

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN ÓPTICA



MÉTODOS ÓPTICOS NO INVASIVOS PARA EL ESTUDIO DE LA MEMBRANA TIMPÁNICA

Tesis profesional

Para obtener el título de

Maestra en Ciencias (Óptica)

Presenta

La Lic. en Fis. Cynthia Viridiana Santiago Lona

Dirigida por: Dra. María del Socorro Hernández Montes

Agosto de 2013

A mi madre

Agradecimientos

A la Dra. María del Socorro Hernández, por aceptarme para realizar este trabajo de Tesis bajo su dirección. Por guiarme con paciencia y profesionalismo. Por tener el tiempo para aclarar mis dudas y guiarme por el camino adecuado en mi formación como maestra. Por mantener una buena relación asesora-estudiante, pero sobre todo por su trato humano y calidad como persona.

Al Dr. Jorge Mauricio Flores Moreno por todo el conocimiento compartido, por su profesionalismo, por guiar el inicio de este trabajo de Tesis y por fomentar a obtener trabajos de calidad.

Al Dr. Carlos Pérez López por sus importantes ideas para la realización de un buen trabajo de Tesis.

Al compañero M. en C. Orlando Medina por su colaboración en el procesamiento digital de imágenes. Por crear una mancuerna como compañeros del mismo centro de investigación.

A CONACyT por el apoyo económico durante dos años, haciendo más llevadera una vida fuera de mi ciudad de origen.

Un agradecimiento especial a todas aquellas personas que me ayudaron de cualquier forma durante mis estudios de maestría, familia, amigos, compañeros de clase, profesores, por compartir tiempo, experiencias y conocimientos.

Resumen

En este trabajo de tesis se aplicaron dos técnicas Holográficas para el estudio del primer modo de vibración de la membrana timpánica. Estas técnicas se conocen con el nombre de Holografía Digital Interferométrica y Holografía Digital. Para el análisis de la fase de los modos de vibración de la membrana timpánica se utilizó el método de la transformada de Fourier y el método de corrimiento de fase respectivamente. Utilizando un arreglo interferométrico con sensibilidad fuera del plano, un láser de alta potencia, una cámara digital y un software adecuado se estudió el movimiento en la superficie de la membrana timpánica sometida a estímulo senoidal por medio de una onda acústica. La membrana timpánica se mantiene húmeda por medio de una solución salina, esto se hace para que la membrana no pierda sus propiedades mecánicas.

Hay que enfatizar que además de las dos técnicas principales se toman en cuenta otras para el procesamiento de datos, como son la Interferometría Electrónica de Patrones (ESPI), Holografía Digital de desplazamiento de fase y la Holografía Interferométrica Digital de Doble Exposición. El cálculo de la fase utilizado es por el método de Fourier y el método de desplazamiento de fase.

Los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis, reconstrucción de hologramas, mapas de fase y campos de desplazamientos de las vibraciones de la MT, servirán para diseñar un sistema que ayude a diagnosticar cualitativamente y cuantitativamente desordenes en la membrana timpánica, así mismo para marcar la pauta para seguir desarrollando investigaciones acerca de estas técnicas no invasivas en el área biomédica.

Índice General

Capítulo 1. Estudios previos basados en técnicas ópticas aplicadas al estudio del tímpano

1.1 Holografía Interferométrica de Tiempo Promediado.....	15
1.2 Holografía Interferométrica Estroboscópica.....	23

Capítulo 2. Fundamentos Teóricos

2.1 Interferometría Electrónica de Patrones de Moteado (ESPI).....	26
2.2 Holografía Digital.....	30
2.3 Holografía Digital de Desplazamiento de fase.....	33
2.4 Reconstrucción numérica por aproximación de Fresnel.....	34
2.5 Holografía Digital de Fourier.....	39
2.6 Holografía Interferométrica Digital de Doble Exposición.....	40
2.7 Holografía Interferométrica Digital con lentes.....	43
2.8 Método de la Transformada de Fourier.....	44

Capítulo 3. Metodología Experimental y Resultados

3.1 Preparación de la muestra.....	46
3.2 Procesos experimentales.....	48
3.2.1 Método de la transformada de Fourier.....	48
3.2.2 Método de reconstrucción por aproximación de Fresnel.....	55
3.3 Resultados y discusión.....	61

Capítulo 4. Conclusiones y Trabajo a Futuro

4.1 Conclusiones	68
4.2 Trabajo a Futuro	69

Apéndices

A.- Anatomía del oído

A1.- La Audición	71
A2.- Oído externo	72
A3.- Oído medio	72
A4.- Oído interno	72
A5.- Membrana Timpánica.....	74

B.- Métodos Médicos para el estudio de la Membrana Timpánica

B1.- Timpanometría	77
B1.1.- Realización de la prueba	78
B1.2.- Curva de Timpanometría Normal	79
B2.- Audiometría	81
B2.1.- Espacio donde se practica y características.....	82
B2.2.- Gráfica de ordenadas y coordenadas.....	83
B2.3.- Interpretación	84
B2.4.- Resultados de las audiometrías	84

C.- El efecto de moteado (SPECKLE).....85

Referencias.....89

Índice de Figuras y Tablas

Capítulo 1

Fig. 1.1 Arreglo experimental para realizar Holografía de tiempo promediado basado en Holografía Optoelectrónica (OEH por sus siglas en inglés)	16
Fig. 1.2 Mapeado entre la razón de Intensidad sobre la superficie $IR(x,y)$ y la magnitud de desplazamiento a lo largo de la superficie $d(x,y)$	17
Fig. 1.3 Arreglo experimental para holografía de tiempo promediado para la MT de un gato.....	18
Fig. 1.4 Obturador silencioso: secuencia de operación- (1) El operador se mantiene en la posición de apagado por el electroimán M_2 , (2) cambio de la corriente al electroimán M_1 libera el obturador, mientras que se balancea sobre el haz que pasa a través de la abertura y hace una exposición; (3) en el extremo de la oscilación, la pieza de hierro se captura y es retenida por el electroimán M_1 , y el obturador se mantiene una vez más en la posición de apagado.....	19
Fig. 1.5 Una serie de reconstrucciones que muestra el patrón de vibración de la MT de un felino a 600 Hz. Las fotografías muestran el desarrollo de las franjas sobre la MT y como la presión de sonido aumenta en 2 dB. Al comenzar con 89 dB no aparece ninguna franja. Las primeras franjas empiezan a aparecer en amplitudes de vibración mayores. Arriba de 115 dB las franjas comienzan a cerrarse y se pierde la resolución.....	20
Fig. 1.6 Amplitud de vibración de la MT de un cobayo. (a) Posición de medición. La medición se realiza en la línea de trazos a través del umbo. (b) Distribución de la amplitud de desplazamiento cuando los niveles de presión del sonido de entrada son 75, 80 y 85 dB y está a una frecuencia de 1 kHz.....	21
Fig. 1.7 Gráficas de la distribución de desplazamiento de las vibraciones de la MT del cobayo, cuando los desplazamientos en cada punto alcanzan valores máximos. (a) Frecuencia $f=1$ kHz y una presión de sonido de $P=85$ dB. (b) $f=2.5$ kHz y $P=70$ dB. (c) $f=3$ kHz y $P=75$ dB. (d) $f=4$ kHz y $P=75$ dB.....	22
Fig. 1.8 Mapas de contorno correspondientes a la Fig. (1.7). Las líneas representan contornos de la amplitud de vibración constante. Los intervalos son de 3 nm en (a), (b) y (d)	

y de 5 nm en (c). Los contornos sólidos y de puntos representan los desplazamientos hacia arriba y hacia abajo, respectivamente. Por otra parte los dígitos positivos y negativos representan el ascenso y descenso de los valores máximos de los desplazamientos en puntos específicos, respectivamente.....23

Fig. 1.9 Esquema del arreglo experimental de un sistema de Interferometría basado en Holográfica Optoelectrónica (OEH).....25

Capítulo 2

Fig. 2.1 Arreglo para ESPI.....27

Fig. 2.2 Interferometría de moteado Digital: (a) $\phi^{(ob)}(x)$, (b) $\phi^{(ref)}(x)$, (c) $\phi^{(ob)}(x) - \phi^{(ref)}(x)$, (d) $I_A(x)$, (e) $\Delta\phi(x)$, (f) $I_B(x)$, (g) $I_A(x) - I_B(x)$, (h) $|I_A(x) - I_B(x)|$28

Fig. 2.3 Holografía Digital: (a) Grabación, (b) reconstrucción con la onda de referencia ER, (c) reconstrucción con la onda de referencia conjugada E*R.....31

Fig. 2.4 Sistema de coordenadas para la reconstrucción numérica del holograma.....31

Fig. 2.5 Reconstrucción de la Imagen Virtual.....33

Fig. 2.6 Holograma digital.....38

Fig. 2.7 Reconstrucción numérica de la grabación de un dado que se encontraba a una distancia de 37.5 cm desde el sensor de la cámara.....39

Fig. 2.8 Holografía Digital de Fourier sin lentes.....40

Fig. 2.9 Holografía Interferométrica Digital. (a) Grabación de los hologramas en reposo (izquierda) y con deformación (derecha), (b) reconstrucción de los hologramas, (c) fase del desplazamiento del estado de reposo y el estado deformado.....43

Capítulo 3

Fig. 3.1 Membrana timpánica.....47

Fig. 3.2 Arreglo interferométrico para el método de Fourier, el cual cuenta con una lente con $f= 3\text{ cm}$ que se encuentra entre el objeto y el sensor de la cámara., DH se refiere a un divisor de haz, HR al haz de referencia, HO al haz objeto y CCD a una cámara.....	48
Fig. 3.3 Membrana de látex lista para la experimentación.....	49
Fig. 3.4 Transformada de Fourier de la membrana de látex.....	50
Fig. 3.5 Lóbulo recortado de la transformada de Fourier de la membrana de látex.....	51
Fig. 3.6 ESPI del primer modo de vibración de la membrana de látex.....	51
Fig. 3.7 Fase envuelta del primer modo de vibración de la membrana de látex.....	52
Fig. 3.8 Fase desenvuelta del primer modo de vibración de la membrana de látex.....	52
Fig. 3.9 ESPI del tercer modo de vibración de la membrana de látex.....	53
Fig. 3.10 Fase envuelta de la membrana de látex a una frecuencia de 2.6 kHz con una amplitud de 200 mV en dos tomas diferentes.....	54
Fig. 3.11 Fases desenvueltas de la membrana de látex.....	54
Fig. 3.12 Arreglo interferométrico para el método de reconstrucción de Fresnel donde CCD se refiere a una cámara CCD, DH a un divisor de haz, HO al haz objeto y HR al haz de referencia.....	56
Fig. 3.13 Holograma reconstruido a una distancia de 9 cm usando la aproximación de Fresnel.....	57
Fig. 3.14 Fase envuelta del primer modo de vibración de la membrana de látex.....	58
Fig. 3.15 Fase desenvuelta del primer modo de vibración de la membrana de látex.....	58
Fig. 3.16 Fase envuelta del tercer modo de vibración de la membrana de látex.....	59
Fig. 3.17 Fase desenvuelta del tercer modo de vibración de la membrana de látex.....	59

Fig. 3.18 Parte del arreglo experimental que muestra como es aplicado el sonido a la MT por medio de.....	60
Fig. 3.19 ESPI de la MT. Las unidades mostradas son los píxeles de la cámara, los cuáles son <i>1392x1024 pixeles</i>	61
Fig. 3.20 Fase envuelta de la MT puesta en vibración.....	62
Fig. 3.21 Fase desenvuelta de la MT.....	62
Fig. 3.22 ESPI de la MT. Las unidades mostradas son los píxeles de la cámara los cuáles son <i>1024x1024 pixeles</i>	63
Fig. 3.23 Fase óptica resultante para el primer modo de vibración de la MT (a) $1.5 V_{pp}$, (b) $2 V_{pp}$ y (c) $2.5 V_{pp}$	64
Fig. 3.24 Fase óptica desenvuelta para el primer modo de vibración de la MT (a) $1.5 V_{pp}$, (b) $2 V_{pp}$ y (c) $2.5 V_{pp}$	66
Fig. 3.25 Del lado izquierdo tenemos el perfil de microdesplazamientos de la MT con el desenvolvimiento de fase del método de Fourier y del lado izquierdo el respectivo del método de aproximación de Fresnel.....	67
Tabla 3.1 Relación entre frecuencia, amplitud de voltaje y decibeles de las ondas acústicas utilizadas.....	63
Tabla 3.2 Relación entre frecuencia, amplitud de voltaje y decibeles de las ondas acústicas utilizadas.....	66

Apéndices

Fig. A.1 Anatomía del oído - Thibodeau, G.A.[3] – Harcourt Brace 1.998.....	71
Fig. A.2 Oído interno - Thibodeau, G.A. [3]– Harcourt Brace 1.998.....	73
Fig. A.3. Conducto Coclear y órgano de Corti – Despououlos, A. [2] – Doyma 1.994.....	73

Fig. A.4. Vista frontal (a) y lateral (b) de la membrana timpánica.....	75
Fig. A.5. Membrana Timpánica derecha.....	76
Fig. B.1 Funcionamiento del Impedanciometro.....	78
Fig. B.2 Timpanometría normal.....	80
Fig. B.3 Timpanometría; curvas según la clasificación de Jerger: Curva tipo B (presión vs compliancia).....	81
Fig. B.4 Timpanometría; curvas según la clasificación de Jerger: Curva tipo C (presión vs compliancia).....	81
Fig. B.5 Audiograma.....	83
Fig. C.1 Patrón de moteado.....	86
Fig. C.2 Formación del moteado objetivo.....	88
Fig. C.3 Formación del moteado subjetivo.....	88
Tabla A.1 Propiedades mecánicas de la MT.....	75
Tabla B.1 Resultados cuantitativos.....	85

Nomenclatura

$IR(x, y)$: radio de la intensidad de la luz media.

$I_d(x, y)$: intensidad de la luz media.

$I_o(x, y)$: intensidad del láser.

J_0 : orden cero de la función Bessel.

$I(x, y, t)$: intensidad total espacial y temporal.

$I_o(x, y, t)$: intensidad espacial y temporal del haz objeto.

$I_r(x, y, t)$: intensidad espacial y temporal del haz de referencia.

$\Delta\phi(x, y, t)$: diferencia de fase entre haz objeto y haz de referencia.

I_M : intensidad de modulación resultante para cada pixel de la cámara.

$\Delta\Gamma$: diferencia de fase de la interferencia óptica.

$E^{(ob)}$: campo de onda del objeto.

$E^{(ref)}$: campo de onda de referencia

$\psi(x, y)$: diferencia de fase estocástica.

$E^{(ob)'}:$ campo de onda después de una deformación.

$d(x, y)$: vector de desplazamiento.

$b(x, y)$: punto de observación.

$s(x, y)$: punto de iluminación.

$C_A(x, y)$ y $C_B(x, y)$: lóbulos de la transformada de Fourier.

$\Gamma(\xi', \eta')$ y $\Gamma(\xi, \eta)$: fórmulas de reconstrucción de Fresnel.

$h(x, y)$: función del holograma.

$U(x, y)$: onda de un objeto.

$A_0 \exp(i\phi_0)$: amplitud compleja del haz objeto.

k : número de onda.

$\phi(x, y)$: fase del objeto.

Δx y Δy : distancia entre pixeles de la cámara.

$\Gamma(m, n)$: transformada discreta de Fresnel.

d : microdesplazamientos de un objeto en vibración.

Objetivo (s)

Los objetivos a cumplir en esta Tesis son:

1. Implementar métodos ópticos, como es la Holografía digital, para estudiar el comportamiento de la membrana timpánica bajo el efecto del sonido a una sola frecuencia de 1.2 kHz seleccionada en base en estudios anteriores.
2. Reconstruir hologramas de la membrana timpánica por medio de la aproximación de Fresnel para su estudio y caracterizar el movimiento de la membrana a la frecuencia propuesta.
3. Observar y analizar el primer modo de vibración de la membrana timpánica para ver su comportamiento bajo el efecto de varios niveles de presión acústica.
4. Reconstruir el mapa de fase para obtener patrones de vibración característicos que indiquen el estado fisiológico de la membrana timpánica. Estas técnicas tienen la particularidad de ser no intrusivas para el sujeto de prueba.
5. Conocer la factibilidad de crear a futuro un dispositivo óptico que nos muestre mapas de fase en tiempo real sin la necesidad de esperar mucho tiempo para obtener un análisis por motivos de procesamiento digital de imágenes.

Metas

Las metas a cumplir en este trabajo de Tesis son:

1. Conocer la Teoría de la Holografía Digital y Holografía Digital Interferométrica e implementarla de manera práctica.
2. Hacer reconstrucción numérica de muestras de objetos y una muestra biológica.
3. Implementar varias técnicas para calcular la fase de un objeto en movimiento, como es la Holografía por desplazamiento de fase y el método de la transformada de Fourier.
4. Generar mapas de fase envuelta y desenvuelta de las muestras utilizadas.
5. Cuantificar el campo de desplazamiento de la membrana timpánica.

Introducción

Se eligió la membrana timpánica como muestra biológica ya que es una de las partes más importantes del oído y la cual tiene como función amplificar la señal de sonido que llega a ella. Otra de las razones es que los médicos buscan tener un diagnóstico exacto al momento de revisar al paciente es por eso que se han desarrollado aparatos y técnicas a lo largo del tiempo para poder estudiar la membrana timpánica lo cual no ha sido fácil debido a su ubicación en el oído y a su estructura compleja.

La membrana timpánica tiene una estructura bastante delicada por lo tanto hay casos en los que puede romperse a causa de algún accidente o debido a complicaciones en la formación del feto. Para observar si la membrana timpánica está rota o dañada es necesario hacer un estudio para saber si ha sufrido algún daño en el caso de algún accidente o malformación.

Existen técnicas médicas como la Timpanometría y la Audiometría que se encargan de estudiar el oído aplicando vibraciones acústicas y sometándolo a presiones de aire para así obtener gráficas llamadas timpanogramas y audiogramas y emitir un diagnóstico satisfactorio al paciente. Una de sus desventajas es que tales técnicas son algo incómodas para el paciente en estudio, ya que invaden físicamente el canal auditivo.

En este trabajo de tesis se estudiaron y aplicaron técnicas ópticas tales como la Holografía Digital, principalmente la Holografía Digital Interferométrica, para el estudio de la membrana timpánica. Estas técnicas tienen como cualidad ser no invasivas.

Comúnmente en las técnicas médicas convencionales la observación del estado fisiológico de la membrana timpánica se hace a base de la experiencia del médico que revisa al paciente por lo tanto puede haber dudas en los resultados de dichos análisis. La visualización del movimiento de la membrana timpánica en imágenes digitales y mapas de fase es importante ya que podemos estudiar y observar el comportamiento de la membrana timpánica. Los mapas de fase nos permiten identificar el primer modo de vibración de la membrana timpánica en tercera dimensión cuando es sometida a una frecuencia de vibración de 1.2 kHz .

Capítulo 1

Estudios previos basados en técnicas ópticas aplicadas al estudio del tímpano

Introducción

En este capítulo hablaremos de los trabajos realizados por otros autores acerca de las técnicas ópticas utilizadas para el estudio de la membrana timpánica (MT). Esta información está basada en trabajos publicados, como el de Khanna y Tonndorf [9] entre otros autores. Técnicas como la Holografía Interferométrica de Tiempo Promediado y la Holografía Interferométrica Estroboscópica han tenido resultados óptimos en el estudio de la MT.

1.1 Holografía Interferométrica de Tiempo Promediado (TAH por sus siglas en inglés)

Los cálculos de un holograma promediado en el tiempo (HPT) describen la magnitud de los componentes del objeto ortogonalmente desplazado al plano de la cámara que es perpendicular al haz de iluminación [7]. El HPT es un mapa de escala de grises en el cuál las magnitudes de los desplazamientos a los diferentes puntos a la superficie de la imagen son proporcionales al cuadrado del orden cero de la función Bessel de primera clase del producto de la magnitud de los desplazamientos promediados y al número de onda k asociado con la longitud de onda de la luz producida por un láser. En el caso de los haces de referencia y el haz objeto (como se muestra en la Fig. 1.1 [7]), $I_R(x,y)$ es el radio de la intensidad de la luz medida en cualquier punto $I_d(x,y)$ y la intensidad del láser $I_o(x,y)$, el cual resulta ser

$$IR(x, y) = \frac{\bar{I}_d(x, y)}{\bar{I}_0(x, y)} \propto (J_0(2kd(x, y)))^2 \quad (1.1)$$

donde J_0 es el orden cero de la función Bessel de primera clase y el factor de 2 en el argumento de la función se utiliza para compensar la longitud de camino óptico para ambos haces: de iluminación y el reflejado por el objeto.

