



INAOE

Restauración óptica-digital de imágenes detectadas fuera de foco

por

Rosalinda Ortiz Sosa

Tesis sometida como requisito parcial para obtener el
grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ÓPTICA

en el

Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica

Agosto 2011

Tonantzintla, Puebla

Bajo la supervisión de:

Dr. Luis Raúl Berriel Valdós

Investigador Titular INAOE, México

Dr. J. Félix Aguilar Valdez

Investigador Titular INAOE, México

©INAOE 2011

El autor otorga al INAOE el permiso para reproducir y
distribuir copias impresas y en formato digital de este
documento de tesis en su totalidad o en partes.



Para mis padres de quienes he recibido
apoyo y amor incondicionalmente.

Resumen

Se propone un método óptico-digital para la restauración de imágenes desenfocadas, utilizando funciones de punto extendido en intensidad (IPSF, Intensity Point Spread Function) generadas ópticamente. Para llevar a cabo la restauración, se obtiene el estimado de la IPSF del promedio de imágenes detectadas de un objeto no resuelto por el sistema óptico, lo cual se conoce como fuente cuasi-puntual, de esta imagen obtenemos su espectro. Con este espectro formamos el filtro de Wiener con el cual se obtiene la imagen restaurada; se ha realizado la restauración de diferentes imágenes detectadas cada una de ellas con distinto desenfoque.

Abstract

In this work an optical-digital method is proposed for restoring out-of-focus images. The OTF associated with the detected image is experimentally obtained for a source which is not resolved by the optical system (OS). Then, the spectrum (S1) of this image is obtained. To restore an out-of-focus image of an extended object, obtained with the same OS, a Wiener filter is formed with S1 and then applied to the spectrum of the image of the object, so that is restored. The restoration of different detected images has been made for different amount of defocus.

Agradecimientos

Agradezco profundamente a las personas que estuvieron junto a mi durante el año de preparación de este trabajo de tesis y de los cuales he aprendido mucho.

A los Dres. Luis Raúl Berriel y J. Félix Aguilar quienes siempre tuvieron tiempo y paciencia para guiarme durante el proceso de realización de este trabajo.

Al comité que reviso este trabajo: Dr. Gonzalo Urcid Serrano, Dr. David Sánchez de la Llave y Dr. Arturo Olivares Pérez por sus recomendaciones y el tiempo empleado en la revisión de la tesis.

Al INAOE y a CONACyT por el apoyo brindado para realizar mis estudios de maestría.

A mis padres y hermana por su apoyo incondicional sin el cual nada de esto habría sido posible. A ellos mi mayor agradecimiento.

A todos aquellos que compartieron conmigo esta etapa y de alguna u otra forma influyeron en este trabajo Richi, CC, Emmanuel, Señor S., Vick y Toño, gracias a todos por su amistad y buenos momentos.

A los amigos que cuento Yuca, familia Quetchol, Claus, Phanto, Magos, Chamacas, Proto, a todos gracias por su apoyo y concejo.

A toda mi familia, primos, tíos, abuelos, sobrina, por todos los momentos divertidos y por su continuo apoyo.

Y muchas gracias a mi mejor amigo y gran amor Josué (Dito), por absolutamente todo.

Lista de Símbolos y Acrónimos

A continuación se muestran los acrónimos y la notación utilizada en el texto.

(u_k, v_m) Coordenadas frecuenciales discretas.

(x_i, y_j) Coordenadas espaciales discretas.

Δz Profundidad de campo.

$\Delta z'$ Profundidad de foco.

$\delta(x, y)$ Fuente puntual.

ϵ Parámetro constante ajustable, en el filtro de Wiener.

$\hat{o}_m(x_i, y_j)$ Imagen mejorada.

$\hat{O}(u_k, v_m)$ Imagen restaurada el dominio frecuencial.

$\hat{o}(x_i, y_j)$ Imagen restaurada.

λ Longitud de onda.

$\omega(\xi', \eta')$ Función de aberración de onda.

$\omega_{2,0}$ Coeficiente de error de enfocamiento.

$\overline{g n}_d(x_i, y_j)$ Imagen promedio detectada con ruido y desenfoque.

$\phi_f(u_k, v_m)$ Densidad espectral de la imagen original del objeto.

$\phi_n(u_k, v_m)$ Densidad espectral de ruido.

$\widetilde{G \eta}_d(u_k, v_m)$ Espectro de la imagen con ruido reducido y desenfoque.

Lista de Símbolos y Acrónimos

$\widetilde{G}\eta_{fcpd}(u_k, v_m)$ imagen de una fuente cuasi-puntual desenfocada con ruido reducido, en el dominio espacial.

$\widetilde{g}n_d(x_i, y_j)$ Imagen con ruido reducido y desenfoque.

$CCD(x_i, y_j)$ Detector.

f Distancia focal.

$g(x, y)$ Imagen de un objeto.

$h(x, y)$ Función de punto extendido en intensidad.

$h_d(x_i, y_j)$ Función de punto extendido en intensidad detectada con desenfoque.

I_m Intensidad maxima.

M_L Amplificación longitudinal.

M_T Amplificación transversal.

n Índice de refracción.

$n(x_i, y_j)$ Función de distribución del ruido.

$o(x, y)$ Función de transmitancia de un objeto.

$P(\xi', \eta')$ Función de pupila.

z Distancia entre el plano objeto y la pupila.

z' Distancia entre la pupila y el plano imagen.

AN Abertura numérica.

CCD Dispositivo de carga acoplada (Charge Coupled Device).

FCP Fuente cuasi-puntual.

FFT Transformada rápida de Fourier (Fast Fourier Transform).

IPSF Función de punto extendido en intensidad (Intensity Point Spread Function).

Lista de Símbolos y Acrónimos

- OTF Función de transferencia óptica (Optical Transfer Function).
- PDF Función de densidad de probabilidad (Probability Density Function).
- SO Sistema óptico

Índice general

Agradecimientos	VII
Lista de Símbolos y Acrónimos	IX
Índice general	XI
1. Introducción	1
1.1. Objetivo	5
1.2. Organización de la tesis	5
2. Conceptos de formación de imágenes	7
2.1. Influencia de desenfoque y difracción en la imagen	9
2.2. IPSF y OTF en puntos fuera del plano de mejor foco	11
2.3. Imagen promedio	11
2.4. Imagen promedio detectada de un objeto extendido con desenfoque y ruido	12
2.5. Espectro de la imagen promedio detectada	12
2.6. Recuperación del estimado del objeto	13
2.6.1. Filtro de Wiener	13
2.6.2. Recuperación del estimado del objeto utilizando una FCP . . .	13
3. Descripción experimental	17
3.1. Metodología experimental	17
3.2. Profundidad de foco y profundidad de campo del SO	18
3.3. Metodología para obtener la imagen desenfocada de un objeto	19
3.4. Metodología para obtener las imágenes desenfocadas de la FCP	20
3.5. Arreglo experimental	22
4. Resultados	27
4.1. Restauración de la imagen desenfocada de un micro orificio	28

Índice general

4.2. Restauración de imágenes desenfocadas de esferas de látex	30
4.3. Restauración de imagen desenfocada de células de sangre de reptil . . .	38
4.4. Discusión	40
5. Conclusiones	41
5.1. Conclusiones generales	41
5.2. Aportaciones específicas	42
5.3. Trabajo futuro	43
Índice de figuras	45
Bibliografía	47

Capítulo 1

Introducción

El desenfoque es una aberración espacial a la cual es susceptible toda imagen detectada, obtenida a través de cualquier sistema óptico (SO) formador de imágenes. Por lo cual la restauración de imágenes con este tipo de degradación es un área de interés práctico en numerosas ramas de la ciencia, por ejemplo microscopía, astrofísica, biología, medicina, microbiología, etc.

La función de punto extendido en intensidad (IPSF, Intensity Point Spread Function) es una idealización muy útil en la teoría de formación y restauración de imágenes. Un ejemplo de la importancia de la función de transferencia óptica (OTF, Optical Transfer Function) de la IPSF se muestra en [Kutter (1973)], en donde el criterio de foco es determinado por mediciones en la OTF.

Muchas técnicas de enfocamiento han sido investigadas y presentadas en el pasado utilizando diferentes procesos, en donde el conocimiento de la OTF asociada a la imagen desenfocada es necesario, por lo que se han utilizado diferentes métodos para simular o encontrar digitalmente esta función.

Al generar numéricamente OTFs con desenfoque, estas pueden utilizarse para desenfocar digitalmente una imagen, la cual puede ser reconstruida posteriormente ya que se conoce el valor de desenfoque introducido [Berriel et al. (1983)], esto se logra utilizando el filtro de Wiener. Un ejemplo de esto se muestra en el conjunto de imágenes de la figura 1.1, en donde la imagen original 1.1(a) se degrada digitalmente. Para obtener la imagen restaurada 1.1(d) se utiliza el filtro de Wiener.

Pentland propone un método para estimar teóricamente un factor de desenfoque,

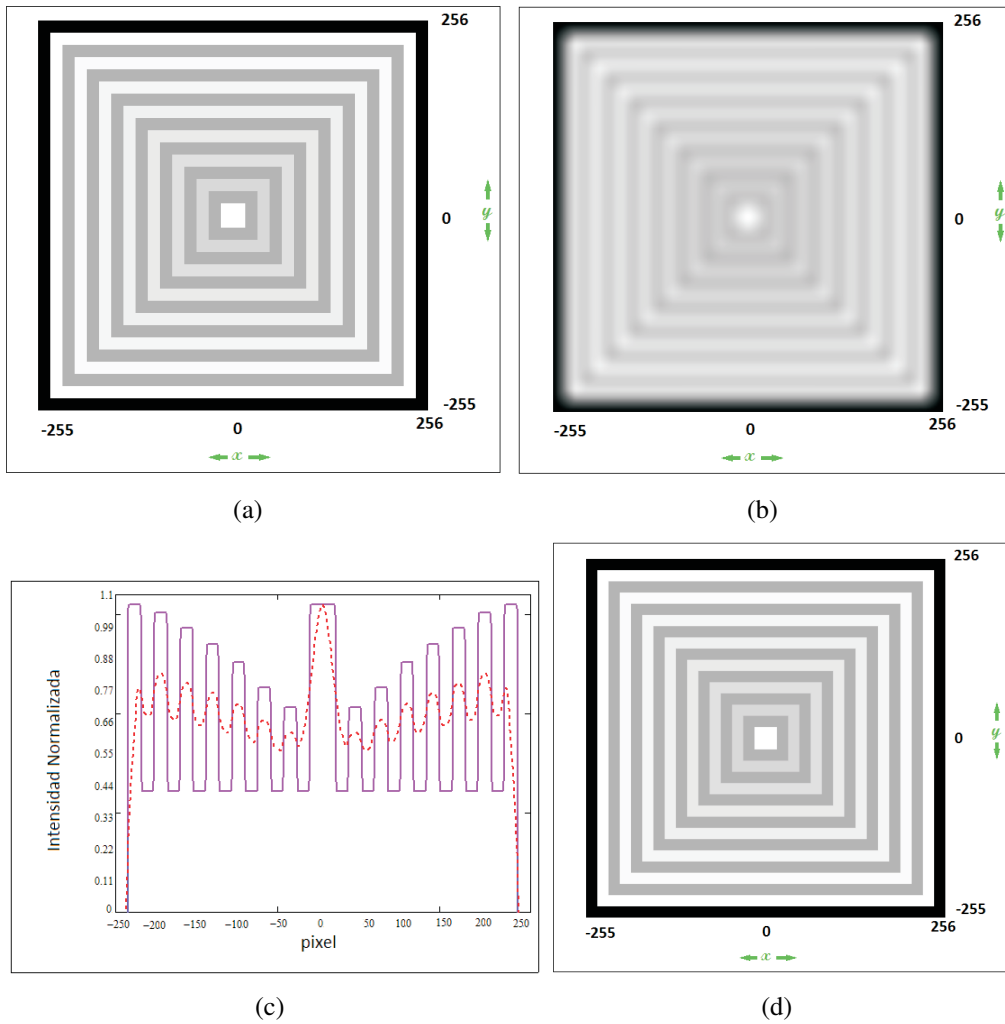


Figura 1.1: Desenfoque y restauración digital de una imagen: (a) imagen digital sin desenfoque; (b) imagen digitalmente desenfocada; (c) perfil de las imágenes 1.1(a) en línea continua y 1.1(b) en línea punteada; y, (d) restauración digital de la imagen 1.1(b)

utilizando el gradiente de la convolución entre la imagen y la IPSF [Pentland (1987)].

Murali Subbarao y Arman Nikzad en 1993, utilizan el modelo paraxial de formación de imágenes de la óptica geométrica para obtener un conjunto de técnicas de enfoque, las cuales utilizan una aproximación de la OTF [Subbarao et al. (1993)].

Posteriormente se presentó un método de enfocamiento, basado en el cálculo numérico de la OTF, este método se basa en calcular las distancias físicas entre el plano objeto y el SO, el SO y el plano imagen [Raveh et al. (1999)].

En óptica física, la imagen $g(x, y)$ de un objeto que se detecta bajo iluminación incoherente en un sistema lineal, como el que se muestra en la figura 1.2, se forma al considerar al objeto como un conjunto de fuentes puntuales localizadas en el plano objeto, de tal manera que cada una de estas fuentes puntuales es reemplazada por una IPSF denotada por $h(x, y)$, trasladada en el plano imagen, esta operación es definida como la convolución entre la $h(x, y)$ del SO con la función de transmitancia en intensidad del objeto $o(x, y)$, la cual se muestra en la ecuación (1.1) [Papoulis (1968), y Gaskill (1978)].

$$g(x, y) = o(x, y) * h(x, y), \quad (1.1)$$

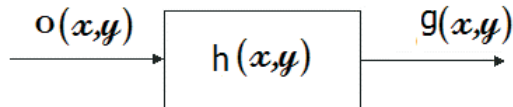


Figura 1.2: Diagrama de bloques de un SO lineal formador de imágenes.

