



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ingeniería – Doctorado en Ciencias de la Ingeniería Mención Ingeniería Eléctrica

**Algoritmo De Corrección De Desenfoque Multi-Planar
Basado En Función De Dispersión De Punto 3-D Para
Microscopía Infrarroja**



Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias de la Ingeniería Mención
Ingeniería Eléctrica

ANSELMO GABRIEL AUDITO JARA CHÁVEZ

CONCEPCIÓN-CHILE

2020

Profesor Guía: Sergio Torres Inostroza
Dpto. de Ingeniería Eléctrica, Facultad de Ingeniería
Universidad de Concepción

© 2020. Anselmo Gabriel Audito Jara Chávez

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.





Dedico este documento de manera especial a mi familia.

Con el singular motivo de que sea este, un nuevo apoyo en su investigación, con singular y gran afecto está dedicado Valentina Eleanor Jara Martínez.

AGRADECIMIENTOS

Formen parte de esta Tesis, mis sinceros agradecimientos a quienes tomaron parte fundamental en que mi inspiración esté hoy plasmada en este documento. En primer lugar a Dios y a mis padres Audito Jara y María Inés Chávez, por ser fuente inagotable de inspiración, de quienes destaco su gran energía puesta en las obras.

Asimismo, a quienes han formado parte del equipo de trabajo EYESTRON y 4VISION, por su permanente presencia durante el proceso de esta Tesis.

Dirijo gran parte de mis agradecimientos a CONICYT y su Beca Doctorado Nacional por su oportuno respaldo en lo que a financiamiento refiere.

De manera especial dirijo mi sincero agradecimiento a quién guió esta Tesis, el profesor Sergio Torres Inostroza, por constituir en su propia persona, para nosotros sus estudiantes, más que un tutor académico, una persona cuya motivación, disposición y premura ante todo, de sobremanera le destacan y le distinguen.

RESUMEN

Las tecnologías y sus avances en el desarrollo de sistemas de imágenes infrarrojas han permitido la exploración térmica a niveles antes impracticables, extrapolando su uso e impacto desde la industria minera, metalúrgica, defensa y astronómica, hasta las aplicaciones más demandantes de precisión, como lo es la medicina, mediante la exploración exotérmica macroscópica de órganos, y la biología, por medio de la exploración microscópica de organismos de orden milimétrico y submilimétrico.

A pesar de la gran cantidad de avances logrados en transductores infrarrojos, para la fabricación de Arreglos de Plano Focal, la calidad de una imagen infrarroja sin procesar aún evidencia una muy baja relación señal/ruido. Por otra parte, la óptica de los sistemas dotados de magnificación, normalmente inducen aberraciones sobre su plano focal, las que degradan la imagen de salida con importante borrosidad plano-selectiva. Un sistema Opto-electrónico, por tanto, hereda ambas limitaciones, el ruido de patrón fijo, también conocido como no-uniformidad, y la borrosidad producida por desenfoque multi-planar. Causando grandes dificultades en el análisis de imágenes infrarrojas para todo tipo de aplicaciones.

Referenciando la metodología adoptada y tras la necesidad de resolver la pérdida de información al capturar imágenes térmicas de una muestra tridimensional en un sistema microscópico infrarrojo, se diseñó un método que caracteriza el espacio de visión de éste, en términos de su dispersión óptica para todo el campo de visión tridimensional, para, una vez estimados sus indicadores de dispersión, aplicarlos a la imagen de entrada mediante restauración por deconvolución a múltiples planos, entregando en su salida una imagen plenamente enfocada.

Para este desarrollo, tiene la condición de resultado particularmente importante, el uso único de técnicas de Procesamiento de Imágenes para la

restauración multi-planar. Desarrollo que sustenta sus conclusiones en la caracterización de un espacio volumétrico sin la necesidad de sistemas de escaneo e involucrar tiempo de barrido, sin irradiar la muestra, como tecnologías confocales, y sin la agregación de insumos de fluorescencia e invasión de muestra, sino el procesamiento único de la radiación de emisión.

En consistencia al objetivo principal, esta investigación dirigió sus esfuerzos resolver la pérdida de información térmica de un sistema de imágenes infrarrojo microscópico, desarrollando un método que logra el pleno enfoque de un muestra tridimensional a partir de una única imagen, por medio del Procesamiento de Imágenes.



Índice de contenidos

RESUMEN	14
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	13
1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA Y PROPUESTA.....	15
1.2 OBJETIVOS.....	16
CAPÍTULO 2. DISCUSIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	18
CAPÍTULO 3. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA	20
3.1 FORMACIÓN DE LA IMAGEN ÓPTICA.....	20
3.1.1 Degradación Óptica	21
3.1.2 Dispersión de Punto	23
3.2 DIGITALIZACIÓN DE LA IMAGEN	25
3.2.1 Modelo de Observación del Detector.....	25
3.2.2 Degradación Electrónica en Sistemas de Imágenes IR.....	26
3.3 MODELO DE DEGRADACIÓN OPTO-ELECTRÓNICA EN SISTEMAS DE IMÁGENES.....	28
CAPÍTULO 4. DISEÑO Y FORMULACIÓN DEL ALGORITMO	30
4.1 INICIALIZACIÓN DEL MÉTODO	30
4.2 FORMACIÓN DE LA 3D-PSF	32
4.2.1 Registro Térmico de Target de Puntos.....	32
4.2.2 Corrección de No-uniformidad.....	34
4.2.3 Pre-filtrado Espacial.....	35
4.2.4 Cálculo de Derivadas Espaciales 1-Dimensionales.....	37
4.2.5 Ajuste Gaussiano y Formación de 2D-PSF.....	38
4.3 MÉTODO ENFOQUE MULTI-PLANAR.....	39
4.3.1 Restauración mediante Deconvolución.....	39
4.3.2 Reconstrucción por Fusión de Imágenes.....	40
4.3.3 Algoritmo de Enfoque Multi-planar	41
4.3.4 Evaluación de las Imágenes Restauradas.....	42
CAPÍTULO 5. METODOLOGÍA Y DESARROLLO DEL ENFOQUE MULTI-PLANAR MEDIANTE PROCESAMIENTO DE IMÁGENES	43
5.1 SETUP EXPERIMENTAL	45
5.2 FORMACIÓN DE UNA 3D-PSF	47
5.2.1 Registro Térmico de Target de Puntos.....	49
5.2.2 Corrección de No-uniformidad.....	50
5.2.3 Pre-filtrado Espacial.....	51
5.2.4 Cálculo de Derivadas Espaciales 1-Dimensionales.....	52

5.2.5 Ajuste Gaussiano y Formación de 2D-PSF.....	53
5.2.6 Formación de la 3D-PSF.....	55
5.3 ALGORITMO DE ENFOQUE MULTI-PLANAR.....	56
5.3.1 Non Uniformity Correction NUC.....	56
5.3.2 Restauración por Deconvolución.....	56
5.3.3 Reconstrucción por Fusión de Imágenes.....	57
5.3.4 Evaluación de las Imágenes Restauradas.....	58
CAPÍTULO 6. RESULTADOS.....	59
6.1 CORRECCIÓN DE NO-UNIFORMIDAD NUC.....	60
6.2 RESULTADOS EN FUSIÓN DE IMÁGENES.....	61
6.3 RESTAURACIÓN MULTI-PLANAR.....	62
CAPÍTULO 7. ALCANCES Y PROYECCIÓN.....	66
CAPÍTULO 8. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	67
CAPÍTULO 9. BIBLIOGRAFÍA.....	68



Índice de Tablas

Tabla 5.1. Recursos instrumentales utilizados en el Setup Experimental46



Índice de Figuras

Figura 1. Esquema de formación de una Imagen Óptica y ubicación de la dispersión.	21
Figura 2. Esquema relativo a la aberración esférica inducida por un arreglo óptico de magnificación.	22
Figura 3. Esquema relativo a la influencia de la aberración esférica en el rango de la profundidad de campo.	22
Figura 4. Imagen referencial de efecto “Distorsión”. a) Imagen con distorsión, b) imagen sin distorsión.....	23
Figura 5. Imagen IR Raw registrada de la almohadilla de un dedo índice. Nótese que a pesar de que es posible atribuir elementos fisiológicos dados los registros térmicos observados, se observan mayor y menor grado de enfoque en las zonas de variada profundidad de campo. (Imagen Ref. [32])......	24
Figura 6. Imagen IR Raw registrada de la almohadilla de un dedo índice. Nótese que a pesar de que es posible atribuir elementos fisiológicos dados los registros térmicos observados, se observan mayor y menor grado de enfoque en las zonas de variada profundidad de campo. ...	24
Figura 7. Gráfica del modelo lineal de la curva de respuesta para un detector en un IRFPA.	26
Figura 8. Imagen matriz de FPN <i>Offset</i> obtenida de un microscopio IR. Imagen FPN extraída (izquierda). Región magnificada de imagen FPN (derecha)......	27
Figura 9. Ejemplo de imagen obtenida de un microscopio IR. (a) Imagen degradada por borrosidad y FPN. (b) Imagen con corrección de FPN y desenfoque en base a PSF de ROI central.....	28
Figura 10. Esquema del modelo en cascada de degradación ocasionada por desenfoque y FPN sobre una imagen.....	29
Figura 11. Esquema de profundidad de campo de una muestra 3D. En el plano del detector, cada punto de la muestra se dispersa en el plano imagen una cantidad proporcional a su profundidad de campo.	32
Figura 12. Esquema de Registro Térmico de Target de Puntos, para configuración de desenfoque plano-progresivo.....	33
Figura 13. Esquema de operación de filtro bilateral. Notar que su acción se orienta a suavizar una imagen de entrada mientras conserva sus bordes. Los pesos que se muestran se aplican al píxel central (debajo de la flecha) (Imagen Ref. [21]).	36
Figura 14. Esquema de operación del Filtro de Mediana. Notar que su acción se orienta a suavizar las imágenes, de los valores de intensidad fuera de rango, reemplazando el valor del píxel central por la mediana estadística del conjunto vecindad.	36
Figura 15. a) y b) Imágenes experimentales de entrada escalón para estimación de la PSF. El rectángulo de la imagen (a) contiene la región donde el vector del escalón vertical fue registrado. b) el rectángulo de la imagen (b) contiene la región donde el vector del escalón	

horizontal fue registrado. c) y d) Resultados experimentales de estimación de la PSF en gráfica 2D y 3D, previamente publicados [22].....	38
Figura 16. Esquema de formación y apilamiento de las 2D-PSF. El apilamiento en el eje Z genera una 3D-PSF Multi-planar.	39
Figura 17. Diagrama esquemático para el proceso propuesto de Fusión de Imágenes.....	41
Figura 18, Configuración experimental para la adquisición de imágenes térmicas microscópicas. Los desplazadores en los ejes x, y, z proveen condiciones de movimiento y enfoque relativas a la muestra. Esto permite capturar imágenes con un amplio rango de profundidad de campo.	46
Figura 19. Target de puntos, para la adquisición de imágenes térmicas de transiciones espaciales de intensidad.....	47
Figura 20. Esquema de formación de PSF Multi-planar en distintas zonas del FOV.....	48
Figura 21. Configuración experimental para la adquisición. target de calibración en configuración de enfoque plano-progresivo ante el microscopio MWIR.....	49
Figura 22. Captura IR sin procesar, del Target de puntos en plano inclinado, para la adquisición de imágenes térmicas de transiciones espaciales de intensidad en enfoque plano-progresivo.	50
Figura 23. Captura IR de Target de puntos con corrección de No-uniformidad.	51
Figura 24. Captura IR de Target de puntos con filtros Bilateral y Mediana aplicados de manera respectiva.	52
Figura 25. Calculo derivada 1D para 192 escalones espaciales de intensidad, en dirección horizontal (izquierda) y vertical (derecha) para el plano $z_d = z_0 = 0$. Estas derivadas darán origen a las 2D-PSFs estimadas para el FOV completo.....	52
Figura 26. Curvas de ajuste Gaussiano para PSFs de línea, a) $z = 0\mu m$, b) $z = 29\mu m$, c) $z = 53\mu m$, d) $z = 76\mu m$, e) $z = 111\mu m$, f) $z = 128\mu m$, g) $z = 154\mu m$, h) $z = 181\mu m$, i) $z = 247\mu m$	53
Figura 27. Ajuste Gaussiano y Generación de 2D-PSF aplicadas a dos PSF de línea de dos planos, $z = 27\mu m$ (arriba) y $z = 76\mu m$. Notar que a medida que se dispersa el punto, su curtosis disminuye, mientras que crece su parámetro σ	54
Figura 28. Formación de la 3D-PSF. Perfil de dispersión progresiva en el eje Z (izquierda), Perfil axial de la 3D-PSF (central), 3D-PSF (derecha).....	55
Figura 29. Esquema propuesto de Degradación y Restauración de imágenes IR degradadas por Bluring y FPN.	57
Figura 30. Esquema del método propuesto. El esquema de restauración considera un modelo matemático inverso sobre la degradada imagen MWIR de entrada.....	58
Figura 31. Resultados de Corrección de No-uniformidad basado en Constant Range. Muestra de microscopía MWIR afectada por FPN real. a) <i>frame</i> dato crudo, b) FPN (<i>Offset</i>) estimado, y c) <i>frame</i> corregido de FPN.....	60
Figura 32. Resultados de la Fusión de Imágenes sobre data del espectro visible con dos profundidades de campo, a) Primer plano enfocado, b) Plano de fondo enfocado. c) y d) Región	

ampliada de (a) y (b) de manera respectiva. (e) y (f) Máscaras de medición de enfoque para escena con enfoque de primer plano y plano de fondo de manera respectiva.....	61
Figura 33. Resultados en Fusión de Imágenes basado en LoG. Zona ampliada de la región fusionada (derecha).....	62
Figura 34. Perfiles RMSE (aplicado a las imágenes de prueba de la Figura 34), obtenidos sobre fila 480 de las imágenes primer plano y plano de fondo en foco con respecto a misma fila de la imagen fusionada (referencia).....	63
Figura 35. Imágenes IR microscópicas de una sección de un desplazador micrométrico. Esta superficie rugosa provee enfoque plano-selectivo. Notar que las crestas de la imagen b) ($Z=0$ mm) son preservadas en la imagen c) ($z=0.114$ mm), mientras los valles son restaurados también.....	63
Figura 36. Imagen RAW microscópica-MWIR de la almohadilla del dedo índice (izquierda), y su equivalente corregida mediante JNBC (derecha), utilizando PSF estimada de manera experimental. Notar las múltiples regiones de enfoque (niveles) de planos z	64
Figura 37. Resultados de Restauración Multi-planar sobre imagen MWIR de muestra 3D de organismo vivo <i>Daphnia</i> , con datos térmicos degradados durante la captura por ambos efectos, NU y enfoque plano-dependiente. (a) Imagen Cruda, RLP obtenido de 0.871, y (b) Restauración por deconvolución por PSF Global (solo una PSF para toda la imagen) RLP de 0.697 obtenido en previa publicación [22]. (c) Imagen cruda, valor RLP obtenido 0.892, y (d) Restauración Multi-planar, muestra un valor RLP de 0.598 [33]. La calidad mejorada de la imagen corregida puede ser apreciada a ojo desnudo.	65

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas Infrarrojos (en adelante, por sus siglas en inglés, IR), son ampliamente usados para registrar información térmica útil de diversas aplicaciones, del área Científica, Médica y Defensa además de aplicaciones de la Industria [1,2]. Por su parte, su componente esencial, los detectores infrarrojos, son unidades semiconductoras cuya finalidad es entregar una señal eléctrica, cuya magnitud sea proporcional a la cantidad de radiación capturada en su área de exposición. Pues bien, un arreglo de plano focal (en adelante, por sus siglas en inglés, FPA) es una matriz de sensores infrarrojos, dispuesto en el plano imagen y diseñado con la finalidad de interpretar fielmente una escena espacial, como en su analogía lo hace una película expuesta a la luz dentro de una cámara.

Para ampliar el universo de aplicaciones en el campo de las imágenes IR, estos sistemas han sido dotados de magnificación y mediante arreglos ópticos de lentes capaces de refractar la radiación térmica, la colectan finalmente en el plano de enfoque, el plano del detector.

No obstante, a pesar de los avances en la tecnología de preparación, dopamiento y aleación de semiconductores, y los esfuerzos tecnológicos vertidos en el diseño y fabricación misma de circuitos integrados de *read-out* (en adelante, por sus siglas en inglés, ROIC), las imágenes crudas IR aún evidencian una muy baja relación señal a ruido (SNR). En consecuencia a los esfuerzos por aumentar esta relación mediante la electrónica ROIC, estos procesos de fabricación producen sistemas de imágenes IR con patrón de ruido fijo (en adelante, por sus siglas en inglés, FPN), conocido en la literatura como ruido de No-uniformidad (en adelante, por sus siglas en inglés, NU). Este ruido de patrón espacial es mayormente provocado por receptividades (*responsivity*) no homogéneas de los detectores en el FPA, y por las in-homogéneas corrientes oscuras de estos foto-detectores, las cuales provocan, en base pixel a pixel,

los ruidos de *Ganancia* y *Offset* de manera respectiva, provocando así alteraciones que de sobremanera degradan la data adquirida por los sistemas de imágenes infrarrojas.

Por otra parte, la óptica de magnificación de estos sistemas, puede inducir en ellos, de manera inherente, aberración esférica y enfoque plano-selectivo, resultando esto, en borrosidad sobre las estructuras de los objetos fuera de foco en la escena [4]. Este problema es aún más evidente en sistemas con gran magnificación, como en microscopía. De manera particular este trabajo orienta sus esfuerzos a resolver el enfoque plano-selectivo imperante en un sistema de microscopía IR.

Es una práctica común en procesamiento de imágenes, modelar una imagen borrosa como la convolución entre la escena real (clara) y la Función de Dispersión de Punto (en adelante, por sus siglas en inglés, PSF) del sistema óptico [5,6,10,11]. Esto es la base del enfoque adoptado en este trabajo. En orden a resolver una imagen borrosa, los métodos de deconvolución son usados de forma específica para revertir los efectos de la PSF del sistema óptico.

En un principio, los algoritmos de deconvolución fueron desarrollados para procesar imágenes del espectro visible, donde el SNR es muy alto, y el ruido de NU puede considerarse despreciable. La deconvolución es por tanto, un proceso lineal para la restauración de imágenes, donde la imagen verdadera es estimada a partir de la imagen degradada observada y una conocida (o estimada) PSF. Los métodos de Wiener y Richardson-Lucy [7-9] son clásicos en la restauración por deconvolución, requiriendo el conocimiento de la PSF del sistema óptico.

La corrección de no-uniformidad (en adelante, por sus siglas en inglés, NUC) es usada para compensar, mediante la estimación, las diferencias espaciales intrínsecas de los parámetros del detector, que generan el FPN. Esto ha motivado a un importante número de autores quienes proponen métodos de corrección de no-uniformidad, algunos de estos, basados en datos de calibración específicos para la tecnología de adquisición, otros, en base a los requerimientos, proponen el uso de los datos crudos

en adquisición junto a algunas condiciones estadísticas de la escena. Los métodos de corrección de no-uniformidad que utilizan datos de calibración, requieren el uso de radiadores de *cuerpo negro*. Por su parte, los métodos que utilizan datos crudos en conjunto a estadísticas de la escena, conocidos como métodos basados en escena, han sido diseñados para aplicaciones para las cuales no es posible el uso recurrente de fuentes de calibración para estimar los parámetros de corrección de la NU [12-21].

