

ESCUELA DE INGENIERÍA DE TELECOMUNICACIÓN Y ELECTRÓNICA



PROYECTO FIN DE CARRERA

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE ADQUISICIÓN
DE IMÁGENES HIPERESPECTRALES PARA
MUESTRAS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

Titulación: Ingeniero de Telecomunicación.

Autor: Noé Afonso Rivero

Tutores: Gustavo Iván Marrero Callicó
Samuel Ortega Sarmiento

Fecha: Junio 2017

ESCUELA DE INGENIERÍA DE TELECOMUNICACIÓN Y ELECTRÓNICA



PROYECTO FIN DE CARRERA

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE ADQUISICIÓN
DE IMÁGENES HIPERESPECTRALES PARA
MUESTRAS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

HOJA DE FIRMAS

Alumno/a

Fdo.: Noé Afonso Rivero

Tutor/a

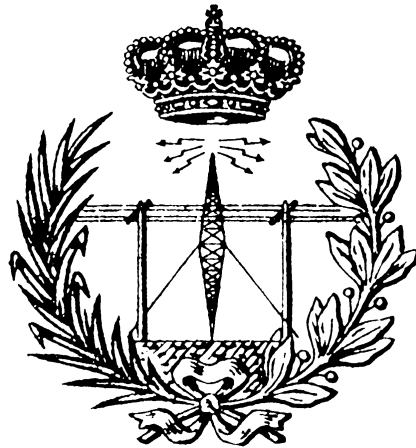
Tutor/a

Fdo.: Gustavo Iván Marrero Callicó

Fdo.: Samuel Ortega Sarmiento

Fecha: Junio 2017

ESCUELA DE INGENIERÍA DE TELECOMUNICACIÓN Y ELECTRÓNICA



PROYECTO FIN DE CARRERA

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE ADQUISICIÓN
DE IMÁGENES HIPERESPECTRALES PARA
MUESTRAS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

HOJA DE EVALUACIÓN

Calificación: _____

Presidente

Fdo.:

Vocal

Secretario/a

Fdo.:

Fdo.:

Fecha: Junio 2017

En memoria de D. Benigno Afonso de León

Agradecimientos

A mis tutores, Gustavo y Samuel, por la oportunidad que me han brindado y por haberme ayudado y apoyado a lo largo de todo el proyecto.

A todo el grupo de investigación de la DSI, por ese buen rollo que hay que te hace sentir como en una gran familia, y en especial a Raúl, por sus consejos y por su impresora 3D ☺.

A la División de Tecnología Microelectrónica (TME) del Instituto Universitario de Microelectrónica Aplicada (IUMA) por haber cedido, para la realización de este PFC, el microscopio BH2-MJL de Olympus.

Al departamento de Anatomía Patológica del Hospital de Tortosa Verge de la Cinta por las muestras facilitadas para su estudio.

Por otro lado a mi familia, en especial a mis padres y hermanas, por apoyarme en esta andadura en la que nunca han dejado de creer que era posible, incluso tras tantos años de altibajos.

A Ana, que me centra, me guía, me motiva y sin la cual no estaría donde estoy hoy.

A todos los amigos y compañeros que han compartido esta andadura desde su comienzo y que la han hecho mucho más llevadera ☺.

Índice

Parte I: Memoria

1	Introducción	1
1.1	Prólogo	1
1.2	Contexto	2
1.3	Objetivos	3
1.4	Metodología.....	3
1.5	Descripción de la memoria.....	4
2	Estado del arte	5
2.1	Imágenes hiperespectrales	5
2.1.1	Aplicaciones de imágenes hiperespectrales	9
2.1.2	Aplicaciones biomédicas de las imágenes hiperespectrales	13
2.2	Patología digital.....	17
2.3	Cámaras hiperespectrales	19
2.4	Sistemas mecánicos	26
2.4.1	Componentes generales de un sistema de posicionamiento.....	26
2.4.1.1	Módulos lineales	26
2.4.1.2	Motores	28
2.4.1.3	Interruptores de fin de carrera	33
2.5	Resumen	34
3	Descripción de los sistemas de adquisición hiperespectral disponibles	35
3.1	Cámara VNIR: Cubert UHD-185	35
3.1.1	Descripción	35
3.1.1.1	MXGC20	36
3.1.1.2	TXG14NIR	37
3.1.2	Modo de uso	38
3.2	Microscopio	40
3.2.1	Descripción	40
3.2.2	Modo de uso	41
3.3	Iluminación	42
3.4	Sistema de adquisición microscópico	43
3.5	Resumen	45
4	Diseño y desarrollo del sistema mecánico para asistencia a la adquisición de imágenes hiperespectrales	47

4.1	Definición de las especificaciones del sistema mecánico.....	47
4.2	Diseño del sistema mecánico	48
4.2.1	Tipos de sistemas mecánicos.....	48
4.2.1.1	Sistemas de correas con poleas	48
4.2.1.1.1.	Sistema cartesiano:.....	48
4.2.1.1.2.	Sistema cartesiano modificado:	49
4.2.1.1.3.	H-BOT:	49
4.2.1.1.4.	Core XY:.....	49
4.2.1.1.5.	Cálculo de la resolución del movimiento con poleas.....	50
4.2.1.2	Sistema con varilla roscada.....	50
4.2.1.2.1.	Cálculo de la resolución del movimiento con varilla roscada	51
4.2.2	Componentes	51
4.2.2.1	Controlador.....	51
4.2.2.2	Shield.....	53
4.2.2.3	Drivers	54
4.2.2.4	Motores.....	55
4.2.2.5	Acopladores, rodamientos y varillas.....	55
4.2.3	Sistema Final	57
4.3	Diseño de las piezas.....	60
4.4	Fabricación y montaje del mecanismo.....	67
4.5	Resumen.....	70
5	Diseño del software de control para el sistema de adquisición	71
5.1	Diseño del software de control de la cámara.....	71
5.2	Diseño del software de control del sistema mecánico	77
5.3	Diseño de la interfaz de usuario genérica y automatización de las capturas	86
5.3.1	Interfaz gráfica para el control de la cámara	86
5.3.2	Interfaz gráfica para el control del sistema mecánico.....	88
5.3.3	Automatización de la captura de mosaicos	90
5.4	Resumen.....	100
6	Integración y verificación del sistema de adquisición	101
6.1	Evaluación del sistema de medida en microscopio	101
6.2	Optimización de la captura de los mosaicos / Ajuste fino	105
6.3	Resumen.....	108
7	Creación de una base de datos hiperespectral.....	109
7.1	Descripción de muestras biológicas	109
7.2	Origen y protocolo de captura de las muestras	113

7.3	Imágenes hiperespectrales capturadas	115
7.4	Resultados obtenidos de las capturas realizadas	118
7.5	Resumen	125
8	Conclusiones y trabajo futuro	127
8.1	Conclusiones	127
8.2	Trabajos futuros	128
	Bibliografía.....	129

Parte II: Presupuesto

P.1	Recursos Humanos	139
P.2	Recursos Hardware	140
P.3	Recursos software	141
P.4	Material fungible.....	142
P.5	Redacción del proyecto	142
P.6	Aplicación de impuestos	143
P.7	Presupuesto total	143

Parte III: Pliego de condiciones

PI.1	Introducción	147
PI.2	Recursos hardware.....	147
PI.3	Recursos software	147
PI.4	Recursos biológicos.....	148

Parte IV: Anexos

Anexo.I	Especificaciones técnicas MXGC20.	151
Anexo.II	Especificaciones técnicas TXG14.	152
Anexo.III	Lista de comandos para la cámara de Cubert UHD 185.	153
Anexo.IV	Motor Nema 17HS series.....	157
Anexo.V	Esquemáticos de las piezas del sistema mecánico.....	158
Anexo.VI	Código.....	169

Índice de figuras

Figura 1-1: Porcentaje estimado de tumores en mujeres de España.....	1
Figura 2-1: Radiación electromagnética.	5
Figura 2-2: Firmas espectrales.	7
Figura 2-3: Hipercubo y representación espectral de un pixel.	8
Figura 2-4: Resolución espectral.	8
Figura 2-5: Resolución espacial.	9
Figura 2-6: Invasión de especies de plantas no nativas [19].	10
Figura 2-7: Identificación de plantas invasoras usando HSI [19].	10
Figura 2-8: Defectos en manzanas [21].	11
Figura 2-9: Liberación de gases químicos [24].	12
Figura 2-10: Caracterización de rocas.	12
Figura 2-11: Identificación de productos farmacéuticos falsificados usando HSI [26].	13
Figura 2-12: Detección de artritis usando HSI [28].	13
Figura 2-13: Diferenciación entre venas y arterias en vivo [30].	14
Figura 2-14: Varias imágenes, a diferentes longitudes de onda, durante la cirugía abdominal de un cerdo [31].	14
Figura 2-15: Representación RGB de la cavidad abdominal de un cerdo [31].	15
Figura 2-16: Oximetría de la retina usando HSI [32].	15
Figura 2-17: Tecnología desarrollada por HELICoiD.	16
Figura 2-18: Sistema de adquisición desarrollado.	16
Figura 2-19: Diagrama de bloques de una cámara hiperespectral.	20
Figura 2-20: Dispersión de la luz en un espectrógrafo.	20
Figura 2-21: FWHM.	20
Figura 2-22: Criterio de Rayleigh.	21
Figura 2-23: Espectrógrafo Czerny-Turner.	21

Figura 2-24: Espectrógrafo Littrow	22
Figura 2-25: Clasificación de sensores según el método de adquisición.....	22
Figura 2-26: Sensor tipo whiskbroom.....	23
Figura 2-27: Sensor tipo pushbroom.....	23
Figura 2-28: Módulos lineales.	26
Figura 2-29: Partes principales de un módulo lineal.	27
Figura 2-30: Tipos de guía.	27
Figura 2-31: Correa dentada	27
Figura 2-32: Módulo lineal de correa dentada.....	27
Figura 2-33: Husillo.	28
Figura 2-34: Módulo lineal de husillo.....	28
Figura 2-35: Motor paso a paso.	29
Figura 2-36: Motor paso a paso de reluctancia variable.	30
Figura 2-37: Motor paso a paso de imán permanente.	31
Figura 2-38: Configuración puente H.	32
Figura 2-39: Configuración puente H con sentido de giro horario.....	32
Figura 2-40: Configuración puente H con sentido de giro anti horario.....	32
Figura 2-41: Final de carrera.....	34
Figura 2-42: Módulo lineal con finales de carrera.	34
Figura 3-1: Cubert UHD-185.	35
Figura 3-2: Cámara Baumer MXGC20.....	36
Figura 3-3: Cámara Baumer TXG14.	37
Figura 3-4: Sensibilidad espectral TXG14NIR.	38
Figura 3-5: Conexiones cámara Cubert UHD-185.	38
Figura 3-6: Esquemático de conexión cámara - PC.....	39
Figura 3-7: Lentes Schneider.	39

Figura 3-8: Olympus BH2-MJL.	40
Figura 3-9: Método de observación.	41
Figura 3-10: Tubo de observación trinocular.	41
Figura 3-11: Controles del microscopio.	41
Figura 3-12: Mandos de enfoque microscopio.	42
Figura 3-13: Fuentes lumínicas según su emisión espectral.....	42
Figura 3-14: Espectros de diferentes fuentes lumínicas.....	43
Figura 3-15: Lámpara halógena del microscopio.	43
Figura 3-16: Cámara hiperespectral + microscopio.....	44
Figura 3-17: Adaptadores, MTV-3 y NFK 3.3 LD.....	44
Figura 3-18: Campo de visión del ocular de un microscopio frente a la relación de aspecto de una cámara.....	44
Figura 3-19: Field Of View, FOV.....	45
Figura 4-1: Materiales base para la realización del sistema mecánico.	47
Figura 4-2: Sistema cartesiano.....	48
Figura 4-3: Diseño cartesiano modificado.	49
Figura 4-4: Diseño H-BOT.	49
Figura 4-5: Diseño core XY.	50
Figura 4-6: Diseño varilla roscada XY.	51
Figura 4-7: Controlador CNC.....	52
Figura 4-8: Controlador Mk3/4.....	52
Figura 4-9: Controlador TinyG v8.	52
Figura 4-10: Arduino One	53
Figura 4-11: Arduino Mega.....	53
Figura 4-12: CNC Shield v3.....	54
Figura 4-13: Shield RAMPS 1.4.....	54
Figura 4-14: Intensidad de corriente por micropaso.	54

Figura 4-15: Driver A4988 y DRV8825.....	55
Figura 4-16: Componentes del sistema mecánico.	55
Figura 4-17: Diseño final del sistema mecánico propuesto.....	57
Figura 4-18: Hardware del sistema.	58
Figura 4-19: Esquema de la placa CNC Shield v3.....	58
Figura 4-20: DRV8825 pin REF.	60
Figura 4-21: Ajuste del límite de corriente de los drivers DRV8825.....	60
Figura 4-22: Base microscopio.....	62
Figura 4-23: Diseño de voladizos.....	62
Figura 4-24: Diseño final del sistema mecánico.....	63
Figura 4-25: Impresión de piezas en impresora P3Steel.	68
Figura 4-26: Sistema mecánico, impreso y montado.	69
Figura 5-1; Diagrama para el control de la cámara.....	71
Figura 5-2: Diagrama de flujo del control de la cámara.	75
Figura 5-3: Diagrama de flujo de la función de control SendAndProcess.....	76
Figura 5-4: Diagrama de flujo del hilo paralelo.....	77
Figura 5-5: Ejemplo de movimiento usando GCode.	78
Figura 5-6: Diagrama de conexión para el sistema mecánico.	79
Figura 5-7: Diagrama de flujo del establecimiento y cierre de la conexión por puerto serie.	79
Figura 5-8: Diagrama de flujo del envío de datos a través del puerto serie.	80
Figura 5-9: Ajustes por defecto de Grbl.	81
Figura 5-10: Configuración Grbl.....	82
Figura 5-11: Diagrama de flujo de la recepción de tramas por puerto serie.	85
Figura 5-12: Interfaz gráfica para el control de la cámara.....	86
Figura 5-13: Formulario para la visualización de la firma espectral de un pixel.....	87
Figura 5-14: Interfaz gráfica de la cámara: Medición.....	87

Figura 5-15: Interfaz gráfica de la cámara: Vista.....	88
Figura 5-16: Interfaz gráfica para el control del sistema mecánico.	88
Figura 5-17: Avisos de alarma para el sistema mecánico.	89
Figura 5-18: Ventana de ayuda de la interfaz gráfica del sistema mecánico.	89
Figura 5-19: Memoria LIFO circular.....	90
Figura 5-20: Generación de un mosaico 3x3.....	90
Figura 5-21: Mosaicos dentro de un portaobjetos.	90
Figura 5-22: Interfaz gráfica para la automatización de los mosaicos.....	91
Figura 5-23: Posiciones de guardado y mensaje de reutilización.	91
Figura 5-24: Diagrama de flujo del almacenamiento de posiciones.	92
Figura 5-25: Diagrama de flujo para la captura de mosaicos.	94
Figura 5-26: Diagramas de flujo de los hilos paralelos de la captura de mosaicos.	95
Figura 5-28: Control de mosaicos a procesar.....	96
Figura 5-27: Diagramas de flujo de los hilos paralelos de la captura de mosaicos.	97
Figura 5-29: Métodos de organización de datos para imágenes multibanda.	98
Figura 5-30: Cronograma de un ejemplo de ejecución de hilos.	99
Figura 6-1: Componentes que forman el sistema de captura.....	101
Figura 6-2: Cajón de calibrado.	102
Figura 6-3: Diodos led alineados para la calibración.....	102
Figura 6-4: Software de calibración de la cámara.	102
Figura 6-5: Proceso de calibración con cajón de calibrado.	103
Figura 6-6: Proceso de calibración en microscopio.....	103
Figura 6-7: Firmas espectrales para las diferentes lentes calibradas y sin calibrar.	104
Figura 6-8: Orientación de la cámara.	105
Figura 6-9: Regla micrométrica.	105
Figura 6-10: Capturas regla micrométrica (líneas/cm).	106

Figura 7-1: Anatomía de la glándula mamaria.	109
Figura 7-2: Pasos que se siguen durante una tinción general de hematoxilina-eosina. .	112
Figura 7-3: Muestras biológicas.	113
Figura 7-4: Laminillas escaneadas con áreas de interés señaladas.....	114
Figura 7-5: Diagrama de la estructura de la base de datos histológica.	114
Figura 7-6: Capturas de las muestras histológicas del paciente 1.....	116
Figura 7-7: Capturas de las muestras histológicas del paciente 2.....	117

Índice de tablas

Tabla 2-1: Rangos espectrales.....	7
Tabla 2-2: Comparación entre whiskbroom, pushbroom, staring y snapshot.....	25
Tabla 3-1: Especificaciones técnicas - Cubert UHD-185.....	35
Tabla 3-2: Especificaciones técnicas de las lentes Schneider.	39
Tabla 3-3: Características de las lentes Neo S Plan de Olympus.	40
Tabla 3-4: FOV teórico para cada magnificación.	45
Tabla 4-1: Características de la familia Arduino.	53
Tabla 4-2: Características principales de la gama de rosca métrica.	56
Tabla 4-3: Características principales de la rosca Whitworth.	56
Tabla 4-4: Configuración para Pololu A4988.....	59
Tabla 4-5: Configuración para Pololu DRV8825.....	59
Tabla 4-6: Software de modelado 3D.	61
Tabla 4-7: Diseño inicial y final de las piezas del sistema.....	63
Tabla 4-8: Piezas adicionales del sistema mecánico.	66
Tabla 4-9: software de laminado 3D.....	67
Tabla 5-1: Lista de comandos de configuración y control del Grbl.....	80
Tabla 5-2: Opciones de configuración modificadas.....	82
Tabla 5-3: Ejemplos de tramas enviadas por el Arduino.	83
Tabla 6-1: Medidas del cajón de calibración.	102
Tabla 6-2: Ajuste grueso y fino para el cálculo del FOV.....	106
Tabla 7-1: Tamaño y tiempos de las capturas.....	119
Tabla 7-2: Firmas espectrales obtenidas del paciente 1.	121
Tabla 7-3: Firmas espectrales obtenidas del paciente 2.	123
Tabla 8-1: Factor de corrección en función de horas trabajadas.	139
Tabla 8-2: Coste total de recursos humanos.....	140

Tabla 8-3: Coste total de recursos hardware.	141
Tabla 8-4: Coste total de recursos software.....	142
Tabla 8-5: Coste total del material fungible.....	142
Tabla 8-6; Coste total del Proyecto Final de Carrera.	143

Parte I

MEMORIA

Resumen

Este Proyecto Fin de Carrera (PFC) se ha desarrollado dentro de las líneas de investigación de adquisición y procesamiento de imágenes hiperespectrales que realiza actualmente la División de Sistemas Integrados (DSI) del Instituto Universitario de Microelectrónica Aplicada (IUMA) de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, concretamente en el campo del diagnóstico médico. Además, este PFC se ha realizado en colaboración con el grupo de investigación de Anatomía Patológica del Hospital Verge de la Cinta. Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili. (Tortosa).

