

Tesis de Licenciatura



Universidad
de
Buenos Aires

FCEyN

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Física

**Construcción e implementación de un sistema
integral de caracterización de filtros ópticos
utilizados en cámaras hiperespectrales.**

Juan Reto Reynal

Director: Prof. Dr. Hernán Grecco
Abril 2020



TEMA: Construcción e implementación de un sistema integral de caracterización de filtros ópticos utilizados en cámaras hiperespectrales.

ALUMNO: Juan Reto Reynal

L.U. N°: 777/12

LUGAR DE TRABAJO: LEC, Departamento de Física, FCEyN, UBA.

DIRECTOR DEL TRABAJO: Dr. Hernán E. Grecco

FECHA DE INICIACIÓN: Abril de 2019

FECHA DE FINALIZACIÓN: Abril de 2020

FECHA DE EXAMEN:

INFORME FINAL APROBADO POR:

Autor:

Jurade

Director:

Jurade

Profesora: Silvina Ponce Dawson

Jurade

Resumen

Resumen copado al final..
dkfjakdju

Índice

Resumen	iii
Índice	v
1 Introducción	1
1.1 Objetivo general	1
1.1.1 Objetivos específicos del proyecto	2
1.2 Introducción	2
1.3 Actividades y Metodología	8
1.4 Factibilidad	9
2 Primer prototipo del equipo y caracterización de los espectros de transmisión	11
3 Cuantificación de los defectos	13
3.1 Defectos de superficie de un componente óptico	13
3.1.1 MIL-PRF-13830B: especificaciones de <i>scratch & dig</i>	14
3.1.2 ISO 10110: defectos de superficie	18
3.2 Características del filtro	19
3.3 Adquisición de las imágenes del filtro	21
3.3.1 <i>Tile scan</i>	23
3.3.2 Superficies y mapa de los defectos del filtro	26
3.3.3 Adquisición de imágenes individuales de cada banda espectral	29
3.4 Iluminación no uniforme del microscopio	30
3.5 Pre-procesamiento de las imágenes de cada banda espectral	33
3.5.1 Generación de la imagen de fondo: 	34
3.5.2 Normalización de las imágenes individuales del barrido de una banda con la imagen de fondo 	37
3.6 Algoritmo de detección de los defectos	39
3.7 Resultados del algoritmo de detección de los defectos	39
3.7.1 Defectos de la banda NIR	40
3.7.2 Defectos de la banda Roja	40
4 Desarrollo XZStage y calibración - Desarrollo del software integrando el arduino con algoritmos asincrónicos	45
5 Microespectrómetro	47
5.1 Diseño óptico del microespectrómetro	47

ÍNDICE

5.2 Montaje y alineación preliminar del microespectrómetro	47
5.3 Foco y resolución espacial del microespectrómetro	47
5.4 Integración de una cámara web	54
5.4.1 Mapeando el espectrómetro con la cámara	54
6 Conclusiones	55
7 Trabajo a futuro	57
Referencias Bibliográficas	59

Capítulo 1

Introducción

QUÉ ES UN DEFECTO Y QUÉ LE ESTÁ HACIENDO A LAS IMÁGENES, MOSTRAR IMAGEN QUE TIENE PUNTOS CON DIFRACCIÓN, LOS TIFFS..

explicar microscopio, conceptos como apertura numérica.. espectroscopía un poco etc

TÍTULO: Construcción e implementación de un sistema integral de caracterización de filtros ópticos utilizados en cámaras hiperespectrales.

ALUMNO: Juan Reto Reynal L.U. 777/12.

DIRECTOR: Dr. Hernán E. Grecco, Prof. Adj. UBA, Inv. Independiente CONICET.

LUGAR DE TRABAJO: LEC, Departamento de Física, FCEyN, UBA.

1.1 Objetivo general

La espectroscopía de imágenes hiperespectrales, en inglés *Hyperspectral Spectroscopy Imaging* (HSI), combina la espectroscopía y la adquisición de imágenes en dos dimensiones. Este método brinda datos espectrales para cada pixel en el campo de visión¹. A partir de dichos datos se puede extraer información sobre la emisión, reflexión ó absorción de una muestra, que puede ser utilizada para determinar su composición físico-química con una resolución espacial. De esta forma se pueden identificar tumores de un cáncer, realizar un control de calidad de la comida identificando bacterias en tiempo real, localizar las células

¹El campo de visión, en inglés *field of view* (FOV), es el ángulo sólido a través del cual un sensor puede detectar la radiación electromagnética que se desee capturar.

de una muestra biológica u optimizar la siembra y la cosecha de ciertos cultivos, entre otras aplicaciones.

En la tesis de licenciatura de Agustina Pose [Pose, 2017], dirigida por Hernán Grecco quien también dirige esta tesis, ambos desarrollaron un prototipo de cámara hiperespectral para uso satelital junto a la empresa Satellogic. Tras la realización de pruebas y mediciones en tierra, se aprobó la prueba de concepto de este prototipo y se lo adaptó a un diseño robusto. La cámara hiperespectral diseñada es hoy una de las cargas útiles (o *payloads*) a bordo de los satélites argentinos NewSat 1 y NewSat 2 (alias Fresco y Batata), puestos en órbita el 30 de Mayo de 2016, construidos por la empresa Satellogic.

En el presente proyecto se propone continuar con dicho trabajo y desarrollar un sistema integral de caracterización de los filtros de interferencia de banda que son utilizados en las cámaras hiperespectrales. Estos filtros permiten el paso de las longitudes de onda (colores) que se desean capturar con el sensor de detección principal de la cámara que sólo detecta intensidad lumínica, como se explica en la Introducción. En consecuencia, la caracterización de los filtros resulta fundamental para garantizar la calidad de las imágenes capturadas. El primer prototipo de este sistema integral permitirá principalmente caracterizar el espectro de transmisión del filtro en cada punto del mismo, es decir en cada posición (x, y) de su superficie, y encontrar defectos que pudieran modificar su capacidad de bloqueo de ciertas longitudes de onda no deseadas.

■ 1.1.1 Objetivos específicos del proyecto

- **Objetivo 1:** Caracterización de los espectros de transmisión de los filtros.
- **Objetivo 2:** Detección de los defectos de los filtros (*scratch and dig*).
- **Objetivo 3:** Caracterización de los filtros en su posición final en las cámaras de vuelo del satélite.

■ 1.2 Introducción

Una imagen a color RGB convencional está compuesta por tres canales de imágenes (bandas): rojo ($\sim 665\text{nm}$), verde ($\sim 550\text{nm}$) y azul ($\sim 470\text{nm}$). Este tipo de imágenes permiten emular la percepción que el ojo humano tiene del color, pero en general no permiten la detección e identificación de distintos objetos sólidos y líquidos, menos aún determinar sus propiedades. Para ello es necesario obtener el espectro completo del objeto de estudio que es posible a partir de la captura de imágenes multiespectrales e hiperespectrales.

Las imágenes multiespectrales contienen un número acotado de bandas espectrales de hasta un par de decenas, con un gran ancho de banda (varias decenas de nm); mientras que las hiperespectrales están formadas por un gran número de bandas espectrales (de cientos a miles), con una resoluciónpectral muy estrecha, de unos pocos nm (Ver Figura 1.1).

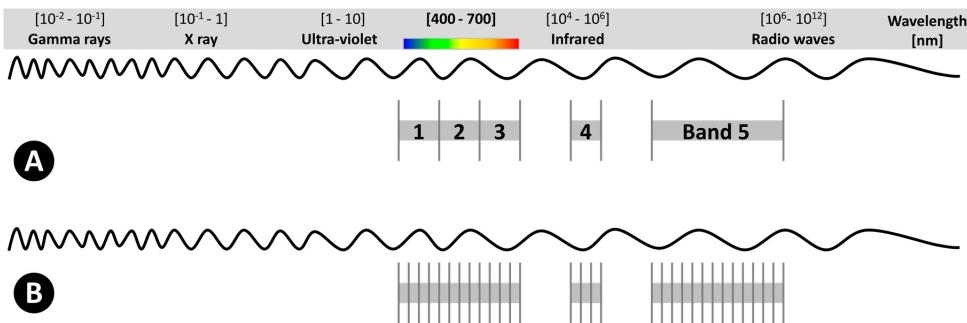


Figura 1.1: Representación de los espectros: (A) Multiespectral: 5 bandas anchas; y, (B) Hiperspectral: muchas bandas muy estrechas, generalmente entre cientos y miles de ellas. Los dibujos no se encuentran realizados a escala. Imagen tomada de [Adão et al., 2017].

Las cámaras de adquisición de imágenes hiperespectrales estándar utilizan redes de difracción o prismas como elementos dispersivos de la luz. La distancia requerida entre el sensor de detección y el componente de difracción de la luz, hace que este tipo de cámaras sean muy grandes y muy pesadas, dos condiciones que por ejemplo en la industria satelital se quieren optimizar fuertemente ya que el costo de la puesta en órbita de los satélites es proporcional a su peso y a su tamaño. Estas cámaras suelen ser muy caras y muy sensibles a desalinearse debido a las condiciones mecánicas de su construcción. Esta última condición se agrava en sistemas de difícil manipulación como lo son los satélites, que una vez que se encuentra en órbita, sus componentes ópticos ya no puede ser modificados como para corregir una desalineación que empeore la calidad de las imágenes capturadas. Además, requieren de una rendija para poder obtener una alta resolución espectral, lo que restringe significativamente la intensidad de la luz a detectar.

En respuesta a las desventajas de las cámaras estándar de imágenes hiperespectrales, aparecieron otro tipo de cámaras que utilizan filtros de interferencia de banda y que resultaron en un producto final robusto, compacto, de bajo costo y de muy buen rendimiento. Una cámara de vuelo de este tipo fue desarrollada en la tesis de licenciatura de Agustina Pose bajo la dirección de Hernán Grecco [Pose, 2017] como se mencionó anteriormente. La cámara desarrollada tiene la gran ventaja de no presentar partes móviles, evitando posibles desalineaciones de los componentes ópticos. Las partes móviles de la cámara que serían útiles para realizar un barrido espectral de una cierta escena a capturar, no son necesarias pues el barrido es realizado por el movimiento propio del satélite respecto de la Tierra. El esquema básico de este tipo de cámaras hiperespectrales se muestra en la Figura 1.2. Los filtros de interferencia de banda utilizados en este tipo de cámaras deben cumplir ciertos requisitos de calidad (no presentar rayones, ni marcas, etc) y ciertas características espectrales y de transmisión antes de ser incorporados a la carga útil de, por ejemplo, un satélite que va a ser puesto en órbita. En consecuencia, resulta fundamental caracterizar completamente dichos filtros antes de construir las cámaras de la aplicación de interés.

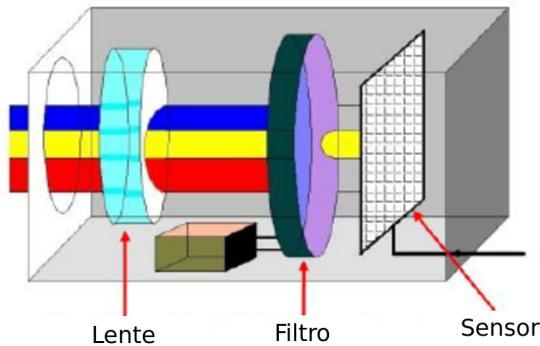


Figura 1.2: Esquema de una cámara hiperespectral. El filtro absorbe el espectro completo de la luz incidente salvo la bandapectral que el usuario determina, por lo que sólo las longitudes de onda elegidas atraviesan el filtro y son detectadas por el sensor. [Martínez-Usó et al., 2008]

Debido a las limitaciones de las técnicas de medición estándard de los espectros de transmisión de los filtros ópticos donde se utilizan espectrómetros comerciales, existen tres discrepancias fundamentales entre el espectro "real"² de un filtro y sus mediciones experimentales realizadas con espectrómetros comerciales (Ver Figura 1.3)[Erdodan and Prabhat, 2012]. La primera discrepancia es el "redondeo" de características espectrales nítidas de los filtros. Esto se debe al ancho de banda no nulo del haz de la sonda del espectrómetro.

La segunda discrepancia se debe al rango limitado de medición de la OD³ del filtro, que es producto de la sensibilidad limitada del espectrómetro. Cuando un filtro tiene un valor de OD muy alto, $OD > 6$, el detector debería medir una intensidad de la luz prácticamente nula pero el ruido óptico y electrónico propio del detector limita el nivel más bajo de intensidad que puede medir con precisión. De esta forma, se puede ver un ruido de piso debido al sensor indicando un cierto valor de OD que no coincide con el valor real del filtro.

²El espectro "real" es el espectro de diseño del filtro para el que fue especialmente construido.

³La densidad óptica, OD (Optical Density), es un parámetro útil para describir la transmisión de la luz a través de un filtro óptico con una transmisión extremadamente baja. Si T es la transmisión del filtro, que varía entre 0 y 1, se define la densidad óptica como $OD = -\log_{10}(T)$.

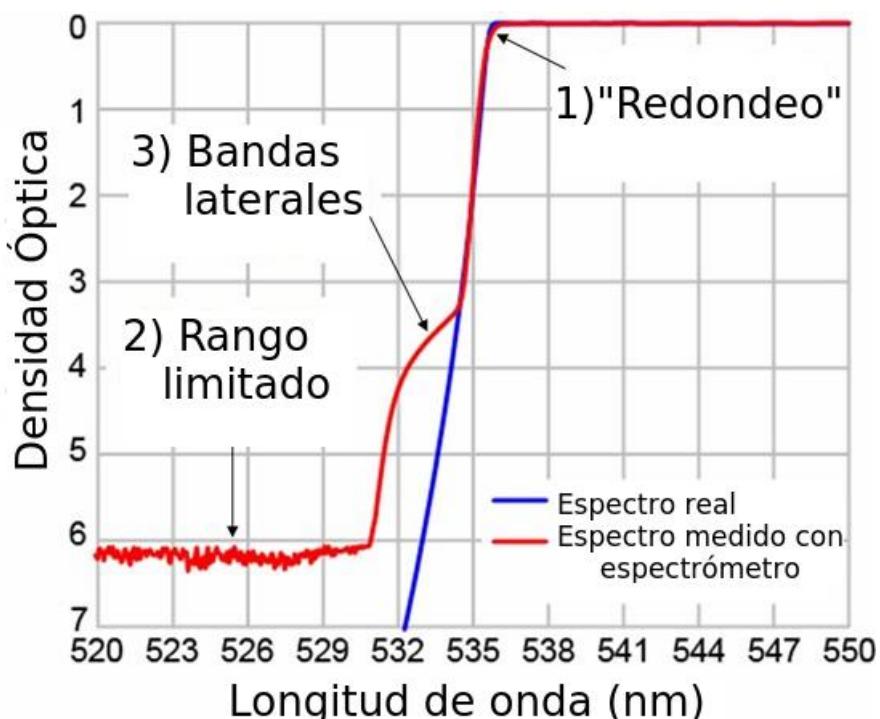


Figura 1.3: Discrepancias entre las mediciones experimentales con espectrómetros comerciales y el espectro "real" de un filtro óptico. Adaptado de [Erdodan and Prabhat, 2012].

La tercera discrepancia es propia de las mediciones de transiciones muy pronunciadas. Esto surge por el hecho de que el haz de la sonda no es monocromático, sino que también tiene bandas laterales débiles de longitudes de onda fuera de su ancho de banda principal.

Las discrepancias de medición en espectrómetros convencionales causan importantes problemas al intentar evaluar el rendimiento del filtro para la aplicación prevista.

