



CENTRO DE INVESTIGACIONES  
EN OPTICA, A.C.

**“INTEGRACIÓN DE UN SISTEMA DE  
HOLOGRAFÍA DIGITAL EN LÍNEA CON UN  
FRENTE DE ONDA ESFÉRICO COMO  
ILUMINACIÓN PARA DETERMINAR LA  
POSICIÓN, FORMA Y TAMAÑO DE OBJETOS  
MICROMÉTRICOS”**



Tesis que para obtener el grado de Maestro en Optomecatrónica

***Presenta: Jesús Eduardo Paredes Alcaraz***

*Director de Tesis: Dr. David Moreno Hernández*

*León · Guanajuato · México*  
*Septiembre de 2022*

*Este trabajo es dedicado a mis padres:*

*J. Jesús Paredes Gamiño †  
Ma. Isabel Alcaraz Valverde*

*Sin importar las dificultades  
solo suelta y confía.*

*Gracias por todo.*

## Agradecimientos

- Primeramente, a mi director de tesis el Dr. David Moreno Hernández mi estimadísimo mentor y muy buen amigo después de todo este tiempo. Muchas gracias por sus consejos y sobre todo su paciencia con este estudiante tan cabeza dura.
- A mis sinodales la Dra. Amalia Martínez y el Dr. Juan Rayas por haber invertido su tiempo en la revisión de esta tesis.
- A todos mis profesores durante la maestría en especial a los maestros Diego Torres, Adrián Coronel y Ricardo Valdivia por su gran dedicación y apoyo en las clases. Además de su disposición para resolver dudas referentes a cuestiones mecánicas o electrónica.
- A la Dra. Reyna y al Dr. Zacarías por ese curso de Laboratorio de Óptica el cual generó en este estudiante ese gusto enorme por la óptica.
- A mis compañeros de generación Jean, Iván, Ángel, Mireya, Raúl, Mario, Andrés, Sandra, Harrison, María, Óscar, Austine, Andrés Felipe, Carlos y Brandon; por hacer muy amena esta aventura llamada maestría.
- A mi familia en especial a los famosísimos ingenieros Eduardo Alcaraz Valverde y Francisco Javier Alcaraz Valverde por ser durante todos estos años ese ejemplo a seguir.
- Agradezco también al Centro de Investigaciones en Óptica por permitirme completar una etapa más dentro de mi formación académica.
- Y finalmente agradezco al CONACYT por brindarme su apoyo económico durante el posgrado.

## Resumen

El determinar la forma, posición y tamaño de partículas tiene numerosas aplicaciones en la industria por lo que hasta el día de hoy se siguen desarrollando diversas técnicas de medición. Una de las más utilizadas es la holografía digital en línea que resulta ser fácil de implementar y consigue varios micrómetros de resolución. Desde su descubrimiento en los años 50s la holografía ha traído beneficios tales como permitir realizar diversa clase de mediciones de muy alta precisión. Por ello, en esta tesis se presenta el desarrollo de un instrumento a partir de holografía digital en línea para extraer las propiedades de partículas antes mencionadas. Los hologramas se generaron iluminando con un diodo láser con longitud de onda de 655 nm una muestra con partículas, fueron grabados en una cámara digital de  $1.12 \mu\text{m}$  de tamaño de píxel y procesados desde la tarjeta Raspberry Pi. Se utilizaron partículas de poliestireno, vidrio y aluminio de diferentes tamaños para generar diversos hologramas. Los hologramas fueron reconstruidos tomando como base matemática la integral de Fresnel – Kirchoff y empleando un frente de onda esférico mediante la aproximación paraxial. En el proceso de reconstrucción se implementó un algoritmo de optimización para reducir el tiempo de procesamiento de los hologramas para finalmente extraer la forma, posición y tamaño de las partículas. La contribución de esta tesis es el desarrollo funcional de un instrumento para medición de propiedades de partículas para posteriormente poder realizar aplicaciones biomédicas.

# Índice de Contenido

Agradecimientos .....	iii
Resumen.....	iv
Índice de Contenido .....	v
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Tablas .....	viii
Nomenclatura.....	ix
Lista de Abreviaturas .....	xi
1. Introducción.....	1
1.1 Justificación.....	2
1.2 Objetivos de investigación .....	2
1.2.1 Objetivo general.....	2
1.2.2 Objetivos específicos .....	2
2. Fundamento teórico .....	3
2.1 Principios de holografía .....	3
2.1.1 Interferencia .....	3
2.1.2 Difracción .....	5
2.1.3 Holografía .....	6
2.1.4 Holografía Digital .....	9
2.1.5 Holografía Digital en línea con ondas esféricas .....	11
2.1.5.1 Generación de hologramas digitales empleando ondas esféricas.....	11
2.1.5.2 Reconstrucción de hologramas digitales empleando ondas esféricas .....	13
2.1.5.3 Resolución.....	14
2.2 Optimización .....	16
2.2.1 Reflexión.....	16
2.2.2 Extensión.....	17
2.2.3 Contracción.....	17
2.2.4 Encogimiento .....	18
2.2.5 Algoritmo Nelder – Mead típico.....	19
3 Desarrollo del instrumento .....	20
3.1 Diseño y montaje de elementos.....	20
3.2 Adquisición de imágenes .....	25

3.3	Calibración de instrumento .....	26
3.4	Algoritmo para la reconstrucción de hologramas .....	27
3.5	Determinación de la posición sobre el eje óptico.....	30
3.6	Aplicación de un algoritmo de optimización para determinar la posición del objeto....	32
3.7	Determinación del tamaño del objeto reconstruido.....	33
3.8	Determinación de la forma del objeto reconstruido .....	34
4	Resultados.....	37
4.1	Resultados de calibración.....	37
4.2	Error de posición y tamaño para disco sólido de calibración.....	37
4.3	Error en función del tamaño de la ROI .....	39
4.4	Rendimiento de algoritmos .....	40
4.5	Resolución del instrumento .....	42
4.6	Reconstrucción de hologramas y extracción de propiedades de partículas .....	43
5	Conclusiones.....	49
5.1	Trabajo futuro.....	50
6	Referencias .....	51
	Anexo A. Hoja de datos del diodo láser ADL-65055TL .....	54
	Anexo B. Hoja de resumen de características del sensor SONY IMX219PQH5-C.....	55

# Índice de Figuras

Figura 2.1. Principio de Huygens. ....	5
Figura 2.2. Sistema de Coordenadas. ....	6
Figura 2.3. Arreglo básico para la formación de hologramas. ....	7
Figura 2.4. Reconstrucción de hologramas. ....	7
Figura 2.5. Holografía digital: a) Grabado de hologramas, b) Reconstrucción con la onda de referencia y c) reconstrucción con el conjugado de la onda de referencia. ....	10
Figura 2.6. Generación de hologramas digitales en línea. ....	11
Figura 2.7.a) Reflexión y b) expansión en el método Nelder - Mead. ....	17
Figura 2.8. a) Contracción externa y b) contracción interna en el método Nelder - Mead. ....	18
Figura 2.9. Encogimiento en el método Nelder - Mead. ....	18
Figura 2.10. Ejemplo de sucesión de simplex del método de Nelder - Mead. ....	19
Figura 3.1. Arreglo experimental utilizado para la generación y análisis de hologramas digitales en línea. ....	20
Figura 3.2. a) Diodo láser ADL-65055TL, b) socket láser 3M c) montura para diodo láser. ....	21
Figura 3.3. Circuito regulador para diodo láser: a) Diagrama esquemático, b) Vista inferior de circuito impreso y renders en 3D c) vista superior y d) vista isométrica. ....	22
Figura 3.4. Monturas plano objeto versión a) cubreobjetos y b) portaobjetos. ....	23
Figura 3.5. a) Raspberry Pi 3B+ y b) pantalla táctil. ....	23
Figura 3.6. a) Módulo cámara y b) su respectiva montura. ....	24
Figura 3.7. a) Base principal de instrumento y b) base para Raspberry Pi. ....	24
Figura 3.8. Ensamble de instrumento: a) CAD vista frontal isométrica, b) vista posterior isométrica y c) ensamble físico. ....	25
Figura 3.9. Portaobjetos de calibración. ....	26
Figura 3.10. Hologramas de calibración capturados con una distancia: ....	27
Figura 3.11. Diagrama de flujo de algoritmo implementado para la reconstrucción de hologramas digitales. ....	28
Figura 3.12. Holograma digital de un disco sólido de 70 $\mu\text{m}$ a) sin restar onda de referencia y b) restando la onda de referencia. ....	29
Figura 3.13 ROI de holograma de tamaño a) 300x300 px, b)600x600 px, c) 1200x1200 px, d) 1500x1500 px y e)-h) sus respectivas reconstrucciones. ....	29
Figura 3.14. a) Holograma de una pieza de ajedrez y su reconstrucción b) sin eliminar offset y c) eliminando offset. ....	30
Figura 3.15. Holograma de un campo de partículas de vidrio. ....	31
Figura 3.16. Curvas de varianza de la parte imaginaria de a) un holograma simulado y b) un holograma experimental. ....	32
Figura 3.17. Aplicación de algoritmo Nelder - Mead: a) definición de puntos iniciales y acotamiento de zona de búsqueda; b) secuencia de optimización. ....	33
Figura 3.18. Diagrama de flujo medición del tamaño de la partícula. ....	34
Figura 3.19. Diagrama de flujo determinación de la forma de una partícula. ....	34
Figura 4.1. Error relativo promedio según posición de diodo láser. ....	37
Figura 4.2. Error en distancia de reconstrucción L. ....	38
Figura 4.3. Error en a) Amplificación y b) en la medición del tamaño de disco sólido. ....	39

Figura 4.4. Error en función del tamaño de la región de interés para: a) distancia de reconstrucción $L$ y para b) el tamaño de la partícula. ....	40
Figura 4.5. Tiempo de reconstrucción de hologramas en función del tamaño de la región de interés. ....	41
Figura 4.6. Curva de a) Resolución lateral y b) profundidad de foco; en ROI de 1000x1000 px VS 2646x2646 px. ....	42
Figura 4.7. a) Holograma original, b) región de interés y c) reconstrucción para una baja densidad de partículas de poliestireno de $50 \mu\text{m}$ . ....	43
Figura 4.8. Determinación de la forma de partículas de $50 \mu\text{m}$ . ....	44
Figura 4.9. a) Holograma original, b) región de interés y c) reconstrucción para una baja densidad de partículas de poliestireno de $30 \mu\text{m}$ . ....	44
Figura 4.10. Determinación de la forma de partículas de $30 \mu\text{m}$ . ....	45
Figura 4.11. a) Holograma aislado y su b) reconstrucción para una partícula de vidrio aislada. ..	46
Figura 4.12. Secuencia de hologramas consecutivos con una diferencia de 0.5s entre sí. ....	46
Figura 4.13. Reconstrucción de holograma ubicando vectores de desplazamiento. ....	47
Figura 4.14. a) Holograma original, b) región de interés y c) reconstrucción para una partícula de aluminio de $10 \mu\text{m}$ . ....	47
Figura 4.15. Trayectoria para partícula de $10 \mu\text{m}$ . ....	48

## Índice de Tablas

Tabla 2.1. Decisiones lógicas en el algoritmo Nelder - Mead. ....	19
Tabla 3.1. Posibles configuraciones según resolución y tasa de muestreo para cámara [37]. ....	26
Tabla 4.1. Tabla de error en distancia de reconstrucción $L$ para una distancia $z=6.71 \text{ mm}$ . ....	38
Tabla 4.2. Tabla de error en amplificación para una distancia $z = 6.71 \text{ mm}$ . ....	39
Tabla 4.3. Tabla de error en tamaño de disco sólido para una distancia $z = 6.71 \text{ mm}$ . ....	39
Tabla 4.4. Tiempo de ejecución entre algoritmo típico de reconstrucción de hologramas VS algoritmo de optimización de Nelder - Mead. ....	41
Tabla 4.5. Resolución lateral y profundidad de foco para hologramas reconstruidos. ....	42
Tabla 4.6. Resultados de reconstrucción de partículas de $50 \mu\text{m}$ . ....	43
Tabla 4.7. Resultados de reconstrucción de partículas de $30 \mu\text{m}$ . ....	45



# Nomenclatura

$\vec{E}_i(\vec{r}, t)$	Onda electromagnética.
$\phi$	Fase de una onda electromagnética
$A(x, y, z)$	Amplitud compleja de una onda electromagnética
$I$	Intensidad de una onda electromagnética
$\Delta\phi$	Diferencia de fase entre dos ondas interfiriendo
$\lambda$	Longitud de onda.
$\Gamma'(\xi, \eta)$	Amplitud compleja en el plano de observación (holograma)
$\rho$	Distancia entre un punto entre el plano de un objeto y el plano de observación
$Q$	Factor de oblicuidad
$k$	Número de onda
$E_o(x, y)$	Amplitud compleja del objeto
$E_R(x, y)$	Amplitud compleja de la onda de referencia
$h(x, y)$	Amplitud de transmisión de un medio de grabación de hologramas
$\beta$	Pendiente de la transmitancia de amplitud
$\tau$	Tiempo de exposición
$h_o$	Amplitud de transmisión
$a_R(x, y)$	Amplitud real de la onda de referencia
$\phi_R$	Fase de la onda de referencia
$a_o(x, y)$	Amplitud real de la onda del objeto
$\phi_o$	Fase de la onda del objeto
$r$	Distancia entre dos puntos cualquiera en el plano de la fuente de luz y el plano del objeto.
$z$	Distancia entre la fuente de luz y el plano de observación sobre el eje óptico.
$E_{\text{onda de salida}}(x, y)$	Amplitud compleja detrás del objeto.
$R$	Distancia entre dos puntos cualquiera en el plano del objeto y el plano de observación.
$L$	Distancia entre el plano de la fuente de luz y el plano de observación sobre el eje óptico.
$\Delta x$	Tamaño de píxel
$\Gamma(\xi, \eta)$	Amplitud compleja de un holograma.
$\otimes$	Operador de convolución
$s(x, y)$	Función de transmisión de Fresnel
$\mathcal{F}$	Transformada de Fourier
$\mathcal{F}^{-1}$	Transformada inversa de Fourier
$M$	Amplificación
$U(x, y)$	Amplitud compleja de holograma reconstruido
$\delta_{\text{lateral}}$	Resolución lateral
$\delta_{\text{foco}}$	Profundidad de foco
$D$	Tamaño del detector
$r_j$	Onda de la imagen real de holograma reconstruido
$\Omega_j$	Resto del holograma reconstruido
$v_i$	Onda de la imagen virtual del holograma reconstruido
$r_i$	Onda de la imagen real de partículas aledañas al holograma reconstruido
$Im(r_j)$	Parte imaginaria de la imagen real.
$f(x, y)$	Función a minimizar por algoritmo Nelder – Mead.
$\sigma^2$	Varianza

$m_{pq}$	Momento geométrico de orden $p, q$
$p$	Orden del momento geométrico en la dirección $x$
$q$	Orden del momento geométrico en la dirección $y$
$N_1, N_2$	Tamaño de la imagen en pixeles en las direcciones $x$ y $y$
$I(i, j)$	Imagen en escala de grises
$x_c, y_c$	Coordenadas del centroide de elipse
$\mu_{pq}$	Momento geométrico normalizado de orden $p, q$
$a$	Semieje mayor de elipse
$b$	Semieje menor de elipse
$c$	Semieje focal de elipse
$e$	Excentricidad de elipse
$\varphi$	Orientación de elipse
$v_i$	Vértices del simplex Nelder – Mead.
$\delta$	Parámetro de reflexión Nelder – Mead.
$\rho$	Parámetro de extensión Nelder – Mead.
$\gamma$	Parámetro de contracción Nelder – Mead.
$\sigma$	Parámetro de encogimiento Nelder – Mead.
$\hat{v}$	Centroide de los mejores elementos del simplex Nelder – Mead.
$n$	Mejores elementos del simplex Nelder – Mead.
$v_R$	Vértice reflejado Nelder – Mead.
$v_E$	Vértice extendido Nelder – Mead.
$v_{CE}$	Vértice contracción externa Nelder – Mead.
$v_{CI}$	Vértice contracción interna Nelder – Mead.
$w_i$	Vértice encogido Nelder – Mead.
$E. Rel_{(\%)}$	Error relativo porcentual.

## Lista de Abreviaturas

CCD	Charged Coupled Device (Dispositivo de carga acoplada)
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductors (Semiconductores Complementario de Oxido Metálico)
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
DIH	Digital In-Line Holography (Holografía Digital en Línea)
SBC	Single Board Computer
IoT	Internet of Things (Internet de las cosas)
NA	Numerical Apperture (Apertura Numérica)
Px	Píxeles
ROI	Región of Interest (Región de interés)
RGB	Red Green Blue (Rojo verde azul)
PCB	Printed Circuit Board (Placa de circuito impreso)
PLA	Ácido Poliáctico
CAD	Computer Assisted Drawing (Dibujo Asistido por Computadora)
FPS	Frames Per Second (Cuadros por segundo)
3D	3 dimensiones
2D	2 dimensiones

# 1. Introducción

La determinación de la forma, tamaño y posición de partículas micrométricas tiene aplicaciones de importancia en la industria alimentaria, biomédica, farmacéutica, cosmética, de pinturas, textiles y de tintas [1]. Por ejemplo, en un canal micrométrico, el perfil de velocidad del fluido puede ser medido siguiendo las partículas micrométricas suspendidas en el fluido [2]. También, en el flujo de sangre podrían determinarse enfermedades circulatorias midiendo la trayectoria de las células sanguíneas [3]. En biología micrométrica se puede determinar la movilidad de los espermatozoides conociendo su trayectoria [4]. O de manera general la detección de impurezas en materiales [5, 6].

Para poder determinar propiedades de las partículas, se han usado varios métodos de medición [5 - 20]. Obteniendo resoluciones en el orden de hasta unos cuantos nanómetros. Uno de los más utilizados es el basado en imágenes obtenidas por holografía digital en línea (DIH del inglés *Digital In-Line Holography*) [12–15, 17–20]. La técnica consiste en registrar un patrón de interferencia formado entre la luz esparcida por la partícula y el campo de luz incidente. El patrón de interferencia obtenido contiene información del tamaño, la forma, posición en tres dimensiones e índice de refracción de la partícula, todo esto pudiendo obtener resoluciones del orden de varios micrómetros.

Pudiera pensarse que es poco, comparando con técnicas como la Espectrometría de plasma de masas inductivamente acopladas (spICP-MS del inglés *single particle Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*) [5–7, 21], o bien, la estereomicroscopía [11], donde es posible alcanzar resoluciones de hasta 3 nm. Si bien es cierto que en términos de la resolución estas técnicas resultan ser superiores en cuanto al tamaño de partículas que pueden medirse presentan una desventaja considerable, el hecho de que requieren tanto equipo bastante costoso por mencionar algunos: láseres de alta potencia, equipos de sobremesa muy particulares, arreglos ópticos complicados en cuanto a su alineación o según su caso se requieren condiciones especiales de laboratorio para poder llevar a cabo los experimentos.

La principal ventaja de la DIH es que es fácil de implementar, pues no se necesita más que una fuente de luz y un detector, tiene una profundidad de campo alta y se obtiene información con rapidez. Para extraer las propiedades de la partícula a partir del patrón de interferencia, o holograma, algunos autores reconstruyen directamente el holograma digital obteniéndose así la posición de las partículas [12, 13], por el contrario, otros autores utilizan algoritmos de optimización comparando un modelo numérico basado en la teoría de Lorenz-Mie y el experimento, con esta aproximación se obtiene las propiedades de la partícula con una alta resolución [7, 8, 20]. Otras aproximaciones se basan en la determinación de tamaño de la mancha central del patrón de interferencia, esta aproximación es rápida y útil para determinar la posición de la partícula en tres dimensiones [10–12].

En DIH a pesar contar con arreglos experimentales simples, en el proceso de reconstrucción de partículas, estamos limitados al poder de procesamiento de un ordenador mientras más potente sea es posible procesar mayor volumen de información en un menor tiempo posible. Para la reconstrucción de los hologramas de partículas se puede recurrir al uso de la teoría de difracción

de Fresnel-Kirchhoff o a la teoría de Lorentz-Mie. Ambas teorías pueden presentarnos resultados aceptables, pero, la teoría de Lorentz-Mie requiere de cientos de veces más operaciones de punto flotante.

## **1.1 Justificación**

Las necesidades tecnológicas de la actualidad, así como la búsqueda de recortes en tiempos de producción y de procesamiento de datos, provoca la necesidad de buscar alternativas en cuanto a desarrollar instrumentación versátil y funcional. La cual sea fácil de utilizar, que nos permita examinar rápidamente muestras y asimismo obteniendo resultados confiables. Es por ello que este proyecto se basa en holografía digital por su fácil implementación. En este trabajo proponemos medir las propiedades de partículas mencionadas anteriormente usando holografía digital. El trabajo explora el límite de resolución en la medida utilizando materiales de uso común y de fácil acceso como son: una webcam, diodo láser y un ordenador reducido. Buscando en medida de lo posible realizar experimentación de un nivel aceptable sin la necesidad de depender de las condiciones idóneas de un laboratorio. El análisis de los hologramas se realizó a partir de un modelo de esparcimiento en base a la teoría de difracción de Fresnel – Kirchhoff utilizando algoritmos de optimización.

## **1.2 Objetivos de investigación**

### **1.2.1 Objetivo general**

Desarrollar un sistema funcional a partir de holografía digital en línea que permita determinar la forma, tamaño y posición de partículas micrométricas a partir de un holograma digital.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Implementar un sistema embebido de holografía digital en línea.
- Implementar un modelo numérico basado en la teoría de difracción de Fresnel – Kirchhoff.
- Implementar un algoritmo de optimización Nelder – Mead.
- Determinar propiedades de partículas a partir de los hologramas digitales.

## 2. Fundamento teórico

Esta sección presenta el sustento teórico utilizado para desarrollar la integración del sistema de holografía digital. Los conceptos se organizan primeramente con la teoría relacionada a la holografía incluyendo los fenómenos de interferencia y difracción, para después continuar con holografía que es el centro de este trabajo. Abordando la rama de holografía digital en línea se describe matemáticamente tanto la generación como la reconstrucción de hologramas empleando un frente de onda esférico. Finalmente se cierra este capítulo con fundamentos de optimización a partir del método de Nelder – Mead.

### 2.1 Principios de holografía

Una década antes de que se inventara el primer láser, Denis Gabor (1900 – 1981) inventó la holografía. En 1947 Gabor buscaba un método para mejorar la resolución de un microscopio electrónico. Gabor se propuso realizar esto mediante un registro fotográfico de imágenes al que llamó *holografía*, del griego *holos*, que significa completo, debido a que el registro de la imagen es completo conteniendo información en 3 dimensiones. El método de Gabor consistía en dos pasos, el primero era el registro en una placa fotográfica del patrón de difracción o bien el patrón de interferencia producida por una onda cuando esta se interponía con un objeto cuya imagen se deseaba formar. El segundo paso era incidir nuevamente la misma onda de luz en la placa fotográfica revelada. La luz al pasar por esta placa, se difractaba de tal manera que en una pantalla colocada por delante se formaba una imagen del objeto [22–24].