El objetivo principal de este PFC ha sido la creación de un sistema de medida formado por una cámara hiperespectral acoplada a un microscopio para el análisis de muestras de anatomía patológica, con el fin de facilitar su procesado y ayudar a los patólogos en la detección de tumores.

Para automatizar la adquisición de datos, se ha diseñado un sistema mecánico capaz de posicionar de forma precisa la zona del portaobjetos que se desea capturar en el campo de visión del microscopio. En caso de que la muestra a capturar sea mayor, el dispositivo permite la captura de toda la zona de interés sin la intervención del usuario, formando un mosaico con la unión de todos los datos capturados.

El sistema mecánico está formado por un conjunto de piezas 3D que se han diseñado y fabricado para adaptarse al microscopio, varios motores y diferentes piezas móviles, todo ello controlado por una placa Arduino.

El software de control, tanto para el sistema mecánico como para la cámara hiperespectral se ha desarrollado en C++, mediante el uso de varios hilos para optimizar el proceso de captura de las imágenes hiperespectrales así como la formación del mosaico final.

Se ha creado un banco de calibración para la cámara y se ha testado y calibrado el sistema mecánico, para finalmente realizar una base de datos hiperespectral con muestras histológicas proporcionadas por el grupo de investigación de Anatomía Patológica del Hospital Verge de la Cinta. Para caracterizar los datos obtenidos, se ha desarrollado una función MATLAB con la que obtener y representar las firmas espectrales de cada pixel de las diferentes zonas de interés en los mosaicos capturados.

Abstract

The present MSc. Thesis is part of the research lines of hyperspectral image acquisition and processing carried out by the Integrated Systems Division (DSI) of the University Institute of Applied Microelectronics (IUMA) of the University of Las Palmas de Gran Canaria, specifically in the medical diagnosis field. Additionally, this Thesis has been carried out in collaboration with the research group of Pathological Anatomy from the Hospital Verge of Cinta. Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (Tortosa).

The main goal of this Thesis has been the creation of a measurement system formed by a hyperspectral camera coupled to a microscope, in order to analyse pathological samples. The objective is to facilitate the acquisition processing and aid the pathologists to detect tumours.

A mechanical system has been developed to automate the data acquisition. This system is able to accurately position the area to capture within the glass slides in the field of view of the microscope. If the sample is bigger than the field of view, the system performs the capture by means of partial captures, without user intervention, to finally create a mosaic through the union of all the captured data.

The mechanical system is formed by a set of 3D pieces, a set of motors and different moving items. 3D pieces have been designed and printed to be adapted to the microscope, and an Arduino device controls the entire system.

The software control, for both mechanical system and the hyperspectral camera, has been developed in C++. Several threads have been used to optimize the capture process and to create the final mosaic.

A calibration bench has been created for the camera. Therefore, the mechanical system has been tested and calibrated, to finally create a hyperspectral database from the histological samples. The research group of Pathological Anatomy has provided the samples used from the Hospital Verge of Cinta (Tortosa). In order to properly characterise the obtained data, a set of Matlab functions has been developed to get and represent spectral signatures for each pixel within each mosaic.

Acrónimos

A

AOTF. Acoustic-Optic Tunable Filters

C

CCD. *Charge Coupled Device*

D

DC. *Direct Current*

DSI. *División de Sistemas Integrados, División de Sistemas Integrados*

E

ESA. *European Space Agency*

F

FPGA. *Field Programmable Gate Array*

FWHM. *Full Width at Half Maximum*

G

GPU. *Graphics Processor Unit*

H

HELICoiD. *HypErspectraL Imaging Cancer Detection*

HSI. *Hyperspectral imaging*

I

IFOV. *Instantaneous Field of View*

IR. *Infrared*

IUMA. *Instituto Universitario de Microelectrónica Aplicada, Instituto Universitario de Microelectrónica Aplicada*

L

LCTF. *Liquid Crystal Tunable Filter*

LVQ. *Learning Vector Quantization*

N

NIR. *Near infrared*

P

PFC. *Proyecto Fin de Carrera*

PGP. *Prism Grating Prism*

R

R. *Resolución espectral*

REBECCA. *Resilient EmBedded Electronic systems for Controlling Cities under Atypical situations*

S

SVM. *Support Vector Machine*

SWIR. *Short-wavelength Infrared*

U

UV. *Ultraviolet*

V

VNIR. *Visible and Near-InfraRed*

1 Introducción

1.1 Prólogo

El cáncer de mama representa el tipo de cáncer más frecuente en la mujer, con una incidencia anual de más de 25.000 casos en España [1], suponiendo el 28,99% de todos los tumores femeninos, como se puede ver en la Figura 1-1. Además, supone la primera causa de mortalidad por cáncer en mujeres con 6.075 fallecimientos en 2012.

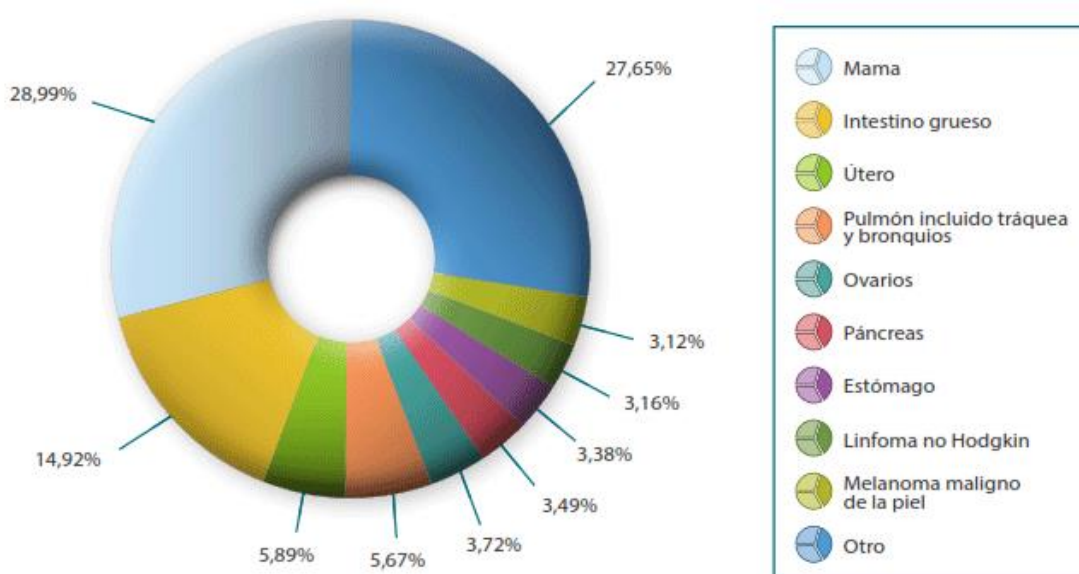


Figura 1-1: Porcentaje estimado de tumores en mujeres de España.

La mayoría de los casos se diagnostican en edades comprendidas entre los 35 y los 80 años, con un máximo entre los 45 y los 65. Las tasas de incidencia están aumentando lentamente en España y en el mundo, probablemente debido al envejecimiento de la población y al diagnóstico cada vez más temprano.

Aproximadamente 1 de cada 8 mujeres presentará esta enfermedad a lo largo de su vida. La supervivencia por cáncer de mama ha mejorado notablemente en los últimos 20 años (anualmente se incrementa la supervivencia por este tumor un 1,4%). Cada año se dispone de mayor información para diagnosticar precozmente y tratar el cáncer de mama, lo que ha permitido que la supervivencia global a los 5 años del diagnóstico de este tumor sea del 82,8% en nuestro país [2], por encima de la media europea y similar a los países con las mejores cifras de supervivencia.

Las imágenes hiperespectrales son una herramienta emergente en aplicaciones médicas no invasivas, siendo especialmente interesantes en el diagnóstico de patologías. Estas aplicaciones biomédicas se basan en el hecho de que la interacción entre la radiación electromagnética y los tejidos proporciona información útil para el diagnóstico [3]. En los últimos años el uso de esta tecnología ha tenido un gran auge en el campo de la biomedicina, dada su eficacia para detectar enfermedades y por su carácter no invasivo [4-6].

En este Proyecto Fin de Carrera (PFC) se busca diseñar un sistema que automatice las capturas de imágenes hiperespectrales sobre muestras patológicas, con el fin de poder procesar dichas imágenes en un futuro y ayudar a los patólogos en la detección de los tumores.

1.2 Contexto

Este PFC está desarrollado dentro de las líneas de investigación de adquisición y procesamiento de imágenes hiperespectrales que realiza actualmente la División de Sistemas Integrados (DSI) del Instituto Universitario de Microelectrónica Aplicada (IUMA) de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), concretamente en el campo del diagnóstico médico.

La DSI posee una dilatada experiencia investigadora en el ámbito de las imágenes hiperespectrales. Durante estos últimos cinco años parte de su investigación ha estado centrada en la implementación de algoritmos de procesamiento y/o compresión de imágenes hiperespectrales sobre FPGAs (*Field Programmable Gate Arrays*) y GPUs (*Graphics Processor Unit*), habiendo publicado los resultados obtenidos en diferentes revistas con elevado índice de impacto y en congresos internacionales de reconocido prestigio. La investigación realizada dentro de este campo ha sido llevada a cabo en ocasiones mediante la colaboración con grupos de investigación tanto nacionales como internacionales. Además, el IUMA ha estado involucrado en proyectos financiados tanto por entidades públicas como privadas, en el ámbito del procesado y aplicación de imágenes hiperespectrales. Entre estos proyectos se encuentran los financiados por la Comisión Europea: **HELICoiD** - *HypErspectraL Imaging Cancer Detection* (FP7-618080) y **ENABLE-S3** - *European Initiative to Enable Validation for Highly Automated Safe and Secure Systems* (ECSEL-JU), así como en el ámbito del Plan Nacional: **REBECCA** - *Sistemas electrónicos empotrados confiables para control de ciudades bajo situaciones atípicas* (TEC2014-58036- C4-4- R) y el proyecto de infraestructuras “Sistema de adquisición de imágenes híper-espectrales de alta definición espacial y espectral” (UNLP13-3E-2211). Además, el proyecto industrial de la ESA (European Space Agency) en los programas **TRP** (Technology Research Project) CCSDS IP cores for space applications (ESA ITT AO/1-8032/14/NL/AK) y *Multispectral and Hyperspectral Lossless Compressor for Space Applications (HyLoC): A Low-Complexity FPGA Implementation of the CCSDS 123 Standard*.

Las imágenes hiperespectrales a día de hoy son un recurso ampliamente utilizado cada vez en un mayor número de campos que van desde la investigación hasta aplicaciones comerciales como pueden ser las cadenas de producción o el análisis de materiales. Dentro del campo de la medicina, y en concreto el campo de la biomedicina, campo de interés para este PFC, este tipo de tecnología no invasiva presenta un especial potencial para su uso tanto en el diagnóstico de distintas patologías como para la asistencia en cirugías.

De los proyectos de investigación nombrados anteriormente, este PFC está relacionado con el proyecto HELICoiD y con el proyecto de infraestructuras, ya que por un lado se emplean las imágenes hiperespectrales para el diagnóstico de cáncer, y por otro lado se

emplea la instrumentación de medida hiperespectral adquirida en el proyecto de infraestructuras.

Además, este PFC se ha realizado en colaboración con el grupo de investigación de Anatomía Patológica Hospital Verge de la Cinta. Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili. (Tortosa).

1.3 Objetivos

El objetivo principal de este PFC es la creación de un sistema de medida hiperespectral formado por una cámara hiperespectral acoplada a un microscopio, para el análisis de muestras de anatomía patológica. Para realizar la adquisición de datos de forma automática, el sistema de medida dispondrá de un sistema mecánico que permita desplazar el portaobjetos del cual se desea capturar un hipercubo.

1.4 Metodología

La metodología que se llevará a cabo en este PFC, para cumplir los objetivos anteriormente citados, es la siguiente.

1. **Estudio previo:** Comprender los métodos de trabajo empleados en la observación de muestras biológicas contenidas en portaobjetos, con el fin de reproducirlos a la hora de capturar imágenes con un sistema de medida hiperespectral.
2. **Análisis de cada uno de los componentes que forman el sistema de medida:** Estudio de los sistemas de medida hiperespectrales en general y del sistema de adquisición disponible para este proyecto en particular, con el fin de determinar las limitaciones y posibilidades del mismo. Minimizar el efecto del sistema de medida sobre las capturas e identificar las posibles fuentes de error en la medida. Estudiar las limitaciones y posibilidades que ofrece el microscopio empleado.
3. **Diseño de un sistema mecánico** que, unido al microscopio, sea capaz de posicionar de forma precisa una zona del portaobjetos que se desee capturar en el campo de visión del microscopio. Esto permitirá la captura de toda la zona de interés de un hipercubo sin la intervención del usuario.
4. **Automatización del sistema de medida:** Desarrollo del software y hardware necesario para que las capturas se efectúen de manera automática.
5. **Test del sistema de medida desarrollado:** Para comprobar la funcionalidad del sistema de medida desarrollado, se creará una base de datos hiperespectral empleando muestras biológicas contenidas en portaobjetos.
6. **Creación de una base de datos de muestras histológicas** usando imágenes hiperespectrales.

1.5 Descripción de la memoria

La memoria de este PFC se ha organizado en los siguientes capítulos:

- *Capítulo 1:* se exponen los objetivos de este PFC así como las motivaciones que lo han llevado a cabo.
- *Capítulo 2:* explica los conocimientos necesarios para desarrollar este PFC y realiza un estudio de los trabajos previos realizados en los que se emplean imágenes hiperespectrales.
- *Capítulo 3:* describe los sistemas de adquisición disponibles así como su funcionalidad, sus ventajas y sus limitaciones .
- *Capítulo 4:* describe el diseño, fabricación y montaje del sistema mecánico desarrollado.
- *Capítulo 5:* muestra la funcionalidad y el diseño del software de control para el sistema de adquisición creado.
- *Capítulo 6:* evalúa la integración de todos los componentes que forman el sistema de adquisición hiperespectral y se ajusta y verifica el sistema de capturas.
- *Capítulo 7:* muestra la creación de una base hiperespectral a partir de los mosaicos capturados y los resultados obtenidos de dichos mosaicos.

2 Estado del arte

Este capítulo explica los conocimientos necesarios para desarrollar este PFC, definiendo los conceptos básicos referentes tanto a las imágenes hiperespectrales y sus aplicaciones, como a los sistemas mecánicos.

2.1 Imágenes hiperespectrales

La tecnología de imágenes hiperespectrales (HSI, del inglés *hyperspectral imaging*), también conocida como espectroscopia de imágenes [7], es una técnica capaz de registrar cientos de bandas espectrales contiguas para una escena dada. HSI es la combinación de dos tecnologías que han coexistido durante décadas: la espectroscopia y la imagen digital. Por un lado, la espectroscopia es la rama de la ciencia que estudia la interacción entre la radiación electromagnética y la materia, mientras que la imagen digital se preocupa por adquirir instantáneas de una escena. Por lo tanto, HSI captura simultáneamente las propiedades espaciales y espectrales de los materiales dentro de una escena.

Una característica importante de la radiación electromagnética, para entender las imágenes hiperespectrales, es su longitud de onda. La longitud de onda es la longitud de ciclo de una onda, que puede ser medida como la distancia entre dos crestas de ondas sucesivas. La frecuencia se refiere al número de ciclos por unidad de tiempo. En la Figura 2-1 se puede observar el espectro electromagnético, desde las longitudes de onda más cortas ($<10^{-11}$ m) hasta las más largas ($>10^3$ m).

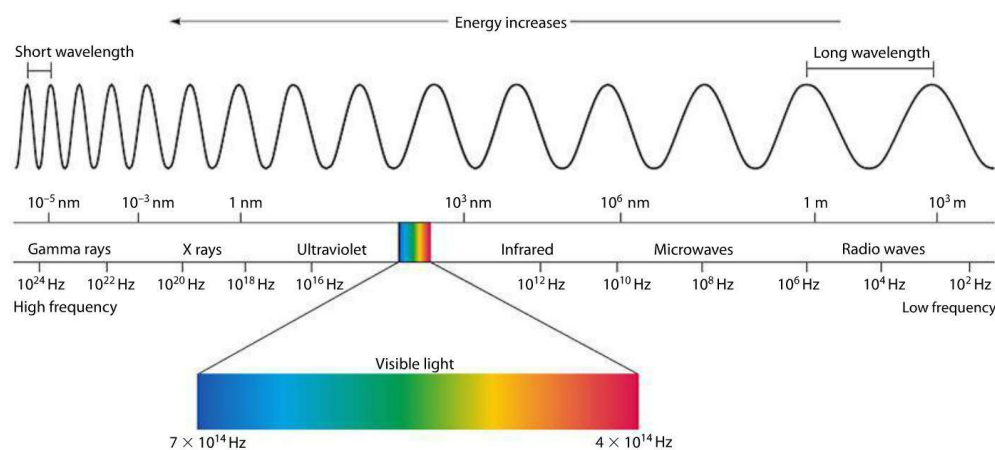


Figura 2-1: Radiación electromagnética.

