesis con base en sus histogramas acumulados.

### **3.2. EI FILTRADO**

En esta etapa se utilizaron conceptos básicos de tratamiento de señales, ya que en el dominio del tiempo, el filtrado se define como la convolución entre la señal de entrada (la imagen) y el sistema (el filtro); mientras que en el dominio de la frecuencia, como se realizó en éste trabajo, el filtrado corresponde a la multiplicación entre las transformadas de la imagen y el filtro. Para ello, se utilizó la transformada rápida de Fourier bidimensional. Así, primero se filtró cada capa de la imagen de estudio multiplicando cada una de las capas transformadas en el espectro con el filtro seleccionado. En este caso, se seleccionó el filtro pasa bajas Butterworth bidimensional, debido a que para esta aplicación, los pixeles de interés se encuentran en la parte central del espectro del plano  $z$  complejo, en otras palabras, en las frecuencias bajas. Por tanto, para el diseño del filtro Butterworth pasa bajas, se definió una distancia de corte de  $D_0 = 60$  unidades espaciales, y un orden de cinco ( $n = 5$ ). Con lo anterior, se buscó generar un suavizado suficiente para que las bandas características de la imagen de electroforesis se compacten y

puedan diferenciarse del resto de la imagen. Se debe aclarar que las distancias de corte varían dependiendo de la distancia con la cual se tomó la fotografía; en nuestro caso, se asumió que la distancia para todas las imágenes de electroforesis en gel es la misma, dado que todas vienen de un mismo banco de imágenes. Finalmente, se solaparon las tres capas resultantes, dando como consecuencia la imagen de electroforesis modificada espectralmente.

### **3.3. LA SEGMENTACIÓN**

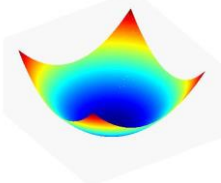
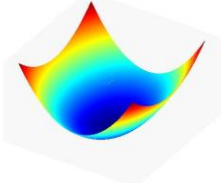
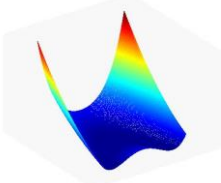
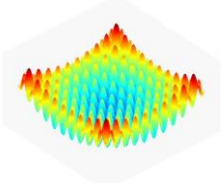
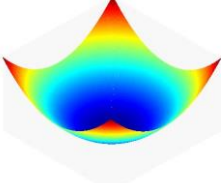
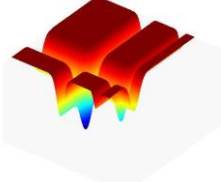
Para la etapa de segmentación, primero se transformó la imagen del espacio RGB al HSV, separando cada capa (o canal) con los que se trabajó individualmente. Luego, se realizó un pre-filtrado en cada canal H, S y V, a manera de suavizar y eliminar las discontinuidades existentes en la imagen. Para este caso, se utilizó un filtro de media de  $3 \times 3$  por simplicidad. Se debe resaltar que para las coordenadas HSV, se promedió la información contenida en cada canal. Posteriormente, se utilizó el método de umbralización de Otsu, con el que se generaron las capas codificadas de los conjuntos a trabajar, de acuerdo con el número de umbrales definido. Ahora bien, para hacer óptima la selección de los umbrales, se utilizó la información suministrada por el histograma bidimensional V/S. Éste muestra la información entrelazada de los canales V y S en la sección de la imagen que se desea resaltar, para así comparar entre los umbrales obtenidos con el método de Otsu y los ejes del histograma V/S. De esta manera se seleccionó el mejor rango de los valores de los canales S y V, para reducir las capas codificadas obtenidas previamente. Finalmente, con estas capas se generaron las máscaras de segmentación para cada una de ellas. La capa H se trabajó de manera diferente a las S y V, ya que la disminución de las capas codificadas se hizo con base en la media de cada conjunto resultante de la umbralización de H, comparado con la media total del canal H. Así, se unieron las capas codificadas que se asemejaban y se seleccionó aquella con mayor similitud a la media del canal H, siendo ésta la máscara resultante de la segmentación.

Al final, se obtuvo una máscara total con las tres capas finales de segmentación en el espacio HSV, que se multiplicaron por separado con las capas RGB, para así segmentar la imagen.

### **3.4. LA IMPLEMENTACIÓN Y EL AJUSTE DEL ALGORITMO DE OPTIMIZACIÓN**

En esta etapa se implementó el algoritmo de la luciérnaga virtual (con su sigla conocida, *FA*), sobre una plataforma de cómputo comercial. Para la determinación y el ajuste de los parámetros propios del método ( $n, \alpha, \beta_0$  y  $\gamma$ ), se realizaron varias simulaciones con algunas de las funciones de prueba estándar presentes en la literatura (ver Tabla 1), con diferentes valores de  $n, \alpha, \beta_0, \gamma$  y del número de iteraciones (ver Tabla 2). Adicionalmente, por cada configuración de parámetros se repitió la prueba 50 veces. Con los resultados obtenidos, se calculó la tasa de convergencia para las configuraciones por función objetivo, para luego identificar el mejor valor de cada uno de éstos. La tasa de convergencia se definió como el número de ejecuciones de *FA* exitosas sobre el total de las pruebas realizadas por función objetivo. Para ello, una ejecución es exitosa si la diferencia entre el valor obtenido con el algoritmo y el valor teórico de la función de prueba, es menor o igual a 0,01.

Tabla 1. Funciones prueba estándar seleccionadas para el ajuste de FA. Fuente: autores

Función	Dominio de búsqueda	Mínimo global	Representación en dos dimensiones
De Jong (Esfera)	$-5,12 \leq x_i \leq 5,12$	$f(x^*) = 0; x_i^* = 0$ $i = 1, \dots, n.$	
Híper elipsoide con ejes paralelos	$-5,12 \leq x_i \leq 5,12$	$f(x^*) = 0; x_i^* = 0$ $i = 1, \dots, n.$	
Rosenbrock's Valley (Banana)	$-2,048 \leq x_i \leq 2,048$	$f(x^*) = 0; x_i^* = 1$ $i = 1, \dots, n.$	
Rastrigin	$-5,12 \leq x_i \leq 5,12$	$f(x^*) = 0; x_i^* = 0$ $i = 1, \dots, n.$	
Suma de diferencias de potencias	$-1 \leq x_i \leq 1$	$f(x^*) = 0; x_i^* = 0$ $i = 1, \dots, n.$	
Michalewicz	$0 \leq x_i \leq \pi$	$f(x^*) = -1,801;$ $x^* = [20; 1,57]$	

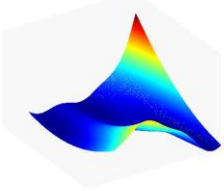
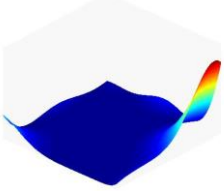
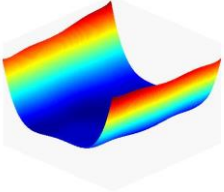
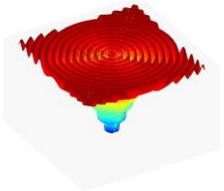
<i>Branin</i>	$-5 \leq x_i \leq 15$	$f(x^*) = 0,397887;$ $x^* = [-\pi; 12,275]$ $x^* = [\pi; 2,275]$ $x^* = [9,42478; 2,475]$	
<i>Goldstein-Price</i>	$-2 \leq x_i \leq 2$	$f(x^*) = 3;$ $x^* = [0; -1]$	
<i>Six-Hump camel back</i>	$-3 \leq x_i \leq 3$	$f(x^*) = -1,0316;$ $x^* = [-0,0898; 0,7126]$ $x^* = [0,0898; -0,7126]$	
<i>Drop-Wave</i>	$-5,12 \leq x_i \leq 5,12$	$f(x^*) = -1;$ $x^* = [0; 0]$	

Tabla 2. Valores de prueba para los parámetros del algoritmo.

Parámetro	Valores considerados
POBLACIÓN ( $n$ )	1; 15 y 30
ITERACIONES ( $N_{m\acute{a}x}$ )	100
$\alpha$	0,1 y 1
$\beta_0$	0,1; 0,5 y 1
$\gamma$	0,01; 0,05; 0,1 y 0,5

### 3.5. EL DISEÑO DE UN FILTRO ÓPTIMO

Como primer paso, antes de utilizar FA para encontrar los coeficientes óptimos del filtro, se definió la función objetivo, o función de error, que compara qué tan cercana es la respuesta en frecuencia del Butterworth con la de un filtro ideal, como

$$Error(\mathbf{b}) = \left| W_p \sum_{\omega=0,1}^{\omega_c} (1 - |H(\mathbf{b}, j\omega)|) + W_s \sum_{\omega=\omega_c}^{2\omega_c} (0 - |H(\mathbf{b}, j\omega)|) \right|. \quad (17)$$

El primer término a la derecha en (17) corresponde a la diferencia entre el valor de magnitud uno y el filtro actual desde  $\omega = 0,1$  hasta la frecuencia de corte  $\omega_c$ . Para este caso  $\omega_c = 1$ , debido a que ésta es la frecuencia de corte del filtro ideal. En la segunda parte de la expresión, se compara la región de rechazo, o el valor de magnitud cero, del filtro ideal desde la frecuencia de corte  $\omega_c$  hasta  $2\omega_c$ . Los elementos del vector  $\mathbf{b}$  corresponden a los coeficientes de la función de transferencia del filtro a diseñar, i.e.  $\mathbf{b} = [b_0, b_1, \dots, b_n]$ . Por último,  $W_p$  y  $W_s$  son los pesos correspondientes a las bandas de paso y de rechazo del filtro, respectivamente. Por último, se asumió que  $W_p = 0,5$  y  $W_s = 0,5$ , con base en [9], asignándole igual prioridad a los dos términos de (17).

Una vez definida la función objetivo, se implementó el algoritmo de la luciérnaga virtual. Para ello, se establecieron cada uno de los coeficientes del filtro como variables de diseño. De esta manera, para un filtro con tres coeficientes (orden tres), se necesita un vector de diseño de tres dimensiones en el algoritmo. En este trabajo, se diseñaron dos filtros, uno de orden tres y otro de orden cinco, que posteriormente se utilizaron en la imagen de electroforesis en gel.

### 3.6. OPTIMIZACIÓN DE LA UMBRALIZACIÓN PARA EL SEGMENTADO

En la etapa de optimización de la umbralización se emplearon las ecuaciones del método de Otsu. Este método se concentra la minimización de la varianza entre cada clase y, al mismo tiempo, en la maximización de la varianza entre clases, a

manera de obtener clases homogéneas que separaren la distribución del histograma en secciones continuas. Por tanto, el problema matemático que da lugar a una umbralización óptima se define como,

$$\eta = \text{máx} \left( \frac{\sigma_B^2}{\sigma_w^2} \right). \quad (18)$$

Para la determinación del valor de  $\eta$  en (18), primero se utilizó la imagen de prueba estándar Lenna [22], comúnmente empleada en la literatura. Para ello, se realizaron simulaciones con siete umbrales diferentes, esto a manera de corroborar el buen funcionamiento de la umbralización en la segmentación. Al final, se realizó el mismo procedimiento con la técnica de detección de objetos por segmentación multinivel combinada en [13], aplicada a las imágenes de electroforesis en gel.

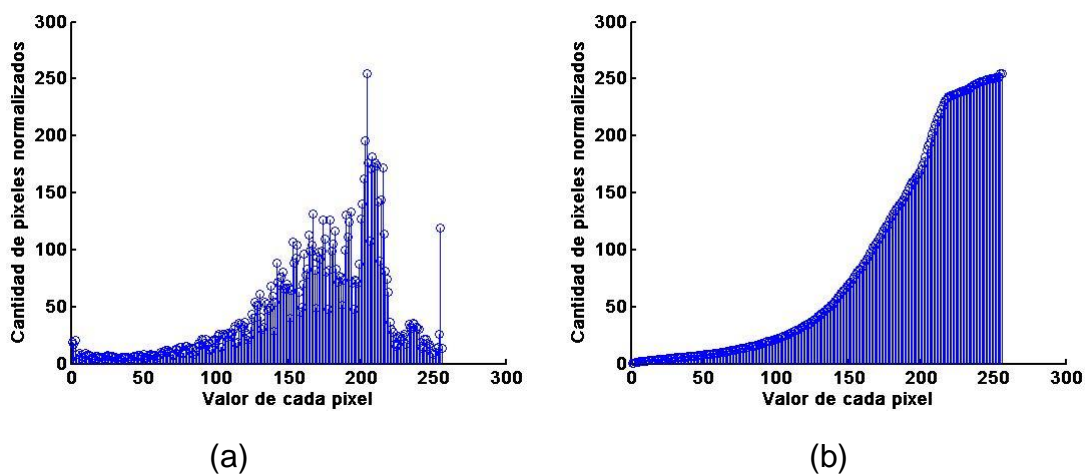
## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. EI PRE-PROCESADO

A partir de la imagen de electroforesis en gel, se obtuvo el histograma que muestra cómo se encuentran distribuidos los píxeles en la imagen en el espacio de color RGB. En la Figura 5.a, se presenta a título de ejemplo demostrativo, el histograma de la capa R de la imagen de estudio. Posteriormente se normalizó el vector resultante de la convolución, y con ello, se obtuvo el histograma acumulado que se muestra en la Figura 5.b.