La mayor parte de las técnicas de corrección de desenfoque, están basadas en algoritmos deconvolutivos cuya entrada es la imagen borrosa y una PSF global. Sin embargo el desenfoque motivo del cual, las imágenes IR provenientes de un microscopio sufren distorsión, no muestra un patrón uniforme, sino uno con la geometría característica del sistema adquirente de imágenes, el cual es posible observar mediante distintos grados de desenfoque en el FOV, ante una muestra plano-uniforme.

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA Y PROPUESTA

Los procesos exotérmicos observables en experimentaciones sobre muestras tanto biológicas como de objetos inertes, y las reacciones vitales de los organismos en el caso de muestras biológicas, son procesos dinámicos, y suelen requerir, no solo de una alta tasa de muestreo, sino además de una observación sin pérdida de información durante el proceso; esto dado que tales reacciones y los resultados asociados a ellos suelen ser únicos, y en muchas ocasiones, la escasez de muestra suele hacerlo irrepetible.

Dada la problemática de observar estos procesos exotérmicos dinámicos, donde el sistema de imágenes carece de habilidad de observar de manera enfocada plenamente el Field of View (FOV) en un instante dado, es que surge la necesidad de procesar mediante algoritmos las diversas profundidades de campo para la obtención de una imagen a pleno enfoque.

Este trabajo propone un método para la corrección de artefacto de borrosidad ocasionada por el desenfoque multi-planar en imágenes infrarrojas (IR) microscópicas. Su diseño está basado en la restauración de imágenes mediante deconvolución, tras la estimación de un set de PSFs para un universo volumétrico confinado de visión de un sistema microscópico IR, cuya habilidad clave es ampliar la profundidad de campo del microscopio MWIR para obtener imágenes térmicas de orden milimétrico y sub-milimétrico a pleno enfoque.

1.2 OBJETIVOS

❖ Objetivo General

Corregir enfoque plano selectivo en base a las múltiples PSF de un espacio volumétrico formado las diversas profundidades de campo a través del FOV, para un microscopio IR.

❖ Objetivos Específicos

- 1.- Desarrollo de método de captura de base de datos de imágenes IR, para la estimación de las hiper-matrices con PSFs en distintos planos del eje Z.
- 2.- Desarrollar una metodología de análisis y restauración para los set de imágenes IR-microscópica.
- 3.- Validar el funcionamiento del algoritmo propuesto en imágenes IR de muestras reales.

Las secuencias de video corruptas registradas serán procesadas para su corrección considerando diferentes niveles de ruido, movimiento de cámara, movimiento de cuerpos dentro de la escena con cámara fija y combinaciones de las anteriores.

La metodología de implementación recoge la experiencia de corrección mediante simulaciones y mediante el desarrollo de un programa, en base a algoritmos

matemáticos, que contemplan operar sobre todas las etapas: pre-filtrado, corrección de NU, corrección de desenfoque, reconstrucción por fusión de imágenes y evaluación mediante métrica, recibe una imagen borrosa a múltiples profundidades de campo para entregar una imagen corregida y restaurada a pleno enfoque.

Para el análisis y evaluación de resultados se considera el uso de los indicadores RMSE y *Roughness Laplacian Pattern* (RLP).

Finalmente el programa es validado mediante su aplicación sobre videos IR reales.



Capítulo 2. DISCUSIÓN BIBLIOGRÁFICA

En la literatura IR no se observa una similitud de esfuerzos orientados a resolver el problema que en la presente propuesta ha sido mencionado. Como bien es sabido los artefactos de NU y desenfoco degradan con severidad la estructura de una escena en la captura de una imagen IR, estos han sido, no obstante, abordados de manera independiente.

Los métodos NUC basados en escena, por muchos preferidos dada su habilidad de corregir en “tiempo real”, suelen asumir un modelo de detector lineal para estimar los parámetros en secuencias de imágenes IR. Por la vía de interés de la presente propuesta, uno de los primeros exponentes cuyo trabajo se basa en este principio es Narendra [12] quien propuso un algoritmo NUC que estimaba de manera recursiva los parámetros de la NU siguiendo una hipótesis de las estadísticas constantes, misma técnica mejorada por Redlich et al. [23] quien implementa dicho principio en hardware bajo las mismas suposiciones de distribución estadística uniforme de la radiación IR. Por último, estas técnicas fueron mejoradas en rapidez de convergencia [24] y condiciones de movimiento de la escena [25].

Por otra parte, los trabajos en corrección de borrosidad aplicados a imágenes IR han sido notablemente los menos abordados, registrando trabajos en corrección de borrosidad mediante técnicas de reconstrucción de bordes como F. Dell'Acqua et al [26] quien implementó un método deconvolutivo basado en el algoritmo de Richardson-Lucy, y Chao Ni et al [27] quién analizó y propuso un método para preservar y enfatizar los bordes en imágenes IR basado en la difusión de wavelet. Por otra parte, Velusamy et al. [28] desarrollo un algoritmo de denconvolucion para imagenes IR adquiridas de un telescopio espacial con una PSF conocida. Por último, Wang et al. [29] utilizo un método basado en deconvolución, para la corrección de

desenfoque causado por movimiento. Todos, autores con métodos propuestos para corrección de enfoque basado en un patrón de dispersión de PSF fijo para todo el FOV.

El singular artefacto de la plano-selectividad para microscopía, y estimación de la PSF en tres dimensiones, solo abordado por un muy limitado número de autores, registra actividad solo en el mundo de la microscopía del espectro visible, como el trabajo de H. Kirshner et al [30], quien, para microscopía de fluorescencia, muestra que al considerar modelos de 3D-PSF para el microscopio de campo amplio es posible incrementar la precisión en aplicaciones de localización y registro. Y el trabajo de P. Tadrous [31], quien describe un método de estimación de funciones de dispersión de puntos basado en mediciones de una pila Z a través de una muestra delgada, para la corrección de borrosidad en microscopio de campo amplio.

La escasez de exponentes en el área propuesta es atribuida al elevado costo de producir sistemas opto-electrónicos con las prestaciones tecnológicas de un arreglo microscópico. No obstante, la exploración de soluciones para compensar la pérdida de información por plano-selectividad en imágenes térmicas microscópicas sobrevalúan los esfuerzos.

Capítulo 3. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA

Los sistemas de imagenología IR son ampliamente usados para registrar información útil en el marco de aplicaciones científicas, medicas, industriales y de defensa, entre otras [1,2]. A pesar de los importantes avances en lo que a tecnología de fabricación de la óptica y la electrónica necesaria para lograr estos sistemas de captura, sus imágenes térmicas no están ajenas a agentes degradadores, que en menor o mayor cuantía suelen ocasionar la pérdida de información, o aún más grave, la aparición de información falsa donde no la hay.

3.1 FORMACIÓN DE LA IMAGEN ÓPTICA

Un sistema óptico, en su forma más básica, considera solo una lente. Al entrar los rayos en dicha lente, dado que la distancia que estos deben recorrer varía de las partes más delgadas a las partes más gruesas de esta, al salir, estos son desviados, produciendo el conocido fenómeno de refracción. Tal efecto convergente nos permite coleccionarlos en un solo punto al otro lado de la lente, el punto focal. Una imagen óptica es por tanto, la proyección continua formada por el conjunto de puntos que han convergido desde el plano objeto, hacia el plano imagen.

El área transversal de la lente, define para esta su apertura numérica (en adelante, por sus siglas en inglés, NA), escalar que caracteriza el rango de ángulos para los cuales el sistema acepta radiación. En consecuencia, a medida que aumenta la apertura numérica de la lente, disminuye la profundidad de campo del sistema, es decir, su habilidad de observar en profundidad. Esta característica es inherente a los microscopios, permitiendo sobre la superficie de una muestra tridimensional, el enfoque en observación de un plano a la vez, mientras cada punto de la muestra a distinta distancia del plano focal es observado como una dispersión de su imagen latente.

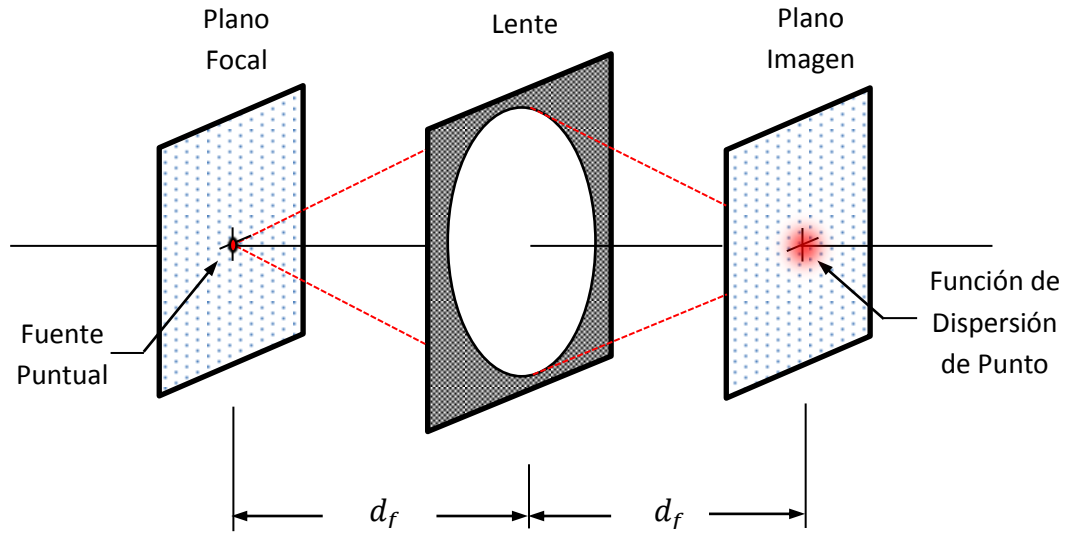


Figura 1. Esquema de formación de una Imagen Óptica y ubicación de la dispersión.

La Figura 1 muestra el esquema de proyección de un punto del plano objeto en el plano imagen, y la dispersión en este mismo al converger en el plano imagen.

3.1.1 Degradación Óptica

La geometría misma del recorrido de rayos relativo a los sistemas ópticos lenticulares contribuye con el inherente efecto de distorsión y dispersión, descritos más adelante. Estos efectos, sobre la data de un FPA pueden causar notables degradaciones en términos de la información radiométrica, tanto como a la correcta interpretación de datos estructurales superficiales de una muestra térmica en estudio. Con objetivo en la compensación de estos efectos, esfuerzos permanentes de autores son realizados [12-25], basados tanto en la intervención óptica, como del procesamiento de imágenes.

Si bien, tal como ilustra la Figura2, las aberraciones esféricas inducidas en la imagen están presentes en la mayoría de los sistemas de magnificación, a menudo esto suele asimilarse en sistemas monocromáticos como una ventaja para aumentar el rango de la profundidad de campo de observación no sin la inherente pérdida de

nitidez, como muestra la Figura 3 (inferior), las mayores degradaciones surgen motivo del enfoque selectivo de planos, tras la inhabilidad de satisfacer de manera instantánea diversas profundidades de campo.

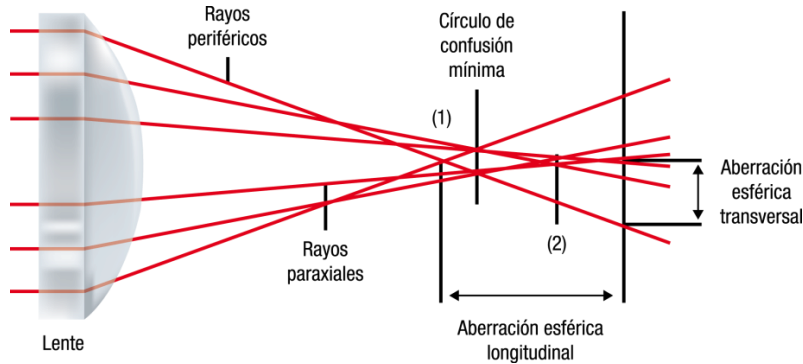


Figura 2. Esquema relativo a la aberración esférica inducida por un arreglo óptico de magnificación.

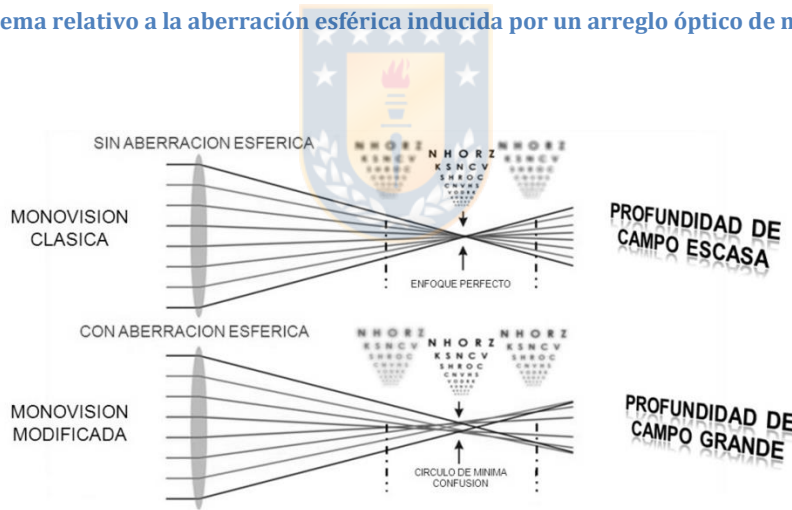


Figura 3. Esquema relativo a la influencia de la aberración esférica en el rango de la profundidad de campo.

Otro agente degradador de los sistemas de imágenes es la Distorsión Óptica. Debido a la magnificación del sistema óptico del microscopio, la radianza colectada X_p por el arreglo, emitida desde un plano objeto, es distorsionada en una cantidad directamente proporcional a la magnificación del arreglo e inversamente proporcional a la corrección óptica implementada en dicho arreglo. Por tanto, las distorsiones

atribuibles a aberración transversal pueden ser compensadas por algoritmos de corrección de distorsión geométrica.

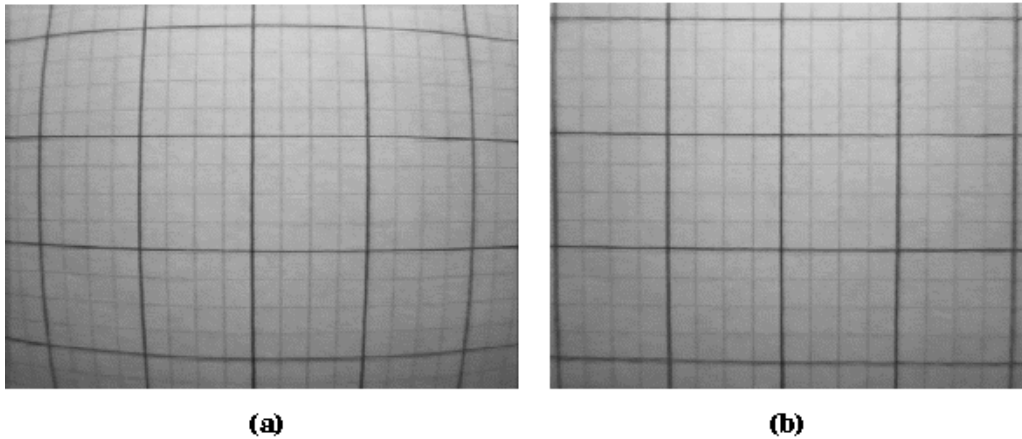


Figura 4. Imagen referencial de efecto “Distorsión”. a) Imagen con distorsión, b) imagen sin distorsión.

3.1.2 Dispersión de Punto

En base a la existencia de las aberraciones antes mencionadas, la mayor degradación espacial de una imagen microscópica IR es causada por el enfoque plano-selectivo. Esto es, cuando se observa una imagen cuyas secciones espaciales en foco corresponden a las zonas de la muestra ubicadas en el plano focal, y el resto de las secciones de la imagen, se encuentran en desenfoque proporcional al distanciamiento de estas, respecto al plano focal. En consecuencia a esta respuesta interpretada por el arreglo de detectores, ante un impulso emitido desde cada profundidad de campo, autores han propuesto métodos para resolver esta degradación mediante procesos matemáticos de deconvolución [7-9]. Estos procesos se orientan a hacer confluir la información dispersa espacialmente y cuyo patrón morfológico es dependiente de la geometría de la óptica operante, en un punto, con el objetivo de formar mediante el Procesamiento Digital de Imágenes, una imagen restaurada con el mayor grado de nitidez posible.

La PSF es la función que describe la respuesta de un sistema de imagen ante una fuente puntual. Su concepto matemático, es la respuesta de un sistema ante un impulso en su entrada, y su concepto práctico, es denotar el patrón espacial de deformación de un punto del plano objeto en el plano imagen.

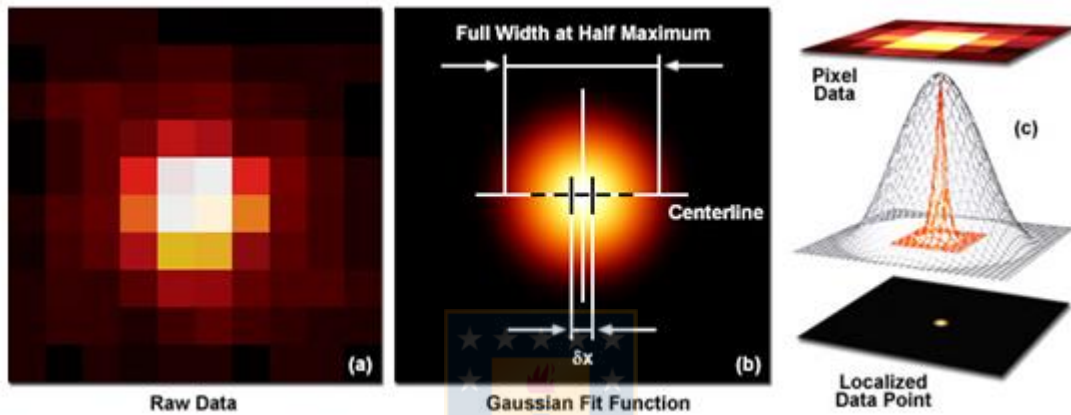


Figura 5. Imagen IR Raw registrada de la almohadilla de un dedo índice. Nótese que a pesar de que es posible atribuir elementos fisiológicos dados los registros térmicos observados, se observan mayor y menor grado de enfoque en las zonas de variada profundidad de campo. (Imagen Ref. [32]).

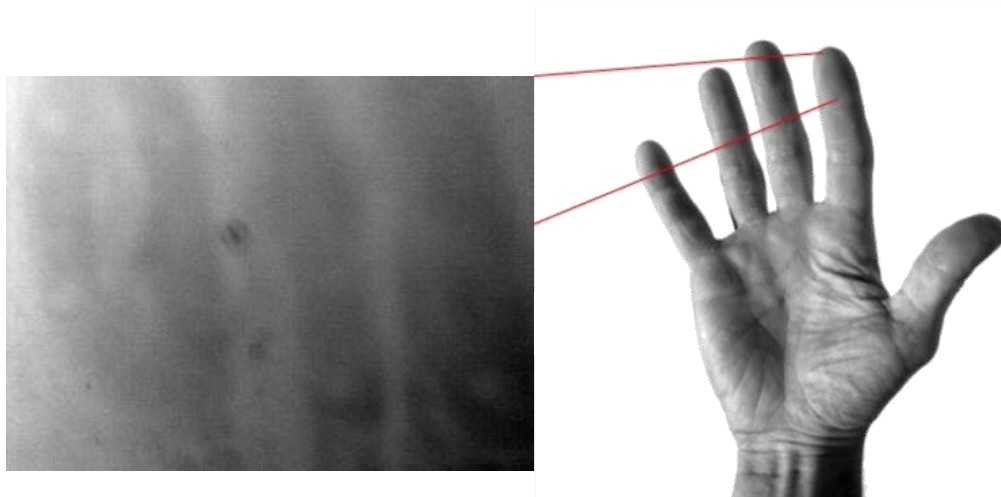


Figura 6. Imagen IR Raw registrada de la almohadilla de un dedo índice. Nótese que a pesar de que es posible atribuir elementos fisiológicos dados los registros térmicos observados, se observan mayor y menor grado de enfoque en las zonas de variada profundidad de campo.