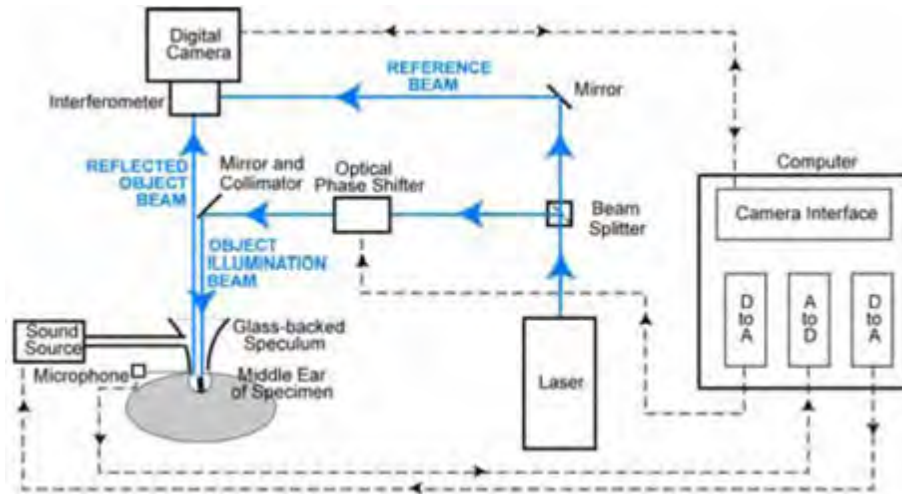


Fig. 1.1 Arreglo experimental para realizar Holografía de tiempo promediado basado en Holografía Optoelectrónica (OEH por sus siglas en inglés)

La Fig. 1.2 describe el mapeado entre la intensidad de la imagen TAH (Holograma Promediado en el Tiempo por sus siglas en inglés) y las magnitudes de desplazamiento pequeñas con las IR mayores (las partes más brillantes de la imagen). Si tuviéramos que variar nuestra intensidad de estímulos sinusoidales, tales que la magnitud incrementara su desplazamiento de 0 a 0.5 micrómetros en cualquier ubicación, la intensidad de la imagen en esa ubicación pasaría por una serie de máximos y mínimos relativos. Esta periodicidad de la función mapeada con magnitud de desplazamiento es responsable de una serie de franjas oscuras y brillantes observadas en el recuadro del TAH medido en un oído de gato. Cada una de las franjas oscuras, definen un contorno espacial de la magnitud del desplazamiento que produce un cero en la intensidad resultante, donde las franjas se producen para magnitudes de desplazamiento de 0.09 , 0.21 , y 0.33 micrómetros. Los

movimientos menores ($d < 0.05$ micrómetros) sobre la superficie de la membrana son codificados por la intensidad más alta sobre la imagen, es decir, el sitio brillante en la esquina superior derecha de la MT cercano a la intersección del manubrio del martillo y el anillo timpánico. La región de la magnitud del movimiento mayor (cerca de 0.3 micrómetros) son codificados para el sitio oscuro en el medio de la mitad posterior de la MT que están rodeados por dos franjas oscuras, F3 en la Fig. 1.2 [7].

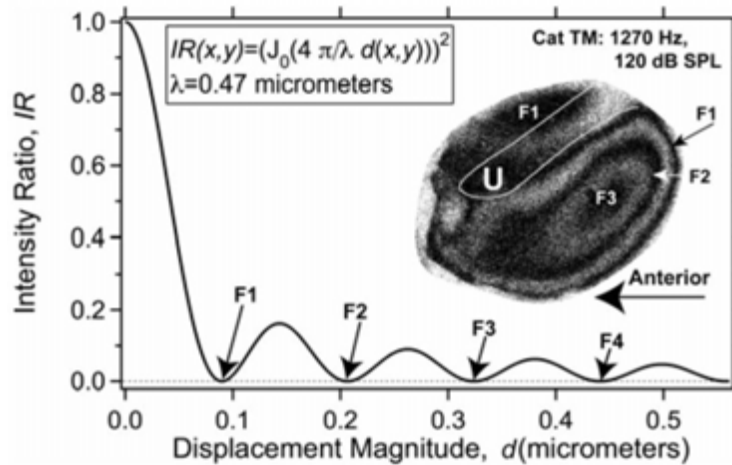


Fig. 1.2 Mapeado entre la razón de Intensidad sobre la superficie $IR(x,y)$ y la magnitud de desplazamiento a lo largo de la superficie $d(x,y)$.

Uno de los primeros trabajos en utilizar una MT de gato en la Holografía de Tiempo Promediado es el que hicieron Khanna y Tonndorf en el año de 1972 [9]. Ellos utilizaron una placa holográfica (Agfa-Gervaert 10E70) en vez de las cámaras digitales que se utilizan hoy en día. La configuración de su arreglo se muestra en la Fig. 1.3.

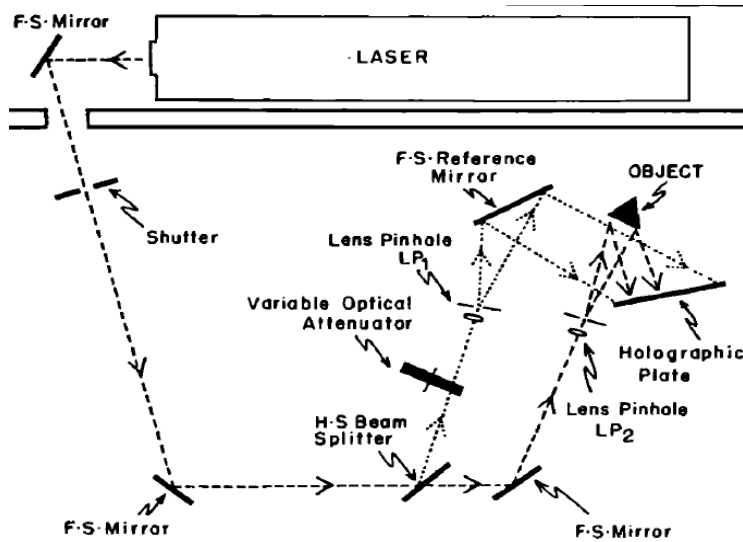


Fig. 1.3 Arreglo experimental para holografía de tiempo promediado para la MT de un gato.

En este trabajo emplearon obturadores fotográficos mecánicos que suelen abrir y cerrar con bastante ruido. En este caso, la respuesta de la MT a tal ruido se registraría en el holograma y este se echaría a perder. Tal problema fue resuelto con la construcción de un obturador silencioso.

La operación principal de este obturador se describe en la Fig. 1.4. Un péndulo de hierro *I* se sostiene en una de sus dos posiciones extremas por electroimanes M_1 o M_2 , respectivamente. Al cambiar la corriente de un imán en la otra, el péndulo cambia de posición de un lado a otro. Una rendija unida al péndulo permite que la luz pase a través de ella durante el cambio. El tiempo de exposición es por lo tanto dependiente de la frecuencia natural del péndulo, así como la anchura de la rendija. Al cambiar estas dos cantidades simultáneamente, se puede conseguir una amplia gama de tiempos de exposición.

El sonido no está involucrado en la liberación del péndulo. En el momento en que alcanza el otro lado y es capturado por el segundo electroimán, donde hay un pequeño click, el obturador está ya cerrado. Ningún sonido se genera por el obturador, ya sea antes o durante la exposición.

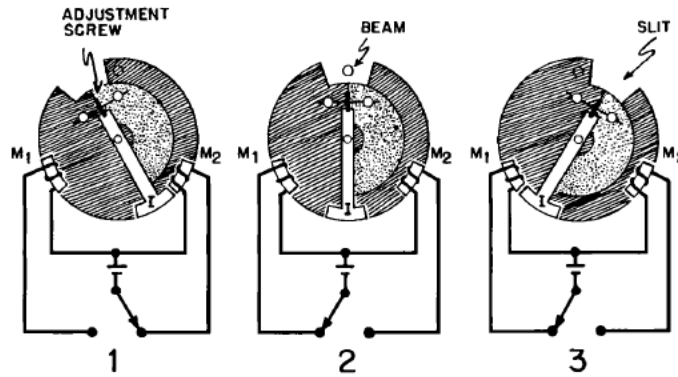


Fig. 1.4 Obturador silencioso: secuencia de operación- (1) El operador se mantiene en la posición de apagado por el electroimán M₂, (2) cambio de la corriente al electroimán M₁ libera el obturador, mientras que se balancea sobre el haz que pasa a través de la abertura y hace una exposición; (3) en el extremo de la oscilación, la pieza de hierro se captura y es retenida por el electroimán M₁, y el obturador se mantiene una vez más en la posición de apagado.

En este caso, la MT del gato fue recubierta con polvo de bronce, para incrementar el haz reflejado desde el objeto y fuera lo suficientemente luminoso para que se pudiera grabar la interferencia en la placa holográfica.

Las fotografías que se muestran en la Fig. 1.5 representan una serie de 14 reconstrucciones de valores medios de hologramas de la MT. Fueron grabados a una frecuencia de 600 Hz, sobre un rango de 89 a 115 dB, en intervalos de 2 dB. Este conjunto de fotografías ilustra el desarrollo del patrón de franjas con la presión de sonido ya mencionada.

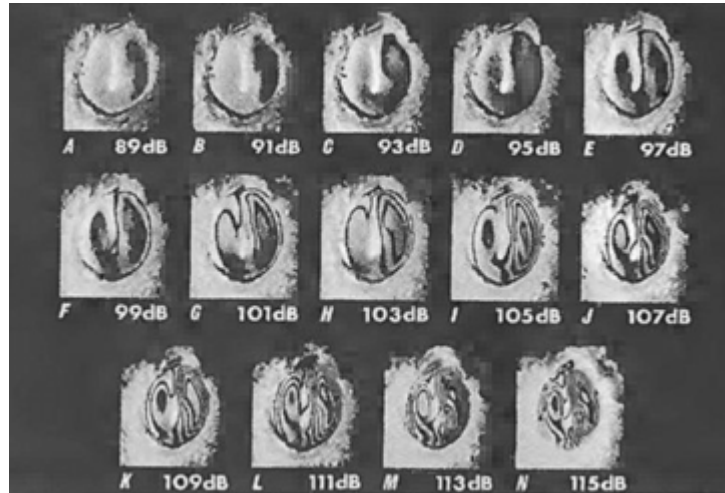


Fig. 1.5 Una serie de reconstrucciones que muestra el patrón de vibración de la MT de un felino a 600 Hz. Las fotografías muestran el desarrollo de las franjas sobre la MT y como la presión de sonido aumenta en 2 dB. Al comenzar con 89 dB no aparece ninguna franja. Las primeras franjas empiezan a aparecer en amplitudes de vibración mayores. Arriba de 115 dB las franjas comienzan a cerrarse y se pierde la resolución.

La holografía de tiempo promediado nos permite grabar un patrón de vibración completo de una superficie en pocos segundos. Los resultados aparecen en forma de franjas. La continuidad de las franjas alrededor de toda la MT indica que el desplazamiento en todas sus partes había estado en fase o estaban cerca de tal coincidencia.

Otro trabajo presentado por Wada [10] está basado en la holografía de tiempo promediado y la interferometría de patrón de moteado (Capítulo 2). En este trabajo se utilizó la membrana timpánica de un cobayo. La Fig. 1.6 muestra la distribución de la amplitud de los desplazamientos de las vibraciones de la MT en la línea punteada a través del umbo cuando las entradas de niveles de presión acústica son de 75, 80 y 85 dB y una frecuencia de 1 kHz. El modo de vibración no se altera cuando la amplitud se incrementa, ni con un incremento en el nivel de presión del sonido.

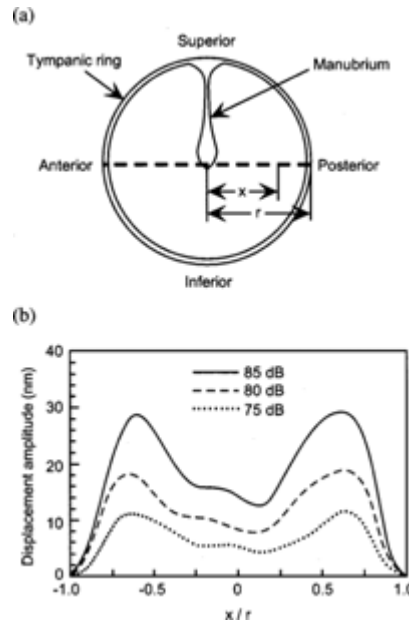


Fig. 1.6 Amplitud de vibración de la MT de un cobayo. (a) Posición de medición. La medición se realiza a través del umbo como se indica con la línea punteada. (b) Distribución de la amplitud de desplazamiento cuando los niveles de presión del sonido de entrada son 75, 80 y 85 dB y está a una frecuencia de 1 kHz.

Los principales resultados se muestran en las Figs. 1.7 y 1.8 donde se puede ver la gráfica de perspectiva y mapa de contorno de la distribución de los desplazamientos de las vibraciones de la MT, cuando la amplitud del desplazamiento tiene un valor máximo. A una frecuencia de 1 kHz, la MT entera vibra en fase. La amplitud de desplazamiento máxima en la porción posterior es 28.5 nm, el cual es casi el mismo que en la porción anterior, es decir, 28 nm.

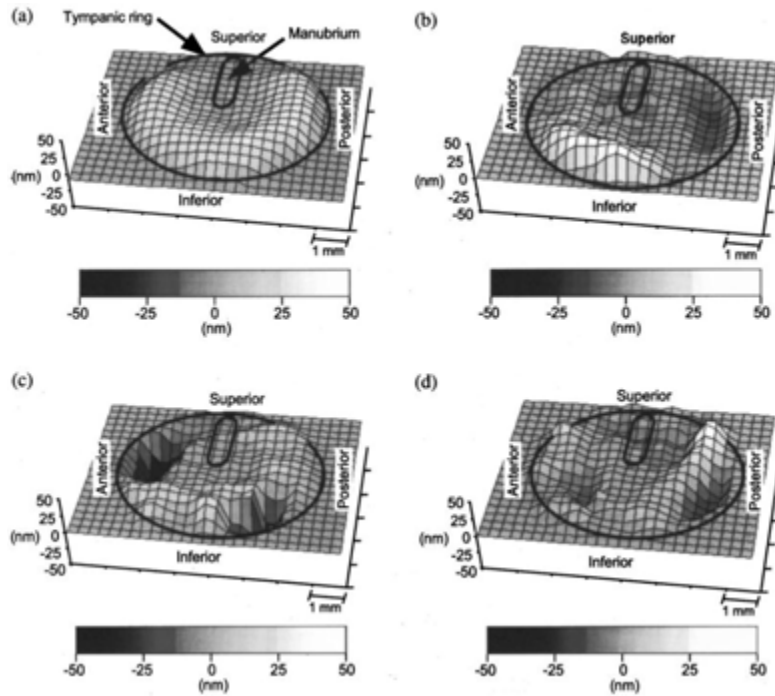


Fig. 1.7 Gráficas de la distribución de desplazamiento de las vibraciones de la MT del Cobayo, cuando los desplazamientos en cada punto alcanzan valores máximos. (a) Frecuencia $f=1\text{ kHz}$ y una presión de sonido de $P=85\text{ dB}$. (b) $f=2.5\text{ kHz}$ y $P=70\text{ dB}$. (c) $f=3\text{ kHz}$ y $P=75\text{ dB}$. (d) $f=4\text{ kHz}$ y $P=75\text{ dB}$.

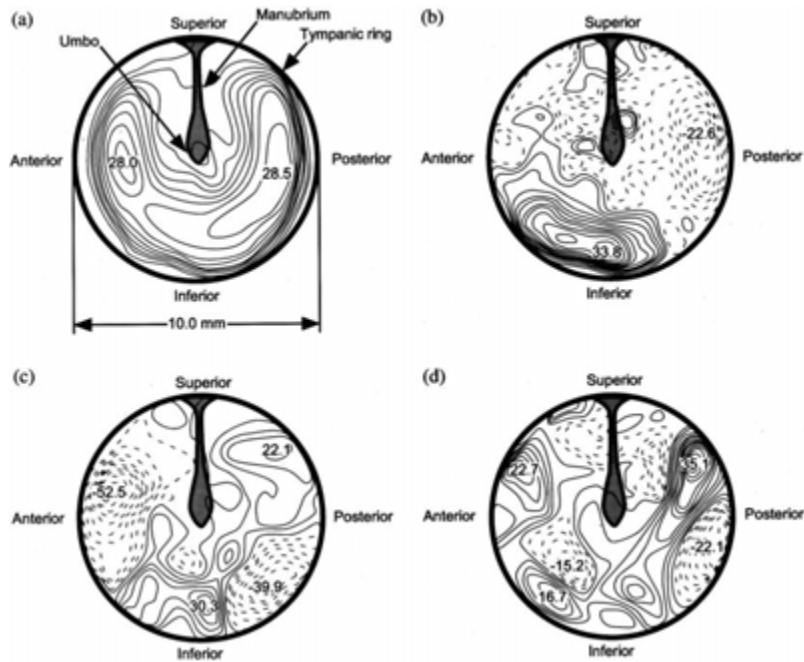


Fig. 1.8 Mapas de contorno correspondientes a la Fig. (1.7). Las líneas representan contornos de la amplitud de vibración constante. Los intervalos son de 3 nm en (a), (b) y (d) y de 5 nm en (c). Los contornos sólidos y de puntos representan los desplazamientos hacia arriba y hacia abajo, respectivamente. Por otra parte los dígitos positivos y negativos representan el ascenso y descenso de los valores máximos de los desplazamientos en puntos específicos, respectivamente.

1.2 Holografía Interferométrica Estroboscópica

En el modo de holografía estroboscópica, la deformación de la MT se calcula basándose en la diferencia entre los hologramas de su superficie medida en dos instantes de tiempo diferentes, donde los instantes son definidos por la pulsación del 'interruptor de luz estroboscópica' (un modulador acusto-óptico capaz de conmutar a altas frecuencias) que está bloqueado en fase para el estímulo acústico [8].

El procesamiento está basado en las distribuciones de las intensidades espacial y temporal, $I(x,y,t)$, definidas en la superficie del plano posterior de la cámara (x,y) , es decir

$$I(x, y, t) = I_o(x, y, t) + I_r(x, y, t) + 2\sqrt{I_o(x, y, t)I_r(x, y, t)} \cos[\Delta\phi(x, y, t) + \Delta\theta_n(x, y, t)] \quad (1.2)$$

donde $I_o(x,y,t)$ e $I_r(x,y,t)$ representan las intensidades (temporal y espacial) del haz reflejado desde el objeto y el haz de referencia (Fig. 1.9) respectivamente, $\Delta\phi(x,y,t)$ representa la diferencia de fase entre el haz reflejado del objeto y el haz de referencia cuando dos haces interactúan independientemente del estímulo, y $\Delta\theta_n$ resulta del corrimiento de fase del haz de referencia (al incrementar la longitud del camino de la referencia por $0, 1/4, 1/2$ o $3/4$ de la longitud de onda) controlado por el desfasador óptico como se muestra en la Fig. 1.9 [8], (la interferometría en Holografía Optoelectrónica para el modo estroboscópico usa una serie de cuatro imágenes de interferencia en cuatro pasos para reconstruir el holograma). La función de localización de franjas caracteriza el cambio de fase del haz reflejado del objeto debido a deformaciones inducidas por la aplicación de un estímulo.

El movimiento sinusoidal de la MT inducido por un tono se determinó a partir de hologramas de la MT que se adquirieron durante la iluminación "estrobo" del láser pulsado en cada una de las ocho fases de estímulo espaciados uniformemente ($\varphi = 0, \frac{\pi}{4}, \frac{\pi}{2} \dots 7\pi/4$). Cada pulso del láser tiene una duración del 10% del periodo del estímulo de tono para asegurarnos de que sea en modo estroboscópico y la superficie de la membrana pueda ser capturada casi en modo estático. Se deja que la intensidad de las cuatro imágenes ópticamente escalonadas en la fase se reúnan en dos fases estimuladas (φ_1 y φ_2) sean $I_{0\varphi_1}, I_{1\varphi_1}, I_{2\varphi_1}, I_{3\varphi_1}$ y $I_{0\varphi_2}, I_{1\varphi_2}, I_{2\varphi_2}, I_{3\varphi_2}$, entonces la intensidad de modulación resultante para cada pixel de la cámara (guardado como holograma de interferencia) entre estas dos fases estimuladas es:

$$I_M = \sqrt{(I_{0\varphi_1} - I_{2\varphi_1} + I_{0\varphi_2} - I_{2\varphi_2})^2 + (I_{1\varphi_1} - I_{3\varphi_1} + I_{1\varphi_2} - I_{3\varphi_2})^2} \quad (1.3)$$

Y la diferencia de fase de la interferencia óptica que describe el desplazamiento de la MT (componente del desplazamiento perpendicular a la superficie de la cámara) entre las dos fases estimuladas es:

$$\Delta\Gamma = \tan^{-1} \left[\frac{(I_{0\varphi_1} - I_{2\varphi_1})(I_{1\varphi_2} - I_{3\varphi_2}) - (I_{1\varphi_1} - I_{3\varphi_1})(I_{0\varphi_2} - I_{2\varphi_2})}{(I_{0\varphi_1} - I_{2\varphi_1})(I_{0\varphi_2} - I_{2\varphi_2}) + (I_{1\varphi_1} - I_{3\varphi_1})(I_{1\varphi_2} - I_{3\varphi_2})} \right] \quad (1.4)$$

Estas medidas de la diferencia de fase óptica sobre la superficie entera de la MT se encuentran envueltas en el módulo $\pm 2\pi$ y necesita ser desenvuelta en orden para determinar el cambio de fase que son mayores o menores que $\pm 2\pi$, i.e. generar una distribución de fase continua. Los algoritmos de desenvolvimiento de fase espacial son

usados para definir la fase en cada punto de la superficie de la MT y que al desenvolver la fase esta es convertida al desplazamiento multiplicado por la longitud de onda de la luz del láser/ π . (Esta multiplicación tiene en cuenta el camino doble del haz láser del objeto en el sistema, que viaja desde la fuente hasta el objeto y luego se refleja hacia atrás a lo largo de una línea paralela a la cámara y al interferómetro (Fig. 1.9)).

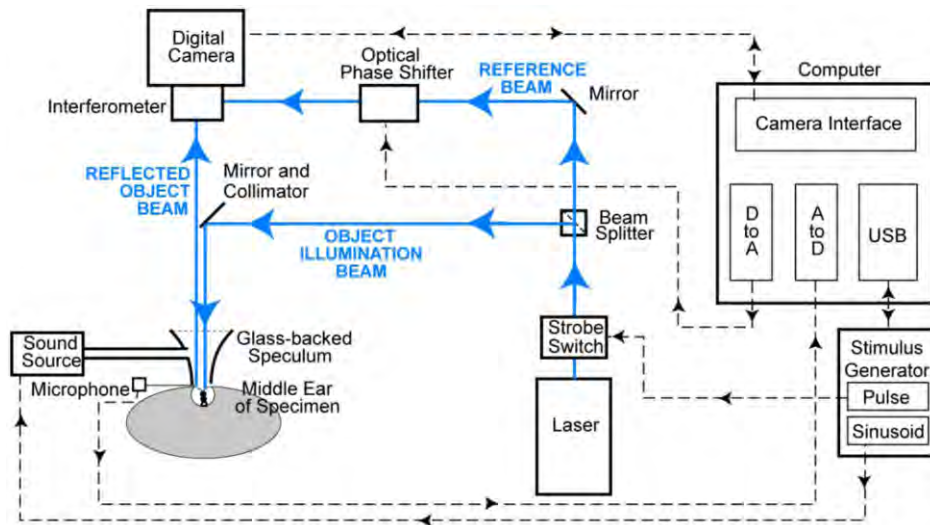


Fig. 1.9 Esquema del arreglo experimental de un sistema de Interferometría basado en Holográfica Optoelectrónica (OEI)

Esto muestra que las dos técnicas mostradas en este capítulo son pruebas fehacientes de que técnicas holográficas son efectivas para cualificar y cuantificar el movimiento de la MT. A continuación trataremos la teoría de más técnicas holográficas, como las dos principales de este trabajo de Tesis que son la Holografías Digital y la Holografía Digital Interferométrica.