Figura 5. (a) Histograma de la capa de color rojo e (b) Histograma acumulado de la imagen de electroforesis en gel.

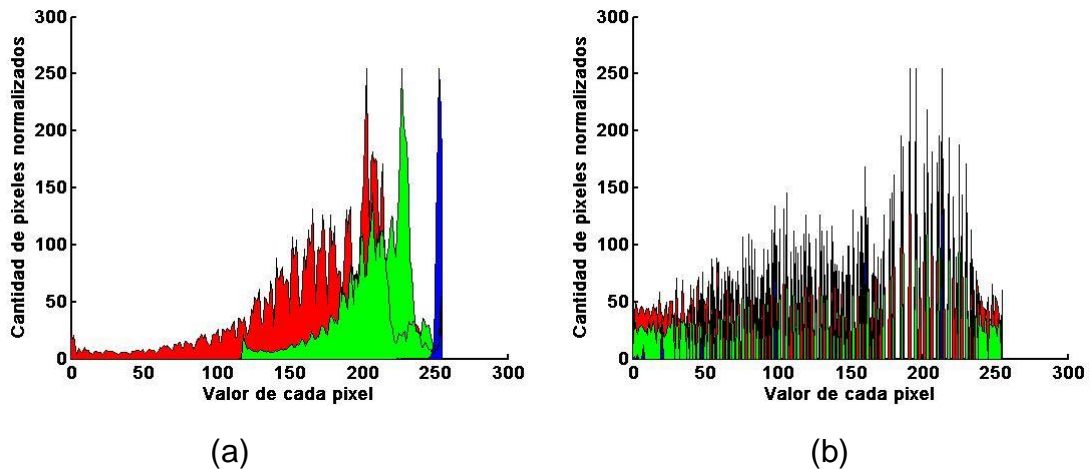
Fuente: autores



En la Figura 6.a la distribución de los píxeles en los histogramas RGB, no comparten la misma información. Sin embargo, al utilizar sus histogramas acumulados, los píxeles quedan distribuidos en grupos más pequeños pero a lo largo de todo el histograma (ver Figura 6.b). Así, se resaltan los píxeles de las bandas características que se encuentran en la sección izquierda del histograma, y se regulan los píxeles de la sección derecha del mismo.

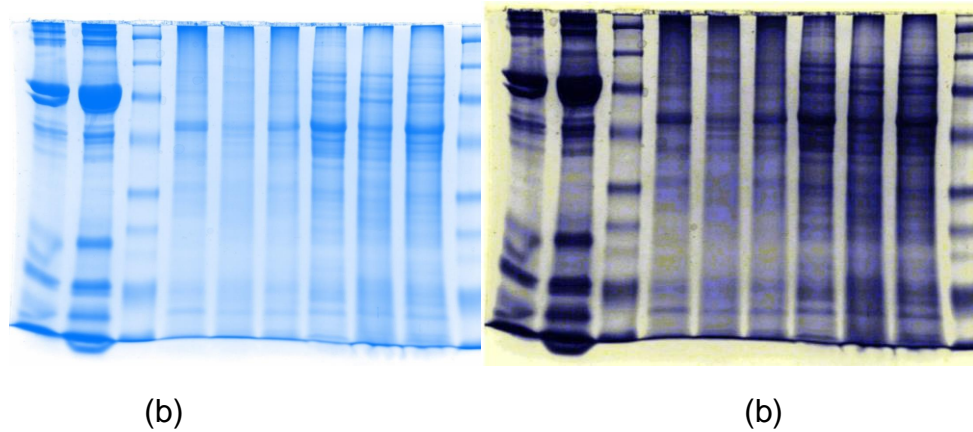
Figura 6. (a) Histogramas RGB original de la imagen de electroforesis e (b) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis con mejora de contraste.

Fuente: autores



En la Figura 7 se presenta el resultado final de la etapa de contraste. Con ésta se resaltaron las bandas características que poseían diferencias visuales muy bajas, i.e. valores de pixeles entre 210 y 255 que tienden a ser color blanco. Además, se mejoró la percepción de todas las bandas de la imagen de electroforesis para el observador, variando el valor de los pixeles de las bandas características menos visibles presentes en la imagen original; i.e. de 201,225,253 a 172,171,213 en sus capas R, G y B, respectivamente.

Figura 7. (a) Imagen original de electroforesis en gel e (b) Imagen de electroforesis en gel con mejora de contraste.



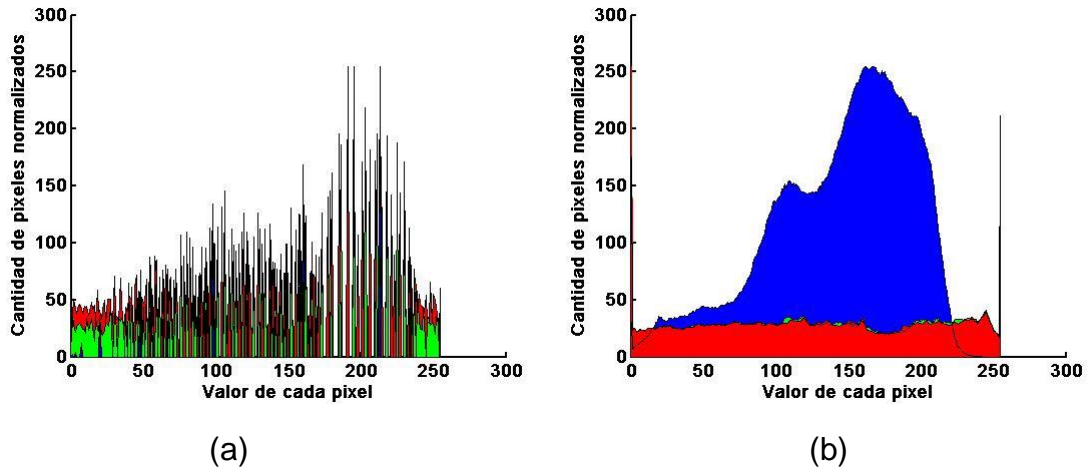
Fuente. **Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular de la Facultad de Salud de la UIS.**

#### **4.2. EI FILTRADO**

Ahora, con la información de los histogramas RGB, tanto de la imagen de electroforesis mejorada en contraste (Figura 8.a) como de la imagen filtrada (Figura 8.b), se observa que el filtro elimina satisfactoriamente las discontinuidades presentes en las bandas características de la imagen de estudio.

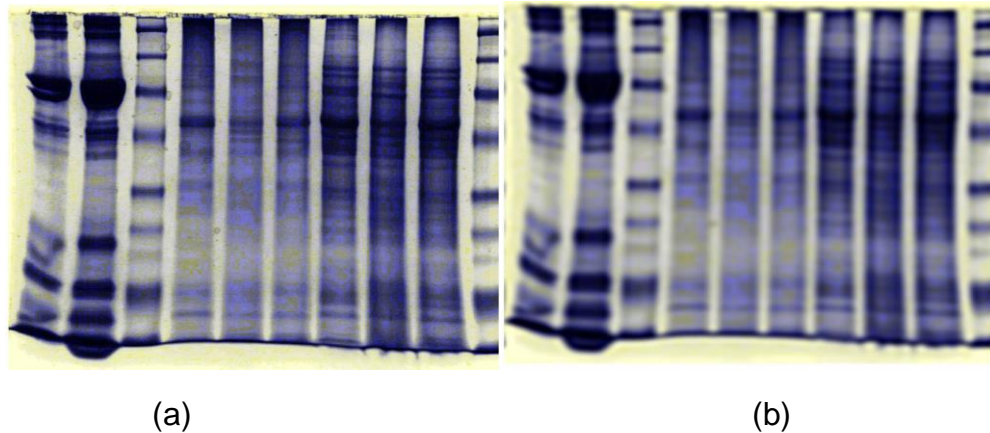
Figura 8. (a) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis con mejora de contraste e (b) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis filtrada.

Fuente: autores



En la Figura 9 se muestra la imagen de electroforesis en gel totalmente suavizada, como resultado de la etapa de filtrado. En ésta se perciben claramente unas bandas características más compactas y homogéneas, comparadas con la imagen original, con un valor promedio de 10, 10 y 40 en sus canales R, G y B, respectivamente.

Figura 9. (a) Imagen de electroforesis en gel con mejora de contraste e (b) Imagen de electroforesis en gel filtrada.



Fuente. **Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular de la Facultad de Salud de la UIS.**

### 4.3. LA SEGMENTACIÓN

Seguidamente, se segmentó la imagen de estudio para así eliminar el fondo y la información no necesaria. De ésta se nota un aspecto visual más atractivo para el observador que, adicionalmente, se puede contrastar con los histogramas de las imágenes antes (Figura 10.a) y después del segmentado (Figura 10.b). En la Figura 10.b se observan unos pocos pixeles resultantes de la segmentación, que corresponden a la información de las bandas características de la imagen de electroforesis en gel. Por su parte, en la Figura 11 se presenta la imagen resultante del proceso anterior, con únicamente las bandas características. Los valores de los pixeles en el fondo son 0, 0 y 0 para las capas R,G y B; en otras palabras, de color negro.

Figura 10. (a) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis filtrada, (b) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis segmentada.

Fuente: autores

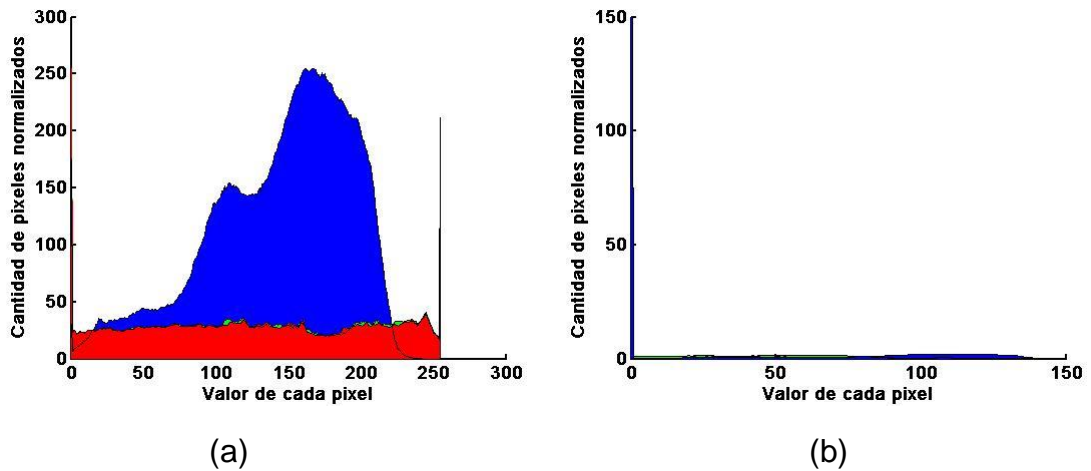
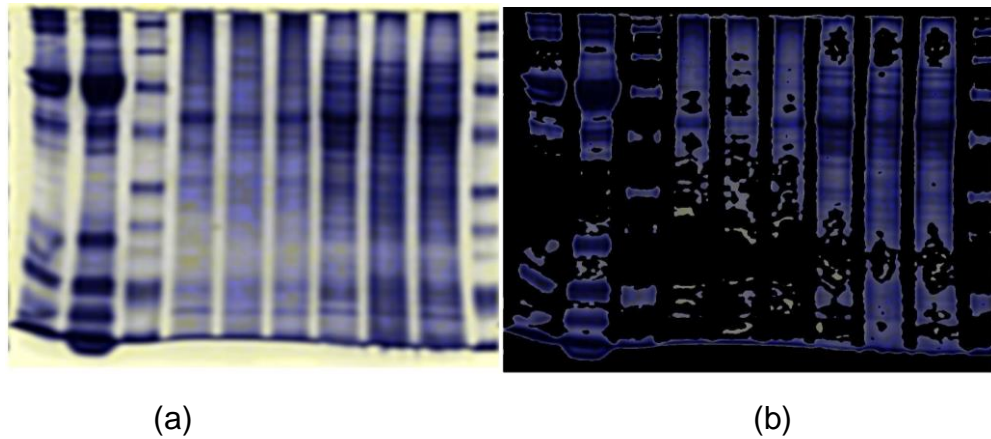


Figura 11. (a) Imagen de electroforesis en gel filtrada e (b) Imagen de electroforesis en gel segmentada.