Como se muestra en la figura (1.3), en el caso particular en el que el objeto sea una delta de Dirac (fuente puntual) la $g(x, y)$ coincide con la $h(x, y)$.

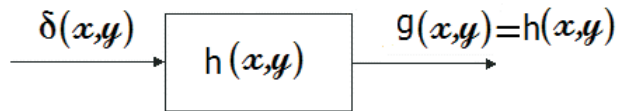


Figura 1.3: Diagrama de bloques de un SO formador de imágenes cuando el objeto es una fuente puntual.

Todo SO formador de imágenes, cuando se ilumina con una fuente puntual $\delta(x, y)$, tiene asociada una IPSF que lo caracteriza la cual depende de la longitud de onda (λ), de la distancia focal (f) y del diámetro de la pupila del sistema.

Como se muestra en la figura 1.4, en el plano imagen la IPSF es la respuesta del SO en luz incoherente. La transformada de Fourier de la IPSF es la función de transferencia óptica (OTF) cuando:

$$\frac{1}{z} + \frac{1}{z'} = \frac{1}{f}, \quad (1.2)$$

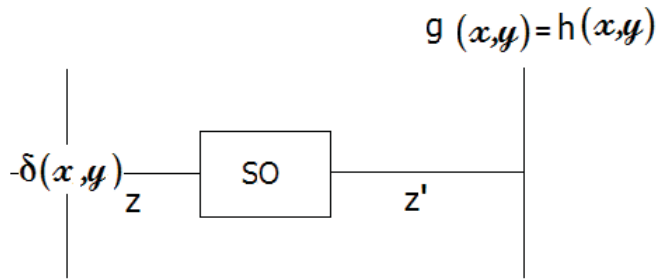


Figura 1.4: IPSF en el plano imagen.

En condiciones reales, no existen fuentes puntuales, cuando una imagen se detecta utilizando un sensor de captura tal como un dispositivo de carga acoplada (CCD, Charge Couple Device), este tiene un pixel de tamaño finito, además de introducirse ruido en la detección, por lo que no es posible obtener IPSFs ideales.

Pero si el objeto es de dimensiones muy pequeñas y cumple con la condición de positividad¹, este funge como una fuente cuasi-puntual (FCP) [Aguilar et al. (2008)] y su imagen detectada puede utilizarse para definir las características del sistema, como se muestra en este trabajo.

¹ La condición de positividad establece que si la función de Wigner en el eje de coordenadas de la imagen de un objeto fuente es monótona decreciente y positiva a lo largo del ancho de banda del SO, se considera al objeto como una fuente cuasi-puntual (FCP), para el SO.

1.1. Objetivo

El objetivo de este trabajo, es introducir un método óptico-digital para restaurar el promedio de imágenes detectadas fuera de foco ($\overline{gn_d}$), en donde el SO formador de imágenes es un microscopio y las imágenes se detectan utilizando un detector CCD.

El método consiste en utilizar el promedio de imágenes de una FCP, si esta ha sido detectada con el mismo desenfoque que la imagen que queremos restaurar (esto se logra si ambas imágenes son detectadas a la misma distancia con respecto al plano objeto, utilizando la misma iluminación y el mismo SO), el espectro de la imagen de la FCP es el estimado de la OTF desenfocada asociada a ($\overline{gn_d}$), por lo que es posible restaurar esta imagen si utilizamos un filtro de Wiener (2.16).

1.2. Organización de la tesis

En capítulo 2 se describen los conceptos que sustentan el método que se ha propuesto, estos conceptos se basan en la formación de imágenes, en donde las imágenes tienen influencia de desenfoque y difracción. Se muestra la recuperación del estimado del objeto utilizando el filtro de Wiener.

En el capítulo 3 se presenta la metodología experimental que se utiliza en este trabajo, basado en el uso de FCPs. Se describe el método con el cual han sido detectadas las imágenes desenfocadas para los objetos extendidos utilizados en este trabajo, se describe el método utilizado para la detección de las imágenes de las FCPs con distintos desenfoques. Se muestra el diagrama del SO utilizado en el experimento.

En el capítulo 4 se presentan los restaurados al utilizar el método que hemos propuesto para la restauración de imágenes detectadas con desenfoque. Se muestra la restauración de la imagen desenfocada de un micro orificio de $5\mu m$ de diámetro, así como la restauración de unas esferas de látex de $10\mu m$ las cuales han sido detectadas con distintos desenfoques. También se muestran los resultados al restaurar la imagen de unas células de sangre de reptil, detectadas utilizando un filtro dicróico color verde.

Finalmente en el capítulo 5 se exponen las conclusiones del presente trabajo.

Capítulo 2

Conceptos de formación de imágenes

El método óptico-digital que proponemos para la restauración de imágenes desenfocadas de objetos extendidos, se basa en el concepto de FCP.

La imagen de una FCP tiene información importante de las características de un SO, al igual que la IPSF depende de la función de pupila del sistema, de la abertura numérica (AN) y de la longitud de onda de la iluminación (λ). Cuando se introduce desenfoco en la función de pupila podemos evaluar la imagen de la FCP en planos distintos al plano de la imagen. Lo cual nos permite obtener imágenes de FCPs con distintos desenfoco, las cuales se pueden utilizar para la restauración de imágenes con esta degradación detectadas con el mismo SO.

A la entrada de un sistema óptico un frente de onda es una superficie imaginaria compuesta por puntos en los que el camino óptico que recorre la luz para viajar desde el punto objeto hasta cualquiera de ellos es el mismo. Los frentes de ondas que provienen de una fuente puntual son esféricos y si el medio a través del cual viajan es isótropo y homogéneo, son perpendiculares a los rayos que provienen del punto objeto. En óptica geométrica si estos rayos pasaran por un SO ideal, todos ellos convergerían a un punto imagen. En condiciones reales no todos los rayos que pasan por el sistema convergen al mismo punto imagen y el frente de ondas emergente está deformado [Hopkins (1985), Born and Wolf (1987), Comastri et al. (1999)].

Consecuentemente la imagen de una fuente puntual a través de un sistema óptico convergente es una distribución de intensidad cuya semejanza con el objeto fuente está limitada por la abertura del sistema, a causa de la difracción producida, y por la

existencia de aberraciones del frente de onda.

En el caso de un objeto fuente sobre el eje óptico, nos basamos en la teoría escalar de la difracción para calcular su distribución de intensidad en el plano imagen, según el esquema de la figura 2.1.

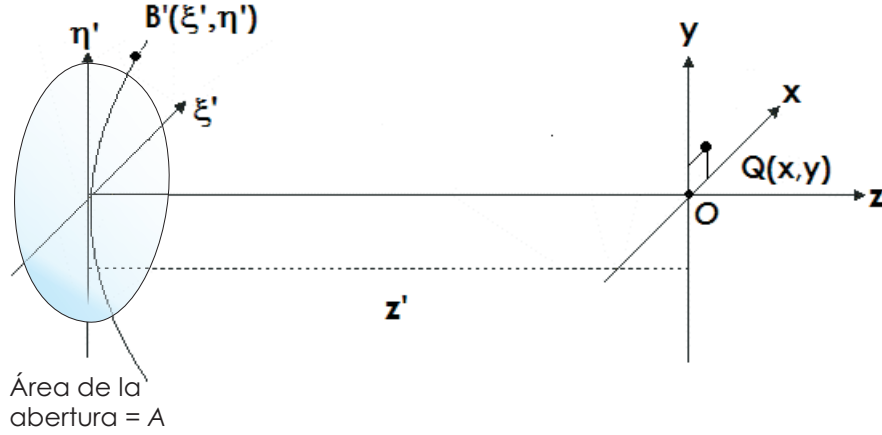


Figura 2.1: Esquema de un SO formador de imágenes convergente que forma la imagen de un punto objeto situado sobre el eje óptico, en un punto imagen O .

Idealmente el SO produce a la salida un frente de onda esférico concéntrico con el punto imagen O , que está situado sobre el eje óptico el cual es común a la pupila de salida del sistema, siendo $B'(\xi', \eta')$ un punto a la salida de esa superficie. Si existen aberraciones, la amplitud compleja del campo electromagnético en cada punto de la superficie esférica, será una función compleja de las coordenadas (ξ', η') del punto, esta función se denomina función de pupila denotada por $P(\xi', \eta')$, la cual está definida dentro del area A da la abertura.

$$P(\xi', \eta') = \begin{cases} \exp [ik\omega(\xi', \eta')] & \text{dentro de } A \\ 0 & \text{fuera de } A, \end{cases} \quad (2.1)$$

en donde $\omega(\xi', \eta')$ es la función de aberración de onda, $k = \frac{2\pi}{\lambda}$, siendo λ la longitud de onda de la luz.

La transformada de Fourier de la función (2.1) es de la siguiente forma:

$$p(x, y) = \int \int_A P(\xi', \eta') \exp \left[i2\pi \frac{x\xi' + y\eta'}{\lambda z'} \right] d\xi' d\eta', \quad (2.2)$$

2.1. Influencia de desenfoque y difracción en la imagen

esta es una transformada de Fourier en donde estamos interpretando $\frac{x}{\lambda z'}$ y $\frac{y}{\lambda z'}$, como las frecuencias espaciales asociadas, con las coordenadas ξ' y η' respectivamente. Además la integración se reduce al área A según la definición de la función de pupila $P(\xi', \eta')$.

La intensidad de un punto Q del plano imagen, es decir la PSF en ese punto de coordenadas (x, y) , esta dada por:

$$h(x, y) = \left(\frac{1}{\lambda z'} \right)^2 |p(x, y)|^2. \quad (2.3)$$

Al ser $\left(\frac{1}{\lambda z'} \right)^2$ una constante, la intensidad en Q es proporcional al módulo al cuadrado de la transformada de Fourier de la función de pupila en ese punto.

2.1. Influencia de desenfoque y difracción en la imagen

Para calcular numéricamente la imagen proporcionada por un SO Hopkins e Yzuel [Hopkins and Yzuel (1970)] propusieron un método de evaluación de la imagen difraccional para la apertura circular que tiene en consideración la presencia de aberraciones.

La función de aberración de onda se puede expandir en serie [Hopkins (1950)] como el polinomio:

$$\omega(r, \phi) = \sum_m \sum_n \omega_{mn} r^m \cos^n \phi, \quad (2.4)$$

en donde (r, ϕ) , son las coordenadas para el radio y ángulo en el plano (ξ', η') .

Debido a la simetría axial y a la condición de que el objeto está sobre el eje, la dependencia con ϕ desaparece y sólo deberán aparecer los términos pares de m . Obviando el término de fase constante $\omega_{0,0}$, la ecuación se reduce a

$$\omega(r, \phi) = \omega_{2,0} r^2 + \omega_{4,0} r^4 + \omega_{6,0} r^6 \quad (2.5)$$

El coeficiente $\omega_{2,0}$ determina el desenfoque, implica que la IPSF se está evaluando en un plano que no corresponde al plano imagen, mientras que el resto de términos corresponde a otras aberraciones.

El coeficiente $\omega_{2,0}$ se relaciona con el desplazamiento de z con respecto al plano de mejor foco por la expresión:

$$z = \omega_{2,0} \frac{2\lambda}{n \sin^2 \alpha}, \quad (2.6)$$

donde z es la distancia entre el plano objeto y la pupila, $n \sin \alpha$ es la AN del SO, n es el índice de refracción en el medio de propagación, cuando la propagación es en el aire $n = 1$, α es el semiángulo que abarca la pupila desde el eje óptico en el espacio objeto, lo cual se ilustra en la figura 2.2. Expresando z y λ en las mismas unidades.

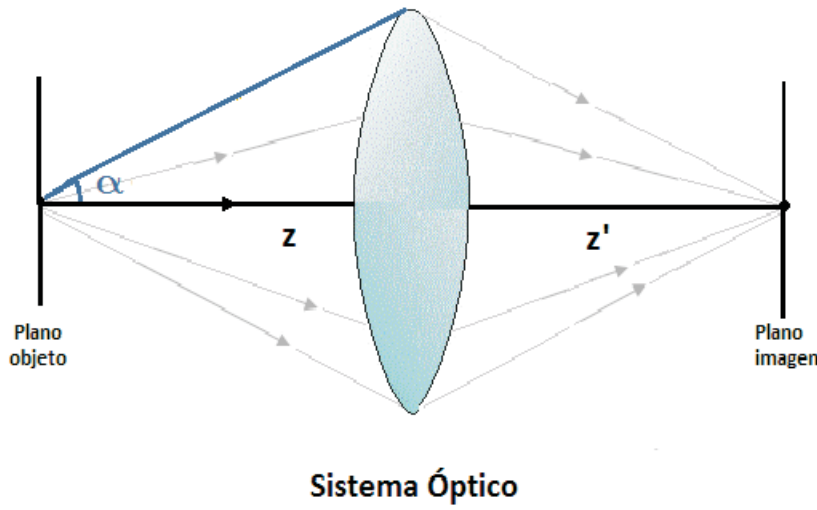


Figura 2.2: Sistema Óptico Convergente, en donde z es la distancia del plano objeto y el SO, y z' es la distancia entre el SO y el plano imagen.

La introducción de un término de desenfoque en la función de pupila 2.1 permite evaluar la IPSF en planos diferentes al plano de la imagen. Al introducir el termino $\omega_{2,0}$ en la función de pupila, la ecuación (2.2) se puede expresar de la forma:

$$p_d(x, y) = \int \int_A P(\xi', \eta') \exp [i2\pi\omega_{2,0}(\xi'^2 + \eta'^2)] \exp \left[i2\pi \frac{x\xi' + y\eta'}{\lambda z'} \right] d\xi' d\eta', \quad (2.7)$$

2.2. IPSF y OTF en puntos fuera del plano de mejor foco

De acuerdo con la ecuación (2.7), el valor de la PSF en cualquier punto de coordenadas (x, y) , cuando el plano de detección es distinto al plano de mejor foco, está dada por:

$$h_d(x, y) = |p_d(x, y)|^2, \quad (2.8)$$

La transformada de Fourier de la función (2.8) es la función de transferencia óptica con desenfoque.