Las partes del espectro de interés abarcan desde el UV (ultravioleta) hasta el infrarrojo IR (infrarrojo). La radiación UV es la porción del espectro con las longitudes de onda más cortas que son prácticas para la detección óptica. Algunos materiales muestran su fluorescencia o emiten luz visible cuando son iluminados por radiación UV. Se llama espectro visible a la región del espectro electromagnético que el ojo humano es capaz de percibir. A la radiación electromagnética en este rango de longitudes de onda se le llama luz visible o simplemente luz. No hay límites exactos en el espectro visible: el ojo humano típicamente responderá a longitudes de onda de 390 a 750 nm. La región IR se puede dividir en dos categorías basadas en sus propiedades de radiación: la región de IR

reflejada, y la región de IR emitida o térmica. La radiación reflejada en la región IR se utiliza para fines de detección a distancia, de forma muy similar a la radiación en la parte visible, y cubre longitudes de onda de aproximadamente 0,7 μm a 3,0 μm . En cambio, la región IR térmica es bastante diferente de las porciones visibles y de la región de IR reflejada, ya que esta energía es esencialmente la radiación que es emitida desde la superficie de la Tierra o los objetos en forma de calor. La región de IR térmica cubre longitudes de onda de aproximadamente 3,0 μm a 100 μm .

La irradiancia se refiere a la energía de la luz por unidad de tiempo (potencia) que incide sobre una superficie, normalizada por el área de superficie (W/m^2) [8].

Cuando la irradiancia $L_i(\lambda)$ incide sobre un material, este absorbe $L_a(\lambda)$, transmite $L_t(\lambda)$ y refleja $L_r(\lambda)$ la luz de una manera particular. Todos los componentes están en función de la longitud de onda.

$$L_i(\lambda) = L_a(\lambda) + L_t(\lambda) + L_r(\lambda) \quad (\text{Eq. 2-1})$$

Las proporciones de $L_a(\lambda)$, $L_t(\lambda)$ y $L_r(\lambda)$ varían de acuerdo con el comportamiento espectral de los diferentes materiales.

En la espectroscopia de luz reflejada, la propiedad fundamental que se obtiene es la reflectancia espectral ρ_λ (relación de la energía reflejada sobre la energía incidente como una función de la longitud de onda) [9].

$$\rho_\lambda = \frac{L_r(\lambda)}{L_i(\lambda)} \quad (\text{Eq. 2-2})$$

De la misma manera, se puede obtener la transmitancia espectral (relación de la energía transmitida sobre la energía incidente como una función de la longitud de onda).

$$\sigma_\lambda = \frac{L_t(\lambda)}{L_i(\lambda)} \quad (\text{Eq. 2-3})$$

Tanto la reflectancia como la transmitancia varían con la longitud de onda para la mayoría de los materiales, debido a que la energía en ciertas longitudes de onda es absorbida en mayor o menor medida. Las pronunciadas desviaciones a la baja de las curvas espectrales marcan los rangos de longitudes de onda en la que el material absorbe selectivamente la energía incidente. Estas características generalmente se denominan bandas de absorción.

Estas variaciones en la reflectancia o en la transmitancia se denominan firma espectral y son únicas para cada material. Este hecho se evidencia cuando se comparan las firmas espectrales de diferentes materiales, como se ilustra en la Figura 2-2, donde el espectro de reflectancia muestra la firma espectral de tres materiales diferentes (suelo, agua y vegetación). Se puede observar que es posible diferenciar entre diferentes materiales atendiendo únicamente a su firma espectral.

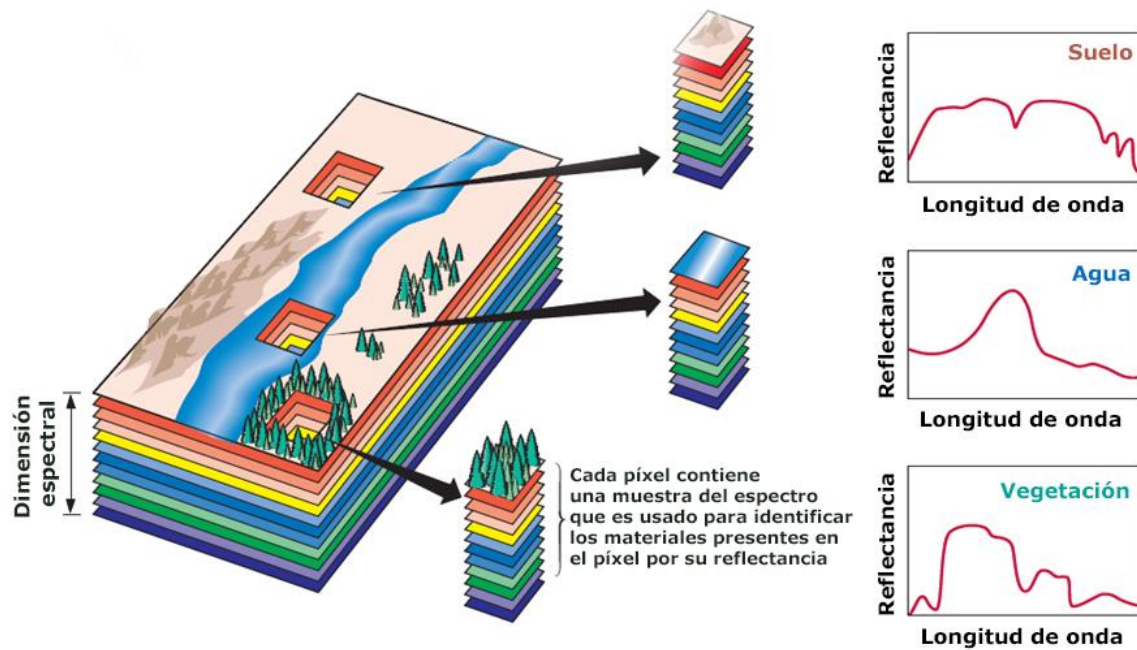


Figura 2-2: Firmas espectrales.

Para entender mejor la terminología referida a las imágenes hiperespectrales, se deben proporcionar algunas definiciones. La representación digital de una imagen hiperespectral se denomina **cubo hiperespectral**. En éste, se almacena tanto la información espacial como la espectral, como se puede observar en la Figura 2-3. Un píxel de la imagen hiperespectral corresponde al espectro de una cierta coordenada espacial. También es posible visualizar toda la información espacial de una longitud de onda determinada. El **rango espectral** de una imagen hiperespectral es la porción del espectro electromagnético que se ha muestreado al adquirir el hipercono. Existen varios rangos espectrales estándar tal y como se muestra en la Tabla 2-1, desde los 3 μm hasta los 2500 nm, los cuales se ajustan a diferentes aplicaciones. Por ejemplo, el análisis de la vegetación utiliza el rango espectral VNIR (Visible e infrarrojo cercano) que va desde los 400 nm hasta los 1000 nm, mientras que la mineralogía utiliza el rango espectral SWIR (infrarrojo de onda corta) que va desde los 1000 nm hasta los 2500 nm.

Tabla 2-1: Rangos espectrales.

Rango	Longitud de onda
UV	200 - 400 nm
Visible	380 - 800 nm
VNIR	400 - 1000 nm
SWIR	970 - 2500 nm
NIR	900 - 1700 nm
MWIR	3 - 5 μm
LWIR	8 - 12 μm

2.1. Imágenes hiperespectrales

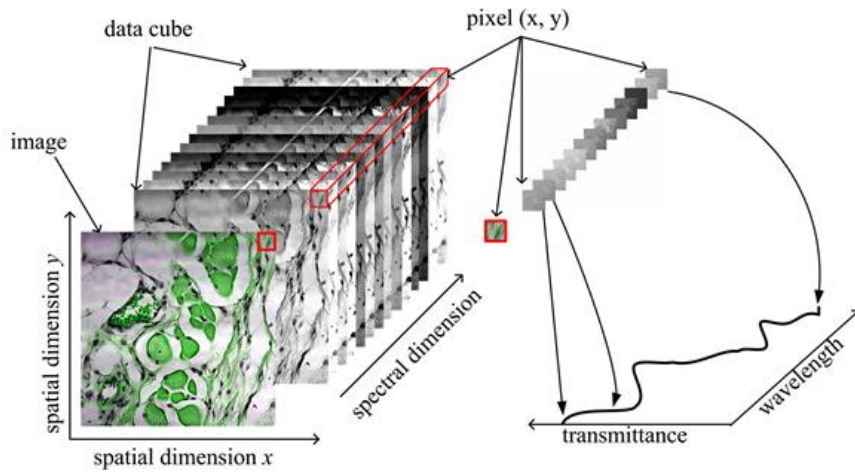


Figura 2-3: Hipercubo y representación espectral de un píxel.

La resolución espectral hace referencia a la mínima separación entre bandas espectrales en la que el sensor de una cámara hiperespectral es capaz de capturar información.

Por ejemplo, para una cámara que trabaje en el rango espectral del NIR (infrarrojo cercano), con una resolución espectral de 1 nm, el sensor de la cámara podrá registrar un total de 600 bandas espectrales. En la Figura 2-4 se muestran los distintos espectros para un mismo hipercubo capturado con diferentes resoluciones espectrales. En la figura se puede observar como a mayor resolución, mayor cantidad de información espectral se captura.

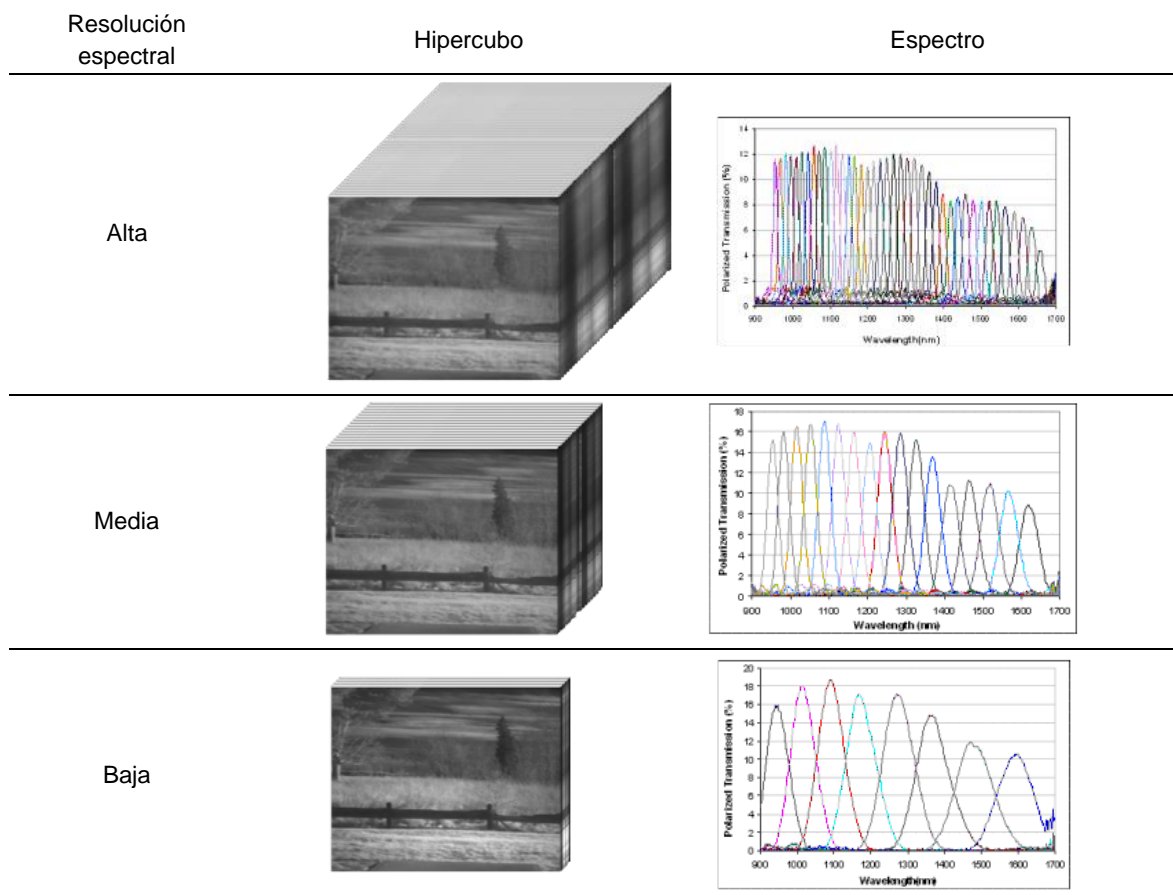


Figura 2-4: Resolución espectral.

Por último, la **resolución espacial** se define como una medida del nivel de detalle que puede verse en una imagen. Es el tamaño del mínimo objeto reconocible que puede detectar el sensor. Define el tamaño del píxel, como se puede ver en la Figura 2-5, donde, a menor tamaño del píxel, mayor resolución espacial se tendrá.

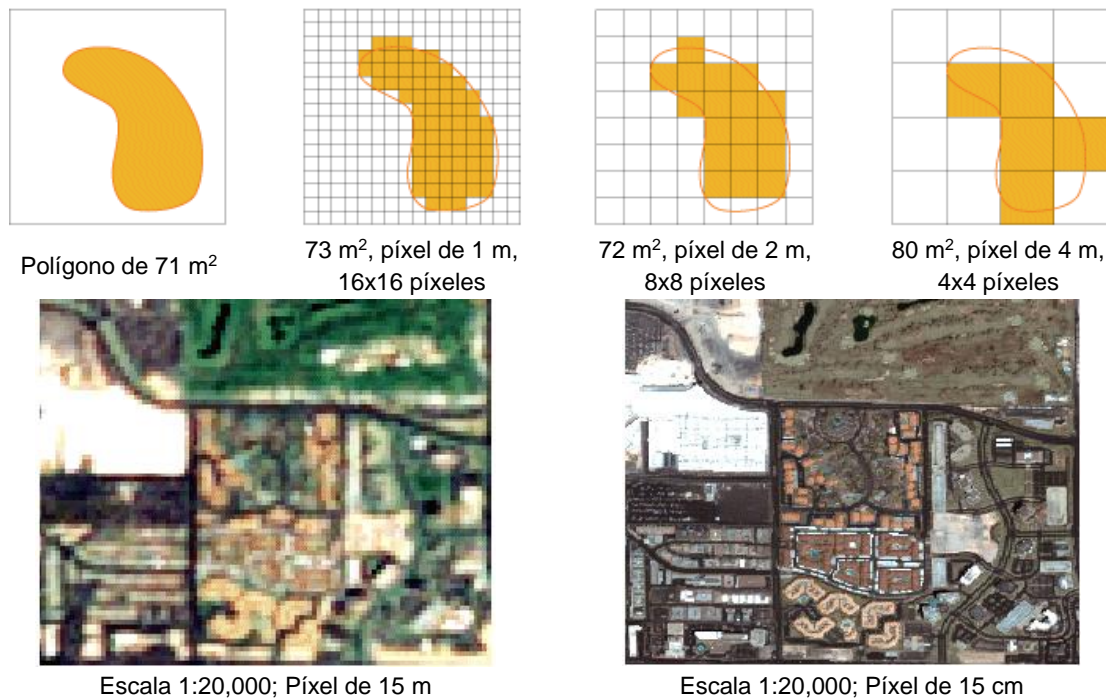


Figura 2-5: Resolución espacial.

Con el fin de proporcionar un contexto breve pero robusto sobre las imágenes hiperespectrales, este capítulo presenta las tendencias actuales en aplicaciones y procesamiento digital de imágenes hiperespectrales.

2.1.1 Aplicaciones de imágenes hiperespectrales

La capacidad de discriminación, entre diferentes materiales, proporcionada por HSI, hace que esta tecnología sea de mucha utilidad en una gran diversidad de campos. Las aplicaciones biomédicas de HSI, que son parte del contexto de este estudio, se abordarán más adelante.

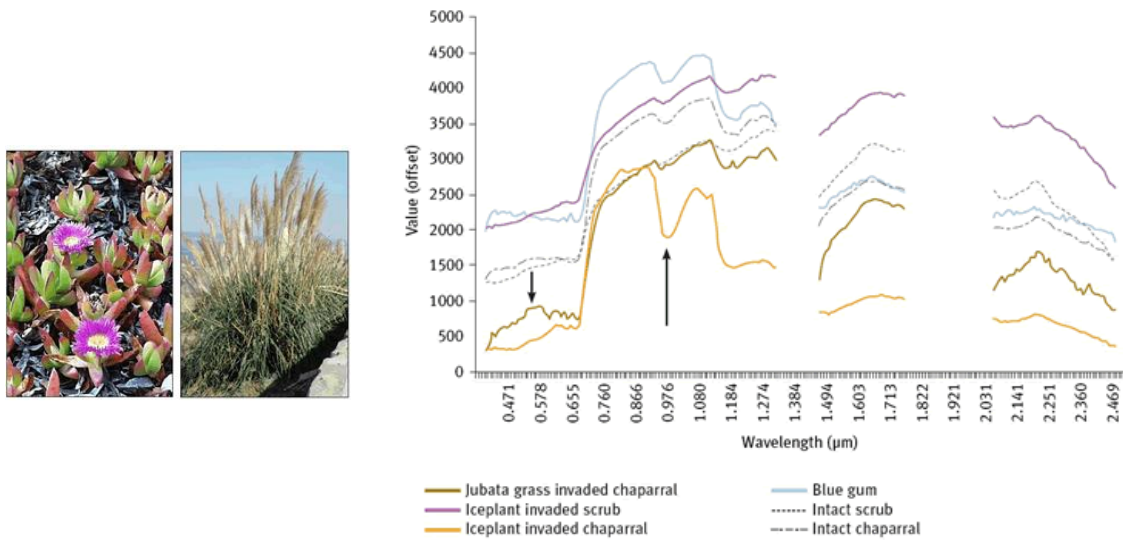
El impacto de las imágenes hiperespectrales en la comunidad científica se refleja en el gran número de investigaciones [10-12] que involucran mejoras en su tecnología y aplicaciones en diversas disciplinas científicas, incluyendo la biología, la agronomía, la ecología, la oceanografía, la geología y la geografía, entre otras [13-17].

Históricamente, la primera aplicación de HSI fue la teledetección (*Remote Sensing*). La técnica de teledetección permite adquirir información espacial, temporal y espectral de un objeto o escena sin entrar en contacto físico con él [18].