Fuente. **Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular de la Facultad de Salud de la UIS.**

#### 4.4. LA IMPLEMENTACIÓN Y EL AJUSTE DEL ALGORITMO DE OPTIMIZACIÓN

Como resultado de la implementación del algoritmo de la luciérnaga virtual (FA), para la solución de las funciones de prueba estándar, se obtuvo que la mejor configuración de parámetros corresponde a un enjambre de 30 luciérnagas, a un número de iteraciones de 100, a los valores de  $\alpha, \beta_0$  y  $\gamma$  de 1, 0,5 y 0,001, respectivamente. Con estos parámetros, se resolvieron cada una de las funciones de prueba, obteniendo así los resultados que se muestran en la Tabla 3: Por último, se observó que los valores óptimos de las funciones objetivo hallados con FA, se encuentran  $3,05 \pm 5,77 \times 10^{-4}$  alejados de los valores teóricos reportados en la literatura.

Tabla 3. Resultados funciones. Fuente: autores

Función	Teórico		Encontrado		Diferencia
	$x^*$	$f(x^*)$	$x^*$	$f(x^*)$	
De Jong	[0; 0]	0	$[-2,2971; 1,8285] \times 10^{-3}$	$8,6093 \times 10^{-6}$	$8,61 \times 10^{-6}$
Híper elipsoide con ejes paralelos	[0; 0]	0	$[2,0566; 1,8432] \times 10^{-3}$	$11,0241 \times 10^{-6}$	$1,10 \times 10^{-6}$
Rosenbrock's valley	[1; 1]	0	[1,0134; 1,0262]	$242,8289 \times 10^{-6}$	$2,43 \times 10^{-6}$
Rastrigin	[0; 0]	0	$[-2,6585; -1,3117] \times 10^{-3}$	$1,7435 \times 10^{-3}$	$1,74 \times 10^{-3}$
Suma de diferencias de potencias	[0; 0]	0	$[2,2989; -0,3387] \times 10^{-3}$	$12,1888 \times 10^{-9}$	$12,22 \times 10^{-8}$
Michalewicz	[2,20; 1,57]	-1,8013	[2,2017; 1,5708]	-1,8013	0,00
Branin	$[-\pi; 12,275]$ [ $\pi; 2,257$ ]	0,397887	[9,4242; 2,4752]	0,3979	$1,3 \times 10^{-5}$

	[9,42478; 2,475]				
Goldstein-Price	[0; -1]	3	$[-1,5254; -1001,3] \times 10^{-3}$	3,0009	$9,00 \times 10^{-4}$
Six-Hump camel back	[-0,0898; 0,7126] [0,0898; - 0,7126]	-1,0316	[-0,0890; 0,7144]	-1,0316	0,00
Drop-Wave	[0; 0]	-1	[1,9026; 0,1187]	$-999,8683 \times 10^{-3}$	$1,32 \times 10^{-4}$

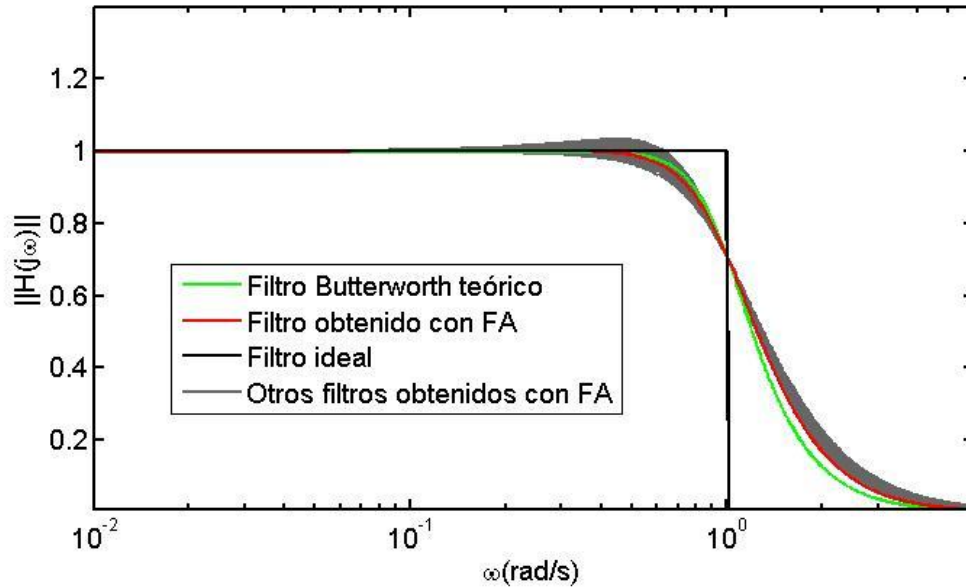
#### 4.5. EL DISEÑO DE UN FILTRO ÓPTIMO

Ahora bien, el diseño del filtro consistió en encontrar los coeficientes óptimos del mismo. Para ello se implementó FA en los filtros de orden tres y cinco, utilizando la función de error descrita en (17) como función objetivo a minimizar. Los resultados obtenidos durante esta etapa del trabajo de investigación se resumen a continuación, sin embargo, éstos se presentan con detalle en el ANEXO C.

En la Figura 12 se muestra la respuesta en frecuencia de los filtros de tercer orden, obtenidos con FA para el criterio de convergencia establecido (número máximo de iteraciones). En ésta también se presentan el filtro Butterworth teórico de orden tres con un error de 1,5209 (calculado con (17)) y el ideal. El filtro óptimo hallado con FA posee un error igual a 1,7215 (12% mayor que el Butterworth). Sin embargo, éste representa una buena aproximación para aplicaciones de filtrado, con coeficientes  $b_0 = 1,641354$ ,  $b_1 = 2,991167$  y  $b_2 = 2,821459$ .

Figura 12. Gráfica filtro Butterworth vs filtro luciérnaga virtual de orden 3.

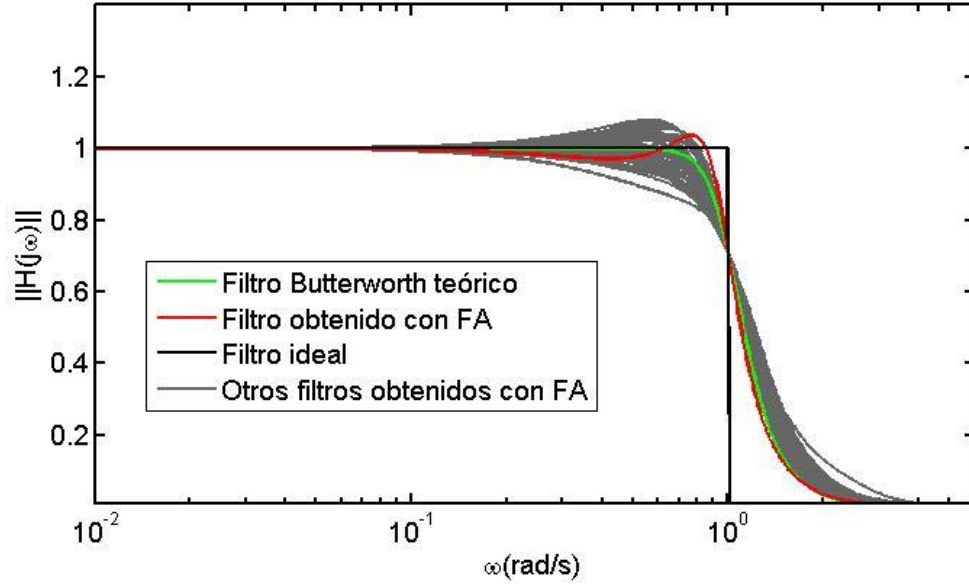
Fuente: autores



Adicionalmente, el filtro de quinto orden diseñado con FA manifestó una mejor aproximación al filtro ideal, con error igual a 0,9607, comparado con el Butterworth teórico de quinto orden con un error igual a 0,9859. Con lo anterior se puede decir que, el filtro óptimo de quinto orden hallado con FA es 3% mejor que el filtro Butterworth teórico del mismo orden. Los coeficientes que dan lugar al primer filtro son  $b_0 = 2,36547$ ,  $b_1 = 4,940368$ ,  $b_2 = 4,376182$ ,  $b_3 = 5,449433$ , y  $b_4 = 5,318874$ . Asimismo, como en el filtro de tercer orden, en la Figura 13 se muestra la respuesta en frecuencia de los filtros mencionados anteriormente.

Figura 13. Gráfica filtro Butterworth vs filtro luciérnaga virtual de orden 5.

Fuente: autores



Ahora bien, con base en el análisis anterior, se utilizó el filtro óptimo de quinto orden encontrado con FA para ser implementado en la imagen de electroforesis en gel. Para ello, su función de transferencia primero se convirtió del dominio de  $s$  en (19), al dominio de la frecuencia ( $j\omega$ ) en (20).

$$H(s) = \frac{2,36547}{s^5 + 5,318874s^4 + 5,449433s^3 + 4,376182s^2 + 4,940368s + 2,36547} \quad (19)$$

$$|H(j\omega)|^2 = \frac{5,59545 * (\omega^{10} + 17,3916 * \omega^8 - 6,97567\omega^6 - 9,53017\omega^4 + 3,70378\omega^2 + 5,59545)}{\omega^{10} + 17,3916 * \omega^8 - 6,975667 * \omega^6 - 9,53017\omega^4 + 3,70378\omega^2 + +5,59545} \quad (20)$$

Luego, se transformó en función de las frecuencias radiales de la imagen, siendo  $\omega = D(x, y)/D_0$  para ser aplicado a la imagen de estudio, como

$$H(x, y) = \frac{5,59545 * \left(\frac{D(x, y)}{D_0}\right)^{10} + 17,3916 * \frac{D(x, y)^8}{D_0} - 6,97567 \frac{D(x, y)^6}{D_0} - 9,53017 \frac{D(x, y)^4}{D_0} + 3,70378 \frac{D(x, y)^2}{D_0} + 5,59545}{\frac{D(x, y)^{10}}{D_0} + 17,3916 * \frac{D(x, y)^8}{D_0} - 6,975667 * \frac{D(x, y)^6}{D_0} - 9,53017 \frac{D(x, y)^4}{D_0} + 3,70378 \frac{D(x, y)^2}{D_0} + +5,59545} \quad (21)$$

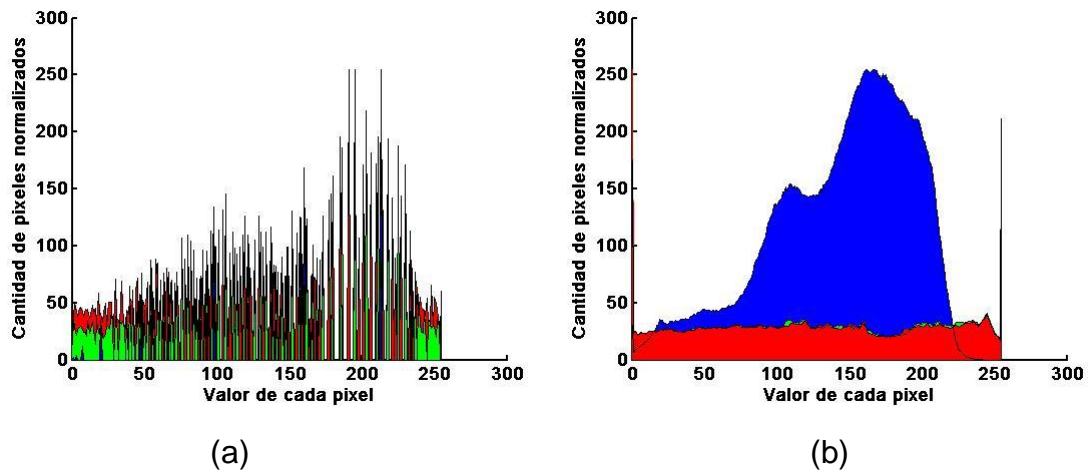
con la distancia  $D(x, y)$  y la distancia de corte  $D_0$ .

En la Figura 14 se presentan los histogramas RGB del contraste y la imagen filtrada. El filtro óptimo elimina adecuadamente los espacios generados en la mejora de

contraste de la etapa previa, ocasionando una distribución continua a lo largo del histograma, y produciendo un suavizado en las bandas características de la imagen de electroforesis en gel. Adicionalmente, no se encontraron diferencias sustanciales en la eliminación de las discontinuidades al comparar los histogramas RGB, obtenidos con el filtro Butterworth original (Figura 8.b) y con el filtro óptimo (Figura 14.b).