Gabor no tuvo éxito en su objetivo de mejorar las imágenes del microscopio electrónico, pero si obtuvo un nuevo método para la formación de imágenes. Había formado el primer holograma en la historia. Desconociendo los trabajos de Gabor sobre holografía, en 1956 Emmett N. Leith buscaba un método para registrar gráficamente la forma de onda de las señales de radar mediante técnicas ópticas. Fue en 1960 que Leith supo de los trabajos de Gabor y en colaboración con Juris Upatnieks se encontró una solución que eliminaba el principal problema de la holografía de Gabor, de que se producían una imagen real y una imagen virtual mezcladas entre sí. La técnica de Leith y Upatnieks consistía en la utilización de un arreglo óptico fuera de eje para hacer hologramas, de tal manera que el patrón de difracción del objeto y el haz proveniente del láser de manera separada sobre la placa fotográfica. Ya revelado el holograma para obtener la formación de la imagen, la placa se coloca directamente sobre el láser en la posición original donde se colocó para exponerlo. La luz que llega al holograma es entonces difractada formando tres haces. El primer haz pasa directamente sin difractarse y no forma ninguna imagen; el segundo haz es difractado y forma una imagen virtual del objeto en la misma posición donde estaba al obtener el holograma; el tercer haz es difractado en dirección opuesta al haz anterior y forma una imagen real del objeto. Éstos haces se encontraban mezclados en los hologramas de Gabor [25, 26].

#### 2.1.1 Interferencia

Para poder hablar de holografía es necesario definir el fenómeno de interferencia, el cuál sucede cuando dos o más ondas se superponen en el espacio. Si cada onda es descrita por  $\vec{E}_i(\vec{r}, t)$  la cual es una solución de la ecuación de onda, la superposición será dada por:

$$\vec{E}_i(\vec{r}, t) = \sum_i \vec{E}_i(\vec{r}, t) \quad i = 1, 2, \dots \quad (2.1)$$

Para el caso de dos ondas monocromáticas con misma frecuencia y longitud de onda es posible utilizar un formalismo escalar. Partiendo de que las amplitudes complejas de las ondas son:

$$A_1(x, y, z) = a_1 e^{i\phi_1}, \quad (2.2)$$

$$A_2(x, y, z) = a_2 e^{i\phi_2}. \quad (2.3)$$

La amplitud compleja resultante es calculada como la suma individual de las amplitudes:

$$A = A_1 + A_2. \quad (2.4)$$

Para la obtención de la intensidad es necesario multiplicar la amplitud de la onda por su complejo conjugado, ( $A^*$ ), este cálculo se simplifica tomando el cuadrado del módulo de la amplitud compleja como:

$$\begin{aligned} I &= |A_1 + A_2|^2 = (A_1 + A_2)(A_1 + A_2)^* \\ &= a_1^2 + a_2^2 + 2a_1 a_2 \cos(\phi_1 - \phi_2) \\ &= I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Delta\phi), \end{aligned} \quad (2.5)$$

siendo  $I_1$  e  $I_2$  las intensidades individuales y  $\Delta\phi$  la diferencia de fase.

La intensidad resultante es la suma de las intensidades individuales más el término de interferencia  $2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Delta\phi)$  el cual depende de la diferencia de fase entre las ondas. La intensidad alcanza su máximo en puntos donde se cumple:

$$\Delta\phi = 2n\pi \quad \text{para } n = 0, 1, 2, \dots; \quad (2.6)$$

esto es llamado interferencia constructiva. La intensidad alcanza su mínimo cuando se cumple:

$$\Delta\phi = (2n + 1)\pi \quad \text{para } n = 0, 1, 2, \dots; \quad (2.7)$$

lo cual es llamado interferencia destructiva. El entero  $n$  es el orden de interferencia. Un patrón de interferencia consiste en franjas brillantes y oscuras como resultado de la interferencia destructiva y constructiva [27].

## 2.1.2 Difracción

Consideremos primeramente una onda de luz incidiendo sobre un obstáculo, éste puede ser una pantalla opaca con algunos agujeros transparentes o viceversa. De la óptica geométrica es bien sabido que la sombra del objeto es visible en una pantalla por detrás del objeto. Si examinamos detenidamente esto no es del todo correcto. Cuando el tamaño del obstáculo se encuentra en el rango de la longitud de onda, la distribución de la luz no se encuentra bien definida, pero forma un patrón de diferentes regiones brillantes y oscuras. Este fenómeno es conocido como difracción. La difracción puede explicarse mediante el principio de Huygens el cual dice: *Cada punto de un frente de onda puede ser considerado como una fuente puntual para ondas esféricas secundarias. El frente de onda en cualquier otro lugar es la superposición coherente de esas ondas secundarias.* En la Figura 2.1 se explica gráficamente el principio de Huygens [27, 28].

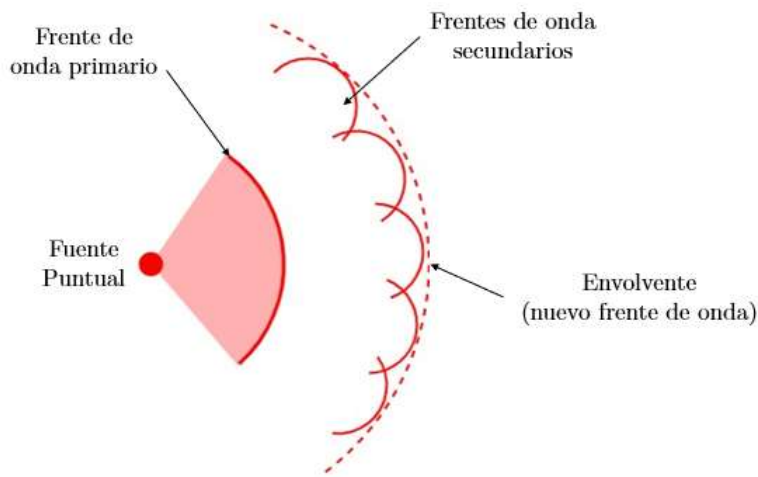


Figura 2.1. Principio de Huygens.

Cuantitativamente el fenómeno de difracción es descrito por la integral de Fresnel – Kirchhoff:

$$\Gamma(\xi, \eta) = -\frac{i}{\lambda} \iint_{-\infty}^{\infty} A(x, y) \frac{e^{ik\rho}}{\rho} Q dx dy, \quad (2.8)$$

donde

$$\rho = \sqrt{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2 + d^2} \quad (2.9)$$

también

$$Q = \frac{1}{2} [\cos(\theta) + \cos(\theta')], \quad (2.10)$$

$k$  es el número de onda ( $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ ).

Observe el sistema de coordenadas definido en la Figura 2.2, donde:  $A(x, y)$  representa la amplitud compleja en el plano del objeto.  $\Gamma(\xi, \eta)$  es el campo en el plano de observación.  $\rho$  representa la distancia que hay entre un punto en el plano del objeto y un punto en el plano de observación.



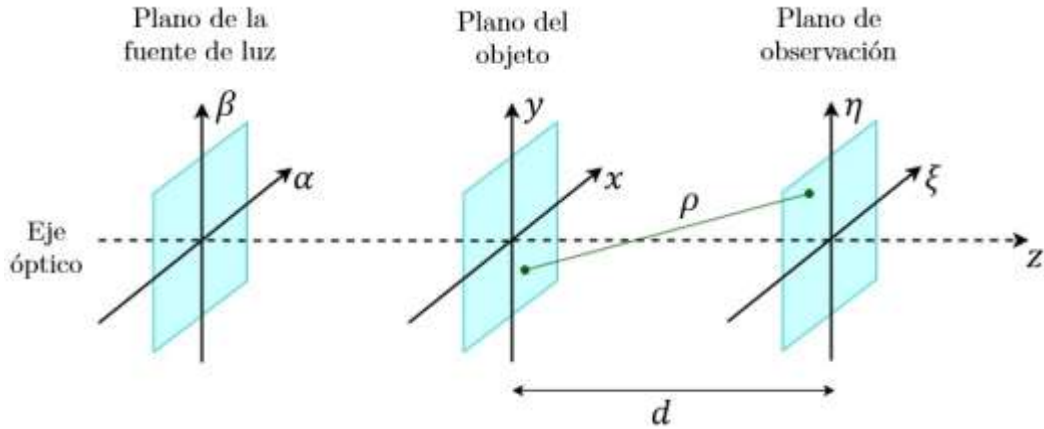


Figura 2.2. Sistema de Coordenadas.

Dentro de las ecuaciones (2.8) y (2.10) se presenta un factor  $Q$  definido como un factor de inclinación. En la mayoría de las situaciones prácticas solo se consideran ondas de luz viajando hacia adelante asumiendo que tanto  $\theta$  como  $\theta'$  son muy pequeños de tal manera que  $Q \approx 1$ , si reescribimos la ecuación (2.8) la amplitud compleja en el plano de la apertura.  $\Gamma(\xi, \eta)$  se expresaría como:

$$\Gamma(\xi, \eta) = -\frac{i}{\lambda} \iint_{-\infty}^{\infty} A(x, y) \frac{e^{ik\rho}}{\rho} dx dy. \quad (2.11)$$

### 2.1.3 Holografía

Los hologramas generalmente se graban mediante una configuración óptica que consiste en la fuente de luz (láser), espejos y lentes para guiar el haz y un medio de registro, por ejemplo, una placa fotográfica en la holografía tradicional, o mediante dispositivos optoelectrónicos como son los dispositivos de carga acoplada o CCD (del inglés: *Charged Coupled Device*) y los dispositivos semiconductores de óxido de metal complementario CMOS (del inglés: *Complementary Metal Oxide Smiconductors*) en la holografía digital. La Figura 2.3 presenta un arreglo convencional para la formación de hologramas.

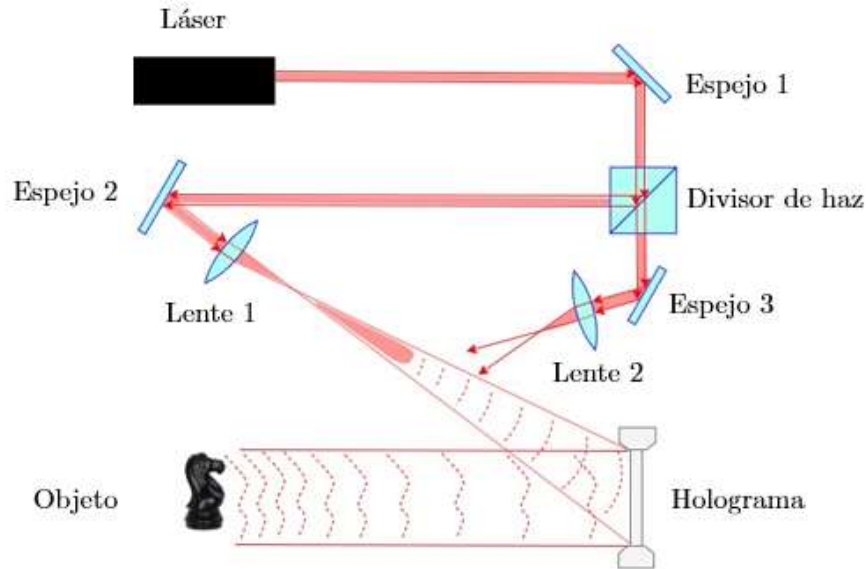


Figura 2.3. Arreglo básico para la formación de hologramas.

Un holograma es un patrón de interferencia formado por la superposición de dos ondas. La primera onda ilumina el objeto bajo análisis y se refleja a un medio de registro. La segunda onda, denominada “onda de referencia” ilumina directamente el medio de registro y ambas ondas interfieren. El objeto es reconstruido iluminando el holograma con la onda de referencia. Un holograma reconstruido contiene cuatro elementos: la imágenes real y virtual del objeto bajo análisis, información de la onda de referencia, así como la información sobre la distribución de intensidad del objeto bajo análisis. Un observador mira una imagen virtual la cual es indistinguible del objeto original. Esta imagen reconstruida exhibe todos los efectos de perspectiva y profundidad de foco, así como se aprecia en la Figura 2.4.

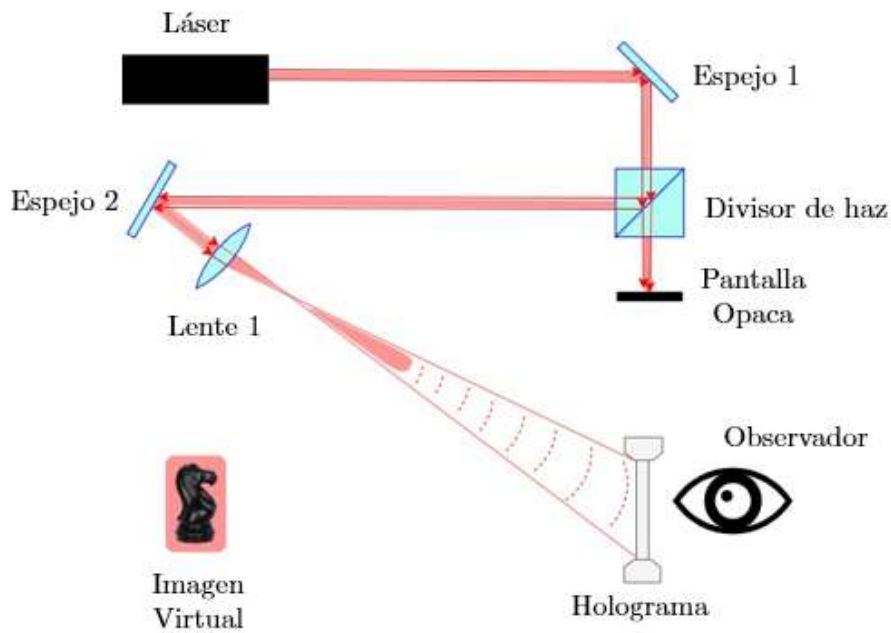


Figura 2.4. Reconstrucción de hologramas.

Utilizando el formalismo de la sección 2.1.1 la amplitud compleja de la onda del objeto es descrita como:

$$E_o(x, y) = a_o(x, y)e^{i\phi_o(x, y)}, \quad (2.12)$$

con amplitud real  $a_o$  y fase  $\phi_o$ .

$$E_R(x, y) = a_R(x, y)e^{i\phi_R(x, y)} \quad (2.13)$$

es la amplitud compleja de la onda de referencia con amplitud real  $a_R$  y fase  $\phi_R$ . Ambas ondas interfieren y la intensidad de acuerdo con la ecuación (2.5) se calcula como:

$$I(x, y) = |E_o(x, y) + E_R(x, y)|^2 \quad (2.14)$$

cuya expansión seria:

$$I(x, y) = E_R(x, y)E_R^*(x, y) + E_o(x, y)E_o^*(x, y) + E_o(x, y)E_R^*(x, y) + E_R(x, y)E_o^*(x, y) \quad (2.15)$$

La amplitud de transmisión  $h(x, y)$  para el medio de grabación utilizado es proporcional a  $I(x, y)$ :

$$h(x, y) = h_o + \beta\tau I(x, y), \quad (2.16)$$

donde  $\beta$  representa la pendiente de la transmitancia de amplitud contra las características de exposición del material de registro,  $\tau$  es el tiempo de exposición y  $h_o$  es la amplitud de transmisión de la placa fotográfica no expuesta. En hologramas digitales utilizando dispositivos CCD o CMOS  $h_o$  puede ser descartado.

Para la reconstrucción de hologramas la transmisión de amplitud de la ecuación (2.16) es multiplicada por la amplitud compleja de la onda de referencia:

$$E_R(x, y)h(x, y) = [h_o + \beta\tau(a_R^2 + a_o^2)]E_R(x, y) + \beta\tau a_R^2 E_o(x, y) + \beta\tau E_R^2(x, y)E_o^*(x, y), \quad (2.17)$$

El primer término de esta ecuación es la onda de referencia multiplicada por un factor. El segundo término es la imagen virtual del objeto donde, el factor  $\beta\tau a_R^2$  solo influye en el brillo de la imagen. El tercer término genera una imagen real distorsionada del objeto. Una imagen real no distorsionada puede ser generada utilizando el conjugado de la onda de referencia  $E_R^*$  para la reconstrucción:

$$E_R^*(x, y)h(x, y) = [h_o + \beta\tau(a_R^2 + a_o^2)]E_R^*(x, y) + \beta\tau a_R^2 E_o^*(x, y) + \beta\tau E_R^{2*}(x, y) E_o(x, y) \quad (2.18)$$

#### 2.1.4 Holografía Digital

La holografía digital emplea dispositivos electrónicos CCD o CMOS como medio detector para adquirir y procesar los hologramas. Algunas de las ventajas de la holografía digital es que no requiere algún proceso físico adicional al medio de registro, así como el hecho de que la reconstrucción del holograma puede ser realizada mediante procesamiento digital de imágenes [27].

La Figura 2.5a muestra la geometría del grabado del holograma. La onda de referencia y la onda dispersada por el objeto interfieren en la superficie del dispositivo electrónico. En la reconstrucción óptica la imagen virtual aparece en la posición del objeto original y su imagen real se forma a una distancia  $d$  pero de forma opuesta al dispositivo electrónico como se aprecia en la Figura 2.5b. El uso del conjugado de la onda de referencia para la reconstrucción invierte la posición tanto de la imagen virtual como de la imagen real del objeto (Figura 2.5c).

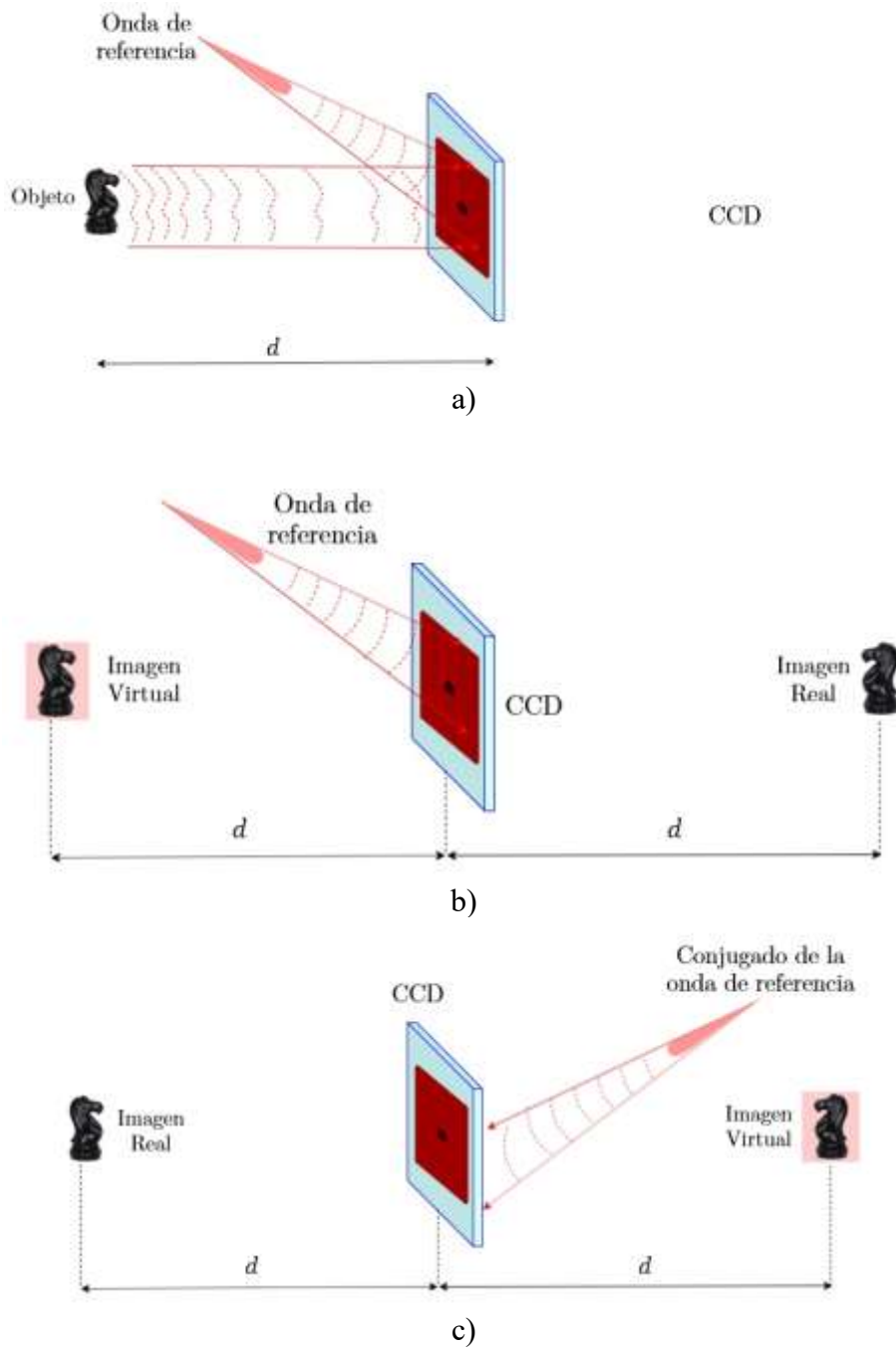


Figura 2.5. Holografía digital: a) Grabado de hologramas, b) Reconstrucción con la onda de referencia y c) reconstrucción con el conjugado de la onda de referencia.

## 2.1.5 Holografía Digital en línea con ondas esféricas

La holografía digital en línea (DIH del inglés *Digital In-line Holography*) presenta una alternativa en la cual es posible generar y reconstruir hologramas sin la necesidad de añadir gran cantidad de componentes ópticas como son lentes, espejos o divisores de haz (véase la Figura 2.6). Ya que, tanto la onda de referencia como el objeto bajo análisis se encuentran sobre el mismo eje óptico. Una onda pasa a través de objeto. Parte de esta onda es esparcida por el objeto y el resto de la onda conforma la onda de referencia. Ambas interfieren sobre un plano de observación más allá del objeto conformando el holograma [29].

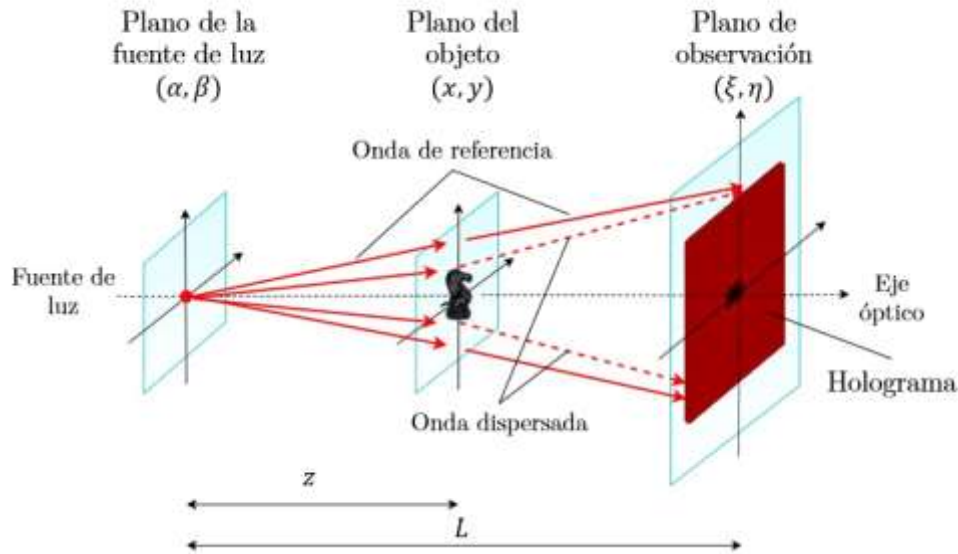


Figura 2.6. Generación de hologramas digitales en línea.