Capítulo 2

Fundamentos Teóricos

Introducción

En este capítulo veremos los fundamentos teóricos en los que se basa el trabajo de esta Tesis. Holografía Digital Interferométrica y Holografía Digital, una utiliza lentes para enfocar el objeto que se graba y la otra no necesita lente para el enfoque ya que esto se hace con la aproximación de Fresnel. Hablaremos también acerca de la Interferometría Electrónica de Patrones de Moteado (ESPI) que es una de las bases principales de la Holografía, así como la Holografía Interferométrica Digital de Doble Exposición.

2.1 Interferometría Electrónica de Patrones de Moteado (ESPI)

Algunas técnicas de holografía como la Holografía de Tiempo Promediado, la Holografía de Doble Exposición, y la Holografía Digital Interferométrica utilizan la interferometría de moteado, aunque se considera la más importante a la técnica de ESPI. El objetivo original del ESPI era superar el tiempo consumido en un proceso químico mojado de los hologramas de haluros de plata y usar una cámara electrónica en su lugar. Para adaptar las microinterferencias entre la onda objeto y referencia a la resolución de las cámaras, fueron empleadas ondas colineales de referencia y objeto y se utilizó una lente con una abertura (Fig. 2.1). La superficie del objeto se enfoca sobre la cámara, la cual en conjunción con la onda de referencia colineal resulta en motas grandes las cuáles se resuelven por la cámara pero generando mal contraste en las imágenes. Esta desventaja es debido a la grabación y reconstrucción en tiempo casi real, y se hace menos severo con cámaras CCD (Charged Coupled Device) obteniendo píxeles más pequeños. Debido al enfoque de la superficie del objeto en el objetivo de la cámara grabamos un holograma, contrariamente a la holografía digital en el que se registra sólo el campo de la difracción de Fresnel o Fraunhofer del frente de onda del objeto [14].

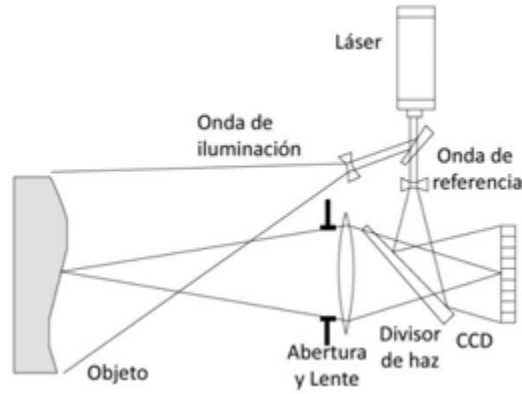


Fig. 2.1 Arreglo para ESPI

El campo de onda del objeto en el plano imagen (x,y) , en el plano de la cámara, Fig. 2.1, puede describirse por

$$E^{(ob)}(x,y) = E_0^{(ob)}(x,y)e^{i\phi^{(ob)}}(x,y) \quad (2.1)$$

Donde $E^{(ob)}(x,y)$ es la amplitud real y $\phi^{(ob)}(x,y)$ es la fase aleatoria debida a la rugosidad de la superficie, Fig. 2.2 (a). El campo de onda de referencia colineal

$$E^{(ref)}(x,y) = E_0^{(ref)}(x,y)e^{i\phi^{(ref)}}(x,y) \quad (2.2)$$

se superpone. Esta onda de referencia puede ser una onda plana, una onda esférica, o una reflejada arbitrariamente, Fig. 2.2 (b). Solo se graban las intensidades por el sensor de la cámara, Fig. 2.2 (d)

$$\begin{aligned} I_A(x,y) &= |E^{(ob)}(x,y) + E^{(ref)}(x,y)|^2 \\ &= I^{(ob)}(x,y) + I^{(ref)}(x,y) + 2\sqrt{I^{(ob)}(x,y)I^{(ref)}(x,y)}\cos\psi(x,y) \end{aligned} \quad (2.3)$$

Este es el patrón de moteado grabado, digitalizado y almacenado con una diferencia de fase estocástica $\psi(x,y) = \phi^{(ob)}(x,y) - \phi^{(ref)}(x,y)$, Fig. 2.2 (c). Una deformación cambia la fase $\phi^{(ob)}(x,y)$ de cada punto por $\Delta\phi(x,y)$, Fig. 2.2 (e), de modo que el campo de onda después de la deformación es

$$E^{(ob)'}(x, y) = E^{(ob)}(x, y)e^{i[\phi^{(ob)}(x, y) + \Delta\phi(x, y)]} \quad (2.4)$$

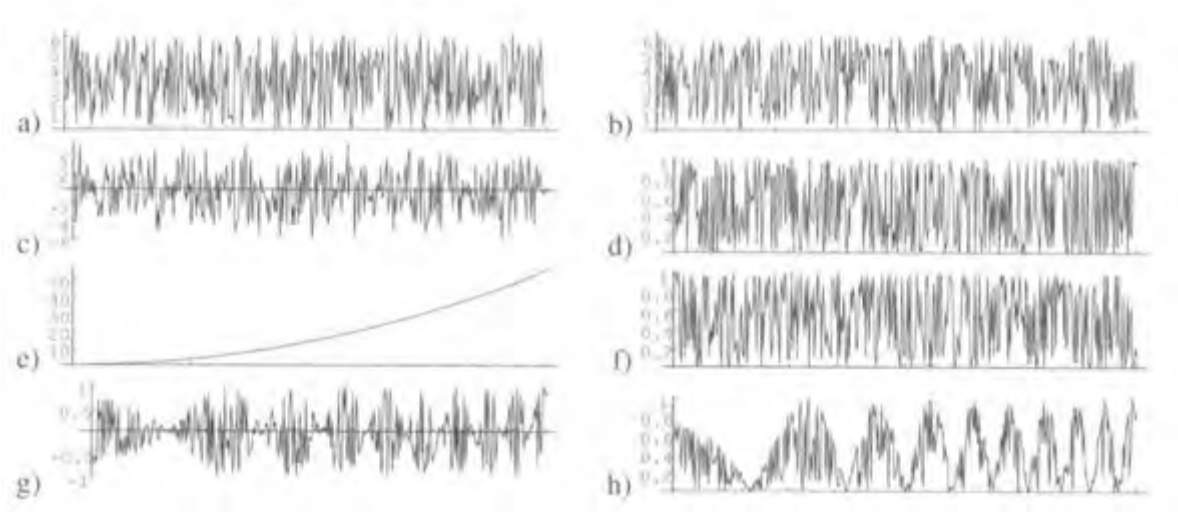


Fig. 2.2 Interferometría de moteado Digital: (a) $\phi^{(ob)}(x)$, (b) $\phi^{(ref)}(x)$, (c) $\phi^{(ob)}(x) - \phi^{(ref)}(x)$, (d) $I_A(x)$, (e) $\Delta\phi(x)$, (f) $I_B(x)$, (g) $I_A(x) - I_B(x)$, (h) $|I_A(x) - I_B(x)|$

La superposición de la onda del objeto con la onda de referencia colineal $E^{(ref)}(x, y)$ nos conduce a $I_B(x, y)$, Fig. 2.2 (f)

$$I_B(x, y) = I^{(ob)'}(x, y) + I^{ref}(x, y) + 2\sqrt{I^{(ob)'}(x, y)I^{ref}(x, y)}\cos[\psi(x, y) + \Delta\phi(x, y)] \quad (2.5)$$

En el sistema de procesamiento digital de imágenes este segundo patrón de moteado $I_B(x, y)$ se resta punto a punto en tiempo real desde el almacenado $I_A(x, y)$ donde se asume que la deformación cambia la fase, pero no la amplitud, lo que significa que $I^{(ob)'}(x, y) = I^{(ob)}(x, y)$. La diferencia resultante es, Fig. 2.2 (g)

$$\begin{aligned} (I_A - I_B)(x, y) &= 2\sqrt{I^{(ob)}(x, y)I^{ref}(x, y)}[\cos\psi - \cos\psi\cos\Delta\phi + \sin\psi\sin\Delta\phi](x, y) \\ &= 4\sqrt{I^{(ob)}(x, y)I^{ref}(x, y)}\sin\left[\psi(x, y) + \frac{\Delta\phi(x, y)}{2}\right]\sin\frac{\Delta\phi(x, y)}{2} \end{aligned} \quad (2.6)$$

Para mostrar este resultado en tiempo real en un monitor, las intensidades positivas se obtienen al tomar el módulo $|I_A - I_B|$ o el cuadrado $(I_A - I_B)^2$, Fig. 2.2 (h). La raíz cuadrada en la Ec.

(2.6) describe la iluminación de fondo. El primer término senoidal nos da el ruido de moteado estocástico el cuál varía aleatoriamente de pixel a pixel. Este ruido es modulado por el seno de la diferencia de fase media inducida por la deformación. Esta modulación de alta frecuencia de ruido de moteado es reconocida como un patrón de interferencia. La diferencia de fase $\Delta\phi(x, y)$ se relaciona con el vector de desplazamiento $d(x, y)$ (es el vector que une a un punto de la superficie del objeto antes y después de su deformación) de la siguiente manera

$$\Delta\phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} d(x, y) \cdot [b(x, y) - s(x, y)] \quad (2.7)$$

donde $b(x, y)$ se refiere al punto de observación y $s(x, y)$ se refiere al punto de iluminación.

Una manera alternativa para determinar la diferencia de fase de dos interferogramas de moteado es el método de la transformada de Fourier. Aquí las dos intensidades $I_A(x, y)$ e $I_B(x, y)$ son transformadas al espacio de Fourier. Al aplicar las transformadas de Fourier tenemos dos espectros de amplitud en los órdenes de difracción uno y menos uno (los dos primeros lóbulos laterales). Si la abertura se gira un poco, los lóbulos laterales no se superponen, después de esto se filtra un lóbulo lateral (dados por los órdenes de difracción) aplicando un filtro de paso de banda y aplicando una transformada inversa de Fourier tenemos por consiguiente los números complejos $C_A(x, y)$ y $C_B(x, y)$ que corresponde a I_A e I_B respectivamente. Teniendo lo anterior la fase de interferencia $\Delta\phi(x, y)$ se calcula por

$$\begin{aligned} \Delta\phi(n, m) &= \arctan \frac{\operatorname{Re}\{C_A(x, y)\}\operatorname{Im}\{C_B(x, y)\} - \operatorname{Re}\{C_B(x, y)\}\operatorname{Im}\{C_A(x, y)\}}{\operatorname{Re}\{C_A(x, y)\}\operatorname{Re}\{C_B(x, y)\} + \operatorname{Im}\{C_A(x, y)\}\operatorname{Im}\{C_B(x, y)\}} \\ &= \arctan \frac{\operatorname{Im}\{C_B(x, y)C_A^*(x, y)\}}{\operatorname{Re}\{C_B(x, y)C_A^*(x, y)\}} \end{aligned} \quad (2.8)$$

La Ec. (2.7) muestra que la sensibilidad máxima del ESPI es para desplazamientos fuera de plano. Para la medición de desplazamientos transversales se recomienda una configuración modificada al usar dos iluminaciones con direcciones opuestas que tienen ángulos iguales a la normal de la superficie. Los patrones de ESPI esencialmente contienen la misma información como los que corresponden a los interferogramas holográficos. Por lo tanto su producción requiere de las mismas precauciones concernientes al aislamiento de vibraciones y estabilidad durante el proceso de grabación. Los resultados pueden ser observados en tiempo real, debido a la grabación electrónica no hay problema con un reposicionamiento exacto de una placa

holográfica. La calidad del mapa de fase de la interferencia puede ser mejorada al filtrar en el dominio de frecuencia espacial.

2.2 Holografía Digital

El concepto de la grabación de un holograma digital se ilustra en la Fig. 2.3 (a). Una onda de referencia (plana o esférica) y una onda reflejada desde el objeto interfieren entre ellas sobre la superficie de una cámara CCD. El holograma resultante es grabado electrónicamente y almacenado. El objeto es generalmente un cuerpo tridimensional con una superficie que refleja difusamente la luz, localizado a una distancia d desde la CCD [13].

En la reconstrucción óptica la imagen virtual aparece en la posición del objeto original y la imagen real se forma a una distancia d también, pero en la dirección opuesta desde la cámara CCD, ver en la Fig. 2.3 (b).

La difracción de una onda luminosa en una abertura (en este caso un holograma), la cual es montada perpendicularmente al haz entrante, se describe por la integral de Fresnel-Kirchhoff

$$\Gamma(\xi', \eta') = \frac{i}{\lambda} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} h(x, y) E_R(x, y) \frac{\exp(-i\frac{2\pi}{\lambda}\rho')}{\rho'} dx dy \quad (2.9)$$

Con

$$\rho' = \sqrt{(x - \xi')^2 + (y - \eta')^2 + d^2} \quad (2.10)$$

$h(x, y)$ es la función del holograma y ρ' es la distancia entre un punto en el plano del holograma y un punto en el plano de la reconstrucción (ξ', η') (Fig. 2.4).

Para una onda de referencia plana $E_R(x, y)$ el término imaginario se vuelve cero ya que solo necesitamos la parte espacial de la onda, esto es, la amplitud. Entonces tenemos

$$E_R = a_R + i0 = a_R \quad (2.11)$$

El patrón de difracción es calculado a una distancia d detrás del plano CCD, lo que significa que se reconstruye la amplitud compleja en el plano de la imagen real.

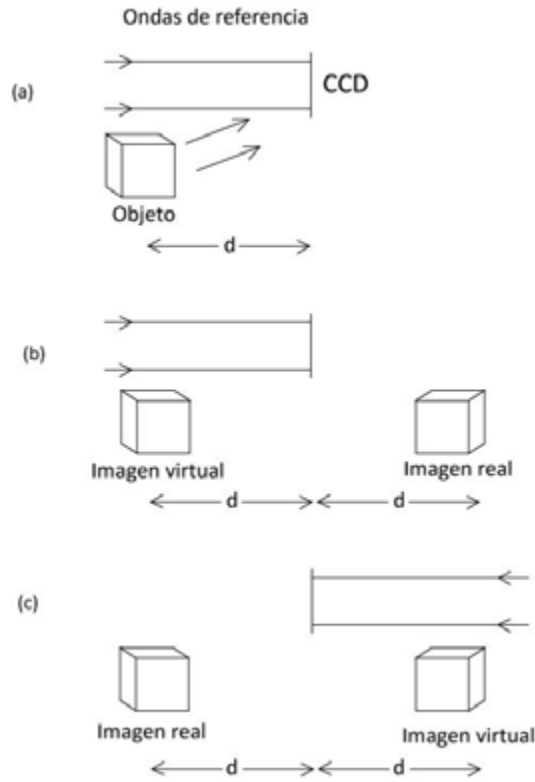


Fig. 2.3 Holografía Digital: (a) Grabación, (b) Reconstrucción con la onda de referencia E_R , (c) Reconstrucción con la onda de referencia conjugada E^*_R

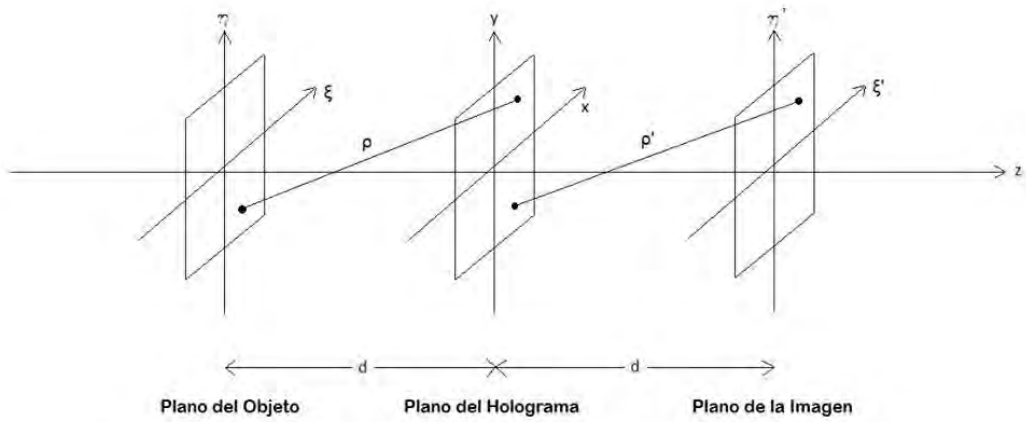


Fig. 2.4 Sistema de coordenadas para la reconstrucción numérica del holograma.

La Ec. (2.9) es la base de la reconstrucción numérica de hologramas. Puesto que el campo de la onda reconstruida $\Gamma(\xi', \eta')$ es una función compleja, se pueden calcular tanto la intensidad como la fase, lo cual no ocurre en la reconstrucción óptica de un holograma, ya que solo podemos ver la intensidad.

Para reconstruir un holograma la amplitud de transmisión se multiplica por la amplitud compleja de la onda de reconstrucción. El primer término del resultado será la onda de referencia, el segundo término es la onda objeto reconstruida, que forma la imagen virtual y el tercer término generará una imagen real distorsionada del objeto. La razón de esta imagen distorsionada es un factor complejo E_R^2 que varía espacialmente el cual modula la onda del objeto conjugada. Para reconstruir una imagen real distorsionada en Holografía Digital es necesario insertar E_R^* (haz de referencia conjugado) en lugar de E_R

$$\Gamma(\xi, \eta) = \frac{i}{\lambda} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} h(x, y) E_R^*(x, y) \frac{\exp(-i\frac{2\pi}{\lambda}\rho)}{\rho} dx dy \quad (2.12)$$

Con

$$\rho = \sqrt{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2 + d^2} \quad (2.13)$$

El esquema de esta reconstrucción es mostrado en la Fig. 2.3 (c). La imagen real emerge en esa posición, donde el objeto fue localizado durante la grabación. Se debe mencionar que para la onda plana de referencia definida en la Ec. (2.11), ambas fórmulas de reconstrucción, Ec. (2.9) y Ec. (2.12) son equivalentes porque $E_R = E_R^* \equiv a_R$.

Haciendo la comparación de las Ecuaciones (2.10) y (2.13), ρ es la distancia desde el plano del objeto al plano del holograma y ρ' es la distancia desde el plano del holograma al plano de reconstrucción (Fig. 2.4).

La configuración de la Fig. 2.3, con una onda plana de referencia que incide perpendicularmente sobre la CCD, se utiliza a menudo en Holografía Digital.

La reconstrucción de la imagen virtual solo es posible si se introducen las propiedades de la imagen de una lente dentro del proceso de reconstrucción numérica. Esta lente corresponde a la lente ojo de un observador que mira a través de un holograma reconstruido ópticamente. En un caso simple esta lente es colocada directamente detrás del holograma, Fig. 2.5.

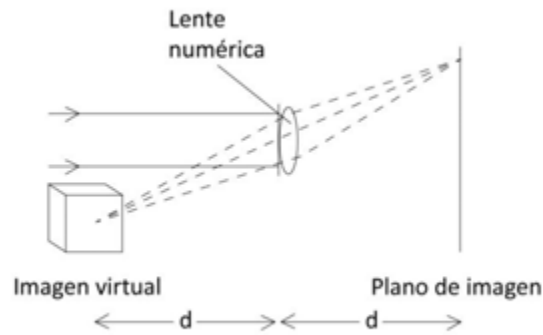


Fig. 2.5 Reconstrucción de la Imagen Virtual

2.3 Holografía Digital de Desplazamiento de fase

Este método puede reconstruir una sección transversal arbitraria de un objeto tridimensional con una imagen de alta calidad al usar una configuración fuera de eje [15].

Los hologramas por holografía digital son capturados por una cámara de vídeo y reconstruidos por un ordenador mediante una integral de difracción. La fase de las ondas de referencia se cambia paso a paso, esto se puede hacer utilizando un método de tres o cuatro pasos, resultando el método de cuatro pasos más sencillo en la forma en que cada paso se da cada 90° comparado con el de tres que se da cada 120° . Las cuatro interferencias resultantes son procesadas por un ordenador para producir la distribución de la amplitud compleja de la onda. Entonces la distribución es una transformada de Fresnel en el ordenador para reconstruir imágenes en planos arbitrarios.