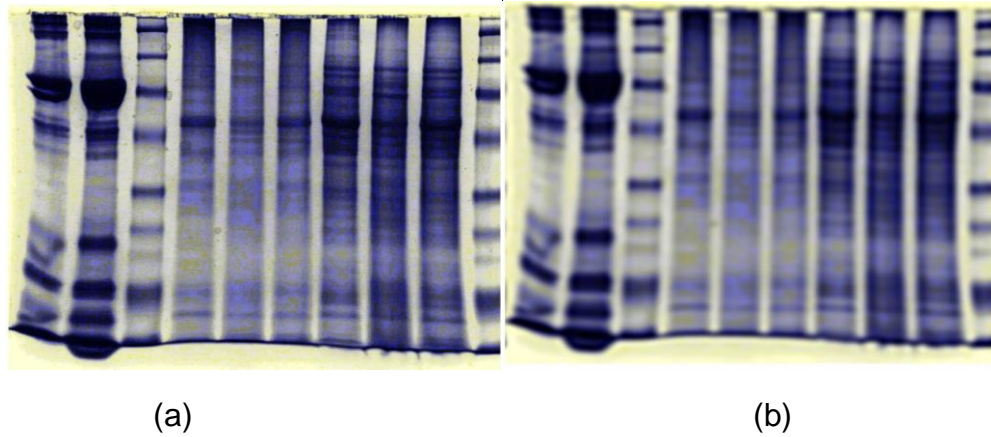
Figura 14. (a) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis con mejora de contraste e (b) Histogramas RGB de la imagen de electroforesis con filtrado óptimo.

Fuente: autores



Finalmente, se utilizó (21) para filtrar la imagen de electroforesis en gel, dando como resultado la Figura 15.

Figura 15. (a) Imagen de electroforesis en gel con mejora de contraste e (b) Imagen de electroforesis en gel con filtrado óptimo.






Fuente. **Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular de la Facultad de Salud de la UIS.**

#### **4.6. OPTIMIZACIÓN DE LA “UMBRALIZACIÓN” PARA EL SEGMENTADO**

Los resultados obtenidos durante esta etapa se resumen en la Tabla 4 (ver ANEXO D para más detalle). En ésta los umbrales obtenidos con el algoritmo de la luciérnaga virtual se encuentran en un rango adecuado, ya que ningún umbral separa el histograma de manera que se genere un conjunto vacío (Figura 16). Por tanto, se puede concluir que las imágenes quedan segmentadas de la mejor manera, al comparar los umbrales de la Tabla 4 con el histograma de la imagen original (Lenna), mostrado en la Figura 16.

Tabla 4. Umbrales óptimos según el algoritmo de la luciérnaga virtual.

Fuente: internet

Núm. de umbrales	Umbrales óptimos	Imagen segmentada
1	117	
2	90, 151	
3	77, 124, 165	

---

4            75, 110, 143, 175



5            75, 109, 137, 170, 198



6            61, 93, 114, 135, 163, 191



---

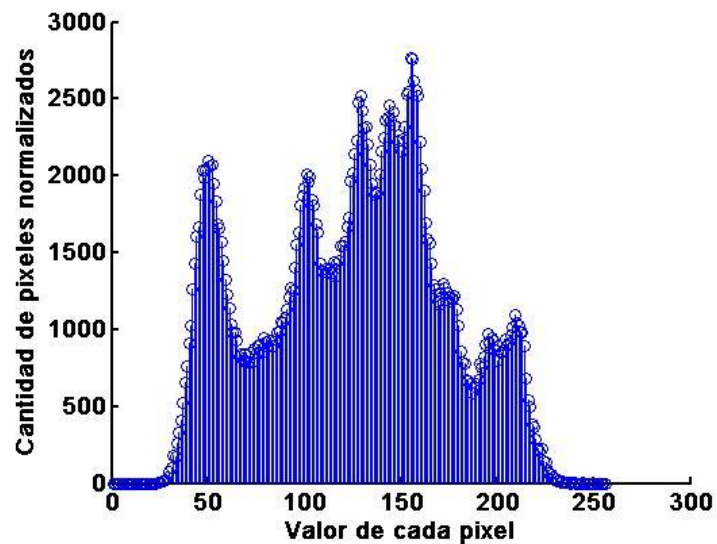
7

58, 86, 103, 122, 146, 162, 192



Figura 16. Histograma de la imagen de prueba, Lenna<sup>39</sup>, en escala de grises.

Fuente: autores



Seguidamente, se realizó el procedimiento descrito en la metodología para hallar los umbrales óptimos de la imagen de electroforesis en gel. En este caso, se empleó la capa G de la imagen en cuestión (Histograma), para comparar la umbralización óptima (determinada con FA) y los umbrales hallados con el método de Otsu tradicional. En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos por ambas técnicas.

---

<sup>39</sup> PRATT William, "A complete story of Lenna," 1997. [En línea]. Disponible en Internet: <http://www.ee.cityu.edu.hk/~lmpo/lenna/Lenna97.html>.

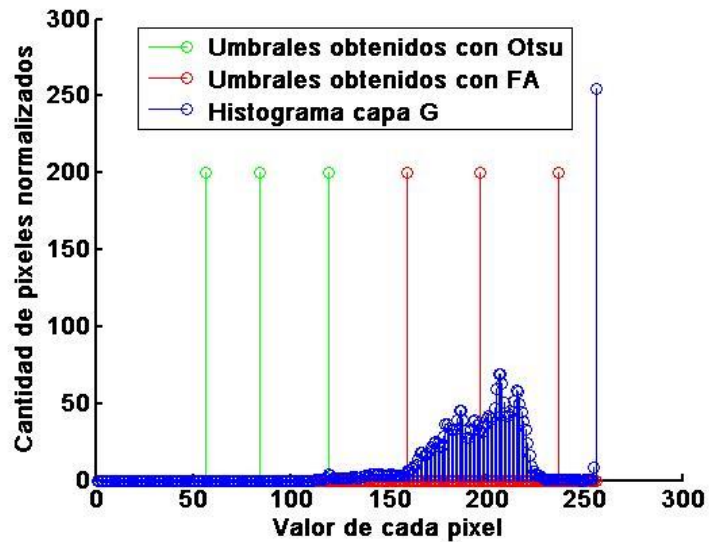
En ella, los tres umbrales generados por el método de Otsu se encuentran en la región de la izquierda (Figura 17), con sus tres primeros conjuntos de segmentación vacíos y en el último toda la distribución del histograma. Por tanto, el uso del último conjunto da como resultado una matriz del tamaño de la imagen con un único valor igual a 255. Por su parte, los umbrales generados con FA no presentan este problema, ya que al comparar los umbrales presentados en la Tabla 5 con el histograma de la Figura 17, se observa que su ubicación está en la región de la derecha, en donde se encuentra realmente la información de la capa G de la imagen.

Tabla 5. Comparación de umbrales Otsu y Luciérnaga virtual.

Fuente: autores

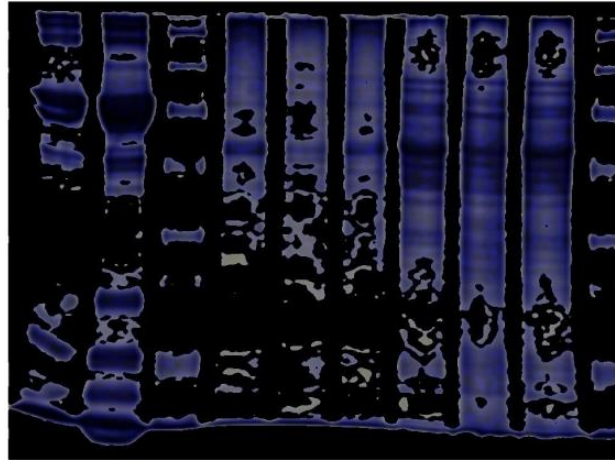
<b>Método</b>	<b>Umbral 1</b>	<b>Umbral 2</b>	<b>Umbral 3</b>
<b>Otsu</b>	56	84	119
<b>Luciérnaga Virtual</b>	159	197	237

Figura 17. Histograma de la capa G de la imagen de electroforesis



Finalmente, con los umbrales óptimos hallados con FA, se segmentó la imagen de electroforesis en gel, empleando el espacio de color HSV. En la Figura 18 se observa la imagen resultante. Ahora bien, con los conceptos de precisión y sensibilidad se determinó que la segmentación realizada con el método de Otsu, presenta una precisión de 44,98% y una sensibilidad de 87,26%. Con el método propuesto en este trabajo de grado, utilizando FA, se llega a una precisión de 45,88% y una sensibilidad de 88,66%. Por lo que se concluye que, al emplear el algoritmo de la luciérnaga virtual se logra una umbralización más eficiente que la determinada con el método de Otsu.

Figura 18. Imagen de electroforesis con segmentado optimizado.



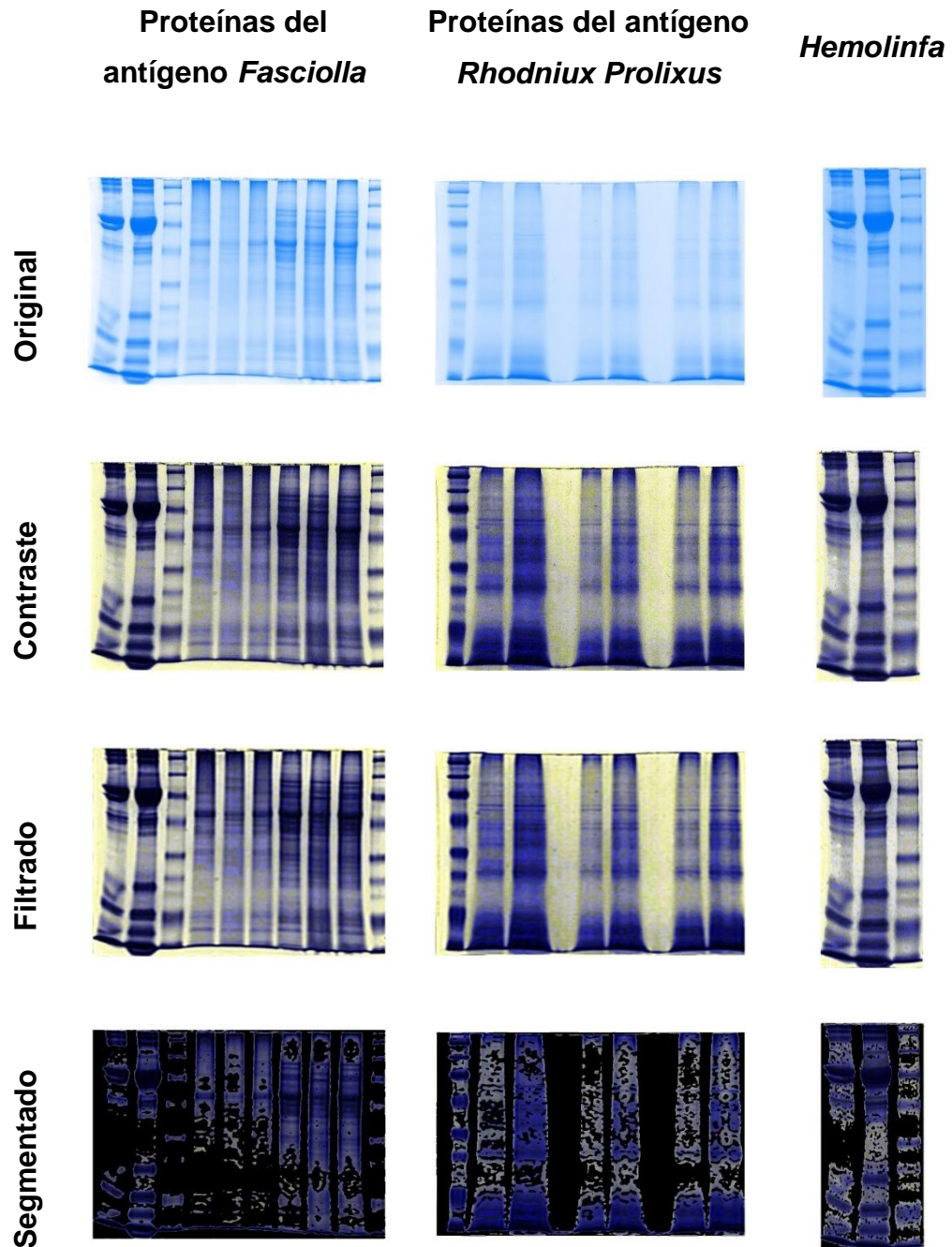
Fuente. **Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular de la Facultad de Salud de la UIS.**

#### **4.7. RESULTADOS OBTENIDOS PARA IMÁGENES DE ELECTROFORESIS EN GEL**

Como complemento de lo anterior, en la

Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos en cada una de las etapas llevadas a cabo durante esta investigación. Para esto, se emplearon las imágenes de electroforesis en gel de una dimensión de las proteínas de los antígenos ***Fasciola***, ***Rhodniux Prolixus***, y de ***Hemolinf***.

Tabla 6. Resultados de las etapas del procesamiento de las imágenes de electroforesis en gel de agarosa de *Hemolinf*, de las proteínas del antígeno *Fasciola* y de *Rhodniux Prolixus*.



Fuente. Grupo de Inmunología y Epidemiología Molecular de la Facultad de Salud de la UIS.