La extrapolación de los principios de formación de imágenes ópticas y sus degradaciones, hacia el campo de la microscopía óptica infrarroja, en consideración de la necesidad de resolver a pleno enfoque, gradientes térmicos con resolución espacial micrométrica, y resolución térmica del orden de diez milésimas de kelvin, ha motivado la realización de esta Tesis.

3.2 DIGITALIZACIÓN DE LA IMAGEN

La digitalización es el proceso a través del cual se genera una imagen digital, usando una imagen óptica como guía. Cuando esto se lleva a cabo de manera satisfactoria, la imagen digital puede ser interpolada, para producir una imagen continua, que es fiel representación de la imagen óptica.

Este proceso consta de dos etapas fundamentales. La primera, sustentada en la física de semiconductores convierte una fracción espacial de imagen formada en el plano focal, en un nivel de corriente en proporción a la radianza recibida en tal detector, esta es la etapa de Detección. La segunda etapa corresponde a la conversión de esta señal eléctrica en cuentas digitales, es llamada Conversión Análogo/Digital. Dentro de estas dos etapas, existen múltiples sub-procesos de hardware, y de software, dedicados a limpiar la señal, amplificarla, acondicionarla y transmitirla al exterior mediante el protocolo ofrecido por el fabricante del sistema de imagen.

3.2.1 Modelo de Observación del Detector

En Ingeniería, según el modelo de linealidad para respuesta característica del detector infrarrojo, como muestra la Figura 7, cuando la salida del detector es lineal y estable en el tiempo, su salida puede ser expresada como:

$$y_{ij}(\varphi) = a_{ij} \cdot \varphi + b_{ij}$$

Donde (i, j) son las coordenadas de un detector en el arreglo, $y_{ij}(\varphi)$ es la salida del detector, φ es la radianza incidente en el detector (i, j) , y a_{ij} y b_{ij} son la ganancia y el *offset* del detector respectivamente.

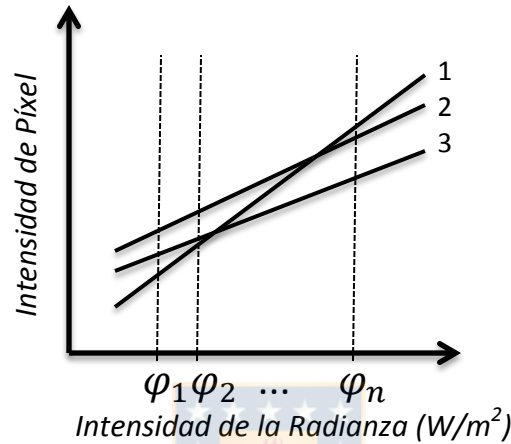


Figura 7. Gráfica del modelo lineal de la curva de respuesta para un detector en un IRFPA.

Para un mismo nivel de radianza de entrada, en lo práctico, el detector entrega una salida levemente distinta, del valor entregado por su detector vecino, dando lugar a una respuesta in-homogénea del arreglo de detectores, lo que se visualiza como un patrón fijo sobre cualquier imagen adquirida, ajeno a la señal de radianza de entrada, el cual es nombrado, FPN.

3.2.2 Degradación Electrónica en Sistemas de Imágenes IR

Debido en gran parte a una muy baja intensidad de las señales del espectro IR, las cuales emitidas por un cuerpo son capturadas en una ínfima fracción por una cámara IR, es que a pesar de la gran cantidad de avances logrados en transductores IR para fabricar un mejor FPA y los logrados en las nuevas tecnologías de ROIC que componen las actuales cámaras IR, la calidad de imagen sin procesar (en adelante, por sus siglas en inglés, RAW) todavía evidencia una muy baja SNR. Por tales efectos, en los procesos

de fabricación de tecnología ROIC-IRFPA aún se dispone de sistemas de imágenes que agregan FPN, el cual durante los procesos de amplificación de la SNR, resulta realizado por la ROIC, originándose como es conocido en la literatura [3], el conocido ruido de NU.

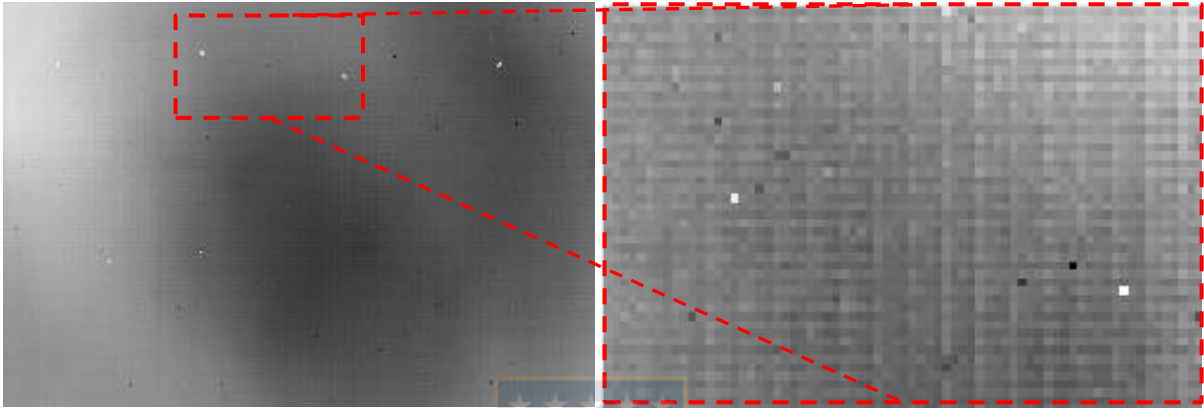


Figura 8. Imagen matriz de FPN *Offset* obtenida de un microscopio IR. Imagen FPN extraída (izquierda). Región magnificada de imagen FPN (derecha).

La Figura 8 muestra un patrón de desenfoque obtenido del microscopio MWIR, donde es posible visualizar un patrón espacial de intensidades en forma de grilla, que incluso en ausencia de escena muestra en el FOV información térmica inexistente, y en presencia de escena, acompaña cada *frame* de la data adquirida, durante toda su adquisición.

La aplicación de algoritmos NUC es de fundamental importancia como una primera etapa en el método propuesto, dado que el empleo de algoritmos deconvolutivos, dispuesto para la restauración de imágenes con desenfoque, pone por coste a su efectividad la condición que la imagen entrante del sistema se encuentre únicamente degradada por borrosidad, y “libre” de NU, tanto como sea esto posible para evitar sobre-degradación de la imagen final a causa de la amplificación de las altas frecuencias espaciales que el FPN pudiera contener.

3.3 MODELO DE DEGRADACIÓN OPTO-ELECTRÓNICA EN SISTEMAS DE IMÁGENES

El FPN es producido principalmente por las respuestas no homogéneas de cada detector en el arreglo y a las *dark-currents* no homogéneas, las cuales generan ruido de *ganancia* y *offset* de manera respectiva.

La NU y borrosidad constituyen a menudo los artefactos más indeseados en los sistemas de imágenes IR, más exacerbados aún, en efecto estos se muestran en un sistema microscópico IR, donde estos artefactos suelen degradar un gran porcentaje del FOV. Por otra parte, los sistemas de magnificación óptica suelen inducir aberración esférica y enfoque plano selectivo, lo que en la práctica resulta en borrosidad sobre las estructuras y bordes en la escena [4]. En consecuencia, los sistemas Opto-electrónicos heredan las limitantes de ambas tecnologías, con lo cual un sistema de Microscopía Infrarroja, adquiere imágenes con ruido de patrón fijo y un patrón de desenfoque.

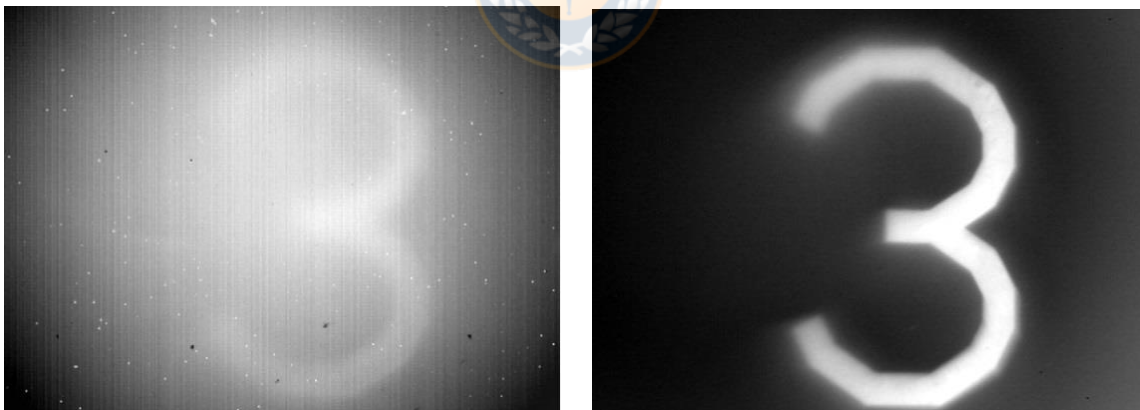


Figura 9. Ejemplo de imagen obtenida de un microscopio IR. (a) Imagen degradada por borrosidad y FPN. (b) Imagen con corrección de FPN y desenfoque en base a PSF de ROI central.

Estos artefactos (borrosidad y ruido FPN) degradan en gran cuantía y similares proporciones la calidad de la data IR, como se muestra en la Figura 9, conduciendo a grandes dificultades en el análisis de las imágenes térmicas para todo tipo de aplicaciones.

Una imagen degradada en la salida de un sistema de captura, puede ser satisfactoriamente modelada como la resultante de las degradaciones óptica y electrónica en cascada, tal como ocurre su flujo de adquisición (Ver Figura 10).

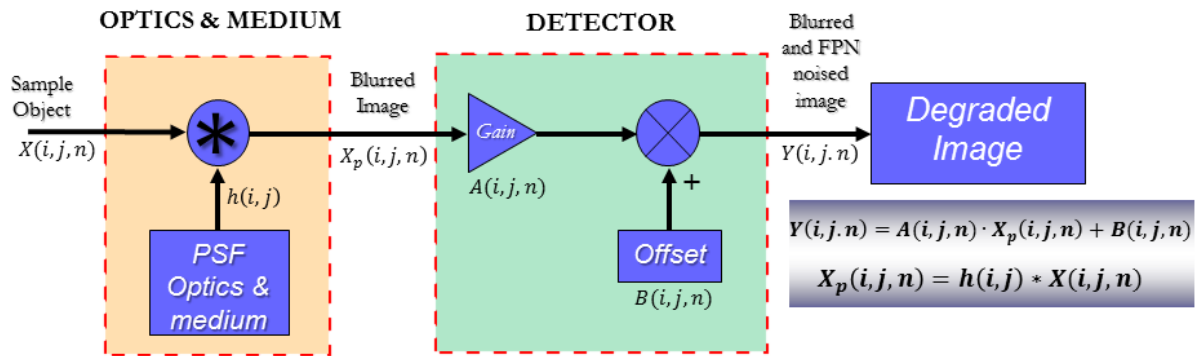


Figura 10. Esquema del modelo en cascada de degradación ocasionada por desenfoco y FPN sobre una imagen.

Esto es modelado como el resultado de la convolución entre la escena real (imagen latente) y la función de dispersión de punto (PSF) del sistema óptico de adquisición de la imagen [5,6,10,11], y a continuación una degradación provocada por un ruido espacial de patrón fijo, según muestra el esquema de la Figura 10.

Capítulo 4. DISEÑO Y FORMULACIÓN DEL ALGORITMO

4.1 INICIALIZACIÓN DEL MÉTODO

Éste capítulo detalla la el diseño de un método que en concordancia al modelo de degradación, se dispone operar en cascada invertida a él, y considerando la adquisición de una secuencia de calibración por única vez por sistema de imagen, operar con una única imagen degradada de entrada, para entregar una imagen final reconstruida a pleno enfoque. Su modelación contempla etapas de Pre-filtrado, Corrección de NU, Restauración de los planos fuera de foco mediante deconvolución e integración de planos restaurados mediante un algoritmo de Fusión de Imágenes, en virtud de lograr el Enfoque Multi-planar a través del Procesamiento de Imágenes (en adelante, por sus siglas en inglés, MPFIP).

A partir del modelo de observación del detector, descrito en la Sección 3.2.1, para este trabajo adoptamos el modelo afín para detectores [12–14,16–18], donde la integración espacial de la radianza, llevada a cabo por el IR-FPA, genera una señal es afectada por una *ganancia* y un *offset*, los cuales en conjunto agregan el efecto de la correspondiente función de sensibilidad de no-uniformidad de los detectores. Como tal, el $(i,j)^{ésimo}$ detector dentro del arreglo genera la señal medida (respuesta del detector) $Y(i,j,n)$, dada por el aproximado modelo afín:

$$Y(i,j,n) = A(i,j,n) \cdot X_p(i,j,n) + B(i,j,n),$$

donde $A(i,j,n)$ y $B(i,j,n)$ son la *ganancia* y *offset* (MWIR FPN) del $(i,j)^{ésimo}$ detector y $X_p(i,j,n)$ es la radianza de entrada, colectada por el $(i,j)^{ésimo}$ detector durante el tiempo de integración.

Además, inherentemente a la magnificación óptica en nuestro microscopio IR, la radianza colectada $X_p(i, j, n)$, siempre es localmente borrosa en la entrada al IRFPA. Por lo tanto, para restaurar la radianza real a partir de la señal corrupta de salida digital, el sistema óptico, normalmente descrito por su PSF, debe ser considerado. Aunque el FOV completo constituya un sistema no invariante al desplazamiento, tal como pudiera ser la curvatura de la tierra vista desde el espacio, en efecto lo es para una región espacial de visión ostensiblemente menor. Una región espacial de dispersión óptica homogénea es la ROI de operación de cada PSF. Por lo que, asumiendo que el sistema de imagen es localmente invariante en el espacio, la radianza real colectada puede modelarse como

$$X_p(i, j, n) = h(i, j) * X(i, j, n),$$

donde $X_p(i, j, n)$ es la imagen borrosa capturada, $X(i, j, n)$ es la radianza real colectada (usualmente llamada, la imagen nítida latente), y $h(i, j)$ es la PSF que describe el grado de borrosidad del objeto puntual capturado por el microscopio. El operador $*$ denota el operador convolucional bidimensional de espacio discreto.

Los efectos combinados de ruido NU (FPN), y la borrosidad producto de la PSF del sistema, nos llevó a modelar la señal MWIR microscópica salida digital del transductor $Y(i, j, n)$ en el $(i, j)^{ésimo}$ detector del FPA, al $n^{ésimo}$ *frame* de video, como la aproximación afín

$$Y(i, j, n) = A(i, j, n) \cdot [h(i, j) * X(i, j, n)] + B(i, j, n), \quad (1)$$

4.2 FORMACIÓN DE LA 3D-PSF

En el espacio tridimensional de visión microscópica MWIR, la integración de las 2D-PSF de varias profundidades de campo (Figura 11, izquierda) hace posible generar una 3D-PSF (Figura 11, derecha), para estimar la dispersión óptica del sistema de imagen.

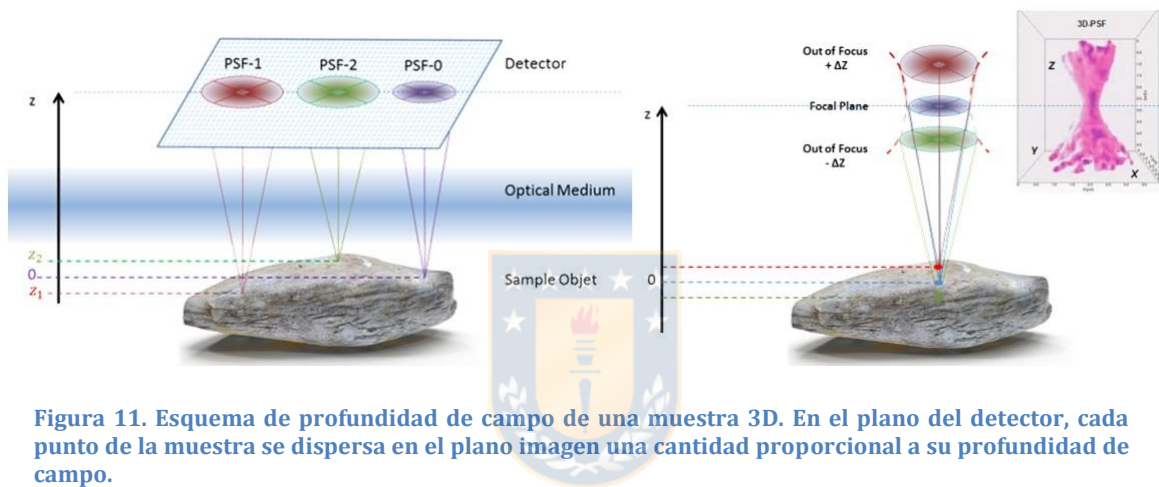


Figura 11. Esquema de profundidad de campo de una muestra 3D. En el plano del detector, cada punto de la muestra se dispersa en el plano imagen una cantidad proporcional a su profundidad de campo.

Tras la integración de las 2D-PSF en una ROI, para diversas profundidades de campo, como muestra la Figura 11 (derecha), es posible obtener la 3D-PSF para tal ROI.

4.2.1 Registro Térmico de Target de Puntos

Para la caracterización espacial en términos de la dispersión de cada punto fuera de foco en la muestra tridimensional, se hace necesaria la utilización de un matriz de transiciones ubicada en el plano objeto, y su captura en el espectro IR con el mismo sistema de imagen en el cual se pretende la observación de imágenes a pleno enfoque. Desplazando en el eje Z esta matriz de transiciones (escalones), se dispone la obtención

de una secuencia de múltiples dispersiones progresivas (Ver Figura 12), para el mismo escalón, en diferentes ROI a lo largo y ancho del FOV.