La elección del instrumento de medición y la técnica empleada determinan la precisión de la medición del espectro de transmisión del filtro. Al mismo tiempo, determinan la duración y por ende también el costo de dichas mediciones, que deben ser compatibles con los tiempos que la industria requiere. Esto se puede ver con un ejemplo tomado de [Erdodan and Prabhat, 2012]. En la Figura 1.4 se muestran cinco mediciones distintas de la densidad óptica de un filtro diseñado para bloquear longitudes de onda de 532 nm con $OD > 6$ y tener una transición a un estado de alta transmisión dentro del 0.5% de la longitud de onda del láser utilizado para excitar la muestra, que es de 534.7nm.

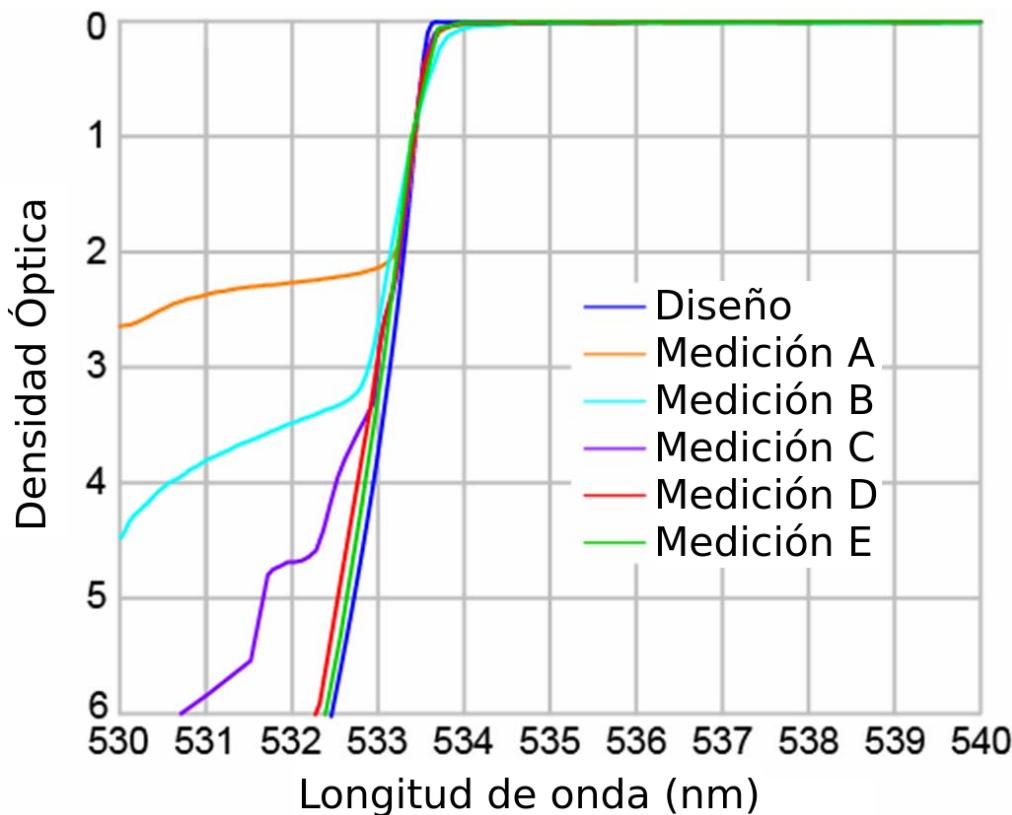


Figura 1.4: Distintas mediciones de la OD de un filtro LP03-532RE-25 RazorEdge de la empresa Semrock. Las mediciones fueron realizadas utilizando tanto espectrómetros comerciales como *custom-made* de la empresa con una variedad de arreglos experimentales que se explican en el texto. Adaptado de [Erdodan and Prabhat, 2012].

Las mediciones del método A fueron realizadas por un espectrómetro de diseño propio (*custom-built*) de la empresa, que tiene un tiempo de integración muy corto y una baja resolución, lo que resulta en una configuración experimental óptima para obtener mediciones de una gran cantidad de filtros de prueba. Este método es utilizado para determinar con precisión la longitud de onda a partir de la cual el filtro pasa a tener una alta transmisión, es decir, localiza la longitud de onda de la transición entre el estado de bloqueo y de transmisión del filtro, la longitud de onda de corte. De esta forma, se garantiza una cierta uniformidad en un lote de filtros a ser utilizado de una forma rápida y eficiente. Ahora bien, como se observa en el gráfico de la Figura 1.4, el método A posee una sensibilidad muy mala y una resolución muy baja, obteniéndose un piso de ruido mayor a OD 2.

El método B utiliza un espectrómetro comercial (Perkin Elmer Lambda 900) cuyos inconvenientes fueron explicados a partir de las tres discrepancias en la Figura 1.3. Con este método no se puede asegurar que el filtro tenga un $OD > 6$ en los 532nm.

Los métodos C y D utilizan el mismo espectrómetro *custom-built* del método A, cuyo principio de funcionamiento básico se muestra en la Figura 1.5. La diferencia fundamental con el método B que utiliza un espectrómetro comercial es que las mediciones con el espectrómetro

custom-built realizan la detección con una cámara CMOS de bajo ruido, que consiste en un arreglo de detectores, por lo que puede medir en un rango muy grande de longitudes de onda simultáneamente. Este método permite en consecuencia obtener mediciones en un rango espectral muy grande, con una cierta resolución en un cierto tiempo de integración, de forma muy rápida. El inconveniente fundamental de este método es que al utilizar una fuente de iluminación de banda ancha, si el filtro de prueba tuviera, por ejemplo, una autofluorescencia apreciable [Shah and Yager, 2017], podría interferir con una medición precisa de la transmisión de la muestra.

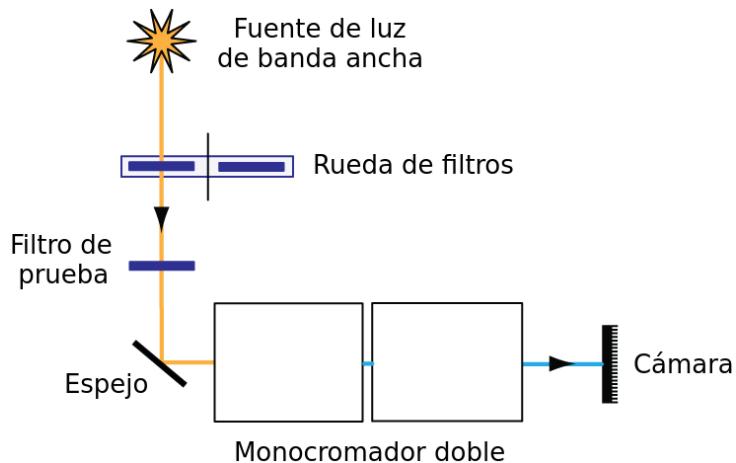


Figura 1.5: Diseño básico de un espectrómetro *custom-built* que utiliza una fuente de iluminación de banda ancha y permite la recolección de una amplia gama de longitudes de onda simultáneamente con un conjunto de detectores situados en la cámara. Este arreglo experimental permite una medición más rápida con un piso de ruido y una resolución fija. Adaptado de [Erdodan and Prabhat, 2012].

Ahora bien, dependiendo de la aplicación, las limitaciones en las mediciones del espectro de transmisión de los filtros pueden ser determinantes o no. En el presente proyecto se quiere determinar el arreglo experimental óptimo pero que sea compatible con los tiempos y costos de producción de la industria satelital.

En ciertos filtros y aplicaciones, resulta de vital importancia el nivel de bloqueo de ciertos rangos de longitudes de onda pero no así la suavidad de la transición entre el bloqueo y la transmisión. Por ejemplo, en sistemas de imágenes de fluorescencia los espectros de absorción y emisión del flúor podrían estar lo suficientemente alejados como para que resulte fundamental que los filtros de banda de la señal de respuesta (de emisión) de la muestra tengan un bloqueo muy alto en la banda de la señal de excitación y así lograr una relación entre la señal y el ruido de adecuada proporción [Grecco et al., 2016].

Los filtros diseñados para estas aplicaciones podrían tener decenas de OD de bloqueo pero en la práctica incluso el más pequeño de los defectos físicos en los recubrimientos ópticos (*coatings*) o en el montaje, así como el bajo nivel de control de luz parásita a nivel del sistema, puede limitar el bloqueo alcanzable a valores mucho menores que los del diseño original, en el rango de aproximadamente OD 6 a quizás 10.

Dado que los espectrómetros comerciales standard tienen una medición de OD de rango limitado debido al ruido de fondo del instrumento, se propone un arreglo experimental inicial para poder medir los niveles de bloqueo más altos con precisión como se muestra en la Figura 1.6 y que resulta compatible con la producción industrial deseada por su simplicidad.

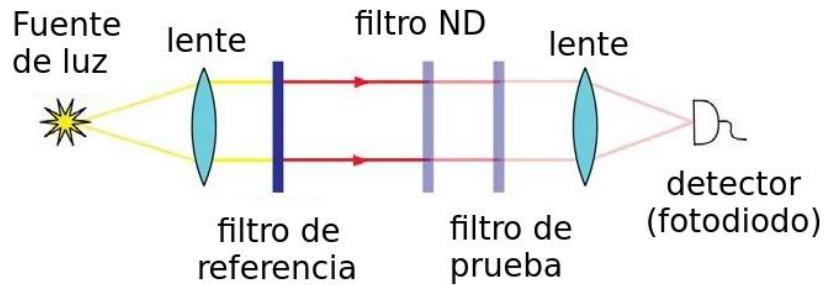


Figura 1.6: Arreglo experimental compatible con la producción industrial para medir valores de OD altos.

El método experimental de la Figura 1.6 se denomina *complementary filter method*. Un haz de luz de banda ancha, de una lámpara QTH (*Quartz-Tungsten Halogen*) ó de arco, aproximadamente colimado por una lente es filtrado utilizando un filtro de referencia ampliamente bloqueador, que es esencialmente un filtro de banda con su banda de paso superpuesta a la región del espectro del filtro de prueba que se quiere analizar donde la medición de valores de OD altos son necesarios. La luz transmitida es enfocada con una lente convergente en un detector de bajo ruido capaz de medir niveles de intensidad de luz muy pequeños, como un fotodiodo de gran área con un circuito amplificador de bajo ruido ó un tubo fotomultiplicador (PMT).

Las mediciones se realizan de la siguiente manera. En primer lugar, se mide la intensidad de la señal en el detector con solo el filtro de referencia y un filtro calibrado de densidad neutra (ND) en la trayectoria de la luz. El filtro ND sirve para reducir el nivel de la intensidad de la luz en el detector en una cantidad calibrada de forma tal que el bias⁴ del rango dinámico limitado alcanzable por el detector sea reducido para alcanzar los niveles de la señal que el detector va a ver cuando se coloquen los filtros de prueba. En particular, con un filtro ND 3, el rango dinámico del detector tiene que ser de 10^6 para medir hasta un valor de OD 9 de bloqueo. En segundo lugar, se retira el filtro ND y se lo reemplaza por el filtro de prueba para realizar una nueva medición de la intensidad con el detector. El cociente entre las dos mediciones de intensidad de la luz es igual al valor de OD del filtro de prueba, en el rangopectral del filtro de referencia.

1.3 Actividades y Metodología

En el presente trabajo de tesis se desarrollarán múltiples arreglos experimentales para caracterizar el espectro de transmisión de distintos filtros de prueba que dispone el LEC,

⁴El bias del detector es el valor medido por el instrumento cuando no hay ninguna fuente de luz incidiendo sobre él, es el valor de *offset* que se le suma a cualquier medición.

utilizando técnicas de medición en línea con los papers y patentes de la actualidad. Se automatizará la adquisición de las mediciones y se incorporará al arreglo experimental inicial un sistema de detección de defectos de los filtros, utilizando una cámara de bajo costo del laboratorio para realizar las primeras pruebas.

Una vez caracterizado tanto el espectro como los defectos de los filtros, se diseñará y construirá un primer prototipo de un sistema integral de caracterización para ser aplicado con los filtros que utiliza la empresa Satellogic en sus cámaras hiperespectrales. Se estudiará la aplicabilidad de este prototipo en distintos casos.

Utilizando el prototipo del sistema integral de caracterización de los filtros se desarrollará un método y criterios para decidir si un filtro puede ser incorporado a la cámara utilizada en los satélites.

Como aplicación de este proyecto de tesis se utilizarán las cámaras hiperespectrales de la empresa Satellogic, cuyos filtros van a ser caracterizados con el sistema integral que se va a desarrollar, y se tomarán imágenes en tierra utilizando algoritmos de HDR y de búsqueda de características. Y, finalmente se realizará una caracterización de los filtros en su posición final en las cámaras de vuelo del satélite.

1.4 Factibilidad

El lugar de trabajo donde el tesista va a desarrollar sus actividades es el Laboratorio de Electrónica Cuántica (LEC) del Departamento de Física de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. El LEC cuenta con diversos equipos de uso general en óptica y electrónica y algunos de uso específico para aplicaciones en investigación de física básica. Entre los equipos de uso relevante para el presente proyecto se pueden encontrar mesas ópticas de suspensión neumática, un microscopio invertido automático Zeiss Observer Z1, diversas placas de adquisición y procesamiento (NI y Red Pitaya, Raspberry Pi y Arduino), cámaras científicas y de bajo ruido (Apogee U2000, QHY183M), elementos de óptica para la construcción de instrumentos (lentes, filtros, objetivos de microscopio, optomecánica, láseres y leds). Adicionalmente, el laboratorio cuenta con acceso a un microscopio confocal de la firma Olympus, modelo FV1000 equipado con una platina motorizada, cámara ambiental y cámara CCD.

El director de la presente tesis es director del LEC y es experto en temas de óptica y fotofísica, áreas principales del proyecto. Además, tiene la experiencia de haber dirigido a una estudiante que realizó la tesis en conjunto con el LEC y la empresa Satellogic, resultando en una experiencia exitosa.

El tesista se encuentra cursando actualmente sus últimas dos materias de la carrera: Estructura de la Materia 4 e Instrumentación y Control.

Observaciones generales del contenido de la tesis:

1. Introducción

- Los programas escritos son referenciados con un link al que se puede acceder haciendo click sobre el ícono de github: 

Capítulo 2

Primer prototipo del equipo y caracterización de los espectros de transmisión

Capítulo 3

Cuantificación de los defectos

Qdefects_analysis

En este capítulo se define qué es lo que se considera un defecto de un componente óptico, se muestran las características del filtro óptico utilizado en el presente trabajo y la cuantificación de los defectos de cada una de las bandas espectrales que el filtro presenta. Se explica el proceso de adquisición de las imágenes de cada banda del filtro y su posterior procesamiento.

Asimismo, se detalla el algoritmo utilizado para realizar la detección de los defectos en las imágenes adquiridas y se analizan los resultados: número de defectos por unidad de superficie, diámetro y área de los defectos, etc. Finalmente, considerando las reglamentaciones vigentes en la industria, se explica la aplicación de criterios de normas de calidad que permiten determinar que el filtro analizado no cumple las especificaciones técnicas necesarias para ser montado en un sensor de imagen para aplicaciones aeroespaciales.