## 5. CONCLUSIONES

- Se cumplieron satisfactoriamente todos los objetivos académicos aprobados en el plan de trabajo de grado. De igual manera, se cumplieron los objetivos planteados dentro del proyecto global de investigación del grupo CEMOS a que hace parte este trabajo de grado.
- La implementación del algoritmo de la luciérnaga virtual demostró ser una alternativa válida y poderosa, tanto para el diseño de filtros como para mejorar la técnica de segmentación de Otsu. Con éste, se obtuvo un filtro óptimo de tercer orden con 12% más de error, y uno de quinto orden con 3% menos de error, con respecto al filtro Butterworth teórico de los mismos órdenes. Además, en el caso de la segmentación, se logró una precisión y una sensibilidad mayor (de 0,9% y de 1,4%, respectivamente) a las alcanzadas con el método de Otsu tradicional.
- A pesar de que el filtro óptimo obtenido con el algoritmo de la luciérnaga virtual mostró una respuesta visual similar a la de cualquier otro filtro, su pendiente se acercó significativamente más a la ideal, con  $|H(j\omega)|$  igual a 0,707 en su frecuencia de corte comparado con el filtro Butterworth.
- Se mejoró la segmentación en las imágenes de electroforesis en gel de una dimensión, utilizando la técnica de detección de objetos por segmentación multinivel, combinada con los espacios de color y, en conjunto, con la selección óptima de umbrales dados por el algoritmo de la luciérnaga virtual.

## BIBLIOGRAFÍA

ATIENZA VANACLOING Vicente. El histograma de una imagen digital [En línea]. Universidad politecnica de valencia 2011. [Valencia, España]. UPV 2011. [ Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet:

<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12711/El%20histograma%20una%20imagen%20digital.pdf?sequence=1>

BAJLA Ivan, HOLLANDER Igor, BURG Kornel. Improvement of electrophoretic gel image analysis". [En línea] Austrian Research Centers Seibersdorf [Bratislava, Slovak Republic] Measurement science review, 2001 [citado 23 Sep. 2014] disponible en Internet:

<http://www.measurement.sk/Papers3/Bajla.pdf>

ENGIN AYTEN Umut, ACAR VURAL Revna, YILDIRIM Tulay. "Low-pass filter approximation with evolutionary techniques". [en línea] Department of Electronics and Communication Engineering Yildiz Technical University Besiktas [Istanbul, Turkey]. ELECO, 2011. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet:

[http://www.emo.org.tr/ekler/8f9f98ae2905e38\\_ek.pdf](http://www.emo.org.tr/ekler/8f9f98ae2905e38_ek.pdf)

ESCALANTE RAMÍREZ Boris. Procesamiento digital de imágenes [En línea]. UNAM facultad de ingeniería, division de ingeniería electrica 2006. [Mexico D.F., Mexico]. UNAM 2006. [Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://verona.fi-p.unam.mx/boris/teachingnotes/Introduccion.pdf>

GARCÍA PÉREZ.Hilda Marilín. Electroforesis en geles de poliacrilamida: fundamentos, actualidad e importancia [En línea]. Biblioteca virtual en salud de Cuba [Ciudad de La Habana, Cuba] Universo Diagnóstico, 2000 [Citado 7 Nov. 2014] disponible en Internet:

[http://bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1\\_2\\_00/uni07200.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1_2_00/uni07200.htm)

GIL VÁZQUEZ, Pablo y otros. "Detección de objetos por segmentación multinivel combinada de espacios de color". [en línea] Universidad de Alicante. Departamento de Física, Ingeniería de Sistemas y Teoría de la Señal. [Alicante, España]. Federación Internacional de Automatización. Comité Español de Automática, 2004. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet:

<http://core.ac.uk/display/16356075>

HASSANZADEH Tahereh, VOJODI Hakimeh, MOGHADAM AME. "An image segmentation approach based on maximum variance intra-cluster method and firefly algorithm" [En línea]. Natural Computation (ICNC), 2011 [Qazvin, Iran]. IEEE 2011.[ Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet:

<http://ieeexplore.ieee.org/stamp/stamp.jsp?tp=&arnumber=6022379>

LEAL Esmeide, LEAL Nallig. Automatización de la Prueba HLA Mediante Análisis de Imágenesde Gel de Electroforesis Empleando Visión Artificial [En línea]. Revista Prospectiva de la facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma del Caribe [Barranquilla, Colombia] prospectiva, 2010 [Citado 7 Nov. 2014] disponible en Internet:

[http://www.uac.edu.co/images/stories/publicaciones/revistas\\_cientificas/prospectiva/volumen-8-no-1/articulo2-v8n1.pdf](http://www.uac.edu.co/images/stories/publicaciones/revistas_cientificas/prospectiva/volumen-8-no-1/articulo2-v8n1.pdf)

NIJMEIJER Raymond. procesamiento de imagenes in Ilwis 3.0 Academic User`s Guide. [En línea] Faculty of Geo-Information Science and Earth Observation of the University of Twente [Enschede, The Netherlands]. ITC-ILWIS,2001. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://www.itc.nl/external/unesco-rapca/Casos%20de%20estudios%20SIG/02%20Sensores%20remotos/sensores%20remotos.pdf>

PADILLA PEÑA, Carmen Alicia y Otros. Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico [En línea]. Universidad de Cordoba, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular [Córdoba, España] UCO, 2011 [Citado 7 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/17%20ELECTROFORESIS%20ACS%20NUCLEICOS%20GELES%20AGAROSA.pdf>

QUERCI Maddalena. “Análisis de la presencia de organismos genéticamente modificados en muestras de alimentos”. Sesión 5. Electroforesis en gel de agarosa. [En línea] European commission. European union reference laboratory for GM food and feed. [ Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20ES/User%20Manual%20ES%20full.pdf>

RUBIO LARGO Álvaro y otros. “Algoritmo multiobjetivo inspirado en el comportamiento de las luciérnagas para resolver el problema RWA”. [En línea]. Actas del VIII Congreso Español sobre Metaheurísticas, Algoritmos Evolutivos y Bioinspirados, 2012 [Albacete, España]. Actas del VIII Congreso Español sobre Metaheurísticas. [ Citado 20 Nov. 2014] Disponible en Internet: [http://www.congresomaeb2012.uclm.es/papers/paper\\_7.pdf](http://www.congresomaeb2012.uclm.es/papers/paper_7.pdf)

TOVAR FRANCO, Jairo Alfonso. Biología Celular. Programa de Postgrado. Cursos Básicos. Modulos 1 y 2. Electroforesis, [en línea] Pontificia Universidad Javeriana 1998.  
TRIGOS GUEVARA William Javier, MEZA GARCÍA, Ángel Gabriel, “Solución numérica del modelo no lineal de un circuito en condiciones DC, haciendo uso de la meta heurística UPSO en arquitecturas híbridas,” Universidad Industrial de Santander, 2013.

YANG, Xin-She. “Firefly algorithm, Lévy flights and global optimization”. In: Research and Development in Intelligent Systems XXVI. Incorporating Applications and Innovations in Intelligent Systems. [en línea] Springer, 2010. [ Cambridge, UK] ARXIB ORG. Cornell University, 2010. [citado 14 Nov. 2014] disponible en Internet: <http://arxiv.org/pdf/1003.1464.pdf>

## ANEXOS

### ANEXO A. Implementación y ajuste del algoritmo de la luciérnaga virtual

La tabla final de la tasa de convergencia ( $TC$ ) para las 100 iteraciones de los parámetros población,  $\alpha$ ,  $\beta_0$  y  $\gamma$ , se muestra a continuación.

Tabla A.1. Parámetros  $\alpha$ ,  $\beta_0$  y  $\gamma$  con su  $TC$ .

Población	$\alpha$	$\beta_0$	$\gamma$	$TC$	Población	$\alpha$	$\beta_0$	$\gamma$	$TC$
30	1	0,5	0,01	0,998	15	1	0,1	0,1	0,83
30	1	0,5	0,1	0,998	15	0,1	0,5	0,05	0,828
30	1	1	0,01	0,996	30	0,1	1	0,1	0,822
30	1	0,5	0,05	0,996	15	0,1	0,5	0,01	0,818
30	1	1	0,1	0,996	15	0,1	0,1	0,05	0,818
30	1	1	0,5	0,996	30	0,1	1	0,05	0,816
30	1	0,5	0,5	0,994	30	0,1	1	0,5	0,81
30	1	1	0,05	0,992	10	0,1	0,5	0,01	0,808
30	1	0,1	0,01	0,962	10	1	0,5	0,5	0,808
30	1	0,1	0,1	0,956	10	0,1	0,1	0,01	0,8
30	1	0,1	0,05	0,952	10	1	0,1	0,01	0,78
15	1	1	0,05	0,94	15	0,1	1	0,05	0,78
15	1	0,5	0,05	0,938	15	0,1	0,5	0,1	0,78
15	1	0,5	0,01	0,934	30	0,1	1	0,01	0,776
30	0,1	0,1	0,01	0,932	15	0,1	1	0,1	0,772
15	1	1	0,01	0,926	15	0,1	0,1	0,1	0,766
15	1	1	0,5	0,926	10	0,1	0,5	0,05	0,762
30	0,1	0,1	0,05	0,924	30	0,1	0,5	0,5	0,758
15	1	0,5	0,1	0,924	10	0,1	1	0,05	0,758
15	1	1	0,1	0,916	10	1	0,1	0,05	0,754
15	1	0,5	0,5	0,912	10	0,1	1	0,1	0,75
10	1	0,5	0,01	0,89	10	0,1	0,1	0,05	0,744
10	1	0,5	0,1	0,886	30	0,1	0,1	0,5	0,732
30	0,1	0,5	0,01	0,878	15	0,1	1	0,01	0,73
30	0,1	0,1	0,1	0,874	10	1	0,1	0,1	0,72
15	0,1	0,1	0,01	0,868	10	0,1	1	0,01	0,718
10	1	1	0,5	0,862	10	0,1	0,5	0,1	0,718
10	1	1	0,01	0,858	10	0,1	0,1	0,1	0,712
10	1	1	0,1	0,858	15	0,1	1	0,5	0,712
30	1	0,1	0,5	0,858	15	1	0,1	0,5	0,696
30	0,1	0,5	0,1	0,856	15	0,1	0,5	0,5	0,688

15	1	0,1	0,01	0,848	10	0,1	1	0,5	0,66
10	1	0,5	0,05	0,848	15	0,1	0,1	0,5	0,656
30	0,1	0,5	0,05	0,844	10	0,1	0,5	0,5	0,654
15	1	0,1	0,05	0,84	10	1	0,1	0,5	0,578
10	1	1	0,05	0,84	10	0,1	0,1	0,5	0,514

## ANEXO B. Ejecución del algoritmo de la luciérnaga virtual

### B.1. FUNCIÓN DE JONG

$$f(x) = \sum_{i=1}^n x_i^2 \quad (1)$$

La función De Jong posee un mínimo global en  $f(x) = 0$  cuando su posición es  $x = 0$ , para  $n$  dimensiones, y su dominio de búsqueda está dado por el hiper cubo entre  $-5,12$  y  $5,12$ . La mejor solución en la iteración 100 es de  $x_1 = -2,2971 \times 10^{-3}$  y  $x_2 = -1,8285 \times 10^{-3}$ , con un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = 8,6093 \times 10^{-6}$

Figura 2. Gráfica de la función De Jong para dos dimensiones.