### 2.1.5.1 Generación de hologramas digitales empleando ondas esféricas

Siguiendo el diagrama presentado en la Figura 2.6, comenzamos con una onda incidente en el plano del objeto la cual está dada por:

$$E_R(x, y) = \frac{e^{ikr}}{r}, \quad (2.19)$$

donde  $r$  es la distancia entre el plano de la fuente de luz y el plano del objeto y está dada como:

$$r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}, \quad (2.20)$$

y  $z$  es la distancia entre el plano de la fuente de luz y el plano del objeto paralela al eje óptico. La onda resultante en el plano del objeto, llamada onda de salida, es descrita como:

$$E_{\text{onda de salida}}(x, y) = E_R(x, y)t(x, y) \quad (2.21)$$

$$E_{\text{onda de salida}}(x, y) = \frac{e^{ikr}}{r} t(x, y)$$

donde  $t(x, y)$  representa la función de transmisión del objeto.

La propagación de la onda rumbo al plano de observación es descrita por la integral de Fresnel – Kirchhoff de la ecuación (2.11) de la siguiente manera:

$$\Gamma(\xi, \eta) = -\frac{i}{\lambda} \iint_{-\infty}^{\infty} \frac{e^{ikr}}{r} t(x, y) \frac{e^{ikR}}{R} dx dy. \quad (2.22)$$

Donde

$$R = \sqrt{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2 + L^2}, \quad (2.23)$$

y  $L$  es la distancia paralela al eje óptico entre el plano de la fuente de luz y el plano de observación. Considerando la aproximación paraxial las distancias  $r$  y  $R$  (ecuaciones (2.20) y (2.23)) pueden aproximarse empleando el desarrollo de la serie de Taylor para la raíz cuadrada [28], quedando expresadas como:

$$r \approx z + \frac{x^2 + y^2}{2z} \quad (2.24)$$

y

$$R \approx L + \frac{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2}{2L}. \quad (2.25)$$

Sustituyendo este par de expresiones en la ecuación (2.22) podemos desarrollar la siguiente expresión:

$$\Gamma(\xi, \eta) = -\frac{i}{\lambda z L} e^{\left(\frac{2\pi i}{\lambda}(L+z)\right)} \iint_{-\infty}^{\infty} e^{\left(\frac{i\pi}{\lambda z}(x^2+y^2)\right)} t(x, y) e^{\left(\frac{i\pi}{\lambda z}[(x-\xi)^2+(y-\eta)^2]\right)} dx dy. \quad (2.26)$$

Tomando en cuenta que la distancia  $z \ll L$ , podemos reescribir como:

$$\Gamma(\xi, \eta) = -\frac{i}{\lambda z L} e^{\left(\frac{2\pi i}{\lambda}(L+z)\right)} e^{\left(\frac{i\pi}{\lambda L}(\xi^2+\eta^2)\right)} \iint_{-\infty}^{\infty} e^{\left(\frac{i\pi}{\lambda z}(x^2+y^2)\right)} t(x, y) e^{\left(-\frac{2i\pi}{\lambda L}(x\xi+y\eta)\right)} dx dy. \quad (2.27)$$

Una forma muy conveniente de trabajar esta expresión es describirla como una integral de convolución obteniendo lo siguiente:

$$\Gamma(\xi, \eta) = -\frac{i}{\lambda z_0 L} e^{\left(\frac{2\pi i}{\lambda}(L+z)\right)} e^{\left(\frac{i\pi}{\lambda z}(\xi^2+\eta^2)\right)} \iint_{-\infty}^{\infty} t(x, y) e^{\left(\frac{i\pi}{\lambda z} \left[ \left(x - \xi \frac{z_0}{L}\right)^2 + \left(y - \eta \frac{z_0}{L}\right)^2 \right] \right)} dx dy. \quad (2.28)$$

Descartando los términos de fase constante la ecuación (2.28) puede reescribirse como:

$$\Gamma(\xi, \eta) = t(\xi, \eta) \otimes s(\xi, \eta), \quad (2.29)$$

que representa la convolución entre la función de transmisión del objeto  $t(x, y)$  con la función de transmisión de Fresnel  $s(x, y)$

$$s(\xi, \eta) = -\frac{i}{\lambda z} e^{\left(\frac{i\pi}{\lambda z}(x^2+y^2)\right)}. \quad (2.30)$$

La convolución de la ecuación (2.29) puede ser calculada empleando el teorema de convolución con transformadas de Fourier descrito de la siguiente manera:

$$\Gamma(\xi, \eta) = \mathcal{F}^{-1}\{\mathcal{F}\{t(\xi, \eta)\} \mathcal{F}\{s(\xi, \eta)\}\}, \quad (2.31)$$

Donde  $\mathcal{F}$  y  $\mathcal{F}^{-1}$  representan la transformada y la transformada inversa de Fourier respectivamente. Finalmente, de acuerdo con la ecuación (2.5) la intensidad del holograma se expresaría como:

$$I(\xi, \eta) = |\Gamma(\xi, \eta)|^2 \quad (2.32)$$

El tamaño del holograma es igual al tamaño del objeto multiplicado por un factor de amplificación descrito por:

$$M = \frac{L}{z}. \quad (2.33)$$

### 2.1.5.2 Reconstrucción de hologramas digitales empleando ondas esféricas

La reconstrucción de un holograma digital consiste en la multiplicación del holograma por el conjugado de la onda de referencia basado en la integral de Fresnel – Kirchhoff:

$$\begin{aligned} U(x, y) &= -\frac{i}{\lambda} \iint_{-\infty}^{\infty} E^*(\xi, \eta) \Gamma(\xi, \eta) \frac{e^{ikR}}{R} d\xi d\eta \\ &= -\frac{i}{\lambda} \iint_{-\infty}^{\infty} \frac{e^{-ikr}}{r} \Gamma(\xi, \eta) \frac{e^{ikR}}{R} d\xi d\eta. \end{aligned} \quad (2.34)$$

El desarrollo de esta integral puede ser expresado como una convolución siguiendo un proceso similar al presentado en las ecuaciones (2.26) a (2.28). De acuerdo con las referencias [29], [30], obteniendo como resultado:

$$U(x, y) = \Gamma(x, y) \otimes s^*(x, y), \quad (2.35)$$

la convolución entre la distribución de amplitud del holograma y el conjugado de la función de propagación de Fresnel de la ecuación (2.30). De tal manera que empleando el teorema de convolución:

$$U(x, y) = \mathcal{F}^{-1}\{\mathcal{F}\{\Gamma(x, y)\} \mathcal{F}\{s^*(x, y)\}\}. \quad (2.36)$$



Y su intensidad:

$$I(x, y) = |U(x, y)|^2 \quad (2.37)$$

El objeto reconstruido se verá amplificado por  $M$  de tal manera que, para obtener el tamaño real del objeto bastará con dividir el tamaño del objeto reconstruido entre la amplificación correspondiente.

### 2.1.5.3 Resolución

La resolución para la holografía digital en línea depende de la apertura numérica del sistema (NA del inglés *Numerical Aperture*) y de la longitud de onda empleada [29, 31, 32]. La resolución lateral nos indica que dos puntos pueden resolverse lateralmente si entre ellos existe una separación dada por:

$$\delta_{lateral} = \frac{\lambda}{NA}, \quad (2.38)$$

donde

$$NA = \frac{\frac{D}{2}}{\sqrt{L^2 + \left(\frac{D}{2}\right)^2}}, \quad (2.39)$$

donde  $D$  es el tamaño del detector electrónico.

La profundidad de foco representa la distancia a la cual dos puntos pueden resolverse a lo largo del eje de propagación ( $z$ ). Decimos que un objeto se encuentra enfocado si su forma está completamente definida y ésto sucederá cuando se encuentre dentro del límite de la distancia calculada como:

$$\delta_{foco} = \frac{\lambda}{2(NA)^2}. \quad (2.40)$$

En el caso de hologramas de partículas, rara vez éstos cubren toda la superficie del detector en el plano de observación, lo que provoca que la profundidad de foco se calcule en función del tamaño de la partícula. La profundidad de foco es en su mayoría formada por el lóbulo central cuya apertura numérica depende únicamente del diámetro de la partícula ( $d$ ) [33], definiéndose como:

$$NA_{partícula} = \frac{\lambda}{d}. \quad (2.41)$$

Esta apertura es mucho más grande que la apertura numérica en función del tamaño del holograma de la ecuación (2.39). Por lo tanto, la profundidad de foco para una partícula se calcula como;

$$\delta_{partícula} = \frac{\lambda}{2(NA_{partícula})^2}. \quad (2.42)$$

La resolución para la grabación de hologramas digitales está limitada por la apertura numérica mínima la cual se expresa como:

$$NA_{min} = \tan^{-1} \left( \frac{\lambda}{2\Delta x} \right), \quad (2.43)$$

donde  $\Delta x$  es el tamaño de pixel del detector electrónico. Por lo que es posible registrar partículas tan pequeñas con un diámetro de:

$$d_{min} = \frac{\lambda}{NA_{min}}, \quad (2.44)$$

Si consideramos la amplificación del sistema es posible registrar hologramas de partículas de tamaño aún menor a  $d_{min}$  por lo que la ecuación (2.44) puede reescribirse como:

$$d_{min} = \frac{\lambda}{NA_{min} M}. \quad (2.45)$$

## 2.2 Optimización

Podemos definir optimización como un método para determinar los valores de las variables que intervienen en un proceso o sistema tal que el resultado sea el mejor posible. Un método de búsqueda de mínimos sin restricciones es el método Nelder – Mead [34], un método iterativo el cual utiliza un cuerpo geométrico llamado *símplex* (S). Para un espacio en  $\mathbb{R}^1$  el *símplex* es una línea, en el caso de un plano, un espacio en  $\mathbb{R}^2$  es un triángulo, y en el caso del espacio tridimensional  $\mathbb{R}^3$  es un tetraedro. Sea  $f(x, y)$  la función que queremos minimizar. Para un caso general requerimos de un total de  $n + 1$  puntos donde  $n$  representa la cantidad de parámetros a optimizar [33, 34]. Partimos de un *símplex* inicial con vértices  $\mathbf{v}_1, \mathbf{v}_2, \dots, \mathbf{v}_{n+1}$ . Los vértices son evaluados en la función  $f$  que deseamos minimizar y los resultados son evaluados de tal manera que:

$$f(\mathbf{v}_1) \leq f(\mathbf{v}_2) \leq \dots \leq f(\mathbf{v}_{n+1}). \quad (2.46)$$

Buscamos el punto que minimiza la función  $f$  por lo que decimos que  $\mathbf{v}_1$  es el mejor vértice y  $\mathbf{v}_{n+1}$  es el peor vértice. Se pretende descartar el vértice  $\mathbf{v}_{n+1}$ . En el algoritmo de Nelder-Mead existen cuatro posibles caminos para descartar dicho vértice.

Llamamos diámetro del *símplex* S a:

$$diam(S) = \max_{1 \leq i, j \leq n+1, i \neq j} (|x_i - x_j|) \quad (2.47)$$

También se consideran cuatro parámetros  $\rho, \delta, \gamma$  y  $\sigma$  los cuales son utilizados en cada iteración los cuales deben satisfacer:

$$\delta > 1, \quad 0 < \rho < \delta, \quad 0 < \gamma < 1, \quad 0 < \sigma < 1$$

Los valores más comúnmente utilizados son los siguientes:

$$\rho = 1, \quad \delta = 2, \quad \gamma = \frac{1}{2}, \quad \sigma = \frac{1}{2}$$

### 2.2.1 Reflexión

Realiza un espejo del *símplex* original. Es necesario obtener el centroide de los  $n$  mejores puntos del *símplex*:

$$\hat{\mathbf{v}} = \sum_{i=1}^n \frac{\mathbf{v}_i}{n}. \quad (2.48)$$

El punto reflejado  $\mathbf{v}_R$  se calcula como:

$$\mathbf{v}_R = \hat{\mathbf{v}} + \rho(\hat{\mathbf{v}} - \mathbf{v}_{n+1}). \quad (2.49)$$

Si  $f(v_1) \leq f(v_R) \leq f(v_n)$  se acepta  $v_R$  como el nuevo vértice del simplex S y se sustituye a  $v_{n+1}$  terminando la iteración.

### 2.2.2 Extensión

Extiende el simplex en dirección del vértice reflejado. Ésto se realizará si se cumple la condición  $f(v_R) < f(v_1)$ . El vértice de extensión  $v_E$  se calcula como:

$$v_E = \hat{v} + \delta(v_R - v_{n+1}). \quad (2.50)$$

Es necesario evaluar  $f(v_E)$ . Si  $f(v_E) < f(v_R)$  se debe aceptar  $v_E$  como nuevo vértice del simplex y eliminar el peor vértice. Si no ( $f(v_E) \geq f(v_R)$ ) se debe aceptar  $v_R$ , eliminar el peor vértice y terminar la iteración. La reflexión y extensión del simplex se muestran en la Figura 2.7.

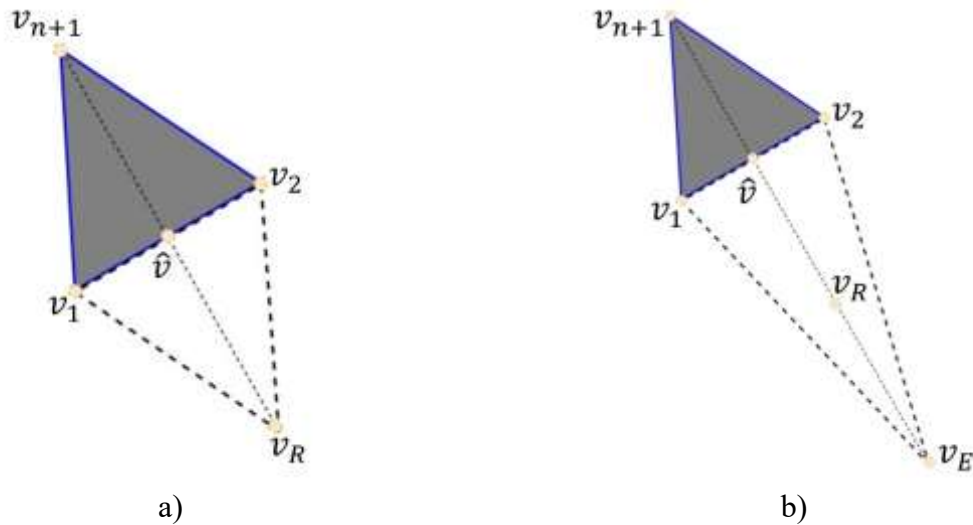


Figura 2.7. a) Reflexión y b) expansión en el método Nelder - Mead.

### 2.2.3 Contracción

Si  $f(v_R) \geq f(v_n)$  es necesario realizar una contracción entre el centroide del simplex  $\hat{v}$  y el mejor entre  $v_{n+1}$  y  $v_R$ . Si la contracción se realiza según el simplex original será una contracción interna o contracción externa si se realiza según el simplex reflejado. (Observe la Figura 2.8). La contracción externa se calcula como:

$$v_{CE} = \hat{v} + \gamma(v_R - \hat{v}). \quad (2.51)$$

La contracción interna se calcula como:

$$v_{CI} = \hat{v} - \gamma(\hat{v} - v_{n+1}). \quad (2.52)$$

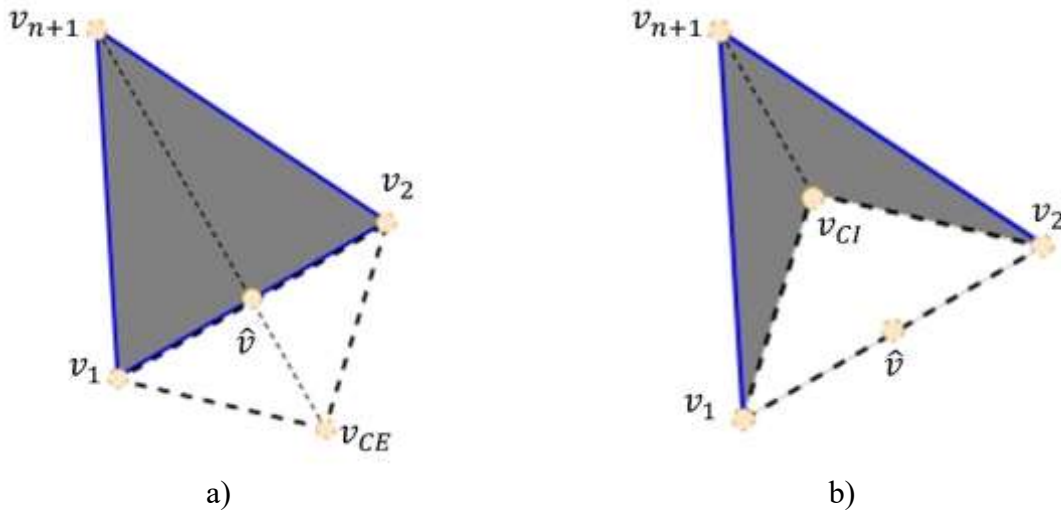


Figura 2.8. a) Contracción externa y b) contracción interna en el método Nelder - Mead.

Una vez calculado el vértice por contracción, éste es evaluado en la función  $f$ . Si se cumple  $f(\mathbf{v}_{CE}) < f(\mathbf{v}_{n+1})$  o en su caso  $f(\mathbf{v}_{CI}) < f(\mathbf{v}_{n+1})$ , aceptar  $\mathbf{v}_{CE}$  o  $\mathbf{v}_{CI}$  respectivamente, eliminar el peor vértice y terminar la iteración.

## 2.2.4 Encogimiento

Consiste en crear un simplex semejante al original de menor tamaño. Evaluando  $f$  en los  $n$  puntos:

$$\mathbf{w}_i = \mathbf{v}_1 + \sigma(\mathbf{v}_i - \mathbf{v}_1) \quad \text{donde } i = 2, \dots, n + 1.$$

Los nuevos vértices del simplex en la próxima iteración serán  $\mathbf{v}_1, \mathbf{w}_2, \dots, \mathbf{w}_{n+1}$ . (Obsérvese la Figura 2.9).

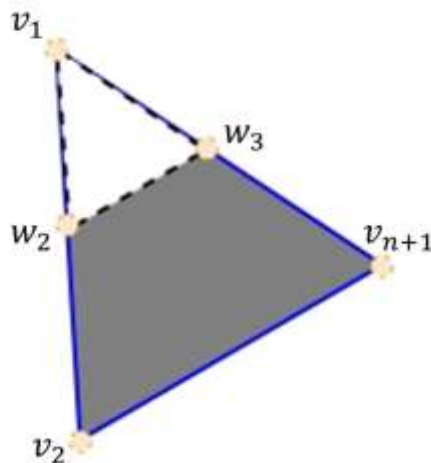


Figura 2.9. Encogimiento en el método Nelder - Mead.

La convergencia del método se dará cuando el diámetro del simplex presentado en la ecuación (2.47) sea igual a cero. Un ejemplo de sucesión de simplex del método se muestra en la Figura 2.10. Si lo que se busca no es minimizar como tal una función y en cambio solo se está interesado

en mejorar el rendimiento de un proceso peculiar, no será necesaria una gran cantidad de iteraciones, el método podrá terminar después de un número fijo de éstas o en su caso cuando el diámetro del simplex sea menor a una tolerancia previamente establecida. Otro inconveniente particular puede suceder cuando existen vértices con valores  $f(\mathbf{v}_i)$  iguales. Para ello se recomienda asignar al nuevo vértice ( $\mathbf{v}_R, \mathbf{v}_E, \mathbf{v}_{CE}$  o  $\mathbf{v}_{CI}$ ) el índice más alto posible consistente con la relación de orden.

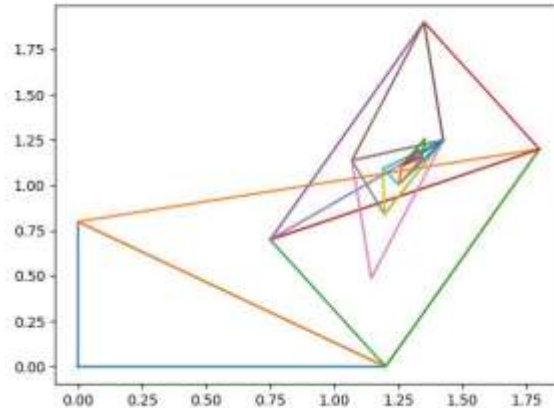


Figura 2.10. Ejemplo de sucesión de simplex del método de Nelder - Mead.

### 2.2.5 Algoritmo Nelder – Mead típico

A manera de pseudo código la Tabla 2.1 presenta la serie de decisiones lógicas a seguir en el proceso de optimización, aplicable a espacios  $\mathbb{R}^n$  cuando  $n \geq 2$ . En el caso particular de 1 dimensión donde el simplex es una línea y solo es aplicable a funciones estrictamente convexas. Además, se omite el paso de encogimiento por lo que la secuencia lógica cambia ligeramente [36].

Tabla 2.1. Decisiones lógicas en el algoritmo Nelder - Mead.

Se calcula $\mathbf{v}_R$ .	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Si <math>f(\mathbf{v}_R) &lt; f(\mathbf{v}_n)</math>, entonces se ejecuta el caso (i) {reflejar o extender}.</li> <li>- Si no, se ejecuta el caso (ii) {contraer o encoger}.</li> </ul>	
<p>Caso (i)</p> <p>Si <math>f(\mathbf{v}_1) &lt; f(\mathbf{v}_R)</math> Se reemplaza <math>\mathbf{v}_{n+1}</math> por <math>\mathbf{v}_R</math>.</p> <p>Si No</p> <p>Se calcula <math>\mathbf{v}_E</math> y <math>f(\mathbf{v}_E)</math>.</p> <p>Si <math>f(\mathbf{v}_E) &lt; f(\mathbf{v}_1)</math> Se reemplaza <math>\mathbf{v}_{n+1}</math> por <math>\mathbf{v}_E</math>.</p> <p>Si No</p> <p>Se reemplaza <math>\mathbf{v}_{n+1}</math> por <math>\mathbf{v}_R</math>.</p>	<p>Caso (ii)</p> <p>Si <math>f(\mathbf{v}_R) &lt; f(\mathbf{v}_{n+1})</math> Se reemplaza <math>\mathbf{v}_{n+1}</math> por <math>\mathbf{v}_R</math></p> <p>Si No</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Se calcula <math>\mathbf{v}_{CE}, f(\mathbf{v}_E), \mathbf{v}_{CI}, f(\mathbf{v}_{CI})</math>.</li> <li>- Tomando como <math>\mathbf{v}_c</math> el menor entre <math>f(\mathbf{v}_{CE})</math> y <math>f(\mathbf{v}_{CI})</math>.</li> </ul> <p>Si <math>f(\mathbf{v}_c) &lt; f(\mathbf{v}_1)</math> - Se reemplaza <math>\mathbf{v}_{n+1}</math> por <math>\mathbf{v}_c</math>.</p> <p>Si No</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Se calculan <math>\mathbf{w}_2, \dots, \mathbf{w}_{n+1}</math>.</li> <li>- Se reemplaza <math>\mathbf{v}_{n+1}</math> por <math>\mathbf{w}_{n+1}</math>.</li> <li>- Se reemplaza <math>\mathbf{v}_n</math> por <math>\mathbf{w}_n</math>.</li> </ul>

### 3 Desarrollo del instrumento

En esta sección del documento se presenta la metodología seguida para la integración de todos los componentes del instrumento; partiendo desde el diseño de componentes mecánicos y ensamble de los mismos, siguiendo por el diseño y funcionamiento de la interfaz gráfica de usuario propuesta para ejecutar grabación, visualización y reconstrucción de hologramas, así como, el desarrollo del algoritmo de reconstrucción de hologramas, ésto con el fin de poder extraer el tamaño la posición y la forma de partículas micrométricas.