3.1 Defectos de superficie de un componente óptico

Se define un defecto de superficie de un componente óptico de manera general como una imperfección localizada, es decir una ruptura de la homogeneidad de la superficie óptica [Gomez et al., 1998]. Estas imperfecciones consisten de rayones (en inglés *scratches*), hoyos (en inglés, *digs*), huecos, manchas, burbujas, entre otras consideradas en las especificaciones standard de la industria. La terminología varía dependiendo del sector de la industria óptica que se trate. En particular, en el presente trabajo se caracterizaron defectos de superficie

denominados en adelante huecos (Ver Figura 3.1) y manchas ó defectos de transmisión (Ver Figura 3.2).

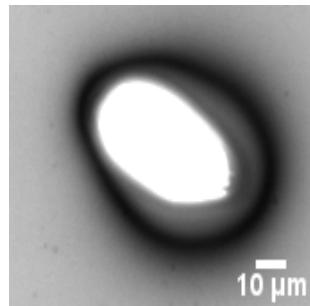


Figura 3.1: Defecto de superficie denominado hueco, de $(48.45 \pm 0.59)\mu\text{m}$ de diámetro equivalente.

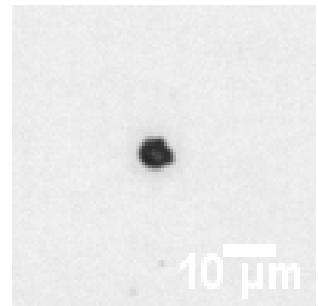


Figura 3.2: Defecto de superficie denominado mancha ó defecto de transmisión, de $(6.33 \pm 0.59)\mu\text{m}$ de diámetro equivalente.

Los defectos de superficie de un componente óptico pueden estar originados en el proceso de fabricación mismo, en el tratamiento y manipulación de la óptica (en inglés, *handling*) en distintas etapas de un proceso de montaje ó en el transporte del proveedor al cliente. Estos defectos pueden provocar un cambio de las propiedades ópticas del componente, como por ejemplo una merma en la intensidad esperada ó una variación del espectro de transmisión, y en consecuencia los usuarios finales de los componentes deben verificar la calidad óptica que los proveedores detallan en las especificaciones técnicas. A continuación se describen las dos especificaciones técnicas más utilizadas en la industria para determinar la calidad óptica de un componente, que son la *U.S. Military Performance Specification MIL-PRF-13830B* y la ISO 10110 [Military, 1997][ISO, 2018].

■ 3.1.1 **MIL-PRF-13830B: especificaciones de scratch & dig**

La especificación técnica MIL-PRF-13830B define los defectos permitidos en una superficie óptica utilizando una métrica dada por un par de números denominados *scratch and dig numbers*: S/D. El *scratch number* puede tomar alguno de los siguientes valores arbitrarios: 10,20,40,60,80, que representan en orden creciente el nivel de brillo de la rayadura. Este número no proviene de una medición experimental exacta, sino que es el resultado de comparar el brillo de la rayadura del componente a analizar con muestras de rayaduras calibradas como las que se muestran esquemáticamente en la Figura 3.3, bajo ciertas condiciones de iluminación

específicas. En consecuencia, la asignación de un cierto *scratch number* a un componente es una inspección visual subjetiva, es decir que varía de inspector a inspector.

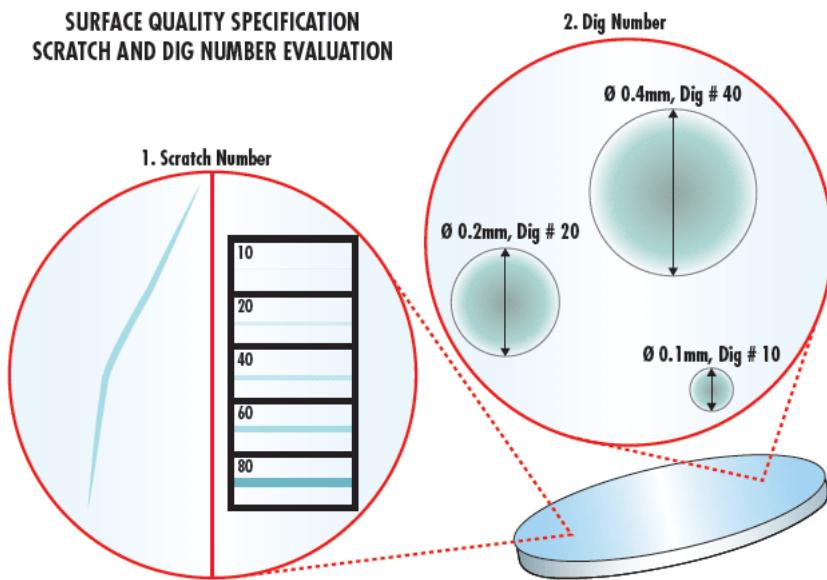


Figura 3.3: El *scratch number* es determinado a partir de la comparación de la rayadura de la óptica bajo análisis con las muestras calibradas, bajo ciertas condiciones de iluminación específicas. Adaptado de <https://bit.ly/2w1apWq>.

Ahora bien, el *dig number* es una cantidad medible experimentalmente: es el diámetro del hoyo más grande del componente, dado en 1/100 de milímetros. Por ejemplo, un componente con un *dig number* de 40 implica que el hoyo más grande de la óptica tiene un diámetro de 0.4 mm (Ver Figura 3.3). Luego de cuantificar todas las rayaduras y hoyos de la óptica, se determina el número de defectos permitidos de acuerdo a los siguientes criterios:

- La suma de todas las longitudes de las rayaduras con un cierto *scratch number* ($L_{S\#}$) no podrá superar el valor de un cuarto del diámetro (Φ) de la óptica. Si el componente no tuviera una geometría circular, se considera el diámetro de un círculo con un área igual al de la óptica bajo análisis.

$$\sum L_{S\#} < \frac{\Phi}{4} \quad (3.1)$$

- El número total de hoyos de tamaño máximo permitido (N) no podrá exceder el

3. Cuantificación de los defectos

diámetro de la óptica dividido por 20.

$$N < \frac{\Phi}{20} \quad (3.2)$$

- La suma de todos los diámetros (d) de los hoyos deberá ser menor ó igual al doble del número total de hoyos de tamaño máximo permitido (N) multiplicado por el *dig number* ($D_{\#}$) especificado en fracciones de milímetros.

$$\sum d \leq 2.N.D_{\#} \quad (3.3)$$

Así por ejemplo, una óptica de geometría circular con un diámetro de 200 mm y una calidad óptica especificada por el fabricante con *scratch and dig numbers* S/D 30-20, puede tener rayones con un brillo calibrado de 30 y la suma de todas las longitudes de los rayones de brillo 30 no podrá ser superior a los 50 mm (de acuerdo a (3.1)). Al mismo tiempo, la óptica no podrá tener más de 10 hoyos de tamaño máximo de 0.2 mm, es decir de *dig number* igual a 20 (de acuerdo a (3.2)) y la suma de los diámetros de todos los hoyos no podrá ser superior a los 4 mm (de acuerdo a (3.3)).

La Figura 3.4 muestra una comparación de cuatro muestras de calibración de rayaduras, medidas bajo idénticas condiciones de iluminación [Aikens, 2010].

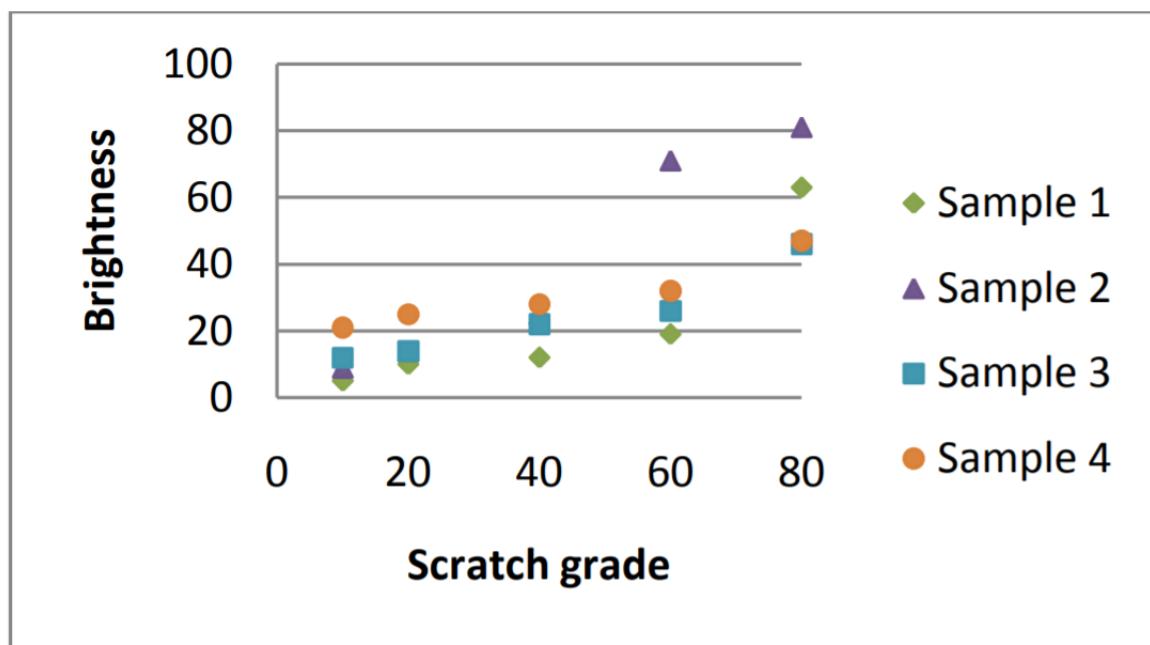


Figura 3.4: Brillo relativo de cuatro muestras calibradas de *scratch number*. *Sample* en inglés significa muestra. La muestra 1 es de la empresa FLIR/Brysen (S&D 1109), la muestra 2 es de Davidson Optronics (D-667A S/N 2431), la muestra 3 es de Eastman Kodak (*paddle* EKCO CM2) y la muestra 4 es de Jenoptik (*paddle* EO #53-157 CM1). La muestra 4 es vendida comercialmente por los proveedores Edmund Optics y por Thorlabs. Gráfico tomado de [Aikens, 2010].

De la Figura 3.4 se desprende que las cuatro muestras son incompatibles entre sí, es decir arrojan resultados de brillo distintos entre sí para un cierto *scratch number*. Se observa que para un *scratch number* igual a 10, el brillo de la muestra 4 es más brillante que el *scratch number* 60 de la muestra 1. Así también el brillo del *scratch number* 60 de la muestra 2 es más de dos veces más brillante que cualquiera de las otras muestras para este mismo *scratch number*.

Si bien la métrica de *scratch and dig* sigue siendo ampliamente utilizada en la industria, el hecho de que el análisis de las rayaduras sea dependiente del inspector de turno sumado a que las muestras de brillo calibradas varían de acuerdo al fabricante de las mismas, hacen que estas especificaciones técnicas para determinar la calidad de una óptica resulten técnicamente ambiguas. A continuación se explican las especificaciones técnicas de la ISO 10110 y se hace notar que ambas especificaciones técnicas figuran en la hoja de datos del filtro analizado en el presente trabajo. Luego se muestran las características del filtro analizado en esta tesis junto

a sus especificaciones ópticas.

■ 3.1.2 ISO 10110: defectos de superficie

Las especificaciones de la ISO 10110 determinan de forma cuantitativa el tamaño y número de defectos de superficie que un componente óptico puede presentar. El concepto de defecto de superficie para esta normativa se corresponde con la definición de defecto dada en la primera sección de este capítulo (Ver def.). Es decir, contiene a todos los tipos de defectos que representan una inhomogeneidad en la superficie óptica del componente. Esto es, no distingue las rayaduras de los hoyos ni de cualquier otro tipo de defecto para determinar la calidad óptica de un componente.

La normativa ISO 10110 indica el número de defectos permitidos (N_p) y un coeficiente dado en fracciones de milímetros denominado *grade number* (A_g) que es igual a la raíz cuadrada del área del defecto de tamaño máximo permitido. Estos dos valores son expresados en las hojas de datos de los componentes ópticos de la siguiente manera: $5/N_p \times A_g$. El número 5 hace referencia a que la especificación técnica dada se refiere a las tolerancias de los defectos de superficie. A su vez, el área del componente óptico cubierta por los defectos permitida está dada por la siguiente expresión:

$$A_{defectos} = N_p \cdot A_g^2 \quad (3.4)$$

Por ejemplo, la especificación $5/5 \times 0.05$ brindada por un cierto fabricante, indica que el componente cumple que tiene como máximo 5 defectos de 50 micrones y el área máxima cubierta por los defectos puede ser de $12500 \mu m^2$.

Se hace notar que el control de calidad de los componentes ópticos bajo la normativa ISO 10110, al ser meramente cuantitativo, resulta más preciso y objetivo que el control de calidad bajo las especificaciones de *scratch & dig*. Mientras que para esta última normativa, el control de calidad del componente suele ser realizado por un técnico entrenado vía una inspección visual, para el análisis de las especificaciones de la ISO 10110 de un cierto componente, se utilizan microscopios con la suficiente magnificación como para poder cuantificar los defectos.

En esta sección se definió el concepto de defecto de superficie de un componente óptico como cualquier inhomogeneidad presente en la superficie bajo análisis. Se describieron las dos especificaciones técnicas más utilizadas para determinar la calidad óptica de la superficie de un componente, ambas presentes en la hoja de datos del filtro a analizar en la presente tesis. Por un lado, las especificaciones de *scratch & dig* que resultan un poco ambiguas debido a la determinación subjetiva de los *scratch numbers* del componente. Y, por otro lado, la ISO 10110 que propone superar esta ambigüedad no distinguiendo los tipos de defectos presentes en la óptica, sino tratándolos a todos por defectos en general por igual. Ahora bien, en la práctica, la mayoría de los proveedores (entre ellos Edmund Optics, Thorlabs) en la actualidad utilizan las especificaciones de *scratch & dig* para indicar la calidad de la superficie óptica del componente en cuestión.

A continuación se describen las características y dimensiones del filtro analizado en este trabajo y luego se describe el análisis de la cuantificación de los defectos determinados en el filtro a partir de la adquisición de imágenes por transmisión con un microscopio.

3.2 Características del filtro

El componente óptico analizado en la presente tesis, denominado en adelante simplemente filtro, consiste de un arreglo de cinco filtros ópticos de interferencia considerados en adelante a cada uno de ellos como una banda. En la Figura 3.6 se muestra el filtro real analizado y en la Figura 3.5 se muestran las dimensiones especificadas por el fabricante.

Las zonas (en inglés, *zone*) están asociadas a una cierta banda espectral de transmisión de la siguiente manera:

- Zona 1 - Banda Azul: (450-510) nm
- Zona 2 - Banda Verde: (510-580) nm
- Zona 3 - Banda Pancromática¹: (450-750) nm

¹La palabra pancromática, del griego ático donde pan significa todo y cromático viene de la familia de la palabra color, implica que dicha banda tiene un espectro de transmisión en toda la región del visible.

