

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 de interferencia de banda 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:

---

Jurado

---

Director:

---

Jurado

---

Profesor: Juan Pablo Paz

---

Jurado



## **Resumen**

Resumen copado al final..  
dkfjakdj



# Índice

|  |            |
|--|------------|
| <b>Resumen</b>   | <b>iii</b> |
| <b>Índice</b>  | <b>v</b>   |
| <b>1 Introducción</b>  | <b>1</b>   |
| Objetivo general .....   | 1          |
| Objetivos específicos del proyecto .....   | 2          |
| Introducción .....   | 2          |
| Actividades y Metodología .....  | 8          |
| Factibilidad .....   | 8          |
| <b>Referencias Bibliográficas</b>  | <b>11</b>  |
| <b>2 Primer prototipo del equipo y caracterización de los espectros de transmisión</b>   | <b>13</b>  |
| <b>3 Spectral GUI y software del primer prototipo: Integración clases del espectrómetro y de los motores de thorlabs - Implementación con Multithreading</b> | <b>15</b>  |
| <b>4 Desarrollo XZStage y calibración - Desarrollo del software integrando el arduino con algoritmos asincrónicos</b>  | <b>17</b>  |
| <b>5 Montaje Microespectrómetro, caracterización resolución espacial y calibración</b>   | <b>19</b>  |
| <b>6 Integración cámara al microespectrómetro</b>  | <b>21</b>  |
| <b>7 Cuantificación de los defectos a partir de las imágenes tomadas con el ZEISS con scikit-image y OpenCV</b>  | <b>23</b>  |
| <b>8 Conclusiones</b>  | <b>25</b>  |
| <b>9 Trabajo a futuro</b>  | <b>27</b>  |



# Capítulo 1

## Introducción

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.

### ■ 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 visión<sup>1</sup>. 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 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

<sup>1</sup>El 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 deseé capturar.

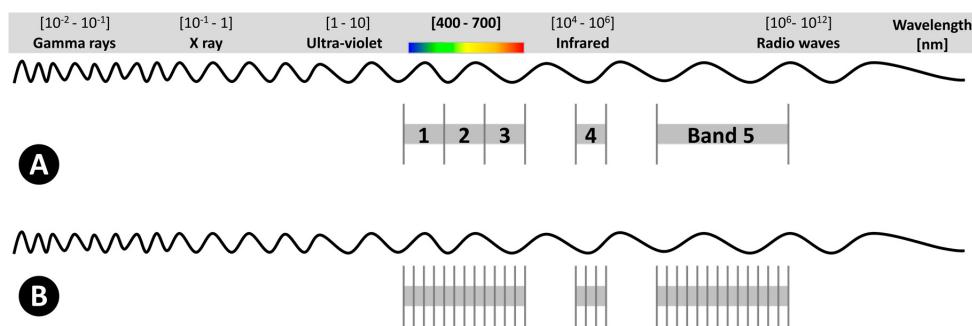
se explica en la Introducción. En consecuencia, la caracterización de los filtros resulta fundamental para garantizar la calidad de las imágenes capturadas. El primer prototipo de este sistema integral permitirá principalmente caracterizar el espectro de transmisión del filtro en cada punto del mismo, 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.

## ■ 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.

## ■ Introducción

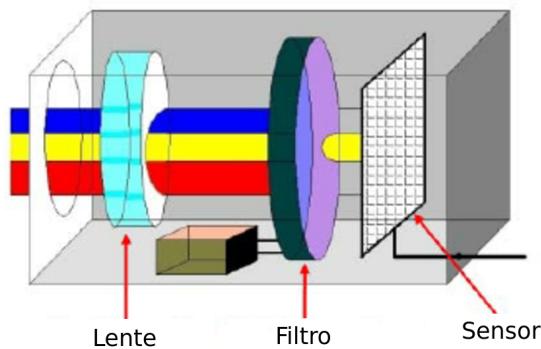
Una imagen a color RGB convencional está compuesta por tres canales de imágenes (bandas): rojo ( $\sim 665\text{nm}$ ), verde ( $\sim 550\text{nm}$ ) y azul ( $\sim 470\text{nm}$ ). Este tipo de imágenes permiten emular la percepción que el ojo humano tiene del color, pero en general no permiten la detección 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) Hiperespectral: 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 estándard 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 resoluciónpectral, lo que restringe significativamente la intensidad de la luz a detectar.