2.3. Imagen promedio

En la detección de imágenes existen limitaciones establecidas por la cantidad de ruido introducido debido a la naturaleza estadística de la luz y de la conversión fotoeléctrica que toma lugar en el CCD. A bajos niveles de luz, donde el efecto es relativamente severo, el ruido fotoeléctrico es modelado como aleatorio con una función de densidad de probabilidad (PDF, Probability Density Function) de Poisson. A altos niveles de luz, la PDF de Poisson se aproxima a la Gaussiana.

La PDF del ruido Gaussiano está dada por:

$$P_{\Upsilon}(\Upsilon) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left[-\frac{(\Upsilon - \mu)^2}{(2\sigma^2)}\right] \quad (2.9)$$

donde Υ es el nivel de gris, μ es el nivel promedio de gris y σ se interpreta como la variación del contraste.

Para reducir la cantidad de ruido, se detecta una secuencia de imágenes y el promedio de estas dará como resultado una imagen con menor ruido. La imagen promedio se obtiene de la forma:

$$\overline{gn}(x_i, y_j) = \frac{1}{NI} \sum_{l=1}^{NI} gn_l(x_i, y_j), \quad (2.10)$$

en donde NI es el número de imágenes detectadas, y (x_i, y_j) son las coordenadas espaciales discretas, resultado de la digitalización de la imagen la cual tiene lugar en el CCD.

2.4. Imagen promedio detectada de un objeto extendido con desenfoque y ruido

La imagen promedio detectada con desenfoque y ruido de un objeto extendido se puede escribir de la forma:

$$\overline{gn}_d(x_i, y_j) = \overline{[o(x_i, y_j) * h_d(x_i, y_j)]CCD(x_i, y_j) + n(x_i, y_j)}, \quad (2.11)$$

en donde $h_d(x_i, y_j)$ representa la función de punto extendido en intensidad desenfocada (IPSPD), $n(x_i, y_j)$ representa la función de distribución del ruido aditivo que se introduce debido a los errores sistemáticos y no sistemáticos del sistema microscopio-CCD y $CCD(x_i, y_j)$ es el detector.

Se utiliza un promedio de imágenes, con el objetivo de reducir el ruido introducido en el sistema de imágenes[Gonzalez and Goods (2002)].

2.5. Espectro de la imagen promedio detectada

Después de reducir el ruido en la imagen $\overline{gn}_d(x_i, y_j)$ utilizando un filtro pasabajos con una mascarilla de de 5x5 pixeles ¹, se obtiene $\widetilde{gn}_d(x_i, y_j)$ de la cual se calcula su espectro utilizando la transformada rápida de Fourier (FFT, Fast Fourier Transform).

$$\mathfrak{F}\{\widetilde{gn}_d(x_i, y_j)\} = \widetilde{G}\eta_d(u_k, v_m), \quad (2.12)$$

en donde $\widetilde{gn}_d(x_i, y_j)$ es la imagen con ruido reducido y desenfoque, en el dominio espacial, (u_k, v_m) son las coordenadas discretas en el dominio de frecuencias y $\widetilde{G}\eta_d(u_k, v_m)$ es el espectro de la imagen con ruido reducido y desenfoque.

¹ La operación de filtrar una imagen mediante una mascarilla equivale a realizar la convolución espacial de la imagen con esa mascarilla.

2.6. Recuperación del estimado del objeto

2.6.1. Filtro de Wiener

El método que empleamos para realizar la restauración se implementa utilizando el filtro de Wiener. Este filtro es considerado como un clásico y ofrece la técnica comúnmente más aceptada de filtrado en procesamiento de imágenes. Este filtro es de la forma:

$$\hat{O}(u, v) = \frac{H_d^*(u, v)G_d(u, v)}{|H_d(u, v)|^2 + \phi_n(u, v)/\phi_f(u, v)}, \quad (2.13)$$

en donde:

$$H_d(u, v) = \text{OTF desenfocada}$$

$$H_d^*(u, v) = \text{complejo conjugado de } H_d(u, v)$$

$$|H_d(u, v)|^2 = H_d(u, v)H_d^*(u, v)$$

$$G_d(u, v) = H_d(u, v)O(u, v)$$

$$\phi_n(u, v) = |N(u, v)|^2 = \text{densidad espectral del ruido}$$

$$\phi_f(u, v) = |O(u, v)|^2 = \text{densidad espectral de la imagen original del objeto.}$$

Para tener una restauración óptima, se debe tener conocimiento a priori de los parámetros $\phi_n(u, v)$ y $\phi_f(u, v)$, cuando se trata con ruido especialmente blanco $|N(u, v)|^2$ es una constante, sin embargo $\phi_f(u, v)$ raramente se conoce. Cuando estos parámetros no se conocen o no pueden ser estimados se utiliza una aproximación de (2.13), la cual es de la forma:

$$\hat{O}(u, v) = \frac{H_d^*(u, v)G_d(u, v)}{|H_d(u, v)|^2 + \epsilon}, \quad (2.14)$$

en donde ϵ es un parámetro constante ajustable.

2.6.2. Recuperación del estimado del objeto utilizando una FCP

Para construir este filtro de Wiener obtenemos la transformada de Fourier de la imagen de una FCP desenfocada, la cual se puede expresar de la siguiente forma:

$$\widetilde{G}_{\eta_{fcpd}}(u_k, v_m) \approx [\widetilde{H}_d(u_k, v_m) + \widetilde{\eta}(u_k, v_m)], \quad (2.15)$$

donde $\widetilde{G}\eta_{fcpd}(u_k, v_m)$ es la transformada de Fourier de la imagen de una FCP desenfocada de la cual se ha minimizado el ruido en el espacio frecuencial al suavizar el orden central del espectro, $H_d(u_k, v_m)$ es un estimado de la OTF desenfocada en coordenadas discreta, $\widetilde{\eta}(u_k, v_m)$ función de distribución de ruido en el dominio frecuencial.

Sustituyendo $\widetilde{G}\eta_{fcpd}(u_k, v_m)$ y $\widetilde{G}\eta_d(u_k, v_m)$, en la ecuación (2.14), se obtiene:

$$\hat{O}(u_k, v_m) \approx \frac{\widetilde{G}\eta_{fcpd}^*(u_k, v_m)\widetilde{G}\eta_d(u_k, v_m)}{\left|\widetilde{G}\eta_{fcpd}(u_k, v_m)\right|^2 + \epsilon}, \quad (2.16)$$

El estimado del objeto es la FFT inversa de la ecuación (2.16).

Suavizado del orden central del espectro

En esta sección se explica cómo se realizó el procedimiento al que llamamos "suavizado del orden central del espectro", el cual fue utilizado para reducir el ruido de fondo en la imagen de la FCP.

Una gran cantidad de ruido se concentra en la parte central del espectro de una imagen, para mostrar esto se ha contaminado una imagen digital de de 226X226 pixeles, con ruido gaussiano. La imagen y su espectro se muestran en la figura 2.3.

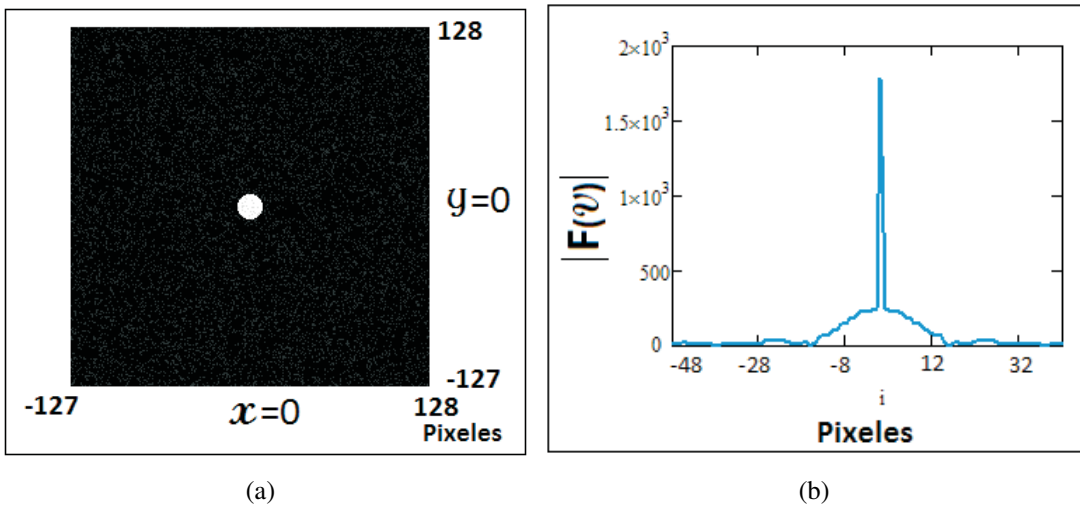


Figura 2.3: Imagen con ruido gaussiano y su espectro: (a) Imagen digital de 226X226 pixeles, con rango dinámico de 0 a 255 niveles de gris; (b) perfil central del espectro de la imagen 2.3

Se puede minimizar el ruido suavizando el orden central del espectro, es decir el

2.6. Recuperación del estimado del objeto

$v_{-1,-1}$	$v_{-1,0}$	$v_{-1,1}$
$v_{0,-1}$	$v_{0,0}$	$v_{0,1}$
$v_{1,-1}$	$v_{1,0}$	$v_{1,1}$

Figura 2.4: Píxeles correspondientes al centro de la imagen

pixel en donde se concentra la mayor cantidad de ruido. A este pixel lo llamamos $v_{(0,0)}$.

Para hacer el suavizado se hace un promedio de los valores de los píxeles vecinos de $v_{(0,0)}$; $v_{(-1,1)}$, $v_{(-1,0)}$, $v_{(-1,-1)}$, $v_{(0,1)}$, $v_{(0,-1)}$, $v_{(1,1)}$, $v_{(1,0)}$, $v_{(1,-1)}$, la posición de estos se muestra en la figura 2.4. Posteriormente se sustituye el valor de $v_{(0,0)}$ por el resultado del promedio de los píxeles vecinos el cual debe ser incrementado para ajustar la curva del perfil central del espectro.

La imagen 2.5(a), muestra cómo el perfil central del espectro ha sido suavizado, y la imagen 2.5(b) obtenida con la transformada inversa de Fourier aplicada al espectro suavizado, se muestra con ruido visiblemente reducido con respecto a la imagen original 2.3(a).

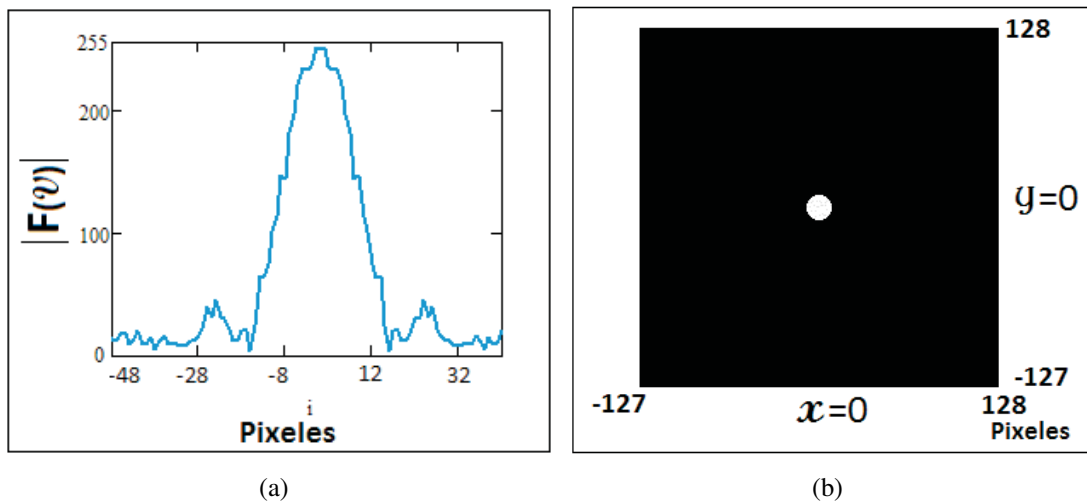


Figura 2.5: (a) Perfil central del espectro de la imagen después de suavizar el orden central; (b) imagen con ruido reducido resultado de suavizar el orden central del espectro de una imagen con ruido.

Capítulo 3

Descripción experimental

El objetivo de este capítulo es explicar el procedimiento experimental, para la restauración de imágenes que han sido detectadas fuera de foco, el cual sugiere el uso de la imagen de una FCP detectadas con el mismo SO, para realizar dicha restauración.

3.1. Metodología experimental

Para restaurar imágenes desenfocadas, detectadas en Microscopía, se ha desarrollado una metodología experimental, de tal forma que los resultados sean repetitivos. Las secuencia de imágenes utilizadas en el experimento son detectadas por un CCD monocromático cuyo rango dinámico es de 0 a 255 en donde 0 corresponde al color negro y el 255 al color blanco.

Para realizar cada restauración se requiere:

1. Secuencia de imágenes de un objeto extendido con desenfoco $\omega_{2,0}(z)$, estas imágenes son digitalizadas y **promediadas** (ver figura 3.1).
2. Secuencia de imágenes de una FCP con un desenfoco $\omega_{2,0}(z)$, estas imágenes son digitalizadas y **promediadas** (ver figura 3.2).

Con los espectros de estas dos imágenes se puede formar de manera digital el filtro de Wiener dado en la ecuación (2.16) del capítulo 2.