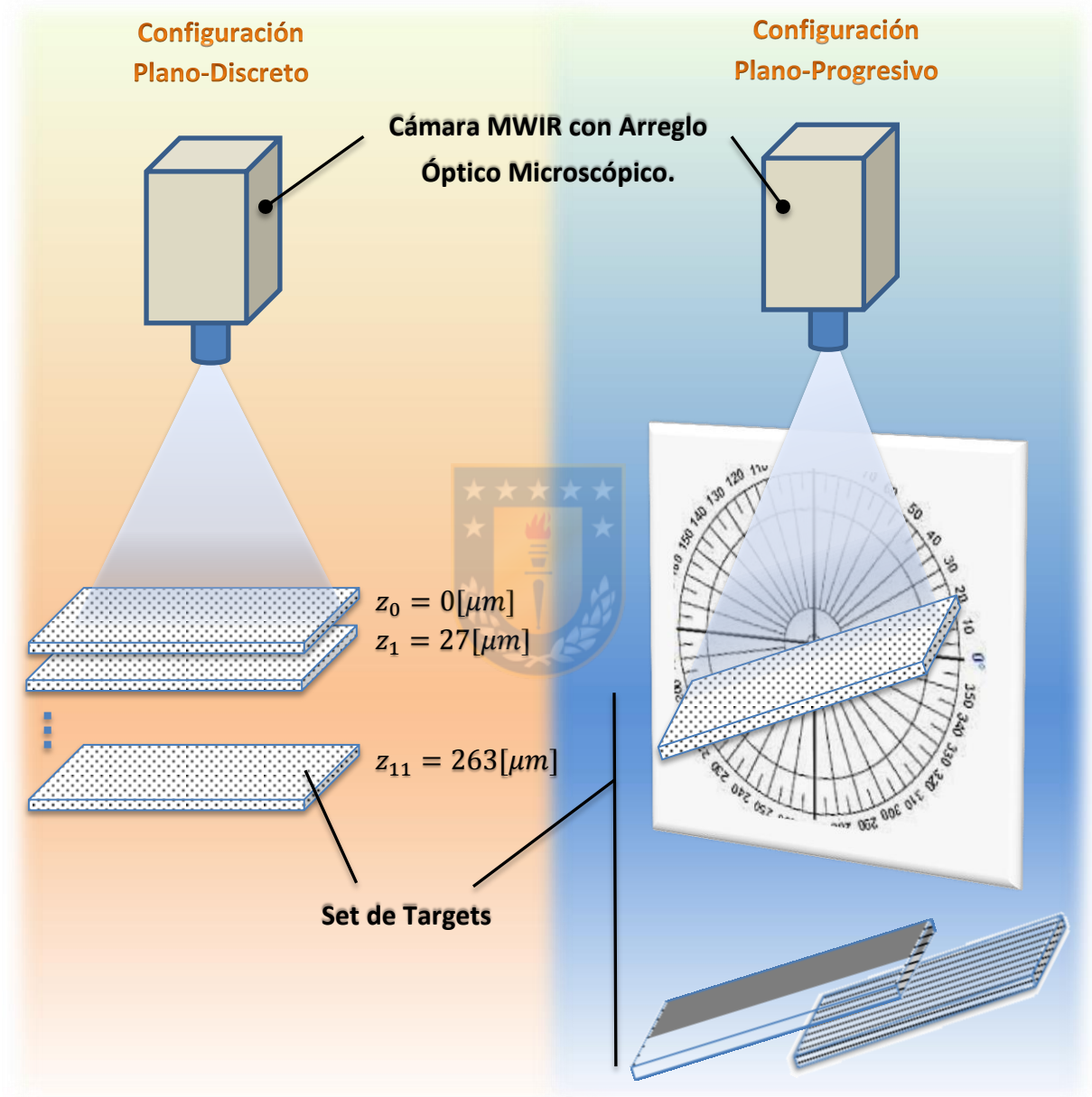


Figura 12. Esquema de Registro Térmico de Target de Puntos, para configuración de desenfoque plano-progresivo.

El registro térmico, no obstante, debe implementarse sobre imágenes notoriamente reducidas en ruido, con el objetivo de evitar la propagación de éste, hacia las demás

fases del método. Esto sugiere la necesidad de implementar procesos de Corrección de No-uniformidad y posterior pre-filtrado de las imágenes a ser utilizadas como fuente de calibración del método.

4.2.2 Corrección de No-uniformidad

Constant Range (CR) es un algoritmo NUC recursivo basado en escena que utiliza estadísticas de primer orden para estimar los parámetros de corrección de NU. La condición principal en el algoritmo CR es que todos los detectores dentro del IR FPA tienen la misma probabilidad de estar expuestos al mismo rango de radianza de entrada. Como consecuencia, la radianza de entrada en cada píxel sigue una distribución uniforme dentro del rango $[X_{min}, X_{max}]$, que se supone que es la misma para todos los detectores. La *ganancia* y el *offset* para cada píxel dentro del IR FPA se pueden estimar mediante el uso de estadísticas globales sobre toda la imagen como se muestra a continuación [18]. El algoritmo CR no impone requisitos de movimiento significativos sobre las imágenes adquiridas, por lo que es ideal para el caso de la microscopía IR donde la movilidad de la escena es mínima. De hecho, el único requisito para que el método funcione es exponer todos los píxeles dentro de la matriz al mismo mínimo y al mismo máximo de radianza de entrada, lo que suele lograrse naturalmente al adquirir unos pocos cuadros. Además, la eficacia del algoritmo CR ha sido probada por nuestro grupo en diferentes escenarios [16-18]. En el algoritmo CR, la *ganancia* (A) y el *offset* (B) del modelo afín (1) se estiman con las fórmulas

$$\hat{A}(i, j, n) = \frac{\sigma_Y(i, j, n)}{\sigma_X} \quad (2)$$

$$\hat{B}(i, j, n) = \mu_Y(i, j, n) - \hat{A}(i, j, n)\mu_X \quad (3)$$

Donde μ_X y σ_X son la media global y la desviación estándar, respectivamente, de la irradiancia de entrada; Estas cantidades se conocen bajo los supuestos CR. Los valores $\mu_Y(i, j, n)$ y $\sigma_Y(i, j, n)$ son la media y la desviación estándar, respectivamente, calculadas

a partir de las cuentas digitales medidas desde el detector $(i, j)^{ésimo}$ dentro de la matriz y utilizando la información disponible hasta el enésimo cuadro de video. Normalmente, la media y desviación estándar de la imagen ruidosa Y se estima de forma recursiva, que es el enfoque que adoptamos aquí. Las ecuaciones recursivas para realizar dicha tarea están dadas por

$$\mu_Y(i, j, n) = (1 - \varepsilon)Y(i, j, n) + \varepsilon\mu_Y(i, j, n - 1) \quad (4)$$

$$\sigma_Y(i, j, n) = (1 - \varepsilon)Y(i, j, n) - \mu_Y(i, j, n) + \varepsilon\sigma_Y(i, j, n - 1) \quad (5)$$

En (3), ε es un factor de regularización que pondera las cantidades de información que utilizamos para actualizar los parámetros. Cuanto mayor es el valor, menos importancia le damos al *frame* de actualización. En nuestro caso, las imágenes del microscopio IR tienen variaciones mínimas dentro de los marcos. Como tal, establecemos $\varepsilon = 0.9998$. Usando (2), (3), (4) y (5), el algoritmo CR estima recursivamente la radianza muestreada pero sin ruido $X_p(i, j, n)$ por

$$\hat{X}_p(i, j, n) = \frac{Y(i, j, n) - \hat{B}(i, j, n)}{\hat{A}(i, j, n)} \quad (6)$$

4.2.3 Pre-filtrado Espacial

La estimación de estos parámetros y estimación de $\hat{X}_p(i, j, n)$ nos permite disponer de una imagen sin ruido de No-uniformidad, sin embargo una etapa de filtrado asegura la suavidad de las áreas planas (sin mayores variaciones espaciales de intensidad) preservando los bordes, en posición y magnitud.

Filtro Bilateral. Corresponde a un filtro no lineal, preservador de bordes y de reducción de ruido para el suavizado de imágenes. El valor de intensidad en cada pixel de la imagen es reemplazado por una media ponderada de los valores de intensidad de los píxeles cercanos, mientras cada vecino es ponderado por una componente espacial que penaliza píxeles distantes y componente de rango que

penaliza píxeles con un Intensidad diferente. La combinación de ambos componentes asegura que solo los píxeles cercanos contribuyen al resultado final, como muestra la Figura 13.

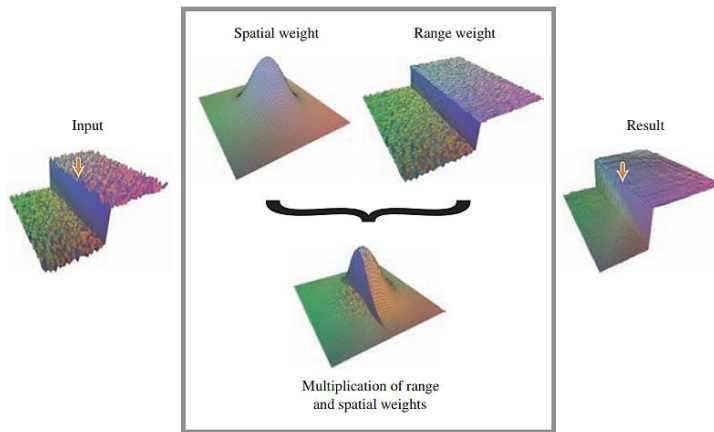


Figura 13. Esquema de operación de filtro bilateral. Notar que su acción se orienta a suavizar una imagen de entrada mientras conserva sus bordes. Los pesos que se muestran se aplican al píxel central (debajo de la flecha) (Imagen Ref. [21]).

Filtro de Mediana. Utilizado de manera común para la eliminación de ruido en Procesamiento de Imágenes, consiste en reemplazar el valor de un píxel por la mediana entre los valores de su vecindad, para cada píxel de la imagen. La dimensión de una vecindad típica es de 3×3 píxeles, como muestra la Figura 14.

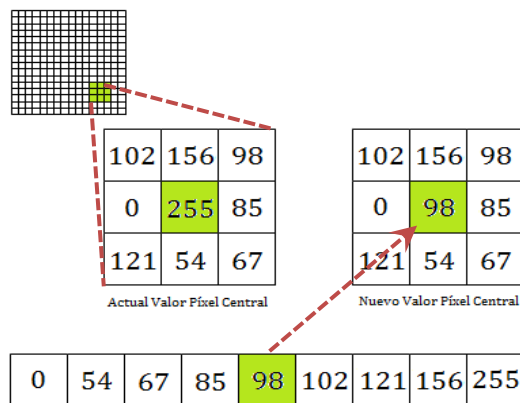


Figura 14. Esquema de operación del Filtro de Mediana. Notar que su acción se orienta a suavizar las imágenes, de los valores de intensidad fuera de rango, reemplazando el valor del píxel central por la mediana estadística del conjunto vecindad.

4.2.4 Cálculo de Derivadas Espaciales 1-Dimensionales

El fundamento matemático para la estimación de la PSF del microscopio IR usado en este trabajo está basado en el método experimental propuesto en la Ref. [6]. Ahí, basado en el hecho de que la radianza recibida por el FPA es asimilada por esta como una representación espacial discreta de la dispersión, la radianza colectada por cada fila de detectores es independiente de la colectada por cada columna; consecuentemente, esta es, en efecto, separable, y su implicancia es el reducido número de operaciones para obtener la PSF unidimensional mediante la derivada aplicada en la región de transición espacial de intensidad para cada fila, en virtud de la formación de las 3D-PSF del espacio de visión. En efecto, en nuestro sistema opto-electrónico la PSF del sistema óptico es asumida isotrópica y separable, por lo que puede ser calculada a partir de la combinación de cada PSF de línea estimada sobre los ejes x e y por independiente, $h(i)$ y $h(j)$, respectivamente. Así, cada PSF de línea puede ser estimada como la derivada de una función escalón de transición espacial abrupta en la dirección deseada de la escena, como sigue:

$$h(i) = \frac{g'(i)}{B}, \quad h(j) = \frac{g'(j)}{B}$$

Donde B es el valor de intensidad del fondo de la escena y $g'(i)$, $g'(j)$ son las derivadas con respecto a la direcciones x e y respectivamente.

En la Figura 15 se muestra una experimentación previamente publicada [22], en la que, por medio de una placa a baja temperatura en primer plano y el área de emisión de un cuerpo negro de fondo se obtiene una transición espacial de intensidad que permitió la estimación experimental de la PSF del microscopio MWIR para una ROI central a una distancia de plano focal de la muestra.

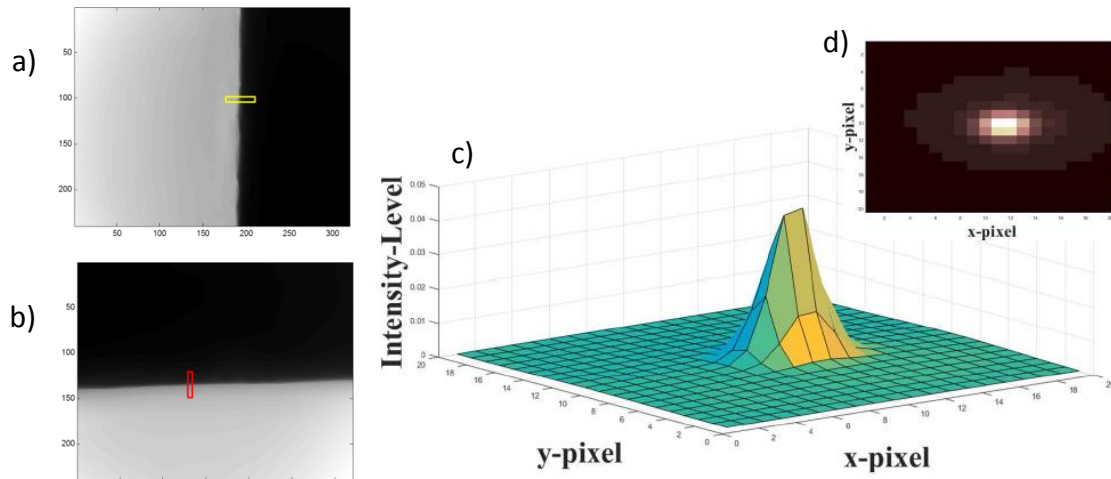


Figura 15. a) y b) Imágenes experimentales de entrada escalón para estimación de la PSF. El rectángulo de la imagen (a) contiene la región donde el vector del escalón vertical fue registrado. b) el rectángulo de la imagen (b) contiene la región donde el vector del escalón horizontal fue registrado. c) y d) Resultados experimentales de estimación de la PSF en gráfica 2D y 3D, previamente publicados [22].

Estos principios son consistentes en la consideración que el microscopio MWIR en conjunto a la configuración experimental de adquisición es un sistema lineal y localmente invariante al desplazamiento, como en efecto, lo es en cada ROI.

4.2.5 Ajuste Gaussiano y Formación de 2D-PSF

En términos generales, las imágenes degradadas por borrosidad provocada por el desenfoque, no desplazamiento de cuerpos en la escena o efectos ajenos al desenfoque, producen una PSF cuyo patrón morfológico es, en ingeniería, modelado por una función gaussiana con parámetro (σ) específico de acuerdo al proceso que describa y en proporción a la medida en que disperse los datos de su fuente puntual. Un ajuste Gaussiano proporcionará a la curva derivada del escalón, la forma típica de una PSF preservando sus parámetros fundamentales.

Posterior al ajuste gaussiano, se dispone la implementación de un algoritmo de rotación sobre el máximo de la función de línea, cuyo objetivo es formar una función 2-dimensional. La estimación 2D-PSF del escalón espacial de intensidad característico de la ROI.

Además del proceso de estimación de las 2D-PSF, el apilamiento de éstas contendría la data multi-planar de dispersión de cada punto en un plano distinto del eje Z, con lo que se dispone el apilamiento de estas 2D-PSF para dar origen a una 3D-PSF correspondiente a una ROI específica según muestra la Figura 16.

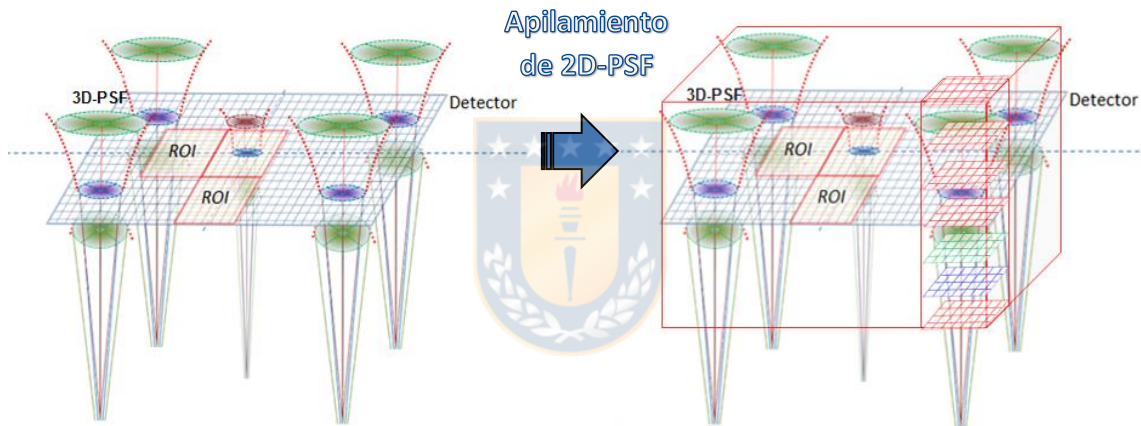


Figura 16. Esquema de formación y apilamiento de las 2D-PSF. El apilamiento en el eje Z genera una 3D-PSF Multi-planar.

4.3 MÉTODO ENFOQUE MULTI-PLANAR

4.3.1 Restauración mediante Deconvolución

La imagen de entrada de (6), $\hat{X}_p(i, j, n)$ es una imagen *libre-de-NU* pero aún degradada por h , la distorsión por PSF. Considerando que $X_p(i, j, n) = h(i, j) * X(i, j, n)$, entonces, es viable el uso de filtrado inverso en el dominio de la frecuencia para estimar X , a partir de X_p y usando la PSF estimada. Inclusive, cuando la PSF es conocida de forma

precisa, esta metodología resulta en la amplificación de singularidades ante la presencia de cualquier pequeña cantidad de ruido.

Con objetivo de evitar las posibles amplificaciones de errores debidas al filtrado inverso, adoptamos una técnica similar a la usada en el algoritmo de Richardson-Lucy [8,9]. De esta manera, ponderamos $\hat{X}_p(i, j, n)$ con una versión borrosa de sí misma antes de aplicar el filtrado inverso. Así, definimos:

$$X'_p(i, j, n) = \hat{X}_p(i, j, n) \left[\frac{\hat{X}_p(i, j, n)}{\text{IDFT}[\text{DFT}[\hat{X}_p(i, j, n)]H(u, v)]} * \hat{h}(i, j) \right] \quad (7)$$

donde $H(u, v) = \text{DFT}[h(i, j)]$ es la transformada de Fourier (DFT) de la PSF estimada y $\hat{h}(i, j)$ es la PSF invertida. Como en las implementaciones numéricas del algoritmo de Richardson Lucy, nosotros imponemos el denominador en (7), a tener valores distintos de cero, con esto, se aplica el filtrado inverso sobre $X'_p(i, j, n)$, para estimar $X(i, j, n)$, esto es:

$$X(i, j) = \text{IDFT} \left[\frac{\text{DFT}[X'_p(i, j, n)]}{H(u, v)} \right] \quad (8)$$

4.3.2 Reconstrucción por Fusión de Imágenes

La información contenida en cada uno de los múltiples planos en enfoque, contienen información espacial que al ser analizada en el espacio de Fourier muestran frecuencias considerablemente mayores que en las imágenes fuera de foco. Con soporte en esto, se ha desarrollado para éste trabajo un algoritmo de Fusión de Imágenes basado en el filtrado espacial mediante el Laplaciano del Gaussiano.

La estimación del nivel de desenfoco local es uno de los problemas más desafiantes, debido a la existencia de múltiples frecuencias bajas que están presentes en una imagen de desenfoco de un *frame*. Basados en resultados de trabajos previos, resolvemos el desenfoco local aplicando este conocido operador LoG sobre toda la

imagen de entrada como un filtro de baja frecuencia en el dominio espacial, para obtener un área de enfoque local segmentada. El procesamiento de la fusión de imagen se opera en las diversas profundidades de campo, cuadro por cuadro, como se muestra en la Figura 17.