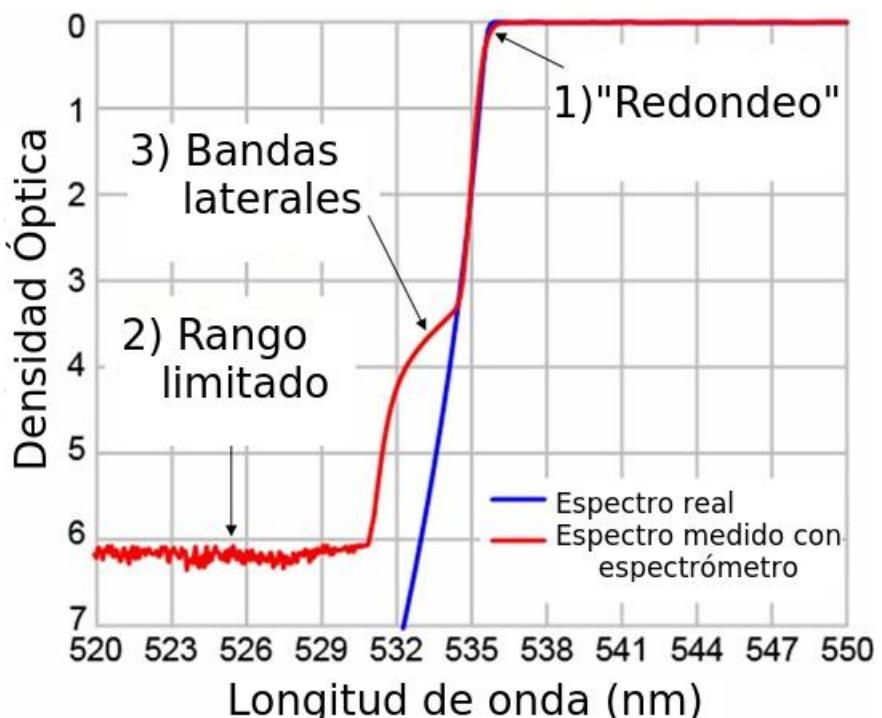
En respuesta a las desventajas de las cámaras estándard de imágenes hiperespectrales, aparecieron otro tipo de cámaras que utilizan filtros de interferencia de banda y que resultaron en un producto final robusto, compacto, de bajo costo y de muy buen rendimiento. Una cámara de vuelo de este tipo fue 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 espetrales 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 banda espectral 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 estándar de los espectros de transmisión de los filtros ópticos donde se utilizan espectrómetros comerciales, existen tres discrepancias fundamentales entre el espectro "real"<sup>2</sup> 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 espetrales 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 OD<sup>3</sup> 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.



**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

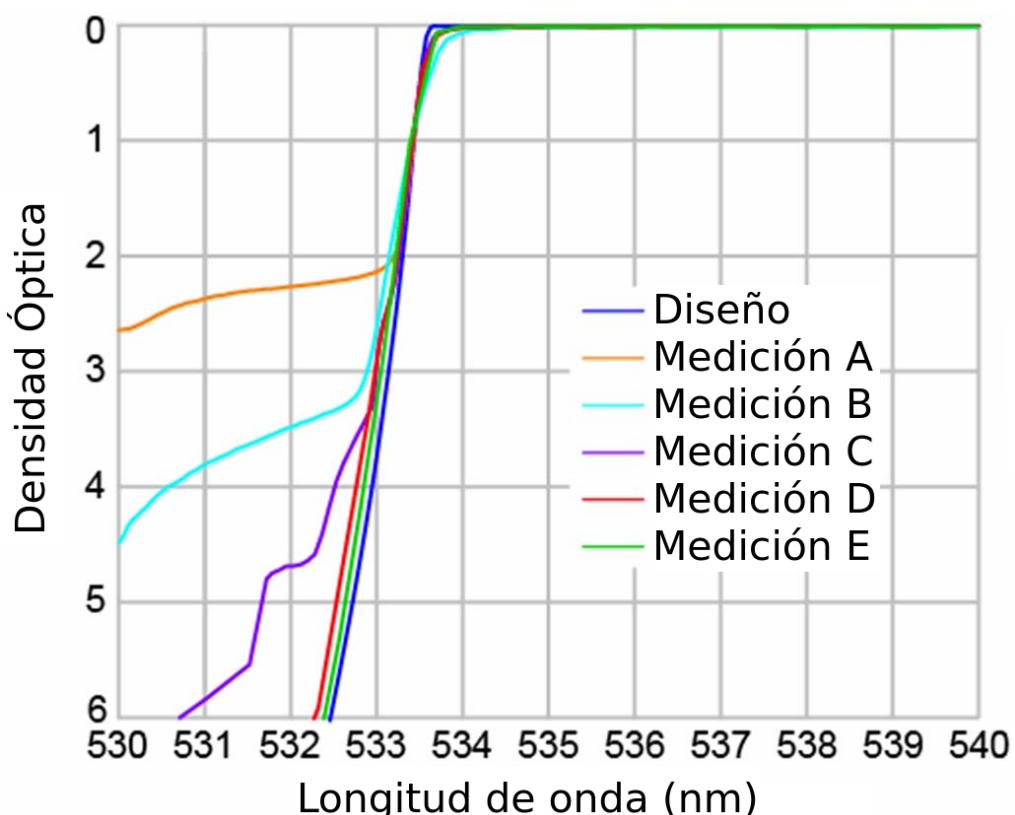
<sup>2</sup>El espectro "real" es el espectro de diseño del filtro para el que fue especialmente construido.