3. Cuantificación de los defectos

- Zona 4 - Banda Roja: (590-690) nm

- Zona 5 - Banda NIR²: (750-900) nm

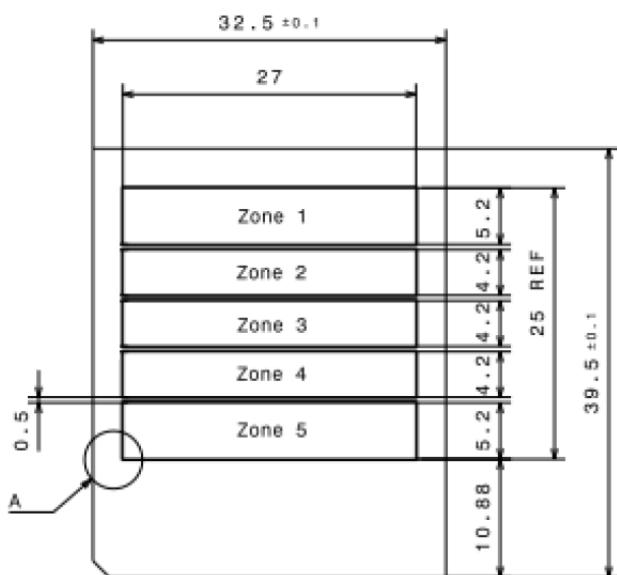


Figura 3.5: Dimensiones del filtro especificadas por el fabricante.



Figura 3.6: Imagen del filtro real analizado.

Las especificaciones ópticas de la calidad de la superficie del filtro brindadas por el fabricante son las siguientes:

5/2x0.063 (*according to MIL PRF 13830, S/D 20-10*).

Estas especificaciones implican para el caso de la ISO 10110, 5/2x0.063, que en la superficie óptica del filtro puede haber un máximo de 2 defectos de 63 micrones de lado y que el área total máxima cubierta por defectos puede ser de $7938 \mu\text{m}^2$. Y, las especificaciones de *scratch & dig*, S/D 20-10, indican que puede haber rayaduras con un brillo calibrado de 20 (de acuerdo a una muestra calibrada indicada por el proveedor) y que la suma de todas las longitudes de las rayaduras de brillo 20 no podrá ser superior a los 7.5 mm (de acuerdo a 3.1)³. El filtro no

²NIR, en inglés *Near-Infrared*, se le denomina a la regiónpectral del infrarrojo cercano que se extiende aproximadamente desde los 780 nm hasta los 2000 nm.

³El diámetro equivalente del filtro es de $(30.0 \pm 0.1)\text{mm}$, si se considera el área útil del filtro como la región central que comprende a las bandas que es de $((25.0 \pm 0.1)\text{mm} \times (27.0 \pm 0.1)\text{mm}) = (675 \pm 4)\text{mm}^2$

deberá tener más de 2 hoyos de tamaño máximo de $100 \mu m$ (de acuerdo a 3.2) y la suma de los diámetros de todos los hoyos no podrá ser superior a los 0.4 mm (de acuerdo a 3.3).

Se hace notar que entre las bandas se encuentran unas banditas de un material no declarado por el fabricante, denominado en adelante cromo, de $(0.5 \pm 0.1)mm$ de largo como se muestra en la Figura 3.5. El mismo material cubre toda la región del filtro no contenida por las cinco bandas.

A continuación se describe el proceso de adquisición de las imágenes del filtro, posteriormente su procesamiento y el algoritmo de detección de los defectos y por último se discute un análisis cuantitativo de los mismos.

3.3 Adquisición de las imágenes del filtro

Para la adquisición de las imágenes del filtro se utilizó un microscopio invertido Zeiss Axio Observer Z1 como se muestra en la Figura 3.7, con un objetivo Zeiss N-Achroplan de magnificación 10X y apertura numérica de 0.25.



Figura 3.7: Microscopio invertido Zeiss Axio Observer Z1.

Las imágenes del filtro fueron adquiridas por transmisión utilizando una fuente de luz blanca, en condiciones de *bright field*⁴. Se montó el filtro sobre el portamuestras de la platina

⁴Técnica de iluminación que en castellano suele ser denominada de 'campo brillante' para diferenciarla de

3. Cuantificación de los defectos

del microscopio como se muestra en la Figura 3.8 y mirando por el ocular se puso en foco la superficie del filtro a medir.

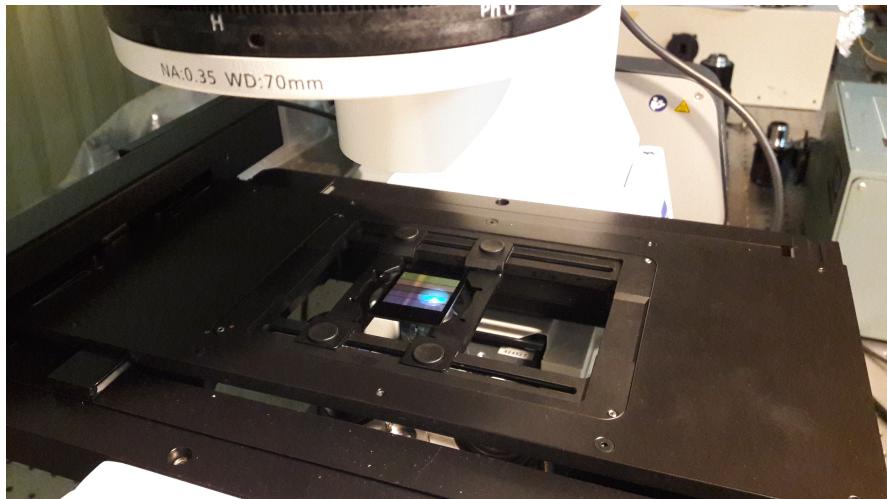


Figura 3.8: Montaje del filtro sobre el portamuestras de la platina del microscopio.

La cámara monocromática del microscopio del fabricante Zeiss, modelo Axiocam 702, con un sensor CMOS de 1/1.2" (diagonal de 13.3mm) y una resolución de 2.3 megapíxeles (1216x1920 píxeles), fue controlada a través del software ZEN 2.5 (*Blue edition*, 2018) del mismo fabricante. Se utilizó la calibración de la cámara que viene de fábrica del microscopio para la configuración utilizada (Ver config.), donde las medidas de 1 píxel son de $0.586 \mu\text{m} \times 0.586 \mu\text{m}$. Cada *tile* individual tiene dimensiones de $713 \mu\text{m} \times 1125 \mu\text{m}$.

Se configuró el software para adquirir las imágenes por transmisión, en particular se eligió la fuente de luz blanca y para cada medición su intensidad, además del tiempo de exposición de la cámara. Como la cámara tiene otro arreglo óptico que el ocular, el plano focal de la superficie del filtro elegida para medir se encuentra a una distancia distinta entre el objetivo y la muestra. En consecuencia, con las perillas manuales del microscopio se pone en foco la imagen observando la adquisición en vivo en la computadora.

la iluminación de campo oscuro (en inglés *dark field*).

3.3.1 Tile scan

A continuación se explica cómo se adquirieron las imágenes para una determinada región del filtro, ya sea para el filtro completo a excepción de la banda del NIR ó para cada banda espectral del filtro en particular.

La palabra en inglés *tile* significa baldosa (ver Figura 3.9) en castellano y realizar un *tile scan* implica realizar un barrido de adquisición de imágenes de una cierta área a elección de una muestra donde el área total a adquirir está compuesta por múltiples baldosas. Cada baldosa, es decir cada *tile* constituye una imagen del microscopio de acuerdo al *field of view* (FOV)⁵ que se tiene del arreglo óptico de la cámara integrada al microscopio.

Hay distintas formas de elegir el área total a adquirir en el software. Se eligió la opción de determinar la región a adquirir a partir de la selección visual individual de las cuatro esquinas de la misma, como se muestra en la Figura 3.9. Para elegir estas esquinas el microscopio cuenta con un *joystick* que permite mover la platina motorizada del microscopio en el plano de la imagen.

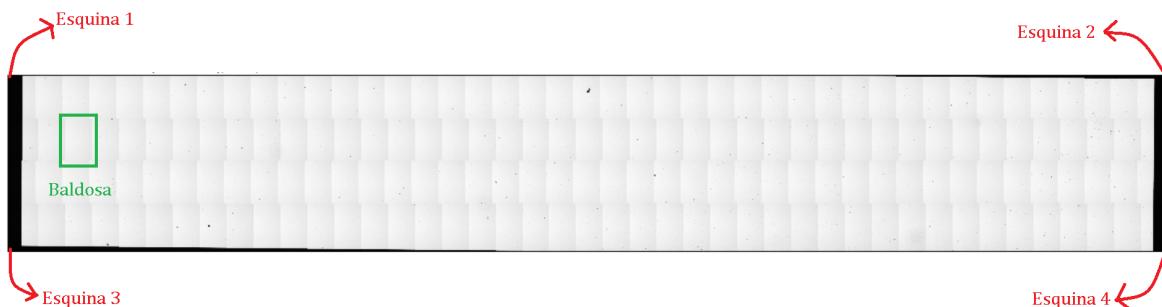


Figura 3.9: *Tile scan* de la banda pancromática.

Entre otros parámetros del barrido, se elige el *overlap* entre las baldosas, es decir la superposición entre las mismas que luego permite obtener una imagen completa individual para su visualización, realizando un *stitching*⁶ como post-procesamiento de las imágenes. Este último procedimiento también fue realizado con el software de Zeiss. Se configuró el *overlap* en

⁵En castellano es el campo de visión y representa el área física de la imagen, que para el caso de una cámara el FOV viene dado por el cociente entre el tamaño del sensor CMOS y la magnificación del microscopio.

⁶El *stitching* es el proceso computacional por el cual se combinan múltiples *tiles* para producir una sola imagen que permita una mejor visualización (Ver técnica SIFT (*Scale Invariant Feature Transform*), [Lowe, 1999]).

3. Cuantificación de los defectos

10% para todas las mediciones, siendo este valor el mínimo encontrado para que el *stitching* entre las imágenes consecutivas sea realizado correctamente sin dejar espacios en blanco y para que dicha superposición elimine la menor cantidad de defectos posibles. Por último, se elige en la configuración que cada baldosa sea exportada como una imagen individual para su posterior análisis.

⚠ Advertencias:

- Cada barrido completo de una banda es guardado por el software de Zeiss en un archivo de extensión .czi que contiene toda la *metadata* como la información referida a la configuración del microscopio utilizada. Dicho archivo puede ser manipulado con el software de Zeiss, ó con el Fiji-ImageJ (tiene más herramientas que el software ImageJ a secas) ó a través del lenguaje *python* utilizando la librería *czifile* (Ejemplo sencillo: ).
- El archivo .czi de la banda completa además contiene todas las *tiles* del barrido que pueden ser exportadas como archivos individuales utilizando las herramientas de procesamiento del software de Zeiss [Zeiss, 2014]. Es muy importante exportar dichas imágenes eligiendo un formato de imagen que no modifique la calidad de la imagen original, esto es, que no se pierda precisión sobre los valores de intensidad de cada píxel.
- Se recomienda para el guardado, manipulación, operaciones, etc., utilizar el formato de imagen TIFF (*Tagged Image File Format*) pues es un formato que guarda los datos de intensidad de cada píxel originales, sin pérdida de precisión por compresión. Y, definitivamente no se puede utilizar el formato de imagen JPEG (*Joint Photographic Experts Group*) en el campo de la microscopía pues el tipo de compresión que realiza sobre los datos originales resulta en una pérdida de precisión.
- Por último, se hace notar que la pérdida de precisión de una imagen puede ocurrir tanto en el guardado como en las operaciones sobre las imágenes. Un ejemplo de esta pérdida de precisión sería convertir las imágenes de una precisión original de 16 bits ($2^{16} = 65536$ posibles valores de intensidad) a una precisión de 8 bits ($2^8 = 256$). Este inconveniente podría ser producido automáticamente por ejemplo en alguna operación utilizando la librería *scikit-image* [Van der Walt et al., 2014], por lo que se sugiere controlar la precisión con la que se manipulan las imágenes en cada operación realizada.

3.3.2 Superficies y mapa de los defectos del filtro

Se adquirieron imágenes completas del filtro, a excepción de la banda espectral del NIR, para las dos superficies exteriores del filtro como se muestra en las Figuras 3.10 y 3.11. Las dos superficies exteriores denominadas arbitrariamente A y B son las que se muestran especificadas en la Figura 3.12 y que se encuentran en la interfaz filtro-aire.

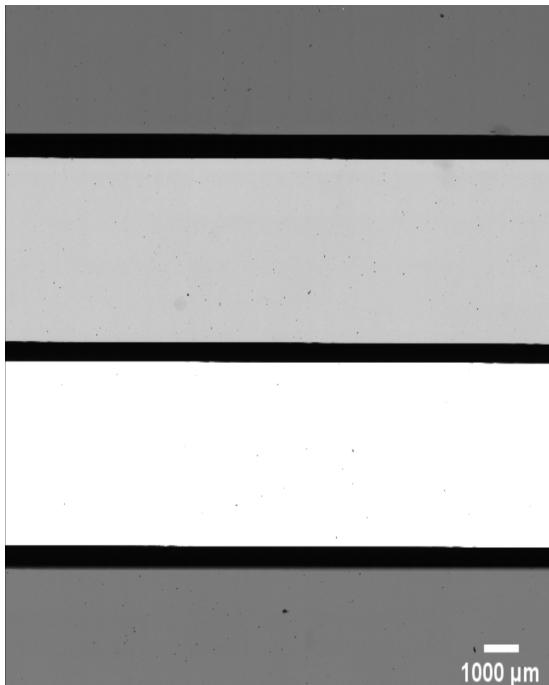


Figura 3.10: Imagen de la superficie exterior A del filtro, para un barrido de 15.54 mm x 14.94 m.

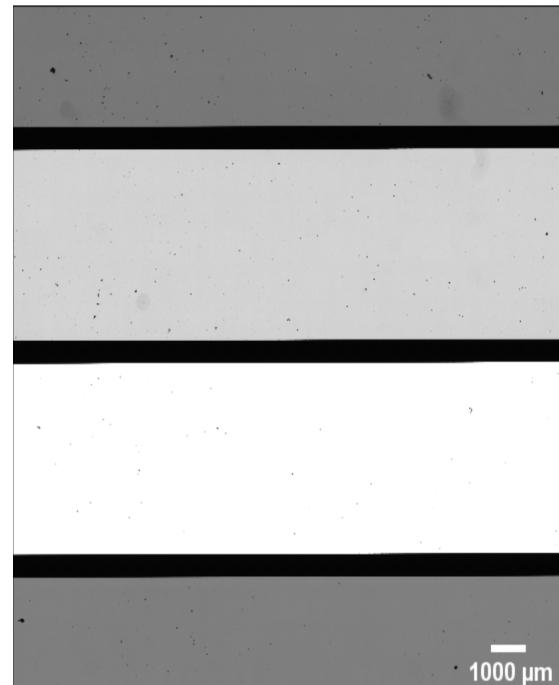


Figura 3.11: Imagen de la superficie exterior B del filtro, para un barrido de 15.50 mm x 15.55 mm.



Figura 3.12: Dimensiones del espesor del filtro. Las superficies exteriores del filtro son las superficies A y B, que se encuentran en la interfaz filtro-aire.

En las Figuras 3.10 y 3.11 se muestran las bandas espectrales del filtro en orden descendente: Azul (450-510 nm), Verde (510-580 nm), Pancromática (450-750 nm), Roja (590-690 nm). El brillo, el contraste y el tamaño de las imágenes originales fueron modificados para obtener una mejor visualización, utilizando el software FIJI-ImageJ.

Para realizar el barrido completo de cada superficie se verificó en las cuatro esquinas de la superficie a medir que no se pierda el foco de la imagen. Se eligió la intensidad de la fuente de luz y el tiempo de integración de la cámara tales que no saturen alguna de las bandas del filtro de forma tal poder adquirir una imagen completa del filtro en un solo barrido, y de forma tal que se utilice la mayor parte del rango dinámico de la cámara, como se puede ver en el histograma de la intensidad de los píxeles de la Figura 3.13 para el barrido de la superficie A del filtro.