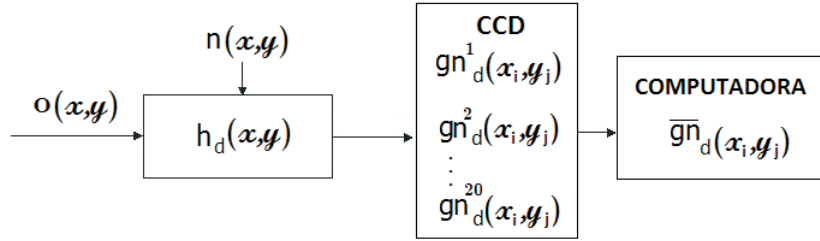


Figura 3.1: Diagrama de la detección de una secuencia de imágenes de un objeto extendido, las cuales son digitalizadas y promediadas

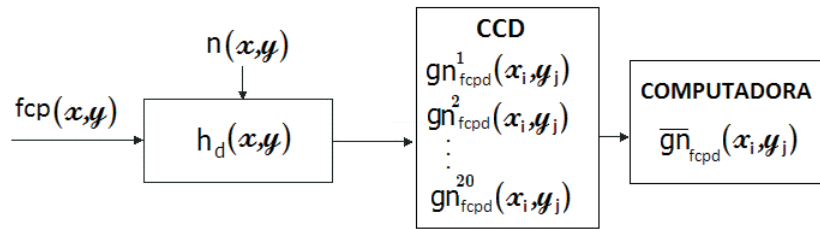


Figura 3.2: Diagrama de la detección de una secuencia de imágenes de $h_d(x, y)$ ópticamente generadas las cuales son digitalizadas y promediadas

3.2. Profundidad de foco y profundidad de campo del SO

Cuando un objeto fuente está en eje, produce una imagen en el lugar predicho por la óptica geométrica, el perfil radial de esta imagen tiene una distribución de intensidad máxima I_m .

La profundidad de foco es el rango en el cual el plano imagen puede moverse sobre el eje óptico, y conservar una calidad de imagen aceptable, esto es, si la intensidad no decrece mas del 20 % con respecto a I_m [Born and Wolf (1987)].

La profundidad de foco se define como:

$$\Delta z' = \pm 3.2 \frac{\lambda}{2\pi} \left(\frac{1}{AN} \right)^2 \quad (3.1)$$

De nuestro SO conocemos $\lambda = 0.615 \mu m$ ¹ y $AN = 0.10$, por lo que la ecuación

¹ Se toma una λ característica definida por el centro de masas de la distribución de energía de la curva espectral de un iluminante tipo A, en donde la temperatura de color es $T = 2800$.

3.3. Metodología para obtener la imagen desenfocada de un objeto

3.1, queda de la forma:

$$\Delta z' = \pm 3.2 \frac{0.615 \mu m}{2\pi} \left(\frac{1}{0.10} \right)^2 = \pm 31.3 \mu m \quad (3.2)$$

En este trabajo, el plano que se desplaza a lo largo del eje óptico para la detección de imágenes, es el plano del objeto, por lo que nos interesa determinar el rango en el cual el objeto puede desplazarse con respecto al eje y conservar una calidad aceptable de la imagen, según las consideraciones anteriores. A este rango se le conoce como profundidad de campo Δz .

Considerando una amplificación transversal $M_T = 1$ en el SO, se tiene una amplificación longitudinal $M_L = M_T^2 = 1$, por lo que $\Delta z'$ será igual a Δz .

En nuestro SO $M_T = 4$ por lo que $M_L = M_T^2 = 16$, esto indica que cualquier movimiento en la dirección axial del objeto, sera 16 veces mayor en la imagen, por lo que para nuestro SO Δz es:

$$\Delta z = \pm \frac{31.3 \mu m}{16} = \pm 1.95 \mu m \quad (3.3)$$

3.3. Metodología para obtener la imagen desenfocada de un objeto

Para detectar la imagen $\overline{gn}_d(x_i, y_j)$ de un objeto extendido, en donde el desenfoque de la imagen depende de z , se siguió la metodología siguiente:

1. Colocar en la plataforma del microscopio (Plano Objeto) un objeto extendido.
2. Se enfoca visualmente el objeto, utilizando el ocular y el objetivo del microscopio.
3. Se ajusta el plano del objeto para conseguir el plano de mejor imagen, utilizando el criterio de máxima entropía [Shanon (1948), Dähne and Lanzl (1980)] y se desplaza el plano objeto a una distancia $+z$.
4. Se regula la intensidad de la fuente para asegurar que la imagen en el CCD no se sature.

5. Se captura una secuencia de 20 imágenes, las cuales posteriormente serán promediadas para minimizar el ruido. La velocidad de captura es de 15fps(cuadros por segundo).

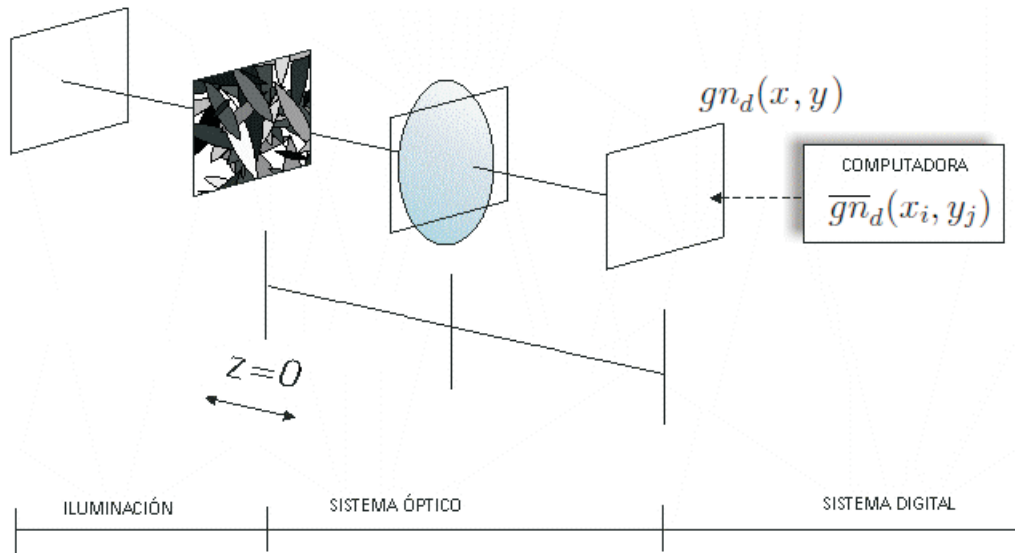


Figura 3.3: Diagrama de detección y digitalization de la imagen de un objeto extendido.

En la figura 3.3 se muestra un diagrama en el que se representa la detección y digitalización de imágenes extendidas, en donde $z = 0$ representa el plano del objeto en el cual la imagen detectada está en foco, para una distancia $z \neq 0$ la imagen está desenfocada, siempre y cuando el desplazamiento no este dentro del rango Δz mencionado anteriormente.

3.4. Metodología para obtener las imágenes desenfocadas de la FCP

La metodología experimental que se siguió para detectar las FCPs con distintos desenfocos fue la siguiente:

1. Colocar en la plataforma del microscopio (Plano Objeto) el micro orificio de $1 \mu m$ de diámetro, éste se limpia previamente con aire a presión para eliminar

3.4. Metodología para obtener las imágenes desenfocadas de la FCP

partículas de polvo que pudiesen estar obstruyendo la radiación emitida por la fuente del microscopio.

2. Se localiza, observa y enfoca visualmente a la FCP por medio del objetivo y ocular del microscopio.
3. Utilizando un sistema de adquisición y un programa realizado con el software LabVIEW, es posible observar en tiempo real la imagen detectada en el CCD de la FCP, además se puede visualizar la entropía de la imagen. Gracias a esto es posible ajustar el plano del objeto, hasta conseguir el mejor foco, desplazando la plataforma del microscopio en las direcciones $+z$ y $-z$ utilizando el criterio de mínima entropía [Orlando (2009)]. Una vez que se ubicó la imagen detectada con la menor entropía se detiene el desplazamiento en la dirección z .
4. Los perfiles de las imágenes son analizados en tiempo real con el programa realizado en LabVIEW, de esta forma se puede regular la intensidad asegurando que no se tenga saturación cuando se capture la imagen.
5. Se captura una secuencia de 20 imágenes, las cuales posteriormente serán promediadas con la finalidad de minimizar el ruido. La imagen promedio se guarda, para posteriormente ser utilizada.
6. Hasta este paso, sólo se ha obtenido la imagen en foco de la FCP. Para obtener las imágenes de las FCPs fuera de foco, se sigue la misma metodología, para cada posición z del plano objeto.

En la figura 3.4 se muestra un diagrama en el que se representa la detección y digitalización de FCPs cuyo desenfoque depende de un desplazamiento en z , Estas imágenes son posteriormente utilizadas para la restauración de un objeto extendido previamente detectado con el mismo sistema óptico.

En la figura 3.5 se muestra la imagen detectada de una FCP, para distintos valores de z .

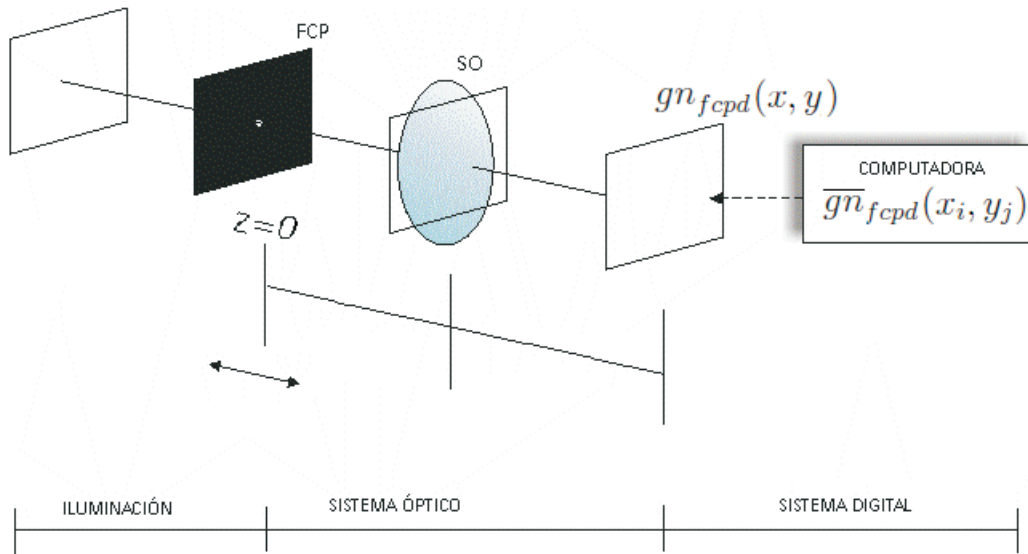


Figura 3.4: Diagrama de detección y digitalización de la imagen de una FCP.

3.5. Arreglo experimental

La restauración de imágenes detectadas fuera de foco, se puede aplicar a distintos sistemas ópticos-CCD siguiendo la metodología expuesta anteriormente. Para esto se requiere, tener un objeto-fuente (micro orificio) que se comporte como una FCP para ese SO. Se utiliza un micro orificio (D1), que funge como una FCP para el microscopio.

Para evaluar el método, se utilizó como objeto a restaurar, la imagen desenfocada de un micro orificio (D2) de $5 \mu m$. Los micro orificios fueron adquiridos con la compañía Edmund Optics, sus diámetros y tolerancias se muestran en el cuadro 3.1:

Micro orificio	Diámetro y tolerancia
D1	$1 \pm 0.5 \mu m$
D2	$5 \pm 0.5 \mu m$

Cuadro 3.1: Micro orificios utilizados, diámetros y tolerancias.

Con anterioridad [Orlando (2009)] se midieron las dimensiones del micro orificio D2 utilizando tres diferentes microscopios; con un microscopio Confocal modelo OSL3000 de la compañía Olympus, con un microscopio óptico de la compañía Carl Zeiss, modelo Axio imager M1 y con un microscopio electrónico modelo S-510 de

3.5. Arreglo experimental

la compañía HITACHI. El cuadro 3.2 muestra las mediciones obtenidas con los tres micros-copios para D2.

Micro orificio	Edmund Optics	Mediciones con el microscopio Confocal	Mediciones con el microscopio óptico	Mediciones con el micros-copio electrónico	Promedio de las mediciones
D2	$5 \pm 0.5 \mu m$	$8.113 \mu m$	$9 \mu m$	$8.6 \mu m$	$8.571 \mu m$

Cuadro 3.2: Mediciones del micro orificio D2 obtenidas con tres microscopios.

De acuerdo al cuadro 3.2, observamos que los valores de D2 van de $4.5 \mu m$ (según los parámetros especificados por Edmund Optics) a $9 \mu m$ (según las mediciones para el microscopio electrónico).

El microscopio es el modelo BX51 de la compañía Olympus con iluminación tipo Köhler para luz transmitida, con un objetivo de 4X(0.10). La detección de las imágenes se realizó utilizando un CCD digital de la marca Sony, modelo XCL-5000, la cuál tiene 2448H X 2050V pixeles, con un pixel pitch de $3.45 \mu m$. Se utilizó un adaptador CCD con amplificación de 1X, el cual es el recomendado para el formato de la CCD utilizada. Finalmente, para la digitalización de la imagen detectada se utilizó el framegrabber PCI-1429 de la marca National Instruments.

El objetivo principal de la iluminación Köhler es tener un campo de iluminación uniforme en el plano objeto, esto se logra con la ayuda de cinco elementos ópticos; filamento de la lámpara, lente colectora, diafragma de campo, el diafragma de abertura y lente condensadora.

Las componentes y su ubicación dentro del arreglo experimental son mostradas en la figura 3.6.