#### 3.1 Diseño y montaje de elementos

Partiendo del arreglo típico de un sistema de holografía digital en línea mostrado en la Figura 2.6, se pensó en una configuración vertical como se muestra en la Figura 3.1. Utilizando un total de tres monturas; una montura fija para una fuente de luz, una montura móvil para depositar una muestra con partículas y finalmente, una segunda montura móvil para posicionar un sensor CMOS. La principal ventaja de esta configuración es que de manera simple puede realizarse la adición de nuevos elementos al sistema permitiendo tener diferentes configuraciones ópticas, diferentes ajustes de posición sobre el eje óptico lo cual nos permite trabajar con diferentes valores de amplificación, así como, el hecho de poder realizar de manera simple la limpieza de los diferentes elementos que constituyen el sistema. Las monturas se encuentran empotradas en dos barras paralelas de acero inoxidable de 8 mm de diámetro, con una separación de 52 mm de centro a centro. Cada montura cuenta con dos barrenos laterales para tornillo de 3 mm de diámetro que sirve para su fijación sobre las barras. El diseño de las monturas fue realizado mediante el software SolidWorks.

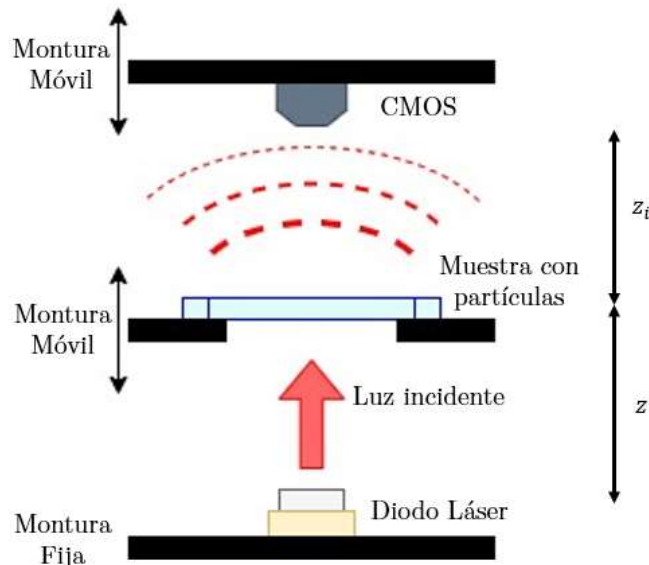


Figura 3.1. Arreglo experimental utilizado para la generación y análisis de hologramas digitales en línea.

La fuente de iluminación del instrumento es un diodo láser de semiconductor AlGaInP (Aluminio Galio Indio Fósforo). El diodo láser utilizado fue un ADL-65055TL (véase la Figura 3.2) con una

longitud de onda típica de 655 nm y una potencia de 5mW el cual se presenta en un encapsulado TO-18 de 5.6 mm de diámetro. El diodo es montado sobre un socket 3M para encapsulados TO-18, esto permite al usuario poder reemplazar fácilmente el diodo en caso de algún fallo o si se presenta la necesidad de trabajar con diferentes longitudes de onda.

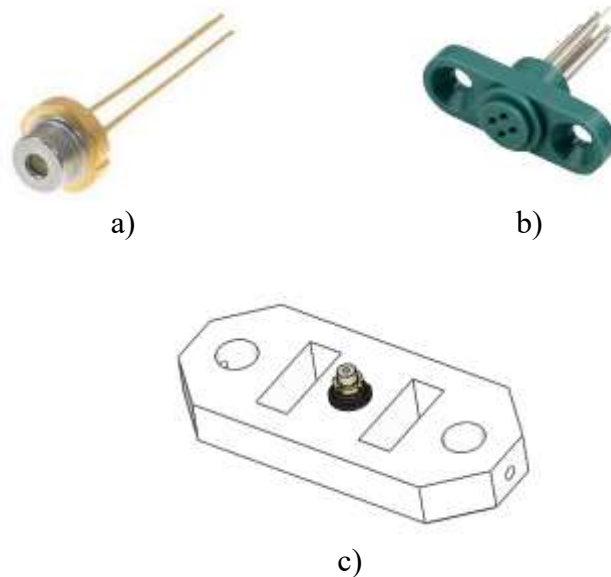
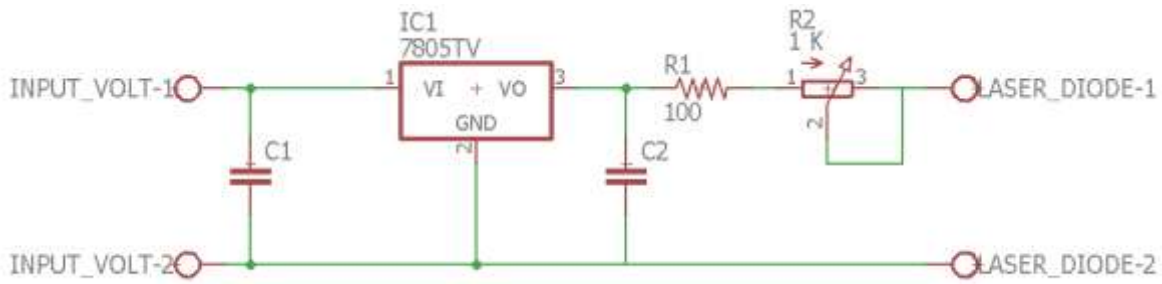


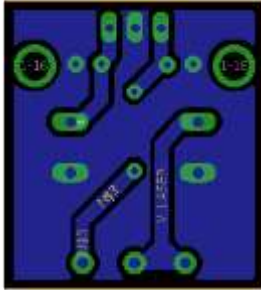
Figura 3.2. a) Diodo láser ADL-65055TL, b) socket láser 3M c) montura para diodo láser.

El diodo opera a un voltaje de 2.2 V por lo cual se le incluyó un pequeño circuito basado en un regulador LM7508 en conjunto con una resistencia variable, de tal manera que pueda ser alimentado con prácticamente cualquier fuente de voltaje de corriente directa y poder regular la intensidad luminosa del haz proveniente del diodo. La Figura 3.3 muestra un diagrama esquemático, el diseño del circuito impreso, así como un renderizado del circuito regulador.

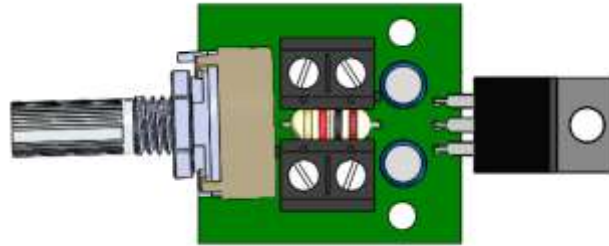




a)



b)



c)



d)

Figura 3.3. Circuito regulador para diodo láser: a) Diagrama esquemático, b) Vista inferior de circuito impreso y renders en 3D c) vista superior y d) vista isométrica.

La montura empleada en el plano objeto del instrumento donde se depositaron las muestras con partículas presenta dos ranuras en sus extremos, ésto con el fin de manipular fácilmente, permitiendo montar y desmontar del sistema sin necesidad de tocar monturas adicionales. En la Figura 3.4 se muestran dos propuestas diferentes, en base a las dimensiones de portaobjetos y cubreobjetos de microscopio convencionales.

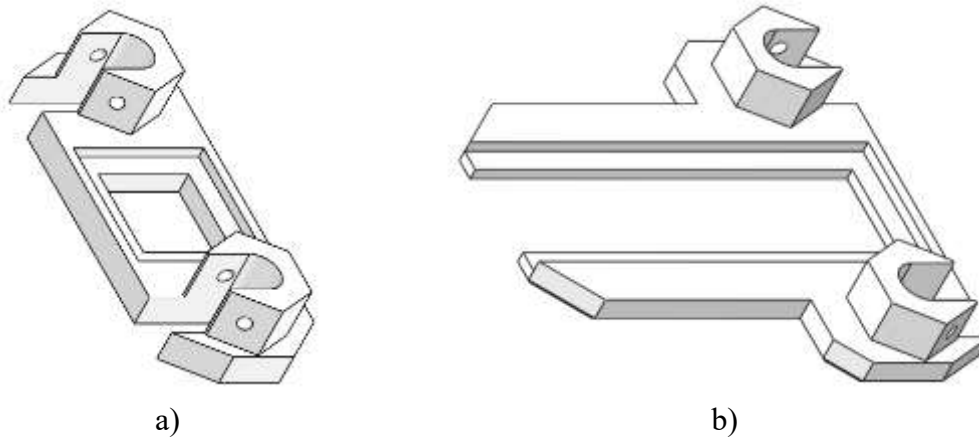


Figura 3.4. Monturas plano objeto versión a) cubreobjetos y b) portaobjetos.

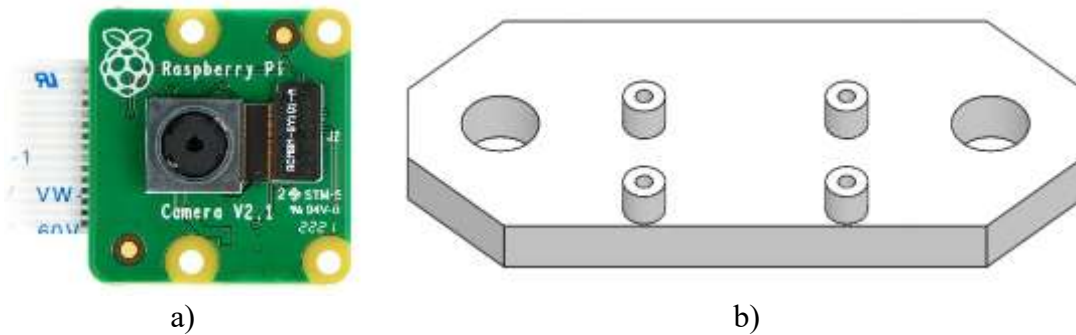
El controlador principal del instrumento es una tarjeta Raspberry Pi modelo 3B+ (véase la Figura 3.5), una computadora en una sola tarjeta SBC (del inglés *Single-Board Computer*) la cual cuenta con un procesador *quad core* de 64 bits a una velocidad de 1.4 GHz y 1GB de memoria RAM. Las Raspberry Pi son una alternativa económica a los ordenadores convencionales de escritorio puesto que pueden realizar las tareas informáticas más comunes. Además, gracias a su disponibilidad de puertos de entradas y salidas y diferentes protocolos de comunicaciones electrónicas, es una excelente alternativa para desarrollar soluciones en el área de internet de las cosas (IoT del inglés *Internet of Things*), automatización, robótica, entre otras. Nativamente la Raspberry Pi integra Python 3, un lenguaje multiplataforma con gran variedad de librerías y complementos que permite utilizar paradigmas de programación como programación imperativa o programación orientada a objetos. Éste fue el lenguaje empleado en el proceso de grabado y reconstrucción de hologramas para este instrumento. Buscando la portabilidad al instrumento se incluyó una pantalla táctil de 3.5 pulgadas con una resolución de 480x320 píxeles (px). La cual resulta fácil de enlazar con la Raspberry Pi, permitiendo descartar la necesidad de un monitor externo al instrumento.



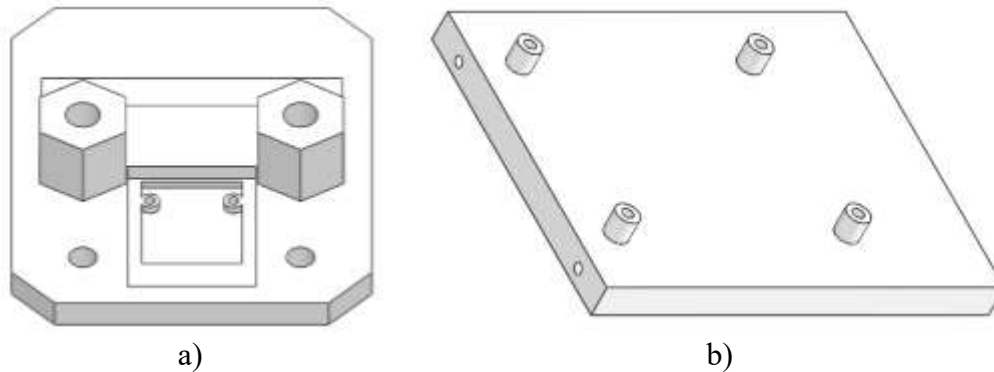
Figura 3.5. a) Raspberry Pi 3B+ y b) pantalla táctil.

En el plano de observación del instrumento se utiliza un módulo de cámara versión 2 para la tarjeta de desarrollo Raspberry Pi. Dicho módulo cuenta con un sensor CMOS SONY IMX219PQH5-C de 8.28 Megapíxeles. Este sensor permite tomar imágenes en esquema de color RGB (del inglés *Red, Green, Blue*) de hasta 3280 px de ancho por 2240 px de alto, los cuales tienen un tamaño de 1.12  $\mu\text{m}$  x 1.12  $\mu\text{m}$ . Asimismo, este módulo de cámara permite obtener secuencias de imágenes

de hasta 200 cuadros por segundo. En la Figura 3.6 se muestran tanto el módulo de cámara como el diseño de su respectiva montura.



Adicional a las monturas previamente mencionadas se incluye la base principal del instrumento para empotrar la placa PCB (del inglés *Printed Circuit Board*) del regulador de intensidad luminosa para el diodo láser (Figura 3.3), las barras guía y la base para la Raspberry Pi. La base principal incluye también dos orificios de 6.2 mm de diámetro con dos pulgadas (50.8 mm) de separación entre centros de tal manera que el instrumento pueda ser colocado y atornillado sobre una mesa óptica.



Todos los diseños de monturas y bases fueron impresos en 3D en filamento PLA (ácido poliláctico) con una tolerancia de  $\pm 0.1$  mm. Para esta primera versión del instrumento se escogió esta opción de manufactura debido a la velocidad y facilidad de fabricación. Cabe mencionar que se pretende refabricar las monturas en aluminio y resina para futuras versiones. En la Figura 3.8 se presenta el ensamble en SolidWorks, así como el ensamble físico de esta primera versión del instrumento.

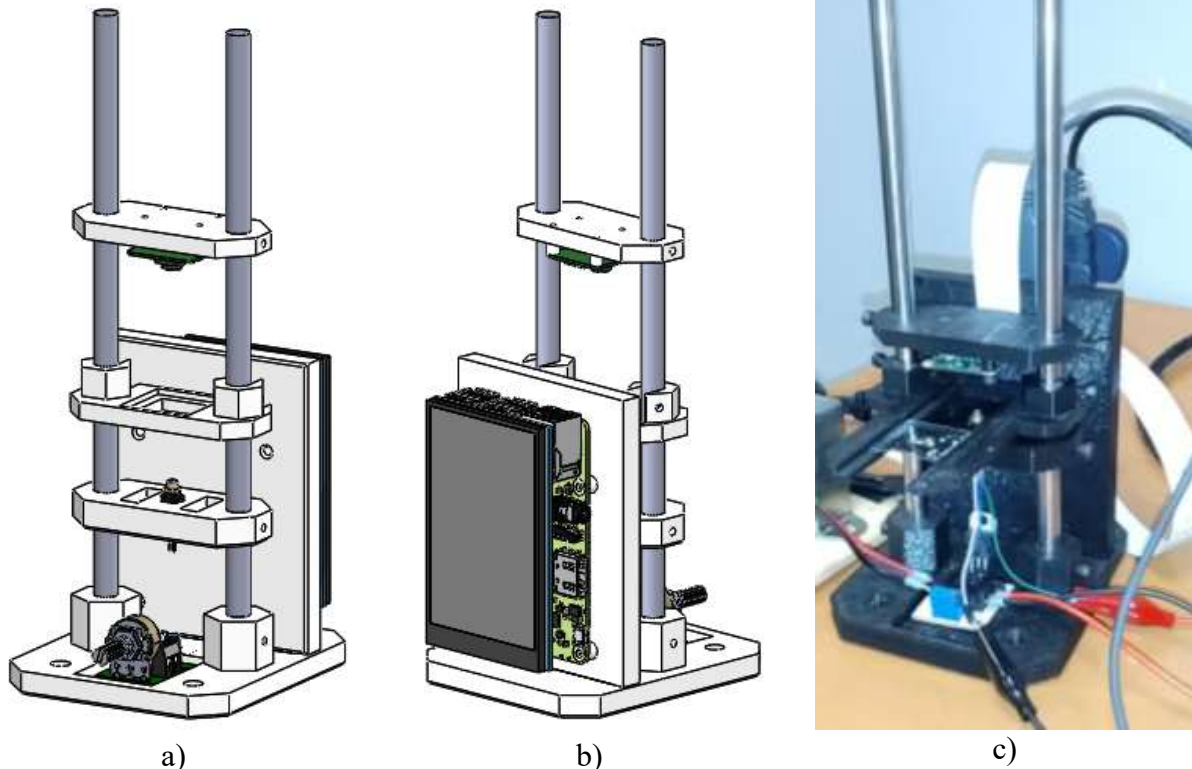


Figura 3.8. Ensamble de instrumento: a) CAD vista frontal isométrica, b) vista posterior isométrica y c) ensamble físico.

### 3.2 Adquisición de imágenes

El proceso de adquisición de imágenes mediante la cámara se realiza desde una rutina en Python en base a la librería *picamera*. Desde *picamera* es posible ajustar libremente parámetros tales como la resolución de la imagen, tiempo de exposición, tasa de muestreo en cuadros por segundo (FPS del inglés *frames per second*), velocidad del obturador, entre otros. La Tabla 3.1 nos muestra posibles configuraciones para la cámara utilizada. La variación de dichos parámetros en conjunto con el ajuste manual de la resistencia variable del circuito regulador de láser (Figura 3.3) permiten obtener un holograma digital con el mejor contraste posible. La mayor parte de los hologramas digitales fueron capturados de acuerdo con la segunda configuración mostrada en la Tabla 3.1. Se definió una tasa de muestreo de 15 FPS y una velocidad de obturación de 15 ms.

Tabla 3.1. Posibles configuraciones según resolución y tasa de muestreo para cámara [37].

Resolución (píxeles)	Aspecto	Tasa de muestreo (FPS)	Campo de visión
1920x1080	16:9	0.1 - 30	Parcial
3280x2646	4:3	0.1 - 15	Completo
1640x1232	4:3	0.1 - 40	Completo
1640x922	16:9	0.1 - 40	Completo
1280x720	16:9	40 - 90	Parcial
640x480	4:3	40 - 200	Parcial

### 3.3 Calibración de instrumento

La calibración del instrumento se realizó a partir de la reconstrucción de hologramas de un disco sólido de  $70 \mu\text{m}$  de diámetro grabado en un portaobjetos de calibración como el que se muestra en la Figura 3.9.



Figura 3.9. Portaobjetos de calibración.

El proceso realizado en la grabación de hologramas de calibración fue el siguiente:

- i. Fijar una distancia entre el diodo láser y el disco sólido (distancia  $z$  de acuerdo con la Figura 3.1). En este primer paso la distancia es la mínima posible.
- ii. Ajustar la distancia entre el sensor CMOS y el disco sólido (distancia  $z_i$  de acuerdo con la Figura 3.1) al punto más cercano posible y grabar el holograma.
- iii. Aumentar gradualmente  $z_i$  alejando el sensor CMOS del disco sólido, hasta que el holograma sea lo suficientemente grande para ocupar la mayor parte del campo de visión.
- iv. Grabar hologramas para los diferentes valores de  $z_i$ .
- v. Reconstruir los hologramas y obtener la posición  $z_i$  correspondiente.
- vi. Calcular el error relativo entre posición real y la posición obtenida en la reconstrucción.
- vii. Aumentar gradualmente la distancia  $z$  y repetir pasos 2 a 6 para cada nuevo valor de  $z$ .
- viii. La distancia  $z$  valida será donde exista el menor error relativo para  $z_i$ .

En la Figura 3.10 se muestra una serie de hologramas capturados para una distancia  $z=6.71 \text{ mm}$  variando la distancia  $z_i$  de 2 a 20 mm con un error de  $\pm 0.28 \text{ mm}$ .