La teledetección proporciona, por ejemplo, información oportuna sobre invasiones de especies de plantas no nativas. Las especies de plantas invasoras, implican una amenaza significativa para la biodiversidad global y el funcionamiento de los ecosistemas. Un ejemplo es un estudio realizado en la costa central de California (Estados Unidos) [19]

2.1. Imágenes hiperespectrales

donde se discriminaron seis tipos de vegetación, tres de los cuales estaban dominados por tres especies invasoras: iceplant (*Carpobrotus edulis*), jubata (*Cortaderia jubata*) y eucaliptos (*Eucalyptus globulus*). La Figura 2-6(a) muestra varias de las especies usadas en el estudio, mientras que la Figura 2-6(b) refleja una comparativa de las firmas espectrales de cada especie.



(a)

(b)

Figura 2-6: Invasión de especies de plantas no nativas [19].
 (a) Especies Iceplant y Jubata (b) Firmas espectrales de especies invasoras

Gracias a esa diferencia se pueden detectar dichas especies para acotarlas y erradicarlas, como se muestra en la Figura 2-7.

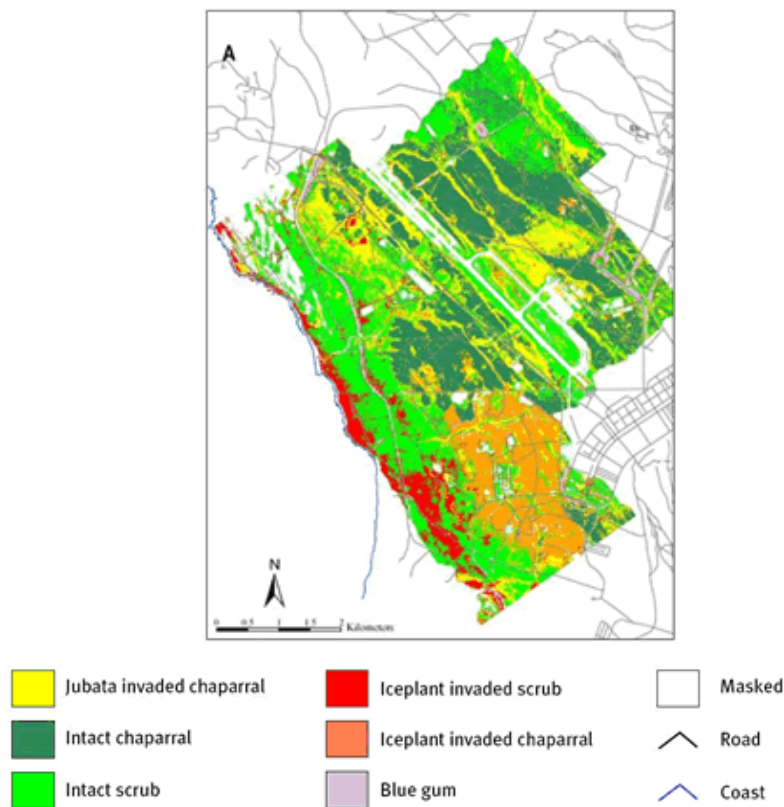


Figura 2-7: Identificación de plantas invasoras usando HSI [19].

Por otro lado, los sistemas de imágenes hiperespectrales también se utilizan para la evaluación de la calidad de los alimentos. Existen diferentes maneras de evaluar la calidad de los alimentos, como la evaluación sensorial, usada comúnmente en carnes, o los métodos químicos, pero por lo general estos métodos analíticos consumen mucho tiempo y provocan la destrucción de los alimentos. Es por ello que dichos métodos no son apropiados para realizar una evaluación de alimentos a gran escala. En este contexto, la imagen hiperespectral ha cobrado importancia durante los últimos años, demostrando ser una técnica eficaz para el análisis y la evaluación de los productos alimenticios de una forma rápida y no invasiva ni destructiva del producto, utilizándose ya en numerosos tipos de alimentos como la carne, el pescado, frutas y hortalizas [20]. Un ejemplo del análisis de la calidad de los alimentos usando imágenes hiperespectrales, se puede ver en un estudio de la detección temprana de imperfecciones en las manzanas [21].

La detección de defectos en las manzanas es muy importante para los sistemas de inspección de calidad. A pesar de que las imperfecciones son la razón para rechazar el mayor número de frutos en las líneas de clasificación, los sistemas de clasificación automáticos existentes todavía no son precisos a la hora de detectar las imperfecciones, por lo que la clasificación manual aún se utiliza [22, 23]. La imperfección se define como el daño del tejido del fruto como resultado de fuerzas externas que causan cambios físicos de textura y / o cambios químicos de color, olor y sabor.

En la Figura 2-8(a) y Figura 2-8(b), se muestran los resultados de la identificación de las imperfecciones de una manzana para los rangos VNIR (infrarrojo cercano visible) y SWIR respectivamente. Aunque a simple vista las imperfecciones no son visibles, usando imágenes HSI sí es posible su identificación.

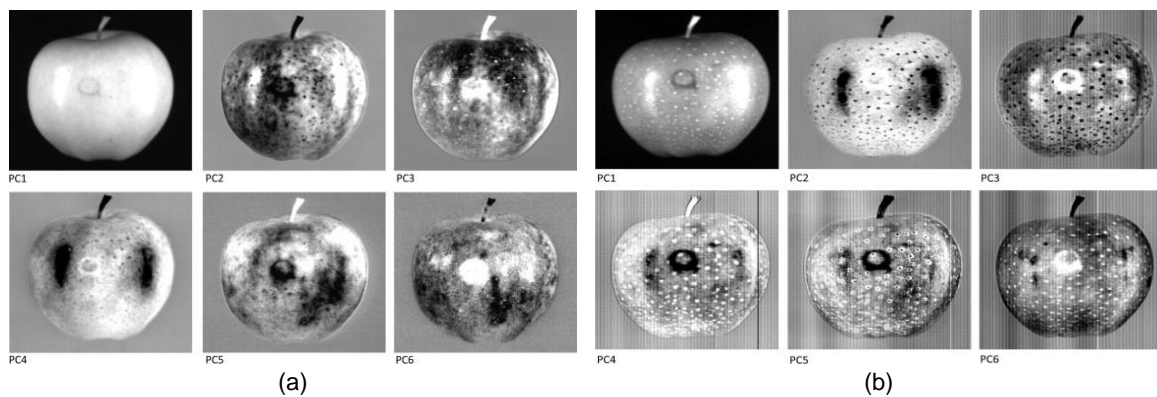


Figura 2-8: Defectos en manzanas [21].
(a) rango VNIR (b) rango SWIR

Esta tecnología brinda también grandes oportunidades en aplicaciones de defensa y seguridad. Por ejemplo, permiten la detección, identificación y cuantificación de vapores químicos presentes en la atmósfera. Después de la captura de un cubo hiperespectral de una escena compuesta por un fondo y una nube gaseosa, se aplica un conjunto de algoritmos de procesamiento para realizar la detección, identificación y cuantificación del gas [24].

Los algoritmos evalúan las características de las nubes químicas a partir del reconocimiento de la firma espectral intrínseca de las especies químicas en los datos medidos. Como se puede apreciar en la Figura 2-9, los productos químicos detectados

2.1. Imágenes hiperespectrales

están codificados por colores con un nivel de transparencia relacionado con la concentración de gas.

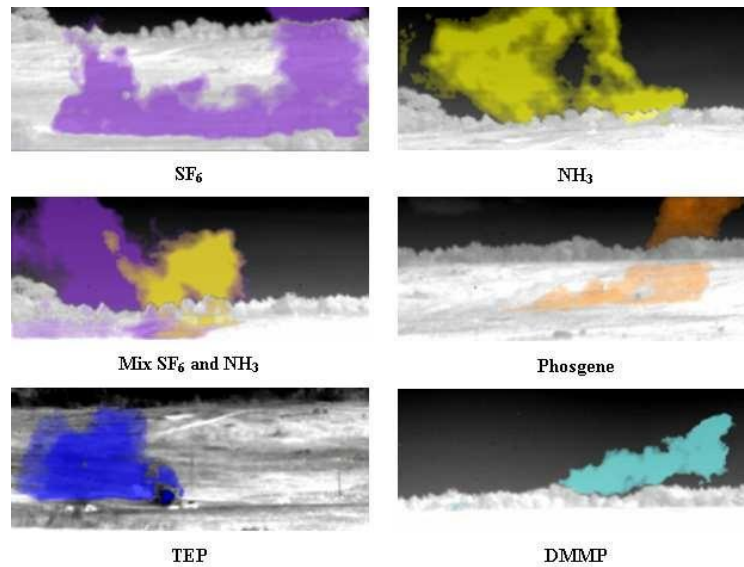


Figura 2-9: Liberación de gases químicos [24].

La caracterización del suelo es otra de las aplicaciones para la que se puede aprovechar esta tecnología. Un campo natural es una estructura heterogénea compuesta de rocas, líquidos, vegetación y otros materiales. La Figura 2-10 ilustra el reconocimiento de rocas por la representación de falsos colores [25].

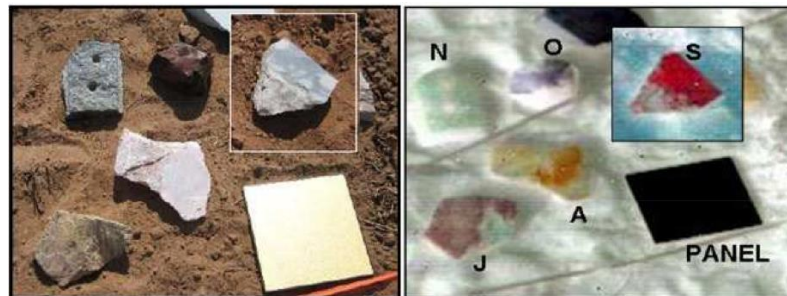


Figura 2-10: Caracterización de rocas.

Las técnicas HSI también se están utilizando para evaluar las perturbaciones del suelo en comparación con otras secciones de la tierra. Utilizando técnicas avanzadas de procesamiento de datos, es posible determinar que una sección del terreno ha sido alterada en comparación con otras partes del mismo terreno.

La industria farmacéutica también ha utilizado las imágenes hiperespectrales. En este campo, los principales objetivos son mejorar el control de calidad, identificar medicamentos y detectar falsificaciones. Las imágenes hiperespectrales han demostrado ventajas en comparación con las técnicas tradicionales de análisis de fármacos, generalmente basadas en análisis químicos. La figura 5 muestra una aplicación interesante en el campo farmacéutico: la detección de fármacos falsificados. Los medicamentos falsificados no cumplen con los estándares de calidad y seguridad proporcionados por los laboratorios, por lo que los ingredientes activos pueden diferir de la dosis óptima, causando reacciones impredecibles en los pacientes. La Figura 2-11 muestra cómo al procesar las imágenes

hiperespectrales, se puede distinguir fácilmente entre los fármacos falsificados de los que no lo son, lo que a simple vista no es posible [26].

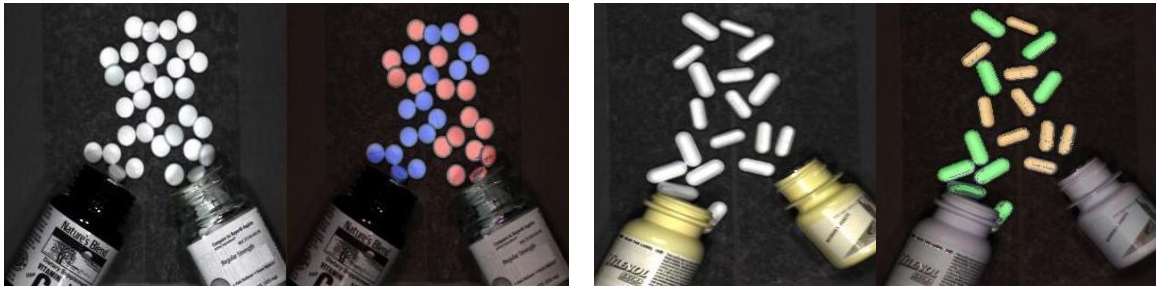


Figura 2-11: Identificación de productos farmacéuticos falsificados usando HSI [26].

2.1.2 Aplicaciones biomédicas de las imágenes hiperespectrales

Las imágenes hiperespectrales se han empleado en el campo de la medicina para la detección de múltiples afecciones. Por ejemplo, se ha utilizado para detectar niveles altos de colesterol a través del estudio de imágenes hiperespectrales del rostro humano [27] o para la detección de artritis [28], mediante la simulación de la firma espectral de la piel (transmisiones y reflexiones) en el rango espectral de los 600 nm a los 1100 nm. Este estudio permite diferenciar entre articulaciones con artritis y articulaciones no afectadas por esta patología (Figura 2-12(a)(b)(c)(d)(e)), estableciendo mediante la reflectancia y la transmitancia de las imágenes estudiadas (Figura 2-12(f)(g)) determinados parámetros de discriminación para articulaciones humanas.

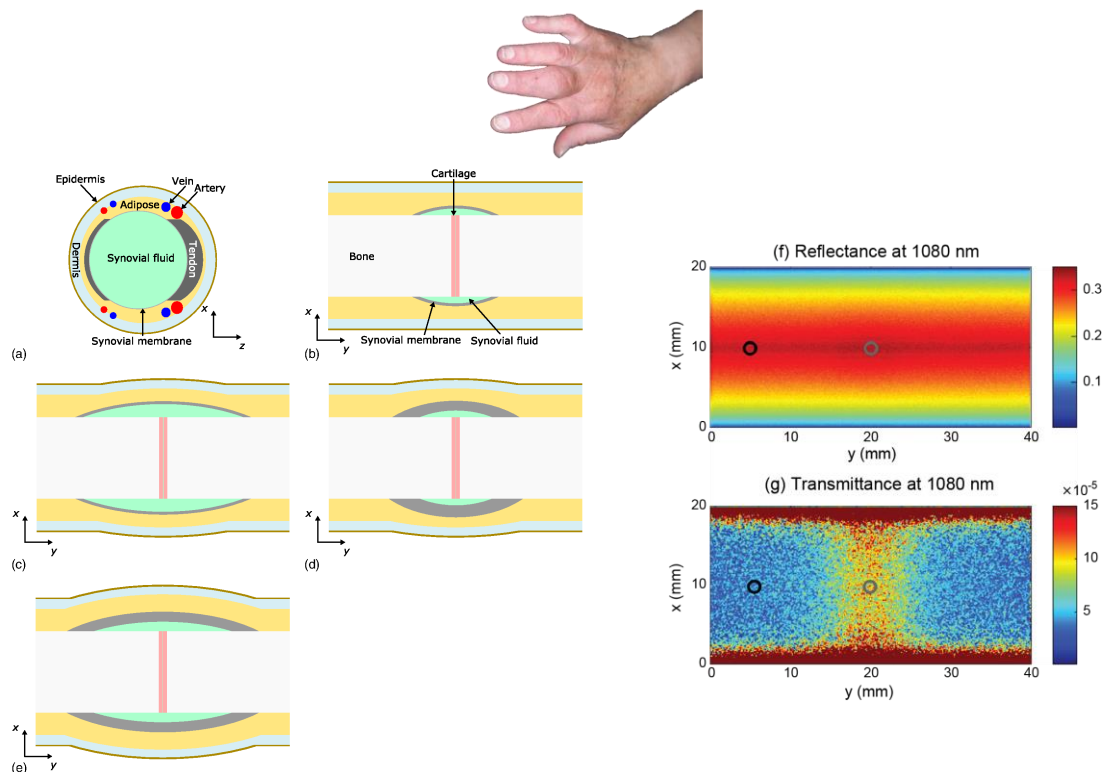


Figura 2-12: Detección de artritis usando HSI [28].

(a) Sección xz-plano a través de la geometría en el centro de la articulación (b) Sección xy-plano en el centro de la geometría para una articulación sana (c) Derrame de líquido sinovial (d) Engrosamiento de la membrana sinovial (e) derrame del líquido sinovial y engrosamiento de la membrana sinovial (f) Reflectancia (g) Transmitancia de una articulación sana a 1080 nm.

2.1. Imágenes hiperespectrales

Este tipo de tecnología también presenta una gran utilidad cuando se aplica a las estructuras de vasos sanguíneos. La formación de imágenes de las estructuras de los vasos puede ser útil para investigar la función endotelial, la angiogénesis y la hipervascularización, como puede verse en el trabajo presentado en [29] que aborda la generación de este tipo de imágenes mediante la aplicación de técnicas de procesamiento en tiempo real para mejorar el contraste de vasos en este tipo de tejidos.

La diferenciación automática de venas y arterias como asistencia en procedimientos quirúrgicos se aborda en [30], mediante una serie de librerías pre-existentes de firmas espectrales y la aplicación de clasificación mediante SVM (*Support Vector Machine*), dando lugar a imágenes como la mostrada en la Figura 2-13, en la que se muestra la correcta identificación de la vena cava y de la arteria aorta durante el transcurso de una operación.



Figura 2-13: Diferenciación entre venas y arterias en vivo [30].

De la misma manera, en [31] se trata de identificar los diferentes órganos y tejidos durante procedimientos quirúrgicos. El diagnóstico de tejido o tejidos anormales que no están en la localización anatómica natural es una preocupación importante en las cirugías. HSI puede ser una tecnología útil para encontrar tejidos ectópicos y el diagnóstico de anomalías del tejido tales como la isquemia intestinal. El tejido ectópico o heterotópico, en particular cuando se omite, puede causar insuficiencia del flujo sanguíneo en el intestino. En la Figura 2-14 se muestra el abdomen de un cerdo durante una cirugía en varias longitudes de onda. Tras clasificar dichas imágenes, mediante SVM y LVQ (*Learning Vector Quantization*), los autores han sido capaces de obtener una diferenciación de tejidos, como se observa en la Figura 2-15.