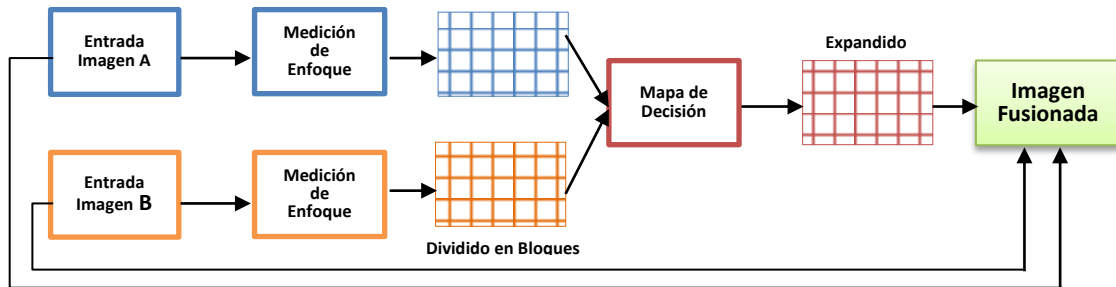


Figura 17. Diagrama esquemático para el proceso propuesto de Fusión de Imágenes.

4.3.3 Algoritmo de Enfoque Multi-planar

Resumimos el método MPFIP de la manera siguiente:

Algoritmo 1. MPFIP

Inicialización: (solo una vez por sistema de imagen)

Capturar el set de z_d -planos de *target* de puntos

por frame $z_d = 0$ a z_D **hacer**

Aplicar CR NUC

Aplicar filtro de mediana y bilateral

Calcular la derivada de línea vertical and horizontal

Ajuste Gaussiano a las 1D-PSFs para generar las 2D-PSFs

Apilar las matrices 2D-PSFs para formar la matriz 3D-PSF y la Hiper-PSF

Etiquetar las matrices PSFs con la correspondiente profundidad de plano- z

Cargar: matriz 3D-PSF

Asignar a matriz 3D – $\text{Map}_{|x|}$ valor cero (Opcional)

por frame $n=1$ a $n=N$ **hacer**

Entrada $Y(i, j)$: Imagen degradada por FPN y desenfoque plano-dependiente

Aplicar CR NUC

para $z_d = 0$ a z_D **hacer**

Calcular la imagen deconvolucionada operando la PSF_z

Registrar la ROI más nítida, asignando cada $(i, j)^{ésimo}$ *píxel-nítido* (píxel en la ROI nítida) al nivel de profundidad (z_d -depth) dando un valor de intensidad en la matriz 3D – $Map_{i,j}$. (Opcional)

Calcular imagen fusionada entre imágenes deconvolucionadas (z_n y z_{n-1}).

Salida: Imagen MWIR plenamente enfocada.

Mapa-3D de superficie de la muestra (Opcional)

4.3.4 Evaluación de las Imágenes Restauradas

Para la evaluación de la calidad del MWIR FPN y *Blur* residual en las imágenes corregidas y restauradas, se dispone una métrica basada en el filtro Laplaciano y Laplaciano del Gaussiano, el *Patrón de Rugosidad Laplaciano* (RLP, *por sus siglas en inglés*), el cual, para evitar la propagación del error de un proceso en cascada, está diseñada para cuantificar simultáneamente ambos ruidos [22]. El RLP se calcula mediante:

$$RLP(X) = \left[\beta \cdot \frac{\|\nabla^2(X)\|}{\|\max(\nabla^2(X))\|} + (\beta - 1) \cdot \frac{\|LoG_\sigma(X)\|}{\|\max(LoG_\sigma(X))\|} \right], \quad (9)$$

donde X es la imagen sujeta a evaluación y el parámetro β puede usarse para ajustar el RLP para evaluar imágenes con baja distorsión por desenfoque, por ejemplo, imágenes IR macroscópicas (β más cerca de 1), o imágenes IR con alta distorsión por desenfoque, por ejemplo, microscópico Imágenes IR (β cero más cerca de 0). Los componentes del RLP ponderados por β se pueden mostrar de forma independiente para la evaluación del FPN (primer término de la derecha) y para la evaluación de desenfoque (segundo término de la derecha), respectivamente. El rango RLP va de 0 a 1, acercándose a cero a medida que el FPN y / o el desenfoque de la imagen se reduce.

Capítulo 5. METODOLOGÍA Y DESARROLLO DEL ENFOQUE MULTI-PLANAR MEDIANTE PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

En la práctica de la experimentación mediante microscopía de muestras tridimensionales, tanto inertes, como muestras biológicas e incluso fenómenos con dinamismo morfológico y térmico, se presentan condiciones ópticas que dispersan toda información proveída por la muestra o parte de ella que esté fuera del plano focal. Los arreglos ópticos por su parte, limitan su habilidad a corregir las aberraciones a un único plano, el plano focal, mientras la tridimensionalidad de estas muestras sugiere la habilidad de enfoques de múltiples planos, o lo que es equivalente, ampliar la profundidad de campo del sistema.

La adquisición de imágenes provenientes procesos dinámicos, como muestras térmicas, suele requerir no solo de una alta tasa de muestreo, sino además de una observación sin pérdida de información. La dependencia temporal de una muestra térmica tanto orgánica como inorgánica es singularmente sensible en términos de su reproducibilidad, por lo que la información dinámica irradiada por esta en cada punto de su superficie necesita ser capturada en todos los distintos plano focales en un mismo instante de tiempo, lo que hace incompatibles el uso de métodos de autoenfoco, tanto mecánicos como algorítmicos, así como también los métodos de Fusión de Imágenes.

La materialización del método propuesto ha sido proyectada en tres etapas, las cuales contemplan desde su comienzo la utilización de equipamiento opto-electrónico, instrumentación de calibración para la compensación de distorsión y targets para obtención de la data necesaria para la estimación de cada PSF. A continuación se expone la metodología dispuesta para la corrección de desenfoque según método propuesto.

- ❖ **Set-up Experimental:** Diseño y montaje del set-up necesario para la adquisición de imágenes IR y de los datos espaciales de calibración. Se utilizará un desplazador motorizado para el alzamiento en el eje Z de la muestra (target). El concepto es realizar un desplazamiento registrado a la vez que se analiza las dispersiones de cada plano z, de cada ROI del FOV.
- ❖ **Formación de una 3D-PSF:** Captura de imágenes IR que contengan transiciones espaciales de intensidad. Esto permite a posterior, el cálculo de las derivadas de línea de estas transiciones, y con esto, la estimación de las 2D-PSF correspondientes a cada ROI del FOV. Este proceso recién descrito es necesario realizarlo en múltiples planos del eje Z. Asimismo esta data es organizada para la formación de una 3D-PSF por cada ROI del FOV, conformando así la base de datos.
- ❖ **Algoritmo de Enfoque Multi-planar:** Por cada ROI se dispone la restauración mediante algoritmo deconvolutivo de la imagen de entrada, utilizando las PSF generadas en el proceso de “Formación de una 3D-PSF”. Estas imágenes restauradas son sometidas a un algoritmo de Fusión de Imágenes desarrollado para este trabajo y basado en la métrica RLP previamente publicada [21,31], la cual realiza la integración estas imágenes, para conformar una imagen única a pleno enfoque.

De manera adicional se propone la validación del método mediante el uso de imágenes MWIR de muestras reales y evaluación mediante las métricas RMSE y RLP, de los resultados.

Éste capítulo detalla la metodología de un método que en concordancia al modelo de degradación, opera en cascada invertida a él, y considerando la adquisición de una secuencia de calibración por única vez por sistema de imagen, opera con una única imagen degradada de entrada, para entregar una imagen final reconstruida a pleno enfoque. Su implementación contempla etapas de Pre-filtrado, Corrección de UN,

Restauración de los planos fuera de foco mediante deconvolución e integración de planos restaurados mediante algoritmo de Fusión de Imágenes, en virtud de lograr el enfoque multi-planar a través del Procesamiento de Imágenes.

5.1 SETUP EXPERIMENTAL

La exploración térmica de organismos vivos como también inertes de orden micrométrico, puede proveer cuantiosa valía en orden de los procesos naturales de dicho organismo o el análisis exotérmico de diversa materialidad. Sin embargo es requerido el equipamiento con la habilidad de proveer imágenes térmicas a una elevada tasa de muestreo y con una adecuada resolución térmica, además de magnificar mediante óptica del espectro IR escenas de orden milimétrico.

Tabla 5.1. Recursos instrumentales utilizados en el Setup Experimental.

Instrumento	Marca	Modelo	Característica
Cámara MWIR	Sofradir	EC-IRE 320M	Resp. Espectral 3-5[μm]. 320x256 <i>píxeles</i> . 320[f/s]. NETD 10[mK]
Arreglo Óptico (Lente)	Janos	Asio Technology	NA 0.643. Magnificación 4X
Desplazador motorizado	Thor	Z812B	Desplazamiento paso 50[μm]
Target de Puntos de Frecuencia Fija	Thor	R2L2S3P1	Target de Puntos de 62.5[μm], de Calibración.
Target de Prueba Combinado Positivo	Thor	R1L3S5P	Target de líneas en Grilla de 10[μm], de Calibración.

La unidad Microscopio IR incorporado, mostrado en la Figura 18, está compuesta por una cámara MWIR (modelo Sofradir EC-IRE 320M) con un transductor Arreglo de Plano Focal (FPN) de HgCdTe con respuesta espectral entre 3.7 y 4.8 micrómetros. El

FPA está compuesto por un conjunto de 320×256 detectores IR, además de un conversor analógico/digital de 14 bits.



Figura 18, Configuración experimental para la adquisición de imágenes térmicas microscópicas. Los desplazadores en los ejes x, y, z proveen condiciones de movimiento y enfoque relativas a la muestra. Esto permite capturar imágenes con un amplio rango de profundidad de campo.

Esta unidad puede operar hasta 320 cuadros por segundo y su sistema óptico (objetivo IR) está integrado por un arreglo microscópico marca Janos Technology, con una apertura numérica (en adelante, por sus siglas en inglés, NA) de 0.643, lo que nos permite alcanzar una resolución espacial de $6.22 \mu m$ por píxel a través de un sistema de magnificación 4X. De acuerdo con nuestros experimentos, dicho microscopio nos permite integrar un proceso exotérmico IR de un área de escena de $1.99 \times 1.49 mm$ con una diferencia de temperatura equivalente al ruido (en adelante, por sus siglas en inglés, NETD) de $10 mK$.

La inicialización del método contempla la captura de imágenes térmicas de una matriz de transiciones espaciales de intensidad, sobre las cuales puedan ser calculadas

las derivadas en las direcciones de los ejes coordenados x e y , con la finalidad de estimar las PSF de línea que en procesos posteriores permiten la estimación de las PSF del sistema.

La configuración experimental, por tanto, contempla el uso de un Target de rejilla, como muestra la Figura 19, el cual presenta una matriz de puntos de dimensión 25.0 mm x 25.0 mm (0.98"x 0.98") fabricada a partir de la deposición de cromo de baja reflectividad pulverizado al vacío sobre un sustrato de vidrio de cal sodada. Los espacios disponibles de la cuadrícula, que se miden desde el centro de cualquier punto hasta el centro de cualquier punto adyacente, miden 125 μm , y los diámetros de punto miden 62.5 μm .

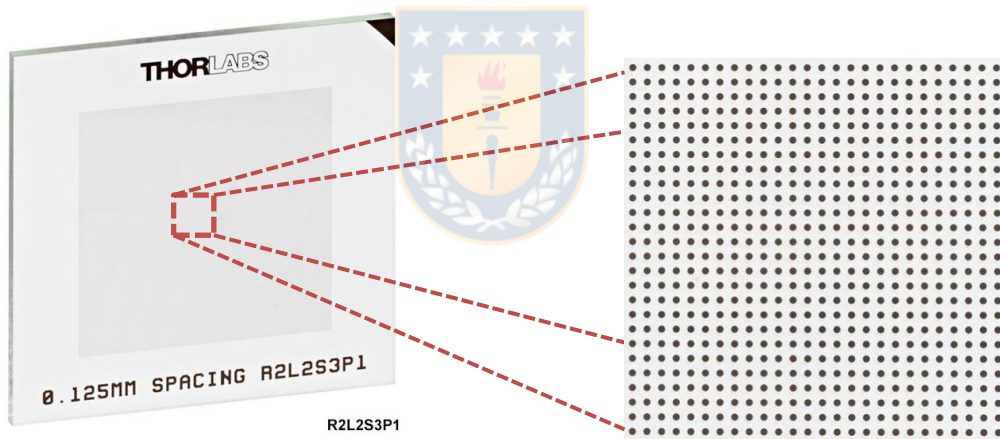


Figura 19. Target de puntos, para la adquisición de imágenes térmicas de transiciones espaciales de intensidad.

5.2 FORMACIÓN DE UNA 3D-PSF

La óptica de nuestro sistema de microscopía IR, en consecuencia a su alta magnificación, dado su NA, nos limita a capturar de forma simultánea, solo un plano en enfoque a la vez. Esto es, recolectar de manera enfocada toda la data proveniente de un

plano $Z = Z_0$ a la vez. Esto produce el fenómeno óptico llamado enfoque plano-selectivo, que a su vez es la base del método propuesto (Ver Figura 20).

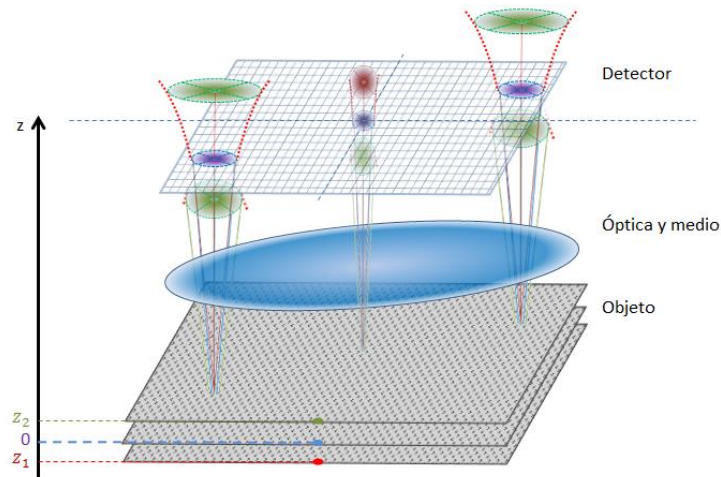


Figura 20. Esquema de formación de PSF Multi-planar en distintas zonas del FOV.

La formación de las 3D-PSF, como paso fundamental para la reconstrucción de la imagen a pleno enfoque, sugiere la adquisición de una secuencia de imágenes de calibración que nos permita registrar las zonas de transición espacial de intensidades correspondientes a cada punto del target (cada ROI), para cada uno de los planos en z dispuestos a reconstruir. Las resultantes operaciones sobre estas regiones permitirá la estimación de las 2D-PSF y las 3D-PSF.

NOTA: Es posible establecer tantos niveles de profundidad de campo para restaurar, como píxeles contenga la imagen de muestra de plano inclinado. Pues cada fila en una configuración plano-progresiva puede contener un vector con la transición espacial de intensidad en el eje transversal a Z . Caracterizando con esto, la dispersión para tal

profundidad de campo. Esto elimina el concepto de ROI para dar paso a una caracterización plena del FOV hasta el límite de *1-PSF por Pixel*.

5.2.1 Registro Térmico de Target de Puntos

El registro térmico mediante una secuencia Φ de imágenes, cada una, proyección de un plano distante del siguiente, en el eje z , una distancia finita Δz , de la forma $\Phi(i, j, n) = \{\varphi(i, j)_{z_0}, \varphi(i, j)_{z_1}, \dots, \varphi(i, j)_{z_n}\}$, nos permite obtener cada punto del target en el espacio, desde su versión más nítida, hasta la más dispersa.

En las imágenes de la Figura 21, es posible visualizar la configuración experimental dispuesta para la captura del Target R2L2S3P1 en plano inclinado y alzamiento en el eje z , ante el microscopio IR.

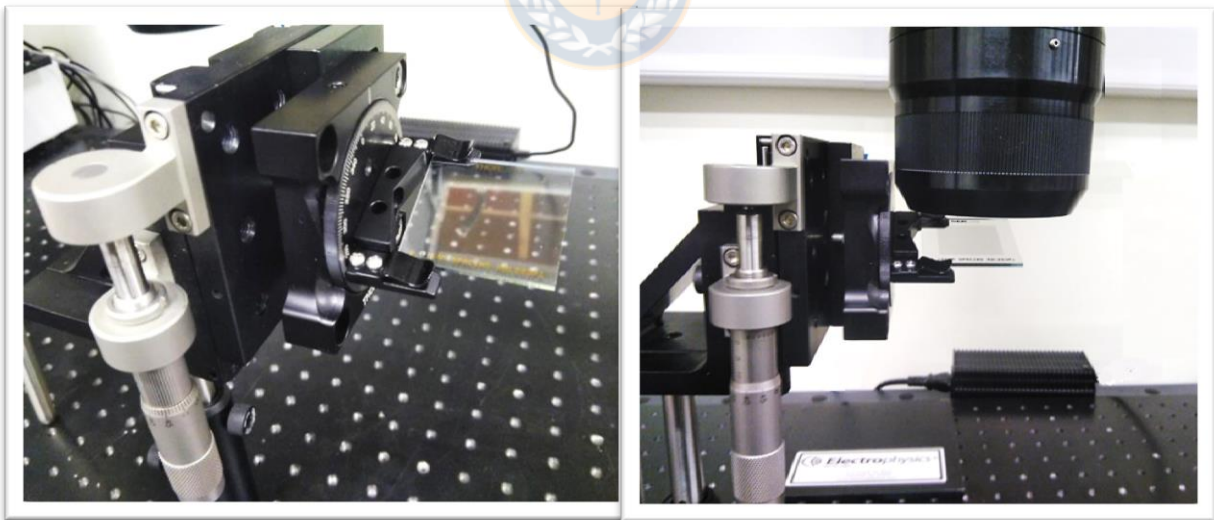


Figura 21. Configuración experimental para la adquisición. target de calibración en configuración de enfoque plano-progresivo ante el microscopio MWIR.

La Figura 22 muestra una secuencia IR del target de calibración en configuración de enfoque plano-progresivo ante el microscopio. Su angulación corresponde a 20° , y se

ha dispuesto para la captura de la data proveniente de distintas ROI del FOV sin requerir el uso de algoritmos de registro en virtud de fidelizar el contenido espacial adquirido por la vecindad de detectores en las ROI.

Se captura bajo la configuración una secuencia MWIR que contiene degradación ocasionada por FPN, además de la dispersión ocasionada por el desenfoque de los planos progresivamente distantes del plano focal de la muestra.