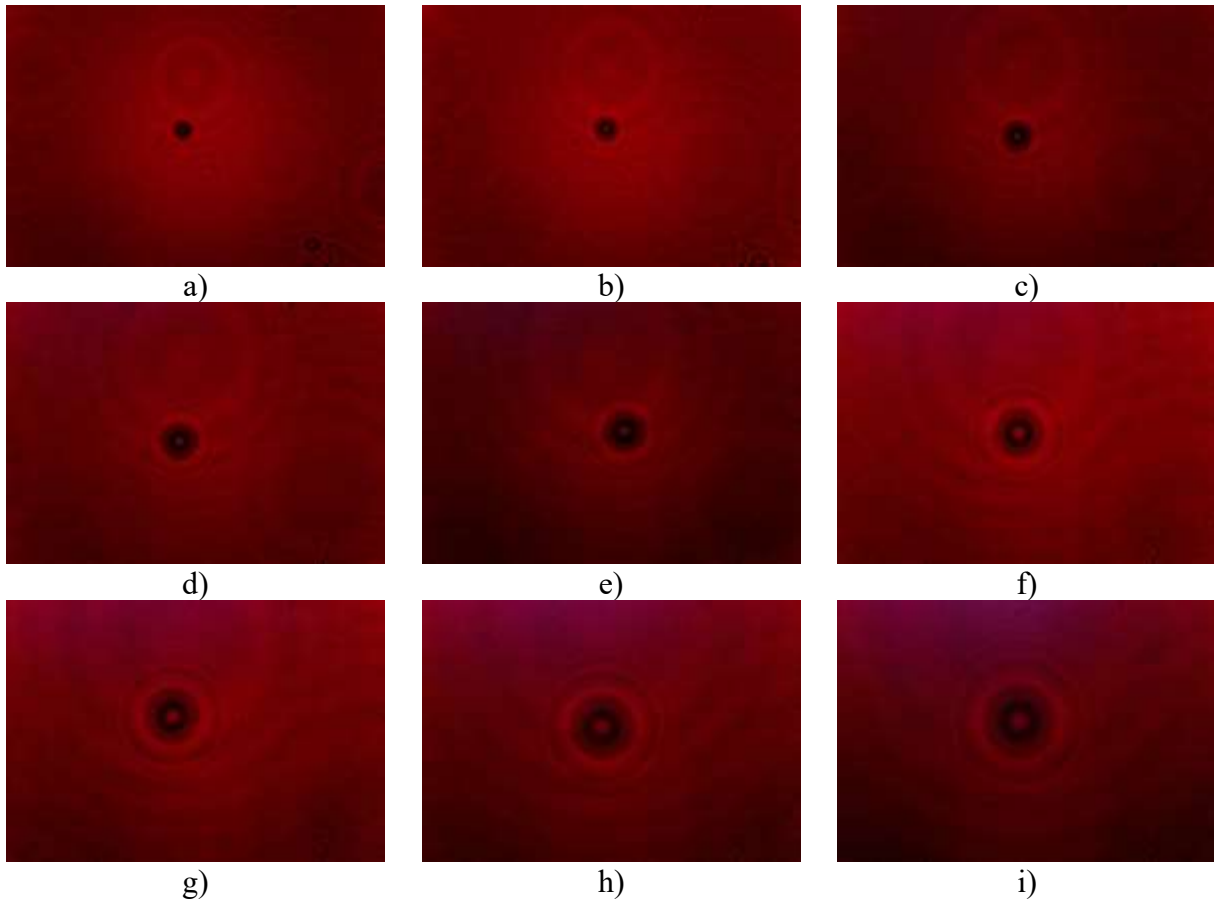


Figura 3.10. Hologramas de calibración capturados con una distancia:  
 a)  $z_i = 3.45 \text{ mm}$ , b)  $z_i = 5.45 \text{ mm}$ , c)  $z_i = 7.57 \text{ mm}$ , d)  $z_i = 10.19 \text{ mm}$ , e)  $z_i = 11.97 \text{ mm}$ , f)  $z_i = 14.53 \text{ mm}$ ,  
 g)  $z_i = 16.39 \text{ mm}$ , h)  $z_i = 19.75 \text{ mm}$  y i)  $z_i = 22.43 \text{ mm}$ .

### 3.4 Algoritmo para la reconstrucción de hologramas

El proceso de reconstrucción de hologramas basado en desarrollo matemático presentado en las secciones 2.1.5.1 y 2.1.5.2 del documento. El algoritmo de reconstrucción fue realizado en lenguaje Python empleando en conjunto con las librerías *numpy* y *opencv*, las cuales integran diversas herramientas para facilitar tanto el cálculo numérico como el procesamiento de imágenes respectivamente. De manera general se presenta en la Figura 3.11 un diagrama flujo con los pasos a seguir por el algoritmo de reconstrucción.

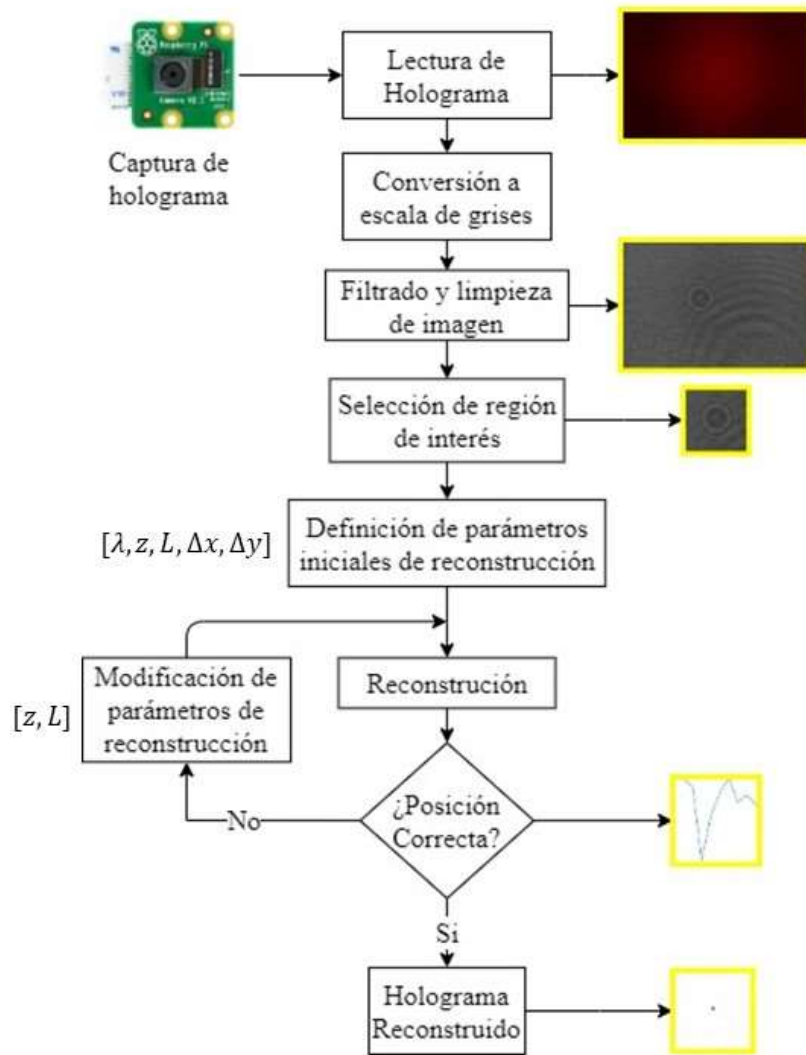


Figura 3.11. Diagrama de flujo de algoritmo implementado para la reconstrucción de hologramas digitales.

El primer paso es la conversión a escala de grises, para este caso dado que capturamos imágenes de hologramas en esquema RGB, se seleccionó únicamente el canal rojo debido a que la longitud de onda utilizada es de 655 nm. De tal manera que la información existente en los canales verde y azul es irrelevante. Para poder realizar el proceso de filtrado y limpieza de la imagen se requirió de capturar adicional al holograma el frente de onda de referencia. La resta del holograma y la onda de referencia permite reducir considerablemente el ruido en el holograma. En la Figura 3.12 se muestra el efecto de restar la onda de referencia para un holograma de un disco sólido de 70  $\mu\text{m}$ . Adicional a ésto se incluyó un filtro de desenfoque gaussiano para la reducción de ruido.

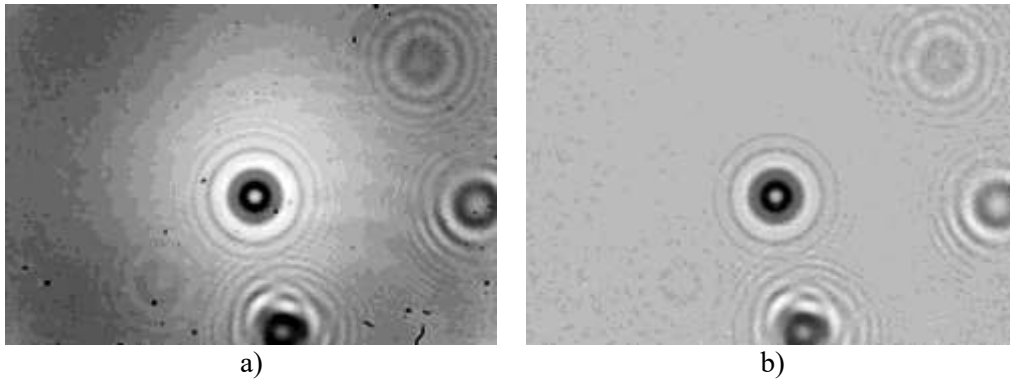


Figura 3.12. Holograma digital de un disco sólido de  $70\ \mu\text{m}$  a) sin restar onda de referencia y b) restando la onda de referencia.

Debido al tamaño de los hologramas ( $3280 \times 2646\ \text{px}$ ) no es muy conveniente reconstruir la imagen completa del holograma. Es necesario segmentar la imagen definiendo una región de interés (ROI del inglés *Region Of Interest*). Al hacer ésto reducimos el tiempo de cómputo necesario para obtener una correcta reconstrucción del holograma. Recordemos que el patrón de interferencia del holograma contiene la información en 3 dimensiones del objeto de prueba. El definir una ROI de un tamaño insuficiente implica una pérdida de la información del objeto, lo cual genera errores en la reconstrucción del holograma. Al definir el tamaño de una ROI procuramos que sea visible la mayor cantidad de anillos posible. La Figura 3.13 presenta una serie de ROI de diferentes tamaños para el holograma del disco sólido mostrado en la Figura 3.12b) y su respectiva reconstrucción. Nótese que mientras menos información se tiene del patrón de interferencia el objeto reconstruido pierde claridad.

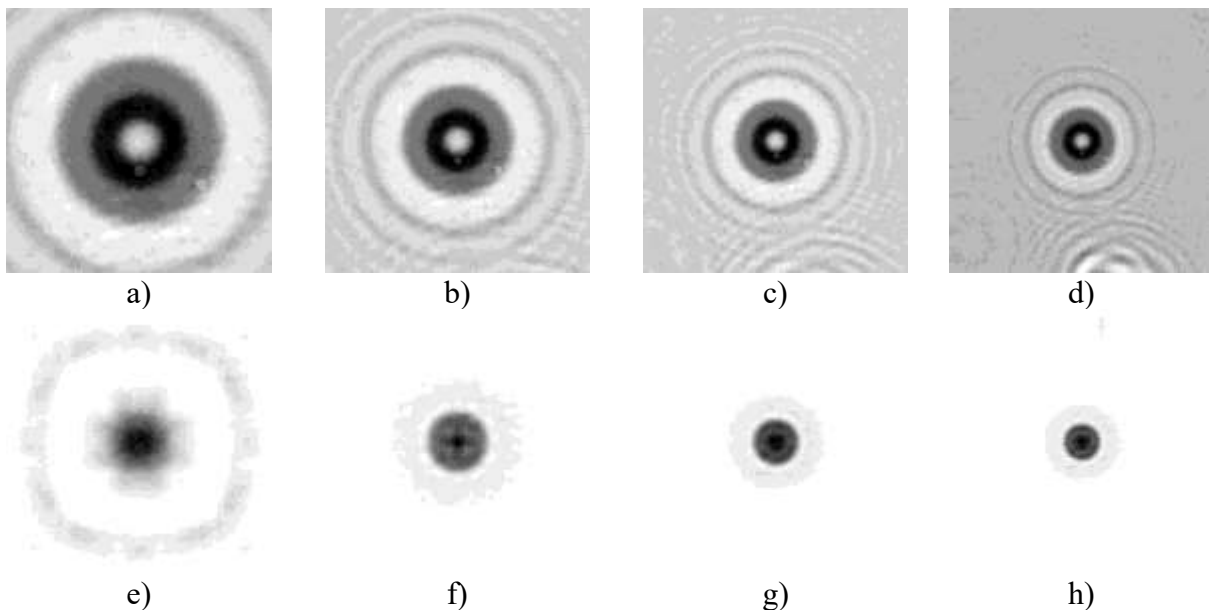


Figura 3.13 ROI de holograma de tamaño a)  $300 \times 300\ \text{px}$ , b)  $600 \times 600\ \text{px}$ , c)  $1200 \times 1200\ \text{px}$ , d)  $1500 \times 1500\ \text{px}$  y e)-h) sus respectivas reconstrucciones.

Un paso adicional para mejorar los resultados en la reconstrucción y obtener una imagen con mejor definición es eliminar el *offset* del holograma. Esto es posible restando al holograma la media aritmética de su intensidad. En la Figura 3.14 se presentan los efectos en la reconstrucción de la



eliminación del offset en un holograma simulado numéricamente en base a la ecuación (2.29) para un caballo de ajedrez con los parámetros longitud de onda  $\lambda = 655\text{nm}$ , distancia de la fuente de iluminación al objeto  $z = 5\text{mm}$ , distancia de la fuente de iluminación al detector  $L = 20\text{ mm}$  y tamaño de pixel  $\Delta x = 1.12\mu\text{m}$ . Obsérvese que al eliminar el *offset* desaparecen los restos del patrón de interferencia en la vecindad del objeto reconstruido.

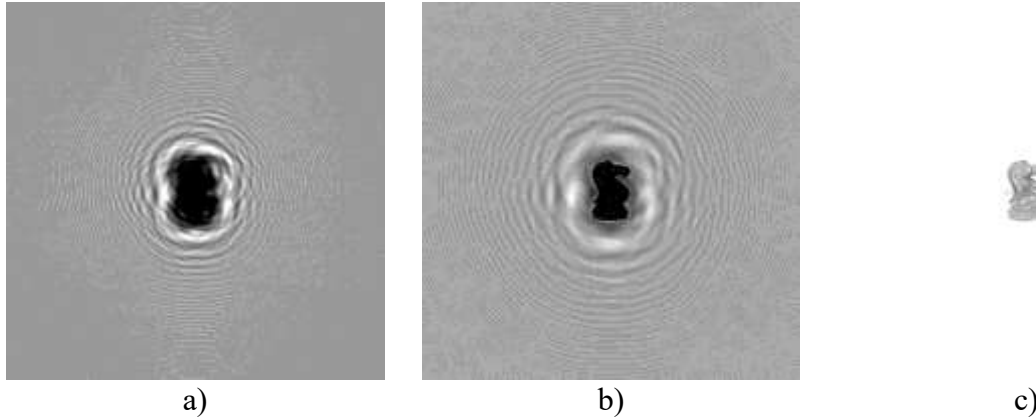


Figura 3.14. a) Holograma de una pieza de ajedrez y su reconstrucción b) sin eliminar offset y c) eliminando offset.

La reconstrucción del holograma es un proceso iterativo. De acuerdo con el diagrama de flujo de la Figura 3.11 posterior a la segmentación de la imagen se definen los parámetros: longitud de onda ( $\lambda=655\text{ nm}$ ), tamaño de pixel ( $\Delta x=1.12\ \mu\text{m}$ ), la distancia del diodo láser al objeto ( $z$ ) y la distancia del diodo láser al sensor CMOS ( $L$ ). El holograma es reconstruido numéricamente siguiendo las ecuaciones (2.34) a (2.37)  $n$  cantidad de veces variando la distancia  $L$  hasta determinar la posición correcta.

### 3.5 Determinación de la posición sobre el eje óptico

Cuando un holograma contiene la información de  $m$  cantidad de elementos, como por ejemplo en hologramas de campos de partículas como en la Figura 3.15 o de una manera más sutil como se observa en la Figura 3.12 donde el disco sólido se encuentra rodeado por partículas de polvo. Al intentar definir una ROI para cada partícula individual, nos encontramos con fragmentos del patrón de interferencia del resto de partículas en dicha ROI, o al menos de las partículas más cercanas que rodean a la partícula de interés.

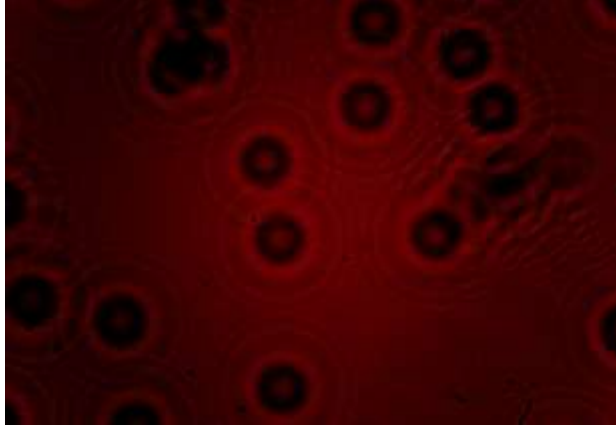


Figura 3.15. Holograma de un campo de partículas de vidrio.

Consideremos que un el campo del holograma reconstruido  $U(x, y)$  de las ecuaciones (2.34) a (2.36) es reescrito de la siguiente manera

$$U = r_j + \Omega_j, \quad (3.1)$$

donde  $r_j$  representa la onda de la imagen real de una partícula individual  $j$  ( $j = 1, 2, 3 \dots m$ ) y  $\Omega_j$  es el resto de términos del campo del holograma reconstruido. A su vez  $\Omega_j$  puede ser escrito como:

$$\Omega_j = \sum_{i=1}^m v_i + \sum_{i=1, i \neq j}^m r_i, \quad (3.2)$$

donde  $v_i$  y  $r_i$  son la onda de la imagen virtual y la imagen real respectivamente de cada una de las partículas aledañas a la partícula de interés.

Cada una de las partículas del holograma se encuentran a diferentes distancias  $z$  y  $z_i$  entre sí. En la posición de foco de cada partícula la onda de la imagen real  $r_j$  es una función que carece de parte imaginaria  $Im(r_j) = 0$ . En un campo de partículas la posición de foco de la imagen real  $r_j$  sí contiene parte imaginaria, ésto debido a la contribución de las partículas vecinas. Debido a ésto no es posible descartar el término  $\Omega_j$  de la ecuación (3.2). Por lo que la estrategia a seguir es utilizar la varianza ( $\sigma^2$ ) de la parte imaginaria de la imagen real de un holograma reconstruido para una ROI, la cual será mínima cuando se encuentre en la posición de foco [38]. De manera que, la posición de foco es descrita por la ecuación:

$$z_{foco} = \min(\sigma_{Im[U(x,y)]}^2). \quad (3.3)$$

Definiendo los valores mínimo y máximo para  $L$ , dentro del programa se crea un vector con  $n$  componentes con una separación uniforme entre sí. El holograma es reconstruido  $n$  veces y calculando  $\sigma_{Im[U(x,y)]}^2$  para cada uno de los valores contenidos dentro del vector. En la Figura 3.16 se presentan la curva de varianza (normalizada) en función de la distancia  $z_i$ , para un total de 20 iteraciones, tanto para el holograma simulado de la pieza de ajedrez de la Figura 3.14 y como para el holograma experimental del disco sólido de la figura Figura 3.12.

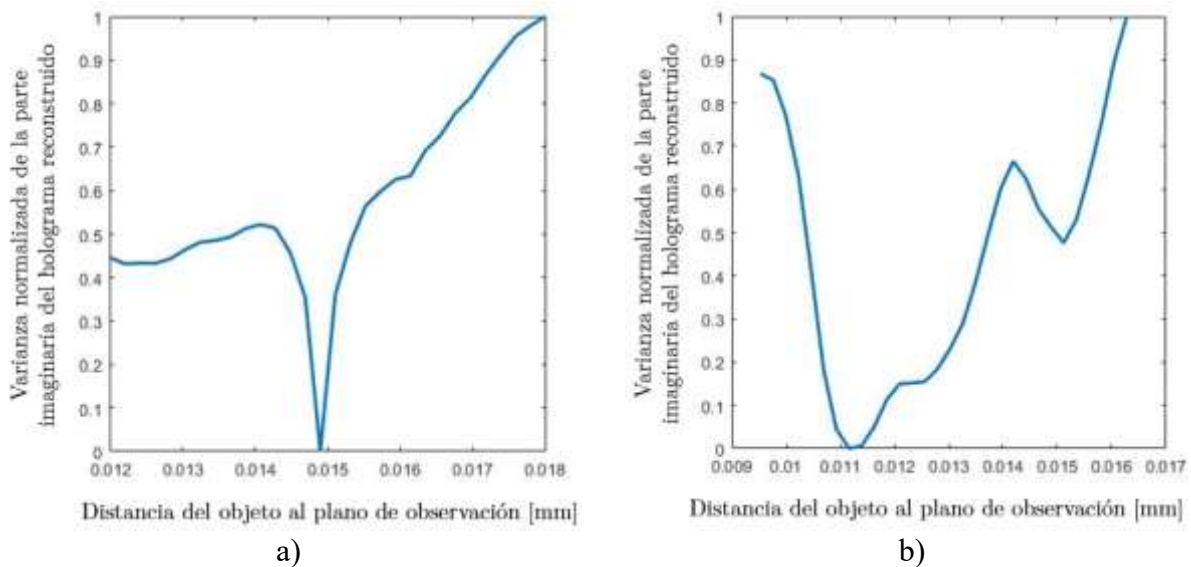


Figura 3.16. Curvas de varianza de la parte imaginaria de a) un holograma simulado y b) un holograma experimental.

### 3.6 Aplicación de un algoritmo de optimización para determinar la posición del objeto

Obtener el mejor resultado para la posición de la partícula puede tornarse en un proceso muy largo. Si la separación de cada componente del vector de evaluación no es lo suficientemente pequeño, tendremos una evaluación rápida, sin embargo, podríamos perdernos del verdadero punto de varianza mínima. Ahora por lo contrario si se escoge una separación muy pequeña entre componentes obtendríamos una mejor aproximación de la distancia de foco, pero tendríamos un tiempo de ejecución muy largo debido al número de veces que debe ejecutarse la reconstrucción. Esto resulta en una complicación ya que al utilizar una tarjeta Raspberry Pi como motor principal del instrumento, nos encontramos limitados en capacidad de procesamiento contra una computadora de escritorio que posee más del doble de procesadores. Para solucionar este inconveniente se propuso utilizar un algoritmo de optimización de Nelder – Mead (sección 2.2 del documento).

Puesto que fue necesario mejorar el proceso de búsqueda de un parámetro ( $z_i$ ) y debido a que no resulta del todo conveniente aplicar un simplex en una dimensión ya que la función de varianza con respecto a la posición no es una función puramente convexa para la mayoría de los hologramas experimentales (véase la Figura 3.16b) [36]; se propone utilizar la secuencia lógica de optimización según el algoritmo de Nelder – Mead a partir de 3 puntos. Además, se añade una condición adicional al algoritmo típico de la Tabla 2.1, donde se limitan los pasos de reflexión y extensión de tal manera que el método de optimización solo se ejecuta en una región acotada. Al evaluar distancias  $z_i$  muy pequeñas la varianza de la parte imaginaria de la reconstrucción se torna menor que en la distancia de foco. En la Figura 3.17 se muestra la varianza de la parte imaginaria en función de la distancia  $z_i$  al extender el rango de búsqueda, así como una ubicación de los puntos de inicio del proceso de optimización, ubicación del límite de búsqueda y una secuencia de búsqueda a partir de la lógica del algoritmo de Nelder – Mead.