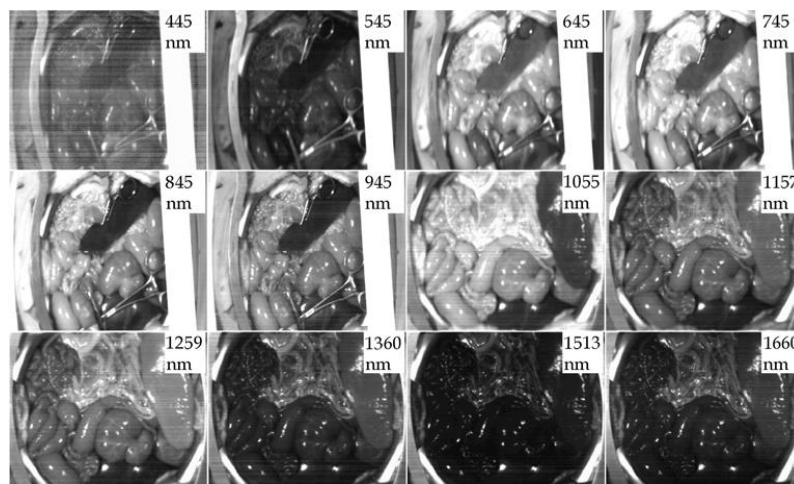


Figura 2-14: Varias imágenes, a diferentes longitudes de onda, durante la cirugía abdominal de un cerdo [31].

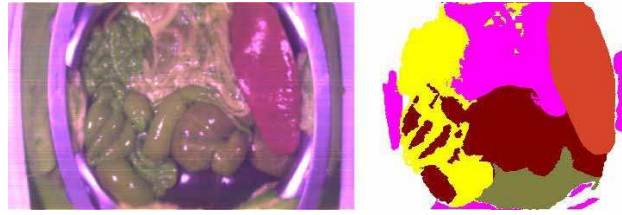
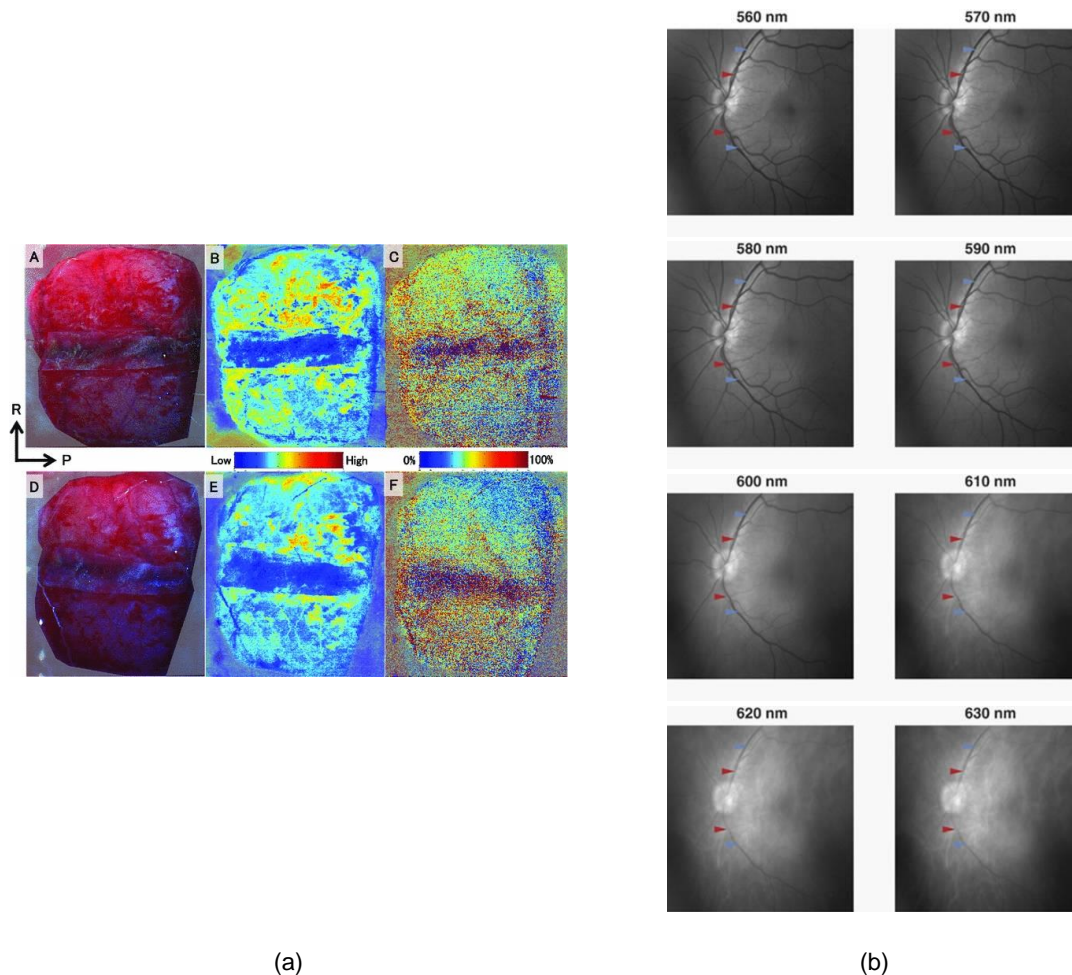


Figura 2-15: Representación RGB de la cavidad abdominal de un cerdo [31].

En [32] se describen técnicas de análisis para la oximetría de los vasos de la retina, generando lo que se denominan mapas de oximetría de retina. En la Figura 2-16(b) se pueden observar las arteriolas y las vénulas a diferentes longitudes de onda. En [33] se lleva a cabo un estudio para determinar la viabilidad de la creación de mapas espectrales de la hemodinámica de la superficie cortical cerebral (Figura 2-16(a)), así como su uso clínico. Finalmente, el trabajo presentado en [34] aborda un estudio similar, pero referente a los riñones.



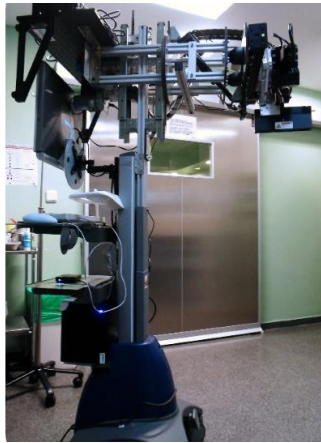
(a) Oxigenación de los hemisferios de un cerebro de rata (b) Arteriolas (flechas rojas) y vénulas (flechas azules) de la retina de un sujeto normal, captadas en diferentes longitudes de onda

En lo que respecta a la detección de cáncer, esta tecnología se ha empleado con el fin de proporcionar a los cirujanos una herramienta de ayuda al diagnóstico que permita la resección total del tejido tumoral, así como con el fin de evitar la resección errónea de tejido sano. Esta tecnología ha sido empleada con éxito para la detección de diferentes tipos de tumores en animales, entre los que se encuentran el cáncer de próstata [35], cáncer de

2.1. Imágenes hiperespectrales

cabeza y cuello [36] o cáncer de pecho [37]. En humanos, esta tecnología se ha empleado para detectar cáncer de lengua [38], tumores de piel [39] o tumores gástricos [40].

Por otra parte, cabe destacar uno de los proyectos en los que el DSI ha obtenido buenos resultados. HELICoiD fue un proyecto de colaboración europeo en el que participaron cuatro universidades, tres socios industriales y dos hospitales.



(a)

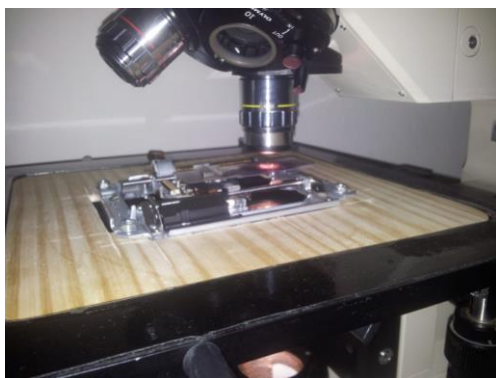


(b)

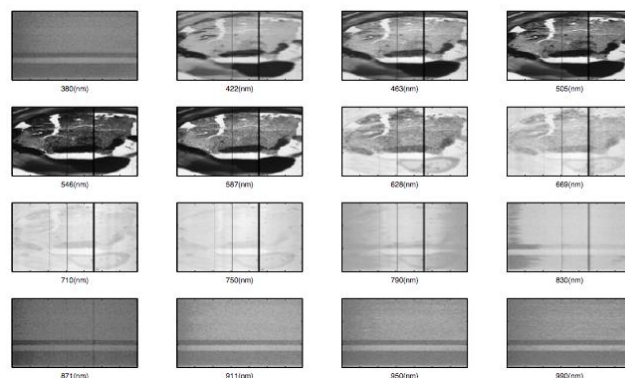
Figura 2-17: Tecnología desarrollada por HELICoiD.
(a) Demostrador HELICoiD (b) Uso del demostrador en el H. Doctor Negrín de Las Palmas de Gran Canaria

La tecnología desarrollada (Figura 2-17(a)) permite la utilización de imágenes hiperespectrales para la identificación en tiempo real de los márgenes del tumor cerebral durante la cirugía (Figura 2-17(b)), lo que ayuda al cirujano a extraer el tumor y respetar la mayor cantidad de tejido sano posible [41].

Por otra parte, ligado al proyecto HELICoiD, se realizó el Proyecto Fin de Carrera “Detección de tumores cerebrales ex-vivo usando imágenes hiperespectrales: sistema de adquisición mediante microscopio” en la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, cuyo objetivo era emplear un sistema de captura hiperespectral en el rango VNIR (400–1000 nm) (Figura 2-18(a)) para la creación de una base de datos segmentada de tejidos histológicos (Figura 2-18(b)). Dichos tejidos, previamente diagnosticados como sanos o tumorales, se correspondían con biopsias cerebrales procesadas para su observación por un patólogo [42].



(a)



(b)

Figura 2-18: Sistema de adquisición desarrollado.
(a) Sistema de captura (b) Información espacial para diferentes longitudes de onda de una muestra tumoral

2.2 Patología digital

La anatomía patológica se enfrenta con una creciente demanda del volumen de trabajo, mayor cantidad de información que debe generarse en cada informe y mejora en la calidad, exactitud diagnóstica y seguridad del paciente. A menudo, se esgrimen argumentos económicos para evolucionar hacia un modelo centralizado de servicios diagnósticos, con el fin de mejorar el acceso a los expertos o a servicios muy especializados.

Paralelamente, la anatomía patológica en nuestro país está viviendo cambios significativos en los últimos cinco años con el avance de las tecnologías de la información y las comunicaciones (TIC), que, en esta especialidad, hasta el momento se han concretado en la mejora de los sistemas de información de anatomía patológica (SIAP) o LIS (*Laboratory Information System*), el impulso de la trazabilidad de muestras y la incorporación de la imagen digital microscópica.

El concepto de patología digital incluye todos los aspectos relacionados con el uso de las TIC en anatomía patológica, pero en la práctica se aplica a un contexto en el que se ha incorporado el uso de preparaciones digitales o tecnología de escaneado completo de preparaciones (WSI, siglas de *Whole Slide Imaging*) histológicas o citológicas, antes conocida como microscopía virtual. Esta tecnología ha tenido un especial desarrollo en aspectos docentes y en investigación en anatomía patológica y es previsible que lo tenga también en la faceta asistencial.

El conocimiento actual de la tecnología de escaneado de preparaciones o de interoperabilidad o integración entre los diferentes componentes de un sistema de patología digital es aún escaso entre los patólogos y entre los informáticos de las instituciones sanitarias. Además, las instalaciones de los servicios de informática de los hospitales necesitan adaptarse para dimensionar la capacidad de almacenamiento necesario para las preparaciones digitales y para integrar las nuevas normas de interoperabilidad que están definiendo los organismos internacionales de informática médica.

La implementación de la microscopía basada en el escaneado completo de preparaciones (WSI) en el diagnóstico rutinario ha sido cuestionada por algunos autores debido a que consideran como limitadas las evidencias sobre su fiabilidad diagnóstica. El principal problema aducido es el número relativamente escaso de publicaciones que demuestren su utilidad. Otro problema añadido de las publicaciones sobre WSI es que muchos de los estudios presentan algunas deficiencias en su diseño, como estar limitados a muestras o especialidades concretas, no incluir un periodo suficientemente largo de separación entre la visualización de preparaciones con WSI y con microscopía convencional (MC) o no evaluar la concordancia intraobservador.

Recientemente, la *American Telemedicine Association* y el *College of American Pathologists* han realizado una revisión de los 112 artículos publicados en los que se ha utilizado una metodología adecuada, entre 767 publicaciones totales existentes sobre el tema [43]. En dicha revisión se ha puesto de manifiesto que el nivel de concordancia en los distintos estudios varía entre el 73% y el 98%, y que las discrepancias mayores representan entre el 3% y el 7%. Estas variaciones dependen en gran parte de las características del

estudio y, de forma particular, de si la concordancia medida es intra- o interobservador [44]. La revisión concluye que la concordancia entre WSI y MC, aunque no es del 100%, es adecuada. De hecho, numerosos estudios han demostrado que la concordancia intraobservador cuando se emplea solo la MC tampoco es completa y depende de factores como la dificultad del caso o la información clínica disponible.

Los estudios revelan un impacto positivo sobre el uso de la WSI en la preparación de los casos que se presentan en los comités de tumores, disminuyendo el tiempo entre 30 minutos y una hora semanal (se reducen aproximadamente al 50%). Esto es debido a que no es necesario realizar fotografías previas de los casos, pues se pueden visualizar en tiempo real y con gran calidad. Además, se dispone de la totalidad del material y se pueden hacer anotaciones y mediciones sobre las imágenes [45]. Adicionalmente, disminuye notablemente las necesidades de almacenamiento y recuperación de las muestras.

Uno de los principales retos que se presentan en la patología del siglo XXI es la patología del cáncer; el diagnóstico, el pronóstico mediante la determinación de biomarcadores y la consecuente terapia oncológica dirigida en el seno de la medicina personalizada requieren procesos que a cada paso generan más información, que a cada paso requieren más precisión. Esta calidad en el manejo diagnóstico, pronóstico y terapéutico de los enfermos de cáncer solo se puede asegurar mediante un proceso que tenga la patología digital como elemento básico para su funcionamiento, mediante el análisis automatizado de biomarcadores [46].

El análisis automatizado de imagen se enfrenta con la limitación técnica impuesta por la fijación de los tejidos, las variaciones en el grosor de los cortes o las variaciones impuestas por los métodos de tinción.

Los aspectos técnicos específicos a tener en cuenta para realizar análisis de imagen óptimo están relacionados con la calidad de la imagen obtenida, con el grado de compresión que se aplique a la imagen, con la eficiencia del software de análisis de imagen y con las funcionalidades del visor de preparaciones o fotografías digitales, que debe ser capaz de ofrecer un resultado intuitivo, por ejemplo, superponiendo los resultados del análisis con la imagen original.

Las siguientes funcionalidades son consideradas básicas, antes de plantearse el abandono del uso de microscopio convencional.

Velocidad de escaneado

Cuando un servicio de anatomía patológica se plantea la digitalización de sus preparaciones, debe conocer el tiempo total de escaneado para poder establecer el número de escáneres que necesitará. En la valoración del tiempo de escaneado debe considerarse que no solo contabiliza el tiempo de captura de las imágenes, sino que suele haber un tiempo que utiliza el escáner en la calibración o enfoque de la muestra que puede ser previo o simultáneo a la captura y que con frecuencia puede variar si se ajusta un foco de mayor sensibilidad. Adicionalmente, tras el procedimiento de captura de imágenes, el escáner puede necesitar un tiempo de ensamblaje de las mismas y de generación del fichero digital, para que quede disponible para su visualización.

El tiempo de escaneado es también un factor crítico si se planea su utilización en realización de estudios intraoperatorios [47].

La velocidad total de escaneado no debe ser superior a 2 minutos para escanear un área de 1,5 × 1,5 cm usando una resolución de 0,5 micrómetros/píxel (equivalente a objetivo 20x) [48].

Calidad de imagen obtenida por el escáner

En la actualidad prácticamente la totalidad de fabricantes de escáneres de preparaciones microscópicas obtienen imágenes de elevada calidad. Se trata de dispositivos de elevado precio que utilizan componentes de alta calidad. La obtención de imágenes digitales se realiza empleando objetivos similares a los de los microscopios ópticos, pero casi siempre se seleccionan los de gama más alta y mejores prestaciones ópticas. Ello se combina con cámaras digitales con sensores de alta resolución. La combinación de sistema óptico (objetivos y otras lentes) y captura digital (cámaras que capturan fotogramas, líneas o áreas), hoy día, deben cumplir con al menos los siguientes requisitos técnicos:

- La resolución espacial debe medirse en micrómetros por píxel y no en aumentos. El valor mínimo recomendable es de 0,5 micrómetros/píxel (equivalente a objetivo 20x) para diagnóstico histopatológico [49] y 0,25 micrómetros/píxel (equivalente a 40x) para diagnóstico citopatológico.
- La compresión de la imagen obtenida no debe ser superior a 70% si se utiliza compresión con los métodos JPEG o JPEG2000. El método JPEG2000 de compresión permite obtener mejor calidad de imagen y un tamaño de fichero más reducido, aunque requiere mayor tiempo de compresión o disponer de ordenadores de mayores prestaciones.

2.3 Cámaras hiperespectrales

Sistemas HSI

Las cámaras hiperespectrales capturan un espectro amplio de luz, en contraste con las imágenes de fotografía tradicional, donde cada píxel se representa como una combinación simple de colores básicos (por lo general el rojo, verde y azul). La luz capturada para cada píxel en las imágenes hiperespectrales se descompone en un mayor número de bandas, proporcionando más información de la que se aprecia a simple vista por el usuario.

Los sistemas de medida hiperespectrales son fruto de la unión de la espectroscopia y la fotografía digital. Una cámara hiperespectral está formada por la combinación de un espectroscopio y un sensor monocromático. Cuando a un espectroscopio se le coloca un detector en su salida se le suele denominar espectrógrafo. El espectroscopio es un instrumento diseñado para descomponer la radiación de una fuente lumínica en las longitudes de onda que la forman, siendo el sensor el que registra la luz descompuesta en sus componentes fundamentales. Un diagrama de bloques genérico de este tipo de sistema se muestra en la Figura 2-19.