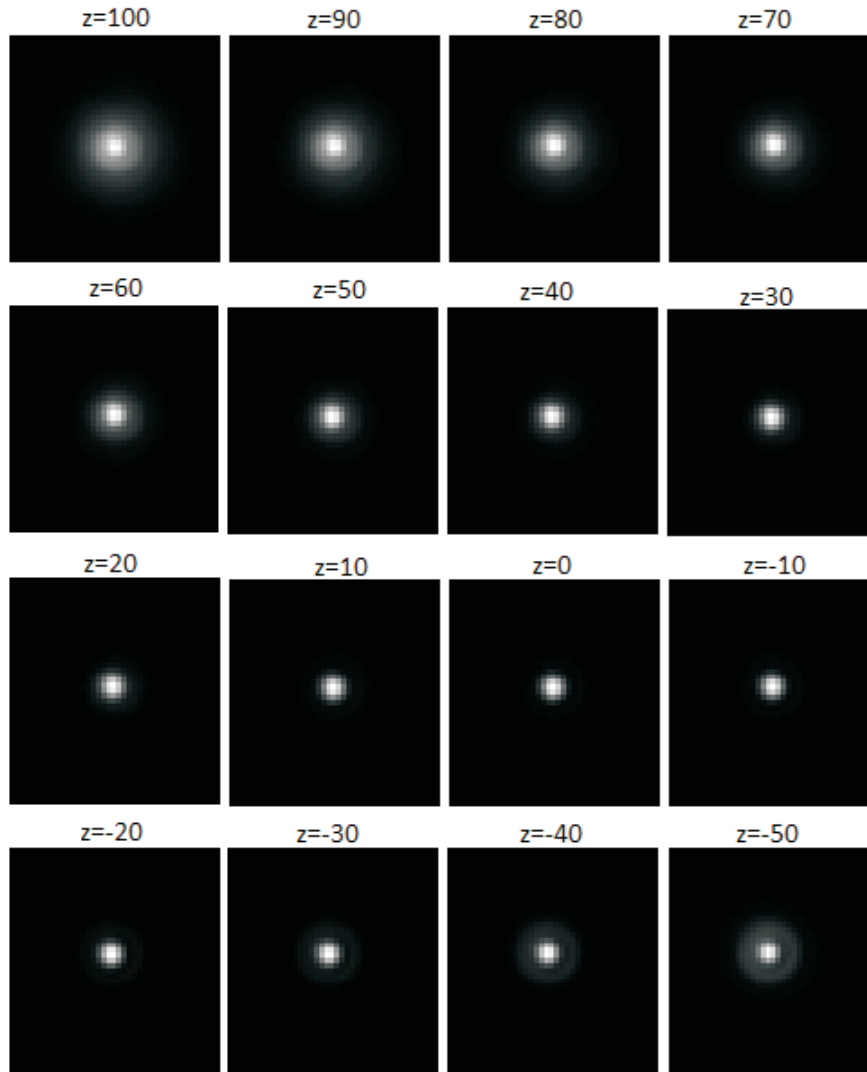


Figura 3.5: FCPs capturadas experimentalmente a diferentes distancias de z en μm , para un objetivo de 4X(0.10)

3.5. Arreglo experimental

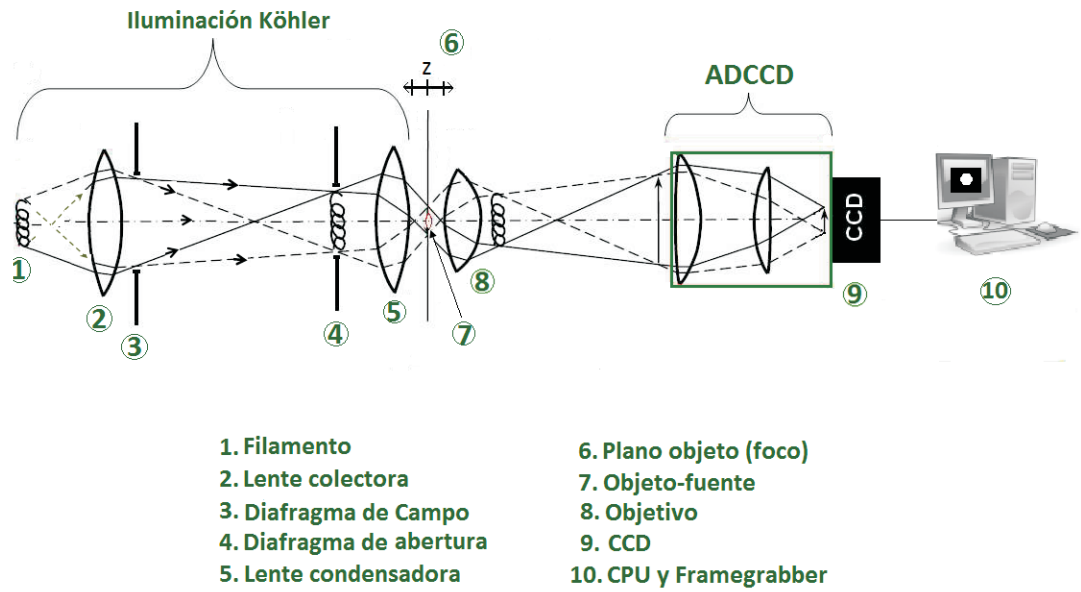


Figura 3.6: Diagrama del SO utilizado en el experimento.

Capítulo 4

Resultados

La recuperación de información de la imagen desenfocada de un objeto simple utilizando una IPSF generada experimentalmente, es importante para determinar qué tan factible es el método que hemos propuesto, por la que en este capítulo mostramos la restauración de un micro orificio del cual se conocen sus características dimensionales. Una vez que se ha mostrado la viabilidad de tal método, se procede a utilizar un objeto más complejo, del cual se detectan imágenes a distintas distancias del plano de mejor foco, las cuales posteriormente serán restauradas.

Se presentan los resultados obtenidos en forma de imágenes 2D en niveles de gris, y los perfiles de intensidad a lo largo del eje x de la imagen, en gráficas 1-D.

El tamaño de las imágenes 2D mostradas es de 512×512 pixeles, en donde los valores de las coordenadas en el origen son $(x, y) = (0, 0)$. Para una mejor visualización las imágenes de FCPs y micro orificio D2, se muestra un acercamiento (imagen con dimensiones de 62×62 pixeles). Cada pixel tiene dimensiones $3.45 \mu m \times 3.45 \mu m$.

4.1. Restauración de la imagen desenfocada de un micro orificio

En la figura 4.1 se muestran los resultados obtenidos al evaluar el método propuesto, utilizando la imagen desenfocada de un micro orificio D2 detectado a una distancia $z = 50\mu m$ 4.1(a). La restauración de esta imagen se muestra en la figura 4.1(c), en la figura 4.1(d) se compararan los perfiles de intensidad de la imagen desenfocada y la imagen restaurada.

4.1. Restauración de la imagen desenfocada de un micro orificio

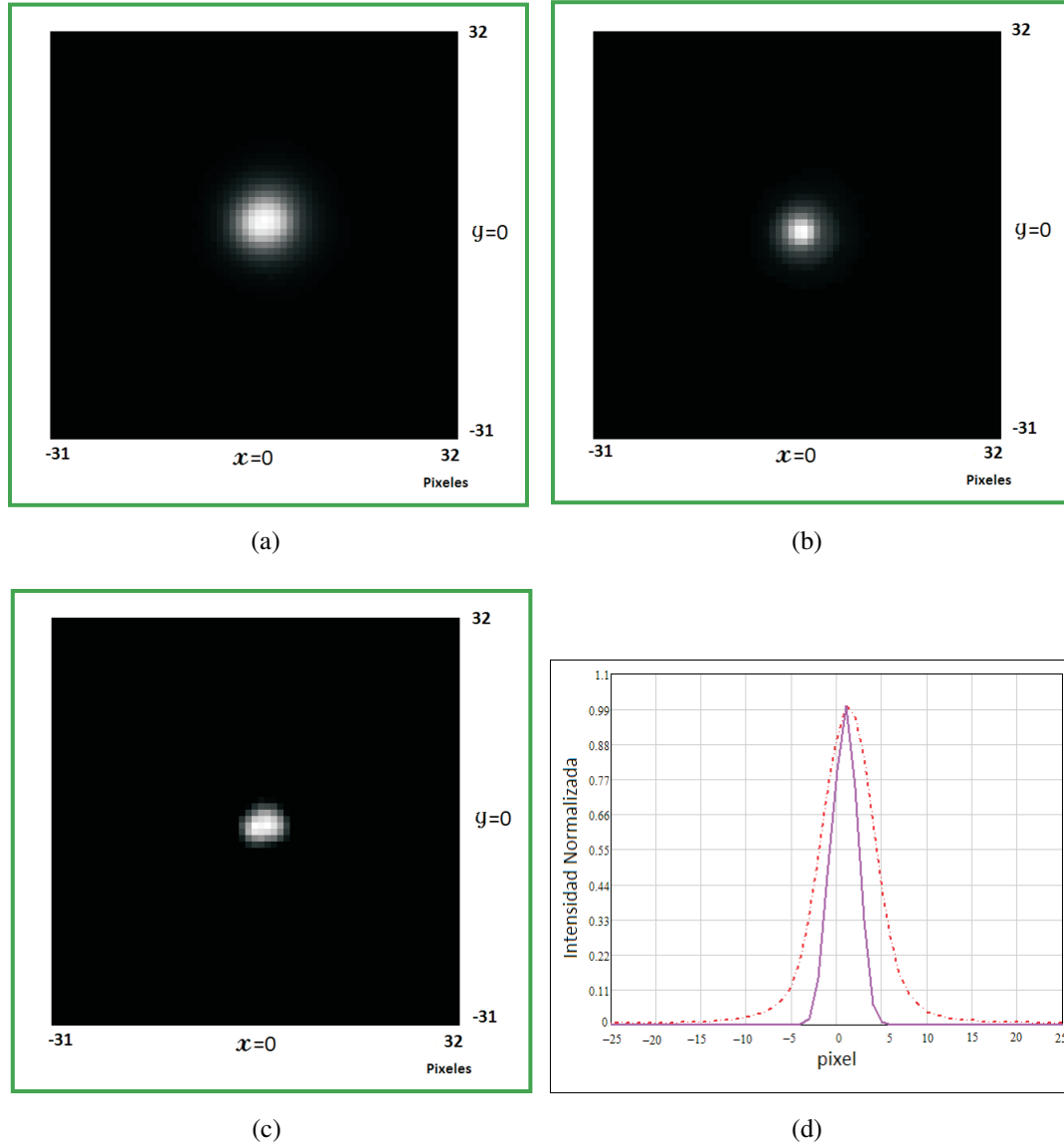


Figura 4.1: Restauración de imagen promedio de un micro orificio de $5\mu m$ de diámetro, con $\epsilon = 2$: (a) imagen promedio de 20 imágenes detectadas a una distancia $z = 40\mu m$ con respecto al plano objeto de un micro orificio con un diámetro de $5\mu m$; (b) imagen promedio de 20 imágenes detectadas de una FCP a una distancia $z = 40\mu m$; (c) restauración de la imagen 4.1(a); y, (d) perfil de distribución de intensidad en la imagen 4.1(a) (desenfocada) en línea punteada y 4.1(c) (restaurada) en línea continua.

4.2. Restauración de imágenes desenfocadas de esferas de látex

En los conjuntos de figuras 4.3, 4.4 y 4.5, se muestran los resultados al restaurar las imágenes de unas esferas de látex con $10\mu m$ de diámetro, las cuales fueron detectadas a $z = 50\mu m$, $z = 80\mu m$ y $z = 100\mu m$ respectivamente siendo $z = 0$ la distancia entre el plano objeto en foco y el objetivo de microscopio.

Además de la imagen restaurada se muestra una imagen mejorada la cual es resultado de la manipulación en el contraste de la imagen. Las imágenes mejoradas se obtienen mediante una transformación puntual utilizando una ley-potencia para mejorar el contraste:

$$S = CR^\gamma \quad (4.1)$$

en donde R es el nivel de gris de entrada, S es el nivel de gris de salida, siendo $C = 1$ los valores de γ se eligen de acuerdo a la gráfica que se muestra en la figura 4.2, en donde el rango dinámico de la imagen es de $[0, 255]$.

Como se puede apreciar en la gráfica de la figura 4.2 las curvas generadas para valores $\gamma > 1$ muestran una tendencia a oscurecer los valores pequeños del rango dinámico, efecto opuesto que tendrá para valores $\gamma < 1$.

En nuestro caso elegimos valores para γ entre 0.67 y 2.5, dependiendo de la calidad de las imágenes restauradas. Los valores para γ en cada caso, se muestran al pie de las figuras correspondientes.

Para poder comparar las imágenes de acuerdo a su desenfoque, en el conjuntos de figuras 4.6, se muestra la imagen de las esferas, detectada en el plano de mejor foco, y las imágenes detectadas a diferentes planos del plano de mejor foco; $z = 50\mu m$, $z = 80\mu m$ y $z = 100\mu m$.

4.2. Restauración de imágenes desenfocadas de esferas de látex

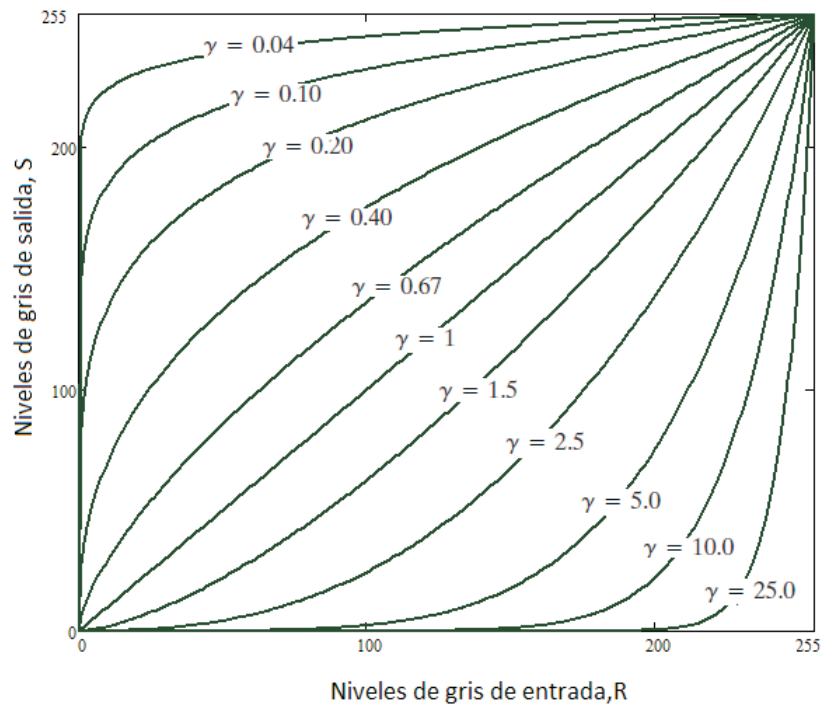


Figura 4.2: Gráfica de la ecuación $S = CR^\gamma$, en donde $C = 1$ para todos los casos

Para poder comparar las imágenes de acuerdo a su restauración, en el conjunto de figuras 4.7, se muestra la imagen de las esferas detectada en el plano de mejor foco, y las imágenes restauradas utilizando el método propuesto.