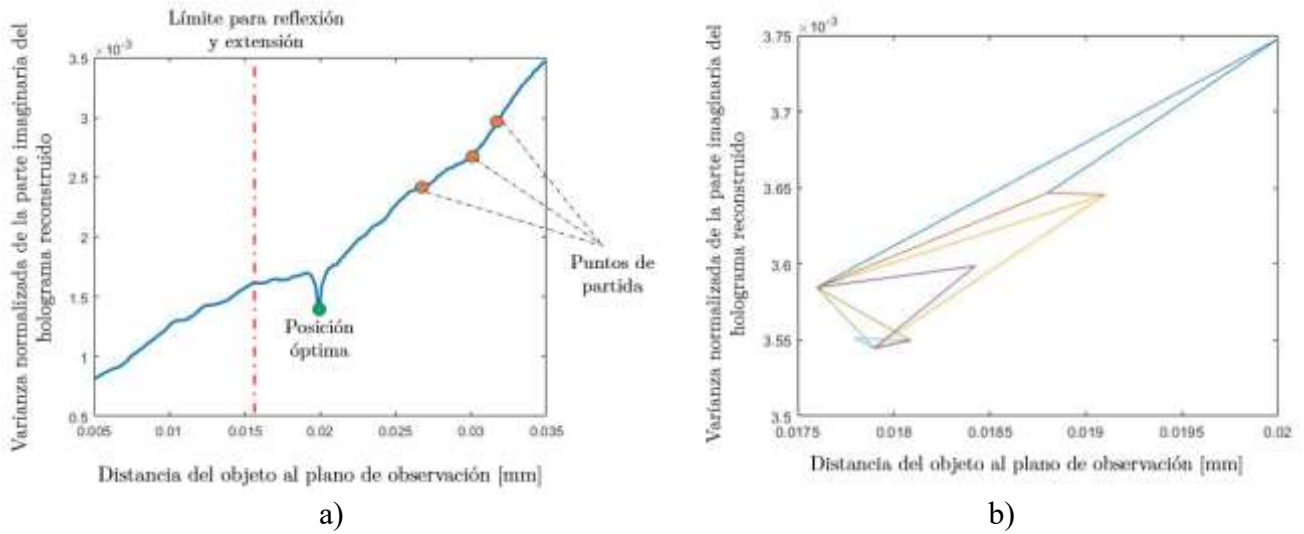


Figura 3.17. Aplicación de algoritmo Nelder - Mead: a) definición de puntos iniciales y acotamiento de zona de búsqueda; b) secuencia de optimización.

### 3.7 Determinación del tamaño del objeto reconstruido

El proceso para determinar el tamaño de una partícula consiste de 5 etapas como se muestra en la Figura 3.18. Partiendo del holograma reconstruido se binariza (imagen de 1 y 0) de acuerdo a un umbral. Para este trabajo se tomó el valor medio entre los niveles máximo y mínimo de intensidad del holograma reconstruido. Una vez binarizada la imagen se extrae el contorno de la región. El área del contorno se extrae obteniendo el momento geométrico de orden 0 ( $m_{00}$ ). Los momentos valores utilizados para medir la distribución de masa de cuerpos rígidos. En el caso de imágenes describir la geometría de estas en función de niveles de intensidades. Los momentos geométricos en 2 dimensiones para una imagen en escalas de grises  $I(i, j)$  están dados por:

$$m_{pq} = \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N i^p j^q I(i, j) \quad (3.4)$$

donde  $p$  y  $q$  representan el orden del momento en la dirección horizontal y vertical respectivamente;  $M$  y  $N$  el tamaño en pixeles de la imagen. De manera que el momento de orden 0 ( $p = 0, q = 0$ ) representa la “masa” de la imagen. En caso de imágenes binarizadas  $m_{00}$  representa una superficie [39].

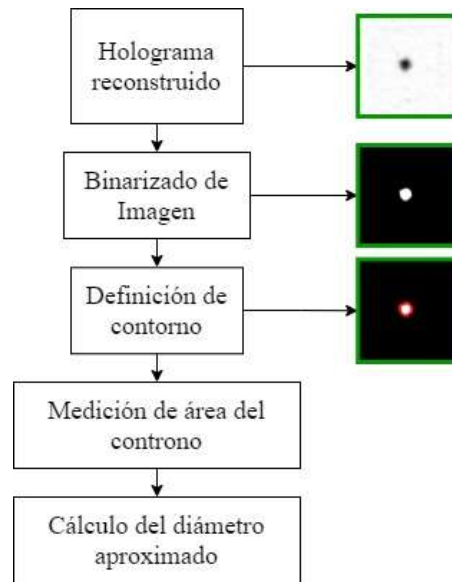


Figura 3.18. Diagrama de flujo medición del tamaño de la partícula.

El tamaño de la partícula reconstruida es tomado como el diámetro equivalente al círculo cuya área es la misma que el área del contorno [39–41]. Este diámetro es descrito por:

$$Eq. Diam. = \sqrt{\frac{4m_{00}}{\pi}}. \quad (3.5)$$

### 3.8 Determinación de la forma del objeto reconstruido

Para definir la forma de un objeto reconstruido se realizó una aproximación a una elipse. Método comúnmente empleado para definir forma de rocas minerales [42]. De modo que podemos utilizar la excentricidad de la elipse como un parámetro único para determinar la forma de una partícula. El proceso para determinar el tamaño de una partícula consiste de 5 etapas como se muestra en la Figura 3.19.

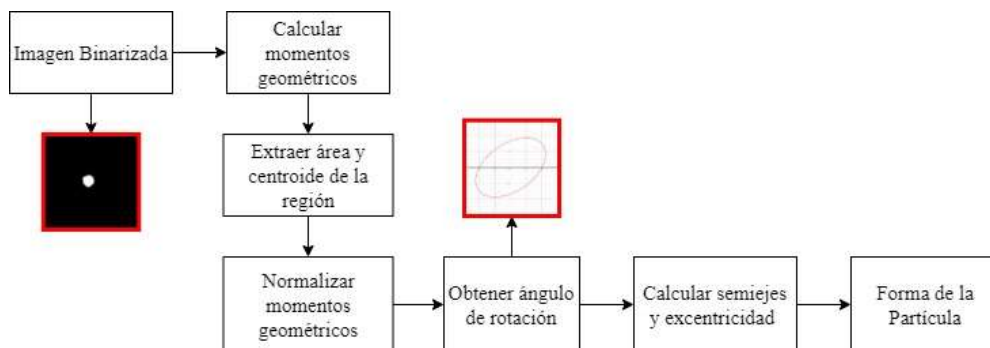


Figura 3.19. Diagrama de flujo determinación de la forma de una partícula.

Partiendo de la imagen binarizada el primer paso es calcular los momentos geométricos de órdenes 0, 1 y 2. El segundo paso consiste en obtener el área y el centroide de la región, como se mencionó en la sección anterior el área corresponde al momento  $m_{00}$ . El centroide  $(x_c, y_c)$  de la región es obtenido a partir de los momentos de primer orden ( $m_{01}$  y  $m_{10}$ ) como se muestra en las ecuaciones:

$$x_c = \frac{m_{10}}{m_{00}} \quad (3.6)$$

y

$$y_c = \frac{m_{01}}{m_{00}} \quad (3.7)$$

La aproximación a una elipse se obtiene a partir de los momentos de segundo orden ( $m_{20}$ ,  $m_{11}$  y  $m_{02}$ ). El primer paso es obtener los momentos normalizados ( $\mu_{pq}$ ) ésto se consigue dividiendo entre el área de la región cada momento de segundo orden como se muestra:

$$\mu_{20} = \frac{m_{20}}{m_{00}}, \quad (3.8)$$

$$\mu_{11} = \frac{m_{11}}{m_{00}}, \quad (3.9)$$

$$\mu_{02} = \frac{m_{02}}{m_{00}}. \quad (3.10)$$

A partir de los momentos normalizados es que se obtiene la longitud de los semiejes mayor, menor, así como el ángulo de orientación. El semieje mayor ( $a$ ) se calcula como:

$$a = \frac{\sqrt{8 \left( \mu_{20} + \mu_{02} + \sqrt{4\mu_{11}^2 + (\mu_{20}^2 - \mu_{02}^2)} \right)}}{2}. \quad (3.11)$$

El semieje menor ( $b$ ) se calcula como:

$$b = \frac{\sqrt{8 \left( \mu_{20} + \mu_{02} - \sqrt{4\mu_{11}^2 + (\mu_{20}^2 - \mu_{02}^2)} \right)}}{2}. \quad (3.12)$$

Y el ángulo de orientación ( $\varphi$ ) como:

$$\varphi = \frac{1}{2} \arctan \left( \frac{2\mu_{11}}{\mu_{20} - \mu_{02}} \right). \quad (3.13)$$

Recordemos las elipses deben de cumplir con la condición:

$$a^2 = c^2 + b^2 \quad \text{con} \quad a > b, \quad a > c \quad (3.14)$$

Donde  $c$  es el semieje focal. Finalmente, la excentricidad es calculada como:

$$e = \frac{c}{a} \quad \text{con} \quad e < 1. \quad (3.15)$$

De manera que una excentricidad igual a 0 representa una forma completamente circular.

## 4 Resultados

En capítulos anteriores se habló de los fundamentos de holografía digital haciendo énfasis en el caso específico cuando se trabaja con un frente de onda esférico, se presentó una alternativa que es el algoritmo de optimización para mejorar los tiempos de búsqueda de datos; el proceso de diseño e integración de elementos mecánicos y electrónicos del instrumento; así como las técnicas empleadas tanto en la generación como en la reconstrucción de hologramas digitales. En esta sección se presentan las capacidades del instrumento. También se añaden las reconstrucciones de hologramas de partículas de vidrio, aluminio y poliestireno. Además, se presenta el rendimiento obtenido por parte de los algoritmos de optimización. Y finalmente los errores relativos obtenidos tanto para la posición como para el tamaño de partículas. Recordemos para esto que el error relativo porcentual se determina como:

$$E. Rel_{(\%)} = \frac{|Valor\ medido - Valor\ real|}{Valor\ real} \times 100\% \quad (4.1)$$

### 4.1 Resultados de calibración

La Figura 4.1 presenta la curva de error relativo para los hologramas de calibración siendo 6.71 mm la distancia  $z$  (diodo láser – plano objeto) con el menor error relativo promedio para la posición de la partícula con un error del 5.95%. El cual representa una distancia de 900  $\mu\text{m}$  en promedio.

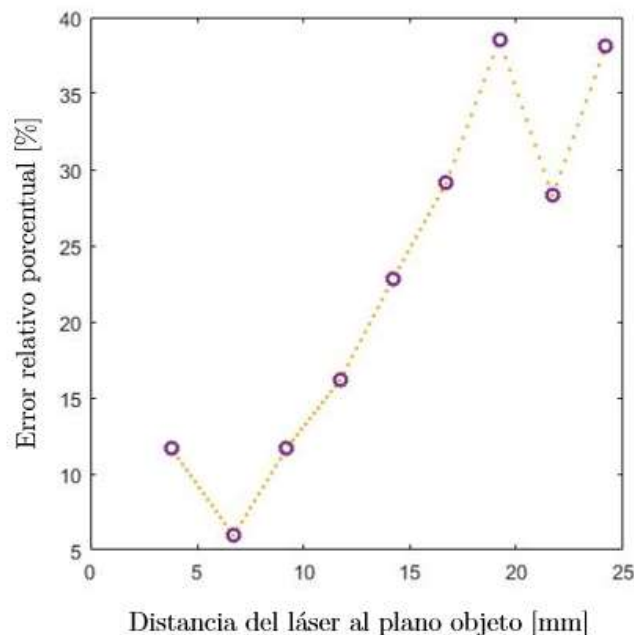


Figura 4.1. Error relativo promedio según posición de diodo láser.

### 4.2 Error de posición y tamaño para disco sólido de calibración

Definiendo  $z$  como 6.71 mm los resultados obtenidos de la reconstrucción de los hologramas generados a partir de un disco sólido de 70  $\mu\text{m}$  de la Figura 3.10 para diferentes distancias  $L$  se



muestran en la Tabla 4.1 y de forma gráfica en la Figura 4.2. Se puede observar que mientras más se aleja el plano de observación del plano objeto el error relativo disminuye. Esto nos indicaría que la mejor distancia  $L$  son 29.14 mm. Sin embargo, existe la problemática que el patrón de interferencia de hologramas grabados a esa distancia tiene un área muy grande (véase la Figura 3.10i), requiriendo de igual manera de una ROI considerablemente grande para reconstruir adecuadamente el holograma provocando un mayor tiempo de ejecución del algoritmo. En la sección 4.4 presentará un análisis detallado del rendimiento de los algoritmos utilizados.

Tabla 4.1. Tabla de error en distancia de reconstrucción  $L$  para una distancia  $z=6.71$  mm.

Holograma	Distancia $L$ medida [mm]	Distancia $L$ de reconstrucción [mm]	Error Absoluto [mm]	Error relativo [%]
1	12.16	10.40	1.76	14.47%
2	14.28	12.90	1.38	9.66%
3	16.90	15.60	1.30	7.69%
4	18.68	17.75	1.08	4.95%
5	21.24	20.40	0.84	3.95%
6	23.10	23.60	0.50	2.16%
7	26.46	25.45	1.01	3.82%
8	29.14	29.15	0.01	0.03%

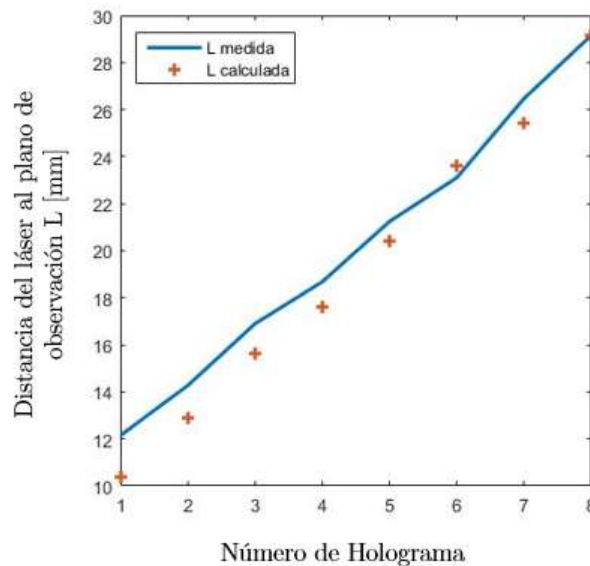


Figura 4.2. Error en distancia de reconstrucción  $L$ .

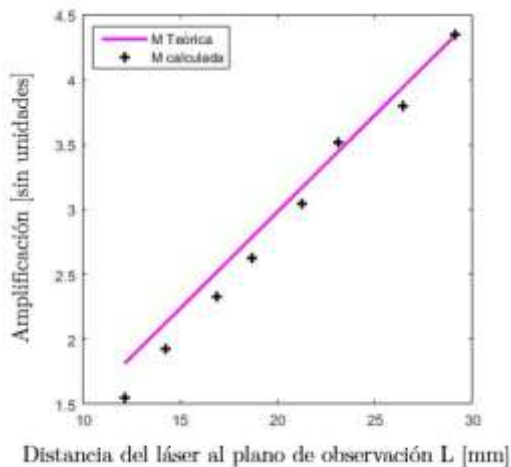
Un error en la distancia de reconstrucción desencadena un error tanto en la amplificación ( $M$ ) ya que ésta depende del valor de  $L$  (véase la ecuación (2.33)). Y dado que el algoritmo calcula  $M$  en un primer paso y posteriormente el tamaño de la partícula, éste también resulta afectado. La Tabla 4.2 presenta el error obtenido para la amplificación, mientras que la Tabla 4.3 muestra el error para el tamaño del disco sólido calculado. De la misma manera se presenta gráficamente el error tanto en la amplificación como en el tamaño del disco de  $70 \mu\text{m}$  en la Figura 4.3.

Tabla 4.2. Tabla de error en amplificación para una distancia  $z = 6.71$  mm.

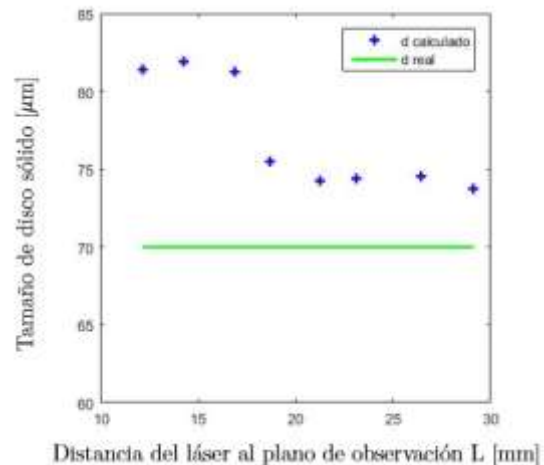
Holograma	Amplificación Teórica	Amplificación en reconstrucción	Error absoluto	Error relativo [%]
1	1.812	1.550	0.262	14.47%
2	2.128	1.923	0.206	9.66%
3	2.519	2.325	0.194	7.69%
4	2.784	2.645	0.139	4.98%
5	3.165	3.040	0.125	3.95%
6	3.443	3.517	0.075	2.16%
7	3.943	3.793	0.151	3.82%
8	4.343	4.344	0.001	0.03%

Tabla 4.3. Tabla de error en tamaño de disco sólido para una distancia  $z = 6.71$  mm.

Holograma	Tamaño de disco medido [ $\mu\text{m}$ ]	Error absoluto [ $\mu\text{m}$ ]	Error relativo [%]
1	81.41	11.41	14.47%
2	81.94	11.94	9.66%
3	81.25	11.25	7.69%
4	75.52	5.52	5.78%
5	74.23	4.23	3.95%
6	74.43	4.43	2.16%
7	74.56	4.56	3.82%
8	73.77	3.77	0.03%



a)



b)

Figura 4.3. Error en a) Amplificación y b) en la medición del tamaño de disco sólido.

### 4.3 Error en función del tamaño de la ROI

Como se mencionó en la sección 3.4 el tamaño de la región de interés seleccionada influirá en el resultado de la reconstrucción tanto al obtener la posición como el tamaño de la partícula. La Figura 4.3 presenta el error en función del tamaño de la ROI para el holograma de la Figura 3.10e correspondiente al holograma número 5 de la Tabla 4.2 y la Tabla 4.3, el cual presenta un error

relativo menor al 5%. Nótese que una vez a partir 800 px el error permanece constante en el caso de la posición y para el tamaño fluctúa muy poco. De manera que para reconstruir correctamente hologramas grabados a una distancia  $L = 18.68$  mm se necesitan al menos ROI de 800x800 px. Puede decirse que en ese tamaño de ROI el holograma se encuentra prácticamente completo. Tener una ROI relativamente pequeña permite ejecutar en menor tiempo la reconstrucción de hologramas.

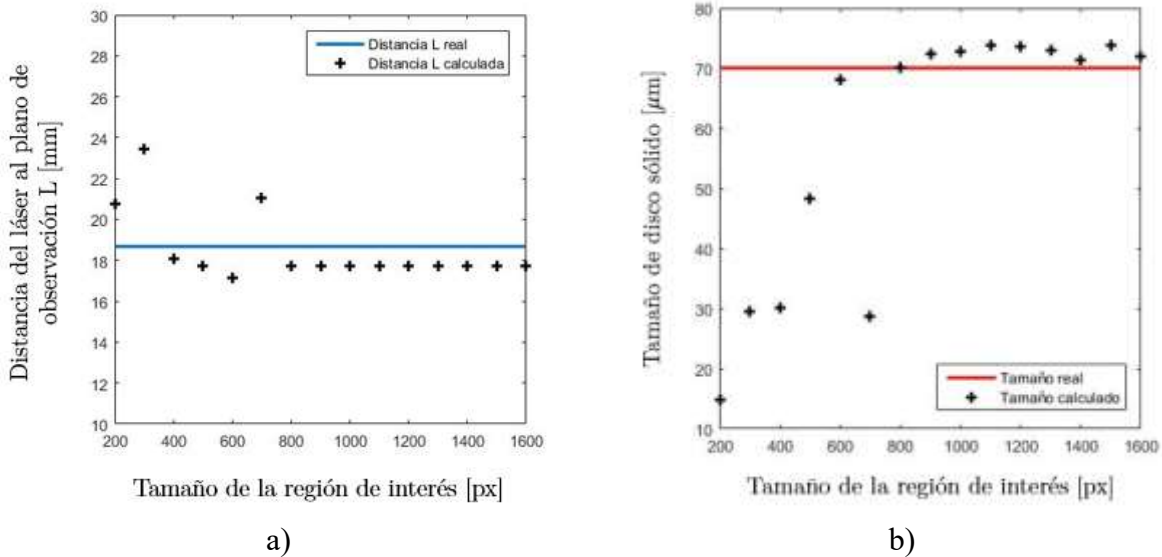


Figura 4.4. Error en función del tamaño de la región de interés para: a) distancia de reconstrucción  $L$  y para b) el tamaño de la partícula.

## 4.4 Rendimiento de algoritmos

Buscando conocer la efectividad del algoritmo de optimización de Nelder – Mead, así como el tiempo de ejecución aplicándolo a la reconstrucción de hologramas (como se explicó en la sección 3.6), se realizó una comparativa a partir del holograma del disco sólido mostrado en la Figura 3.12. de acuerdo a las siguientes condiciones: se definió un rango de búsqueda de 1 cm de separación entre los valores  $L$  mínimo y  $L$  máximo; la distancia definida para las componentes del vector  $L$  fue de 0.1 mm, teniendo un total de 100 iteraciones. Al algoritmo de optimización se le agregó una condicionante que se detuviera cuando la distancia entre los dos mejores valores de  $L$  del simplex que minimicen la varianza de la parte imaginaria sean menores o iguales a 0.1 mm. La Tabla 4.4 y la Figura 4.5 presentan los tiempos obtenidos para ambos algoritmos en función del tamaño de la ROI seleccionada para la reconstrucción.

Tabla 4.4. Tiempo de ejecución entre algoritmo típico de reconstrucción de hologramas VS algoritmo de optimización de Nelder - Mead.

Tamaño ROI [px]	Tiempo de ejecución algoritmo típico [s]	Tiempo de ejecución algoritmo Nelder - Mead [s]	Iteraciones
400	28	17	9
500	43	64	20
600	62	19	5
700	81	27	6
800	104	31	6
900	147	67	9
1000	150	87	10
1100	194	63	7
1200	258	76	7
1300	282	173	11
1400	310	155	9
1500	381	230	11
1600	450	204	9

Es importante mencionar que el algoritmo de optimización presenta pocas iteraciones y al observar la curva de tiempo de ejecución se presentan oscilaciones, ésto debido a que no siempre se ejecuta la misma secuencia de pasos. Dependiendo el camino que se siga durante el algoritmo será el número de veces que se evalúa la función a minimizar. Las iteraciones más largas son aquellas donde se efectúan los pasos de contracción o encogimiento y éstas suelen presentarse en la mayoría de las ocasiones sobre el final del algoritmo.