Un rayo láser se divide en dos trayectorias, una de las cuales contiene un haz objeto de transmisión o reflexión y el otro, el espejo transductor piezoeléctrico, que es capaz de hacer un desplazamiento de fase. Los patrones de interferencia del desplazamiento son tomados por una cámara CCD y procesados por un ordenador para derivar la amplitud compleja y reconstruir la imagen. Asumimos que el punto del objeto está localizado en (x_0, y_0, z_0) . Entonces la onda del objeto está representada bajo una aproximación parabólica por:

$$\begin{aligned}
U(x, y) &= A \exp(i\phi) \\
&= \frac{A_0}{z_0} \exp\left[i\phi_0 + ikz_0 + ik \frac{(x-x_0)^2 + (y-y_0)^2}{2z_0}\right] \quad (2.14)
\end{aligned}$$

donde $A_0 \exp(i\phi_0)$ es la amplitud compleja del objeto y k es el número de onda. Una onda de referencia plana cuya amplitud compleja se representa por $U_R = A_R \exp(i\phi_R)$ se superpone sobre la onda objeto. La intensidad resultante que será grabada en la cámara CCD es expresada como

$$\begin{aligned}
I(x, y; \phi_R) &= |U_R(\phi_R) + U(x, y)|^2 \\
&= A^2 + A_R^2 + 2A_R A \cos(\phi_R - \phi) \quad (2.15)
\end{aligned}$$

Al grabar las siguientes intensidades escalonadas con diferencias de fase podemos derivar la fase de objeto como

$$\phi(x, y) = \tan^{-1} \frac{I(x, y; \frac{3\pi}{2}) - I(x, y; \pi/2)}{I(x, y; 0) - I(x, y; \pi)} \quad (2.16)$$

2.4 Reconstrucción Numérica por la aproximación de Fresnel

Para valores de x y y también como para valores de ξ y η , los cuáles son pequeños comparados con la distancia d entre el plano de reconstrucción y la CCD, la expresión de la Ec. (2.10) puede expandirse a una serie de Taylor:

$$\rho = d + \frac{(\xi-x)^2}{2d} + \frac{(\eta-x)^2}{2d} - \frac{1}{8} \frac{[(\xi-x)^2 + (\eta-x)^2]^2}{d^3} \quad (2.17)$$

El cuarto término se puede despreciar, si este es pequeño comparado con la longitud de onda:

$$\frac{1}{8} \frac{[(\xi-x)^2 + (\eta-x)^2]^2}{d^3} \ll \lambda \quad (2.18)$$

o

$$d \gg \sqrt[3]{\frac{1}{8} \frac{[(\xi-x)^2 + (\eta-x)^2]^2}{d^3}} \quad (2.19)$$

Entonces la distancia ρ consiste de los términos lineales y cuadráticos:

$$\rho = d + \frac{(\xi-x)^2}{2d} + \frac{(\eta-x)^2}{2d} \quad (2.20)$$

Con la aproximación adicional de remplazar el denominador en la Ec. (2.9) por d queda la expresión siguiente para la reconstrucción de la imagen real:

$$\Gamma(\xi + , \eta) = \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E_R^*(x, y) h(x, y) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} ((\xi - x)^2 + (\eta - x)^2)\right] dx dy \quad (2.21)$$

Sí las multiplicaciones en el argumento del exponencial bajo la integral se llevan a cabo se obtiene

$$\begin{aligned} \Gamma(\xi, \eta) &= \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (\xi^2 + \eta^2)\right] \\ &\times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E_R^*(x, y) h(x, y) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (x + y^2)\right] \exp\left[i \frac{2\pi}{\lambda d} (x\xi + y\eta)\right] dx dy \end{aligned} \quad (2.22)$$

Esta ecuación es llamada aproximación de Fresnel o Transformación de Fresnel debido a que es similar matemáticamente con la Transformada de Fourier. Permite la reconstrucción del campo de la onda en un plano detrás del holograma, en este caso en el plano de la imagen real.

La intensidad es calculada por:

$$I(\xi, \eta) = |\Gamma(\xi, \eta)|^2 \quad (2.23)$$

La fase es calculada por:

$$\varphi(\xi, \eta) = \arctan \frac{Im[\Gamma(\xi, \eta)]}{Re[\Gamma(\xi, \eta)]} \quad (2.24)$$

Re denota la parte real e Im la parte imaginaria.

La fórmula de reconstrucción para la imagen virtual en la aproximación de Fresnel es:

$$\begin{aligned}
\Gamma(\xi', \eta') &= \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (\xi'^2 + \eta'^2)\right] P(\xi', \eta') \\
&\times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E_R(x, y) L(x, y) h(x, y) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (x^2 + y^2)\right] \exp\left[i \frac{2\pi}{\lambda d} (x\xi' + y\eta')\right] dx dy \\
&= \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp\left[+i \frac{\pi}{\lambda d} (\xi'^2 + \eta'^2)\right] \\
&\times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E_R(x, y) h(x, y) \exp\left[+i \frac{\pi}{\lambda d} (x^2 + y^2)\right] \exp\left[i \frac{2\pi}{\lambda d} (x\xi' + y\eta')\right] dx dy \quad (2.25)
\end{aligned}$$

Para la digitalización de la transformada de Fresnel Ec. (2.22) se introducen las siguientes sustituciones [17]

$$v = \frac{\xi}{\lambda d}; \quad \mu = \frac{\eta}{\lambda d} \quad (2.26)$$

Se convierte en lo siguiente

$$\begin{aligned}
\Gamma(v, \mu) &= \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp[-i\pi\lambda d(v^2 + \mu^2)] \\
&\times \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} E_R^*(x, y) h(x, y) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (x^2 + y^2)\right] \exp[i2\pi(xv + y\mu)] dx dy \quad (2.27)
\end{aligned}$$

Una comparación de la Ec. (2.27) con la definición de la transformada de Fourier bidimensional muestra que la aproximación de Fresnel hasta un factor de fase esférica es la inversa de la transformada de Fourier de la función $E_R^*(x, y) h(x, y) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (x^2 + y^2)\right]$:

$$\Gamma(v, \mu) = \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp[-i\pi\lambda d(v^2 + \mu^2)] \times \mathfrak{F}^{-1} \left\{ E_R^*(x, y) h(x, y) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (x^2 + y^2)\right] \right\} \quad (2.28)$$

La función Γ puede digitalizarse si la función del holograma $h(x,y)$ se muestra sobre un “mapa de bits” rectangular de NxM puntos, con pasos Δx y Δy a lo largo de las coordenadas. Δx y Δy son las distancias entre los pixeles vecinos sobre la CCD en dirección horizontal y vertical. Con estos valores discretos la integral de (2.27) se convierte en sumas finitas:

$$\begin{aligned} \Gamma(m, n) = & \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp[-i\pi\lambda d(m^2\Delta v^2 + n^2\Delta\mu^2)] \\ & \times \sum_{k=0}^{N-1} \sum_{l=0}^{M-1} E_R^*(k, l) h(k, l) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (k^2\Delta x^2 + l^2\Delta y^2)\right] \exp[i2\pi(k\Delta x m\Delta v + l\Delta y n\Delta\mu)] \quad (2.29) \end{aligned}$$

Para $m=0, 1, \dots, M-1$; $n=0, 1, \dots, N-1$

De acuerdo con la teoría de la transformada de Fourier entre $\Delta x, \Delta y$ y $\Delta v, \Delta\mu$ existe la siguiente relación

$$\Delta v = \frac{1}{N\Delta x}; \quad \Delta\mu = \frac{1}{M\Delta y} \quad (2.30)$$

Después de re-sustituir

$$\Delta\xi = \frac{\lambda d}{N\Delta x}; \quad \Delta\eta = \frac{\lambda d}{M\Delta y} \quad (2.31)$$

Al usar estas ecuaciones (2.29) se convierte a

$$\begin{aligned} \Gamma(m, n) = & \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp\left[-i\pi\lambda d \left(\frac{m^2}{N^2\Delta x^2} + \frac{n^2}{M^2\Delta y^2}\right)\right] \\ & \times \sum_{k=0}^{N-1} \sum_{l=0}^{M-1} E_R^*(k, l) h(k, l) \exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (k^2\Delta x^2 + l^2\Delta y^2)\right] \exp\left[i2\pi \left(\frac{km}{N} + \frac{ln}{M}\right)\right] \quad (2.32) \end{aligned}$$

Esta es la transformada discreta de Fresnel. La matriz Γ se calcula al multiplicar E_R^* con $h(k,l)$ y $\exp\left[-i \frac{\pi}{\lambda d} (k^2\Delta x^2 + l^2\Delta y^2)\right]$ y se aplica una transformada de Fourier inversa al producto. El cálculo se hace más efectivamente utilizando el algoritmo de la Transformada

Rápida de Fourier (FFT por sus siglas en inglés). El factor delante de la sumatoria solo afecta a la fase en general y puede ser despreciado solo si la intensidad de acuerdo con la ecuación es de interés. Este solo es el caso si se tiene que calcular la diferencia de fase entre los hologramas grabados con la misma longitud de onda ($\Delta\varphi = \varphi_{1+const.} - (\varphi_2 + const.) = \varphi_1 - \varphi_2$).

La correspondiente fórmula discreta para la vía de reconstrucción de una lente virtual con $f=l/2$ (Ec. 2.32) es

$$\Gamma(m, n) = \frac{i}{\lambda d} \exp\left(-i \frac{2\pi}{\lambda} d\right) \exp\left[+i\pi\lambda d \left(\frac{m^2}{M^2\Delta x^2} + \frac{n^2}{N^2\Delta y^2}\right)\right] \\ \times \sum_{k=0}^{N-1} \sum_{l=0}^{N-1} E_R^*(k, l) h(k, l) \exp\left[+i \frac{\pi}{\lambda d} (k^2\Delta x^2 + l^2\Delta y^2)\right] \exp\left[i2\pi \left(\frac{km}{M} + \frac{ln}{N}\right)\right] \quad (2.33)$$

Un holograma digital típico se muestra en la Fig. 2.6. El objeto es situado desde la cámara CCD a una distancia $d = 37.5$ cm donde la cámara tiene una resolución de 1024×1024 *pixeles* y una distancia entre pixeles de $\Delta x = \Delta y = 7.4 \mu m$. La longitud de onda es de $\lambda = 532 nm$. La reconstrucción numérica se muestra en la Fig. 2.7 donde una imagen real de un dado es usada como objeto y el cuadrado brillante en el centro es una onda de reconstrucción sin difractar (orden cero). De acuerdo a la geometría fuera de eje la imagen es separada espacialmente desde el término de orden cero. La otra imagen (virtual) está fuera de foco en esta reconstrucción.



Fig. 2.6 Holograma digital

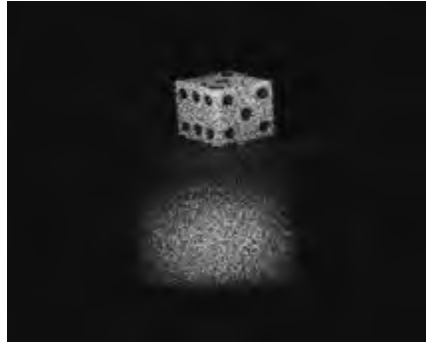


Fig. 2.7 Reconstrucción numérica de la grabación de un dado que se encontraba a una distancia de 37.5 cm desde el sensor de la cámara.

Una propiedad interesante de la holografía es que cada una de las partes del holograma contiene la información del objeto entero. La reducción del número de *pixeles* efectivo conduce a la reducción de la resolución en las imágenes reconstruidas. El holograma es la abertura del sistema óptico con una longitud de $N\Delta x$. De acuerdo con la teoría de difracción un patrón de difracción se desarrolla en una distancia d detrás del holograma. $\Delta\xi = \lambda d/N\Delta x$ es entonces la mitad del diámetro del disco de airy o el diámetro del moteado en el plano de la imagen reconstruida, la cual limita la resolución.

2.5 Holografía Digital de Fourier

La geometría especial para registrar hologramas es mostrado en la Fig. 2.8 y es nombrada Holografía de Fourier sin lentes [13]. También esta configuración se ha realizado en Holografía Digital. La fuente puntual de la onda de referencia esférica se localiza en el plano del objeto como se puede observar en la Fig. 2.8. La onda de referencia al plano de la CCD es descrita por:

$$\begin{aligned}
 E_R &= \frac{\exp\left(-i\frac{2\pi}{\lambda}\sqrt{(d^2+x^2+y^2)}\right)}{\sqrt{(d^2+x^2+y^2)}} \\
 &\approx \frac{1}{d}\exp\left(-i\frac{2\pi}{\lambda}d\right)\exp\left(-i\frac{\pi}{\lambda d}(x^2+y^2)\right)
 \end{aligned}
 \tag{2.34}$$

El término $\sqrt{(d^2 + x^2 + y^2)}$ es la distancia entre la fuente puntual y el punto con coordenadas (x,y) en el plano CCD. La aproximación en la Ec. (2.34) es la misma que se utiliza para describir la transformada de Fresnel. Insertando esta expresión dentro de la fórmula de reconstrucción para la imagen virtual conduce a la siguiente ecuación:

$$\Gamma(\xi, \eta) = C \exp \left[+i \frac{\pi}{\lambda d} (\xi^2 + \eta^2) \right] \mathfrak{F}^{-1} \{h(x, y)\} \quad (2.35)$$

C es la constante compleja. Un Holograma de Fourier sin lentes por lo tanto se reconstruye mediante una transformada de Fourier. Esto no es posible si enfocamos sobre áreas diferentes dentro del volumen del objeto con holografía de Fourier sin lentes, porque la distancia de reconstrucción d no aparece en la Ec. (2.35), ya que la distancia es tan pequeña que se vuelve despreciable en los cálculos. El factor de fase esférica $\exp \left(-i \frac{\pi}{\lambda d} (x^2 + y^2) \right)$ asociado con la transformada de Fresnel es eliminado por el uso de una onda de referencia esférica con la misma curvatura.

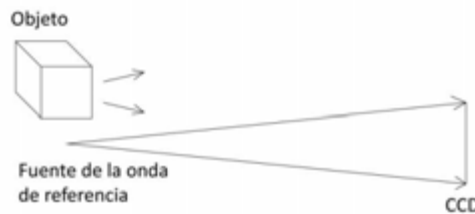


Fig. 2.8 Holografía Digital de Fourier sin lentes

2.6 Holografía Interferométrica Digital de Doble Exposición

Dos campos de onda coherentes, los cuales son reflejados de dos estados diferentes de un objeto, interfieren. La primera exposición representa al objeto en un modo estático, la segunda exposición representa al objeto en un estado deformado. El holograma será reconstruido iluminándolo con la onda de referencia. Si se compara esta reconstrucción con el objeto mismo, luego de ser sometido a una deformación, se observa una distribución de

frangas sobre el objeto [11]. Esta distribución, se conoce como interferograma o frangas de intensidad. La descripción anterior es la esencia de la interferometría holográfica de doble exposición. Esta genera interferogramas a partir de los registros holográficos de los distintos estados de un mismo objeto que se somete a alguna clase de deformación. Al igual que en interferometría convencional, el rango de medición involucra una elevada precisión del orden de centésimas de longitud de onda.

En el caso más general la intensidad en un interferograma se describe como:

$$I(x, y) = A(x, y) + B(x, y)\cos(\Delta\phi(x, y)) \quad (2.36)$$

Donde A y B corresponden a parámetros que dependen de las coordenadas del interferograma.

Esta última ecuación muestra que las frangas de un interferograma contienen información sobre el cambio de fase entre dos frentes de onda de un mismo objeto en distintos estados. Sin embargo, para extraer esta información no basta con un solo interferograma, pues los parámetros A y B son desconocidos. La técnica más común para hallar la diferencia de fase involucra algoritmos de corrimiento de fase para los cuales son necesarios como mínimo tres interferogramas.

Cuando se combina la interferometría holográfica con los métodos de HD, es posible tomar un camino completamente distinto al proceso interferométrico convencional. Aquí la fase del frente de onda para un objeto en un estado se puede extraer directamente de la matriz compleja dada por la Ec. (2.36). Para obtener la diferencia de fase en hologramas de doble exposición, basta con reconstruir por separado los registros de cada estado del objeto. Si $\Gamma_k(\xi, \eta)$ (ξ y η son las coordenadas en el plano del objeto) para $k = 1, 2$ representa las amplitudes complejas del campo óptico que resulta de la reconstrucción, las fases para cada estado ($k = 1$ estado inicial, $k = 2$ estado deformado) se calculan con:

$$\phi_k(\xi, \eta) = \arctan\left(\frac{\text{Im}\Gamma_k(\xi, \eta)}{\text{Re}\Gamma_k(\xi, \eta)}\right) \quad k=1,2. \quad (2.37)$$

Una vez obtenida la información de fase, se calcula la diferencia de fase módulo 2π directamente por sustracción:

$$\Delta\phi = \begin{cases} \phi_1 - \phi_2, & \text{si } \phi_1 < \phi_2 \\ \phi_1 - \phi_2 + 2\pi, & \text{si } \phi_1 > \phi_2 \end{cases} \quad (2.38)$$

Con la diferencia de fase obtenida, el desplazamiento axial del objeto se calcula utilizando la ecuación:

$$d = \Delta\phi \frac{\lambda}{4\pi} \quad (2.39)$$

Un interferograma holográfico convencional es generado por la superposición de dos ondas, las cuáles se dispersan desde un objeto en estados diferentes, como vimos en la sección anterior. Para el cálculo de la fase, tomamos la misma Ec. (2.37), al igual que el desplazamiento axial del objeto en la Ec. (2.39).

El esquema de la Holografía Interferométrica Digital se muestra en la Fig. 2.9 [13]. Las figuras superior izquierda y superior derecha presentan dos hologramas digitales grabados en diferentes estados. Entre las dos grabaciones el objeto se ha inclinado en una pequeña cantidad. Cada holograma es reconstruido separadamente por una transformada de Fresnel numérica. Las fases reconstruidas de acuerdo con la Ec. (2.37) se representan en las dos figuras de la fila del centro.

La fase de la interferencia es de carácter indefinido a un múltiplo aditivo de 2π , es decir, es un módulo envuelto de 2π . Para convertir el módulo de fase de la interferencia en 2π en una distribución de fase continua, se puede aplicar un algoritmo de desenvolvimiento de fase estándar para interferometría convencional, HI o ESPI.

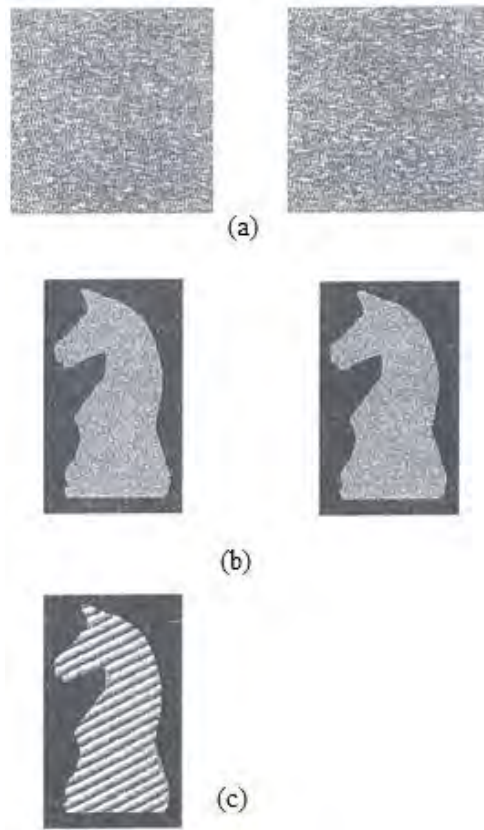


Fig. 2.9 Holografía Interferométrica Digital. (a) Grabación de los hologramas en reposo (izquierda) y con deformación (derecha), (b) reconstrucción de los hologramas, (c) fase envuelta entre el estado de reposo y el estado deformado.

2.7 Holografía Digital Interferométrica con lentes

Sistemas de imágenes convencionales utilizan lentes o espejos para poder enfocar mejor los objetos. Algunos de estos sistemas utilizan un enfoque mecánico. Para Holografía Digital Interferométrica los hologramas son capturados por una cámara y es reconstruido por una computadora. En este caso, el enfoque puede ser ajustado libremente para producir imágenes en posiciones arbitrarias. La utilización de lentes tiene la ventaja de ver el enfoque del objeto a grabar en tiempo real, sin necesidad de enfocar por medio de reconstrucción numérica [15].

2.8 Método de la Transformada de Fourier

La Transformada de Fourier es utilizada para determinar una fase de distribución de un interferograma holográfico, teniendo en cuenta las intensidades disponibles de todos los pixeles del patrón de grabado. Además, permite detectar cambios de signo y desenvolvimiento de discontinuidades en 2π .

En el método de la transformada de Fourier esencialmente se utiliza una combinación de funciones espaciales armónicas para grabar y almacenar la distribución de intensidad $I(x,y)$ dada por

$$I(x, y) = a(x, y) + b(x, y)\cos[\Delta\phi(x, y)] \quad (2.40)$$

Las frecuencias espaciales admisibles de funciones armónicas están definidas por el usuario a través de las frecuencias de corte de un filtro de paso de banda en el dominio de la frecuencia espacial [14].

Para hacer esto, la función de intensidad es expresada con la ayuda del exponencial complejo. Introduciendo

$$c(x, y) = \frac{1}{2}b(x, y)e^{i\Delta\phi(x, y)} \quad (2.41)$$

La intensidad $I(x,y)$ se convierte

$$I(x, y) = a(x, y) + c(x, y) + c^*(x, y) \quad (2.42)$$

La $a(x,y)$ y $b(x,y)$ contienen las intensidades de los campos de onda que interfieren y diversas perturbaciones, i es la unidad imaginaria y $*$ denota la conjugación compleja. La transformada de Fourier discreta de dos dimensiones a través del algoritmo FFT aplicado a $I(x,y)$, nos da

$$I(u, v) = A(u, v) + C(u, v) + C^*(u, v) \quad (2.43)$$

con (u,v) como las coordenadas de frecuencia espacial. $I(x,y)$ es una distribución en el dominio espacial, $I(u,v)$ es una distribución Hermitiana en el dominio de frecuencia espacial, la cual significa

$$I(u, v) = I^*(-u, -v) \quad (2.44)$$

La parte real de $I(u,v)$ es par y la parte imaginaria es impar. El espectro de amplitud $|I(u,v)|$ por lo tanto luce simétrico con respecto al termino DC $I(0,0)$. $A(u,v)$ contiene el pico cero $I(0,0)$ y las variaciones de frecuencia del fondo $C(u,v)$ y $C^*(u,v)$ llevan la misma información.

Por filtrado de paso de banda en el dominio de la frecuencia espacial se elimina $A(u,v)$ y uno de los términos $C(u,v)$ o $C^*(u,v)$. El espectro restante, $C^*(u,v)$ o $C(u,v)$, ya no es Hermitiano, por lo que la transformada inversa de Fourier se aplica a $C(u,v)$, y nos da un complejo $c(x,y)$. Las partes imaginaria y real no desaparecen. La fase de interferencia puede ser calculada por

$$\Delta\phi(x,y) = \arctan \frac{Im [c(x,y)]}{Re [c(x,y)]} \quad (2.45)$$

La transformada inversa de $C^*(u,v)$ en lugar de $C(u,v)$ resultaría en $-\Delta\phi(x,y)$.