2.3. Cámaras hiperespectrales

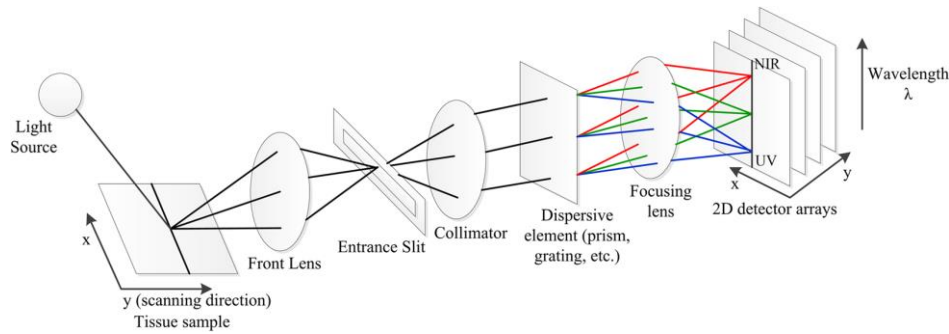


Figura 2-19: Diagrama de bloques de una cámara hiperespectral.

Existen dos principios ópticos fundamentales que permiten dispersar la luz, la refracción diferencial y la interferencia. El primero da lugar a los espectroscopios de prisma y el segundo a los basados en redes de difracción, como puede observarse en la Figura 2-20. Existen también elementos dispersores híbridos, que suelen ser la combinación de un elemento de cada.

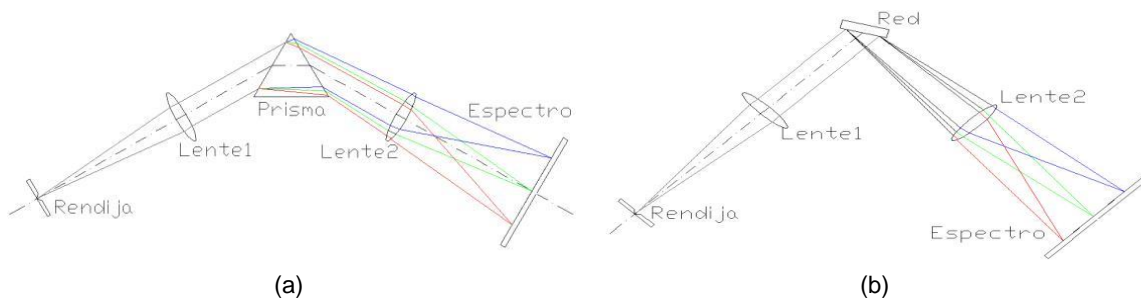


Figura 2-20: Dispersión de la luz en un espectrógrafo.
(a) Prisma (b) Red de difracción

Independientemente del diseño del espectroscopio y de su elemento dispersor, su característica fundamental es la *resolución espectral* (R). Este parámetro indica la capacidad del espectroscopio para separar dos componentes espectrales muy próximas:

$$R = \frac{\lambda}{\delta\lambda} \quad (\text{Eq. 2-4})$$

En esta ecuación λ es la longitud de onda en la que se está trabajando y $\delta\lambda$ es la *pureza espectral* (FWHM, *Full Width at Half Maximum*), que se corresponde con la anchura a media altura que tendría una línea monocromática al observarse con el espectroscopio (Figura 2-21).

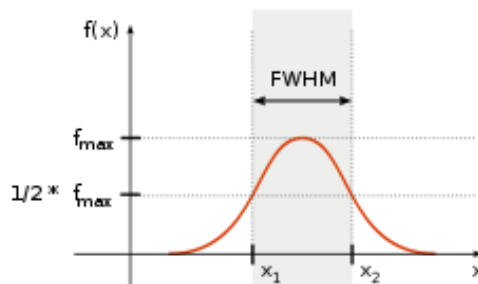


Figura 2-21: FWHM.

Para decidir si dos líneas están realmente separadas se debe establecer un criterio. Uno de los más extendidos es el *criterio de Rayleigh* (Figura 2-22), según el cual, se puede suponer que el espectroscopio separa las dos líneas cuando la diferencia de longitud de onda de los máximos sea mayor o igual a la pureza espectral.

$$\Delta\lambda \geq \delta\lambda \quad (\text{Eq. 2-5})$$

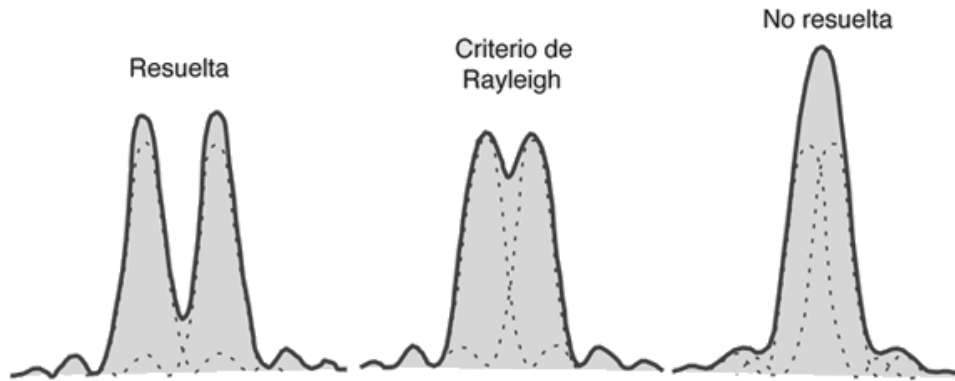


Figura 2-22: Criterio de Rayleigh.

La pureza espectral dependerá del sistema óptico que se esté utilizando, así como de la calidad del elemento dispersor [50].

Entre los diferentes montajes para un espectrógrafo, como el de prisma objetivo, Echelle, GRISM o el de rendija, es este último el más utilizado. A continuación, se muestran algunos ejemplos de las configuraciones de espectrógrafos de rendija más comunes [51]:

De todos los **Czerny-Turner** posibles, la disposición más común es aquella en la que los dos espejos son iguales, así como los ángulos formados por estos y la red, ya que así se consigue eliminar la asimetría de la imagen de la rendija de entrada, denominada *coma*, que aparecería en cualquier otro caso. Como se aprecia en la Figura 2-23, se puede construir tanto con red de difracción como con prisma, aunque este último caso es ya muy difícil de encontrar, ya que requiere añadir una superficie óptica adicional, al tiempo que aparecen los problemas de utilizar un prisma: dispersión no lineal, menor dispersión, etc.

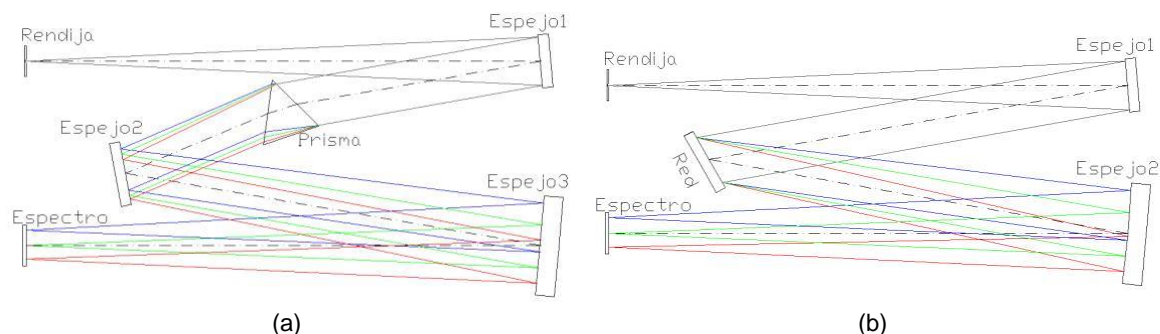


Figura 2-23: Espectrógrafo Czerny-Turner.
(a) Prisma (b) Red de difracción

El diseño **Ebert-Fastie** es equivalente al Czerny-Turner, con la diferencia de que en este caso sólo se utiliza un espejo en lugar de dos.

2.3. Cámaras hiperespectrales

La disposición de **Littrow** utiliza una única lente que actúa como colimador y como cámara al mismo tiempo, consiguiéndose crear una imagen del espectro muy próxima a la entrada de luz (rendija). En la Figura 2-24 se puede ver el diseño tanto con prisma como con red de difracción.

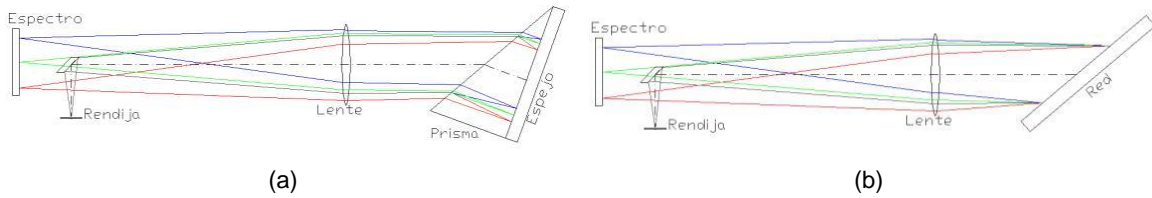


Figura 2-24: Espectrógrafo Littrow.
(a) Prisma (b) Red de difracción

En las últimas décadas, se han propuesto diferentes tipos de métodos y tecnologías relacionados en la adquisición de imágenes hiperespectrales. En este PFC se hablará principalmente de cuatro métodos de adquisición típicos: *whiskbroom*, *pushbroom*, *staring*, y *snapshot*, que se han utilizado comúnmente en el campo de la teledetección y ahora se han extendido a las aplicaciones de imágenes biomédicas.

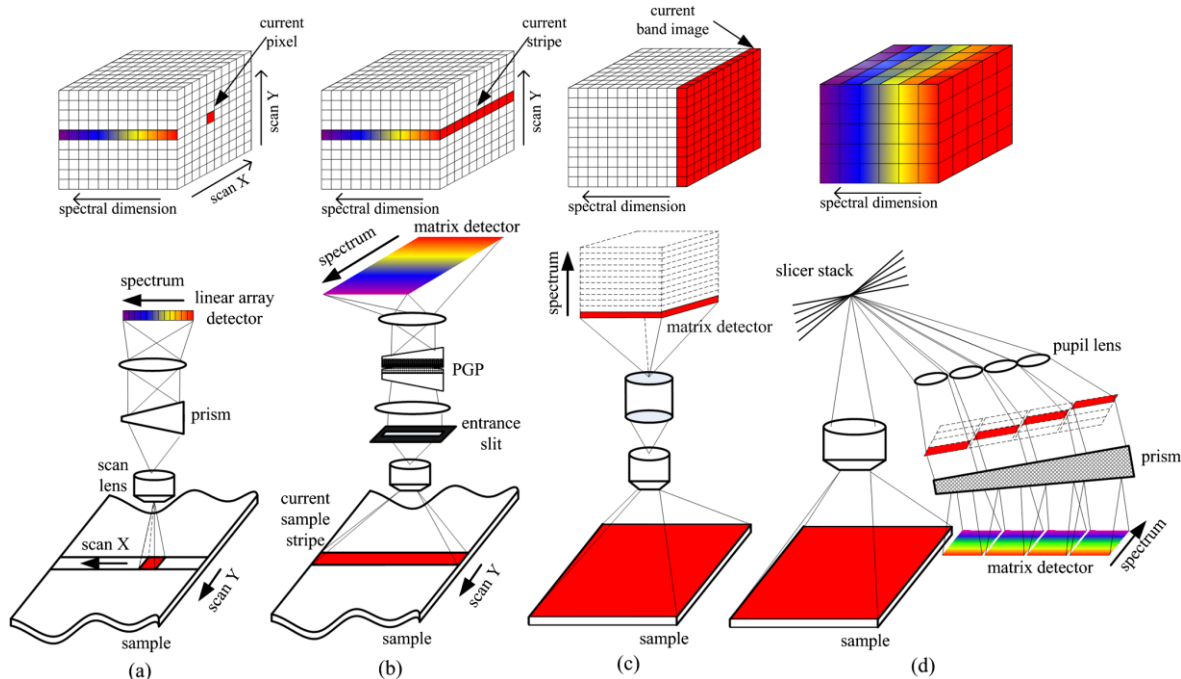


Figura 2-25: Clasificación de sensores según el método de adquisición.
(a) *Whiskbroom* (b) *Pushbroom* (c) *Staring* (d) *Snapshot*

Un sensor de barrido tipo *whiskbroom*, escanea un solo punto a lo largo de dos dimensiones espaciales (X e Y) moviendo el detector. También se le conoce como sensor de espejo móvil, ya que, como se muestra en la Figura 2-26, la imagen se obtiene gracias a la rotación de un prisma o espejo que mueve instantáneamente el punto de vista (IFOV, *Instantaneous Field of View*) perpendicularmente a la dirección del sensor. Los cubos de imágenes hiperespectrales (X, Y, λ) se forman escaneando todas las bandas espectrales pixel a pixel, como se muestra en la Figura 2-25(a).

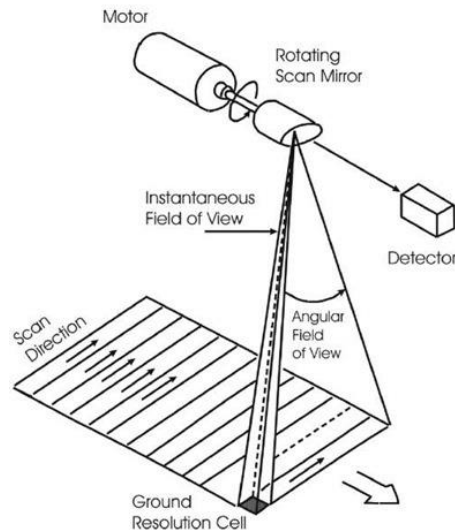


Figura 2-26: Sensor tipo *whiskbroom*.

Los sensores tipo *pushbroom* difieren de los de barrido porque, en lugar de un espejo oscilante, trabajan con una cadena lineal de detectores que cubre todo el campo de visión angular del sensor y que se desplaza a lo largo de la trayectoria de la plataforma (Figura 2-25(b)). La cadena de detectores se activa con el movimiento de la plataforma de forma que, como se muestra en la Figura 2-27, en cada instante se registra información de una línea completa, y a medida que el sensor se desplaza se genera la imagen bidimensional.

Los sensores *pushbroom* presentan ventajas frente a los *whiskbroom* debido a que se trata de detectores micro-electrónicos, más pequeños, ligeros y que requieren menor potencia, y como se elimina la parte móvil del espejo o prisma, son más seguros y duraderos. La existencia de una cadena de detectores, junto con el movimiento de empuje, deja a cada detector ver y medir la radiación durante más tiempo, lo que permite registrar mejor la señal y mejora la resolución radiométrica. El aumento del tiempo de observación repercute también en un IFOV menor y en la posibilidad de obtener bandas espectrales más estrechas.

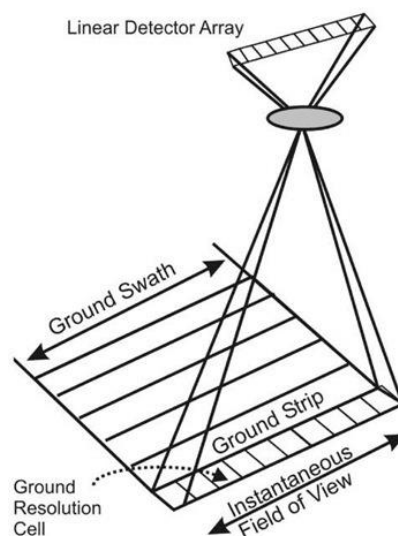


Figura 2-27: Sensor tipo *pushbroom*.

Los sensores denominados de mirada fija (*staring*), como se observa en la Figura 2-25(c), usan elementos que solo dejan pasar determinadas longitudes de onda. Para obtener un hipercubo se debe ir variando la longitud de onda del filtro pasobanda para cada captura. Existen varios tipos de filtros que realizan esta función, los más destacables son los AOTF (*Acoustic-Optic Tunable Filters*) y los LCTF (*Liquid Crystal Tunable Filter*). Los AOTF basan su funcionamiento en las propiedades piezoeléctricas de los materiales. Los AOTF se construyen uniendo transductores piezoeléctricos a un material cristalino apropiado. Excitando los transductores con la radiofrecuencia adecuada se producen perturbaciones en el material que interaccionan con los fotones, proporcionando así la capacidad de selección en frecuencia [52]. Los dispositivos de selección en frecuencia mayoritariamente empleados son los LCTF. Estos filtros, que utilizan elementos de cristal líquido controlados electrónicamente (LC) para transmitir una longitud de onda seleccionable de la luz y excluir a otras, a menudo, basan su principio de trabajo básico en el filtro de Lyot, aunque se pueden utilizar muchos otros [53]. La principal diferencia con el filtro Lyot es que las placas fijas son reemplazadas por una estructura de sándwich de una lámina de cristal líquido y una lámina de cuarzo, entre dos polarizadores lineales [54], para conseguir el rango y la selectividad en frecuencia deseada. De esta forma, permiten el paso de radiación de una longitud de onda concreta, que se puede cambiar mediante software sin necesidad de manipular el filtro.

El método *snapshot* está destinado a registrar información espacial y espectral en un detector de área con una única exposición. A diferencia de los modos *whiskbroom*, *pushbroom* y *staring*, que necesitan escanear en la dimensión espacial o en la dimensión espectral, limitando así su resolución temporal, el modo *snapshot* es una técnica de imagen que no necesita escaneo. Como se muestra en la Figura 2-25(d), el modo *snapshot* puede adquirir un cubo de datos espectrales completo en una sola toma. Aunque este modo puede adquirir datos directamente con un post-procesamiento mínimo para construir una capa de datos 3-D, sus resoluciones espaciales y espectrales están limitadas ya que el número total de vóxeles¹ no puede exceder el número total de píxeles en la cámara CCD (receptor con transferencia de carga). Por ejemplo, usando una cámara de 1024x1024 píxeles, se podría formar un cubo (x,y,λ) en un formato de 256x256x16 o 512x512x4. Por lo tanto, para un sensor dado, siempre se puede aumentar el muestreo espacial a expensas del muestreo espectral, y viceversa [55].

En la Tabla 2-2 se puede observar una comparativa entre los métodos de adquisición de imágenes hiperespectrales que se han expuesto anteriormente.