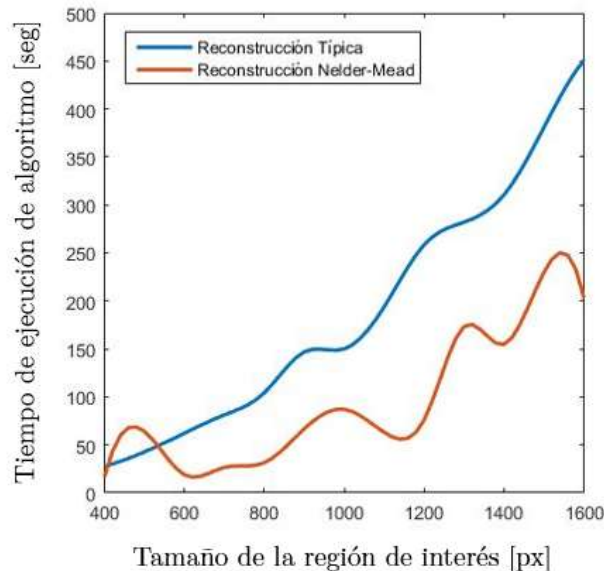


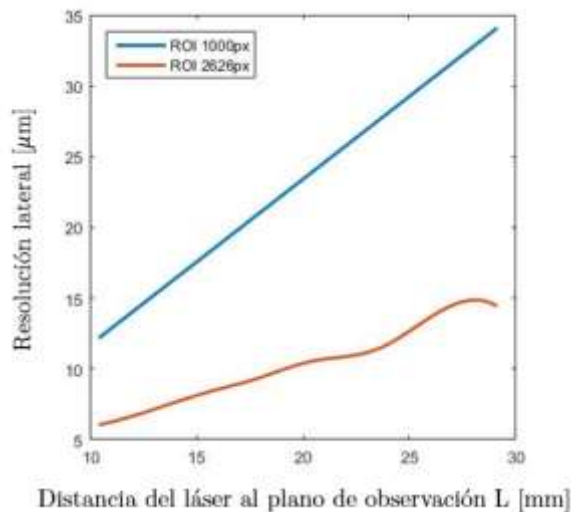
Figura 4.5. Tiempo de reconstrucción de hologramas en función del tamaño de la región de interés.

## 4.5 Resolución del instrumento

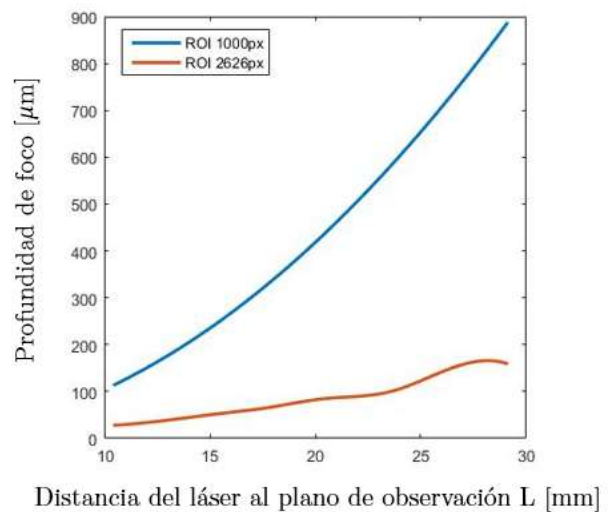
En la Tabla 4.5 se presentan los resultados experimentales obtenidos para la resolución lateral ( $\delta_{\text{lateral}}$ ) y la profundidad de foco ( $\delta_{\text{foco}}$ ) para los hologramas de la Figura 3.10 para una ROI de 1000x1000 px. Como se observa en las ecuaciones (2.38) y (2.40) tanto  $\delta_{\text{lateral}}$  como  $\delta_{\text{foco}}$  dependen de la apertura numérica del sistema ( $NA$ ). Por lo que la mejor resolución en ambos casos se obtendrá con un mayor tamaño de ROI, así como una mayor distancia  $L$ . En la Figura 4.6 se puede observar la tendencia para  $\delta_{\text{lateral}}$  y para  $\delta_{\text{foco}}$  para la ROI antes mencionada en comparativa con la equivalente para el máximo tamaño posible de ROI que es 2646x2646 px. A pesar de que tenemos un tamaño de sensor de 3280 px de largo no es posible utilizar este tamaño de ROI. Ya que de acuerdo con la literatura lo más recomendado es utilizar ROI cuadradas [32].

Tabla 4.5. Resolución lateral y profundidad de foco para hologramas reconstruidos.

$L$ calculada [mm]	$NA$	$\delta_{\text{lateral}}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$\delta_{\text{foco}}$ [ $\mu\text{m}$ ]
10.40	0.054	12.18	113.28
12.90	0.043	15.10	174.11
15.60	0.036	18.26	254.47
17.75	0.032	20.77	329.35
20.40	0.027	23.87	434.93
23.60	0.024	27.61	581.97
25.45	0.022	29.77	676.74
29.15	0.019	34.10	887.71
10.40	0.054	12.18	113.28



a)



b)

Figura 4.6. Curva de a) Resolución lateral y b) profundidad de foco; en ROI de 1000x1000 px VS 2646x2646 px.

Tanto la Tabla 4.5 como la Figura 4.6 muestran los resultados para profundidad de foco en función del tamaño del holograma. Dado que la partícula utilizada fue un disco sólido de 70  $\mu\text{m}$  de

diámetro, considerando la ecuación (2.42) la profundidad de foco según el tamaño de la partícula es  $\delta_{partícula} = 3.74 \text{ mm}$ .

## 4.6 Reconstrucción de hologramas y extracción de propiedades de partículas

Los resultados mostrados en secciones anteriores representan todos los parámetros de caracterización en base a la reconstrucción de hologramas de un disco de  $70 \mu\text{m}$  de diámetro. La presente sección muestra los resultados obtenidos para hologramas de partículas de poliestireno de  $50 \mu\text{m}$  y  $30 \mu\text{m}$  de diámetro, partículas de vidrio de  $37.5 \mu\text{m}$  y partículas de aluminio de  $10 \mu\text{m}$  de diámetro. Primeramente, se muestra en la Figura 4.7 un holograma con una baja densidad de partículas de poliestireno de  $50 \mu\text{m}$  y su respectiva reconstrucción para una región de interés de  $2000 \text{ px}$ , a una distancia  $L$  de  $17.5 \text{ mm}$ , con una resolución lateral de  $10.26 \mu\text{m}$  y una profundidad de foco de  $1.91 \text{ mm}$  para las partículas.

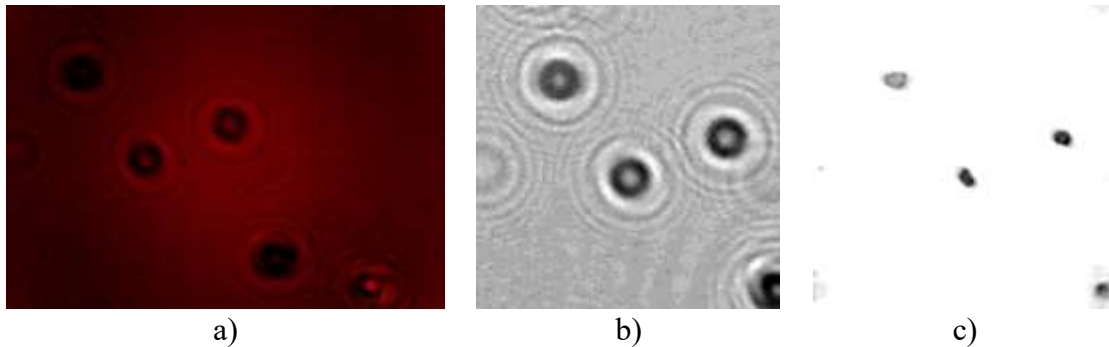


Figura 4.7. a) Holograma original, b) región de interés y c) reconstrucción para una baja densidad de partículas de poliestireno de  $50 \mu\text{m}$ .

La Figura 4.8 presenta el resultado obtenido al correr la rutina para determinar la forma de la partícula, la Figura 4.7c se obtienen 4 elipses, mas, sin embargo, solamente las partículas 2 y 3 las consideramos partículas válidas ya que para la partícula 1 no se toma el patrón de interferencia completo. Observando el holograma original al ver le patrón de interferencia lo más probable es que en ese punto existe un cúmulo de partículas. También, la partícula 4 no es del todo válida puesto que se muestra difuminada por no estar en su posición de foco. Tabla 4.6 presenta los resultados de forma y tamaño para las partículas reconstruidas de la Figura 4.7. Cabe mencionar que para una elipse con relación 2:1 entre sus semiejes mayor y menor la excentricidad tiene un valor de  $\frac{\sqrt{3}}{2}$ .

Tabla 4.6. Resultados de reconstrucción de partículas de  $50 \mu\text{m}$ .

Partícula	Tamaño [ $\mu\text{m}$ ]	Excentricidad	Orientación [ $^\circ$ ]
1	48.53	0.796	57.32
2	48.16	0.934	53.50
3	49.67	0.826	45.02
4	53.92	0.826	10.66

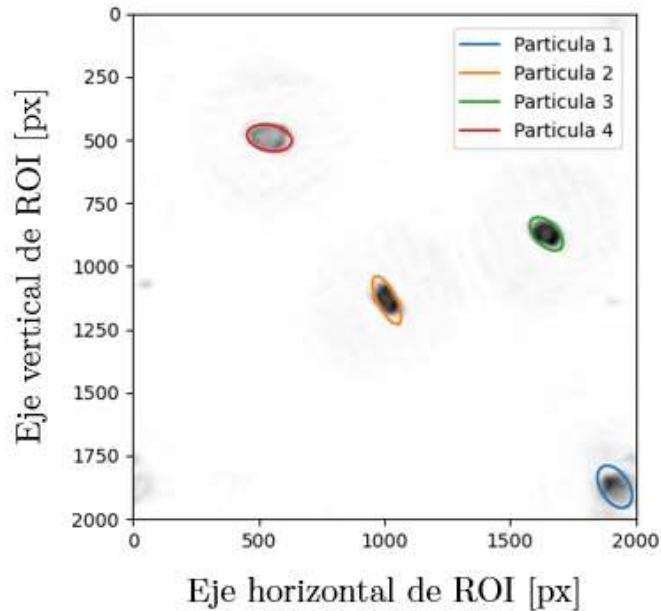


Figura 4.8. Determinación de la forma de partículas de  $50 \mu\text{m}$ .

En la Figura 4.9 se presenta mismo procedimiento para una muestra nuevamente con partículas de poliestireno, pero de un tamaño de  $30 \mu\text{m}$  a una distancia  $L$  de reconstrucción de  $17 \text{ mm}$ , una ROI de  $1500 \text{ px}$ , una resolución lateral de  $9.96 \mu\text{m}$  y una profundidad de foco de  $687 \mu\text{m}$ .

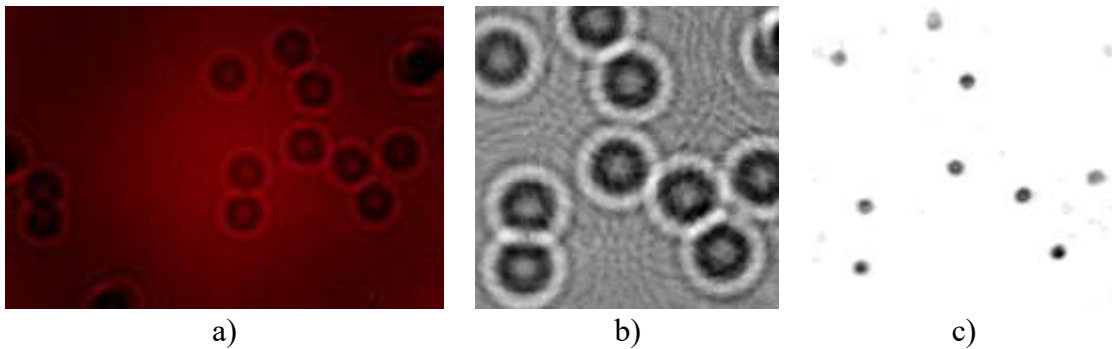


Figura 4.9. a) Holograma original, b) región de interés y c) reconstrucción para una baja densidad de partículas de poliestireno de  $30 \mu\text{m}$ .

En la Figura 4.10 se presenta el ajuste a una elipse correspondiente para cada una de las 9 partículas reconstruidas. En este caso se consideran no válidas las partículas 5,8,9 ya que al no estar completo el patrón del holograma correspondiente éstas se presentan difuminadas. Los valores de forma y tamaño obtenido se muestran en la Tabla 4.7.

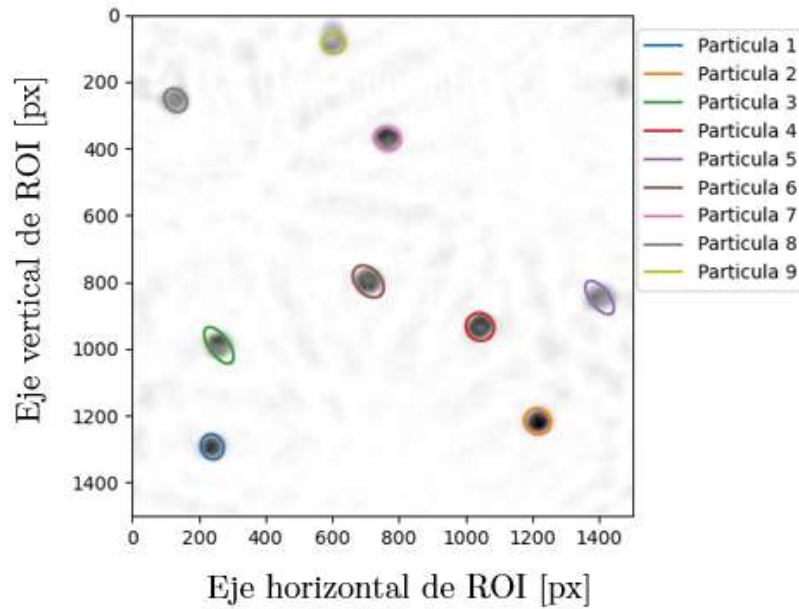


Figura 4.10. Determinación de la forma de partículas de 30  $\mu\text{m}$ .

Tabla 4.7. Resultados de reconstrucción de partículas de 30  $\mu\text{m}$ .

Partícula	Tamaño [ $\mu\text{m}$ ]	Excentricidad	Orientación [ $^\circ$ ]
1	28.52	0.468	70.33
2	30.55	0.405	41.48
3	29.17	0.887	54.35
4	32.42	0.348	45.16
5	27.97	0.879	52.01
6	31.40	0.734	47.83
7	30.46	0.531	17.70
8	25.55	0.531	50.97
9	22.96	0.367	1.70

La Figura 4.11 presenta el holograma y la reconstrucción para una partícula de vidrio esférica de 37.5  $\mu\text{m}$  de diámetro aislada con una ROI de 800px. Con una resolución lateral de 25.74  $\mu\text{m}$  y profundidad de foco de 505  $\mu\text{m}$ . Obteniendo una medición de 36.81  $\mu\text{m}$  de diámetro y una excentricidad de 0.455. En la Figura 4.10 y en la Figura 4.11 se presentan partículas que a simple vista lucen como partículas esféricas, más no son reconocidas por el algoritmo como tal. Este error puede atribuirse al ruido de la imagen.



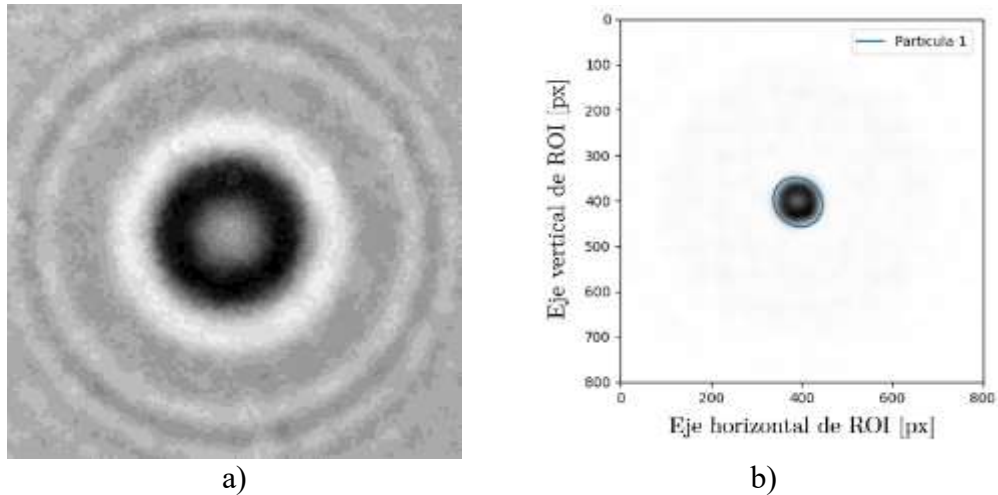


Figura 4.11. a) Holograma aislado y su b) reconstrucción para una partícula de vidrio aislada.

Mezclando una pequeña cantidad de alcohol con la muestra de partículas de vidrio, se grabaron hologramas consecutivos de partículas en movimiento esto con el fin de determinar el desplazamiento en 2D de las mismas. En la Figura 4.12 se muestra una serie de tres hologramas consecutivos con una diferencia de 0.5 segundos entre sí para estas partículas.

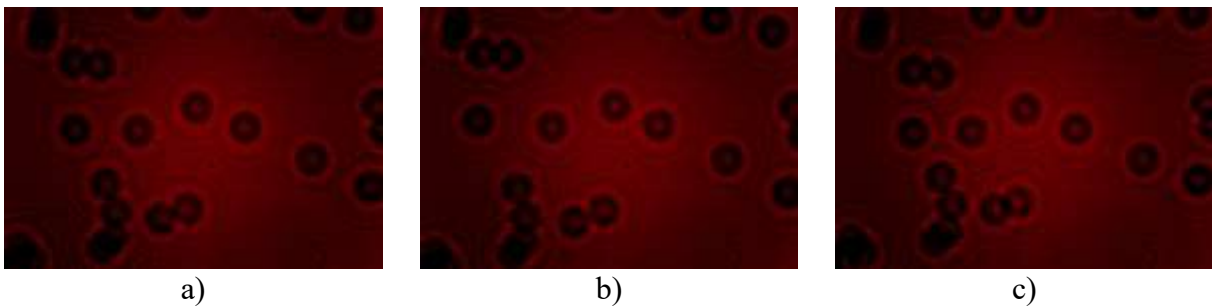


Figura 4.12. Secuencia de hologramas consecutivos con una diferencia de 0.5s entre sí.

Reconstruyendo a una distancia  $L=17.1$  mm y para ROI de 2000 px, siendo  $\delta_{\text{lateral}}=10.02$   $\mu\text{m}$  y  $\delta_{\text{foco}}=1.07$  mm, la Figura 4.13 presenta gráficamente el desplazamiento de dichas partículas, para el holograma reconstruido de la Figura 4.12c.

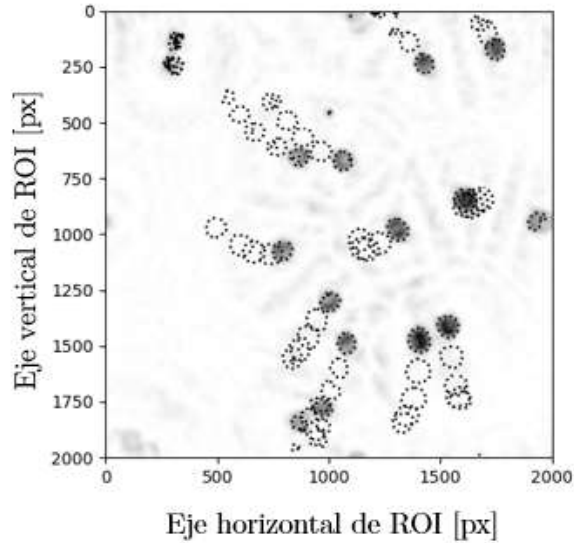


Figura 4.13. Reconstrucción de holograma ubicando vectores de desplazamiento.

Utilizando partículas de aluminio esféricas de  $10\ \mu\text{m}$  se repitió el mismo proceso, reconstruir el holograma y extraer sus propiedades. Como se puede ver en la figura para este caso particular la concentración de partículas es muy pequeña. Debido al tamaño de la partícula el holograma es casi indistinguible. Con el procesamiento mencionado en la sección 3.4. La partícula reconstruida de la Figura 4.14c se encontró a una distancia  $L=17.9\ \text{mm}$  en una ROI de 1000 px, con resolución  $\delta_{\text{lateral}}=29.95\ \mu\text{m}$  y  $\delta_{\text{partícula}}=98.5\ \mu\text{m}$ , así como un diámetro de  $11.36\ \mu\text{m}$ . La mayoría de los hologramas presentaron partículas aisladas por lo que a partir de una serie de hologramas consecutivos nuevamente reconstruyendo y extrayendo la posición  $(x,y,z)$  de la partícula es posible recrear una trayectoria de movimiento como la mostrada en la Figura 4.15.

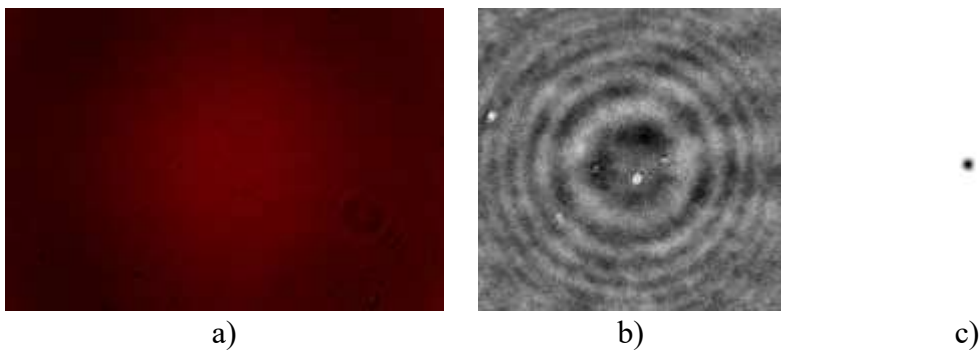


Figura 4.14. a) Holograma original, b) región de interés y c) reconstrucción para una partícula de aluminio de  $10\ \mu\text{m}$ .

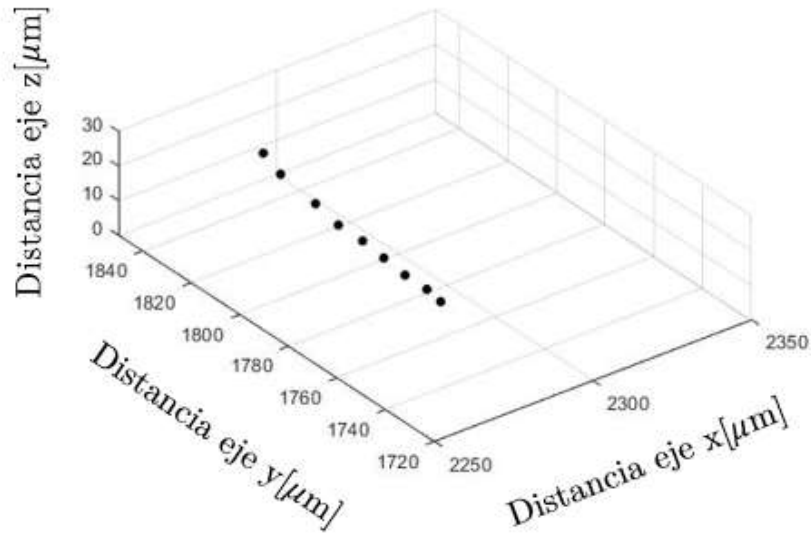


Figura 4.15. Trayectoria para partícula de 10  $\mu\text{m}$ .