Al conocer toda esta teoría, ya pudimos poner en marcha nuestras pruebas. Con la combinación de estas técnicas holográficas podemos grabar hologramas con buen contraste y alta resolución para así poder cuantificar el campo de desplazamiento de objetos en movimiento. A continuación veremos la parte práctica de este trabajo de Tesis.

Capítulo 3

Metodología Experimental y Resultados

Introducción

En este capítulo describiremos todo aquello relacionado con la metodología experimental del trabajo realizado. Una de las partes importantes es la muestra utilizada, una muestra biológica. Se describirán los arreglos experimentales, los parámetros usados para la prueba, como se llevó a cabo la reconstrucción de los hologramas y la obtención de ESPI, fase envuelta y fase desenvuelta de la MT. Por último se realizará una discusión acerca de los resultados obtenidos y ver las ventajas y desventajas de cada una de las técnicas utilizadas.

3.1 Preparación de la muestra

En este trabajo se experimentó con la MT de un gato. La muestra se conserva en solución salina, previamente envuelta en una gasa o venda la cual absorbe la solución y después se coloca en un congelador.

Cuando llega la hora de la experimentación, la MT se saca del congelador y se deja descongelando en solución salina a temperatura ambiente, tomando el tiempo necesario para poder desprender la gasa de la muestra sin ninguna complicación de que se adhiera a la muestra y pudiera dañarla. A continuación se le coloca una capa delgada de pintura acrílica de color blanco mate a la MT, esto con el fin de obtener mejor luz retrodispersada desde su superficie ya que la MT es semitransparente. Todo esto se hace con los cuidados necesarios para que la muestra no vaya a ser dañada, perforada o que vaya a perder sus propiedades elásticas. La MT del gato tiene un área de $8\text{ mm} \times 4\text{ mm}$. Hay que mencionar que estas medidas pueden variar tomando en cuenta la edad, raza, sexo y algunas otras patologías anormales que el gato pudo tener.

Basándonos en varios estudios, como el de Khanna y Tonndorf [9], sabemos que durante largos períodos de tiempo, incluso días, el oído medio puede permanecer relativamente normal, conservando sus propiedades acústicas, esto es, no hay cambios significativos en su modo de vibración para frecuencias bajas.

Cuando se tomaron las mediciones, la muestra se mantenía húmeda utilizando solución salina, esto para evitar que la membrana se secase y se perdieran propiedades de flexibilidad y vibración. La MT se hidrataba dejándola sumergida durante media hora en la solución salina, después se colocaba en el arreglo interferométrico para hacer la grabación de hologramas y transcurrida otra media hora se volvía a hidratar de la misma manera.

Podemos observar la MT en la Fig. 3.1. La membrana se encuentra montada sobre una esponja, esto para que la esponja absorba cualquier vibración externa que pueda existir y no haya ruido que afecte a las imágenes. La MT es muy pequeña y sensible, es aún menor que el otro objeto que utilizaremos para experimentar el cual es una membrana de látex, como veremos más adelante.



Fig. 3.1 Membrana timpánica

Como se puede observar en la figura anterior la MT está rodeada de hueso para sujetarla durante la experimentación.

3.2 Procesos experimentales

3.2.1 Método de la transformada de Fourier

Se montó un arreglo como el que se muestra en la Fig. 3.2, el cual es un montaje experimental fuera de plano utilizado comúnmente en Holografía Digital. Con este montaje se realizó la grabación del patrón de interferencia de dos haces, el haz esparcido por la MT (HO) y un haz plano de referencia (HR). Se utilizó un láser VERDI-V6 para generar ambos haces el cual cuenta con una $\lambda = 532 \text{ nm}$ y una potencia modulable desde los 10 mW hasta 6 W. Para esta serie de experimentos se utilizó el láser con una potencia de 2 W ya que al utilizar un modulador acusto-óptico, fibras ópticas y un divisor 50/50, al final de la cabeza óptica perdimos potencia del haz de luz. La utilización de fibras ópticas fue solamente para facilitar el manejo de los haces de luz y así ahorrar el uso de espejos.

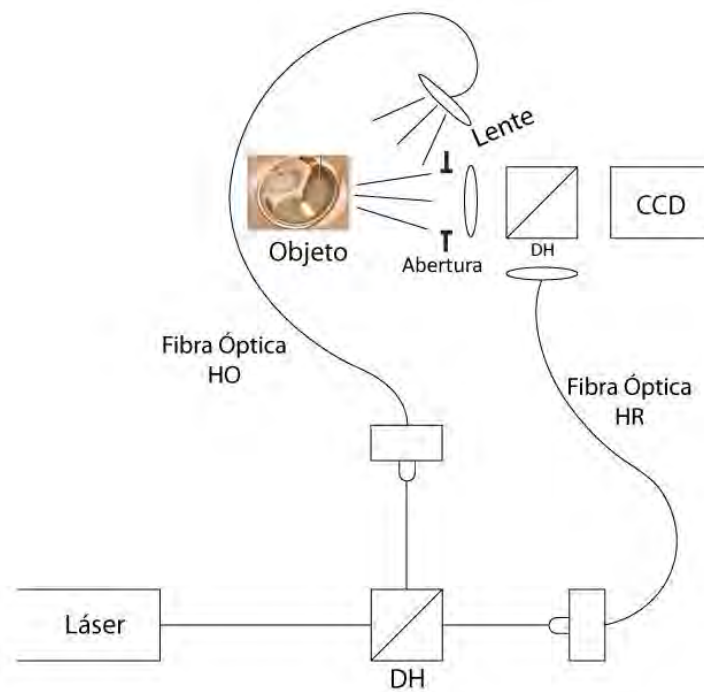


Fig. 3.2 Arreglo interferométrico para el método de Fourier, el cual cuenta con una lente con $f=3 \text{ cm}$ que se encuentra entre el objeto y el sensor de la cámara. DH se refiere a un divisor de haz, HR al haz de referencia, HO al haz objeto y CCD a una cámara CCD.

En primer lugar se hicieron pruebas con un material no biológico antes de iniciar el trabajo con la MT del gato. Este material de prueba fue una membrana de látex con un diámetro de alrededor de 1 cm y un espesor de 0.05 mm el cual fue medido con un Dial Caliper NSK con una medición mínima de 0.01 mm . Se montó la membrana como se muestra en la Fig. 3.3 y se colocó frente al sensor de la cámara digital a una distancia de 14 cm para que el sensor de la cámara captara en su totalidad las dimensiones de la membrana de látex. Esta distancia no se elige al azar ya que va ligada a la fórmula que a continuación se describe

$$d = \frac{d_0 \Delta \xi}{\lambda} \quad (3.1)$$

donde d_0 es el tamaño de objeto, $\Delta \xi$ el tamaño del pixel de la cámara y λ la longitud de onda con que se graba el holograma.

Se utilizó una cámara digital PixelFly QE, con una resolución de 1392×1024 *pixeles*, con un tamaño de pixel de $6.45 \times 6.45\ \mu\text{m}$. A continuación se hace el grabado de varios hologramas con la membrana estática, sin ninguna vibración. La toma de imágenes se realizó con el programa de toma de imágenes que viene con la cámara PixelFly QE. Se toma una serie de 90 imágenes por corrida para tener una gama amplia de muestras y así poder elegir las mejores, ya que, como la cámara no es una cámara rápida puede haber alguna toma fallida o que las imágenes no nos proporcionen la suficiente información.



Fig. 3.3 Membrana de látex lista para la experimentación.

A continuación se toma otra serie de imágenes pero ahora aplicando vibración a la membrana por medio de sonido. Se utilizó una onda acústica de 1.6 kHz con una amplitud de 1.8 V . El sonido se aplicó por la parte de atrás de la membrana, ya que de esa manera, podría simularse la vibración de la MT.

Como se mencionaba en el capítulo anterior, para hacer Holografía Digital Interferométrica, necesitamos de dos haces, un haz de referencia proveniente directamente de una fibra óptica y un haz objeto, que es el haz de luz que refleja nuestra muestra. Con las imágenes grabadas tanto de la muestra estática como la muestra en vibración, tenemos la información suficiente para calcular el mapa de fase y el campo de desplazamiento de la misma.

En el procesamiento, las imágenes tomadas son guardadas, se les aplica la transformada de Fourier (ver Fig. 3.4), se filtra uno de los lóbulos para separar la imagen virtual, la imagen real y el término DC (Ver Fig. 3.5) para después aplicarle una transformada inversa. Se restan dos de las imágenes capturadas, base y en movimiento, para ver su resultado en ESPI (Fig. 3.6), si este muestra franjas producidas por una interferencia finalmente se aplica la fórmula para el cálculo de fase en dos dimensiones (Fig. 3.7).

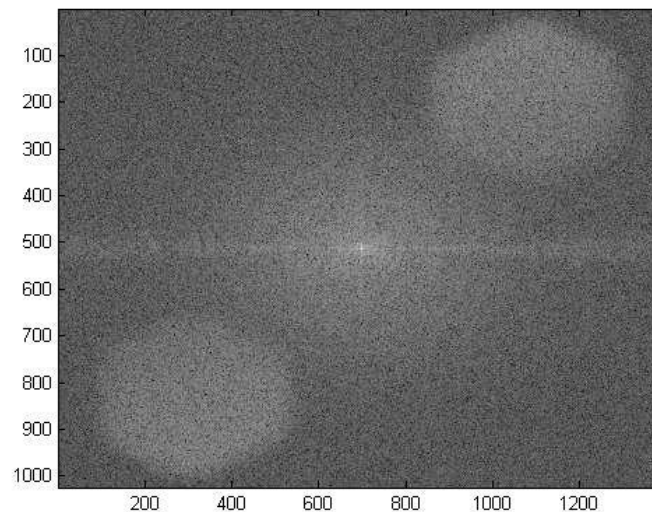


Fig. 3.4 Transformada de Fourier de la membrana de látex a 1.6 kHz con una amplitud de 1.8 V .

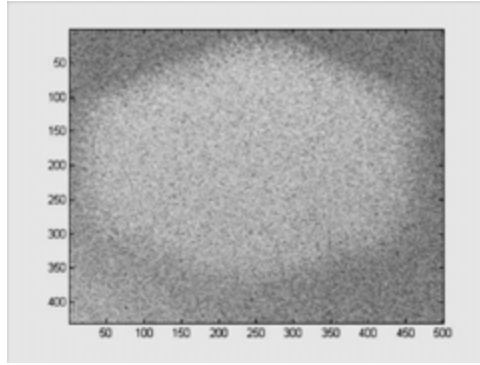


Fig. 3.5 Lóbulo recortado de la transformada de Fourier de la membrana de látex a 1.6 kHz con una amplitud de 1.8 V .

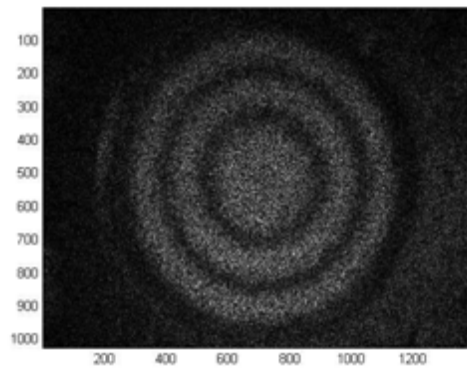


Fig. 3.6 ESPI del primer modo de vibración de la membrana de látex a 1.6 kHz con una amplitud de 1.8 V .

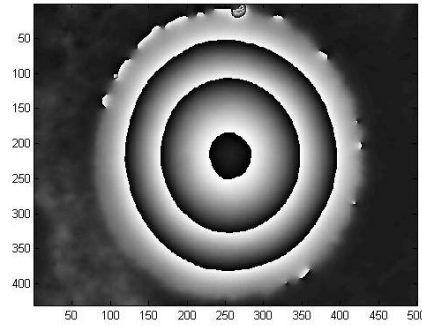


Fig. 3.7 Fase envuelta del primer modo de vibración de la membrana de látex a 1.6 kHz con una amplitud de 1.8 V .

Y lo que sigue es desenvolver estos mapas de fase para obtener nuestros campos de microdesplazamientos o fase desenvuelta (Fig. 3.8)

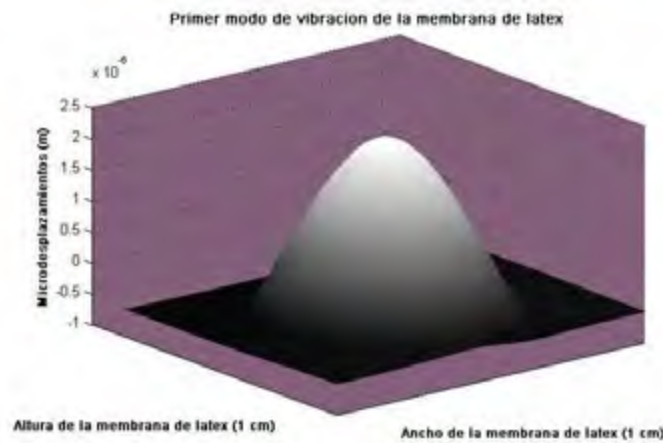


Fig. 3.8 Fase desenvuelta del primer modo de vibración de la membrana de látex a 1.6 kHz con una amplitud de 1.8 V . Se observa un desplazamiento máximo de $0.8\ \mu\text{m}$.

Podemos observar en la imagen anterior microdesplazamientos de alrededor de $0.8 \pm 0.08\ \mu\text{m}$, lo que esperamos también obtener con el método de Fresnel.

Lo siguiente es hacer un procedimiento similar pero con parámetros diferentes, los cuáles son grabar con una frecuencia de 2.6 kHz , ya que en esa frecuencia se encontró el tercer modo de vibración de la membrana de látex, barriendo el voltaje (amplitud) desde 200 a 600 mV , encontrando por medio de la visualización del ESPI en tiempo real que a los 200 mV se obtenían buenas imágenes. El sonido se aplicó de la misma manera que como encontramos el primer modo de vibración. En la Fig. 3.9 podemos observar el ESPI del tercer modo de vibración de la membrana de látex

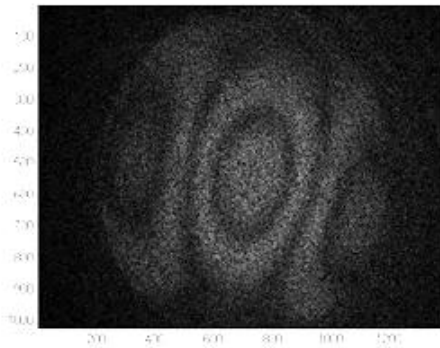


Fig. 3.9 ESPI del tercer modo de vibración de la membrana de látex a 2.6 kHz con una amplitud de 200 mV .

Después de tomar una serie de imágenes de la membrana en reposo y otra serie de imágenes en movimiento, podemos hacer el cálculo del mapa de fases (Fig. 3.10)

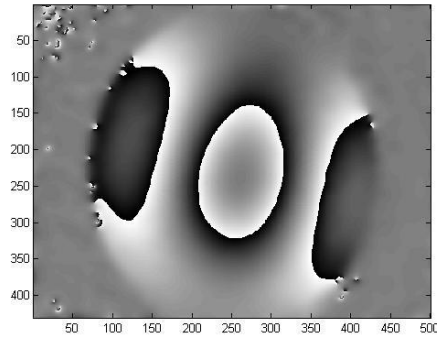


Fig. 3.10 Fase envuelta de la membrana de látex a una frecuencia de 2.6 kHz con una amplitud de 200 mV.

Teniendo los mapas de fase, se procede a desenvolver estos mapas para cuantificar los microdesplazamientos de la misma (Fig. 3.11) encontrando un desplazamiento máximo de alrededor de $1.2 \pm 0.12 \mu m$

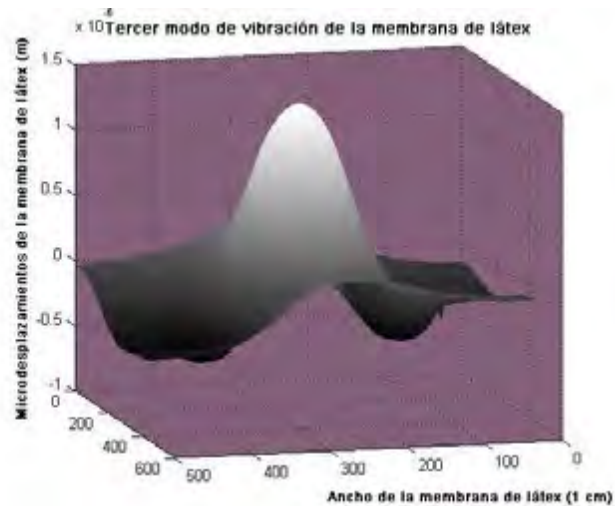


Fig. 3.11 Fases desenvueltas de la membrana de látex a 2.6 kHz con una amplitud de 200 mV.

Lo siguiente fue montar la MT, como se puede ver en la sección anterior, frente al sensor de la cámara a una distancia de 14 cm . Colocamos la MT de tal manera que pudiera ser

capturada completamente y que la pintura aplicada sobre ella fuera suficiente para reflejar la mayor cantidad de luz posible y así poder ver interferencia entre el haz de referencia y la luz reflejada de la MT. La cámara se programó con un tiempo de exposición de 0.100 ms que es el menor tiempo de exposición con que cuenta la cámara, mientras menor sea el tiempo de exposición mejores resultados obtendremos, ya que con esto se compensa el que no tengamos el láser en modo estroboscópico. La potencia del láser se siguió usando a 2 W .

El sonido fue aplicado por medio de la misma bocina utilizada para las pruebas de la membrana de látex, solo que en este caso la bocina fue aislada de la mesa holográfica para evitar cualquier vibración en los componentes del arreglo y no añadir ruido que pudiera dañar los resultados ya que la MT es más sensible que la membrana de látex, esto funcionó ya que al momento de obtener los resultados no hubo formación de franjas. El sonido es aplicado de frente a la MT por medio de un canal para así simular la forma natural con que llega el sonido a la MT en los mamíferos por medio del canal auditivo.

Se tomó una serie de imágenes con una onda acústica de 1.2 kHz , ya que esta frecuencia fue la adecuada para el primer modo de vibración de la MT por qué es una frecuencia baja pero suficiente para ser captada, esto basándonos en estudios publicados anteriormente [19]. El voltaje aplicado (amplitud) fue de 10 V .

3.2.2 Método de reconstrucción por aproximación de Fresnel

El arreglo experimental presentado aquí es similar al arreglo para el método de Fourier. Para la reconstrucción de Fresnel no se utiliza el uso de lentes entre el objeto y el sensor de la cámara, la única lente que se utilizó fue una lente de $f=4\text{ cm}$ para colimar el haz de referencia, Fig. 3.12. Además se introduce un espejo con piezoeléctrico en el haz de referencia (HR), ya que este dará los microdesplazamientos para los cuatro pasos de corrimiento de fase, esto para aplicar la técnica de desplazamiento de fase mencionada en el Capítulo 2. Al ser un arreglo independiente al utilizado para el método de Fourier en este caso se utilizó una cámara CCD marca Pixelink monocromática de 1.3 megapixeles con una resolución de $1280 \times 1024\text{ pixeles}$ y un tamaño de pixel de $6.7 \times 6.7\ \mu\text{m}$.

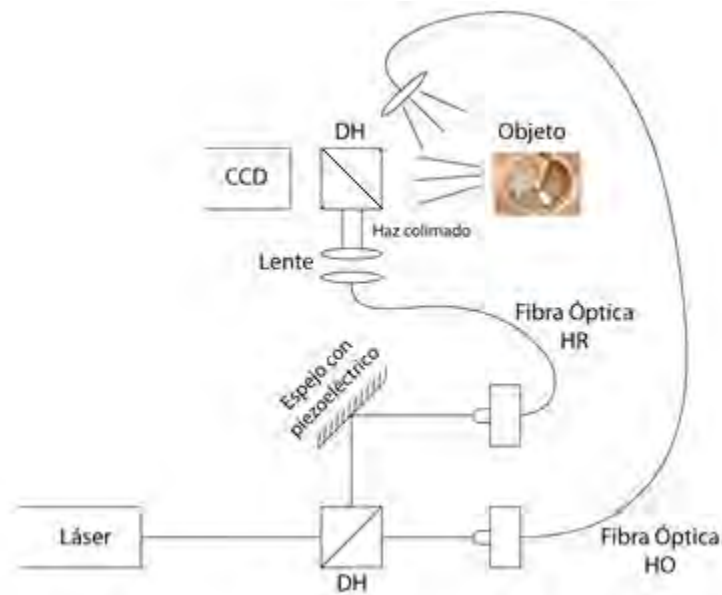


Fig. 3.12 Arreglo interferométrico para el método de reconstrucción de Fresnel donde CCD se refiere a una cámara CCD, DH a un divisor de haz, HO al haz objeto y HR al haz de referencia.

Antes de hacer la experimentación con la MT, se hicieron algunas pruebas utilizando un objeto con forma de la Torre Eiffel miniatura de aproximadamente 4.5 cm de altura, esto para tomar los parámetros necesarios que se utilizarán para hacer la grabación de hologramas de la MT. Cabe mencionar en esta parte que la utilización de un haz colimado como haz de referencia es de gran ayuda al momento de la reconstrucción numérica, ya que al momento de reconstruir, la distancia utilizada en el programa en MatLab era aproximadamente la misma que la distancia a la que se encuentra el objeto frente al sensor de la cámara.

La Fig. 3.13 nos muestra la reconstrucción del holograma grabado con la Torre Eiffel miniatura.



Fig. 3.13 Holograma reconstruido a una distancia de 30 cm usando la aproximación de Fresnel

Como se hizo con el método de Fourier, antes de comenzar con las pruebas a la MT primero hicimos una prueba con la misma membrana de látex, esto también, para saber y calcular la distancia a la que sería colocado el objeto frente al sensor de la cámara y no perder información de sus dimensiones.

Se montó la membrana de látex y se colocó frente al sensor de la cámara digital. Se adquieren una serie de imágenes con la membrana estática sin ninguna vibración con un programa hecho en MatLab especialmente para este experimento. Se toman aproximadamente 15 paquetes de 4 imágenes, estas 4 imágenes son cada uno de los pasos que da el piezoeléctrico para el corrimiento de fase con un voltaje de $1.1 V$. Esta medida del voltaje es la que se calculó al ver los desplazamientos de franjas en un interferómetro de Michelson. Hay que tomar en cuenta que el número de paquetes o series de imágenes que tomamos es para evitar tener imágenes sin información ya que esta cámara tampoco es rápida.