Figura 3.13: Histograma de la intensidad de los píxeles de la cámara del barrido de la superficie exterior A del filtro.

Se hace notar que la banda del NIR no pudo ser adquirida en el barrido completo de las superficies exteriores del filtro pues con los valores de intensidad de la lámpara y del tiempo de adquisición de la cámara fijados para que ninguna de las bandas del filtro sature, no era posible obtener una imagen de esa banda. Si bien la cámara tiene un rango de sensibilidadpectral comprendido entre los 350 nm y los 1000 nm de acuerdo a su hoja de datos [?], del gráfico de la eficiencia cuántica⁷ se desprende que para la regiónpectral del NIR tiene una eficiencia cuántica menor al 30% (Ver Figura 3.14). A esto se le suma el hecho de que la fuente de luz tiene un espectro de emisión de baja intensidad en la región del NIR, como se

⁷La eficiencia cuántica, en inglés *Quantum efficiency* (QE), es una medida precisa de la sensibilidad de un dispositivo fotosensible que permite determinar como es la respuesta del dispositivo para cada longitud de onda.

3. Cuantificación de los defectos

muestra en el gráfico de la intensidad en función de la longitud de onda de la Figura 3.15. Dicho espectro fue medido con el espectrómetro CCS200 de Thorlabs.

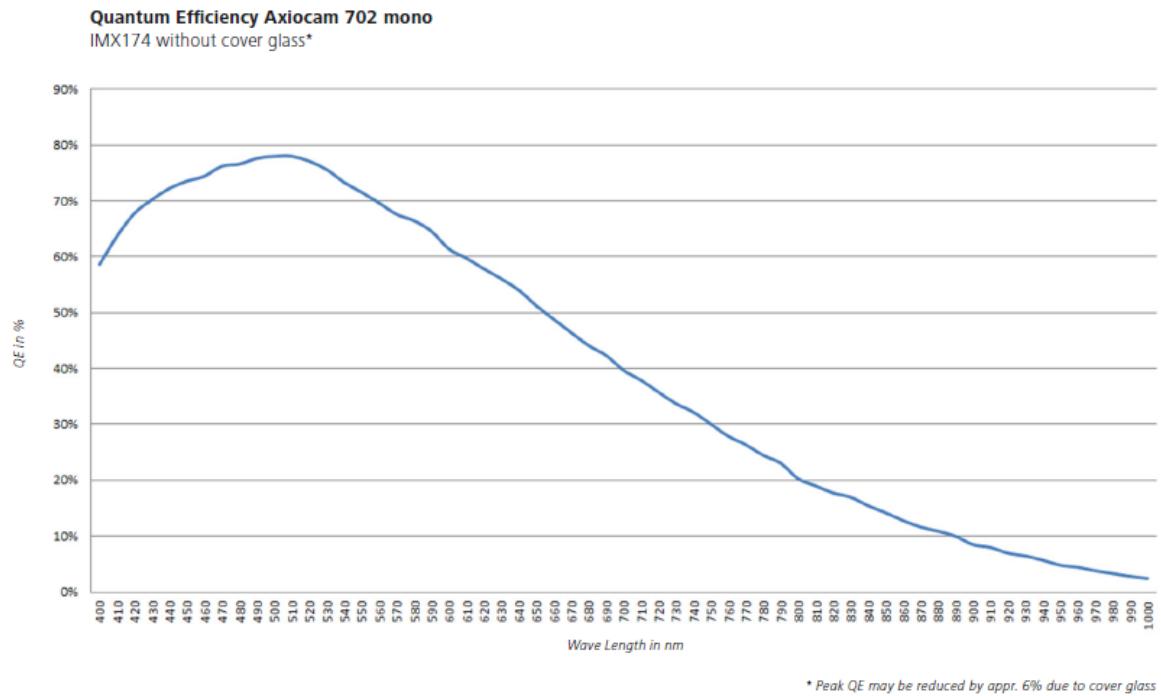


Figura 3.14: Gráfico de la eficiencia cuántica de la cámara monocromática del microscopio Axiocam 702 en función de la longitud de onda.

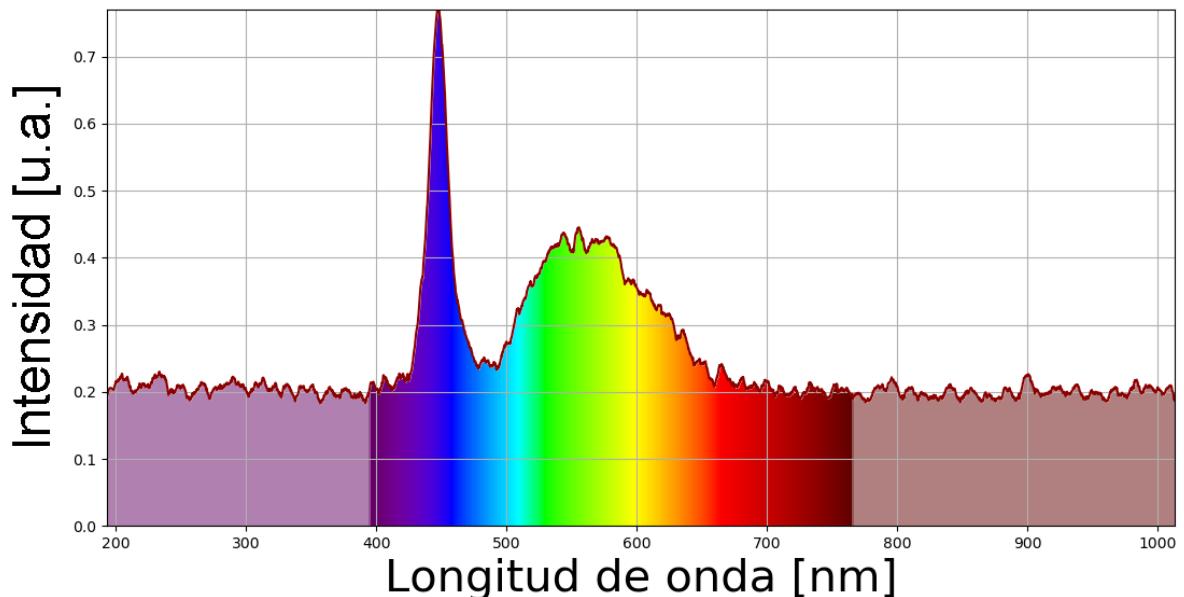


Figura 3.15: Espectro de emisión de la fuente de luz del microscopio.

Ahora bien, la banda espectral del NIR fue medida individualmente posteriormente como se explica más adelante. Para poder obtener una imagen del filtro completo, incluida la banda del NIR, se debería cambiar la fuente de luz por una que tenga una mayor intensidad en dicha región espectral.

La imagen completa de cada superficie exterior del filtro permitió:

- Realizar un primer diagnóstico visual por imagen de la calidad óptica de construcción del filtro.
- Determinar que ninguna de las dos superficies exteriores del filtro presentaba una cantidad mayor notable de defectos que la otra como se puede observar en las Figuras 3.10 y 3.11, por lo que el análisis individual de cada una de las bandas fue realizado sobre una de las caras únicamente.
- Observar los tipos de defectos.
- Obtener un mapa de los defectos con su ubicación precisa en la superficie del filtro.

A continuación se explica el proceso de adquisición de las imágenes individuales de cada banda espectral, el pre-procesamiento de las mismas que consiste en la corrección de la iluminación no uniforme del microscopio y luego se describe el algoritmo de detección de los defectos.

■ **3.3.3 Adquisición de imágenes individuales de cada banda espectral**

Para realizar una cuantificación de los defectos del filtro, se adquirieron imágenes individuales de cada banda espectral del filtro para una de las superficies exteriores del filtro. Para cada banda, se configuró la intensidad de la lámpara y el tiempo de integración de la cámara de forma tal de utilizar la mayor parte del rango dinámico de la cámara que se encuentra alrededor del 70 % recomendado por el fabricante y de esta forma obtener la mejor calidad de imagen para el posterior análisis de cada banda. Así también se verificó que las cuatro esquinas de la banda a medir estuvieran en foco a partir de la visualización en vivo de la cámara. Dichas esquinas fueron elegidas en el software para determinar el área a ser barrida

con el *tile scan* teniendo cuidado de no incluir parte del cromo en el campo de visión de la imagen. Esto resultó importante pues de lo contrario el algoritmo de detección de los defectos detectaba al cromo como un centenar de defectos, que serían falsos positivos de defectos, lo que arruinaría claramente el análisis estadístico que se muestra más adelante.



Figura 3.16: Imagen de la banda roja del filtro obtenida mediante un *Tile scan*.

En la Figura 3.16 se muestra la adquisición de la banda roja obtenida mediante un *tile scan* de 27.65 mm x 4.16 mm, compuesta por 124 *tiles*, con la intensidad de la lámpara configurada en 30% y el tiempo de exposición de la cámara fue de 13 ms. En la sección de Resultados se muestran las adquisiciones de cada banda junto a su análisis y su discusión.

A continuación se da una breve explicación sobre las consecuencias de una iluminación no uniforme del microscopio sobre una muestra y como esto repercute en la segmentación⁸ posterior de los defectos. Luego se explica el procesamiento de las imágenes realizado para obtener la cuantificación de los defectos de cada banda del filtro.

3.4 Iluminación no uniforme del microscopio

Las imágenes microscópicas pueden estar corrompidas por las variaciones de intensidad debido a las imperfecciones inherentes del proceso de formación de imágenes. Estas variaciones de intensidad pueden venir dadas por la iluminación no uniforme de la muestra, por la orientación misma de la muestra al montarla sobre la platina del microscopio ó por el efecto de *vignetting* (la aparición de bordes negros en las imágenes) propio de la configuración del sensor de la cámara. Estos efectos pueden dar lugar a falsos positivos⁹ en el proceso de segmentación de los defectos, lo que constituye un grave problema a solucionar.

⁸En el contexto de la presente tesis, el término segmentación hace referencia a la identificación individual de cada defecto presente en una imagen.

⁹En el contexto de esta tesis, un falso positivo consistiría en la detección errónea mediante un algoritmo de procesamiento de imágenes de un defecto que en realidad no lo es.

La desalineación de alguno de los componentes que se encuentran en el camino óptico entre la fuente de luz y el sensor de la cámara con el que se adquieren las imágenes (Ver Figura 3.17), es una causa muy importante de la iluminación no uniforme de la muestra que se está analizando. En la Figura 3.18 se puede observar un ejemplo de una imagen adquirida con una iluminación no uniforme.

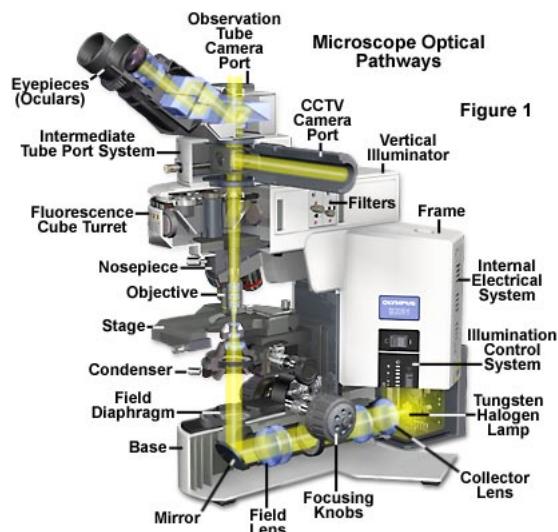


Figure 1

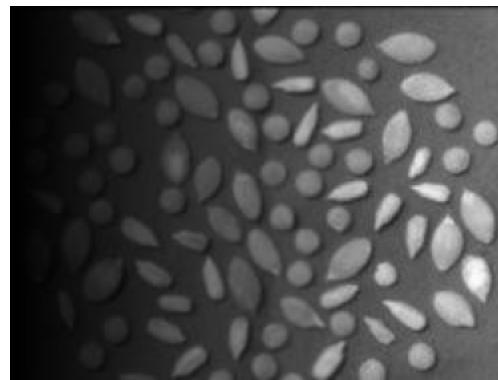


Figura 3.17: Camino óptico de la luz desde su fuente de emisión hasta la detección en el sensor de una cámara digital. Adaptado de <https://bit.ly/2xrh8Jh>

Figura 3.18: Ejemplo de imagen con una iluminación no uniforme.

Una imagen microscópica adquirida idealmente con una iluminación perfectamente uniforme tendría una imagen de fondo (*background image*) como la que se muestra en la Figura 3.19. La imagen de fondo es una imagen que contiene en cada píxel la información de la iluminación del microscopio bajo ciertas condiciones de intensidad de la fuente de luz y del tiempo de integración del sensor de la cámara utilizado. Experimentalmente, dicha imagen puede ser obtenida colocando un portaobjeto sin la muestra, en las mismas condiciones de iluminación y foco (misma distancia muestra-objetivo). Si dicha imagen de fondo experimental no pudiera ser adquirida pero se cuenta con un gran número de imágenes bajo las mismas condiciones experimentales, una imagen de fondo puede ser generada tomando la mediana del conjunto de imágenes como se explica más adelante.

Para medir la uniformidad de la iluminación se utilizan los histogramas de las imágenes.

Una imagen monocromática es manipulada computacionalmente como una matriz donde cada elemento de la matriz representa el valor de intensidad de dicho píxel asociado. El histograma de una imagen es la representación de la distribución de intensidad de la misma y se lo define como el número de píxeles presentes en una imagen con un cierto valor de intensidad.

En la Figura 3.19 se muestra una imagen de fondo ficticia que tendría una iluminación ideal uniforme y sin problemas de *vignetting*. Dicha imagen tiene un histograma como el que se muestra en la Figura 3.20, en el que se puede observar que todos los píxeles de la imagen tienen el mismo valor de intensidad, lo que demuestra que el fondo es perfectamente homogéneo.

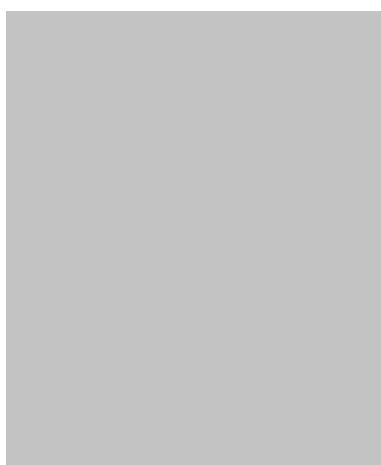


Figura 3.19: Imagen de fondo con una iluminación uniforme ideal y sin problemas de *vignetting*.

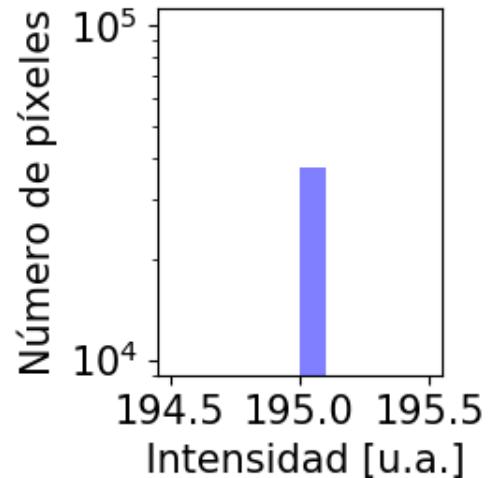


Figura 3.20: Histograma de la intensidad de los píxeles de la imagen de fondo ideal.