En esta sección se presentaron los resultados obtenidos para diferentes tipos de partículas. Es posible reconstruir sin problemas partículas de hasta 10  $\mu\text{m}$  de diámetro. Lo que indicaría que para esta primera versión el instrumento es óptima para poder extraer propiedades de partículas en un rango de 10 – 70  $\mu\text{m}$ . Eso no significa que sea la máxima resolución, ya que se cuenta con un tamaño de pixel de 1.12  $\mu\text{m}$  y una amplificación en el rango de 2.63 – 4.344 de modo que debería ser posible visualizar partículas mucho más pequeñas. De acuerdo con las ecuaciones (2.41) y (2.43) la apertura numérica mínima para este tamaño de pixel es 0.292 la cual corresponde a una partícula de 2.30  $\mu\text{m}$ . Ahora considerando la amplificación máxima obtenida de 4.344 y de acuerdo con la ecuación (2.45) el sistema debería de poder ver partículas de hasta 530.06 nm.

## 5 Conclusiones

El desarrollo de este trabajo ha demostrado que es posible extraer información de partículas micrométricas utilizando instrumentación funcional de fácil acceso. El sistema desarrollado fue compuesto de un diodo láser con una longitud de onda de 655 nm, una muestra con partículas y una cámara digital; controlado a partir de una computadora pequeña (Raspberry Pi) mediante una serie de códigos para el grabado y reconstrucción de los hologramas en prácticamente cualquier sitio del campo de visión. Gracias a la información de fase contenida en un holograma y a los métodos de grabación y reconstrucción de los mismos es posible obtener información en 3 dimensiones de partículas micrométricas como la posición, así como la forma y el tamaño de las partículas.

La técnica empleada en el sistema fue DIH que a pesar de su sencillez fue posible generar hologramas de muy buena calidad. Para reconstruir los hologramas se utilizó un modelo matemático basado en teoría de difracción de Fresnel – Kirchhoff utilizando un frente de onda esférico como iluminación y la aproximación paraxial. El uso de ondas esféricas permite obtener en el plano de observación una amplificación en función de la distancia entre la fuente de luz y el sensor. Durante la reconstrucción se utilizó un algoritmo de optimización de Nelder – Mead para extraer la posición de las partículas. Este algoritmo permitió reconstruir los hologramas en un tiempo bastante corto, pues esta metodología permite ahorrarnos una cantidad considerable de iteraciones de procesamiento. Sin embargo, dado el comportamiento del método, es posible que en algunos casos su ejecución puede demorar bastante para llegar a un valor de posición adecuado; por lo que lo más recomendable es ejecutar el algoritmo de Nelder – Mead una vez ha sido caracterizado el sistema. De manera que se pueda procesar más rápido mayores cantidades de información y poder reconstruir adecuadamente un mayor volumen de partículas o calcular trayectorias en intervalos de tiempo considerables.

El instrumento tiene una resolución lateral de hasta  $9.27 \mu\text{m}$ , así como puede la mejor profundidad de foco que puede alcanzar es de  $65.62 \mu\text{m}$ . Esto puede mejorar bastante añadiendo al arreglo óptico una lente, más esto conllevaría modificar el modelo matemático del holograma para determinar correctamente la reconstrucción.

Hoy día son bastantes las técnicas que existen para extraer información a partir de hologramas digitales, uno de los principales retos a futuro es el aumento de la resolución del instrumento siguiendo con el concepto de ser funcional y capaz de ser utilizado en prácticamente cualquier lugar sin depender de las condiciones controladas del laboratorio. Además, el hecho de que cada día se mejoran los ordenadores resulta conveniente para este tipo de trabajos donde se requiere hacer una cantidad considerable de operaciones matemáticas. El acceso a mejor *hardware* permite trabajar con modelos matemáticos más complejos y no solo aproximaciones, permitiendo determinar las propiedades de partículas con una mayor precisión.

## 5.1 Trabajo futuro

- Rediseñar ciertas monturas del instrumento buscando que su montaje sea aún más simple que el que ya se tiene.
- Fabricar monturas en un material resistente como aluminio o acero, por mencionar algunos, esto para tener un instrumento mucho más robusto permitiendo llevar esta clase de pruebas a un ambiente industrial.
- Incluir sensores entre monturas para la medición de las distancias  $z$  y  $L$ , de modo que pueda simplificarse un poco el proceso de calibración del instrumento ya que el diodo láser es desmontable y pueda realizarse experimentación con diferentes longitudes de onda.
- Aumentar la resolución del sistema. Esto pudiera ser realizando un arreglo de holografía fuera de eje pudiendo aumentar la resolución del instrumento o añadiendo alguna configuración particular con lentes.
- Mejorar los algoritmos para la reconstrucción de hologramas buscando que sean más eficientes y permitan generar resultados de mayor exactitud para las propiedades de partículas.
- Migrar a una plataforma más rápida. Ya que este sistema fue programado en Python que es un lenguaje interpretado que en su ejecución suele ser ligeramente más lento que los lenguajes compilados como C y C++.
- Implementar un modelo matemático para los hologramas matemático más robusto como es la teoría de Lorenz – Mie, para incluir el índice de refracción de partículas como parámetro a extraer de los hologramas. Así como caracterizar diodos láser como haces gaussianos buscando tener resultados más precisos.

## 6 Referencias

- [1] G. Gouesbet and G. Gréham, *Generalized Lorenz-Mie Theories*, Second. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2017.
- [2] F. C. Cheong, B. S. Rémi Dreyfus, J. Amato-Grill, K. Xiao, L. Dixon, and D. G. Grier, “Flow visualization and flow cytometry with holographic video microscopy,” *Opt. Express*, vol. 17, no. 15, p. 13071, 2009, doi: 10.1364/oe.17.013071.
- [3] Y. S. Choi and S. J. Lee, “Three-dimensional volumetric measurement of red blood cell motion using digital holographic microscopy,” *Appl. Opt.*, vol. 48, no. 16, pp. 2983–2990, 2009, doi: 10.1364/AO.48.002983.
- [4] G. Di Caprio *et al.*, “4D tracking of clinical seminal samples for quantitative characterization of motility parameters,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 5, no. 3, pp. 690–700, 2014, doi: 10.1364/boe.5.000690.
- [5] F. Aureli, M. D’Amato, A. Raggi, and F. Cubadda, “Quantitative characterization of silica nanoparticles by asymmetric flow field flow fractionation coupled with online multiangle light scattering and ICP-MS/MS detection,” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 30, no. 6, pp. 1266–1273, 2015, doi: 10.1039/c4ja00478g.
- [6] J. Liu, K. E. Murphy, R. I. Maccuspie, and M. R. Winchester, “Capabilities of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry for the size measurement of nanoparticles: A case study on gold nanoparticles,” *Anal. Chem.*, vol. 86, no. 7, pp. 3405–3414, 2014, doi: 10.1021/ac403775a.
- [7] S. Lee, X. Bi, R. B. Reed, J. F. Ranville, P. Herckes, and P. Westerhoff, “Nanoparticle size detection limits by single particle ICP-MS for 40 elements,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 48, no. 17, pp. 10291–10300, 2014, doi: 10.1021/es502422v.
- [8] Y. Matsuura, A. Nakamura, and H. Kato, “Nanoparticle tracking velocimetry by observing light scattering from individual particles,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 256, pp. 1078–1085, 2018, doi: 10.1016/j.snb.2017.10.054.
- [9] G. V. Soni, B. M. J. Ali, Y. Hatwalne, and G. V. Shivashankar, “Single particle tracking of correlated bacterial dynamics,” *Biophys. J.*, vol. 84, no. 4, pp. 2634–2637, 2003, doi: 10.1016/S0006-3495(03)75068-1.
- [10] M. Wu, J. W. Roberts, S. Kim, D. L. Koch, and M. P. DeLisa, “Collective bacterial dynamics revealed using a three-dimensional population-scale defocused particle tracking technique,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 72, no. 7, pp. 4987–4994, 2006, doi: 10.1128/AEM.00158-06.
- [11] R. Bowman, G. Gibson, and M. Padgett, “Particle tracking stereomicroscopy in optical tweezers: Control of trap shape,” *Opt. Express*, vol. 18, no. 11, p. 11785, 2010, doi: 10.1364/oe.18.011785.
- [12] W. Xu, M. H. Jericho, I. A. Meinertzhagen, and H. J. Kreuzer, “Digital in-line holography for biological applications,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 98, no. 20, pp. 11301–11305, 2001, doi: 10.1073/pnas.191361398.
- [13] J. Sheng, E. Malkiel, and J. Katz, “Digital holographic microscope for measuring three-dimensional particle distributions and motions,” *Appl. Opt.*, vol. 45, no. 16, pp. 3893–3901, 2006, doi: 10.1364/AO.45.003893.
- [14] S.-H. Lee and D. G. Grier, “Holographic microscopy of holographically trapped three-dimensional structures,” *Opt. Express*, vol. 15, no. 4, p. 1505, 2007, doi: 10.1364/oe.15.001505.
- [15] S.-H. Lee *et al.*, “Characterizing and tracking single colloidal particles with video holographic microscopy,” *Opt. Express*, vol. 15, no. 26, pp. 18275–18282, 2007, doi: 10.1364/oe.15.018275.
- [16] F. C. Cheong, B. J. Krishnatreya, and D. G. Grier, “Strategies for three-dimensional particle tracking with holographic video microscopy,” *Opt. Express*, vol. 18, no. 13, pp. 13563–13573, 2010, doi: 10.1364/oe.18.013563.
- [17] D. Moreno, F. Mendoza Santoyo, J. Ascencion Guerrero, and M. Funes-Gallanzi, “Particle

- positioning from charge-coupled device images by the generalized Lorenz–Mie theory and comparison with experiment,” *Appl. Opt.*, vol. 39, no. 28, pp. 5117–5124, 2000, doi: 10.1364/ao.39.005117.
- [18] D. Moreno-Hernandez, J. Andrés Bueno-García, J. Ascención Guerrero-Viramontes, and F. Mendoza-Santoyo, “3D particle positioning by using the Fraunhofer criterion,” *Opt. Lasers Eng.*, vol. 49, no. 6, pp. 729–735, 2011, doi: 10.1016/j.optlaseng.2011.01.019.
- [19] J. A. Guerrero-Viramontes, D. Moreno-Hernandez, F. Mendoza-Santoyo, and M. Funes-Gallanzi, “3D particle positioning from CCD images using the generalized Lorenz-Mie and Huygens-Fresnel theories,” *Meas. Sci. Technol.*, vol. 17, no. 8, pp. 2328–2334, 2006, doi: 10.1088/0957-0233/17/8/039.
- [20] D. Moreno-Hernandez, “Three-dimensional particle position using continuous wavelet and circle Hough transforms,” *Opt. Eng.*, vol. 50, no. 5, p. 053604, 2011, doi: 10.1117/1.3575650.
- [21] M. D. Montaña, B. J. Majestic, Å. K. Jämting, P. Westerhoff, and J. F. Ranville, “Methods for the Detection and Characterization of Silica Colloids by Microsecond spICP-MS,” *Anal. Chem.*, vol. 88, no. 9, pp. 4733–4741, 2016, doi: 10.1021/acs.analchem.5b04924.
- [22] D. Gabor, “A new microscopic principle,” *Nature*, vol. 135, no. 1–2, pp. 777–778, 1948.
- [23] D. Gabor, “Microscopy by reconstructed wave-fronts,” *Proc. R. Soc. London. Ser. A. Math. Phys. Sci.*, vol. 197, no. 1051, pp. 454–487, Jul. 1949, doi: 10.1098/rspa.1949.0075.
- [24] D. Gabor, “Microscopy by Reconstructed Wave Fronts: II,” *Proc. Phys. Soc. Sect. B*, vol. 64, no. 6, pp. 449–469, Jun. 1951, doi: 10.1088/0370-1301/64/6/301.
- [25] E. N. Leith and J. Upatnieks, “Reconstructed Wavefronts and Communication Theory\*,” *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 52, no. 10, p. 1123, Oct. 1962, doi: 10.1364/JOSA.52.001123.
- [26] E. N. Leith and J. Upatnieks, “Wavefront Reconstruction with Diffused Illumination and Three-Dimensional Objects\*,” *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 54, no. 11, p. 1295, Nov. 1964, doi: 10.1364/JOSA.54.001295.
- [27] U. Schnars and W. Jueptner, *Digital Holography*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2005. doi: 10.1007/b138284.
- [28] J. W. Goodman, *Introduction to Fourier Optics*. W. H. Freeman, 2005. [Online]. Available: [https://books.google.com.mx/books?id=ow5xs\\_Rtt9AC](https://books.google.com.mx/books?id=ow5xs_Rtt9AC)
- [29] T. Latychevskaia and H.-W. Fink, “Practical algorithms for simulation and reconstruction of digital in-line holograms,” *Appl. Opt.*, vol. 54, no. 9, pp. 2424–2434, 2015, doi: 10.1364/ao.54.002424.
- [30] T. Latychevskaia, J.-N. Longchamp, and H.-W. Fink, “When holography meets coherent diffraction imaging,” *Opt. Express*, vol. 20, no. 27, pp. 28871–28892, 2012, doi: 10.1364/oe.20.028871.
- [31] M. Heydt, *How Do Spores Select Where to Settle?* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. doi: 10.1007/978-3-642-17217-5.
- [32] J. Garcia-Sucerquia, W. Xu, S. K. Jericho, P. Klages, M. H. Jericho, and H. J. Kreuzer, “Digital in-line holographic microscopy,” *Appl. Opt.*, vol. 45, no. 5, pp. 836–850, 2006, doi: 10.1364/AO.45.000836.
- [33] H. Meng, G. Pan, Y. Pu, and S. H. Woodward, “Holographic particle image velocimetry: From film to digital recording,” *Meas. Sci. Technol.*, vol. 15, no. 4, pp. 673–685, 2004, doi: 10.1088/0957-0233/15/4/009.
- [34] E. A. Pilotta, “El método de Nelder-Mead para minimización irrestricta sin derivadas,” *Rev. Educ. Matemática*, vol. 17, no. 3 SE-Artículos de Matemática, Aug. 2021, [Online]. Available: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/REM/article/view/10873>
- [35] J. H. Mathews, K. D. Fink, and P. J. P. Escolano, *Métodos numéricos con MATLAB*. Pearson Educación, 1999. [Online]. Available: <https://books.google.com.mx/books?id=VgCjOwAACAAJ>
- [36] J. C. Lagarias, J. A. Reeds, M. H. Wright, and P. E. Wright, “Convergence Properties of the Nelder–Mead Simplex Method in Low Dimensions,” *SIAM J. Optim.*, vol. 9, no. 1, pp. 112–147, 1998, doi: 10.1137/S1052623496303470.

- [37] Raspberry Pi, “Introducing the Raspberry Pi Cameras,” *Raspberry Pi Documentation*, 2022. <https://www.raspberrypi.com/documentation/accessories/camera.html#camera-modules>. (accessed Jun. 01, 2022).
- [38] G. Pan and H. Meng, “Digital holography of particle fields: reconstruction by use of complex amplitude,” *Appl. Opt.*, vol. 42, no. 5, pp. 827-833, Feb. 2003, doi: 10.1364/AO.42.000827.
- [39] T. Suk, B. Zitova, and J. Flusser, *2D and 3D Image Analysis by Moments*. Wiley, 2016. [Online]. Available: <https://books.google.com.mx/books?id=H5aDDQAAQBAJ>
- [40] OpenCV, “Contour Properties,” *Open Source Computer Vision*, 2022. [https://docs.opencv.org/4.x/d1/d32/tutorial\\_py\\_contour\\_properties.html](https://docs.opencv.org/4.x/d1/d32/tutorial_py_contour_properties.html) (accessed Jun. 01, 2022).
- [41] J. Minichino and J. Howse, *Learning OpenCV 3 Computer Vision with Python*. Packt Publishing, 2015. [Online]. Available: <https://books.google.com.mx/books?id=iNIOCwAAQBAJ>
- [42] A. Heyduk, “Elliptical shape and size approximation of a particle contour,” *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 261, no. 1, pp. 2019, doi: 10.1088/1755-1315/261/1/012013.



# Anexo A. Hoja de datos del diodo láser ADL-65055TL



## AlGaInP Visible Laser Diode

ADL-65055TL

### ★650nm 5mW 50°C Reliable Operation

#### •Features

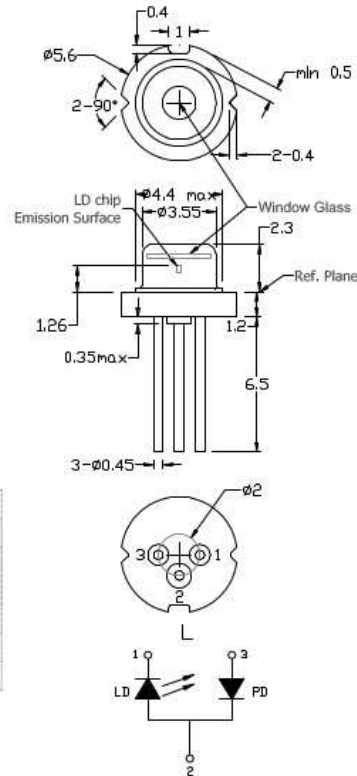
1. FFP single lateral mode
2. High precision assembly
3. High reliability

#### •Applications

1. General purpose red laser light source
2. Industrial laser markers / measuring instruments
3. Laser pointers

#### •Absolute maximum ratings

Parameter	Symbol	Condition	Rating	Unit
Light output power	$P_O$	CW	7	mW
Reverse voltage (LD)	$V_{RL}$	-	2	V
Reverse voltage (PD)	$V_{RD}$	-	30	V
Forward current (PD)	$I_{FD}$	-	10	mA
Case temperature	$T_C$	-	-10~+50	°C
Storage temperature	$T_S$	-	-40~+85	°C



#### •Electrical and optical characteristics ( $T_C=25^\circ\text{C}$ )

Parameter	Symbol	Min.	Typ.	Max.	Unit	Conditions
Peak wavelength	$\lambda$	645	655	660	nm	$P_O=5\text{mW}$
Threshold current	$I_{th}$	-	18	25	mA	
Operating current	$I_{op}$	-	25	35	mA	$P_O=5\text{mW}$
Operating voltage	$V_{op}$	-	2.2	2.5	V	$P_O=5\text{mW}$
Differential efficiency	$\eta$	0.4	0.7	1.1	mW/mA	$P_O=3-5\text{mW}$
Monitor current*	$I_m$	0.05	0.2	0.4	mA	$P_O=5\text{mW}, V_{RD}=5\text{V}$
Parallel divergence angle	$\theta_{\parallel}$	6	9	11	deg	$P_O=5\text{mW}$
Perpendicular divergence angle	$\theta_{\perp}$	24	28	38	deg	
Parallel FFP deviation angle	$\Delta\theta_{\parallel}$	-3	0	+3	deg	
Perpendicular FFP deviation angle	$\Delta\theta_{\perp}$	-3	0	+3	deg	
Emission point accuracy	$\Delta x \Delta y \Delta z$	-80	0	+80	um	

\*Monitor current ranking is available.

#### • Precautions

- Do not operate the device above maximum ratings. Doing so may cause unexpected and permanent damage to the device.
- Take precautions to avoid electrostatic discharge and/or momentary power spikes. A change in the characteristics of the laser or premature failure may result.
- Proper heat sinking of the device assures stability and lifetime. Always ensure that maximum operating temperatures are not exceeded.
- Observing visible or invisible laser beams with the human eye directly, or indirectly, can cause permanent damage. Use a camera to observe the laser.
- No laser device should be used in any application or situation where life or property is at risk in event of device failure.
- Specifications are subject to change without notice. Ensure that you have the latest specification by contacting us prior to purchase or use of the product.

\* For reference only. Contents above are subject to change without notice.

Germany and other countries: LASER COMPONENTS GmbH, Phone: +49 8142 2864 0, Fax: +49 8142 2864 11, info@lasercomponents.com  
 USA: LASER COMPONENTS IG, Inc., Phone: +1 603 821 7040, Fax: +1 603 821 7041, info@laser-components.com  
 Great Britain: LASER COMPONENTS (UK) Ltd., Phone: +44 1245 491 499, Fax: +44 1245 491 801, info@lasercomponents.co.uk  
 France: OPTOPHOTONICS sa, Phone: +33 1 3959 5225, Fax: +33 1 3959 5350, info@optophotonics.fr

# Anexo B. Hoja de resumen de características del sensor SONY IMX219PQH5-C

**SONY**

Diagonal 4.60 mm (Type 1/4.0) 8 Mega-Pixel CMOS Image Sensor with Square Pixel for  
Color Cameras

## IMX219PQH5-C

---

### Description

The IMX219PQH5-C is a diagonal 4.60 mm (Type 1/4.0) CMOS active pixel type image sensor with a square pixel array and 8.08M effective pixels. This chip operates with three power supplies, analogue 2.8 V, digital 1.2 V, and IF 1.8 V, and has low power consumption. High sensitivity, low dark current, and no smear are achieved through the adoption of R, G, and B primary color pigment mosaic filters. This chip features an electronic shutter with variable charge-storage time.

In addition, this product is designed for use in cellular phone and tablet pc. When using this for another application, Sony does not guarantee the quality and reliability of product. Therefore, don't use this for applications other than cellular phone and tablet pc. Consult your Sony sales representative if you have any questions.

---

### Features

- ◆ Back-illuminated CMOS image sensor Exmor R™
- ◆ 2-wire serial communication circuit on chip
- ◆ CSI2 serial data output (selection of 4lane/2lane)
- ◆ Timing generator, H and V driver circuits on chip
- ◆ CDS/PGA on chip
- ◆ 10-bit A/D converter on chip
- ◆ Automatic optical black (OB) clamp circuit on chip
- ◆ PLL on chip (rectangular wave)
- ◆ High sensitivity, low dark current, no smear
- ◆ Excellent anti-blooming characteristics
- ◆ Variable-speed shutter function (1 H units)
- ◆ R, G, B primary color pigment mosaic filters on chip
- ◆ Max. 30 frame/s in all-pixel scan mode
- ◆ Pixel rate: 280 [Mpixel/s] (All-pixels mode)
- ◆ 180 frame/s @720p with 2x2 analog (special) binning, 60 frame/s @1080p with V-crop
- ◆ Data rate: Max. 755 Mbps/lane(@4lane), 912Mbps/Lane(@2lane)

**Exmor R**

\* Exmor R is a trademark of Sony Corporation. The Exmor R is a Sony's CMOS image sensor with significantly enhanced imaging characteristics including sensitivity and low noise by changing fundamental structure of Exmor™ pixel adopted column parallel A/D converter to back-illuminated type.

Sony reserves the right to change products and specifications without prior notice.

This information does not convey any license by any implication or otherwise under any patents or other right.

Application circuits shown, if any, are typical examples illustrating the operation of the devices. Sony cannot assume responsibility for any problems arising out of the use of these circuits.

---

**Device Structure**

◆ CMOS image sensor	
◆ Image size	: Diagonal 4.60 mm (Type 1/4.0)
◆ Total number of pixels	: 3296 (H) × 2512 (V) approx. 8.28 M pixels
◆ Number of effective pixels	: 3296 (H) × 2480 (V) approx. 8.17 M pixels
◆ Number of active pixels	: 3280 (H) × 2464 (V) approx. 8.08 M pixels
◆ Chip size	: 5.095 mm (H) × 4.930 mm (V) (w/ Scribe)
◆ Unit cell size	: 1.12 μm (H) × 1.12 μm (V)
◆ Substrate material	: Silicon