¹ **Vóxel** es la unidad cúbica que compone un objeto tridimensional. Constituye la unidad mínima procesable de una matriz tridimensional y es, por tanto, el equivalente del píxel en un objeto 2D.

Tabla 2-2: Comparación entre *whiskbroom*, *pushbroom*, *staring* y *snapshot*.

	Whiskbroom	Pushbroom	Staring	Snapshot
Escaneo	Espacial, en el eje (x,y)	Espacial, lineal	Espectral	No
Elemento de dispersión espectral	Prisma, rejilla de difracción, PGP (prism grating prism)	Prisma, rejilla de difracción, PGP	AOTF, LCTF, filtros variables lineales y circulares, interferómetro	Prisma, rejilla de difracción, holograma digital
Rango espectral	Amplio	Amplio	Medio	Amplio
Resolución espectral	Alta	Alta	Media	Baja
Throughput	Alto	Alto	Bajo	Alto
Tiempo de captura del cubo	Largo	Largo	Medio	Corto o instantáneo
Complejidad	Alta	Alta	Simple	Media
Coste	Medio	Medio	Bajo	Alto

Se puede observar que los modos *whiskbroom* y *pushbroom* utilizan un elemento dispersivo (prisma, rejilla de difracción, PGP, etc.) para dividir la luz, un factor que da una ventaja de eficiencia uniformemente alta, baja dispersión y bajo costo para este tipo de imágenes. Además, también son eficientes para medir imágenes hiperespectrales a través de microscopios.

Por otro lado, las ventajas más importantes del modo *staring* son, el corto tiempo de recolección del cubo de datos y la facilidad de acoplamiento con otros instrumentos médicos ópticos, ya que no se requiere movimiento espacial relativo entre la muestra y el detector. Otra ventaja es la flexibilidad de seleccionar el rango espectral óptimo para cada aplicación. En un análisis exploratorio de la aplicación se identifican las bandas relevantes. De esta manera, es posible capturar un número reducido de bandas, lo que disminuye el tiempo de captura.

Si bien la bibliografía existente cita ventajas, para los instrumentos basados en el modo *snapshot*, como la falta de artefactos de escaneado y el aumento de la robustez debido a la falta de componentes móviles, estas cualidades son en realidad secundarias al principal beneficio de la adquisición de instantáneas. La ventaja principal del modo *snapshot* es un gran aumento en la eficiencia de recolección de luz disponible para sistemas de medición de alta dimensión que evitan el filtrado y el escaneado. Pocos fuera de la comunidad astronómica, son conscientes de esta importante cuestión [56].

En resumen, cada modo de imagen espectral tiene ventajas y desventajas cuando se utiliza en análisis biomédico. Por ejemplo, algunos sistemas *whiskbroom* y *pushbroom* pueden obtener alta resolución espectral y espacial y son de bajo costo, pero su montaje hardware es generalmente complejo. El modo *staring* puede ser montado de forma compacta y acoplado fácilmente con otros instrumentos ópticos, pero es más costoso que los otros y genera una mayor cantidad de datos. El modo *snapshot* puede capturar rápidamente el cubo de datos espectrales, pero su resolución espectral y espacial es limitada.

2.4 Sistemas mecánicos

Debido a las exigencias de calidad, cada vez mayores, de los productos generados por los sistemas de producción actuales, los elementos que los componen deben disponer de una mayor versatilidad, precisión y fiabilidad.

Muchas labores de manipulación se pueden automatizar de forma sencilla con módulos lineales accionados por motores. Tanto el posicionamiento como el perfil de movimiento de los módulos lineales se pueden controlar con exactitud para adaptarlo a las diferentes necesidades. La combinación de dos o tres módulos lineales en las direcciones Y, X y/o Z permite un movimiento libre en todos los planos donde actúen.

2.4.1 Componentes generales de un sistema de posicionamiento

Los sistemas robóticos cartesianos, constan de una serie de componentes generales que se repiten en todos los diseños que existen. La combinación de motores y controladores de posicionamiento con sistemas de ejes, ofrece diferentes modelos de gran precisión y rendimiento [57].

2.4.1.1 Módulos lineales

Los módulos lineales son sistemas mono-eje para movimientos en una única dirección. Existen tres tipos, como se puede observar en la Figura 2-28, en función del tipo de movimiento lineal que realizan.

- En el eje portal se mueve únicamente el carro. El cuerpo del eje se mantiene inmóvil en el área de trabajo.
- En el eje de extensión se mueve sólo el cuerpo del eje.
- En el eje telescópico, el carro y el cuerpo del eje se mueven conjuntamente por medio de un sistema de retracción.

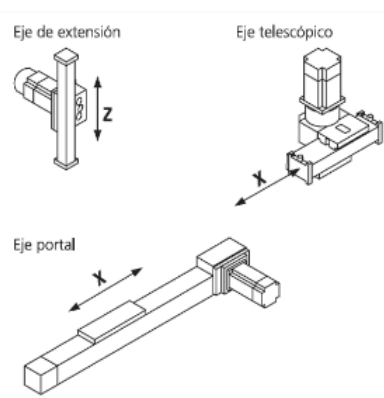


Figura 2-28: Módulos lineales.

Cada módulo lineal está formado por diferentes partes, según el uso y las necesidades específicas de cada sistema, siendo sus partes principales las mostradas en la Figura 2-29.

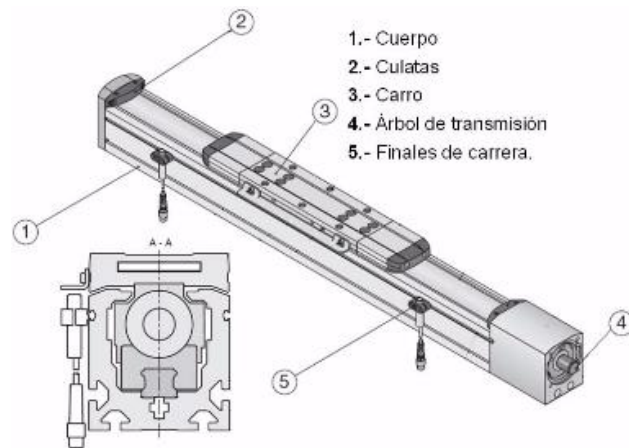


Figura 2-29: Partes principales de un módulo lineal.

El cuerpo de los módulos lineales está formado por una guía sin juego, que permite un movimiento silencioso y da robustez al sistema. Existen diferentes tipos de guías, siendo las más comunes las de rodillos (Figura 2-30(a)), especialmente diseñada para soportar grandes velocidades, y las de bolas recirculantes (Figura 2-30(b)), que ofrece un accionamiento más robusto y resistente a los momentos de inercia y fuerza que genera la carga sobre el carro.



Figura 2-30: Tipos de guía.
(a) Guía de rodillos (b) Guía de bolas.

Dentro de las opciones para realizar el movimiento del carro en los módulos lineales, las correas dentadas o los husillos son los más utilizados. Las correas dentadas, reflejadas en la Figura 2-31 y en la Figura 2-32, ofrecen una gran fuerza de avance a gran velocidad, dinámicas muy elevadas y carreras útiles mayores que el tipo husillo. Las correas dentadas están hechas, en su mayoría, de poliuretano, reforzadas con alambre de acero en su núcleo.

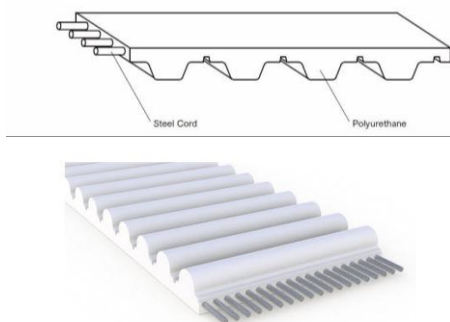


Figura 2-31: Correa dentada

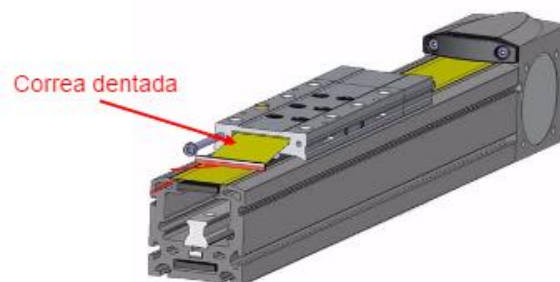


Figura 2-32: Módulo lineal de correa dentada

Por otra parte, un husillo como el que se muestra en Figura 2-33, es un tipo de tornillo largo y de gran diámetro, utilizado para accionar los elementos de apriete tales como prensas o mordazas, así como para producir el desplazamiento lineal de los diferentes carros. Puede ser metálico (el material más utilizado es acero templado), de madera o PVC. En ocasiones se le menciona como tornillo sin fin.

Existe un tipo de husillo de bolas donde el movimiento se realiza por rotación, no por deslizamiento. El rozamiento es menor, la fricción del conjunto es baja, y como el esfuerzo se reparte entre varias bolas, es capaz de aplicar o resistir altas cargas de empuje. Se pueden fabricar con unas tolerancias estrechas y por tanto son adecuados para su empleo donde se necesita una alta precisión.



Figura 2-33: Husillo.

Los módulos lineales basados en husillo, como el mostrado en la Figura 2-34, tienen una gran fuerza de avance, pero una velocidad más baja que la correa dentada. La precisión dependerá del paso del husillo.

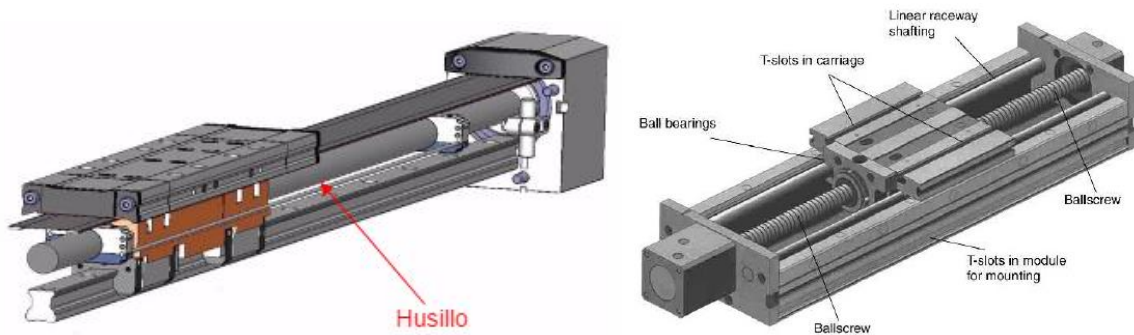


Figura 2-34: Módulo lineal de husillo.

2.4.1.2 Motores

Su función es la de transmitir el movimiento a la parte mecánica. Adicionalmente, se puede poner un reductor entre el motor y el árbol de transmisión del eje.

- **Motores DC (corriente directa) o CC (corriente continua)**, tienen dos cables, uno de alimentación o positivo y otro de tierra o negativo. Son motores de rotación continua. Al conectarlo, el motor comienza a girar hasta que es desconectado. La mayoría de los motores de corriente continua, funcionan a altas revoluciones por minuto. El control de la velocidad se realiza mediante la modulación del ancho de pulso. Algunas aplicaciones

especiales de estos son: los motores lineales, cuando ejercen tracción sobre un riel, o bien los motores de imanes permanentes. Los motores de corriente continua también se utilizan en la construcción de servomotores y motores paso a paso.

- Los **servomotores** son en general un conjunto de cuatro elementos: un motor de corriente continua, un conjunto de engranajes, un circuito de control y un sensor de posición que puede ser un potenciómetro. Tiene la capacidad de ubicarse en cualquier posición, dentro de su rango de operación, y mantenerse estable. Los servomotores están diseñados para tareas más específicas en las que la posición debe definirse con precisión, como el control del timón en un barco o el movimiento de un brazo robótico. Con anterioridad, los servos no giraban libremente como un motor de corriente estándar, sino que el ángulo de rotación se limitaba a 180 grados de ida y vuelta, sin embargo, hoy en día existen servomotores en los que puede ser controlada su posición y velocidad en los 360 grados. Los servomotores reciben una señal de control, que representa una posición de salida, y se aplica energía al motor DC hasta que el eje gire a la posición correcta, determinada por el sensor de posición. El servo mantendrá esa posición, incluso si existe una fuerza externa que empuje en sentido contrario.
- La característica principal de los **motores paso a paso** es el hecho de poder moverlos un paso a la vez por cada pulso que se le aplique. Este paso puede variar, siendo para los motores más comunes, desde 90° hasta pequeños movimientos de tan solo 0.9°, es decir, que se necesitarán 4 pasos en el primer caso (90°) y 400 para el segundo caso (0.9°), para completar un giro completo de 360°.

Estos motores poseen la habilidad de poder quedar fijos en una posición o bien totalmente libres. Si una o más de sus bobinas está energizada, el motor estará fijo en la posición correspondiente y por el contrario quedará completamente libre si no circula corriente por ninguna de sus bobinas.

Están constituidos normalmente por un rotor sobre el que van aplicados distintos imanes permanentes y por un cierto número de bobinas excitadoras bobinadas en su estator (Figura 2-35). Toda la conmutación (o excitación de las bobinas) deber ser externamente manejada por un controlador.



Figura 2-35: Motor paso a paso.

Existen diferentes tipos de motores paso a paso:

Reluctancia variable:

El motor de reluctancia variable está constituido por un rotor de láminas ferromagnéticas no imantadas, formando un cilindro alrededor del eje. Estas se encuentran ranuradas de forma longitudinal, formando dientes (polos del rotor). La ranuración del rotor conlleva una variación de la reluctancia en función de su posición angular. Al igual que el rotor, el estator está formado por láminas de material ferromagnético no imantado, con una serie de ranuras en forma longitudinal, que albergan los bobinados de las fases, y forman los polos del estator (Figura 2-36(a)). En todo momento, el rotor "buscará" alinearse de tal forma que minimice la reluctancia rotor-estator, como se muestra en la Figura 2-36(b), circunstancia que se da cuando el espacio entre polos del estator queda lo más ocupado posible por material del rotor, es decir, orientando los salientes o dientes hacia los polos energizados del estator. Este tipo de motor puede diseñarse para funcionar con pasos más pequeños que los pasos de un motor paso a paso de imán permanente. Por otra parte, su rotor es de baja inercia, con lo que se mejora su respuesta dinámica, aunque tiene la desventaja de tener menor par motor que un motor eléctrico de imán permanente de similar tamaño [58].

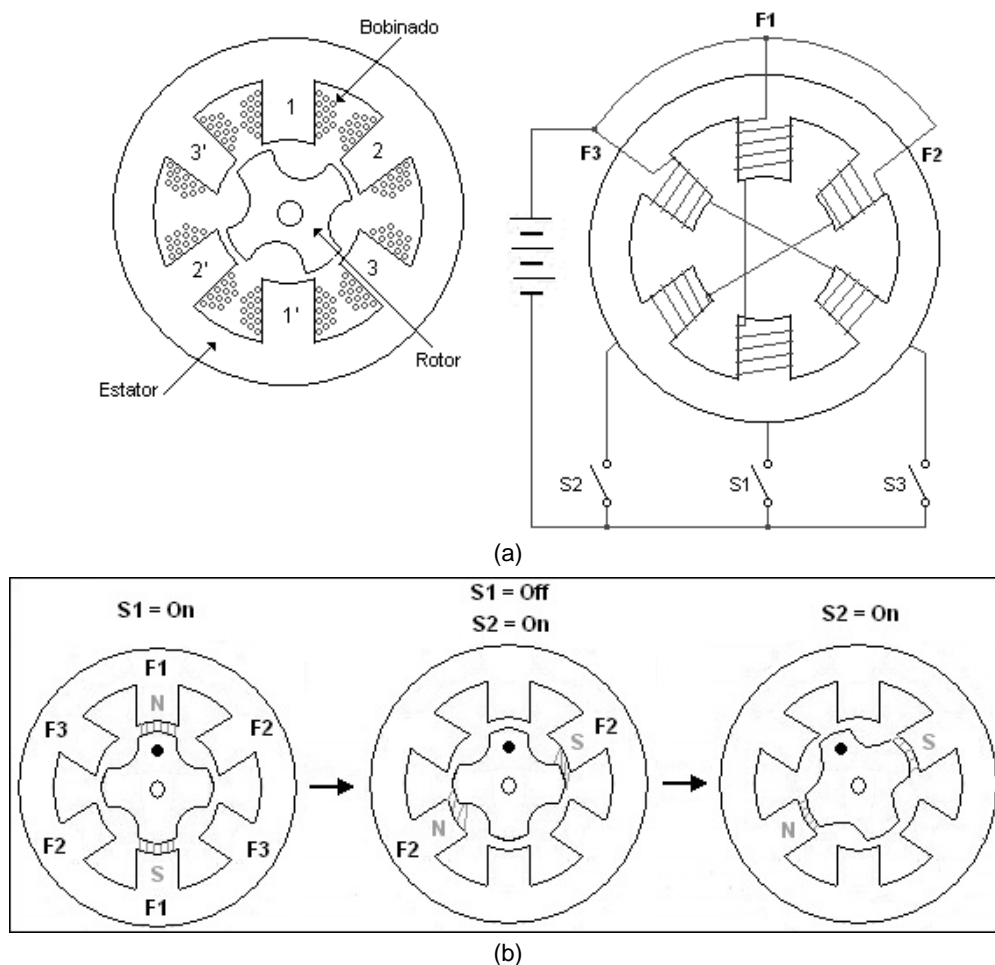


Figura 2-36: Motor paso a paso de reluctancia variable. (a) Vista de la sección transversal y conexionado del bobinado (b) Avance de un paso al cambiar de fase.

Su principal inconveniente radica en que en condiciones de reposo (sin excitación) el rotor queda en libertad de girar y, por lo tanto, su posicionamiento de régimen de carga dependerá de su inercia y no será posible predecir el punto exacto de reposo.

Imán permanente:

Existen dos tipos de motores paso a paso de imán permanente, como se muestra en la Figura 2-37.