Para poder comparar las imágenes de acuerdo a su mejora digital, en el conjunto de figuras 4.8, se muestra la imagen de las esferas detectada en el plano de mejor foco, y las imágenes mejoradas.

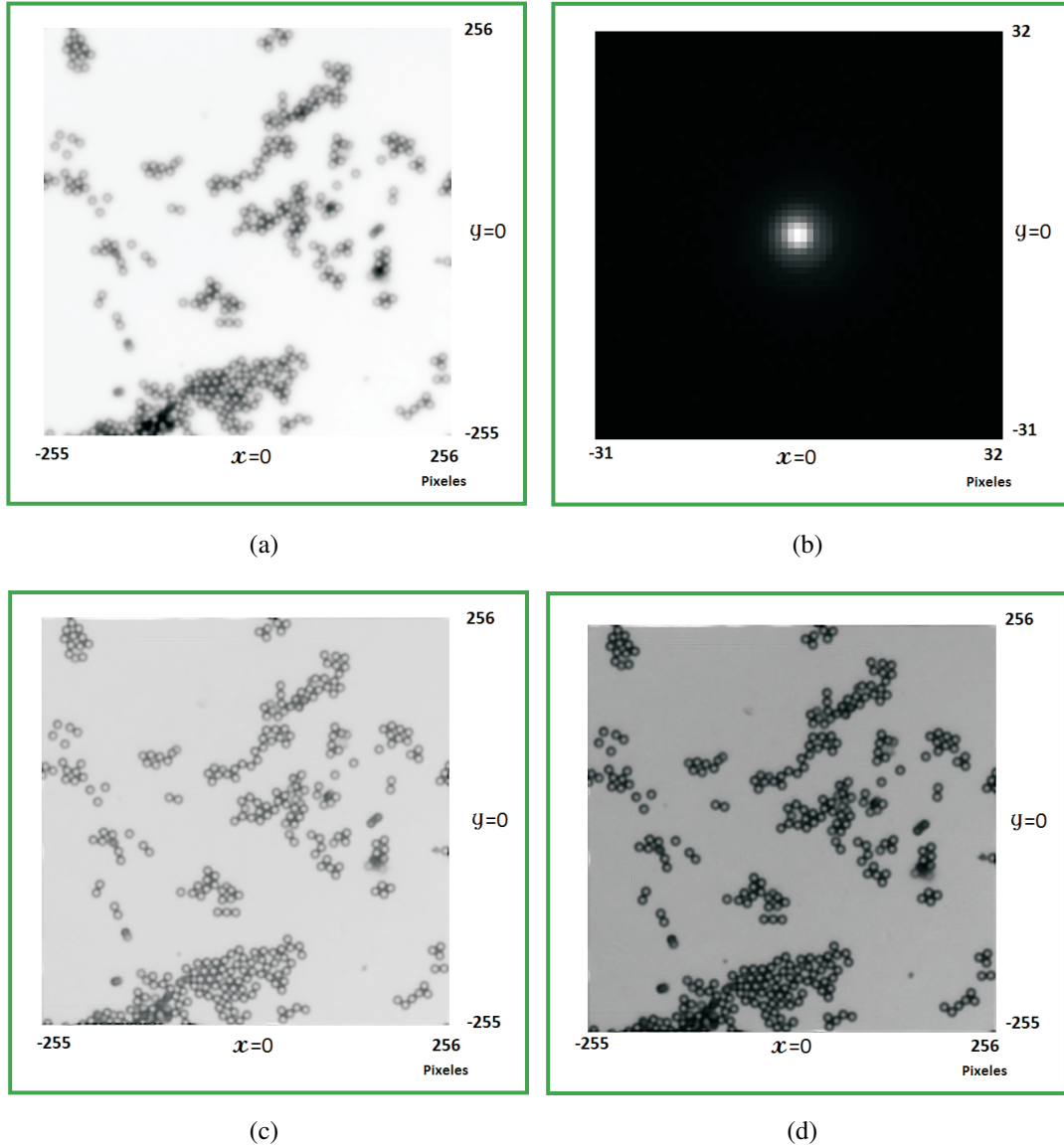


Figura 4.3: Restauración de imagen promedio de esferas, detectada a $z = 50\mu m$ del plano objeto, con $\epsilon = 4$: (a) imagen promedio detectada a una distancia $z = 50\mu m$, de un objeto extendido (esferas de látex de $10\mu m$ de diámetro); (b) imagen promedio detectada de una FCP detectada a una distancia $z = 50\mu m$; (c) restauración de la imagen 4.3(a); y, (d) mejora digital de la imagen restaurada 4.3(c), en donde $\gamma = 2.5$.

4.2. Restauración de imágenes desenfocadas de esferas de látex

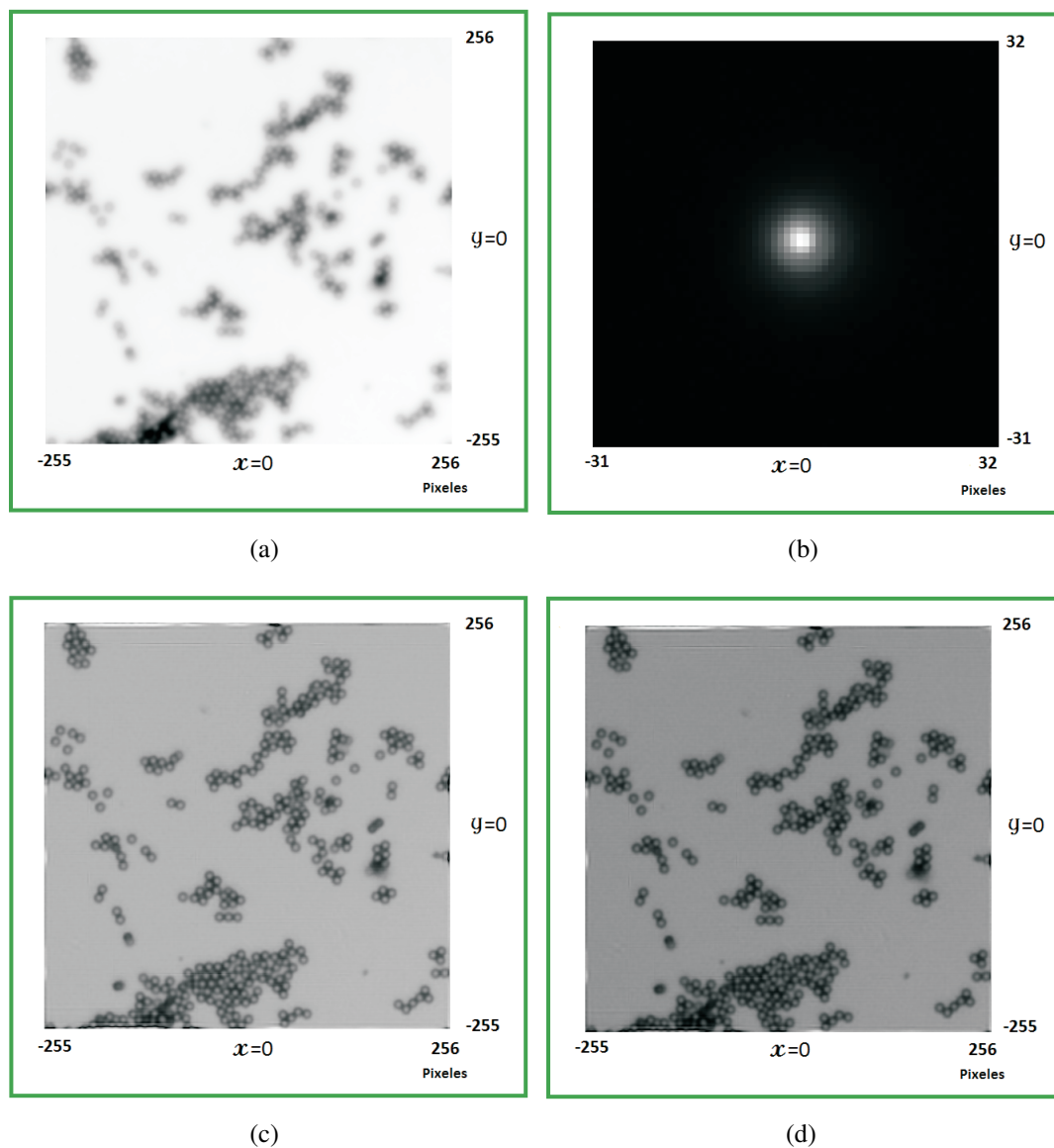


Figura 4.4: Restauración de imagen promedio de esferas, detectada a $z = 80\mu m$ del plano objeto, con $\epsilon = 3$: (a) imagen promedio detectada a una distancia $z = 80\mu m$, de un objeto extendido (esferas de látex de $10\mu m$ de diámetro); (b) imagen promedio detectada de una FCP detectada a una distancia $z = 80\mu m$; (c) restauración de la imagen 4.4(a); y, (d) mejora digital de la imagen restaurada 4.4(c), en donde $\gamma = 1.5$.

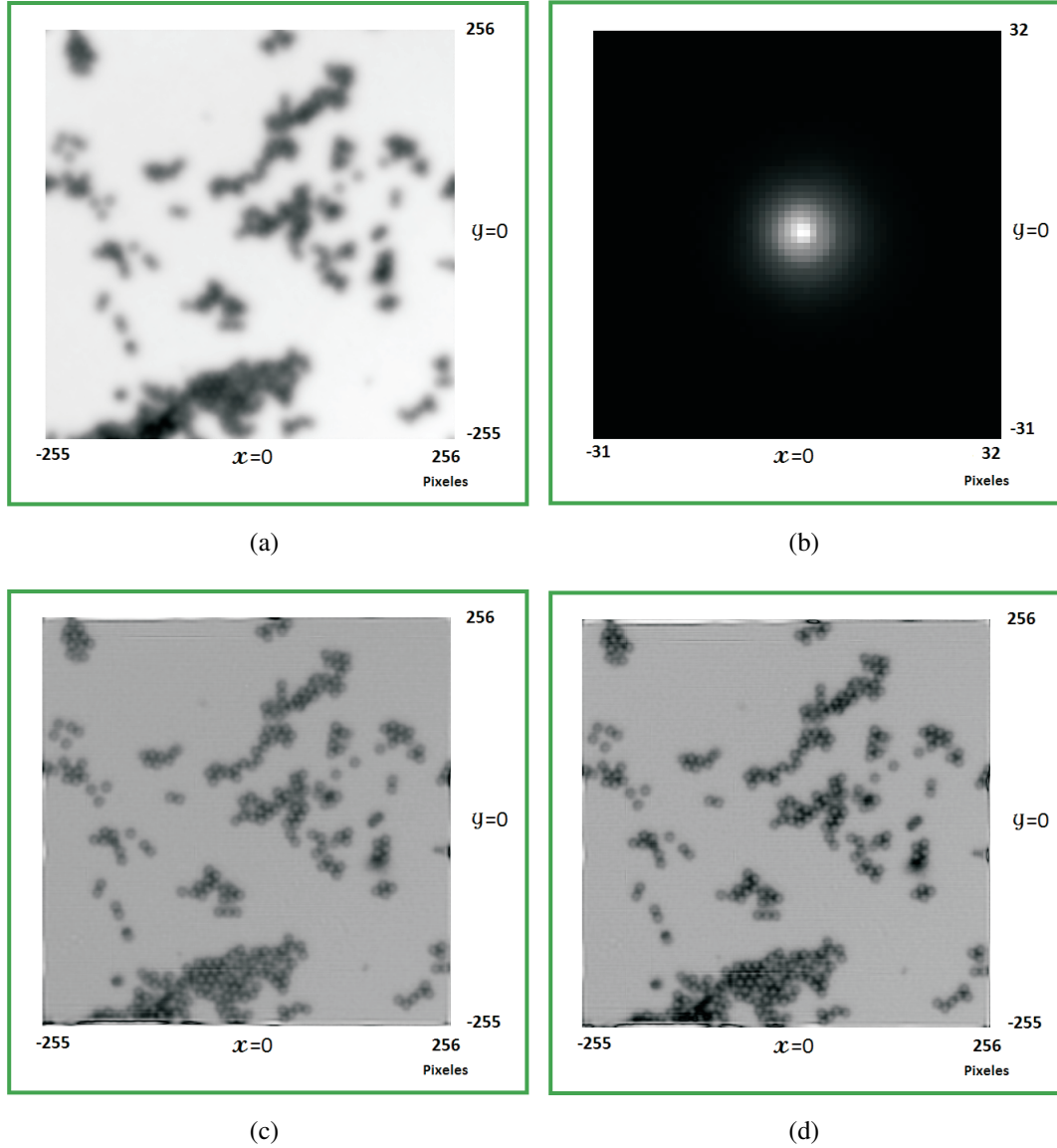


Figura 4.5: Restauración de imagen promedio de esferas, detectada a $z = 100\mu m$ del plano objeto, con $\epsilon = 3$: (a) imagen promedio detectada a una distancia $z = 100\mu m$, de un objeto extendido (esferas de látex de $10\mu m$ de diámetro); (b) imagen promedio detectada de una FCP detectada a una distancia $z = 100\mu m$; (c) restauración de la imagen 4.5(a); y, (d) mejora digital de la imagen restaurada 4.5(c), en donde $\gamma = 0.67$.