En adelante, el fondo de cada imagen será denominado el *background* de la imagen, para diferenciarlo de los defectos que se encuentran en lo que en adelante se llamará el *foreground* de la imagen. Para resaltar la importancia de la corrección de la iluminación no uniforme y del *vignetting*, supongamos una imagen ficticia de alguna banda del filtro analizado en la presente tesis, adquirida con una iluminación de fondo uniforme ideal y sin problemas de *vignetting*, donde se puedan observar dos defectos (en color negro).

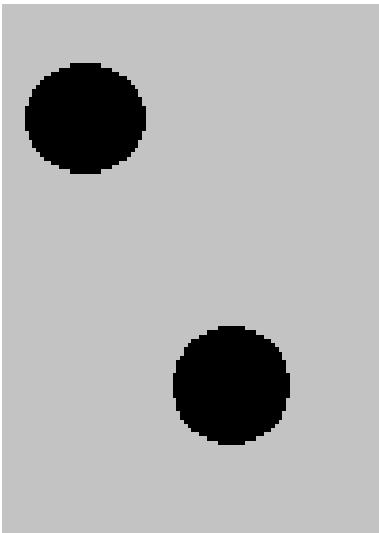


Figura 3.21: Imagen con dos defectos con una iluminación uniforme ideal y sin problemas de *vignetting*.

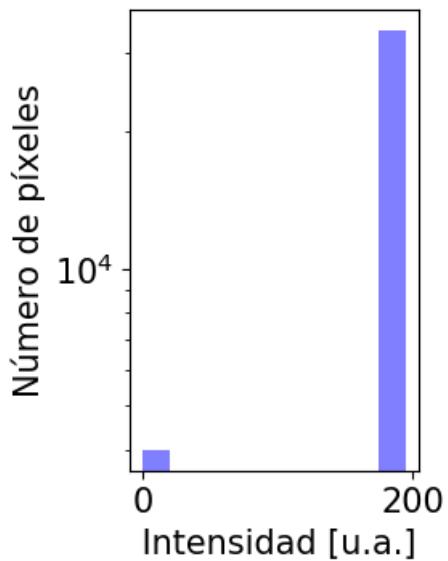


Figura 3.22: Histograma de la intensidad de los píxeles de la imagen con dos defectos con una iluminación uniforme ideal y sin problemas de *vignetting*.

En la Figura 3.22 se muestra el histograma de la intensidad de los píxeles de la imagen con dos defectos con una iluminación uniforme ideal y sin problemas de *vignetting*. En dicho histograma se distingue de forma binaria el *foreground* (defectos) con valores de intensidad iguales a 0, del *background* con valores de intensidad iguales a 195. Bajo estas condiciones ideales, la segmentación de los defectos puede ser realizada de inmediato eligiendo cualquier umbral de intensidad que se encuentre entre el *foreground* y el *background*.

A continuación se explica el análisis computacional de las imágenes realizado desde su pre-procesamiento, la segmentación posterior y finalmente la cuantificación de los defectos.

3.5 Pre-procesamiento de las imágenes de cada banda espectral

El análisis de las imágenes fue realizado sobre cada *tile* individual del barrido completo de una banda, dado que su tamaño típico es de 3 MB por lo que el procesamiento en la

computadora es mucho más rápido que el de analizar las imágenes de una banda completa¹⁰, de tamaños típicos de 1 GB ó del filtro completo que tienen más de 5 GB.

El pre-procesamiento de las imágenes individuales de cada banda espectral consistió en la corrección de la iluminación no uniforme del microscopio que se realiza normalizando las imágenes individuales del barrido con una imagen de fondo [Nordenfelt et al., 2018]. Este pre-procesamiento consistió de los siguientes pasos:

1. Generación de la imagen de fondo.
2. Normalización de las imágenes individuales del barrido de una banda con la imagen de fondo.
3. Expansión del histograma (*Histogram equalization* [Jain, 1989]).

■ 3.5.1 Generación de la imagen de fondo:

Se construyó computacionalmente la imagen de fondo de cada banda a partir de tomar la mediana para cada píxel de todas las imágenes individuales adquiridas de la banda. Esta imagen de fondo contiene la información de la no uniformidad de la iluminación del microscopio. Dicha imagen debe ser generada para cada banda en particular ya que cada una de las bandas fue adquirida en ciertas condiciones de intensidad de la fuente de luz y del tiempo de integración de la cámara.

¹⁰Vale aclarar que las imágenes completas ya sea de una banda ó las del filtro completo, fueron el resultado de realizar un *stitching* de todas las *tiles* individuales de cada adquisición y, fueron procesadas de esta manera simplemente para optimizar su visualización pero no para realizar el análisis ni detección de defectos sobre las mismas.

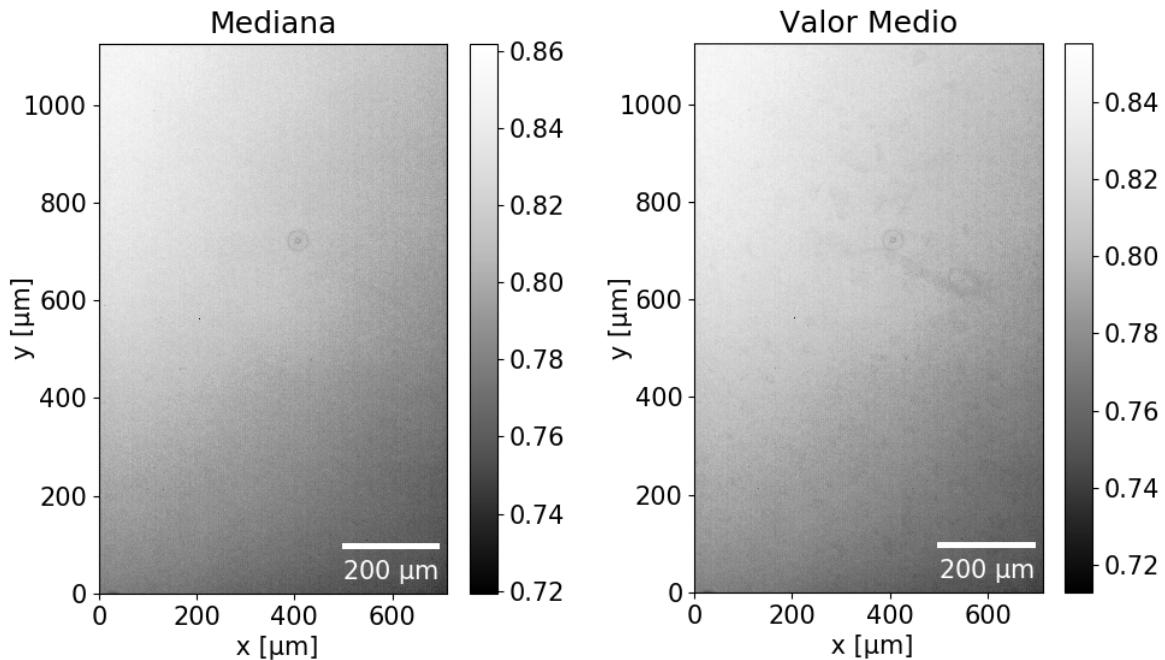


Figura 3.23: Imagen de fondo de la banda azul del filtro obtenida tomando la mediana para cada píxel de todas las imágenes del barrido.

Figura 3.24: Imagen de fondo de la banda azul del filtro obtenida tomando el valor medio para cada píxel de todas las imágenes del barrido.

En la Figura 3.23 se muestra la imagen de fondo generada para la banda azul, cuya intensidad de la fuente de luz fue configurada en 30% y el tiempo de integración de la cámara fue de 40 ms. Los dos discos concéntricos que se observan en la imagen son resultado de alguna reflexión no deseada en el microscopio, ya advertida por otros usuarios del equipo. Dichos discos fueron observados en la adquisición de las cinco bandas.

Al mismo tiempo, se observa en la imagen de fondo de la Figura 3.23 que la iluminación del microscopio no es idealmente uniforme sino que presenta un rango de valores de intensidad que contienen píxeles más brillantes (extremo superior izquierdo) en conjunto con píxeles más oscuros (extremo inferior derecho). Esto último puede ser el efecto de alguna desalineación de la configuración del microscopio.

En la Figura 3.25 se muestran los histogramas de la intensidad de los píxeles de las imágenes de fondo generadas a partir de tomar la mediana y el valor medio. En la misma figura se graficaron las curvas de densidad estimadas a partir de los datos originales. Se observa que la imagen de fondo generada con el valor medio tiene una mayor cantidad de

píxeles más oscuros que la imagen de fondo generada con la mediana. Los valores atípicos (en inglés *outliers*) de intensidad influencian enormemente el valor medio de los datos. Dichos *outliers* pueden observarse como manchas presentes en la imagen de fondo generada a partir del valor medio de la Figura 3.24 y en la curva de densidad esto se refleja en el hecho de que la curva del valor medio tiene una mayor concentración en las menores intensidades que la curva de la mediana. Ahora bien, la curva de densidad de la imagen de la mediana muestra que la generación de la imagen de fondo tomando la mediana es una forma exitosa de evitar incluir los *outliers* en la imagen. Resulta fundamental deshacerse de estos *outliers* en la imagen de fondo para no corromper las imágenes individuales del barrido. Esto es, si se utilizara la imagen de fondo del valor medio para corregir la iluminación no uniforme en las imágenes individuales, las mismas tendrían luego los *outliers* presentes.

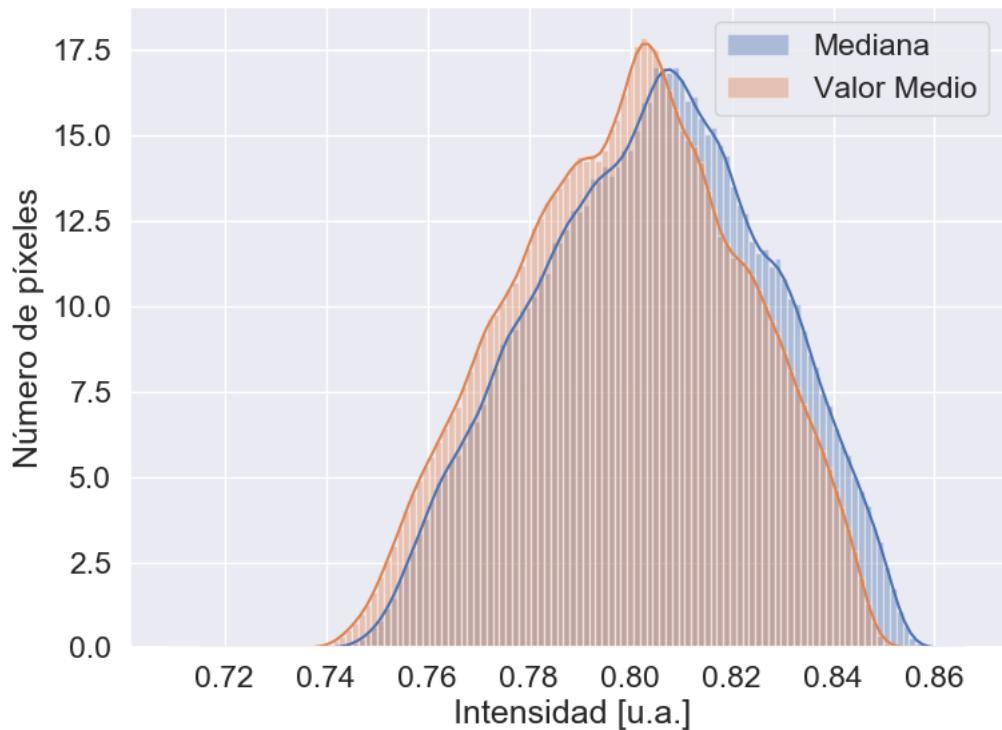


Figura 3.25: Histogramas de las imágenes de fondo de la banda azul del filtro generadas a partir de tomar el valor medio y la mediana para cada píxel del conjunto de imágenes de la banda. Se graficaron simultáneamente las curvas de distribución estandarizadas a partir de los datos de las imágenes. El eje vertical se encuentra normalizado por el máximo valor de la frecuencia de píxeles para un cierto valor de intensidad.

Por completitud, las imágenes de fondo de cada banda pueden ser descargadas en el

siguiente link. Se hace notar por un lado que para generar la imagen de fondo se utilizaron las imágenes originales de cada banda y que al ser manipuladas en el lenguaje de programación *python* para tomarles la mediana, dichas imágenes fueron tratadas como matrices donde cada elemento de matriz contenía un valor numérico cuyo tipo de dato computacional era un entero sin signo de 16 bits de precisión, es decir un número entre 0 y 65536. Dichos valores son tratados como números de punto flotante, con una precisión de 64 bits al momento de tomar la mediana para cada píxel del conjunto de imágenes. En consecuencia la imagen de salida tiene la misma precisión y los valores de intensidad son reescalados al intervalo comprendido entre 0 y 1.

A continuación se explica el proceso de corrección de la iluminación no uniforme del microscopio en las imágenes individuales de cada banda adquirida.

3.5.2 Normalización de las imágenes individuales del barrido de una banda con la imagen de fondo

Con la imagen de fondo ya construida, se normalizaron las imágenes originales del barrido completo de una banda[Nordenfelt et al., 2018] con el objetivo de corregir la iluminación no uniforme del microscopio y para eliminar la reflexión no deseada del objetivo del microscopio presente en todas las imágenes (discos concéntricos de la Figura 3.23). Esta normalización fue realizada a partir de los siguientes pasos:

1. Se calcula el valor medio de la intensidad de la imagen de fondo (*bg_img*) y de la imagen individual (*tile_img*) de una banda a normalizar. Esto es, se calcula la media aritmética de todos los elementos de matriz que representan a cada imagen, que es el resultado de la división entre la suma de todos los elementos de la matriz y el número total de los mismos.
2. Se multiplican la imagen de fondo por el valor medio de la imagen individual y viceversa, es decir:

$$bg_pes = \text{mean}(tile_img) \cdot bg_img \quad (3.5)$$

$$tile_pes = \text{mean}(bg_img) \cdot tile_img \quad (3.6)$$

3. Cuantificación de los defectos

, donde bg_pes y $tile_pes$ son la imagen de fondo y la imagen individual pesadas con la contribución del valor medio de la imagen correspondiente.

En las Figuras 3.26 y 3.27 se muestra una imagen de una *tile* individual del barrido de la banda del NIR antes y después de ser normalizada, respectivamente.

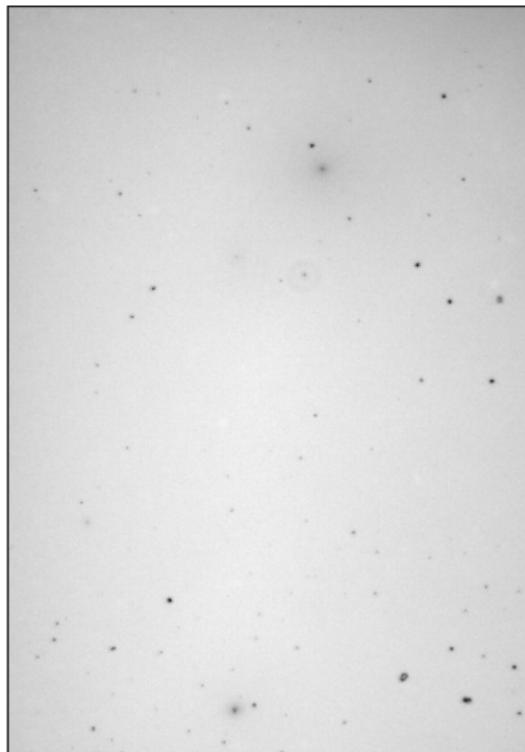


Figura 3.26: Imagen original de una *tile* del barrido completo de la banda del NIR.