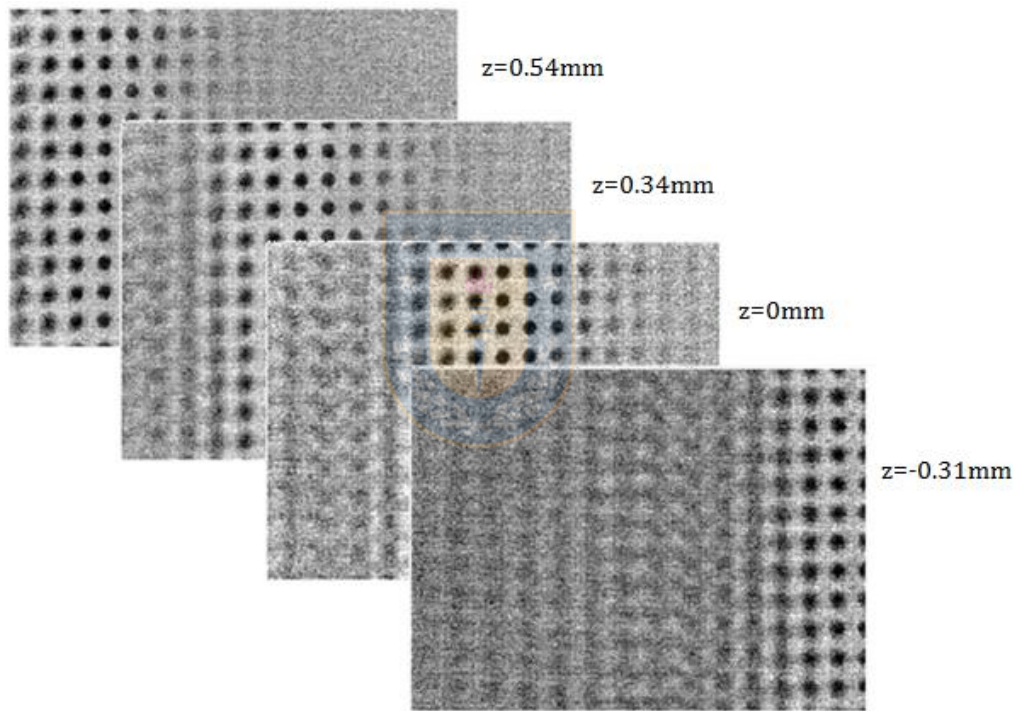


Figura 22. Captura IR sin procesar, del Target de puntos en plano inclinado, para la adquisición de imágenes térmicas de transiciones espaciales de intensidad en enfoque plano-progresivo.

Una secuencia capturada bajo esta configuración, contiene la data espacial relativa a la dispersión espacial de cada plano z a restaurar.

5.2.2 Corrección de No-uniformidad

En consecuencia al uso de optoelectrónica IR para la adquisición, cuya data obtenida de la radianza de entrada al sistema de imágenes es proporcional al ruido agregado por

los amplificadores que hacen posible su observación, es que se presenta la necesidad de compensar la NU producida por la respuesta in-homogénea de los detectores ante una misma radianza de entrada mediante el proceso de NUC.

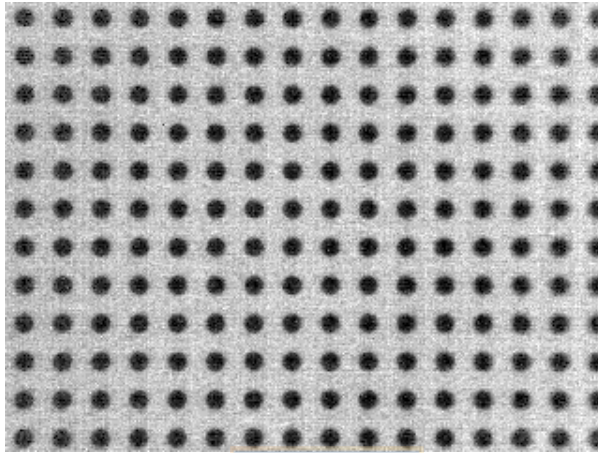


Figura 23. Captura IR de Target de puntos con corrección de No-uniformidad.

En la Figura 23 es posible visualizar la captura IR del Target de Calibración, corregido de No-uniformidad, para el posterior proceso es aún necesaria la corrección residual de ruido, dado que los posteriores procesos amplificarían la presencia de éste.

5.2.3 Pre-filtrado Espacial

En la posterior etapa, se calculan las derivadas para cada fila de la imagen de calibración, por lo que la presencia de ruido resultaría en la amplificación de este ruido y contaminación de la imagen de entrada a la etapa de calibración. La aplicación de filtros espaciales, aporta en la adquisición de imágenes para calibración, en términos de la uniformidad de las componentes relevantes de la escena, como lo son el fondo y los puntos en la escena IR. La data espacial de fondo del target es suavizado, preservando los bordes de las transiciones de intensidad en la imagen resultante, como muestra la Figura 24, esto permite dar paso a la etapa siguiente, en la estimación una PSF para cada ROI.

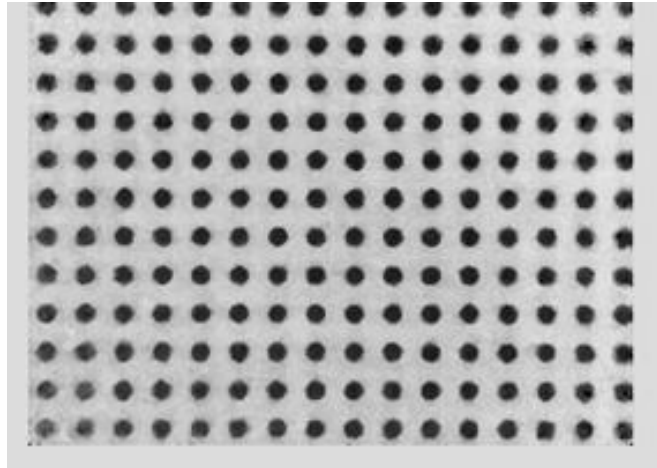


Figura 24. Captura IR de Target de puntos con filtros Bilateral y Mediana aplicados de manera respectiva.

5.2.4 Cálculo de Derivadas Espaciales 1-Dimensionales

La captura de imágenes MWIR del Target de puntos, y su posterior corrección de No-uniformidad y pre-filtrado nos han permitido contar con una imagen apta para la estimación de las 1D-PSF por medio de la aplicación de derivadas sobre la data espacial en los sentidos vertical y horizontal, según muestra la Figura 25.

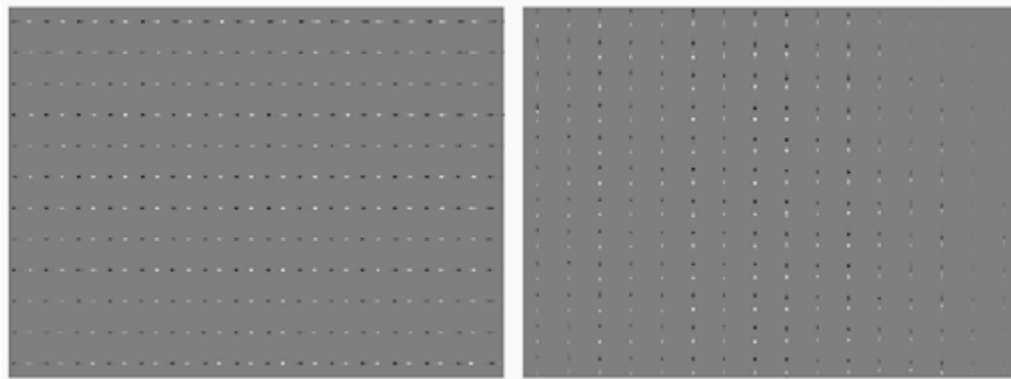


Figura 25. Cálculo derivada 1D para 192 escalones espaciales de intensidad, en dirección horizontal (izquierda) y vertical (derecha) para el plano $z_d = z_0 = 0$. Estas derivadas darán origen a las 2D-PSFs estimadas para el FOV completo.

5.2.5 Ajuste Gaussiano y Formación de 2D-PSF

De acuerdo a las configuraciones Plano-Discreto y Plano-Progresivo detalladas en la Sección 4.2.1, se dispone para las 1D-PSFs obtenidas de su correspondiente plazo z_n , un ajuste gaussiano, de manera que, desde el plano z_0 en adelante, tras registrar las transiciones espaciales, calcular sus derivadas y con esto las 1D-PSF, éstas sean ajustadas para dar paso a la formación de las 2D-PSF, como muestra la Figura 26.

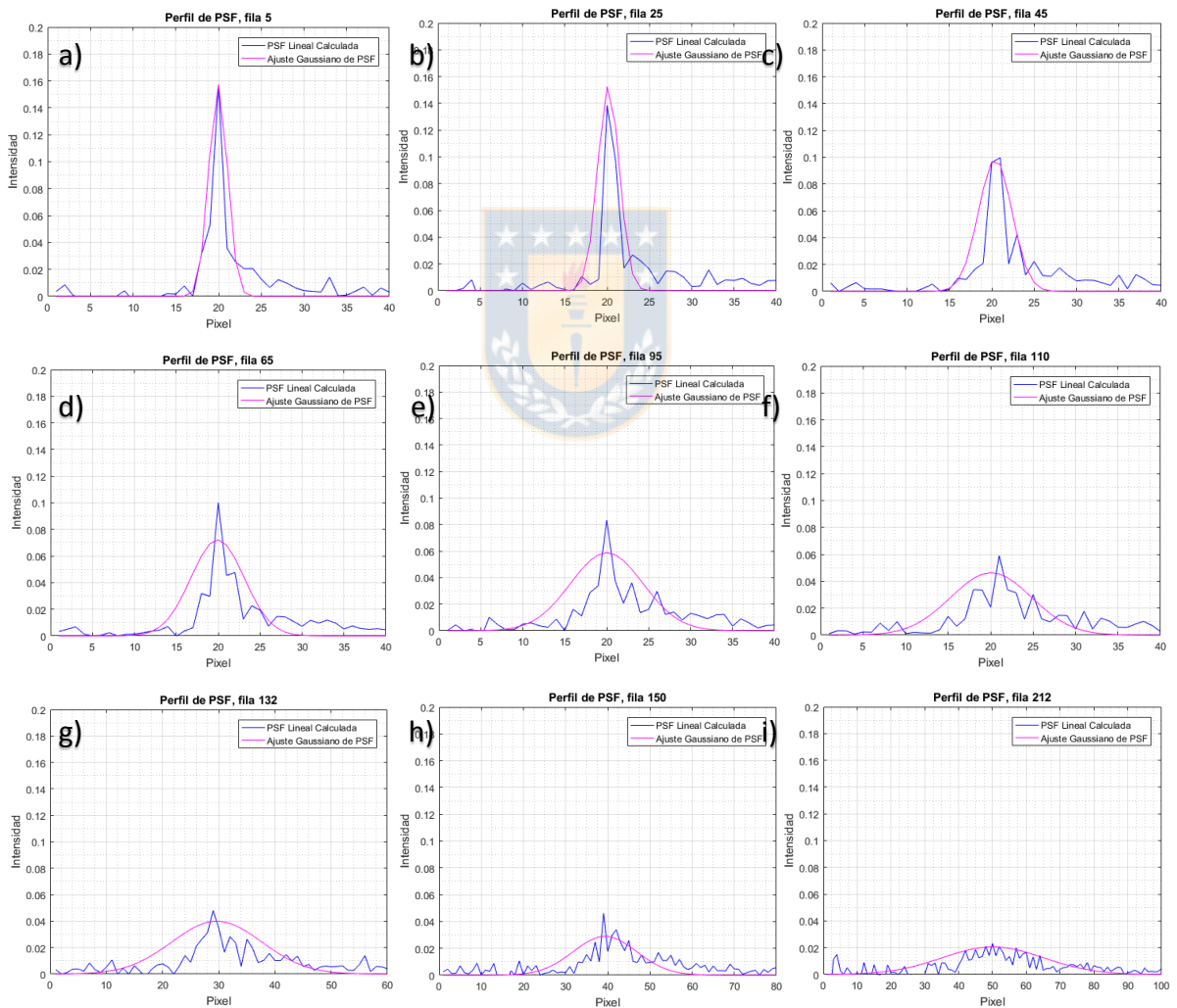


Figura 26. Curvas de ajuste Gaussiano para PSFs de línea, a) $z = 0\mu\text{m}$, b) $z = 29\mu\text{m}$, c) $z = 53\mu\text{m}$, d) $z = 76\mu\text{m}$, e) $z = 111\mu\text{m}$, f) $z = 128\mu\text{m}$, g) $z = 154\mu\text{m}$, h) $z = 181\mu\text{m}$, i) $z = 247\mu\text{m}$.

Consecutivamente a la obtención de las 1D-PSF, considerando que la 2D-PSF varía ligeramente en todas las otras direcciones no separables, $h(i, j)$ es estimada mediante un ajuste gaussiano bidimensional, imponiendo los valores de $h(i)$ a $h(j)$, mediante un algoritmo que proporciona rotación de la función, sobre su máximo, haciéndola isotrópica, como se muestra en la Fig. 10.

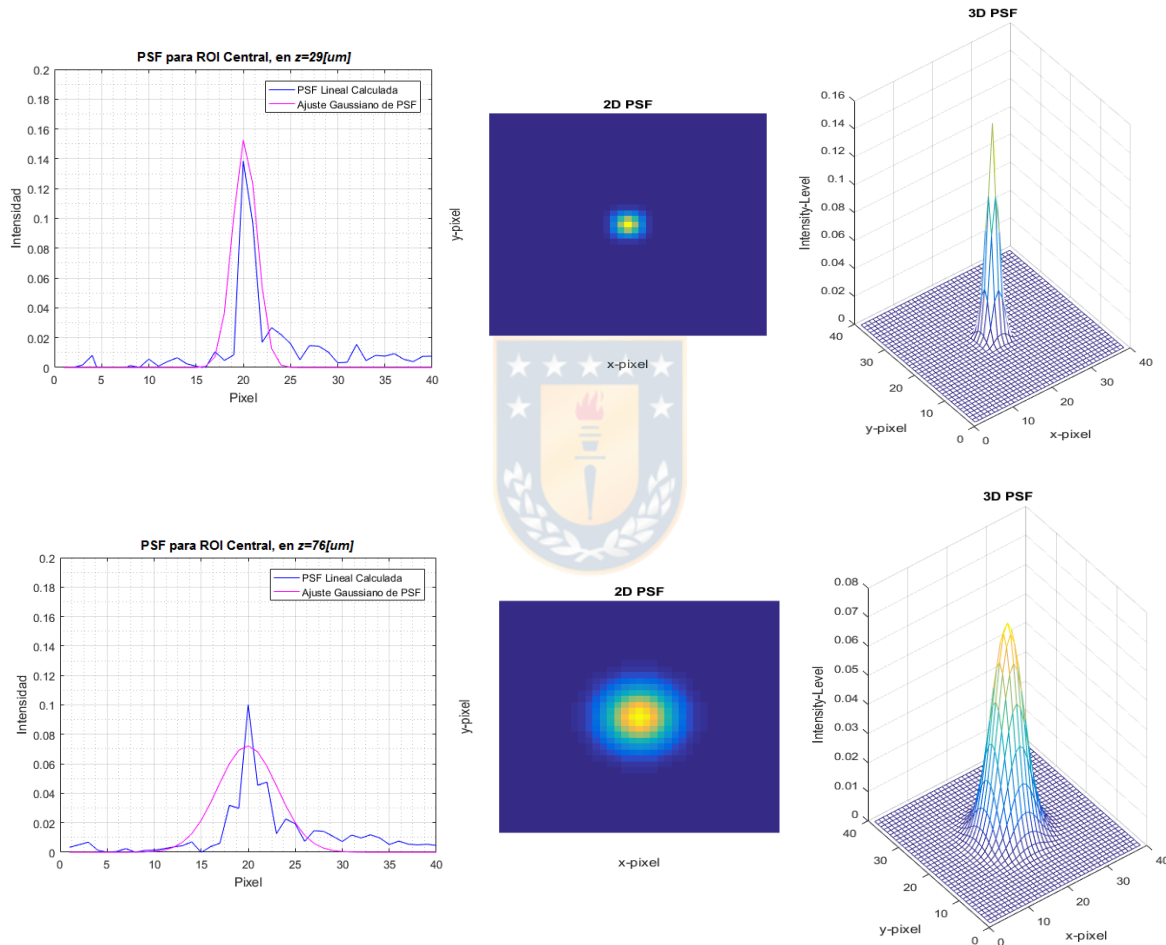


Figura 27. Ajuste Gaussiano y Generación de 2D-PSF aplicadas a dos PSF de línea de dos planos, $z = 27\mu m$ (arriba) y $z = 76\mu m$. Notar que a medida que se dispersa el punto, su curtosis disminuye, mientras que crece su parámetro σ .

De la Figura 27, es posible observar la disminución de la *curtosis* y ensanchamiento del manto (parámetro σ) en la 2D-PSF estimada. Tal patrón de deformación dará forma en la posterior etapa a la 3D-PSF.

5.2.6 Formación de la 3D-PSF

La 3D-PSF estimada es la resultante del apilamiento de todas las 2D-PSF de una determinada ROI. A partir de su formación, se encuentra contenida en cada uno de sus planos conformantes, la caracterización en términos del nivel de dispersión de un punto ubicado a la profundidad (en Z) de la cual fue estimada su 2D-PSFz.

El emplazamiento multi-planar de las 2D-PSF permite la reconstrucción de una matriz 3D-PSF, íntegramente recuperada mediante el procesamiento de la data referida a la dispersión generada en cada profundidad del eje Z, por la óptica del sistema de imagen.

La curva de la gráfica de la Figura 28 (izquierda), muestra la curva medida, de la dispersión de la imagen. En esta puede observarse la progresiva dispersión de la imagen, a medida que varía la distancia en el eje Z, desde la mínima dispersión localizada en el plano objeto, hacia las mayores dispersiones, para formar el segmento de hipérboloide, y componer la 3D-PSF.

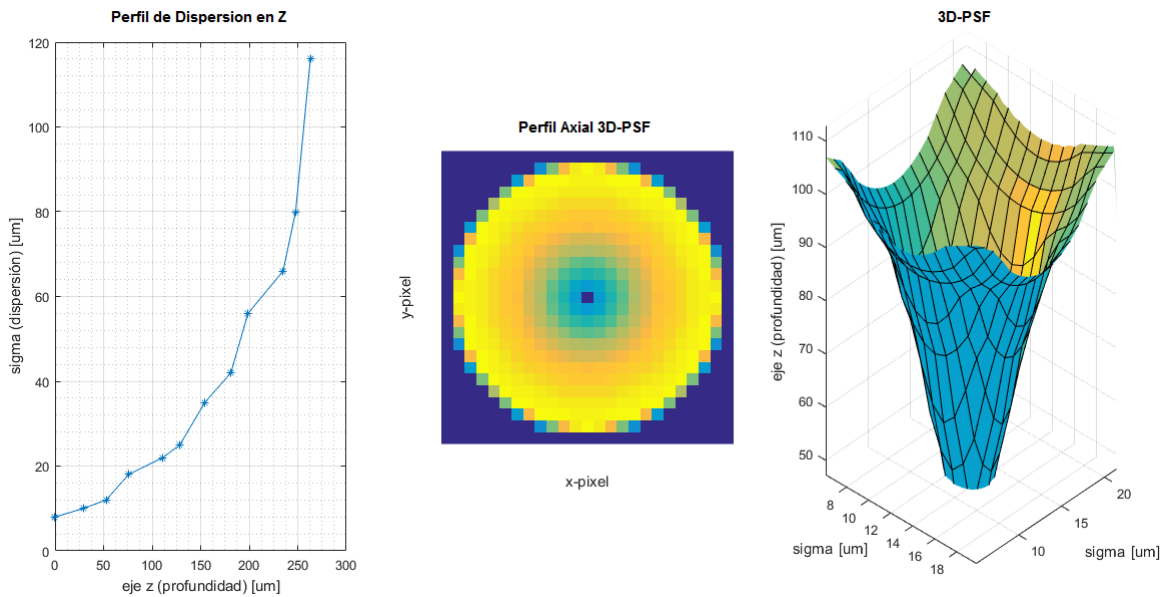


Figura 28. Formación de la 3D-PSF. Perfil de dispersión progresiva en el eje Z (izquierda), Perfil axial de la 3D-PSF (central), 3D-PSF (derecha).

5.3 ALGORITMO DE ENFOQUE MULTI-PLANAR

5.3.1 Non Uniformity Correction NUC

El algoritmo CR como se presenta puede usarse para obtener una imagen libre de ruido de NU, pero que todavía degradada por la PSF proyectada sobre el FPA, como se describe en (1). El algoritmo CR será usado al igual que en la etapa de como punto de partida para desarrollar el método que compense el desenfoque plano-selectivo como se detalla en la siguiente subsección.