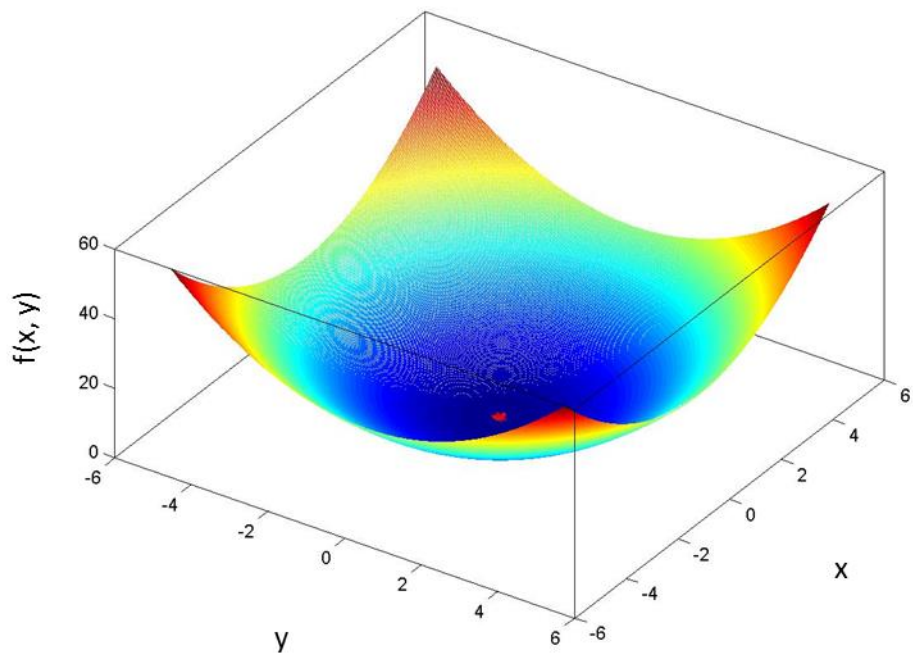
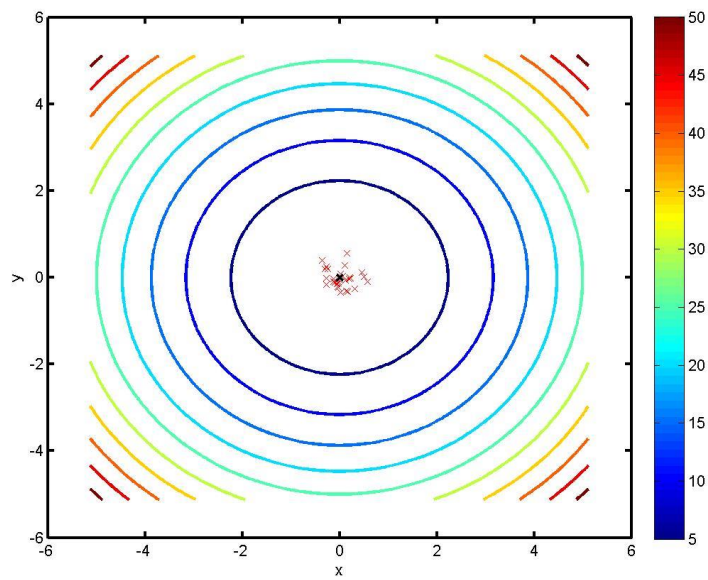


Figura 3. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



## B.2. FUNCIÓN HÍPER ELIPSOIDE CON EJES PARALELOS

$$f(x) = \sum_{i=1}^n (i * x_i^2) \quad (2)$$

La función del híper elipsoide posee un mínimo global en  $f(x) = 0$  cuando su posición es  $x = 0$ , y su rango de búsqueda está dado por el híper cubo entre  $-5,12$  y  $5,12$ . La mejor solución en la iteración 100 es de  $x_1 = 2,0566x10^{-3}$  y  $x_2 = 1,8432x10^{-3}$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = 11,0241x10^{-6}$ .

Figura 4. Gráfica de la función híper elipsoide con ejes paralelos para dos dimensiones.

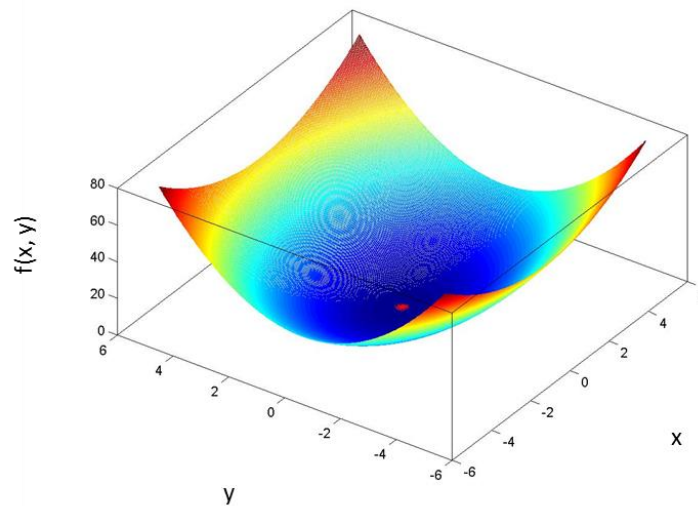
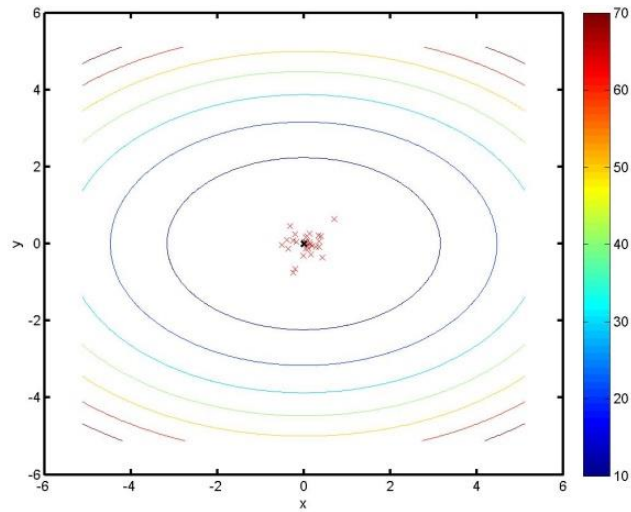


Figura 5. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



### B.3. FUNCIÓN ROSENBROCK'S VALLEY

$$f(x) = \sum_{i=1}^{n-1} [100(x_{i+1} - x_i^2)^2 + (1 - x_i)^2] \quad (3)$$

La función de Rosenbrock's posee un mínimo global en  $f(x) = 0$  cuando su posición es  $x = 0$  y su rango de búsqueda está dado por el hiper cubo entre  $-2,048$  y  $2,048$ . La mejor solución en la iteración 100 es de  $x_1 = 1,0134$  y  $x_2 = 1,0262$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = 242,8289 \times 10^{-6}$ .

Figura 6. Gráfica de la función Rosenbrock's valley para dos dimensiones.

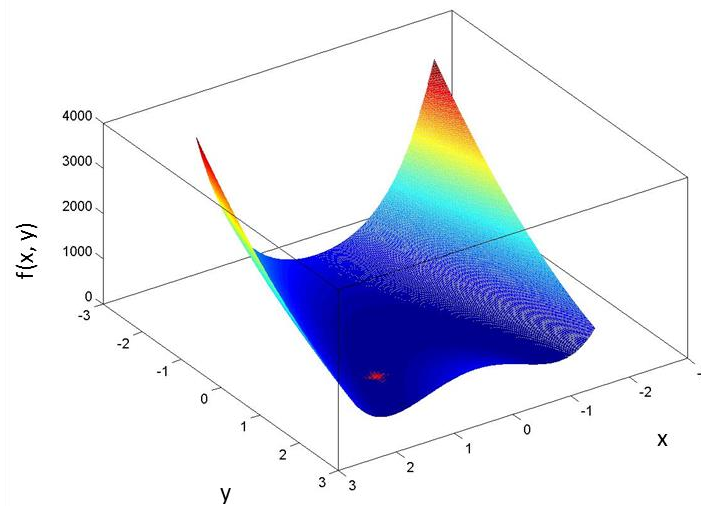
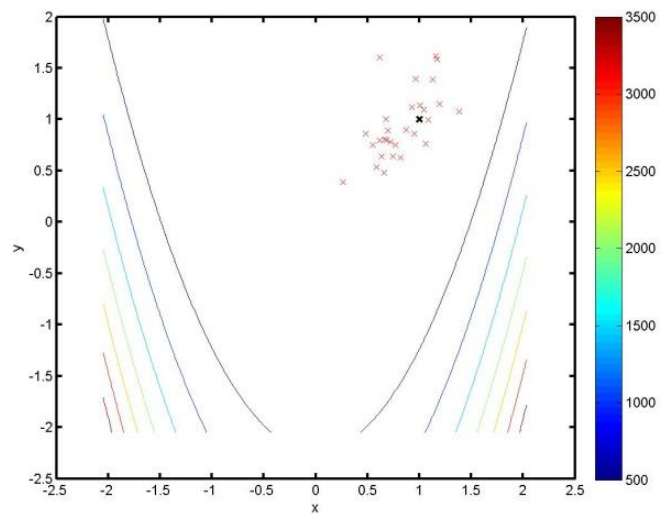


Figura 7. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



#### B.4. FUNCIÓN RASTRIGIN

$$f(x) = 10n + \sum_{i=1}^n [x_i^2 - 10 \cos(2\pi x_i)] \quad (4)$$

La función del Rastrigin posee un mínimo global en  $f(x) = 0$  cuando su posición es  $x = 0$ , pero también tiene muchos mínimos globales cercanos a  $f(x) = 0$ , su rango

de búsqueda está dado por el hiper cubo entre  $-5,12$  y  $5,12$ . La mejor solución en la iteración 100 es de  $x_1 = -2,6585 \times 10^{-3}$  y  $x_2 = -1,3117 \times 10^{-3}$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = 1,7435 \times 10^{-3}$ .

Figura 8. Gráfica de la función Rastrigin para dos dimensiones.

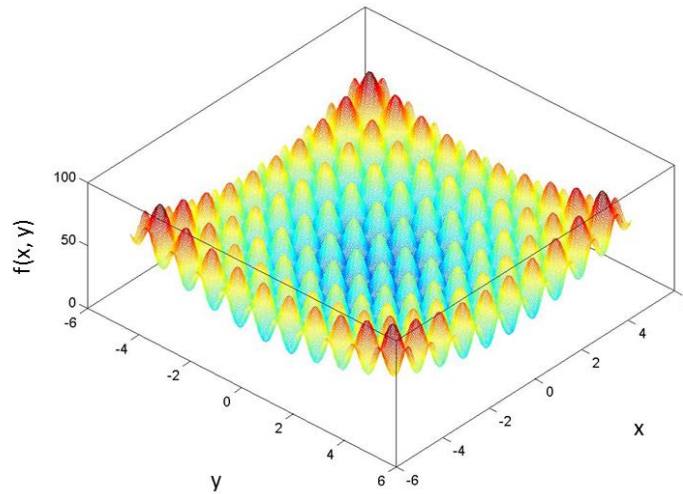
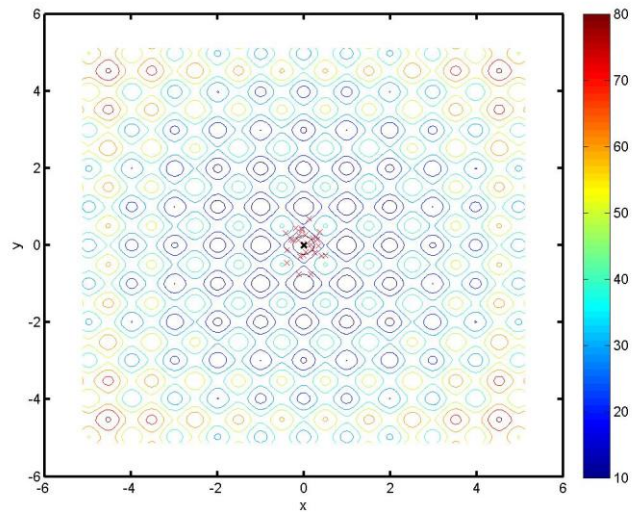


Figura 9. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para tres dimensiones.



## B.5. FUNCIÓN SUMA DE DIFERENCIAS DE POTENCIAS

$$f(x) = \sum_{i=1}^n |x_i|^{i+1} \quad (5)$$

La función de la suma de diferencias de potencias posee un mínimo global en  $f(x) = 0$  cuando su posición es  $x = 0$  pero su rango está dado por el hiper cubo entre  $-1$  y  $1$ . La mejor solución en la iteración 100 es de  $x_1 = 2,2989x10^{-3}$  y  $x_2 = -338,7019x10^{-6}$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = 12,1888x10^{-9}$ .

Figura 10. Gráfica de la función Suma de diferencias de potencias para dos dimensiones.

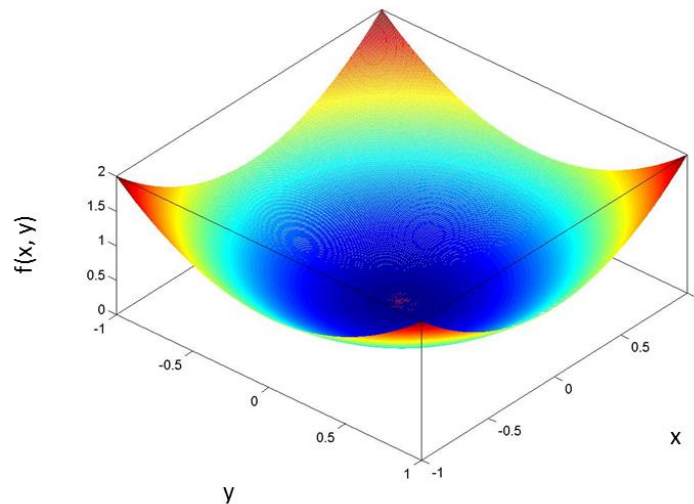
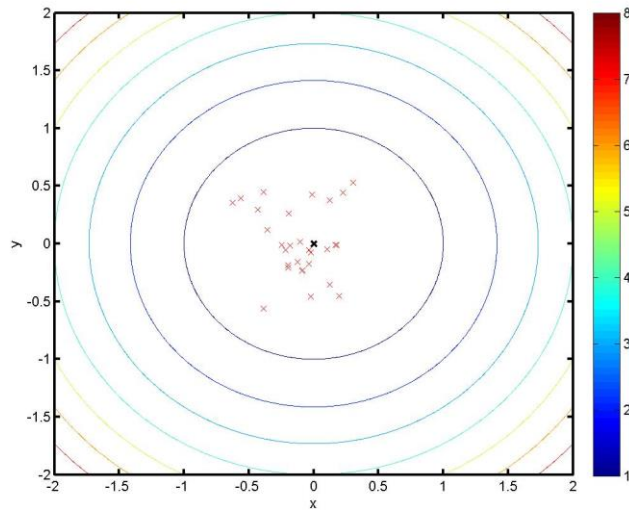


Figura 11. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



## B.6. FUNCIÓN MICHALEWICZ

$$f(x) = - \sum_{i=1}^n \sin(x_i) \left[ \sin \frac{ix_i^2}{\pi} \right]^{2m} \quad (6)$$

La función de Michalewicz posee un mínimo global en  $f(x) = -1.801$  cuando su posición es  $x = (2.20, 1.57)$  y para un  $m = 1$ , su rango está dado por el hiper cubo entre 0 y  $\pi$ . La mejor solución en la iteración 100 es de  $x_1 = 2,2017$  y  $x_2 = 1,5708$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = -1,8013$ .