<sup>3</sup>La 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  $OD = -\log_{10}(T)$ .

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.



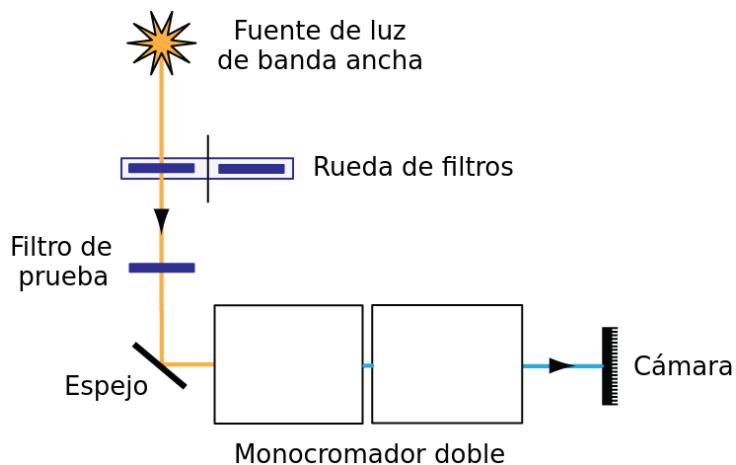
**Figura 1.4:** Distintas mediciones de la OD de un filtro LP03-532RE-25 RazordEdge de la empresa Semrock. Las mediciones fueron realizadas utilizando tanto espectrómetros comerciales como *custom-made* de la empresa con una variedad de arreglos experimentales que se explican en el texto. Adaptado de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



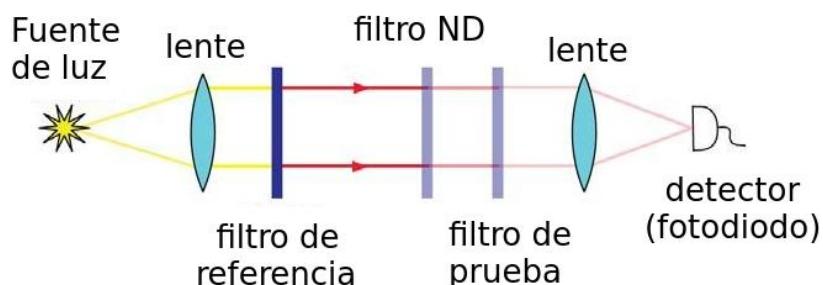
**Figura 1.5:** Diseño básico de un espectrómetro *custom-built* que utiliza una fuente de iluminación de banda ancha y permite la recolección de una amplia gama de longitudes de onda simultáneamente con un conjunto de detectores situados en la cámara. Este arreglo experimental permite una medición más 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 [Greco 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 bias <sup>4</sup> 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.

## ■ 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, 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.

El cronograma mensual de trabajo se muestra en la siguiente Tabla:

## ■ 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

<sup>4</sup>El 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.

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.