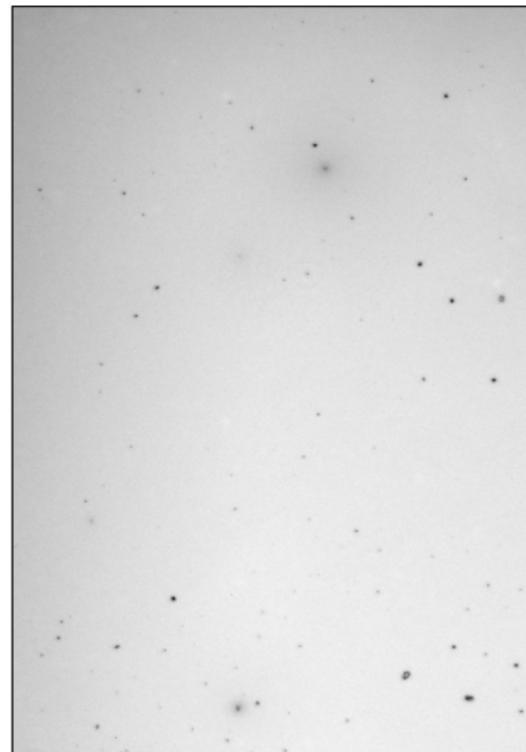


Figura 3.27: Imagen normalizada a partir de la imagen de fondo.

restar las dos imágenes, mejorar eso.

Resultó fundamental realizar esta corrección de la no uniformidad de la iluminación ya que facilitó la segmentación de los defectos contenidos en cada imagen y su posterior cuantificación.

3.6 Algoritmo de detección de los defectos

Con las imágenes pre-procesadas la detección de los defectos fue realizada utilizando algoritmos de procesamientos de imágenes. El algoritmo consistió de los siguientes pasos:

1. Se determina el valor de intensidad umbral (en adelante, *threshold*) a partir del cual se distingue entre un defecto en la región de la imagen que se *foreground* y el fondo de la imagen (*background*).

decir algo primero de que este m[etodo est[a bueno xq si uno no es el usuario del equipo sino solo el que procesa las imágenes que fueron sacadas hace mucho y no se saben los valores de intensidad y de integración etc con esto se salva y puede corregirlas igual..

3.7 Resultados del algoritmo de detección de los defectos

Los resultados del algoritmo de detección de los defectos son guardados en un archivo *pickle*¹¹ que puede ser abierto y manipulados sus datos con la librería *pandas* de python en el marco de lo que se conoce como un *pandas dataframe* que no es más que un objeto de python que permite una manipulación de los datos muy eficiente. A continuación se muestra un resumen de los resultados para cada bandapectral del filtro.

¹¹Con el módulo *pickle* de python se puede serializar cualquier tipo de objeto de python y guardarse en un archivo *pickle*, de extensión .pkl, que resulta muy eficiente tanto en su escritura como en su lectura.

3.7.1 Defectos de la banda NIR

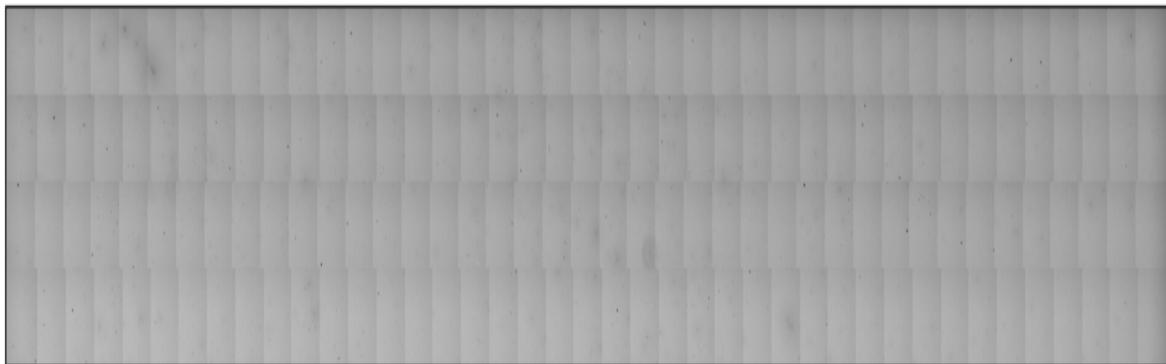


Figura 3.28: tile scan obtenido de la banda NIR de 26.37 mm x 4.16 mm.

	area	convex_area	filled_area	major_axis_length	minor_axis_length	perimeter	equivalent_diameter	extent	img
count	3929.000000	3929.000000	3929.000000	3929.000000	3929.000000	3929.000000	3929.000000	3929.000000	3929.000000
mean	13.713378	14.909802	13.754019	3.358740	2.394263	8.601205	2.949360	0.278969	84.883431
std	36.519524	41.052728	36.668199	4.005582	2.763821	12.359992	2.960392	0.052920	46.991524
min	0.343396	0.343396	0.343396	0.000000	0.000000	0.000000	0.661230	0.083248	0.000000
25%	0.686792	0.686792	0.686792	1.172000	0.000000	0.000000	0.935121	0.240377	50.000000
50%	3.090564	3.090564	3.090564	2.354074	1.640458	4.688000	1.983691	0.268553	79.000000
75%	11.332068	12.018860	11.332068	4.399157	3.409075	11.518917	3.798478	0.343396	128.000000
max	533.980780	649.705232	533.980780	61.822143	24.456808	171.341665	26.074613	0.343396	160.000000

Figura 3.29: Tabla del resumen de resultados del dataframe de la banda NIR.

3.7.2 Defectos de la banda Roja



Figura 3.30: tile scan obtenido de la banda roja de 26.37 mm x 3.15 mm.

3.7. Resultados del algoritmo de detección de los defectos

	area	convex_area	filled_area	major_axis_length	minor_axis_length	perimeter	equivalent_diameter	extent	img
count	2924.000000	2924.000000	2924.000000	2924.000000	2924.000000	2924.000000	2924.000000	2924.000000	2924.000000
mean	18.393882	19.606573	18.474564	3.937260	2.841228	10.052849	3.413101	0.273323	65.478796
std	56.926800	61.910675	57.292946	4.457714	3.093911	13.446001	3.431411	0.048943	37.728198
min	0.343396	0.343396	0.343396	0.000000	0.000000	0.000000	0.661230	0.104927	0.000000
25%	1.373584	1.373584	1.373584	1.353309	0.781333	2.000729	1.322460	0.241649	31.000000
50%	4.807544	5.150940	4.807544	2.974797	2.156166	6.830917	2.474097	0.263270	73.000000
75%	15.109424	15.796216	15.109424	4.969675	3.980358	13.419104	4.386105	0.314780	99.000000
max	905.191856	929.229576	905.191856	52.271565	30.124787	144.805082	33.948874	0.343396	122.000000

Figura 3.31: Tabla del resumen de resultados del dataframe de la banda roja.

El código de este capítulo fue escrito utilizando python 3.6.7 y paquetes numpy 1.17.3, scikit-image 0.16.2 y matplotlib 3.1.2, entre otros.

En el capítulo 3 se realizó una descripción cuantitativa de los defectos: se determinó su tamaño, área, la cantidad de defectos presentes en cada banda. Este tipo de análisis de los defectos sigue la línea de las especificaciones técnicas de *scratch & dig* y la ISO 10110 en cuanto a que no realizan un análisis cualitativo de los defectos. En el presente trabajo se montó un microespectrómetro para caracterizar espectralmente los defectos. Esto es,

Eventualmente la sección características del filtro va en la intro?

en la sección características del filtro, en el ítemize de las bandas..ver de explicar para qué sirve cada banda, usar por ej: link

si hace falta explicar un poco en que consisten los filtros ópticos de interferencia..

3. Cuantificación de los defectos

explicar que tipo de lampara es la del Zeiss

Cómo asociar errores a las dimensiones medidas tanto con el fiji como con el algoritmo. Al error de las imágenes del zeiss se le pone la calibración, por ej $\pm 0.586 \mu\text{m}$, aprox 0.59 micrones de error

hace falta explicar las cuentas de la normalización de las imagenes.. o que lean la cita de nordenfelt

estimacion de errores, ROI estimacion de falsos positivos falsos negativos tasa de error del sistema, por inspeccion visual nomas

ver imagenes y cuantificar cuantos defectos de los mas chicos no agarra, se hace a ojo si o si, revisar banda completa tomando nota de defectos reales vs defectos encontrados y cuantificarlo de alguna manera

diagrama de flujo para el algoritmo de detección

explicar que tipo de lampara es, escuchar audio hernan, poner el codigo de github del espectro con colores facha

..... 3.7. Resultados del algoritmo de detección de los defectos

buscar warning box FACHA

Falta: poner siempre la barrita de la escala en las imágenes

Capítulo 4

**Desarrollo XZStage y calibración - Desarrollo del
software integrando el arduino con algoritmos
asincrónicos**

Capítulo 5

Microespectrómetro

En este capítulo se describe el montaje y la caracterización de un microespectrómetro utilizado para caracterizar espectralmente los defectos del filtro.

5.1 Diseño óptico del microespectrómetro

5.2 Montaje y alineación preliminar del microespectrómetro

5.3 Foco y resolución espacial del microespectrómetro

Para poner en foco el microespectrómetro sobre la cara externa del filtro más cerca al objetivo, se buscó el mínimo de la resolución espacial.

La resolución espacial se obtiene a partir del ajuste de las mediciones de una transición banda-cromo.

Para no alargar el tiempo de duración de las mediciones se mapeó el espectrómetro con la cámara. De lo contrario el único feedback que se tiene para saber si se está en una banda o en el cromo es la medición del espectro.

En consecuencia se conectó la fibra óptica montada sobre el cage destinado a medir con el

5. Microespectrómetro

espectrómetro, a la fuente de luz y por reflexión se observó en la adquisición en vivo de la cámara en qué posición de la imagen se observaba el haz de luz reflejado. Se centró dicho haz al centro de la cámara y de esa forma se determinó que el centro de la cámara está asociado con la medición efectiva del microespectrómetro. Se hace notar que la cámara no se encuentra en foco todavía, solo fue puesta aproximadamente a la misma distancia focal que la lente de tubo.

El setup para realizar este mapeo es el siguiente:

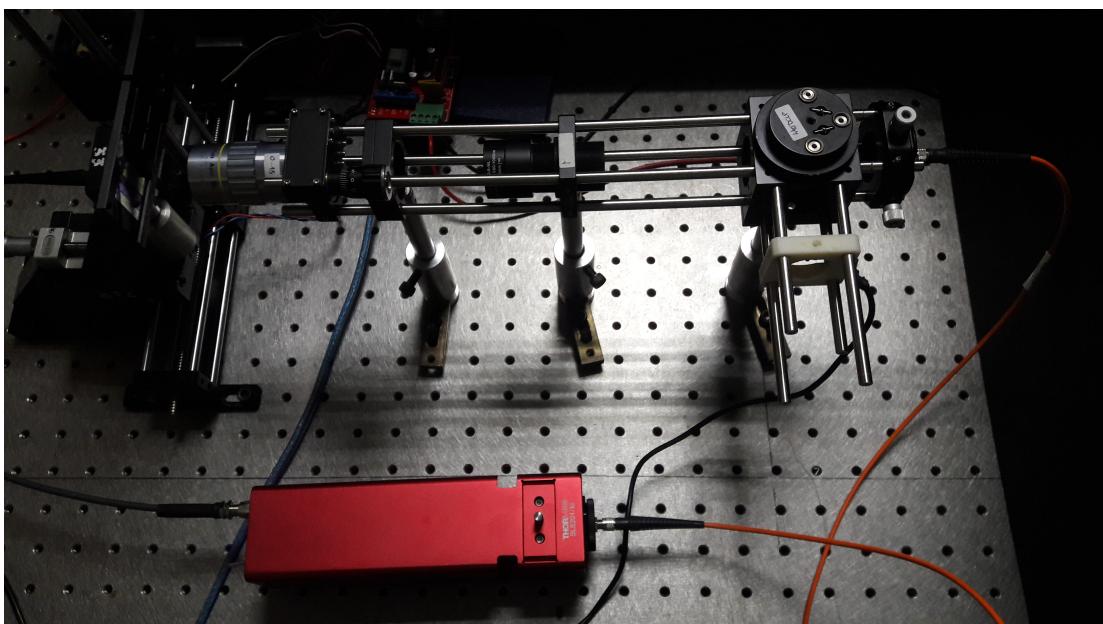


Figura 5.1: Setup para mapear el espectrómetro con la cámara.

Con los tornillos de la tapa de arriba del beamsplitter se puede ajustar en altura el beamsplitter para poder observar en el centro de la cámara la medición del espectrómetro.



Figura 5.2: Tapa de arriba del beamsplitter.

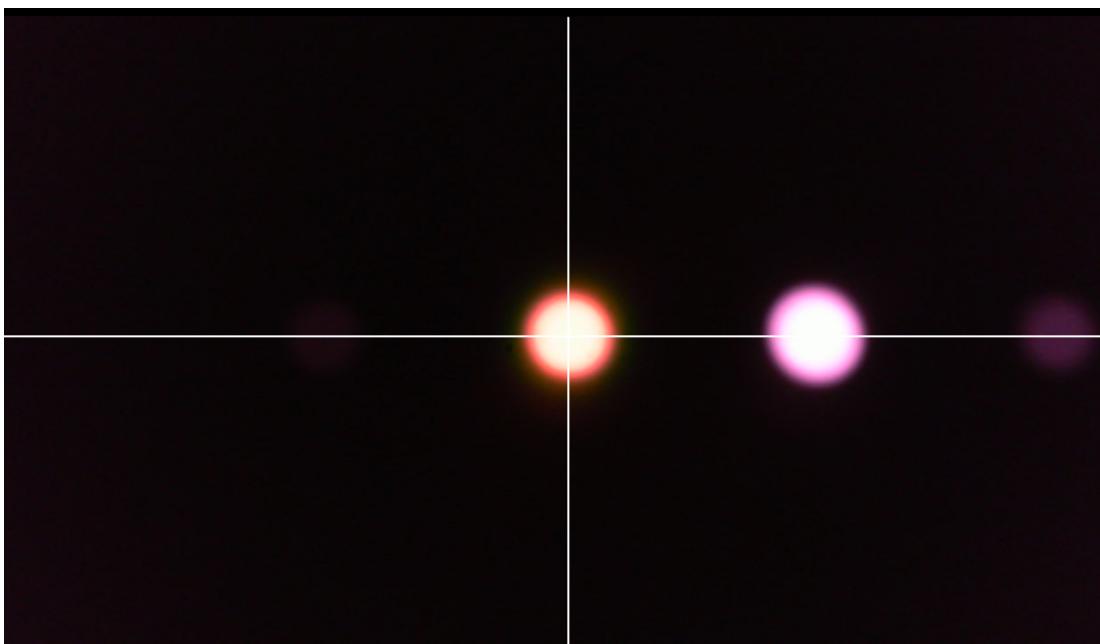


Figura 5.3: Visualización en la cámara de la reflexión del filtro de la iluminación.

No se tocó ni la cámara ni ninguna parte del setup a partir de ese momento para no perder este mapeo, a pesar de que la cámara no se encuentre perfectamente en foco (no hace falta probablemente poner una imagen de la cámara mostrando que no está en foco..), es decir que la imagen no se vea del todo nítida. Luego se puso en foco el microespectrómetro.