A continuación se toma otra serie de imágenes pero ahora aplicando vibración por medio de sonido a la membrana de látex, el cual fue aplicado desde la parte trasera de la membrana. Se utilizó una onda acústica de $1.6 kHz$ para el primer modo con una amplitud de $1.8 V$.

El mapa de fase envuelta de la membrana de látex lo podemos observar en la Fig. 3.14 con una distancia de reconstrucción de $14 cm$.

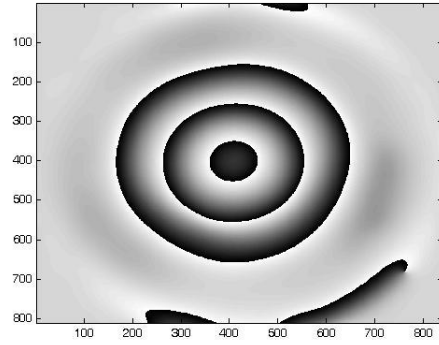


Fig. 3.14 Fase envuelta del primer modo de vibración de la membrana de látex a 1.6 kHz con una amplitud de 1.8 V .

En la Fig. 3.15 se cuantifica el desenvolvimiento de la fase de la figura anterior. Podemos ver un desplazamiento máximo a los $1.1 \pm 0.11\ \mu\text{m}$. Este resultado no es el mismo que el del método de Fourier, ya que recordemos que utilizamos diferentes parámetros de frecuencia y voltaje al momento de hacer la grabación del holograma.



Fig. 3.15 Fase desenvuelta del primer modo de vibración de la membrana de látex a 1.6 kHz con una amplitud de onda de estímulo a 1.8 V .

Después de esto se cambió la frecuencia del sonido aumentándola a 2.95 kHz , esto para obtener el tercer modo de vibración de la membrana. Observando que a partir de una

amplitud de voltaje de $1.5 V$ podíamos observar ya el tercer modo de vibración en la membrana pasamos a tomar una serie de imágenes para poder calcular la fase. En las Figs. 3.16 y 3.17 se muestran la fase envuelta y desenvuelta del tercer modo de vibración de la membrana de látex.

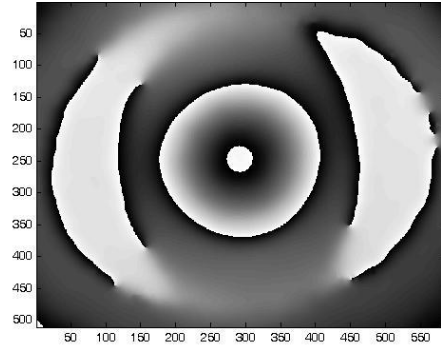


Fig. 3.16 Fase envuelta del tercer modo de vibración de la membrana de látex a $2.95 kHz$ con una amplitud de la señal de estímulo de $1.8 V$.

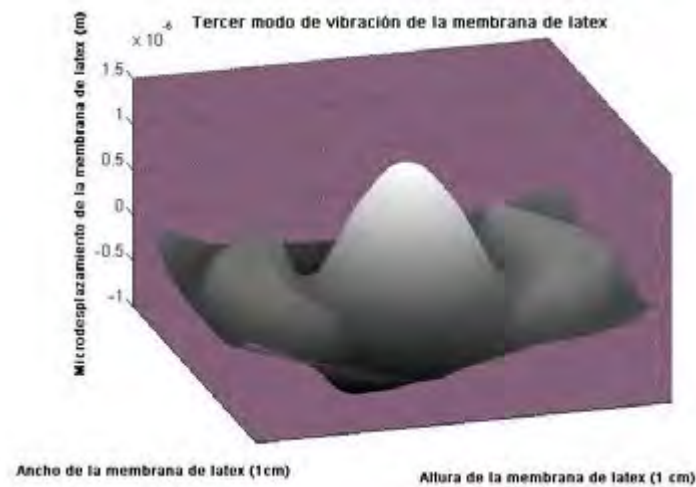


Fig. 3.17 Fase desenvuelta del tercer modo de vibración de la membrana de látex a $2.95 kHz$ con una amplitud de la señal de estímulo de $1.8 V$.

El desplazamiento máximo observado para el tercer modo de vibración a $2.95 kHz$ con una amplitud de la señal de estímulo de $1.5 V$ es de $0.3 \pm 0.03 \mu m$.

Como se hizo con el método de Fourier, al observar resultados óptimos con la membrana de látex para el cálculo de la fase envuelta y desenvuelta del primer modo y tercer modo de vibración proseguimos a hacer la experimentación con la MT del gato.

La MT siguió montada dentro de la esponja y fue colocada frente al sensor de la cámara CCD. La elección de los parámetros no son elegidos al azar, primero se hicieron pruebas con la captura de la cámara y el piezoeléctrico que es el dispositivo que nos dará el corrimiento de fase en cuatro pasos. Con la ayuda de un osciloscopio podemos ver la gráfica de los pasos en cada corrida de fotos. Variando la velocidad de captura también cambia el ancho de los pasos. Haciendo pruebas se concluyó que usando un tiempo de exposición de 0.83 ms a 24 cuadros tenemos el mismo ancho de paso en todas las tomas. El tiempo de exposición se calcula dividiendo 1 entre la frecuencia del láser. La potencia del láser no se cambió y continuó en 2 W . Se utilizaron los mismos parámetros para el sonido que con el Método de Fourier, una onda acústica de 1.2 kHz , solo que con una amplitud de 1.5 , 2 y 2.5 V . La onda acústica fue aplicada de la misma manera de frente a la MT, esto lo podemos observar en la Fig. 3.18.

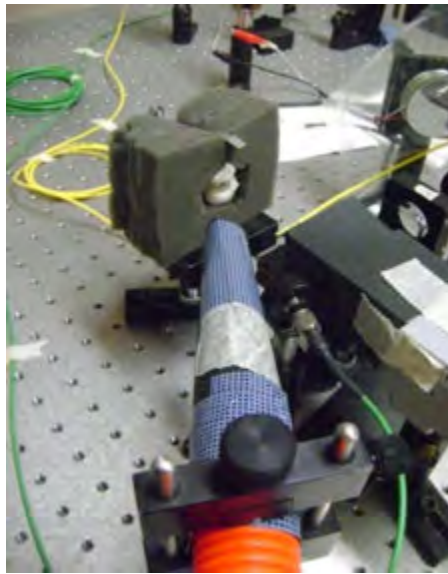


Fig. 3.18 Parte del arreglo experimental que muestra como es aplicado el sonido a la MT por medio de un canal.

3.3 Resultados y discusiones

Después de haber sido capturadas las imágenes con su respectiva cámara en cada uno de los métodos, tanto el de Fourier como el de Fresnel, se procedió a procesar las imágenes con los programas respectivos hechos en MatLab, utilizando la transformada de Fourier para uno y para el otro la fórmula de reconstrucción por aproximación de Fresnel los cuales se explicaron en el capítulo 3.

En primer lugar mostraremos los resultados del método de Fourier. En la Fig. 3.19 podemos observar la resta de dos imágenes (ESPI), una tomada con la MT estática (base) menos una imagen tomada en su primer modo de vibración a una frecuencia de 1.2 kHz con una amplitud de 10 V . La frecuencia de 1.2 kHz está muy cerca de la frecuencia utilizada por procedimientos médicos para evaluar el proceso auditivo, la cual es de 1 kHz . El voltaje fue de 10 V ya que la membrana tenía aproximadamente una hora desde que se sacó de la solución salina para hacer la toma de imágenes y perdió un poco de flexibilidad pero no la suficiente para no darnos buenos resultados.

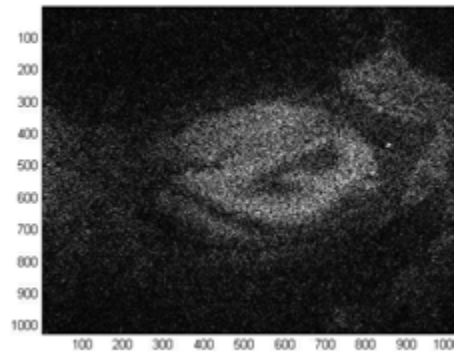


Fig. 3.19 ESPI de la MT. Las unidades mostradas son los píxeles de la cámara, los cuáles son 1392×1024 píxeles.

El siguiente paso es calcular la fase envuelta utilizada por Kreis [14]. En la Fig. 3.20 se observan las partes claras y oscuras particulares de una fase, cada franja nos indica $\lambda/2$ de deformación de la MT.

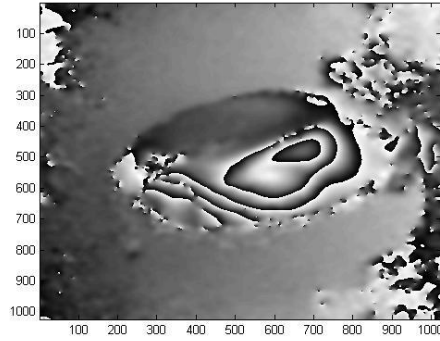


Fig. 3.20 Fase envuelta de la MT puesta en vibración a 1.2 kHz con una amplitud de 10 V .

Teniendo la fase envuelta como procedimiento final se hace el desenvolvimiento de esta misma. La fase desenvuelta nos permite cuantificar las deformaciones de la MT al someterlas a la onda acústica (Fig. 3.21). Las deformaciones o campo de microdesplazamientos no es más que la multiplicación de nuestra fase por la longitud de onda con que fue grabado el holograma y esto dividido entre 4π como lo vimos en el capítulo anterior. En este caso tenemos microdesplazamientos que son de alrededor de $2.5 \pm 0.25\ \mu\text{m}$

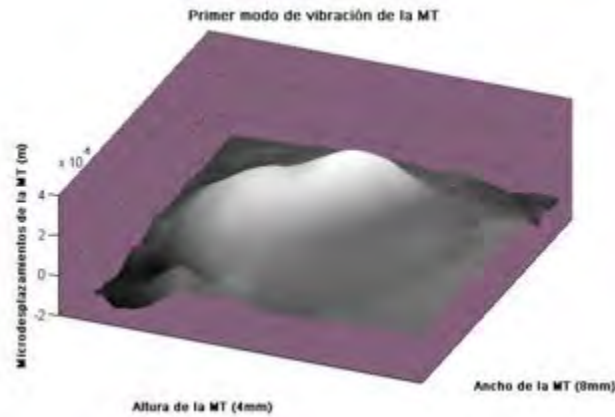


Fig. 3.21 Fase desenvuelta de la MT a 1.2 kHz con una amplitud de 10 V .

Los parámetros considerados y calculados acerca de frecuencia, amplitud y decibeles de las ondas acústicas utilizadas se encuentran en la Tabla 3.1. Las presiones de sonido fueron tomadas con un medidor de nivel de sonido SEW 2310 SL el cual contaba con detección de presión mínima de 32 dB y una máxima de 130 dB. Este medidor se puso a la misma distancia que se encontraba la MT al momento de su grabación.

Tabla 3.1 Relación entre frecuencia, amplitud de voltaje y decibeles de las ondas acústicas utilizadas

Muestra	Frecuencia	Voltaje	Decibeles
Látex	2.6 kHz	200 mVpp	65.8 dB
Látex	2.6 kHz	300 mVpp	69.2 dB
Látex	2.6 kHz	600 mVpp	75.2 dB
MT	1.2 kHz	7 Vpp	92.2 dB
MT	1.2 kHz	8 Vpp	93.3 dB
MT	1.2 kHz	9 Vpp	94.4 dB
MT	1.2 kHz	10 Vpp	95.3 dB

Ahora para el caso de reconstrucción de Fresnel, siguiendo la misma dinámica, comenzamos tomando dos series de imágenes, la primera con la MT estática sin deformación y la segunda con la MT en su primer modo de vibración. El primer cálculo que se realiza es el ESPI de la MT, ver Figura 3.22. La diferencia con este método es que no podemos ver el cálculo del ESPI en la pantalla de la computadora en tiempo real como lo hicimos con Fourier, en este caso hay que esperar a que el programa en MatLab haga la reconstrucción a una distancia aproximada a la distancia real a la que se encuentra la MT.

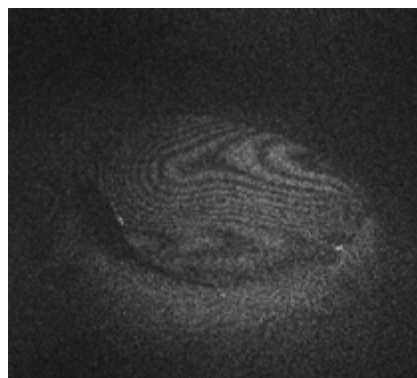


Fig. 3.22 ESPI de la MT.

A continuación se hace el cálculo de la fase con 3 amplitudes de voltaje diferentes para mostrar el desarrollo del patrón de franjas a una misma frecuencia, Fig. 3.23. Esta variación de voltaje se hizo para poder observar si existen o no cambios en el modo de vibración de la MT, esto es, si se altera y que pasa con los microdesplazamientos al realizar este cambio en la presión de sonido.

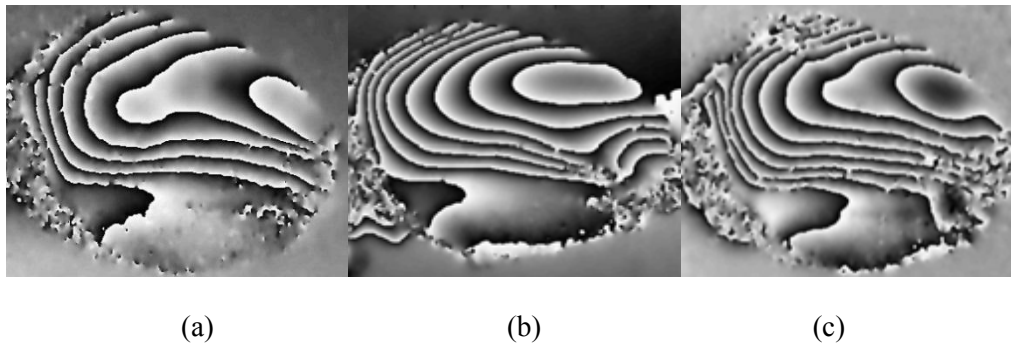
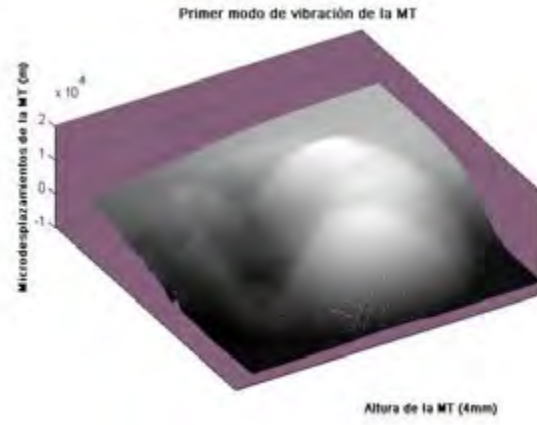


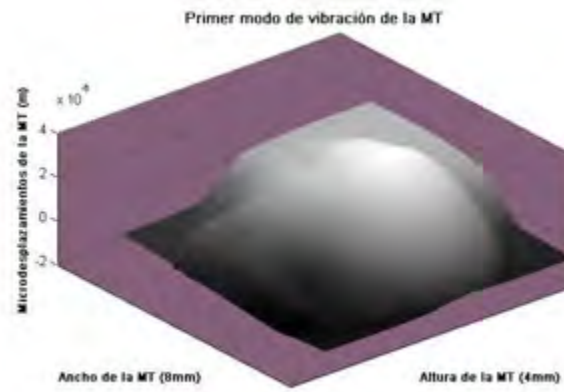
Fig. 3.23 Fase óptica resultante para el primer modo de vibración de la MT (a) 1.5 V (80.7 dB), (b) 2 V (81.8 dB) y (c) 2.5 V (84.4 dB)

Podemos observar en la figura anterior como al aumentar de 80.7 dB en (a) a 84.4 dB hay un aumento en el número de franjas formadas por la presión de sonido conservando la forma del patrón, por lo tanto podemos decir que a esta frecuencia y a diferentes presiones acústicas esta se mantiene. Al haber un aumento en el número de franjas podemos decir que habrá un aumento en los microdesplazamientos de la MT como podremos observar a continuación.

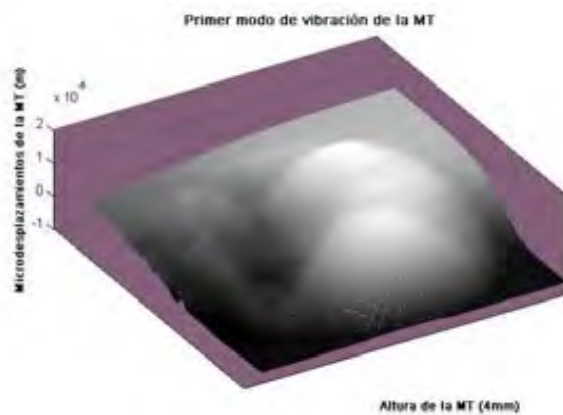
Por último se realiza el desenvolvimiento de fase para la MT en su reconstrucción por aproximación de Fresnel, ver Figura 3.24.



(a)



(b)



(c)

Fig. 3.24 Fase óptica desenvuelta para el primer modo de vibración de la MT (a) 1.5 V, (b) 2 V y (c) 2.5 V.

En las imágenes anteriores se pueden observar microdesplazamientos de los 1.6 ± 0.16 a los $3 \pm 0.3 \mu m$.

Los parámetros tomados y calculados acerca de frecuencia, amplitud y decibeles de las ondas acústicas utilizadas se encuentran la siguiente Tabla 3.2. Las presiones de sonido fueron medidas con el mismo procedimiento y equipo que en el caso de la Tabla 3.1.

Tabla 3.2 Relación entre frecuencia, amplitud de voltaje y decibeles de las ondas acústicas utilizadas

Muestra	Frecuencia	Voltaje	Decibeles
Látex	3 kHz	3.5 Vpp	89.9 dB
Látex	2.95 kHz	2.8 Vpp	91.1 dB
Látex	1.6 kHz	1.8 Vpp	83.7 dB
MT	1.2 kHz	1.5 Vpp	80.7 dB
MT	1.2 kHz	2 Vpp	81.8 dB
MT	1.2 kHz	2.5 Vpp	84.4 dB

Ya por último solo mostramos los perfiles de los microdesplazamientos de la MT. Estos perfiles se grafican haciendo un corte en el eje x de nuestro mapa de fase desenvuelto para ver las deformaciones de la MT en la dirección del eje z . En la Fig. 3.25 vemos del lado izquierdo el perfil de microdesplazamientos de la MT a $10 V$ con el método de Fourier y del lado derecho vemos el perfil de microdesplazamientos de la MT a $1.5 V$ con el método de aproximación de Fresnel.

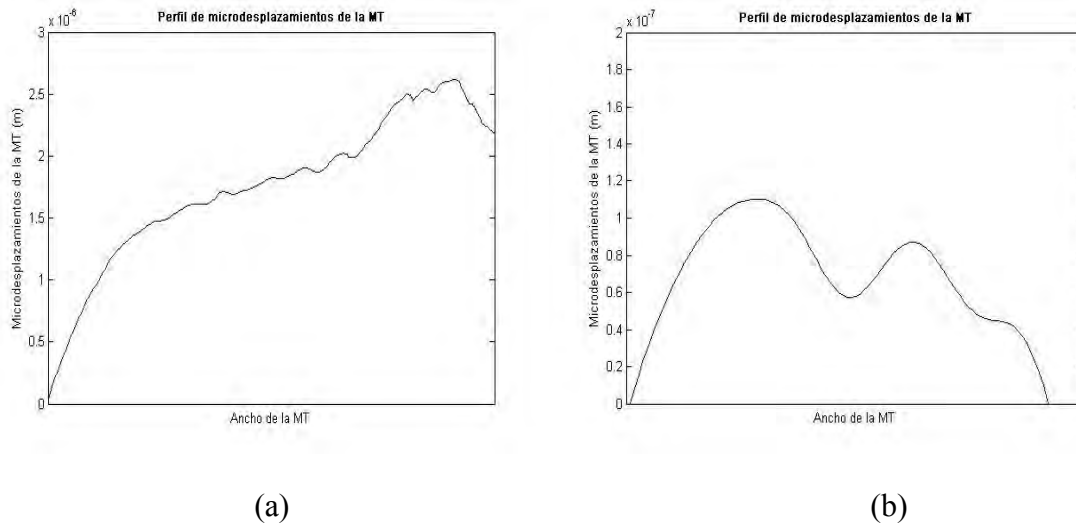


Fig. 3.25 Perfiles de microdesplazamientos de la MT con (a) el desenvolvimiento de fase del método de Fourier y (b) método de aproximación de Fresnel.

La diferencia en estos perfiles se debe a que los hologramas no fueron capturados en la misma fase de la onda de sonido, ya que son de dos arreglos independientes y con un procesamiento diferente. Además que no se tomó la misma línea de perfil ya que ambos tienen un máximo en diferentes puntos.

Capítulo 4

Conclusiones y Trabajo a Futuro

4.1 Conclusiones

La presente tesis muestra el desarrollo de técnicas modernas de holografía las cuáles son aplicadas a problemas importantes y difíciles en el área médica, como son la detección de anomalías y daño en la MT. Este tipo de técnicas holográficas son innovadoras ya que al ser aplicadas obtenemos un análisis más efectivo en el estudio del paciente, además de que estas técnicas son no invasivas.

Al tener una muestra biológica post mortem, en este caso una membrana timpánica, bajo el efecto de una onda acústica es posible realizar un análisis de su movimiento por medio de un mapa de fase.