5.3.2 Restauración por Deconvolución

La matemática simplificada, reducido número de operaciones y resultados satisfactorios sobre datos de bajo ruido nos han llevado a aplicar un método deconvolutivo basado en la teoría de Richardson-Lucy, para restaurar las imágenes térmicas degradadas.

En virtud de parametrizar la degradación opto-electrónica, empleando como entrada única al sistema una imagen ruidosa y borrosa, llamada Y en (1), proponemos el modelo de degradación y posterior restauración de la imagen, de la forma que muestra la Figura 29.

El MPFIP es recursivo en el sentido de que la media y la desviación estándar de los datos ruidosos $\mu_Y(i, j, n)$ y $\sigma_Y(i, j, n)$, respectivamente, se calculan *frame* por *frame*, mientras que el método de restauración multi-planar se calcula sobre cada solo *frame* individual, proponiendo el uso único de procesamiento de imágenes para estimar una imagen MWIR de salida a pleno enfoque, a partir de una imagen de entrada de muestra tridimensional dada.

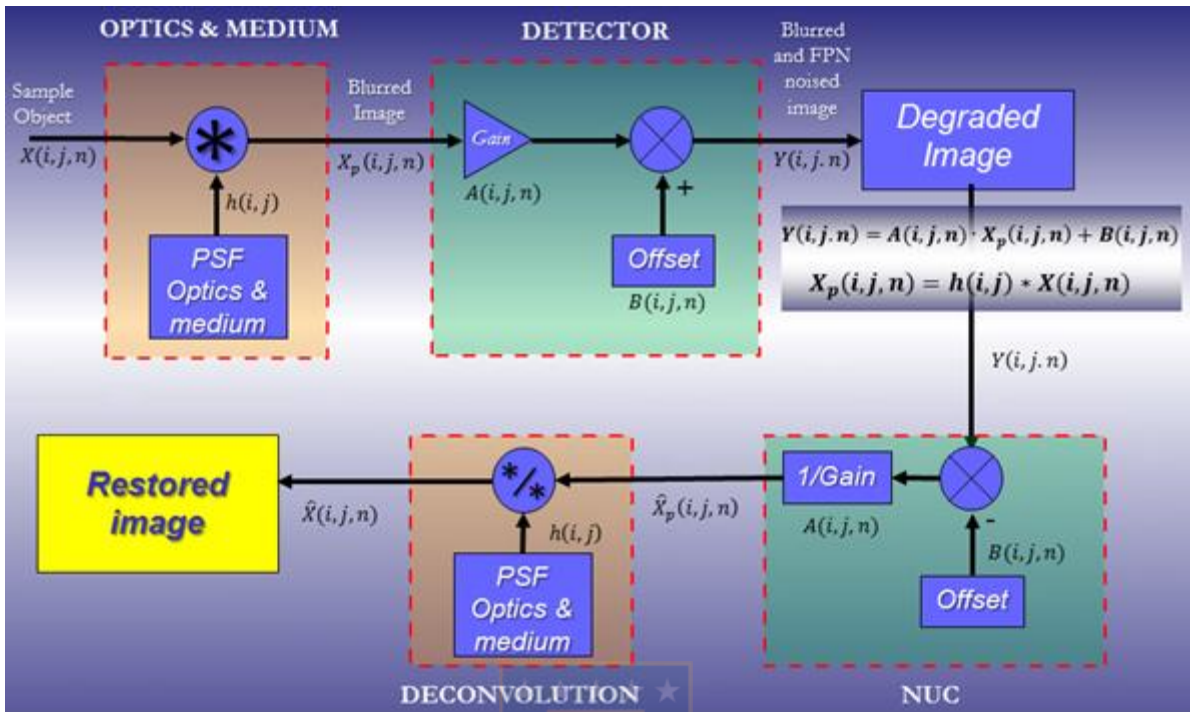


Figura 29. Esquema propuesto de Degradación y Restauración de imágenes IR degradadas por Bluring y FPN.

5.3.3 Reconstrucción por Fusión de Imágenes

La última y fundamental etapa del método de restauración multi-planar propuesto es la reconstrucción, la cual, es llevada a cabo por el algoritmo de Fusión de Imágenes. Su función dentro del método es integrar todos los planos en foco, correspondientes a las imágenes restauradas mediante la deconvolución, en una única imagen, la “Imagen a Pleno Enfoque”.

Las PSFs obtenidas de la etapa de *Inicialización del Método*, correspondientes a la dispersión de la data de cada punto de la muestra sobre el plano imagen, son aplicadas por el algoritmo de deconvolución a la imagen degradada de entrada. Los resultados de la aplicación de cada PSF de una región ROI de dimensiones $m \times n$ y relativa al plano z denominada $H(m, n, z)$, a la imagen de entrada, son comparados con los resultados de la aplicación de las demás PSF, para encontrar la imagen más nítida, asignando ésta la

profundidad de campo correspondiente al plano z desde el cual fue estimada tal PSF (Ver Figura 30), y por lo tanto, mapeando la superficie de la muestra por estimación de profundidad.

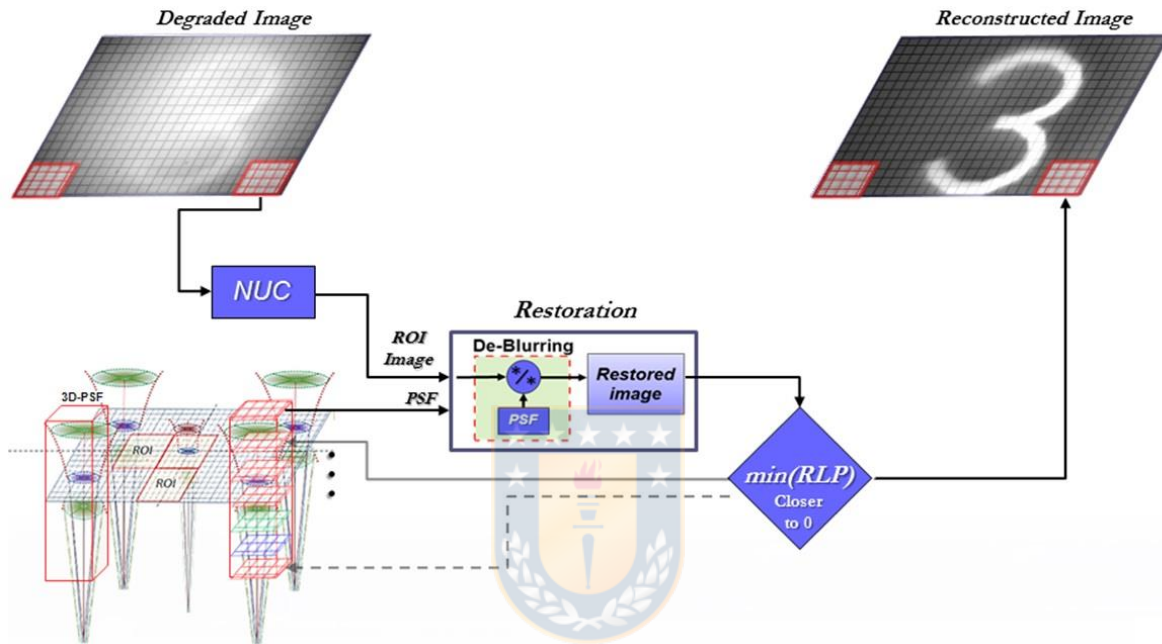


Figura 30. Esquema del método propuesto. El esquema de restauración considera un modelo matemático inverso sobre la degradada imagen MWIR de entrada.

5.3.4 Evaluación de las Imágenes Restauradas

Para la evaluación de la calidad de las imágenes corregidas y restauradas de FPN y Blur residual, se usó la métrica basada en el filtrado Laplaciano y gaussiano, el *Patrón de Rugosidad Laplaciano* (RLP, por sus siglas en inglés).

Capítulo 6. RESULTADOS

El desarrollo del método en sí mismo, considera la obtención de resultados de sub-procesos, que a su vez permiten la obtención de los resultados finales del método, como la obtención de las 1D-PSF, 2D-PSF y 3D-PSF, donde tales resultados asociados al proceso metodológico han permitido la obtención de los mostrados en éste capítulo en este capítulo. Esta sección se organiza de la manera siguiente:

Inicialmente se muestran los resultados obtenidos de los sub-procesos del método, como lo son el NUC basado en CR. A posterior, son mostrados resultados de operatividad del algoritmo de Fusión de Imágenes basado en filtrado LoG.

Finalmente, para demostrar la eficacia del método propuesto es aplicado sobre los datos MWIR de una muestra inerte tridimensional y posteriormente a datos MWIR microscópicos biológicos reales con niveles notables de ruido.

De esta manera, se valida cada una de las etapas individuales del método y en su composición al someterse a data MWIR real.

6.1 CORRECCIÓN DE NO-UNIFORMIDAD NUC

El NUC (reducción de FPN) aplicado como un mandatorio filtrado de pre-procesamiento, debido a que su contribución es global y va más allá del aspecto visual, siendo fundamental para los métodos deconvolutivos, en los que el ruido más pequeño puede causar una degradación significativa en la imagen restaurada final.

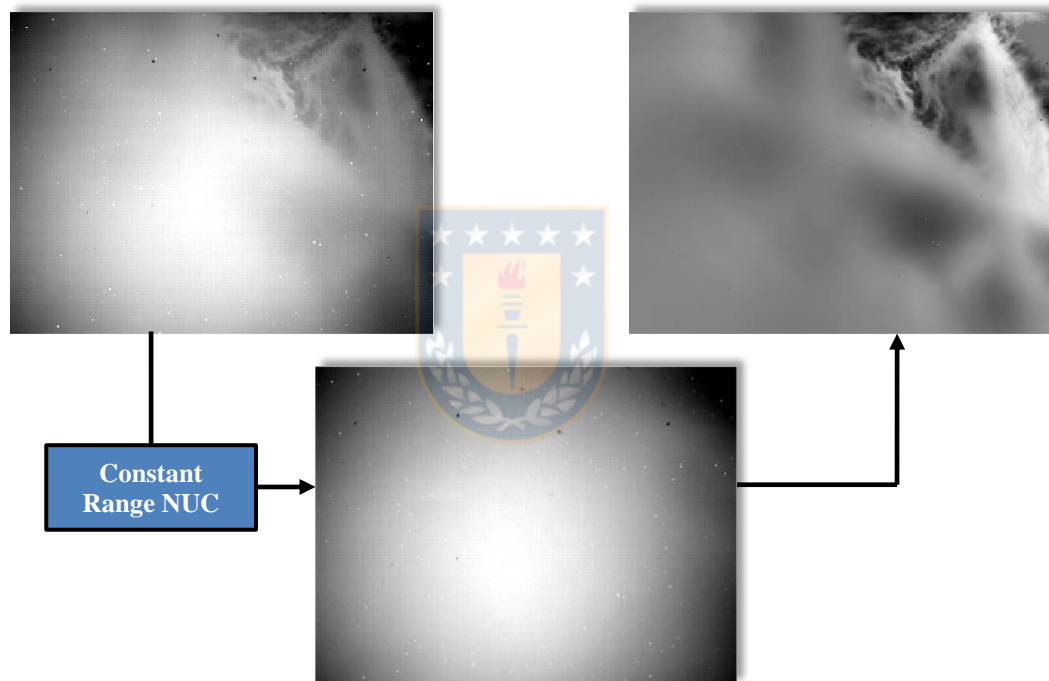


Figura 31. Resultados de Corrección de No-uniformidad basado en Constant Range. Muestra de microscopía MWIR afectada por FPN real. a) *frame* dato crudo, b) FPN (*Offset*) estimado, y c) *frame* corregido de FPN.

En la Figura 31, es posible observar la imagen cruda (izquierda), el patrón de no-uniformidad obtenido por el proceso de NUC y la imagen corregida de FPN y la obtención

6.2 RESULTADOS EN FUSIÓN DE IMÁGENES

La data requerida para la detección de borrosidad, a su vez necesaria para la identificación de planos en enfoque, hacen necesaria la captura de imágenes monocromáticas independientes de su naturaleza espectral, con condiciones de escena en las que se observen rugosidades y zonas espacialmente planas, múltiples bordes y saturaciones de rango dinámico, además de zonas u objetos que evidencien borrosidad.

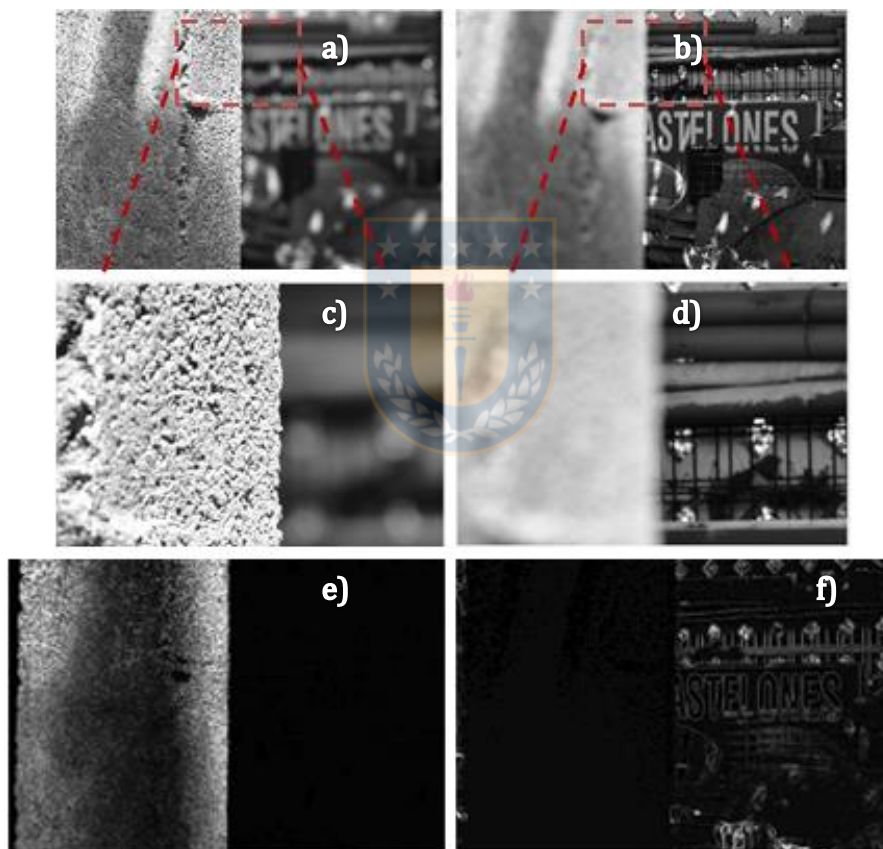


Figura 32. Resultados de la Fusión de Imágenes sobre data del espectro visible con dos profundidades de campo, a) Primer plano enfocado, b) Plano de fondo enfocado. c) y d) Región ampliada de (a) y (b) de manera respectiva. (e) y (f) Máscaras de medición de enfoque para escena con enfoque de primer plano y plano de fondo de manera respectiva.

En la Figura 32 se observan imágenes con zonas en enfoque y desenfoco sobre la misma escena, los cuales son fusionadas, mostrando su proceso intermedio de

identificación de zonas borrosas y zonas en enfoque, para luego re-constituirlas en una única imagen, la Imagen Fusionada, como muestra la Figura 33.

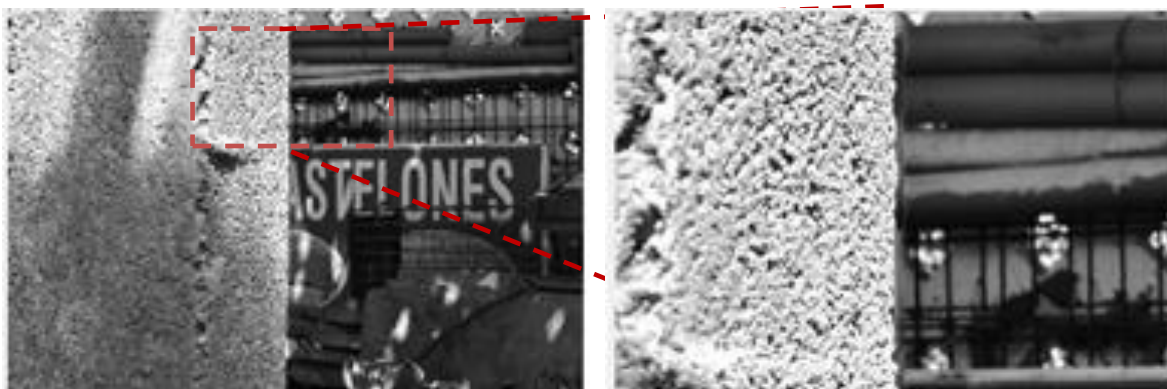


Figura 33. Resultados en Fusión de Imágenes basado en LoG. Zona ampliada de la región fusionada (derecha).

6.3 RESTAURACIÓN MULTI-PLANAR

Cada imagen de plano focal z contribuye a la imagen enfocada de campo completo reconstruida final, en la medida en que todas las imágenes de planos z tienen datos espaciales de ROI enfocados después de la etapa de restauración, y estos son agregados mediante fusión de imagen al cuadro final.

En el método propuesto, la etapa de reconstrucción es la última, y es esencial para obtener la imagen totalmente enfocada. El método de Fusión de imágenes desarrollado para este trabajo, está basado en la medición del nivel de desenfoque con el mismo principio que el operador LoG de la métrica RLP. Para probar el método, se utilizaron imágenes monocromáticas para enfatizar básicamente la presencia de dos planos focales; cada uno contiene un plano enfocado y otro en el plano de desenfoque dentro de la escena. Ambas imágenes fueron sometidas al método de fusión de imágenes desarrollado, y los resultados se muestran en la Figura 32.

El conjunto de imágenes de la se sometió a métrica RMSE para obtener la medición cuantitativa y la apreciación que los puntos de enfoque en la imagen y los puntos de

desenfoque en la imagen se identificó en sus planos de enfoque correspondientes, y las regiones de la imagen se fusionaron con éxito como se muestra en la Figura 34.

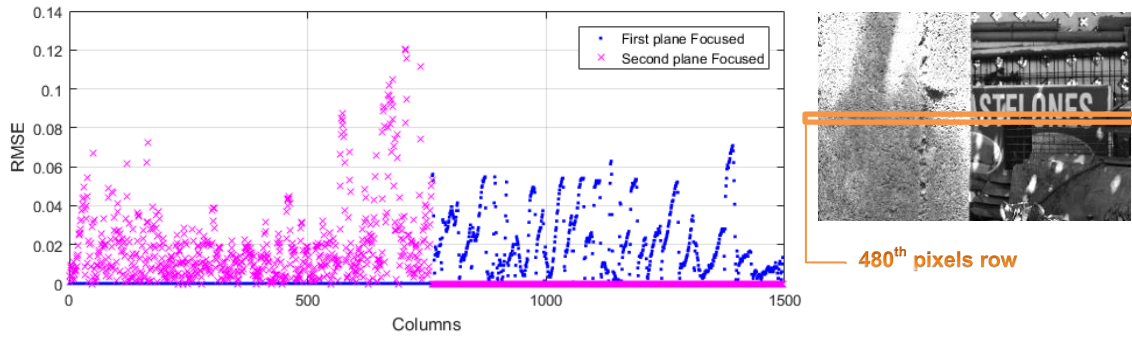


Figura 34. Perfiles RMSE (aplicado a las imágenes de prueba de la Figura 34), obtenidos sobre fila 480 de las imágenes primer plano y plano de fondo en foco con respecto a misma fila de la imagen fusionada (referencia).