Figura 12. Gráfica de la función Michalewicz para dos dimensiones.

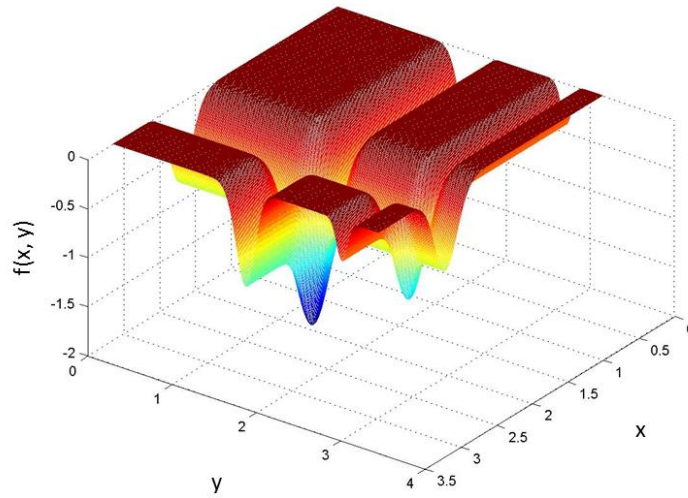
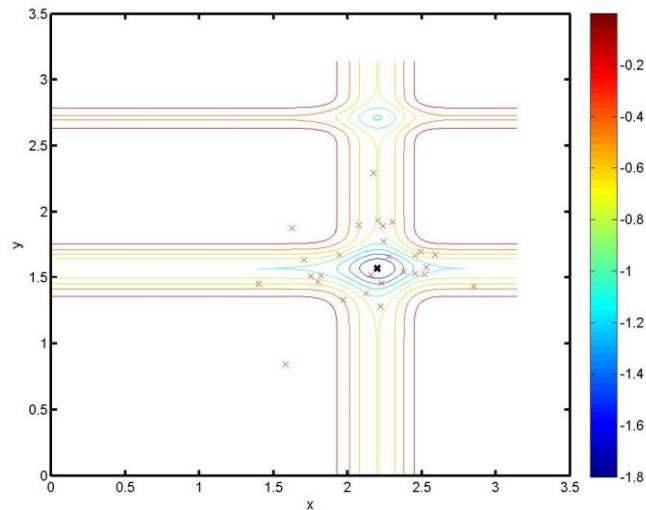


Figura 13. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



## B.7. FUNCIÓN BRANIN

$$f(x_1, x_2) = a(x_2 - bx_1^2 + cx_1 - d)^2 + e(1 - f) \cos(x_1) + e \quad (7)$$

La función Branin posee un mínimo global en  $f(x) = 0,397887$ , cuando su posición es  $x = (-\pi; 12,275)$  o  $x = (\pi; 2,275)$ , sus parámetros propios de prueba son de  $a =$

1,  $b = \frac{5,1}{4\pi^2}$ ,  $c = \frac{5}{\pi}$ ,  $d = 6$ ,  $e = 10$  y  $f = \frac{1}{8\pi}$ , su rango está dado por el hiper cubo entre  $-5$  y  $15$ . La mejor solución en la iteración 100 nos dio la solución particular de  $x_1 = 9,4242$  y  $x_2 = 2,4752$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = 0,3979$ .

Figura 14. Gráfica de la función Branin para dos dimensiones.

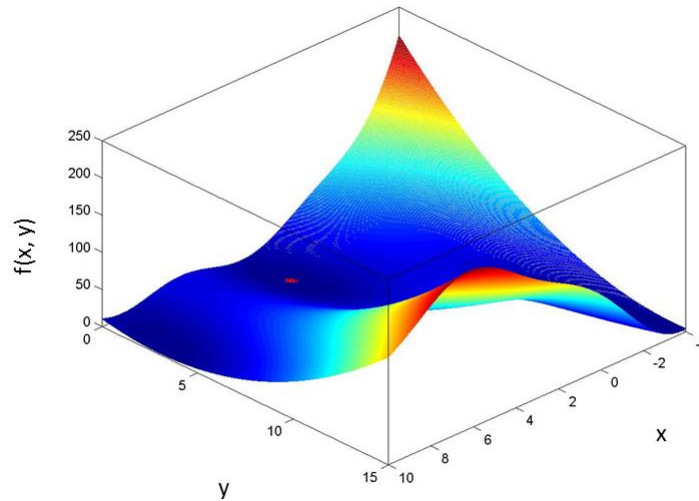
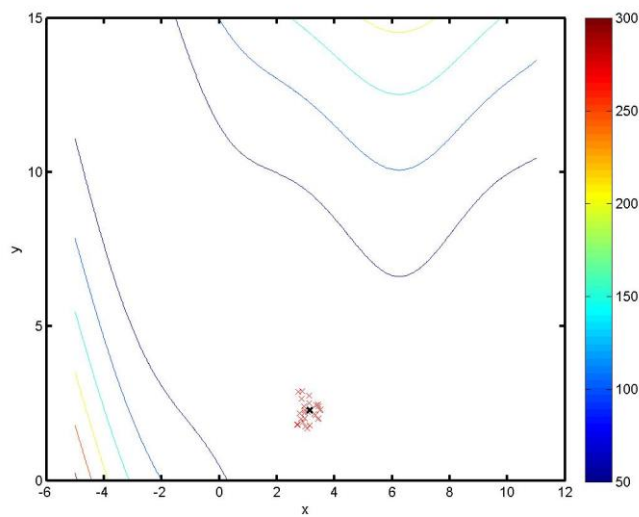


Figura 15. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



## B.8. FUNCIÓN GOLDSTEIN-PRICE

$$f(x_1, x_2) = [1 + (x_1 + x_2 + 1)^2(19 - 14x_1 + 3x_1^2 - 14x_2 + 6x_1x_2 + 2x_2^2)] \quad (8) \\ * [30 + (2x_1 - 3x_2)^2(18 - 32x_1 + 12x_1^2 + 48x_2 - 36x_1x_2 \\ + 27x_2^2)]$$

La función Goldstein-Price posee un mínimo global en  $f(x) = 3$ , cuando su posición es  $x = (0, -1)$ ; su rango está dado por el hiper cubo entre  $-2$  y  $2$ . La mejor solución en la iteración 100 es de  $x_1 = -1,5254 \times 10^{-3}$  y  $x_2 = -1,0013$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = 3,0009$ .

Figura 16. Gráfica de la función Goldsteins-Price para dos dimensiones.

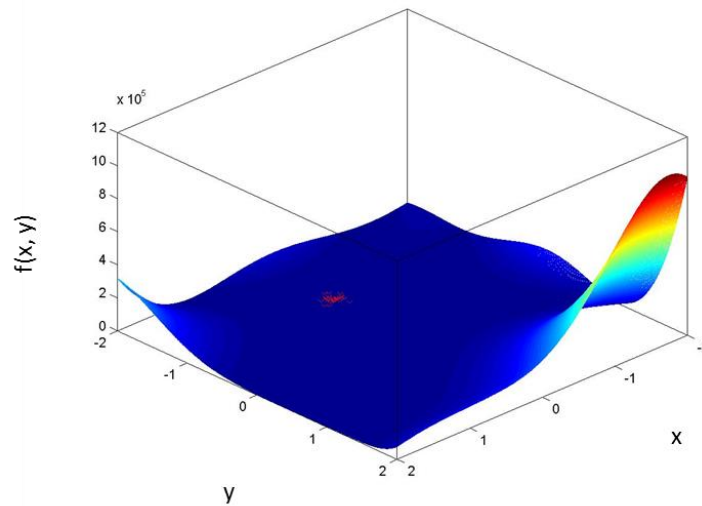
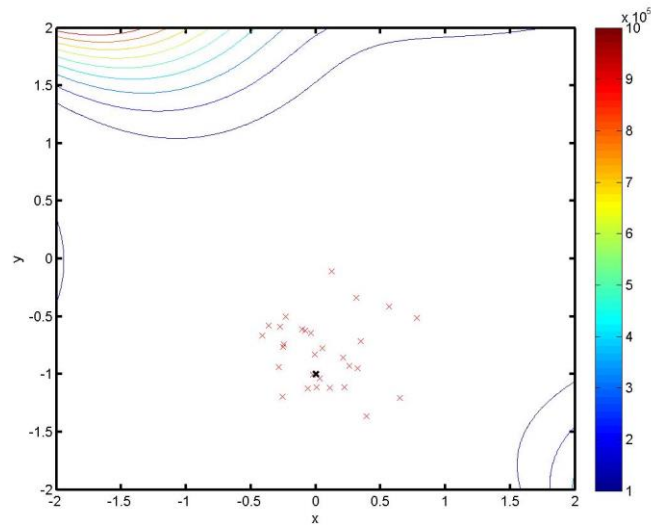


Figura 17. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



### B.9. FUNCIÓN SIX-HUMP CAMEL BACK

$$f(x_1, x_2) = \left(4 - 2.1x_1^2 + \frac{x_1^4}{3}\right)x_1^2 + x_1x_2 + (-4 + 4x_2^2)x_2^2 \quad (9)$$

La función Six-hump camel back posee un mínimo global en  $f(x) = -1,0316$ , cuando su posición es  $x_1 = -0,0890$  y  $x_2 = 0,7144$ , su rango está dado por el hiper cubo entre  $-3$  y  $3$ . La mejor solución en la iteración 100 nos dio la solución particular de  $x_1 = -0,0890$  y  $x_2 = 0,7144$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = -1,0316$ .

Figura 18. Gráfica de la función Six-hump para dos dimensiones.

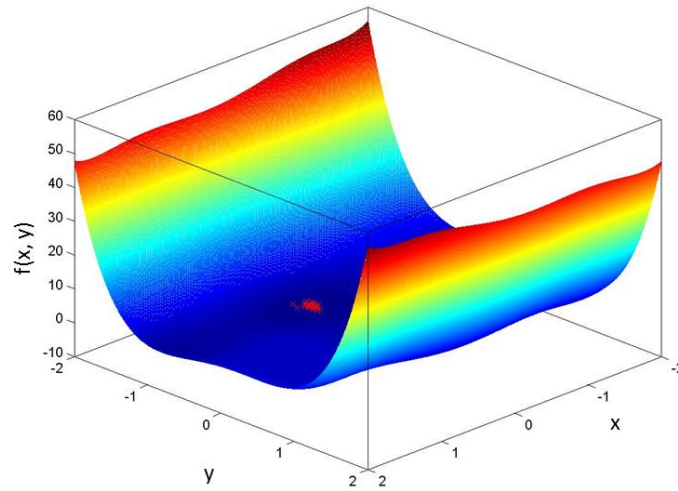
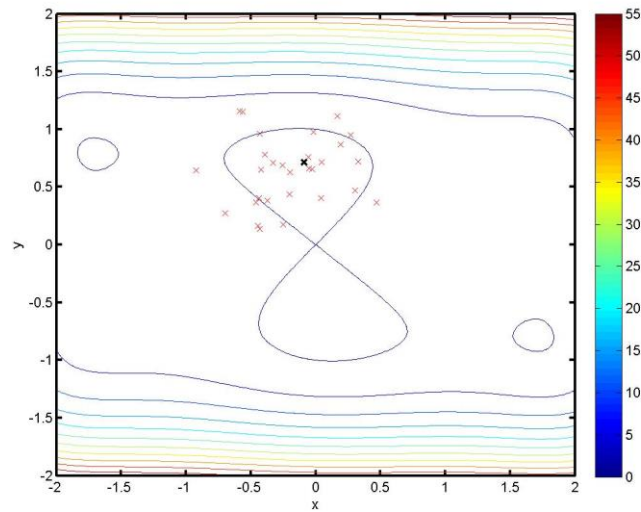


Figura 19. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



## B.10. FUNCIÓN DROP-WAVE

$$f(x_1, x_2) = -\frac{1 + \cos(12\sqrt{x_1^2 + x_2^2})}{\frac{1}{2}(x_1^2 + x_2^2) + 2} \quad (10)$$

La función Drop-wave posee un mínimo global en  $f(x) = -1$ , cuando su posición es  $x = (0,0)$ , su rango está dado por el hiper cubo entre  $-5,12$  y  $5,12$ . La mejor solución en la iteración 100 es de  $x_1 = 1,9026x10^{-3}$  y  $x_2 = 118,7744x10^{-6}$ , dándonos un mínimo local de  $f(x_1, x_2) = -999,8683x10^{-3}$ .