Los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis fueron el poder obtener un mapa de fase de la vibración de membranas timpánicas para así cuantificar un campo de microdesplazamiento producidos por una onda acústica de 1.2 kHz , la cual es cercana a la de 1 kHz utilizada por procedimientos médicos, con una amplitud de 1.5 , 2 y 2.5 V respectivamente que corresponden a 80.7 , 81.8 y 84.4 dB los cuáles serán de gran utilidad en la evaluación del comportamiento de la MT en mamíferos y podrán ser comparados con modelos ya existentes. La aplicación de la Holografía Digital y la Holografía Digital interferométrica responde satisfactoriamente en el estudio de la MT de un gato, en este caso.

Hay que destacar que la técnica de desplazamiento de fase es utilizada generalmente para eventos estáticos. En este caso utilizamos dicha técnica para eventos dinámicos y obtuvimos resultados los cuáles podrían mejorarse sincronizando todos los dispositivos ya que podríamos evitar la decorrelación, evitar una fase no cosenoidal y hacer que todas las medidas cayeran en los pasos del piezoeléctrico.

Una de las ventajas del método de Fourier es que podemos ver las franjas de interferencia en tiempo real lo que nos puede indicar que el arreglo está listo para hacer la toma de hologramas. Por otra parte la técnica podría mejorarse utilizando cámaras de mayor resolución y píxeles de menor tamaño.

Por otro lado el método por aproximación de Fresnel es bueno en cuanto a reconstrucción numérica. Algunas de las desventajas de este método es el tiempo utilizado en la reconstrucción del holograma, ya que tiene que pasar por un procesamiento de cómputo.

De los resultados obtenidos podemos decir con seguridad que los patrones de interferencia encontrados son repetitivos, independientemente de si la medición de la MT se llevó a cabo en cabezas frescas de cadáver o días después de la muerte, lo que será de gran ayuda para estudios médicos en muestras en vivo.

Cabe mencionar que dichas técnicas Holográficas se están aplicando de manera exitosa al estudio en diferentes tejidos biológicos, ya no solo en la MT, por lo que técnicas médicas podrían ser complementadas por técnicas ópticas no invasivas que lograrían ser más cómodas para los pacientes, ya que no alteran el tejido en estudio al no ser tocado.

4.2 Trabajo a Futuro

El trabajo a futuro consiste en lo siguiente

1. Seguir estudiando la MT con las dos técnicas holográficas utilizadas para este trabajo probando con otras frecuencias de vibración.
2. Tener un sistema mejor controlado contando con mejores componentes en el arreglo interferométrico así como contar con cámaras digitales que sean mucho más rápidas.
3. Utilizar cámaras con mayor resolución y píxeles más pequeños.
4. Sincronizar varios dispositivos del arreglo así como utilizar Holografía estroboscópica para evitar decorrelaciones.
5. Seguir caracterizando los métodos tanto de Fourier como de Fresnel para optimizar en cuestión de tiempo de respuesta.
6. Utilizar otro tipo de muestras biológicas como pueden ser piel o tejidos de músculo para la detección de cáncer de mama.

7. Conseguir que nuestro trabajo sea aplicable a muestras en vivo, no en post mortem como lo venimos haciendo hasta el momento.
8. Diseñar un dispositivo portátil para poder hacer en un futuro experimentación en vivo.

Apéndices

A.- Anatomía del oído

A1.- La Audición

El órgano de la audición es el oído, que actúa también como órgano sensorial del equilibrio, por lo que frecuentemente las alteraciones en alguna de estas funciones- audición y equilibrio- van íntimamente ligadas.

El oído es un órgano bilateral situado a ambos lados del cráneo y que podemos dividirlo en tres áreas anatómicas: oído externo, oído medio y oído interno Fig. A.1. Las dos primeras tienen por misión la transmisión de las ondas sonoras y la última, la percepción de estas ondas.

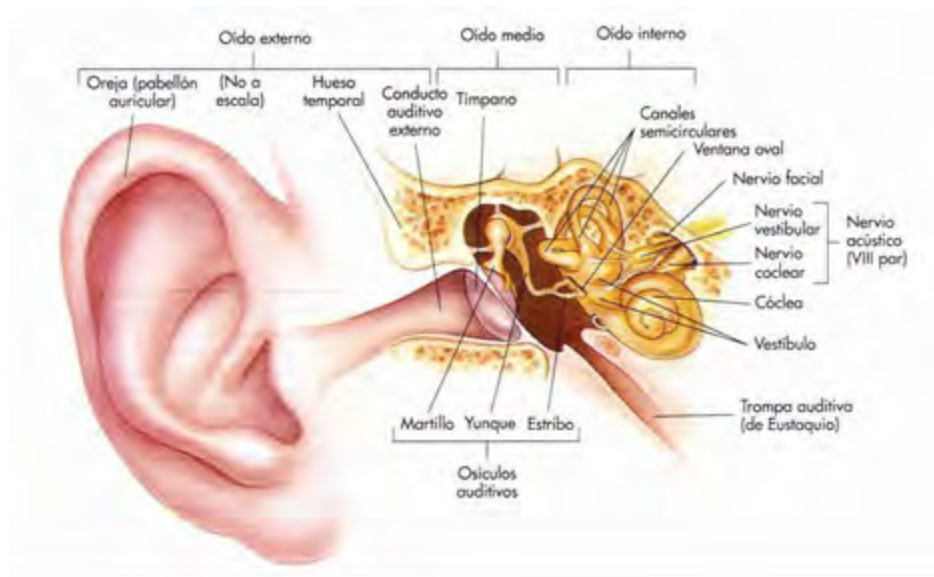


Fig. A.1 Anatomía del oído - Thibodeau, G.A.[3] – Harcourt Brace 1.998

A2.- Oído Externo

Está constituido por la oreja o pabellón auditivo y el conducto auditivo externo, que termina en la membrana timpánica o tímpano. El pabellón auditivo, de estructura cartilaginosa, tiene como función el recoger las vibraciones del aire y conducir las hacia el conducto auditivo externo, que es un tubo curvo en forma de embudo de unos 2,5 cm. de longitud que actúa como resonador. Al final de dicho conducto se encuentra el tímpano, que es una membrana vibrátil con forma cónica, la cual estimulada por las fluctuaciones de la presión sonora que recibe por el canal auditivo, vibra, y transmite dichas vibraciones al oído medio.

A3.- Oído Medio

Es una cavidad muy pequeña alojada en el hueso temporal y recubierto por mucosa, en la cual se aloja la cadena osicular, formada por tres huesos muy pequeños: martillo, yunque y estribo. Esta cadena osicular está unida a la cavidad por una serie de ligamentos y músculos, y dicha cavidad se comunica con la laringe a través de la trompa de Eustaquio. Estos tres huesecillos vibran mecánicamente con los movimientos del tímpano al estar insertado el “mango” del martillo en la superficie interna de aquel. El martillo transmite la vibración al yunque y este al estribo y se realiza un efecto de palanca que aumenta tres veces la presión recibida.

La base del estribo está fijada al borde óseo de la ventana oval, cuya vibración va a producir un efecto de pistón que actuará sobre los líquidos del oído interno.

La principal función del oído medio es el efecto multiplicador, dado que la presión inicial en un medio aéreo (oído externo) quedaría muy reducida al pasar a un medio acuoso (oído interno), por lo que es fundamental compensar dicha pérdida.

A4.- Oído Interno

El oído interno está dividido desde el punto de vista anatómico en tres partes: vestíbulo, canales semicirculares y cóclea.

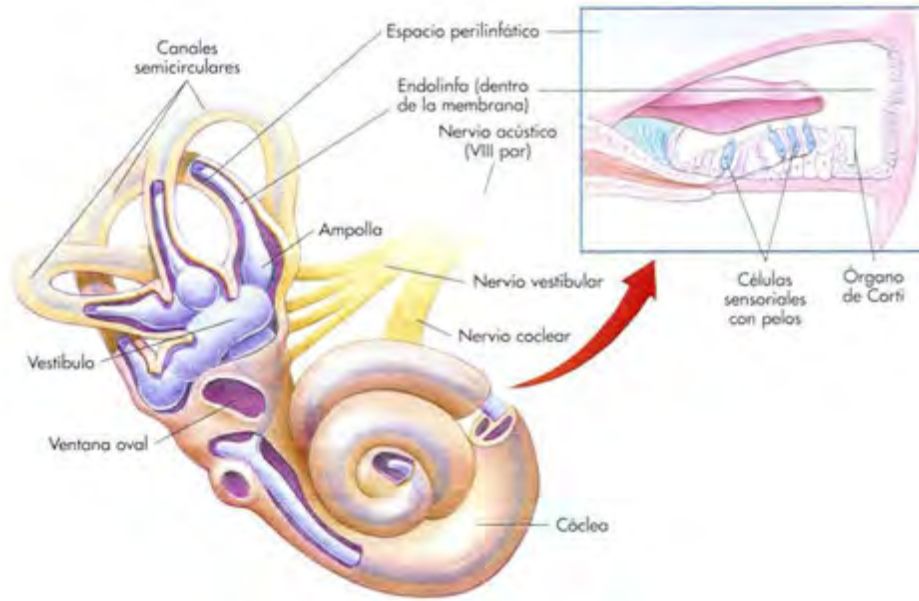


Fig. A.2 Oído interno - Thibodeau, G.A. [3]– Harcourt Brace 1.998

El órgano de la percepción auditiva es la cóclea. La cóclea es una estructura en forma de caracol, enrollada en dos vueltas y media de espiral (Fig. A.2), cuya sección transversal queda dividida en tres conductos o compartimentos.

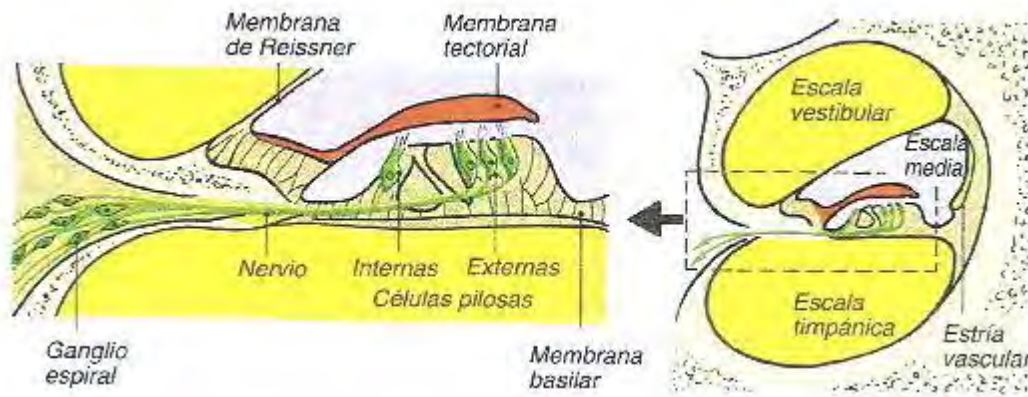


Fig. A.3. Conducto Coclear y órgano de Corti – Despoupoulos, A. [2] – Doyma 1.994

El conducto superior se denomina rampa vestibular y el inferior rampa timpánica y ambos están rellenos de un líquido (perilinfia) rico en sodio y pobre en potasio. El conducto central, que se encuentra entre ambas rampas, es la cóclea membranosa o conducto coclear de sección triangular y cuyo interior está relleno de un líquido (endolinfia) pobre en sodio y rico en potasio, al contrario que las dos rampas envolventes.

En el conducto coclear se encuentra el órgano de Corti, constituido por más 10.000 células ciliadas o sensoriales (internas y externas) que se sustentan sobre la membrana basilar (Fig. A.3). Por encima de dichas células se encuentra la membrana tectorial, la cual estimulará las células ciliadas mediante un movimiento de cizalla, y se prueba así la transformación del estímulo mecánico en una excitación neuronal.

A5.- Membrana Timpánica

El oído medio está constituido por una cavidad llena de aire donde se aloja la cavidad timpánica, dentro de la cual se encuentran tres huesecillos denominados martillo, yunque y estribo que están unidos entre ellos en forma articulada. El perfil de esta cavidad es irregular y uno de sus extremos está cerrado por una membrana muy delgada conocida como membrana timpánica (MT). La MT tiene un diámetro y espesor aproximados de 1 cm y 0.1 mm respectivamente [4]. En la Fig. A.4 se muestra una vista frontal (a) y lateral (b) de la misma donde se destacan las tres partes fundamentales que la caracterizan: parte tensa, que está unida por sus bordes al hueso temporal por medio de un anillo cartilaginoso y que constituye la mayor parte de la MT; parte flácida, que tiene forma triangular y es mucho más pequeña que la anterior, y el manubrio, el cual tiene la forma de una viga y cuya disposición geométrica mantiene tensa la MT.

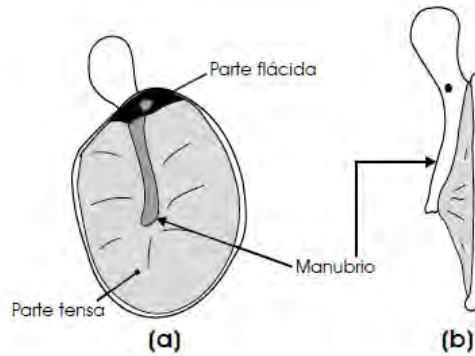


Fig. A.4. Vista frontal (a) y lateral (b) de la membrana timpánica.

Se ha considerado que el material de la MT es homogéneo, elástico y lineal con propiedades mecánicas mostradas en la Tabla A.1, las cuales influyen significativamente en el comportamiento dinámico de la MT. Las propiedades son: módulo de Young, módulo de Poisson, densidad y espesor.

La función principal de la MT es convertir la onda mecánica sonora de presión que llega del oído externo en una onda mecánica que se propaga en un sólido (cadena osicular) para llevar esta información al oído interno y de este al cerebro, he aquí la razón que la MT se encuentra unida al martillo.

Tabla A.1 Propiedades mecánicas de la MT

Propiedad Mecánica	Parte tensa	Parte flácida	Manubrio
Espesor (mm)	0.04	0.1	-
Módulo de Young (Pa)	$(2.0-4.0) \times 10^7$	1.0×10^7	2.0×10^{10}
Densidad (kg/m^2)	1,000-1,200	1,200	1,200
Módulo de Poisson	0.3	0.3	0.3
Área transversal (m^2)	-	-	20.0×10^{-9}

Color normal: gris perlado, brillante.

Superficie: continua e intacta, ligeramente transparente.

Demarcaciones: reflejo luminoso blanco (cono de luz) proyectado sobre el cuadrante anteroinferior. El reflejo luminoso se concentra con bordes bien definidos (no difusos). Son visibles las siguientes estructuras: el martillo (*umbo* y apófisis corta); *pars tensa* (porción tirante del tímpano); *annulus*; *pars flaccida* (pliegue superior, más flácido de la membrana); pliegues maleolares.

Configuración: plana o cóncava (no abombada).

Las descripciones anteriores se pueden ver en la Fig. A.5

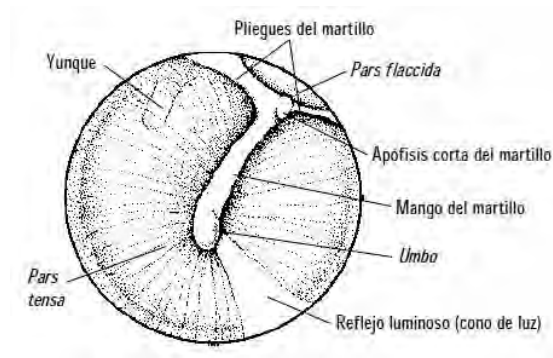


Fig. A.5. Membrana Timpánica derecha.

La investigación de la MT es de suma importancia ya que es una de las estructuras más importantes del oído medio. La MT es la estructura más periférica en el oído medio y es la primera estructura del oído que se pone en movimiento por sonido en el aire. Mediante la búsqueda de patrones de vibración de la membrana y la cuantificación del desplazamiento inducido es posible caracterizar y determinar su estado fisiológico que tiene como principal función amplificar las señales de sonido.

Las observaciones de la dinámica del movimiento de la superficie de la MT nos ayudarán a entender mejor la función de la recepción del sonido en la misma y la forma en que este sonido llega a la cadena de huesecillos y el oído interno. Una MT alterada por trauma o enfermedad del oído medio reducirá la entrada mecánico-acústica en el oído interno, y causa con ello una pérdida de audición, por eso es necesario realizar mediciones del movimiento de la MT tomando en cuenta la sensibilidad auditiva de esta. Un enfoque para

determinar el grado de tal pérdida en la conducción del sonido en el oído interno es medir la deformación de la MT con diversos estímulos acústicos.

En la actualidad, la evaluación clínica de la MT a menudo se basa en métodos que dependen de la experiencia del examen médico a través de la evaluación visual. Otros métodos e instrumentos de evaluación típicos también de uso general se incluyen en la timpanometría, audiometría y similares, y aunque su uso es de gran valor en ciertos exámenes también tienen varias deficiencias. Estos métodos médicos actuales son utilizados para evaluar el oído medio y en particular la cuantificación del movimiento en la MT, pero son subjetivos ya que dependen del juicio del médico basado en la experiencia, por lo que el diagnóstico suele ser a menudo insatisfactorio o sobre diagnosticado. Además la evaluación suele ser incómoda para el paciente, por ejemplo, en la timpanometría es necesario un canal hermético para conectar el instrumento y el conducto auditivo externo, el cual requiere una gran cantidad de cooperación del paciente.

B.- Métodos Médicos para el estudio de la Membrana Timpánica

B1.-Timpanometría

La impedancia acústica se puede definir como la dificultad que tiene el movimiento vibratorio para atravesar el oído medio [5]. Toda clase de impedancia se mide en *ohms*, en este caso son *ohms acústicos*.

Existe una relación inversa entre la cantidad de energía que absorbe la MT y la que refleja. Cuánto más tensa esté, más energía es repelida; al contrario, cuanto más flácida, más absorbe. Es decir, en el primer caso aumenta la resistencia y en el segundo disminuye.

La impedancia del oído medio está determinada por tres parámetros: la masa del sistema, su rigidez y su resistencia a los roces.

Con el impedanciometro o timpanómetro se mide la distensibilidad del sistema del tímpano y los huesecillos mediante el reflejo en el tímpano de un eco acústico con el uso de una sonda que obtura el conducto auditivo externo y que incluye tres canales diferentes:

- El primero permite variar la presión aplicada en la cara externa del tímpano. Esta variación es posible gracias a una bomba que insufla o extrae el aire del conducto auditivo externo. La presión se mide en decaPascal o en milímetros de agua ($1 \text{ daPa} = 1.02 \text{ mm H}_2\text{O}$).
- El segundo está conectado a un altavoz, que emite un sonido de intensidad conocida a una frecuencia fija (220 Hertz).
- El tercero está conectado a un micrófono. Mide el nivel acústico del conducto auditivo externo. A partir de este nivel (que corresponde a la onda acústica residual reflejada en el tímpano), filtrado en relación al tono de sonda, el aparato calcula la distensibilidad gracias a un voltímetro o medida de resorte (Fig. B.1).

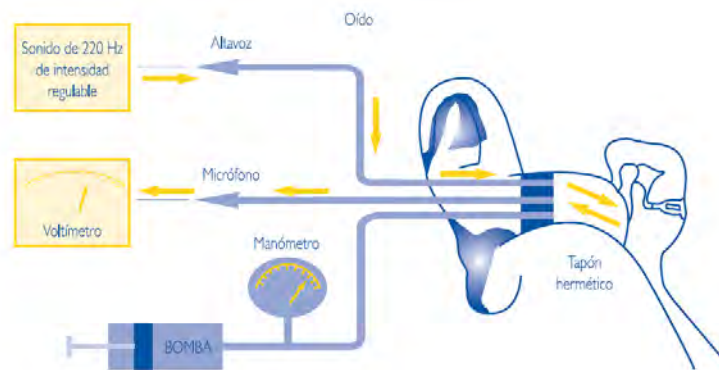


Fig. B.1 Funcionamiento del Impedanciometro

B1.1 Realización de la prueba

El aparato para realizar una timpanometría se denomina timpanómetro. La sonda debe ser insertada de manera perfectamente hermética en el conducto auditivo externo ya que si existen fugas no se podrá realizar. La prueba se inicia con una sobrepresión de $+ 200 \text{ mm}$ de agua en el conducto auditivo externo. A continuación se va disminuyendo lentamente la presión de forma automática hasta los $- 400 \text{ mm}$ de agua. En caso de perforación timpánica

no puede realizarse la prueba, ya que los cambios en la presión aplicados en el conducto auditivo externo son ineficaces.

B1.2 Curva de Timpanometría Normal

En el eje de las abscisas los valores de presión están expresados en *mm* de agua. En el eje de las ordenadas, las variaciones de la distensibilidad se miden en *ml*.

Una curva de timpanometría normal corresponde a los siguientes criterios:

- Una forma global en “techo de pagoda”.
- Un pico estrecho, cuyo máximo de presión se centra entre + 50 y – 100 *mm* de agua.
- Una amplitud máxima del pico entre 1 y 2 *ml* de agua (Fig. B.2).

Se trata de la curva tipo A de la clasificación de Jerger.

Un timpanograma normal indica que el sistema del tímpano y los huesillos funciona sin alteración alguna. Una curva de este tipo no tiene valor alguno como indicador del nivel auditivo del individuo.

Curvas de timpanometría clasificación de Jerger:

- Curva tipo A: Es la descrita anteriormente
- Las curvas tipo B: Se caracterizan por el hecho de que no poseen pico y su trazado se mantiene en una altura limitada, básicamente con una forma, muy progresiva y asintótica. Se observa entonces un aspecto “en cúpula”. Estas curvas pueden corresponder a la presencia de líquido en la cavidad del oído medio, a un tímpano muy abombado o a una impactación de cerumen (Fig. B.3).
- Las curvas tipo C: Se caracterizan por un pico con un claro desplazamiento hacia las presiones negativas (máximo claramente inferior a – 100 *mm* de agua). La amplitud puede ser normal o baja. Estas curvas implican una depresión permanente del oído medio, que traduce un mal funcionamiento de la trompa. No puede descartarse la posibilidad de un derrame líquido (sobre todo si la amplitud está disminuida). Este tipo de curva se observa también en una otitis media aguda en fase de curación (Fig. B.4).