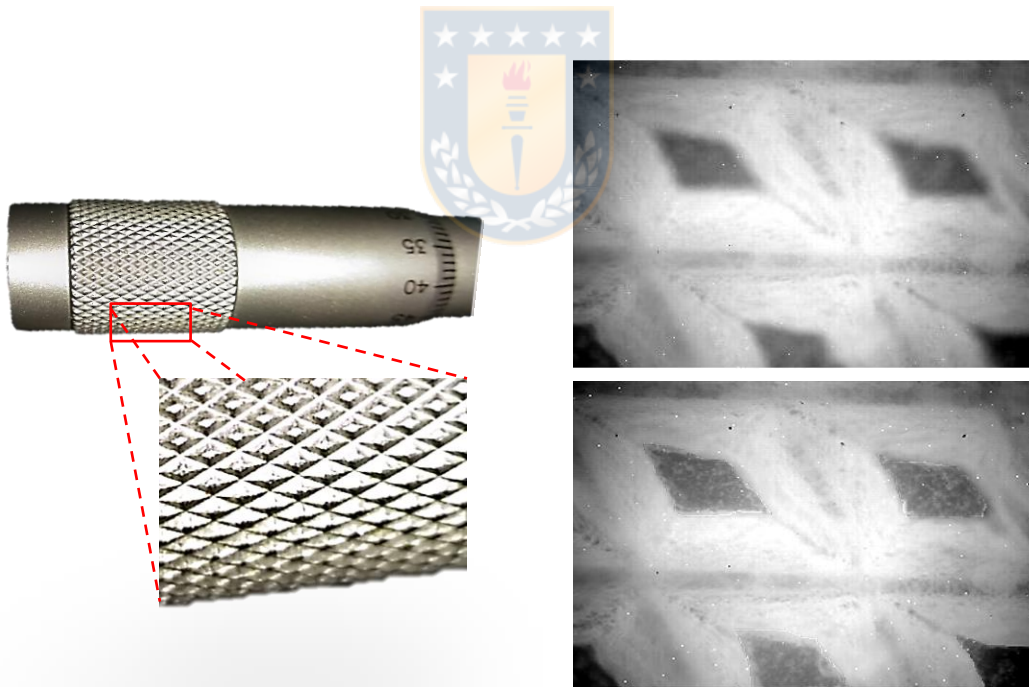


Figura 35. Imágenes IR microscópicas de una sección de un desplazador micrométrico. Esta superficie rugosa provee enfoque plano-selectivo. Notar que las crestas de la imagen b) ($Z=0$ mm) son preservadas en la imagen c) ($z=0.114$ mm), mientras los valles son restaurados también.

Para la adquisición de datos IR no-biológicos, el MWIR-FPA fue expuesto por completo a una muestra tridimensional conocida durante la adquisición de datos

cumpliendo con la condición de CR para la secuencia de video IR. La superficie rugosa de la Figura 35 proporciona un enfoque plano-selectivo.

Ahora, el método es aplicado a dos organismos biológicos conocidos, lo que permite una apreciación visual del nivel de restauración en las imágenes. En la Figura 36 se muestra un cuadro de la secuencia de video microscópico MWIR de la almohadilla del dedo índice.

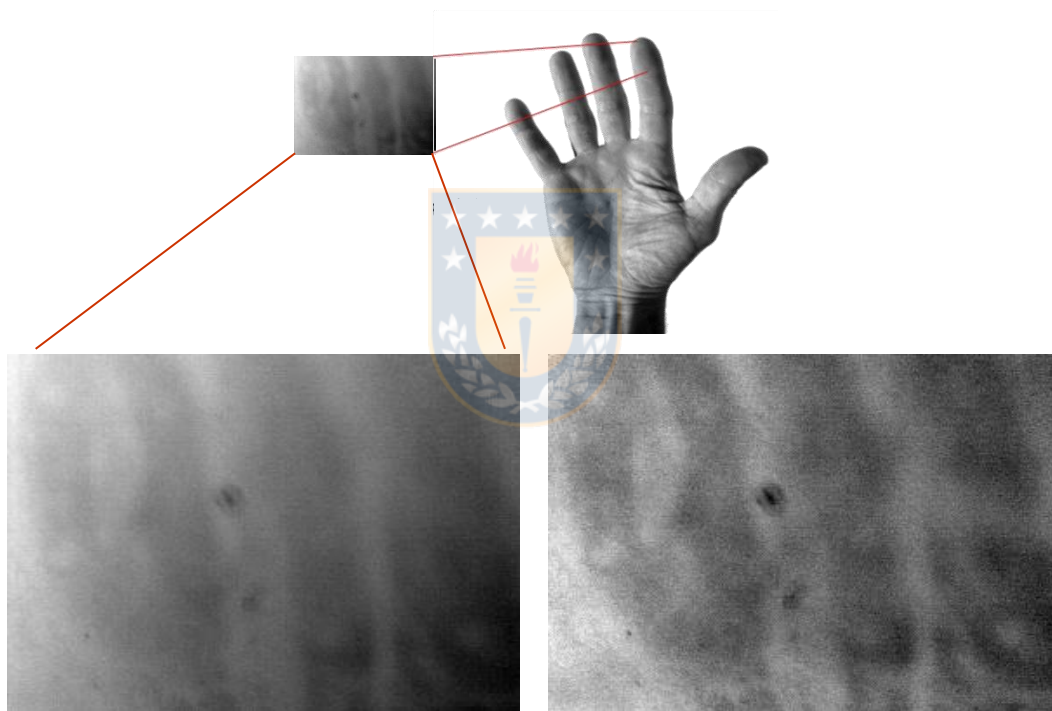


Figura 36. Imagen RAW microscópica-MWIR de la almohadilla del dedo índice (izquierda), y su equivalente corregida mediante JNBC (derecha), utilizando PSF estimada de manera experimental. Notar las múltiples regiones de enfoque (niveles) de planos z.

Las imágenes de microscopía de MWIR sin procesar para una muestra de organismo vivo se muestran en la Figura 37. La Daphnia, un crustáceo planctónico de dos milímetros, constituye una muestra con condiciones críticas térmicas y dinámicas, para ser registrada, además de la corrupta por FPN y desenfoque crudo imágenes La técnica propuesta es capaz de compensar simultáneamente ambos problemas. Una evaluación

de resultados a simple vista muestra una mejora significativa a pesar de la severidad del ruido NU y el desenfoque. Además, los píxeles muertos y saturados son compensados correctamente en la escena por el algoritmo. En general, el algoritmo propuesto proporciona valores RLP más pequeños que el marco sin procesar. Se obtiene una RLP más baja de 0.697 usando el algoritmo propuesto, mientras que el valor de RLP de trama sin procesar es 0.871.

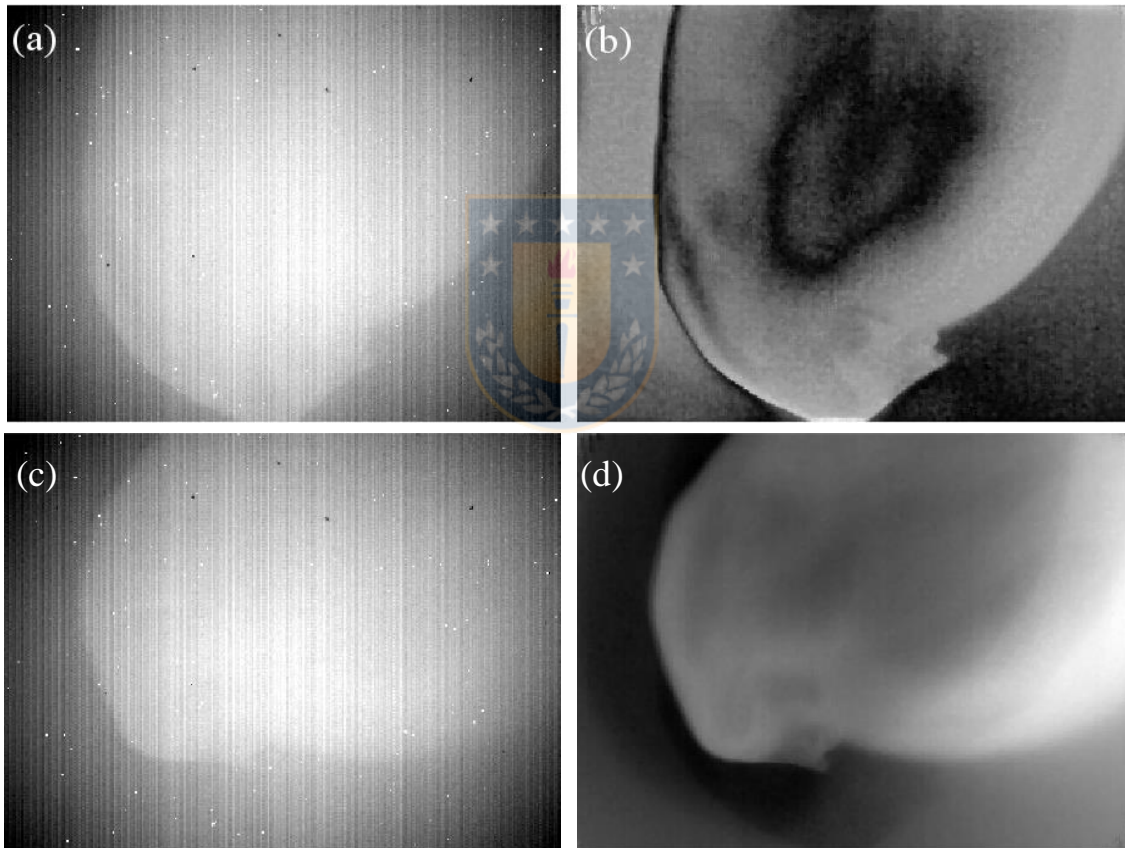


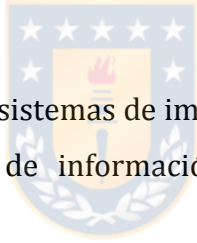
Figura 37. Resultados de Restauración Multi-planar sobre imagen MWIR de muestra 3D de organismo vivo *Daphnia*, con datos térmicos degradados durante la captura por ambos efectos, NU y enfoque plano-dependiente. (a) Imagen Cruda, RLP obtenido de 0.871, y (b) Restauración por deconvolución por PSF Global (solo una PSF para toda la imagen) RLP de 0.697 obtenido en previa publicación [22]. (c) Imagen cruda, valor RLP obtenido 0.892, y (d) Restauración Multi-planar, muestra un valor RLP de 0.598 [33]. La calidad mejorada de la imagen corregida puede ser apreciada a ojo desnudo.

Capítulo 7. ALCANCES Y PROYECCIÓN

En el marco de la distribución morfológica de una PSF, su forma está en directa relación con el fenómeno que la produce, provocando asimismo la correspondiente distorsión en la imagen degradada. El propuesto y desarrollado método, en consistencia al planteamiento de los objetivos, está diseñado y construido para resolver la borrosidad producida por el desenfoque, no así la ocasionada por movimiento u otras condiciones degradantes de la imagen.

Una vez inicializado el método, éste no impone restricción ante el movimiento de la escena al estar basado en solo una imagen de entrada, pudiendo ser implementado base a escena (*frame por frame*).

El método proyecta su aplicación a sistemas de imágenes de otras áreas de las ciencias, para la exploración sin pérdida de información por enfoque plano-selectivo en muestras



Capítulo 8. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este documento fue presentado un método basado en el Enfoque Multi-planar por Procesamiento de Imágenes MPFIP para imagenología MWIR. Una versión preliminar de este trabajo fue presentado en el “15th International Workshop on Advanced Infrared Technology and Applications” (AITA 2019), en Florence, Italia, del 17–19 de Septiembre de 2019, y posteriormente publicado en el Journal *Applied Optics*, Vol 59, del 10 de Junio de 2020. La principal contribución del método propuesto es resolución de la necesidad de lograr la captura de una muestra tridimensional a pleno enfoque mediante el Procesamiento de Imágenes. El método propuesto combina nuestro conocido algoritmo NUC basado en CR como una etapa de pre-procesamiento para dar paso a un método de deconvolución iterativo en el eje z basado en Fourier, que genera una estimación de la imagen de radianza real a pleno enfoque en base a una sola imagen con FPN y múltiples niveles de desenfoques. Los requisitos de entrada del método son las PSF locales estimadas del microscopio MWIR y la data sin procesar a ser compensada en términos de su FPN global y su borrosidad local. El método es evaluado con datos simulados y reales enfocando satisfactoriamente las profundidades de campo de varios planos z. El rendimiento del método se pone a prueba al aplicarlo a un conjunto de datos con FPN / desenfoque simulado evidenciando un mejoramiento de parámetros en las métricas empleadas. Además, el rendimiento de MPFIP también se evalúa con dos conjuntos de imágenes de microscopía MWIR reales, ruidosas y crudas de dos procesos biológicos exotérmicos. El índice RLP propuesto se calcula para los conjuntos de datos reales mencionados, mostrando una mejora de 0.742 a 0.496 en el primer conjunto y de 0.541 a 0.392 para el segundo conjunto. La mejora en los gradientes espaciales térmicos y la resolución de las imágenes microscópicas MWIR de los dos organismos vivos diferentes son cualitativamente notables a simple vista. Los usos de este método se pueden extrapolar ampliamente a otras áreas de la ciencia, para obtener conocimiento del mundo microscópico natural MWIR desconocido.

Capítulo 9. BIBLIOGRAFÍA

- [1] H. Kaplan, Practical Applications of Infrared Thermal Sensing and Imaging Equipment, SPIE Press, 2007.
- [2] M. Vollmer, K.P. Mollmann, Infrared Thermal Imaging: Fundamentals, Research, and Applications, Wiley-VCH, 2010.
- [3] D.A. Scribner, M.R. Kruer, J.M. Killiany, Infrared focal plane array technology, Proc. IEEE 79 (1991) 66–85, <https://doi.org/10.1109/5.64383>.
- [4] V.N. Mahajan, Optical Imaging and Aberrations, vol. 45, 1998.
- [5] K. Rossmann, Point spread-function, line spread-function, and modulation transfer function: tools for the study of imaging systems, Radiology 93 (2) (1969) 257–272.
- [6] C.D. McGillem, P.E. Anuta, E. Malaret, K.B. Yu, Estimation of a remote sensing system point-spread function from measured imagery, LARS Tech. Rep. (1983) 81.
- [7] N. Wiener, Extrapolation, Interpolation, and Smoothing of Stationary Time Series, vol. 7, MIT Press, Cambridge, MA, 1949.
- [8] W.H. Richardson, Bayesian-based iterative method of image restoration, JOSA 62 (1) (1972) 55–59.
- [9] L.B. Lucy, An iterative technique for the rectification of observed distributions, Astron. J. 79 (1974) 745.
- [10] A.N. Tikhonov, V.Y. Arsenin, Methods for Solution of Incorrect Problems, 1986.
- [11] V. Gorelik, Two-kernel image deconvolution, Opt. Express 21 (22) (2013) 27269–27276.
- [12] P.M. Narendra, Reference-free nonuniformity compensation for ir imaging arrays (1980), <https://doi.org/10.1117/12.959478>.
- [13] D.A. Scribner, Kenneth A. Sarkady, Adaptive nonuniformity correction for ir focal-plane arrays using neural networks (1991), <https://doi.org/10.1117/12.49324>.
- [14] B.M. Ratliff, M.M. Hayat, R.C. Hardie, An algebraic algorithm for nonuniformity correction in focal-plane arrays, J. Opt. Soc. Am. A 19 (2002) 1737–1747.
- [15] J.G. Harris, Y.M. Chiang, Nonuniformity correction of infrared image sequences using the constant-statistics constraint, IEEE Trans. Image Process. 8 (8) (1999) 1148–1151.
- [16] S.N. Torres, M.M. Hayat, Kalman filtering for adaptive nonuniformity correction in infrared focal-plane arrays, J. Opt. Soc. Am. A 20 (2003) 470–480.
- [17] S.E. Godoy, J.E. Pezoa, S.N. Torres, Noise-cancellation-based nonuniformity correction algorithm for infrared focal-plane arrays, Appl. Opt. 47 (29) (2008) 5394–5399, <https://doi.org/10.1364/AO.47.005394>.
- [18] R. Hardie, F. Baxley, B. Brys, P. Hytla, Scene-based nonuniformity correction with reduced ghosting using a gated LMS algorithm, Opt. Express 17 (17) (2009) 14918–14933.
- [19] E. Vera, P. Meza, S. Torres, Total variation approach for adaptive nonuniformity correction in focal-plane arrays, Opt. Lett. 36 (2) (2011) 172–174, <https://doi.org/10.1364/OL.36.000172>.

- [20] C. D. McGillem, P. E. Anuta, Malaret, E., & K. B. Yu. "Estimation of a remote sensing system point-spread function from measured imagery". Proceedings Symposium Machine Processing of Remotely Sensed Data, 62-68 (1983).
- [21] Paris, S., Kornprobst, P., Tumblin, J., & Durand, F. Bilateral filtering: Theory and applications. Now Publishers Inc. (2009).
- [22] A. Jara, et al. Joint de-blurring and nonuniformity correction method for infrared microscopy imaging. *Infrared Physics & Technology*, 2018, vol. 90, p. 199-206.
- [23] R. Redlich, M. Figueroa, S.N. Torres, J.E. Pezoa, Embedded nonuniformity correction in infrared focal plane arrays using the constant range algorithm, *Infrared Phys. Technol.* 69 (2015) 164–173.
- [24] A. Jara, F. Torres, Acceleration algorithm for constant-statistics method applied to the nonuniformity correction of infrared sequences, *Opto-Electron. Rev.* 23 (2015) 116–119.
- [25] S. Torres, R. Reeves, M Hayat. Scene-based nonuniformity correction method using constant-range: Performance and analysis. En Proceedings of 6th World Multiconference on Systemics, Cybernetics and Informatics. 2002.
- [26] F. Dell'Acqua, et al. "A modified damped Richardson–Lucy algorithm to reduce isotropic background effects in spherical deconvolution." *Neuroimage* 49.2, 1446-1458 (2010).
- [27] NI, Chao; LI, Qi; XIA, Liang Z. A novel method of infrared image denoising and edge enhancement. *Signal Processing*, 2008, vol. 88, no 6, p. 1606-1614.
- [28] T. Velusamy, K. Marsh, C. Beichman, C. Backus, and T. Thompson, "Hires deconvolution of spitzer infrared images," *The Astronomical Journal* 136, 197 (2008).
- [29] N. Wang, J. Wang, Y. Zhang, and X. Sun, "Restoration of the infrared image blurred by motion," in "Selected Papers of the Chinese Society for Optical Engineering Conferences held October and November 2016," (International Society for Optics and Photonics, 2017), pp. 102554Q{102554Q.
- [30] H. Kirshner, et al. 3-D PSF fitting for fluorescence microscopy: implementation and localization application. *Journal of microscopy*, 2013, vol. 249, no 1, p. 13-25.
- [31] P. Tadrous, A method of PSF generation for 3D brightfield deconvolution. *Journal of microscopy*, 2010, vol. 237, no 2, p. 192-199.
- [32] Practical Aspects of Photoactivated Localization Microscopy (PALM). (s.f). <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/print/superresolution/palm/practicalaspects-print.html>
- [33] Jara A, Torres S, Machuca G. Multiplanar full-field blur correction method for infrared microscopy imaging. *Applied Optics*. 2020 Jun 10;59(17):5142-50.