## 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.
- [Erdodan and Prabhat, 2012] Erdodan, T. and Prabhat, P. (2012). *Semrock Technical Note Series: Measurement of Optical Filter Spectra*. Semrock.
- [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.
- [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.
- [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.



## **Capítulo 2**

### **Primer prototipo del equipo y caracterización de los espectros de transmisión**



## **Capítulo 3**

**Spectral GUI y software del primer prototipo: Integración clases del espectrómetro y de los motores de thorlabs  
- Implementación con Multithreading**



## **Capítulo 4**

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



## **Capítulo 5**

### **Montaje Microespectrómetro, caracterización resolución espacial y calibración**



## **Capítulo 6**

### **Integración cámara al microespectrómetro**



## Capítulo 7

### Cuantificación de los defectos a partir de las imágenes tomadas con el ZEISS con scikit-image y OpenCV

De forma complementaria a las mediciones del microespectrómetro, se tomaron imágenes por transmisión del filtro con un microscopio ZEISS Axio Observer Z1 como se muestra en la Figura 7.1, utilizando el objetivo ZEISS de magnificación 10X.

De acuerdo a la calibración de fábrica del ZEISS, 1 pixel de la imagen equivale a 0.586 micrones.

CALIBRAR ZEISS con alguna reglita de calibración



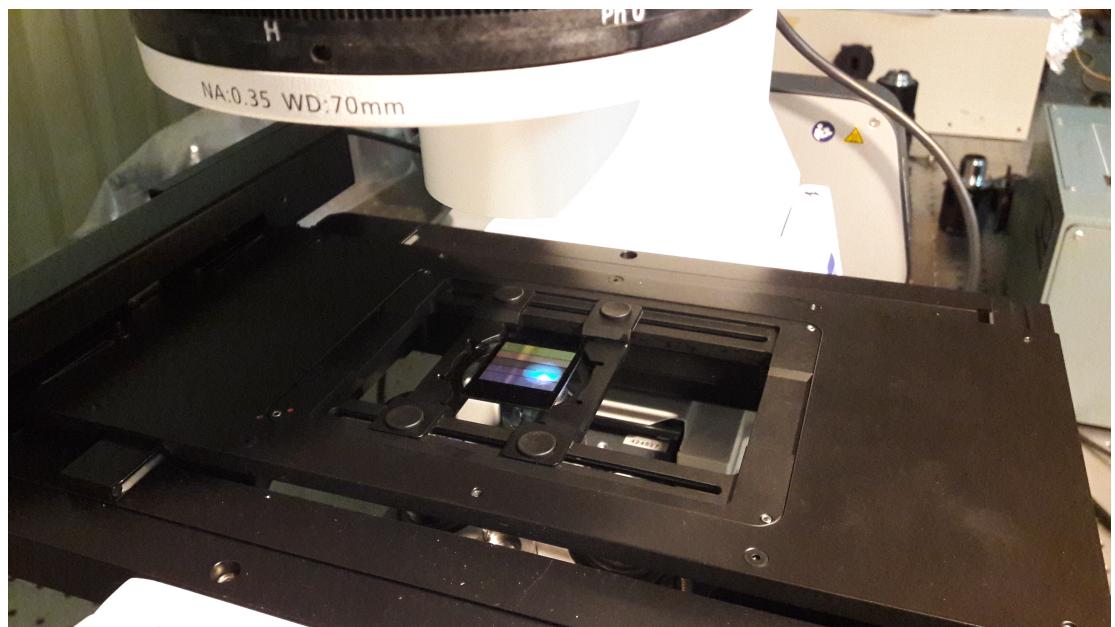
Figura 7.1:

## *7. Cuantificación de los defectos a partir de las imágenes tomadas con el ZEISS con scikit-image y OpenCV*

Se montó el filtro sobre el portamuestras del microscopio como se muestra en la Figura 7.2. Utilizando el software ZEN PRO 2.5.

chequear versión del ZEN PRO y tomar screenshot del gráfico del histograma - rango dinámico

Luego de poner en foco una de las superficies del filtro con el software y refinando la distancia entre el objetivo y el filtro con las perillas manuales del microscopio, se realizaron distintos 'barridos' del filtro.



**Figura 7.2:**



## **Capítulo 8**

### Conclusiones





## **Capítulo 9**

### Trabajo a futuro