5. Microespectrómetro

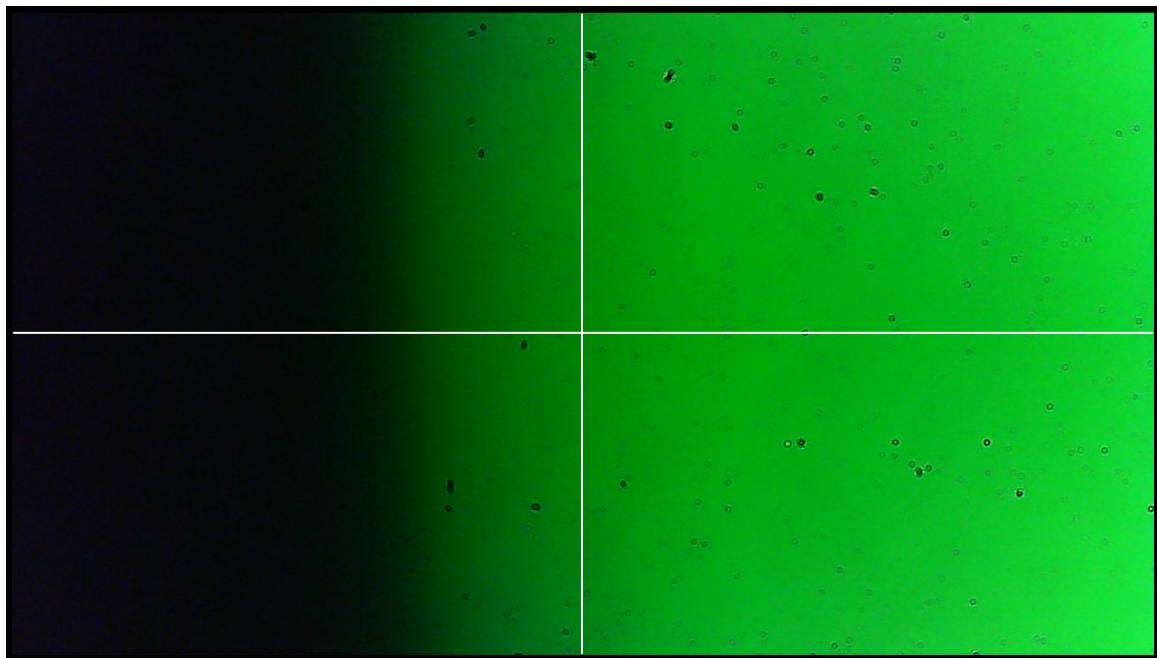


Figura 5.4: Visualización en la cámara de la reflexión del filtro de la iluminación.

durante el experimento se tiene el feedback de cutelog:

Log namespaces							
Root logger							
	Time	Name	Level	Message			
2020-03-13 14:11:58.605885		Root logger	INFO	CCS200/M Spectrometer CONNECTED			
2020-03-13 14:11:58.736046		Root logger	INFO	XZStage - Serial: COM5			
2020-03-13 14:12:01.736113		Root logger	INFO	XZStage in position (0,0,0)µm			
2020-03-13 14:12:01.742215		Root logger	INFO	Target position: (0,0)µm			
2020-03-13 14:12:02.207776		Root logger	INFO	Position achieved correctly.			
2020-03-13 14:12:02.766726		Root logger	INFO	Target position: (1,0)µm			
2020-03-13 14:12:03.207101		Root logger	INFO	Position achieved correctly.			
2020-03-13 14:12:03.809366		Root logger	INFO	Target position: (2,0)µm			
2020-03-13 14:12:04.034000		Root logger	DEBUG	Still moving			
2020-03-13 14:12:04.383814		Root logger	INFO	Position achieved correctly.			
2020-03-13 14:12:04.964578		Root logger	INFO	Target position: (3,0)µm			
2020-03-13 14:12:05.449858		Root logger	INFO	Position achieved correctly.			
2020-03-13 14:12:06.001255		Root logger	INFO	Target position: (4,0)µm			
2020-03-13 14:12:06.440235		Root logger	INFO	Position achieved correctly			
Levels		Name	Value				
Show	Name						
DEBUG							
INFO							
WARNING							
ERROR							
CRITICAL							

Figura 5.5: Visualización en la cámara de la reflexión del filtro de la iluminación.

5.3. Foco y resolución espacial del microespectrómetro

Logger						
Log namespaces						
Root logger						
Time	Name	Level	Message			
2020-03-13 14:15:28.457699	Root logger	INFO	Position achieved correctly.			
2020-03-13 14:15:29.009384	Root logger	INFO	FINISHED SCANNING.			
2020-03-13 14:15:29.062736	Root logger	INFO	MEASUREMENT Thread done, it took: 0.05935945451259613 hs.			
2020-03-13 14:15:29.072731	Root logger	INFO	Target position: (0,0)µm			
2020-03-13 14:15:29.200701	Root logger	DEBUG	Still moving			
2020-03-13 14:15:29.404321	Root logger	DEBUG	Still moving			
2020-03-13 14:15:29.806079	Root logger	INFO	Position achieved correctly.			
2020-03-13 14:15:29.830155	Root logger	INFO	XZStage is home.			
2020-03-13 14:15:29.850173	Root logger	INFO	CCS200/M Spectrometer DISCONNECTED			
2020-03-13 14:15:29.889691	Root logger	INFO	XZStage DISCONNECTED			
2020-03-13 14:15:30.762689	Root logger	INFO	STORAGE Thread done, it took: 0.05983166376749675 hs = 3.5898998260498045 minutes			
2020-03-13 14:15:30.791293	Root logger	INFO	TOTAL TIME: 0.05983166376749675 hs = 3.5898998260498045 minutes			
Connection 3 closed						
Levels						
Show	Name					
DEBUG						
INFO						
WARNING						
ERROR						
CRITICAL						

Figura 5.6: Visualización en la cámara de la reflexión del filtro de la iluminación.

Las mediciones son ajustadas en matlab con una función error:

$$(a/2) * erfc(sqrt(2) * (x - b)/c) \quad (5.1)$$

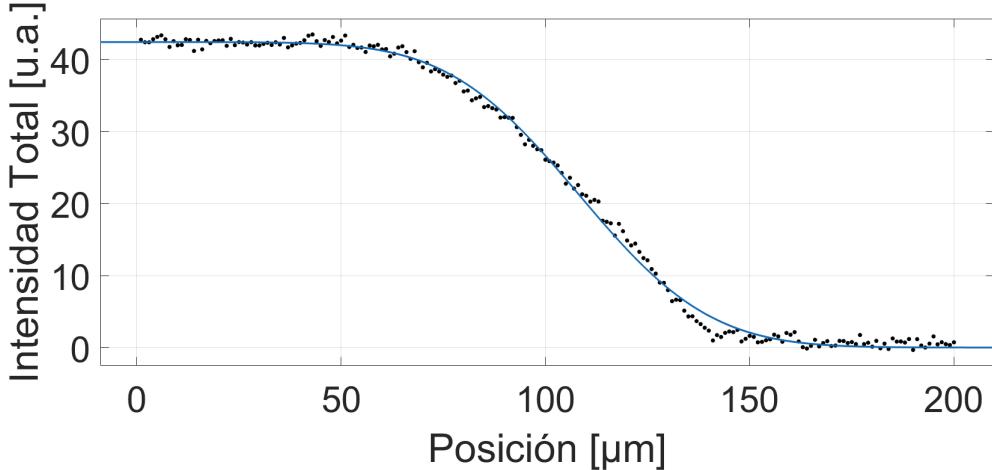


Figura 5.7: Visualización en la cámara de la reflexión del filtro de la iluminación.

Resultados del ajuste:

General model:

$$f(x) = (a/2) * erfc(sqrt(2) * (x - b)/c)$$

Coefficients (with 95% confidence bounds):

$$a = 42.43(42.2, 42.66)$$

$$b = 108.2(107.8, 108.7)$$

$$c = 50.46(49.25, 51.68)$$

Goodness of fit:

SSE: 151.1

R-square: 0.9976

Adjusted R-square: 0.9976

RMSE: 0.8758

Luego moviendo la perilla del SM1Z para cambiar la distancia entre el objetivo y el filtro se repite la medición.

Comentar bien la siguiente foto, poner en la imagen que distancia se está variando, etc

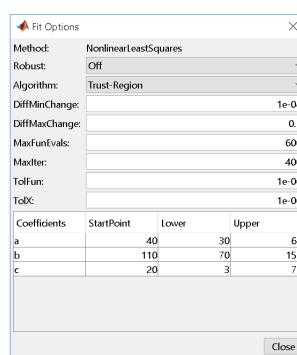


Figura 5.8: Visualización en la cámara de la reflexión del filtro de la iluminación.

Para hacer el ajuste se refinan los parámetros del modelo:

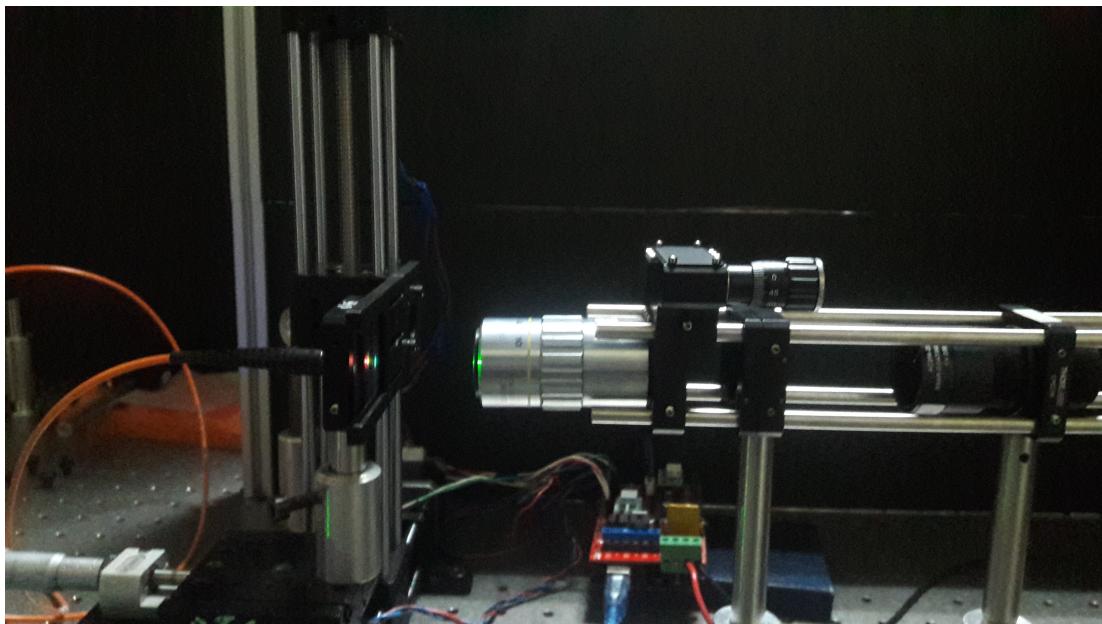


Figura 5.9: Visualización en la cámara de la reflexión del filtro de la iluminación.

La idea es poner en foco el espectrómetro en alguna región del filtro, enfocar luego la cámara y después al mover el filtro a alguna otra región, tan solo hay que poner en foco el 'sistema' mirando la cámara. Al mismo tiempo si se quiere se puede volver a repetir el procedimiento de buscar el mínimo.

Gráfico de poner en foco el microespectrómetro: (19 de marzo)

mediciones guardadas en: data mediciones, simultaneidad, foco.

vamos recorriendo horario en pasos de 50 micrones en el SM1Z. mediciones que consisten en un barrido de 80 micrones de largo, con pasos de 1 micron.. esto en la stage

RESULTADOS:

Z RESOLUCIÓN

0 12.46 dudoso?

-50 13.5

-100 13.12

5. Microespectrómetro

-150 12.87

-200 11.29

■ 5.4 Integración de una cámara web

■ 5.4.1 Mapeando el espectrómetro con la cámara

Capítulo 6

Conclusiones

Capítulo 7

Trabajo a futuro

Referencias Bibliográficas

- [Adão et al., 2017] Adão, T., Hruška, J., Pádua, L., Bessa, J., Peres, E., Morais, R., and Sousa, J. (2017). Hyperspectral imaging: A review on uav-based sensors, data processing and applications for agriculture and forestry. *Remote Sensing*, 2017:1110.
- [Aikens, 2010] Aikens, D. M. (2010). The truth about scratch and dig. In *International Optical Design Conference and Optical Fabrication and Testing*, page OTuA2. Optical Society of America.
- [Erdodan and Prabhat, 2012] Erdodan, T. and Prabhat, P. (2012). *Semrock Technical Note Series: Measurement of Optical Filter Spectra*. Semrock.
- [Gomez et al., 1998] Gomez, S., Hale, K., Burrows, J., and Griffiths, B. (1998). Measurements of surface defects on optical components. *Measurement Science and Technology*, 9(4):607–616.
- [Grecco et al., 2016] Grecco, H. E., Imtiaz, S., and Zamir, E. (2016). Multiplexed imaging of intracellular protein networks. *Cytometry Part A*, 89(8):761–775.
- [ISO, 2018] ISO (2018). *ISO 10110 - Preparation of drawings for optical elements and systems*.
- [Jain, 1989] Jain, A. K. (1989). *Fundamentals of Digital Image Processing*. Prentice-Hall, Inc., USA.

- [Lowe, 1999] Lowe, D. G. (1999). Object recognition from local scale-invariant features. In *Proceedings of the Seventh IEEE International Conference on Computer Vision*, volume 2, pages 1150–1157 vol.2.
- [Martínez-Usó et al., 2008] Martínez-Usó, A., Pla, F., Sotoca, J., and García-Sevilla, P. (2008). From narrow to broad band design and selection in hyperspectral images. volume 5112, pages 1091–1100.
- [Military, 1997] Military, U. (1997). *MIL-PRF-13830B. PERFORMANCE SPECIFICATION: OPTICAL COMPONENTS FOR FIRE CONTROL INSTRUMENTS; GENERAL SPECIFICATION GOVERNING THE MANUFACTURE, ASSEMBLY, AND INSPECTION OF*. U.S. Department of Defense.
- [Nordenfelt et al., 2018] Nordenfelt, P., Cooper, J. M., and Hochstetter, A. (2018). Matrix-masking to balance nonuniform illumination in microscopy. *Opt. Express*, 26(13):17279–17288.
- [Pose, 2017] Pose, A. (2017). Adquisición, procesamiento y análisis de imágenes hiperespectrales: de la microscopía de fluorescencia a la industria satelital. Master's thesis, UBA, Argentina. Director: Dr. Hernán Grecco.
- [Shah and Yager, 2017] Shah, K. G. and Yager, P. (2017). Wavelengths and lifetimes of paper autofluorescence: A simple substrate screening process to enhance the sensitivity of fluorescence-based assays in paper. *Analytical Chemistry*, 89(22):12023–12029. PMID: 29048155.
- [Van der Walt et al., 2014] Van der Walt, S., Schönberger, J. L., Nunez-Iglesias, J., Boulogne, F., Warner, J. D., Yager, N., Gouillart, E., and Yu, T. (2014). scikit-image: image processing in python. *PeerJ*, 2:e453.
- [Zeiss, 2014] Zeiss, C. (2014). *Quick Guide. ZEN 2012 SP2. Importing and exporting images*.