4.2. Restauración de imágenes desenfocadas de esferas de látex

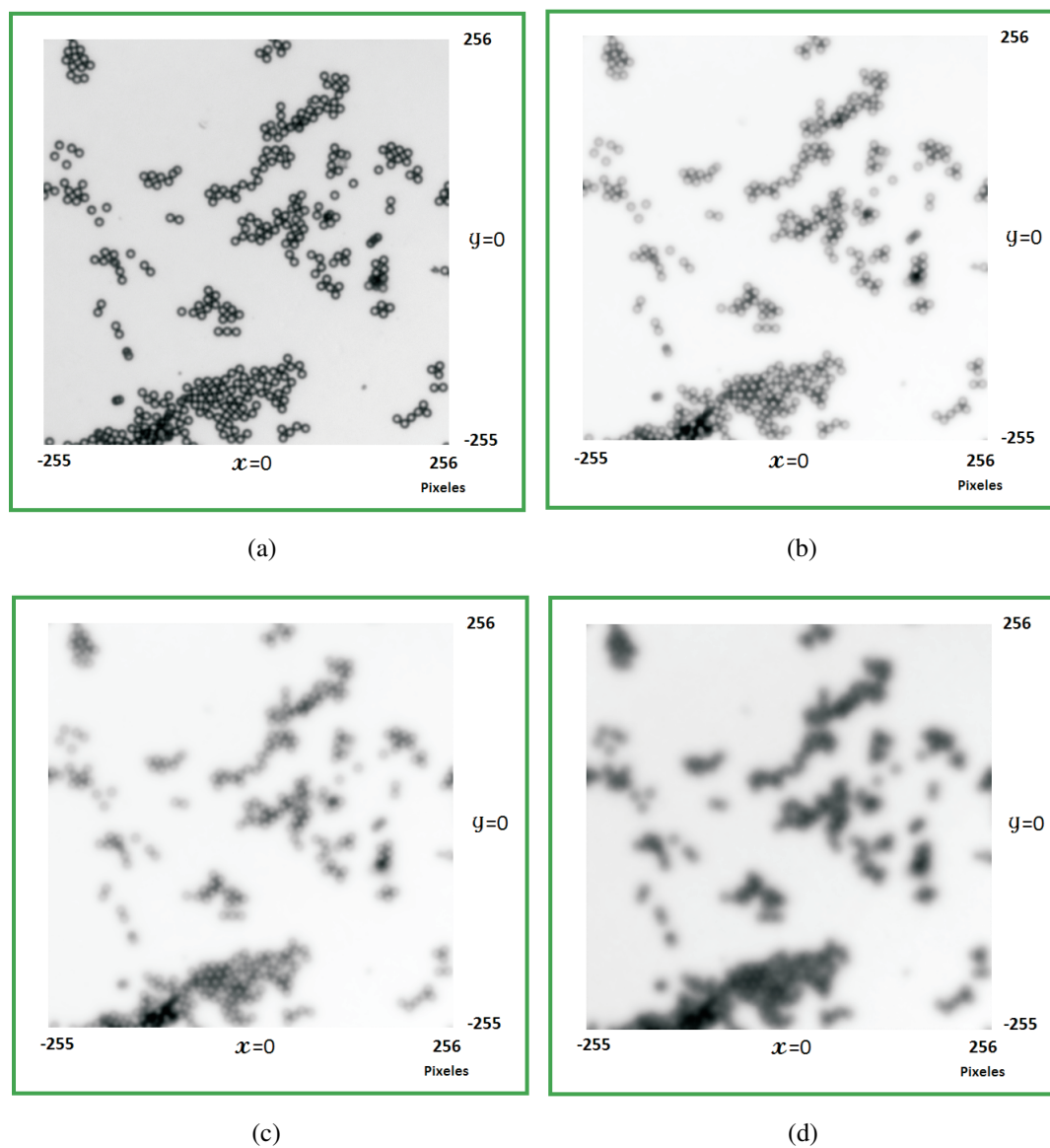


Figura 4.6: Imagen detectada en $z = 0$ e imágenes desenfocadas: (a) imagen detectada en $z = 0$; (b) imagen detectada en $z = 50$; (c) imagen detectada en $z = 80$; y, (d) imagen detectada en $z = 100$.

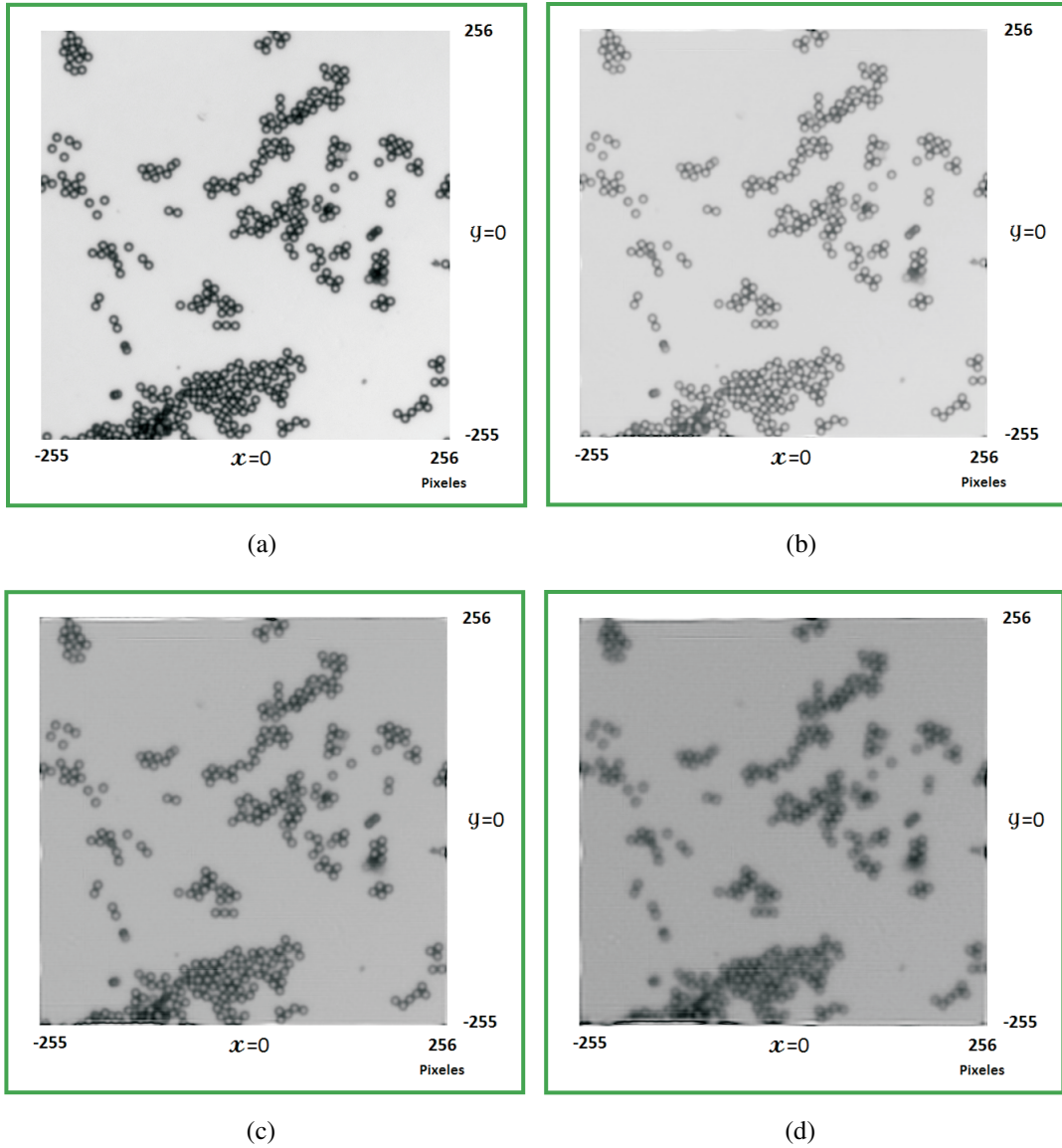


Figura 4.7: Imagen detectada en $z = 0$ e imágenes restauradas: (a) imagen detectada en $z = 0$; (b) restauración de la imagen detectada en $z = 50$; (c) restauración de la imagen detectada en $z = 80$; y, (d) restauración de la imagen detectada en $z = 100$.

4.2. Restauración de imágenes desenfocadas de esferas de látex

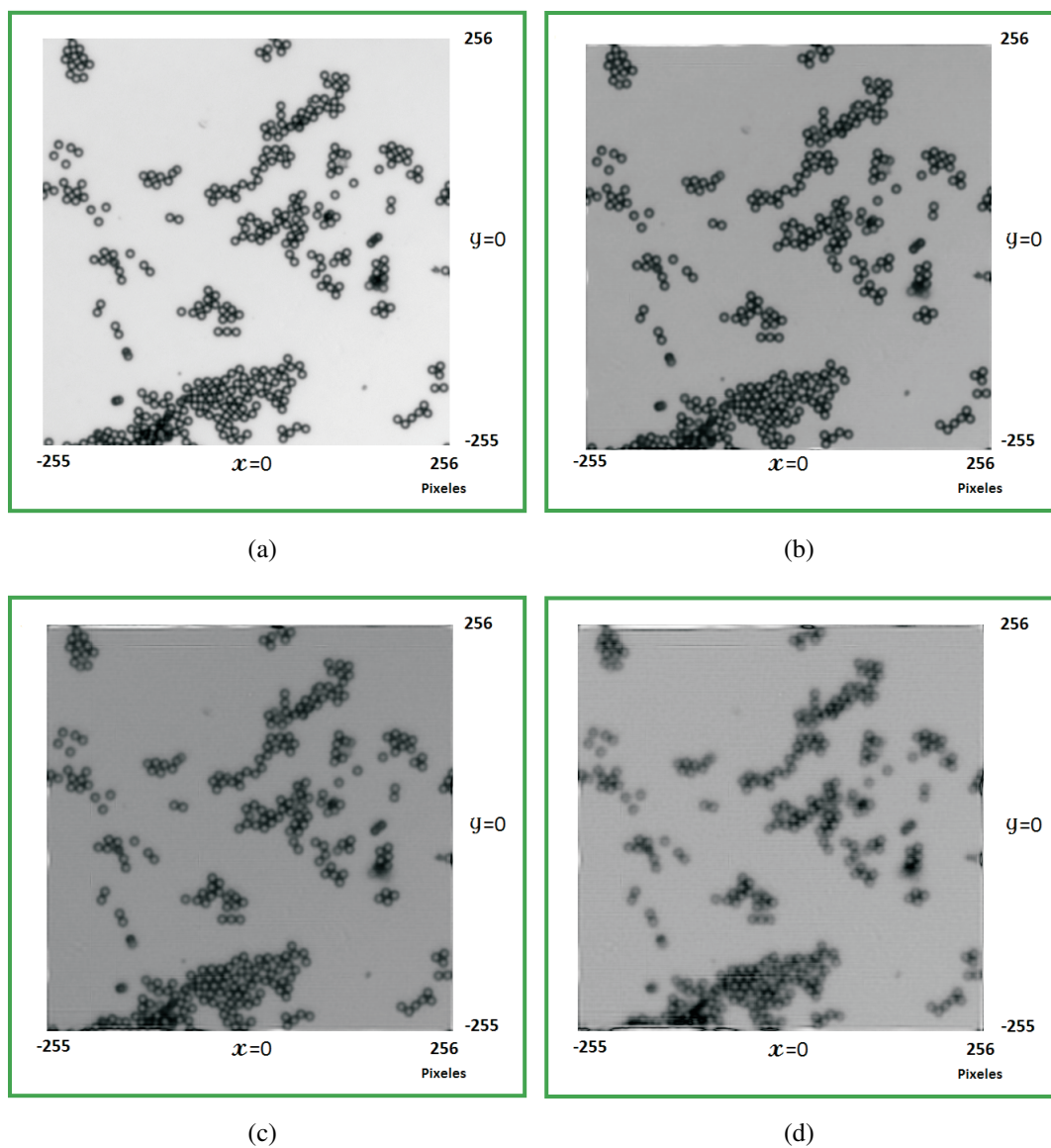


Figura 4.8: Imagen detectada en $z = 0$ e imágenes mejoradas: (a) imagen detectada en $z = 0$; (b) restauración y mejora de la imagen detectada en $z = 50$; (c) restauración y mejora de la imagen detectada en $z = 80$; y, (d) restauración y mejora de la imagen detectada en $z = 100$.

4.3. Restauración de imagen desenfocada de células de sangre de reptil

Utilizando un filtro dicroico de color verde, se realiza el mismo experimento, después de haber compensado la temperatura de color de la fuente de luz del microscopio (tungsteno) con un filtro 80A. Tanto el filtro 80A como el filtro dicroico color verde se colocan a la salida de la lente condensadora.

Se muestran los resultados de la restauración para este filtro, en donde el objeto son células de sangre de reptil.