Probabilidad de derrame en la cavidad y aspecto de la curva:

Uno de los elementos de mayor interés de la timpanometría es el de facilitar un diagnóstico clínico de la presencia del líquido en la cavidad timpánica. Para ello, se deberá analizar el conjunto de parámetros descriptivos de la curva, esencialmente precisar los siguientes:

- Presencia o no de un pico de distensibilidad.
- Nivel de desplazamiento del pico hacia las presiones negativas.

Puede afirmarse que la presencia de líquido será tanto más probable cuanto más plana sea la curva o cuanto más débil sea su amplitud, con un desplazamiento hacia presiones negativas. No se trata más que de una probabilidad, y una curva normal y centrada no permite descartar formalmente la presencia de líquido en la cavidad.

Existen falsas curvas por errores de manipulación de la sonda, cuando el extremo de esta se apoya en la pared posterior del conducto auditivo externo.

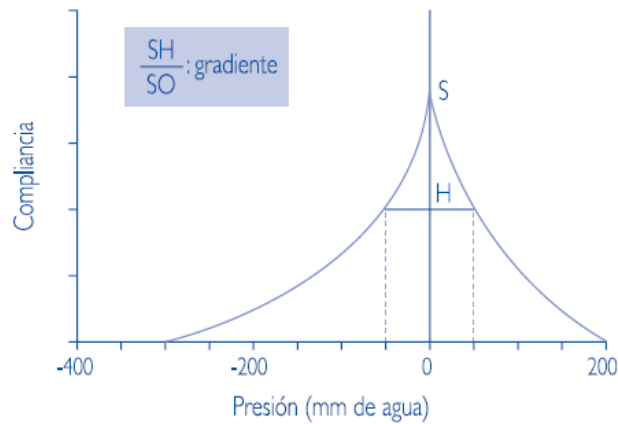


Fig. B.2 Timpanometría normal

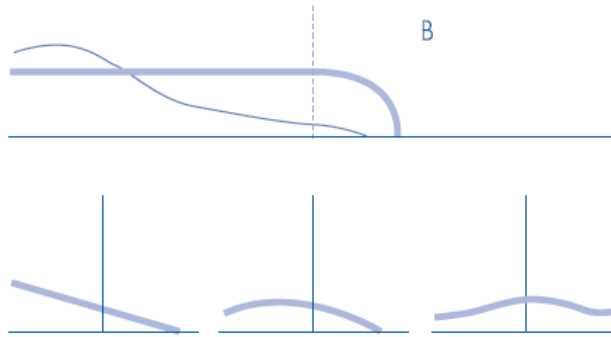


Fig. B.3 Timpanometría; curvas según la clasificación de Jerger: Curva tipo B (presión vs compliancia)

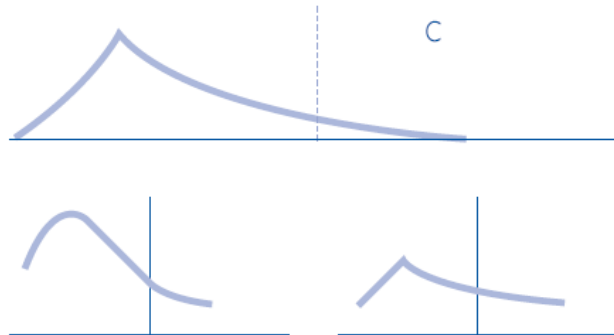


Fig. B.4 Timpanometría; curvas según la clasificación de Jerger: Curva tipo C (presión vs compliancia)

B2.- Audiometría

La audiometría es un examen que tiene por objeto cifrar alteraciones de la audición en relación con los estímulos acústicos, resultados que se notan en un gráfico denominado audiograma [6]. Esta evaluación puede utilizarse para detectar pérdida auditiva a una etapa temprana y también cuando se presenta dificultad auditiva por cualquier causa. La audiometría electrónica permite estudiar:

- El umbral auditivo, es decir, la intensidad mínima audible para cada frecuencia, técnica que se conoce con el nombre de audiometría tonal umbral.
- Ciertos fenómenos fisiopatológicos que se producen en las hipoacusias sensorioneurales.
- La comprensión de la palabra, es decir, la capacidad que tiene el oído y la vía auditiva de discriminar un término de otro.

B2.1.- Espacio donde se practica y características

La cabina audiométrica permite la realización de las audiometrías en un ambiente sonoro adecuado, imprescindible si deseamos hallar el umbral auditivo de una persona. Una de las características principales es que sea un cuarto lo suficientemente quieto para que el ruido de fondo no interfiera con la prueba. En la cabina audiométrica la persona se encuentra en un compartimiento separado del examinador, donde el ruido ambiental no afecte las mediciones del umbral.

Las pruebas audiométricas han de realizarse en un ambiente relajado, con el paciente tranquilo y dispuesto a colaborar, pues es imprescindible su ayuda para la obtención de resultados adecuados y fiables. Es conveniente por parte del explorador una explicación clara de lo que se pretende obtener con la prueba para conseguir la colaboración adecuada. Esta explicación es imprescindible, ya que una inadecuada comprensión por parte del paciente conlleva a la mala realización de la prueba y a resultados falsos.

Se comienza a investigar la frecuencia *1000 Hz* con una intensidad superior al umbral esperado del paciente para que identifique el sonido. Una vez obtenida la respuesta del paciente, se baja a la mínima intensidad del audiómetro y se va subiendo hasta obtener nuevamente respuesta del paciente. Se bajan *10 dB* y se sube nuevamente para obtener la respuesta. Si coincide con la anterior es el umbral auditivo para dicha frecuencia. No hay que obsesionarse con obtener un umbral exacto repitiendo una y otra vez distintas intensidades próximas a dicho umbral; esto puede fatigar al paciente y provocar una respuesta falsa.

Se continúa con la frecuencia *2,000, 4,000 y 8,000* y luego *500, 250 y 125*. Una vez terminado un oído se comienza con el otro. Si existe diferencia de audición entre uno y otro oído, suele comenzarse con el oído mejor, si no existe mucha diferencia o no la conocemos, lo adecuado es comenzar por el oído derecho y a continuación el izquierdo.

Una vez terminada la vía aérea se realiza la vía ósea, se cambian los auriculares por el vibrador óseo y se modifica en el audiómetro la salida de vía aérea por la salida por vía ósea.

B2.2.- Gráfica de ordenadas y coordenadas

La gráfica clínica está adoptada universalmente. En las abscisas están colocadas las frecuencias de 125 Hz a 8,000 Hz, o bien desde 128 Hz a 8,192 Hz por intervalos iguales de octavas; en las ordenadas están ubicados las pérdidas en decibeles (dB) en relación al eje O, el que representa el umbral para las vías óseas y aéreas.

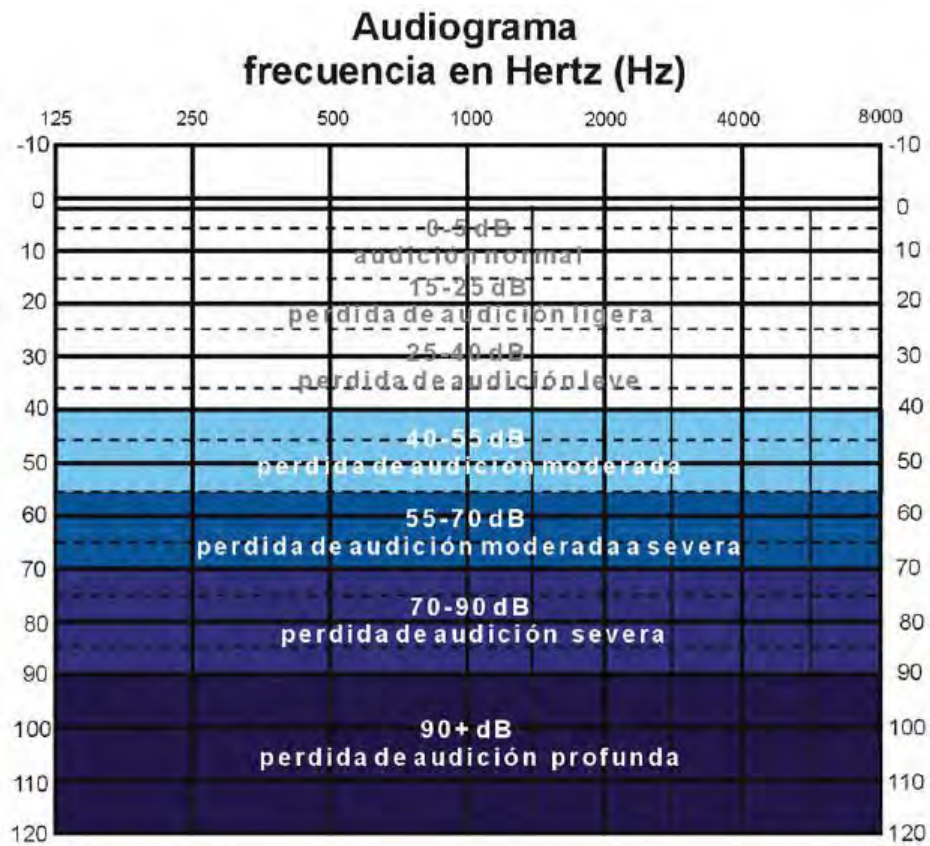


Fig. B.5 Audiograma

B2.3.- Interpretación

La gráfica que se obtenga después de realizar una audiometría nos permitirá:

- Valorar si la audición es normal o si existe una hipoacusia.
- Al conocer el umbral de audición, valorar si la hipoacusia es moderada, media o grave.
- Hacer un diagnóstico etiológico y topográfico de la causa de la hipoacusia.
- Valoración evolutiva de la hipoacusia y orientación terapéutica.
- Peritación de la hipoacusia desde el punto de vista de la salud laboral.

B2.4.- Resultados de las audiometrías

Normal

Los tonos están todos entre 0 dB y 20 dB en todas las frecuencias con curvas ósea y aérea superpuestas.

Hipoacusia

Puede existir alteración en cualquier punto del trayecto del impulso auditivo y nervioso, lo cual determina hipoacusias diferentes, tanto cuantitativa como cualitativamente.

Cualitativamente

- *Hipoacusia de conducción pura.* Los tonos están bajo el umbral normal, es decir, entre 21 dB y 110 dB para la vía aérea y normal para la vía ósea. Las frecuencias más afectadas son las de tonalidad grave e intermedia (250 Hz , 500 Hz y $1,000\text{ Hz}$) se pueden encontrar las frecuencias agudas dentro de la normalidad. Las hipoacusias de transmisión tienen como causa anomalías o lesiones a nivel del conducto auditivo externo, tímpano, cadena de huesecillos y trompa de Eustaquio, y en diagnóstico etiológico es imprescindible la valoración de la normalidad del conducto auditivo y del tímpano.
- *Hipoacusia sensorineural pura.* Los tonos están bajo lo normal tanto en vía ósea como aérea en las distintas frecuencias, pero están superpuestas. Al depender de la morfología de la curva el diagnóstico será distinto, de tal forma que un escotoma auditivo en $4,000\text{ Hz}$ es característico de un traumatismo sonoro, un descenso

progresivo en frecuencias agudas es propio de la presbiacusia, o una disminución de todas las frecuencias pudiera ser una enfermedad de Menière. En este tipo de hipoacusia la otoscopia es normal, ya que la causa se encuentra a nivel de cóclea o estructuras retrococleares del sistema auditivo.

- *Hipoacusia mixta*. Con vía ósea bajo el umbral normal, y con vía aérea en peores condiciones, es decir, aún más baja que la vía ósea. Es una combinación de las dos hipoacusias descritas anteriormente, aunque por su complejidad etológica es conveniente evitar este término, ya que predomina siempre una causa sobre otra, bien sea de transmisión o percepción.

Cuantitativamente

- *Hipoacusias o sorderas de grado leve a profundo*. También llamada anacusia (ausencia de audición)

En la Tabla B.1 podemos observar una clasificación resumida de lo anterior

Tabla B.1 Resultados cuantitativos

Clasificación de acuerdo con el promedio de pérdida auditiva en las frecuencias medias (500 Hz, 1,000 Hz y 2,000 Hz)	
Hipoacusia leve	15 dB a 30 dB
Hipoacusia moderada	30 dB a 60 dB
Hipoacusia severa	60 dB a 80 dB
Hipoacusia profunda	80 a 120 dB
Anacusia	>120 dB

C.- El efecto de moteado (SPECKLE)

Una superficie rugosa iluminada con luz coherente parece a los ojos de un observador como una superficie granulada. La intensidad de la luz que se dispersa a causa de la superficie fluctúa al azar en el espacio y aparece como puntos oscuros y brillantes. Estos puntos son llamados *moteado* (speckle), y forman una imagen completa llamada patrón de moteado,

Fig. C.1. Un patrón de moteado se genera si las variaciones de la altura sobre la superficie rugosa son mayores que la longitud de onda de la luz.

El resultado del moteado proviene de la interferencia de la luz esparcida por diferentes puntos de la superficie rugosa. Las fases de las ondas dispersadas por diferentes puntos de la superficie que fluctúan estadísticamente son debidas a las variaciones en la altura. Si estas ondas interfieren unas con otras, se desarrolla un patrón de moteado estacionario.

Está demostrado que la función de densidad de probabilidad para la intensidad en un patrón de moteado obedece a la estadística exponencial negativa [13]

$$P(I)dI = \frac{1}{\langle I \rangle} \exp\left(-\frac{I}{\langle I \rangle}\right) \quad (C1)$$

$P(I)dI$ es la probabilidad que la intensidad en un cierto punto que se extiende entre I e $I + dI$. $\langle I \rangle$ es la intensidad media del campo entero del moteado. El valor más probable de la intensidad de un moteado es por lo tanto cero, es decir, la mayoría de las motas son negras. La desviación estándar σ_1 se calcula por

$$\sigma_1 = \langle I \rangle \quad (C2)$$

Lo que significa que las variaciones de la intensidad son del mismo orden que el valor medio. Una definición usual para el contraste es

$$V = \frac{\sigma_1}{\langle I \rangle} \quad (C3)$$

El contraste de un patrón de moteado es por lo tanto siempre la unidad.

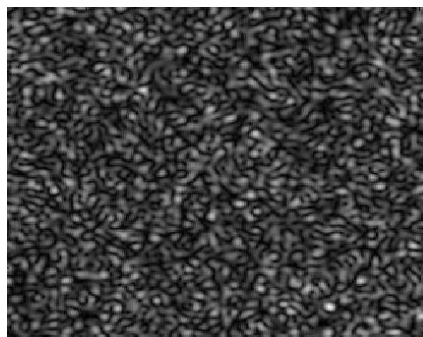


Fig. C.1 Patrón de moteado

Se puede distinguir entre la formación del moteado objetivo y subjetivo. Un patrón de moteado objetivo se desarrolla sobre una pantalla, localizado en una distancia z desde la superficie iluminada (Fig. C.2). Aquí no hay un sistema de imágenes entre la superficie y la pantalla. El tamaño del moteado en un patrón de moteado objetivo se puede estimar usando la fórmula de frecuencia espacial. Los dos puntos de borde de la superficie iluminada forman la frecuencia espacial más alta

$$f_{max} = \frac{2}{\lambda} \sin \frac{\theta_{max}}{2} \approx \frac{L}{\lambda z} \quad (C4)$$

El recíproco de f_{max} es una medida para el tamaño del moteado

$$d_{sp} = \frac{\lambda z}{L} \quad (C5)$$

Donde λ es la longitud de onda con la que se ilumina el objeto y L es la altura del objeto iluminado.

Un patrón de moteado subjetivo se desarrolla si la superficie iluminada es enfocada con un sistema de imágenes, es decir, lentes de cámara o el ojo humano (Fig. C.3). En este caso el diámetro de la mota depende del diámetro de la apertura a del sistema de imágenes. El tamaño de una mota en un patrón de moteado subjetivo puede ser estimado al utilizar de nuevo la frecuencia espacial

$$f_{max} = \frac{2}{\lambda} \sin \frac{\theta_{max}}{2} \approx \frac{a}{\lambda b} \quad (C6)$$

donde b es la distancia imagen del sistema de imágenes y a el tamaño de la abertura de la lente de la cámara o el ojo humano. De esto se deduce el tamaño de la mota

$$d_{sp} = \frac{\lambda b}{a} \quad (C7)$$

El tamaño de la mota puede ser aumentado si cerramos la apertura del sistema de imágenes.

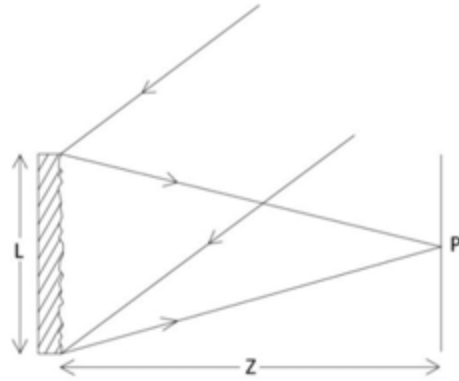


Fig. C.2 Formación del moteado objetivo

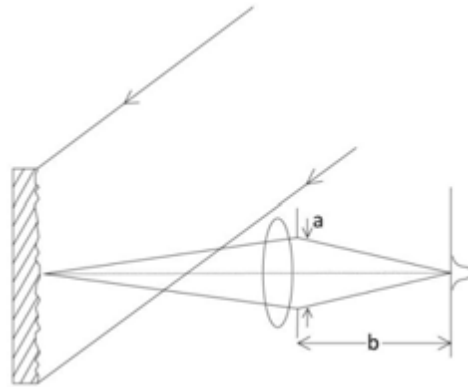


Fig. C.3 Formación del moteado subjetivo

Referencias

- [1] W. Becker, *Otorrinolaringología-Manual ilustrado I*. Ediciones Doyma 1.986 pp 1-11.
- [2] A. Despopoulos *Texto y Atlas de Fisiología*. Ediciones Doyma 1.994 pp 316-323.
- [3] G. Thibodeau, *Estructura y función del cuerpo humano*. Harcourt Brace 1.998 pp 180 - 183
- [4] R. A. Martínez-Celorio, H. Rodríguez-Bravo, R. A. Rodríguez Cruz, L. Martí-López, R. Castro-Sánchez, F. Ireta Moreno, D. Hernández Fusilier, A. Vega Corona, R. González Peña, *Modelos dinámicos isotrópico y ortotrópico de la membrana timpánica*, Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica, Vol. XXXI, Núm. 1, Julio 2010, pp 30 – 40.
- [5] J. Solanellas Soler, *Timpanometría. Impedancia auditiva: El impedanciómetro*. En: AEPap ed. Curso de actualización Pediatría 2003. Madrid: Exlibris Ediciones, 2003; pp 223-226.
- [6] Dr. Rubén Rodríguez Moreno, Patricia A'Gaytán Rodríguez, *Manual de Audioprotesismo*, Blauton México, Servicios Editoriales Arlequín, S.A de C.V, pp 103-118.
- [7] John J. Rosowski, Jeffrey Tao Cheng, Michael E. Ravicz, Nesim Hulli, Maria Hernandez-Montes, Ellery Harrington, y Cosme Furlong, *Computer-assisted time-averaged holograms of the motion of the surface of the mammalian tympanic membrane with sound stimuli of 0.4 to 25 kHz*, Hear Res. 2009 July ; 253(1-2): 83–96. doi:10.1016/j.heares.2009.03.010.
- [8] Jeffrey Tao Cheng, Antti A. Aarnisalo, Ellery Harrington, Maria del Socorro Hernandez-Montes, Cosme Furlong, Saumil N. Merchant, and John J. Rosowski, *Motion of the surface of the human tympanic membrane measured with stroboscopic holography*, Hear Res. 2010 May ; 263(1-2): 66–77. doi:10.1016/j.heares.2009.12.024.
- [9] S. M. Khanna, and J. Tonndorf, 1972, *Tympanic membrane vibrations in cats studied by time-averaged holography*, *J. Acoust. Soc. Am.*, 51(6): 1904-1920.
- [10] H. Wada, M. Ando, M. Takeuchi, H. Sugawara, and T. Koike, 2002, *Vibration measurement of the tympanic membrane of guinea pig temporal bones using time averaged speckle pattern interferometry*, *J. Acoust. Soc. Am.*, 111(5):2189-2199.

- [11] Freddy Monroy, Oscar Rincón, *Obtención de Franjas de Deformación por medio de Interferometría Holográfica Digital de Doble Exposición*, Revista Colombiana de Física, Vol. 38, No.1, 2006
- [12] Jorge A. Herrera Ramírez, Jorge Garcia-Sucerquia, *Digital off-axis holography without zero-order diffraction via phase manipulation*, a Physics School, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, A.A. 3840, Medellin, Colombia Department of Physics, Dalhousie University, Halifax, NS, Canada B3H 3J5. Optics Communication, Volume 277, Issue 2, 15 September 2007, pp 259–263
- [13] Ulf Schnars-Werner Jueptner, *Digital Holography*, Springer 2005, capítulos 3 y 4.
- [14] Thomas Kreis, *Handbook of Holographic Interferometry: Optical and Digital Methods*, 2005, WILEY-VCH, pp 256, 257, 263, 400-403.
- [15] Ichirou Yamaguchi, Tong Zhang, *Phase-shifting digital holography*, Optics Letters, Vol. 22, No. 16, August 15, 1997.
- [16] Thomas Kreis, *Digital holographic interference-phase measurement using the Fourier-transform method*, Vol.3, No. 6, Junio 1986, J. Opt. soc. Am. A, pp 847.
- [17] L. Yaroslavkii, N. Merzlyakov, *Methods of Digital Holography*, Consultants Bureau, N.Y.,1980.
- [18] Mitsuo Takeda, Hideki Ina and Seiji Kobayashi, *Fourier-transform method of fringe-pattern analysis for computer-based topography and interferometry*, J. Opt. Soc. Am./Vol. 72, No. 1/January 1982.
- [19] S. Muñoz Solís, F. Mendoza Santoyo, and M. del Socorro Hernández-Montes, *3D displacement measurements of the tympanic membrane with digital holographic interferometry*, Optics Express, 27 February 2012, Vol. 20, No. 5.