Figura 20. Gráfica de la función Drop-wave para dos dimensiones.

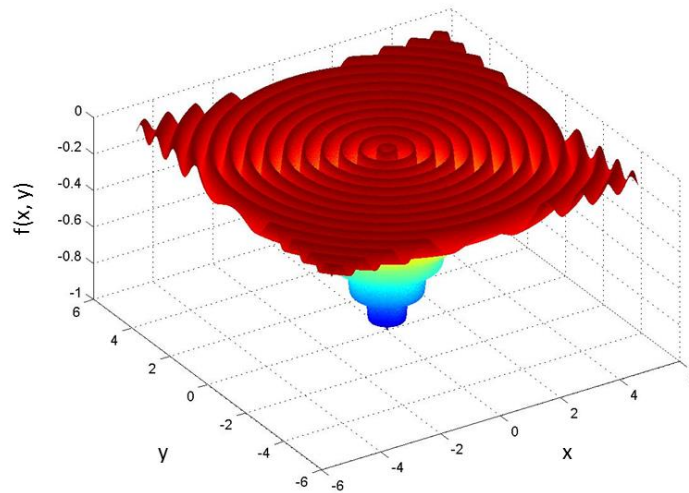
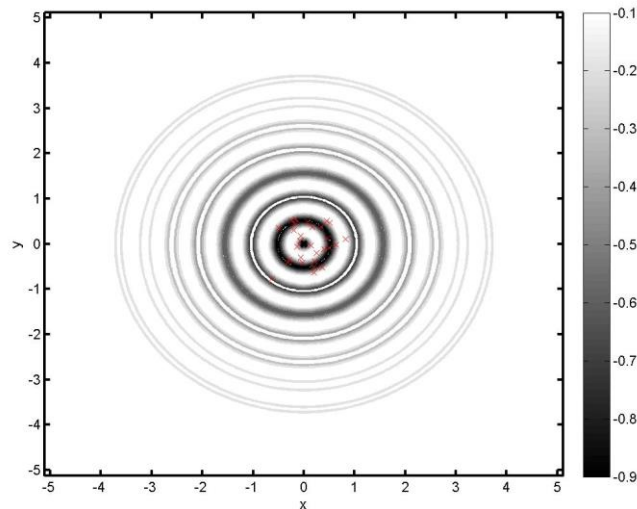


Figura 21. Gráfica de convergencia de las luciérnagas para dos dimensiones.



## ANEXO C. Diseño de filtros óptimos

Tablas prueba de los diferentes coeficientes de los filtros optimizados de orden 3 y orden 5. El filtro orden 3 se diseñó con una población de 30 luciérnagas, un número de iteraciones iguales a 100, un  $\alpha = 1$ , un  $\beta_0 = 0.5$  y un  $\gamma = 0,01$

Tabla 2. Coeficientes filtro orden 3.

Coef. 1	Coef. 2	Coef. 3	Error	Coef. 1	Coef. 2	Coef. 3	Error
4,40006065	6,898220478	6,376302011	1,88E+00	4,180326164	6,76350226	5,494516024	1,90E+00
4,129983609	6,519805801	6,033593314	1,88E+00	3,047377169	4,90132136	4,873605271	1,86E+00
3,61004029	5,890214442	5,019947804	1,89E+00	2,889091041	4,837428507	4,287547305	1,84E+00
2,273139512	3,904510859	3,644926883	1,80E+00	4,138888507	6,624104117	5,728789743	1,89E+00
5,063517588	7,943628542	6,759791299	1,90E+00	3,543554404	5,664436914	5,35007961	1,87E+00
3,336349652	5,474891942	4,794399595	1,87E+00	3,014141026	4,986838423	4,506879451	1,85E+00
3,318789953	5,432339468	4,8099013	1,87E+00	4,195620531	6,552730515	6,289378965	1,88E+00
3,518306324	5,755946459	4,955366244	1,87E+00	3,034973787	4,977319924	4,645992204	1,85E+00
2,872924038	4,758395453	4,392177032	1,85E+00	2,164079864	3,758769212	3,486027123	1,79E+00
4,704184296	7,281399627	6,842743444	1,89E+00	3,755965841	6,024866023	5,466582565	1,87E+00
2,870038838	4,762111731	4,378664158	1,84E+00	2,71142396	4,65757556	3,860138431	1,85E+00
3,759842684	5,940374734	5,711360656	1,87E+00	3,58796351	5,694538778	5,474523383	1,88E+00
3,653422898	5,935283478	5,123044829	1,89E+00	3,653422898	5,935283478	5,123044829	1,89E+00
2,998869979	4,851247406	4,763003087	1,86E+00	2,239675994	3,800762248	3,717767849	1,80E+00
2,561950672	4,331112142	3,974990786	1,83E+00	5,063517588	7,943628542	6,759791299	1,90E+00
3,803651671	6,122763168	5,445363942	1,87E+00	2,929840769	4,761430674	4,667712969	1,85E+00
1,542346917	2,890943671	2,612065346	1,70E+00	3,145695312	5,15120003	4,721160259	1,86E+00
2,158100146	3,684424501	3,596467497	1,80E+00	2,788490036	4,61339508	4,357367315	1,84E+00
4,373821835	6,923108616	6,111281662	1,89E+00	1,641353777	2,991167276	2,821459282	1,72E+00
2,534619399	4,205798311	4,107206037	1,84E+00	4,049045583	6,428778158	5,85796122	1,88E+00
3,530645207	5,800135109	4,863170351	1,88E+00	2,884780071	4,823521271	4,282306461	1,85E+00
1,666259674	3,073772011	2,781034806	1,71E+00	4,563634167	7,28049036	5,97339977	1,91E+00
2,534619399	4,205798311	4,107206037	1,84E+00	2,788490036	4,61339508	4,357367315	1,84E+00
2,239675994	3,800762248	3,717767849	1,80E+00	3,753447152	6,013150311	5,497273075	1,87E+00
5,128450584	7,941413459	7,194561219	1,89E+00	3,797387642	5,986846913	5,758087903	1,88E+00

El filtro orden 5 se diseñó con una población de 30 luciérnagas, un número de iteraciones iguales a 100, un  $\alpha = 1$ , un  $\beta_0 = 0.5$  y un  $\gamma = 0,01$

Tabla 3. Coeficientes filtro orden 5

Coeficiente 1	Coeficiente 2	Coeficiente 3	Coeficiente 4	Coeficiente 5	Error
8,022344	8,582664	5,460242	3,893524	7,224338	1,34E+00
4,61642	5,963429	4,582324	6,890531	6,480022	1,26E+00
6,377765	7,065588	3,484286	3,475136	4,849593	1,35E+00
4,683195	5,206837	4,040114	3,806793	5,503206	1,29E+00
2,36547	4,940368	4,376182	5,449433	5,318874	9,61E-01
4,740555	4,816133	2,564958	5,482749	4,495478	1,31E+00
3,741031	6,8913	5,763667	5,837135	6,897753	9,47E-01
4,055381	7,430967	7,33606	3,978384	6,880941	1,03E+00
5,588758	8,127741	5,531892	3,643818	5,613777	1,25E+00
4,821859	2,586526	1,981233	2,07889	3,797489	1,43E+00
6,734013	5,91424	4,773859	7,838107	7,502983	1,39E+00
4,389991	5,738118	4,45111	4,025375	5,626502	1,22E+00
4,86537	5,528207	4,535814	6,028011	6,5332	1,30E+00
4,616626	7,117382	5,139548	6,644196	6,874916	1,09E+00
6,880538	7,980205	6,611927	2,709408	7,171653	1,35E+00
5,154696	6,777988	2,810388	8,064307	4,921783	1,17E+00
4,374884	3,2387	2,919398	2,492722	4,476792	1,40E+00
7,078017	7,712635	3,705724	4,402595	5,65031	1,32E+00
6,621015	9,408648	6,72919	8,041172	9,16812	1,12E+00
5,214675	4,576858	4,061237	2,136144	5,362341	1,39E+00
3,707011	4,596412	3,323964	5,16516	4,825346	1,26E+00
6,120371	4,998275	4,251574	3,999564	6,531028	1,38E+00
5,375875	5,109297	4,525596	3,058969	6,095298	1,36E+00
4,232618	6,273859	3,386156	4,751634	4,560779	1,12E+00
3,522531	5,61078	3,430997	7,16225	4,843439	1,14E+00
7,133658	8,360138	2,229605	7,300037	4,969255	1,25E+00
6,513573	6,805988	5,969457	2,632272	7,043378	1,37E+00
6,557607	9,241947	7,530451	4,354254	8,108396	1,22E+00
5,356141	4,861977	2,16615	5,712514	4,383174	1,33E+00
4,826986	5,691722	5,391883	1,758987	5,267991	1,38E+00
3,214307	5,76217	3,039082	4,471986	3,747077	9,76E-01
5,735523	3,475265	1,946735	2,03653	3,913119	1,45E+00
2,690099	5,488181	4,587165	4,963932	5,38204	8,54E-01

4,455659	6,37031	4,216689	4,605693	5,403404	1,15E+00
4,76809	5,946021	2,645359	8,087543	4,502907	1,23E+00
3,88907	4,962322	2,951415	4,986344	4,470508	1,20E+00
3,956682	5,719797	3,9555	6,844554	5,587225	1,19E+00
4,428243	6,48357	4,719838	4,184429	5,593036	1,15E+00
5,876345	1,751513	1,997963	8,472079	2,122229	1,70E+00
3,933795	6,61851	6,332349	5,940455	7,690355	1,10E+00
4,328094	6,209122	5,952284	4,98475	7,325561	1,19E+00
5,75828	4,030593	2,464774	6,580198	4,674645	1,43E+00
6,58547	5,948457	5,691564	5,68638	8,325475	1,38E+00
4,864003	7,103163	5,008919	4,504274	6,000156	1,14E+00
4,23198	5,309851	2,835821	5,620418	4,527059	1,21E+00
4,262648	5,116575	4,576206	2,325538	4,978653	1,32E+00
4,179984	7,162736	5,130548	5,352071	6,145972	9,95E-01
5,751104	6,094295	2,933661	5,83626	5,18657	1,28E+00
5,66453	3,123757	1,453672	4,369861	3,789622	1,45E+00
5,196243	7,639592	4,973174	4,972318	6,126999	1,14E+00

## ANEXO D. Optimización de la umbralización

La tabla de las diferentes pruebas sobre la relación de la varianza, para los tres umbrales en la imagen prueba Lenna, se muestra a continuación.

Tabla 4. Varianza para tres umbrales.

Umbral 1	Umbral 2	Umbral 3	Relación Varianza	Umbral 1	Umbral 2	Umbral 3	Relación Varianza
53	103	156	12,94771	48	104	144	11,33549
55	105	153	12,84871	49	91	156	11,27014
56	110	162	12,83536	50	91	157	11,2004
58	108	167	12,69347	51	91	157	11,18917
54	99	156	12,67866	62	95	157	11,14583
52	103	166	12,52575	70	119	167	11,11267
52	111	160	12,46941	60	102	141	10,95259
48	109	163	12,17866	41	109	165	10,82454
64	113	167	12,1515	50	97	139	10,72622
60	116	158	12,0229	51	87	150	10,7145

63	109	150	11,96143	61	110	181	10,68989
50	113	159	11,88219	45	115	164	10,65973
49	102	146	11,87665	57	88	147	10,49096
46	95	156	11,86979	66	120	150	10,44205
54	107	146	11,82839	61	90	156	10,21001
62	114	173	11,80949	35	94	145	10,1267
66	104	159	11,79523	43	84	142	10,06774
43	97	156	11,78157	43	102	178	10,05477
48	106	148	11,7667	73	126	170	10,03848
43	105	161	11,71121	34	101	153	10,01579
50	99	169	11,6902	72	109	145	9,861429
42	97	157	11,62256	65	106	138	9,605403
48	97	166	11,59564	75	109	176	9,501534
58	98	168	11,50703	64	114	150	11,41276
65	118	157	11,50517	53	98	171	11,33607