4.3. Restauración de imagen desenfocada de células de sangre de reptil

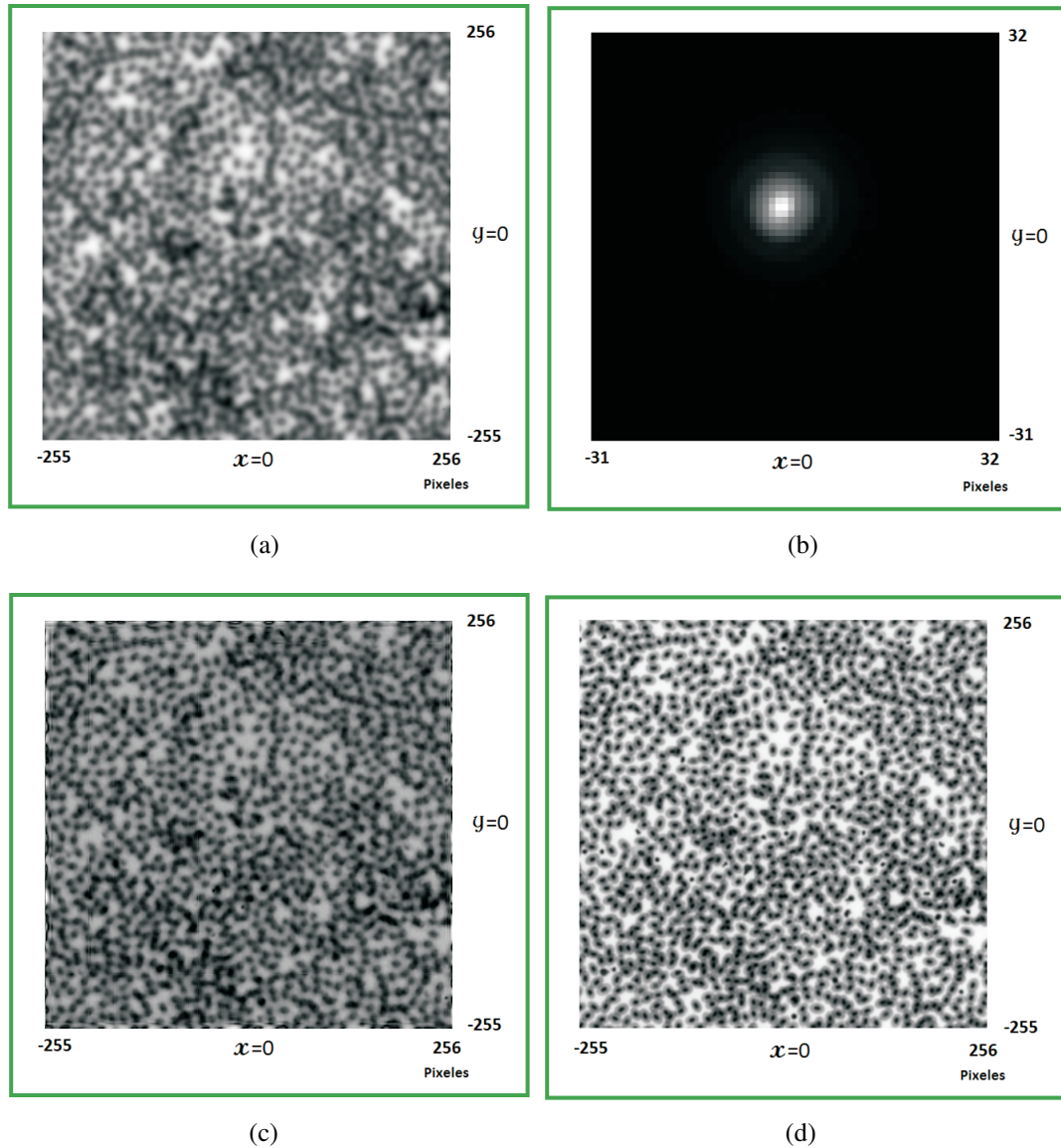


Figura 4.9: Restauración de imagen promedio de células de sangre de reptil, detectada a $z = 60\mu m$ del plano objeto, con $\epsilon = 1.5$: (a) imagen fuera de foco detectada utilizando un filtro verde en $z = 60$; (b) FCP detectada con un filtro verde a $z = 60$ con respecto al plano de mejor foco; (c) restauración de la imagen detectada en $z = 60$; y, (d) imagen detectada en foco de células de sangre de reptil utilizando un filtro verde.

4.4. Discusión

Como se puede observar en la figura 4.1(c), el diámetro del micro orificio de la imagen restaurada $\hat{D}2$ es de 9 pixeles, teniendo en cuenta el tamaño de cada pixel $3.45\mu m$ y la amplificación transversal $M_T = 4$, se puede deducir las dimensiones de la imagen restaurada en μm de la siguiente forma.

$$\hat{D}2 = \frac{(9)(3.45\mu m)}{4} = 7.76\mu m \quad (4.2)$$

La dimensión de la imagen restaurada $\hat{D}2$ está dentro de los valores del cuadro 3.2 del capítulo 3, por lo que se asume que la restauración es aceptable.

De acuerdo con las figuras 4.3, 4.4 y 4.5, se observa que es posible recuperar un estimado de la imagen del objeto a partir de una imagen desenfocada, utilizando el método que se ha propuesto en este trabajo.

En el grupo de imágenes de la figura 4.7, se observa la imagen de las esferas de látex detectada en foco y las restauraciones realizadas a imágenes detectadas en $z = 50$, $z = 80$ y $z = 100$. Como se puede ver en esta figura, la restauración en la imagen pierde calidad cuando es mayor su desenfoque. Esto se observa también para las imágenes mejoradas digitalmente, al comparar el conjunto de imágenes de la figura 4.8.

Para la imagen desenfocada de las células de sangre de reptil, también se fue posible recuperar un estimado de la imagen del objeto, lo cual es posible observar en el conjunto de imágenes de la figura 4.9.

Capítulo 5

Conclusiones

A continuación se presentan las conclusiones del presente trabajo de tesis en forma general. También se detallan las contribuciones específicas, y se plantea un trabajo futuro.

5.1. Conclusiones generales

1. El uso de el promedio de imágenes de una FCP sirve para obtener información de la función de pupila de un SO, por lo que es posible utilizar esta herramienta para la restauración de imágenes detectadas con desenfoque utilizando el mismo SO.
2. Se mostró que es posible restaurar el promedio de imágenes detectadas con desenfoque, utilizando el método óptico-digital que hemos propuesto, lo cual se muestra en las imágenes 4.3, 4.4 y 4.5 del capítulo 4.
3. Utilizando convenientemente técnicas de filtraje de ruido tanto en el dominio espacial como en el dominio frecuencial, en las imágenes detectadas, es posible mejorar la calidad de la imagen restaurada.
4. Se observó que entre mayor es el desenfoque, la restauración de la imagen tiene menor calidad, debido a que en imágenes con mayor desenfoque disminuye el contraste en sus niveles de gris, por lo que al ser digitalizadas puede perderse información sutil, lo cual dificulta tener una restauración óptima.

5. Al utilizar el método propuesto se pudo restaurar la imagen promedio desenfocada de unas células de sangre de reptil detectada utilizando un filtro dicróico color verde.

5.2. Aportaciones específicas

A continuación se presentan las aportaciones hechas en el presente trabajo de tesis incluyendo forma de presentación, elección de ejemplos ilustrativos y desarrollo de nuevas ideas, desglosadas por capítulo:

Capítulo 1 Se implementó computacionalmente el ejemplo de restauración de una imagen desenfocada de forma digital en donde se desarrollaron los respectivos algoritmos para la generación de desenfoque y posterior restauración que ilustra la figura 1.1, en donde la imagen original 1.1(a) se degrada digitalmente utilizando la ecuación (2.7) del capítulo 2, en donde $\omega_{2,0} = 2\lambda$. Para restaurar la imagen se utiliza el filtro de Wiener mostrado en la ecuación (2.14) del capítulo 2 en donde $\epsilon = 0.1$.

Capítulo 2 Las figuras de este capítulo fueron elaboradas con la finalidad de ilustrar visualmente los conceptos mencionados. Se introduce el uso del espectro del promedio de la imagen de una FCP para la restauración de imágenes detectadas utilizando el filtro de Wiener. Por otra parte, se propone suavizar el orden cero del espectro de la imagen de una FCP para minimizar el ruido de esta imagen.

Capítulo 3 Se describió en detalle la propuesta para la detección de las imágenes de FCPs detectadas a distintos planos al plano de mejor imagen, las cuales son utilizadas para la restauración de imágenes de objetos extendidos detectados con el mismo SO. Esta forma de obtener las imágenes es conveniente debido a que aseguramos que tanto las imágenes de las FCPs como las de las imágenes de objetos extendidos, son detectadas bajo las mismas condiciones. Para saber cual es el rango en el que una imagen detectada se considera en foco para el SO en particular que se emplea en este trabajo, se calcula tanto la profundidad de foco como la profundidad de campo del microscopio.

Capítulo 4 Se realiza el algoritmo computacional para la restauración de imágenes y se eligen las imágenes y diagramas presentados en este capítulo, con la finalidad de complementar las discusiones comparativas entre las diversas restauraciones.

Las herramientas y paquetes empleados en el contexto técnico computacional, uti-

lizadas en este trabajo se mencionan a continuación. Los dibujos, diagramas y esquemas fueron realizados con Corel Draw 9 (Corel Draw Corp., 1996) y Paint version 6.1 (Microsoft Corp., 2009), los algoritmos computacionales fueron implementados en Mathcad version 14.0 (MathSoft, Inc., 2006) y LabVIEW 7.1 (National Instrument, Corp., 2001). Para el manejo de filtros digitales, se empleó el paquete Image Processing Handbook bajo el ambiente de Mathcad.

5.3. Trabajo futuro

Aplicar el método que se ha propuesto en este trabajo para la restauración de imágenes tricromáticas detectadas fuera de foco, utilizando filtros dicróicos rojo, verde y azul.

Para llevar a cabo la restauración, se obtiene el estimado de la IPSF de imágenes detectadas de una FCP en tres longitudes de onda (usando tres filtros dicróicos centrados en la región azul, verde y rojo del espectro visible). De las imágenes de la FCP se calcula su espectro para obtener la OTF asociada a cada longitud de onda. Con este espectro se forma el filtro de Wiener con el cual se restaura la imagen desenfocada en cada color. Una vez restauradas las tres imágenes, se mezclan aditivamente para recuperar un estimado del objeto tricromático.

Índice de figuras

1.1. Desenfoque y restauración digital de una imagen	2
1.2. Diagrama de bloques de un SO lineal formador de imágenes.	3
1.3. Diagrama de bloques de un SO, para un objeto puntual.	3
1.4. IPSF en el plano imagen.	4
2.1. Esquema de la formación de la imagen de un punto objeto.	8
2.2. Sistema Óptico Convergente.	10
2.3. Imagen con ruido gaussiano y su espectro.	14
2.4. Pixeles correspondientes al centro de la imagen	15
2.5. Resultado de suavizar el orden central del espectro de una imagen ruidosa	15
3.1. Detección de una secuencia de imágenes de un objeto extendido	18
3.2. Detección de una secuencia de $h_a(x, y)$ ópticamente generadas	18
3.3. Detección y digitalization de la imagen de un objeto extendido.	20
3.4. Detección y digitalization de la imagen de una FCP.	22
3.5. Muestra del Conjunto de FCPs.	24
3.6. Diagrama del SO utilizado en el experimento.	25
4.1. Restauración de la imagen de un micro orificio.	29
4.2. Gráfica de la ecuación $S = CR^\gamma$	31
4.3. Restauración de imagen promedio de esferas, detectada a $z = 50\mu m$ del plano objeto.	32
4.4. Restauración de imagen promedio de esferas, detectada a $z = 80\mu m$ del plano objeto.	33
4.5. Restauración de imagen promedio de esferas, detectada a $z = 100\mu m$ del plano objeto.	34
4.6. Imagen detectada en $z = 0$ e imágenes desenfocadas	35
4.7. Imagen detectada en $z = 0$ e imágenes restauradas	36
4.8. Imagen detectada en $z = 0$ e imágenes mejoradas	37
4.9. Restauración de imagen promedio de células de sangre de reptil	39

Bibliografía

- Aguilar, J. F., Berriel-Valdos, L. R., Landgrave, J. E., and Orlando, G. I. (2008). Pixel size effect on the optical resolution of circular incoherent sources for detected images an approach using the phase space representation. In *Book of proceedings, ICO-21 International Commission for Optics 2008 congress*. Sydney Australia, July 7-10 (2008).
- Berriel, L., Bescos, and J. Santisteban, A. (1983). Image restoration for a defocused optical system. *Applied Optics*, 22, 2772-2780.
- Born, M. and Wolf, M. (1987). *Principles of Optics*.
- Comastri, S. A., Simon, J. M., and Blendowske, R. (1999). Generalized sine condition for image-forming systems with centering errors. *Journal of the Optical Society of America A*, 16, 602-611.
- Dähne, C. and Lanzl, F. (1980). A microscope focusing technique fore a digital image analysing system. *Optik*, 4, 437-448.
- Gaskill, Jack D. (1978). *Linear Systems, Fourier Transforms and Optics*.
- Gonzalez, R. and Goods, R. E. (2002). *Digital Image processing*.
- Hopkins, H. H. (1950). *Wave Theory of Aberration*.
- Hopkins, H. H. (1985). Image formation by a general optical system. 1. general theory. *Applied Optics*, 24, 2491-2505.
- Hopkins, H. H. and Yzuel, M. (1970). The computation of diffraction patterns in the presence of aberrations. *Optica Acta*, 17, 157-182.
- Kutter, P. (1973). Focusing criterion for ground-glass-focused lenses, derived from mtf measurements. *Applied Optics*, 12, 467-470.
- Orlando, G. I. (2009). *Resolución de una Fuente a Partir de la Función de Distribución de Wigner Discreta*. PhD thesis, Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica.

Bibliografía

- Papoulis, A. (1968). *Systems and Transformations with Applications in Optics*.
- Pentland, A. P. (1987). A new sense for depth of field. *IEEE Transactions on pattern Analysis and Machine Intelligence*, PAMI-9(4), 523-531.
- Raveh, I., Mendlovic, D., Zalevsky, Z., and Lohmann, W. (1999). Digital method for defocus corrections: Experimental results. *Optical Engineering*, 38, 1620-1626.
- Shanon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *Bell System Technical Journal*, 27, 379-423.
- Subbarao, Murali, and Nikzad, Arman (1993). Focusing techniques. *Optical Engineering*, 32, 2824-2836.