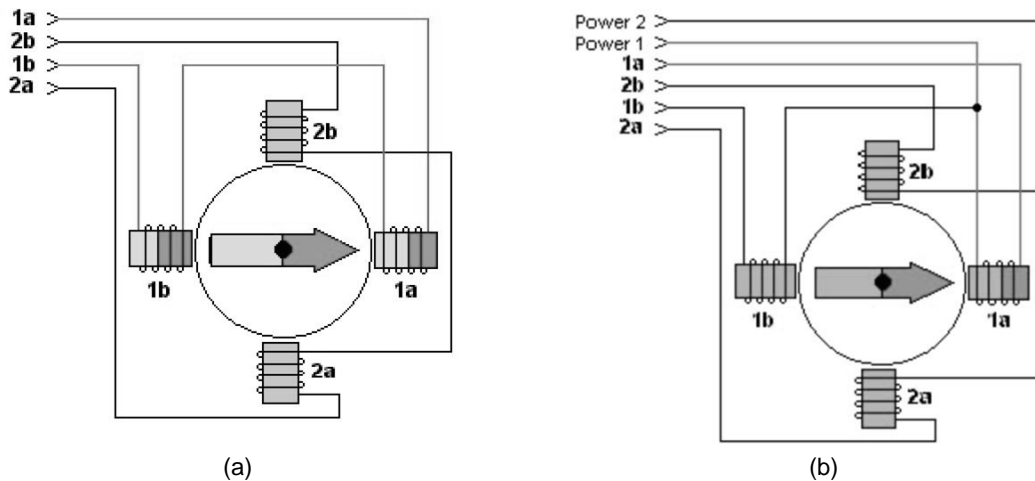


Figura 2-37: Motor paso a paso de imán permanente.
(a) bipolar (b) unipolar

- **Unipolar:** Los motores unipolares son relativamente fáciles de controlar, gracias a que poseen devanados duplicados. Tienen dos bobinas en cada eje del estator, que están unidas por extremos opuestos, de tal modo que al ser alimentada una u otra, generan cada una un campo magnético inverso al de la otra. Nunca se energizan juntas: por eso, lo correcto es decir que tienen una doble bobina, en lugar de decir (como se hace habitualmente) que es una bobina con punto medio.
- **Bipolar:** Los motores bipolares requieren circuitos de control y de potencia más complejos. Pero en la actualidad esto no es problema, ya que estos circuitos se suelen implementar en un integrado, que soluciona esta complejidad en un solo componente. Como no tienen el doble bobinado de los unipolares (todo el tiempo se está utilizando sólo una de las bobinas duplicadas, mientras que la otra queda desactivada y sin ninguna utilidad), los motores bipolares ofrecen una mejor relación entre torque y tamaño/peso.
 La configuración de los motores bipolares requiere que las bobinas reciban corriente en uno y otro sentido, y no solamente un encendido-apagado como en los unipolares. Esto hace necesario el uso de un Puente H (Figura 2-38) sobre cada uno de los bobinados.

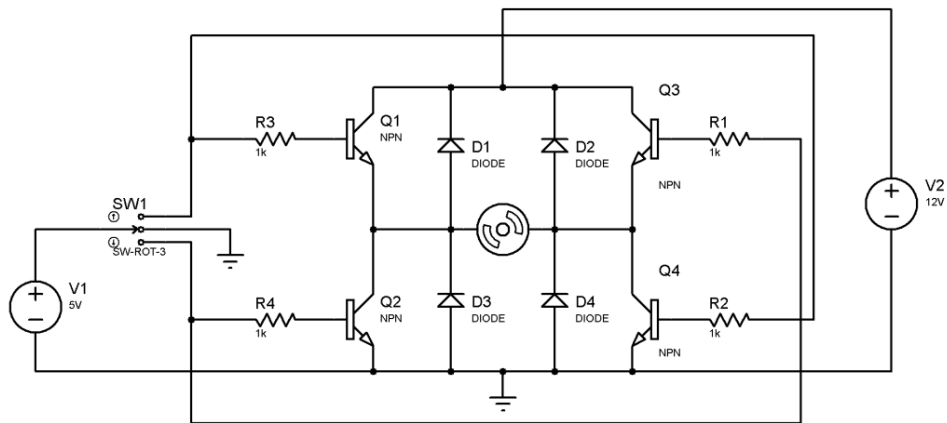


Figura 2-38: Configuración puente H.

Con el interruptor SW1 se decide si el motor gira a la izquierda, a la derecha o si se detiene. Cuando el interruptor está en la posición del centro, no hay voltaje aplicado a los transistores por lo que permanecen en estado de corte. Cuando se coloca el interruptor en la primera posición (la superior), el comportamiento de la corriente es como el mostrado en la Figura 2-39, donde la corriente fluye a través de Q1 y Q4. El motor gira en sentido horario. Si se cambia de posición el interruptor, el motor gira en sentido anti horario, como se muestra en la Figura 2-40.

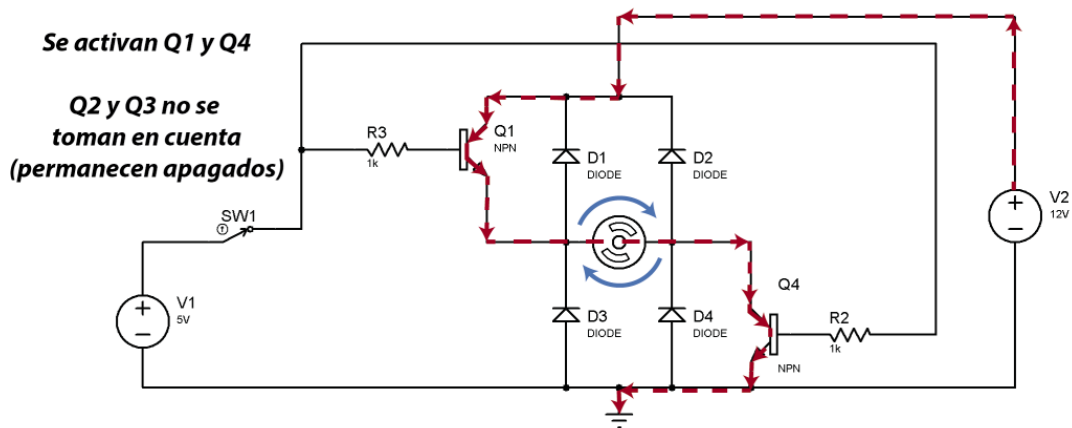


Figura 2-39: Configuración puente H con sentido de giro horario.

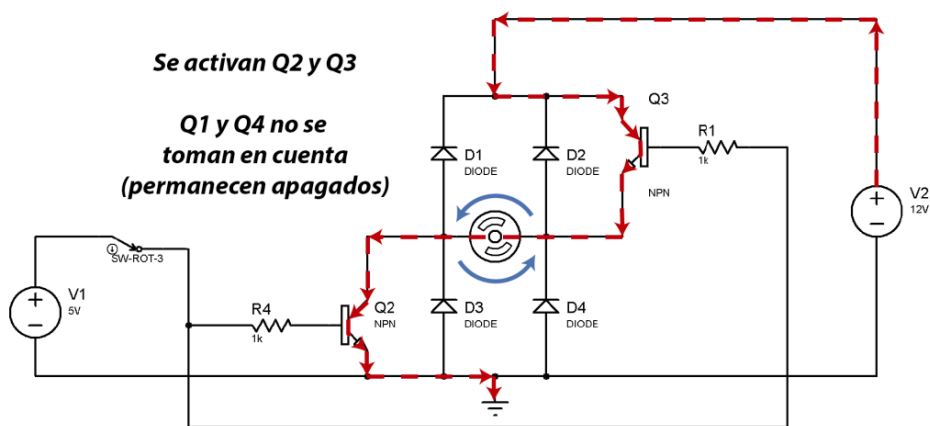


Figura 2-40: Configuración puente H con sentido de giro anti horario.

Los diodos en el diseño sirven para suprimir las posibles corrientes transitorias que se puedan generar por la acción del motor.

Este tipo de motor es más lento, su rotación es precisa, es de fácil configuración y control, además, mientras que los servos requieren un mecanismo de retroalimentación y circuitos de soporte para accionamiento de posicionamiento, un motor paso a paso tiene control de posición a través de su naturaleza de rotación por incrementos fraccionales.

Los motores paso a paso son ideales para la construcción de mecanismos en donde se requieren movimientos muy precisos. Adecuado para las impresoras 3D y dispositivos similares en los que la posición es fundamental.

2.4.1.3 *Interruptores de fin de carrera*

Existen muchos tipos de sensores de proximidad. Entre ellos están:

Los **sensores de proximidad magnéticos**, que reaccionan ante los campos magnéticos de imanes permanentes o electroimanes. Se suelen utilizar en cilindros para detectar la posición de fin de carrera a través del vástago del cilindro.

Los **sensores de proximidad inductivos**, diseñados para funcionar mediante la generación de un campo electromagnético y la detección de las pérdidas de corrientes parásitas generadas cuando los objetos metálicos que se van a detectar, ingresan en dicho campo electromagnético.

Los **sensores de proximidad capacitivos**, diseñados para funcionar mediante la generación de un campo electrostático y detectar cambios en este campo ocasionados por la aproximación de un objeto a la cara de detección. Detectan objetos metálicos y no metálicos, así como líquidos y sólidos. Por el contrario, la distancia de detección es corta y varía en función del material detectado. Además, el alcance de estos detectores varía notablemente en función de las características del ambiente, de la humedad y temperatura del aire y de la cantidad de polvo en suspensión.

Los **sensores de contacto**, son dispositivos eléctricos, neumáticos o mecánicos, los cuales pueden contener internamente interruptores abiertos (NA), cerrados (NC) o conmutadores, según la operación que cumplan al ser accionados. Generalmente, como se observa en la Figura 2-41, estos sensores están compuestos por dos partes: un cuerpo donde se encuentran los contactos y una cabeza que detecta el movimiento.

Los interruptores de fin de carrera se montan junto a los rieles de desplazamiento, como el mostrado en la Figura 2-42, exactamente al mismo nivel. Cuando el carro alcanza el interruptor de fin de carrera, éste envía una señal que hace que el carro se detenga.

Los interruptores de final de carrera cumplen dos funciones: delimitar el área de trabajo del módulo lineal y como seguridad (ejemplo: si en el programa se coloca una posición que sobrepasa el área de trabajo, cuando el carro llegue al final de carrera y este de señal el movimiento parará porque ha llegado al final de carrera). Hay una tercera función en la que se pueden utilizar, que es la señal para realizar el viaje de referencia (homing).

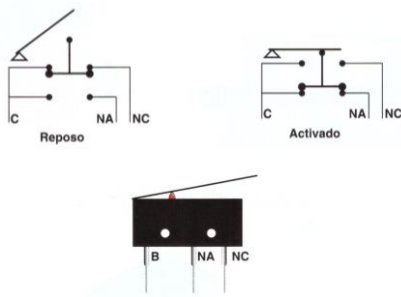


Figura 2-41: Final de carrera.

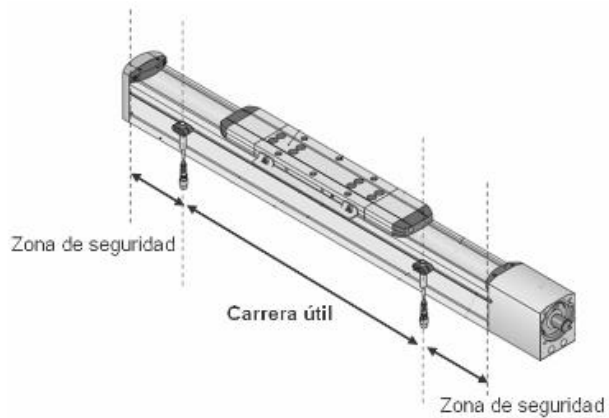


Figura 2-42: Módulo lineal con finales de carrera.

2.5 Resumen

En éste capítulo se ha presentado el estado del arte referente a las imágenes hiperspectrales, definiendo los conceptos básicos de esta tecnología y revisando diversas aplicaciones que emplean como base este tipo de imágenes. Debido a su relación con la temática de este PFC, se ha prestado especial mayor atención a aquellas aplicaciones que usan las imágenes hiperspectrales como asistente al diagnóstico en biomedicina, por la temática de este PFC. Además, se han repasado las principales características de los diferentes tipos de cámaras hiperspectrales.

Por otra parte, se ha visto como el conocimiento actual de la tecnología de escaneado de preparaciones, así como la integración entre los diferentes componentes de un sistema de patología digital, es aún escaso entre los patólogos y los informáticos de las instituciones sanitarias. Además, el análisis automatizado de imagen se enfrenta con la limitación técnica impuesta por la fijación de los tejidos, las variaciones en el grosor de los cortes o las variaciones impuestas por los métodos de tinción.

Por último se ha hecho un repaso a los principales componentes que pueden formar un sistema mecánico de posicionamiento. Esta información servirá de base para el planteamiento del diseño del sistema mecánico que se necesita desarrollar para la construcción de un sistema de adquisición hiperspectral microscópico.

3 Descripción de los sistemas de adquisición hiperespectral disponibles

En este capítulo se muestran las especificaciones de cada uno de los sistemas de adquisición disponibles, así como su funcionalidad conjunta.

3.1 Cámara VNIR: Cubert UHD-185

3.1.1 Descripción



Figura 3-1: Cubert UHD-185.

La UHD-185 de la Figura 3-1 es una cámara hiperespectral del tipo snapshot, cuyas especificaciones quedan recogidas en la Tabla 3-1. Trabaja en el rango VNIR, con una longitud de onda entre 450 y 950 nanómetros, una resolución espectral de 8 nanómetros y una resolución espacial de 1000x1000 píxeles. La cámara captura una imagen monocromática convencional con una resolución de 1000x1000 y un cubo hiperespectral de 50x50 píxeles con 125 bandas espectrales. Posteriormente, ambas imágenes se fusionan utilizando un algoritmo de fusión de imágenes hiperespectrales [59] que genera como resultado un cubo hiperespectral de 1000x1000 píxeles cuadrados. Cabe destacar que en esos 1000x1000 píxeles, la información espectral se agrupa cada 20x20 píxeles, es decir que todos los píxeles de dicha área de 20x20 tendrán la misma información espectral.

Tabla 3-1: Especificaciones técnicas - Cubert UHD-185.

PROPIEDADES	
PROPIEDADES ESPECTRALES	
Rango Espectral	450-950 nm
Intervalo de muestreo	4 nm
Resolución Espectral	8 nm @532 nm
Canales	125

PROPIEDADES DE LA CÁMARA	
Detector	Si CCD
Digitalización	12 bit
Tiempo de medida	menor a 100 μ s
Interfaz	2x Gigabit Ethernet
Tasa Cubo-Hiperespectral	hasta 5 cubos/s
Resolución X Cubo	1 megapixel
Rendimiento espectral	2500 espectros/cubo
Software de procesamiento	incluido
Kit de desarrollo de software SDK	incluido
PROPIEDADES ÓPTICAS	
Objetivo	Seleccionable
Montaje objetivo	Tipo C-mount objective
Resolución de tierra FOV	Seleccionable mm-m
PROPIEDADES FÍSICAS	
Condiciones ambientales	seco/no condensado
Temperatura de trabajo	0 - 40 °C
Peso	470 g
Fuente de alimentación	DC 12V, 15 W

La UHD-185 incorpora la cámara espacial MXGC20 (Figura 3-2) y la cámara espectral TXG14NIR (Figura 3-3). La información espacial y espectral se transmite a través de dos canales de comunicación separados, compuestos por dos interfaces gigabit Ethernet, por lo que se requieren dos tarjetas de red para establecer una comunicación entre la cámara y el ordenador.

3.1.1.1 *MXGC20*

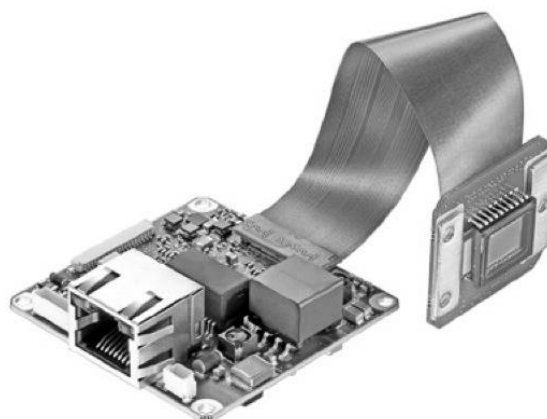


Figura 3-2: Cámara Baumer MXGC20.

Todas las cámaras Baumer Gigabit Ethernet de la familia MXG presentan las siguientes características:

- Interfaz compatible parametrizable (disparador y flash).
- Transmisión confiable hasta 100 Mbit/s de acuerdo al estándar IEEE802.3.
- Longitud de cable de hasta 100 m.

- PoE (Alimentación a través de cable Ethernet).
- Controlador Baumer para grandes volúmenes de datos y baja carga de CPU.
- Operación mutli-cámara de alta velocidad.
- Compatible con Gen<I>Cam™ y GigE Vision®.
- Peso ligero.
- Fácil montaje.
- Bajo consumo de energía y mínima generación de calor.

Las especificaciones técnicas de la cámara, pueden verse en el Anexo.I.

3.1.1.2 TXG14NIR



Figura 3-3: Cámara Baumer TXG14.

Todas las cámaras Baumer Gigabit Ethernet de la familia TXG presentan las siguientes características.

- Sensores CCD de adquisición progresiva de alta calidad con alta sensibilidad.
- Rango dinámico de salida de 8, 10 y 12 bits.
- Alta calidad con mínimo ruido.
- Tiempos de exposición de 4 μ s a 60.000 ms.
- Transmisión confiable hasta 1000 Mbit/s de acuerdo al estándar IEEE802.3
- Longitud de cable de hasta 100 m.
- Controlador Baumer para grandes volúmenes de datos y baja carga de CPU.
- Compatible con Gen<I>Cam™ y GigE Vision®.
- Diseño robusto.
- Dimensiones estándar para todos los modelos.
- Bajo consumo de energía y mínima generación de calor.
- Larga durabilidad.

Las especificaciones técnicas de la cámara, pueden verse en el Anexo.II, siendo su sensibilidad espectral como se muestra en la Figura 3-4. Esta curva representa las pérdidas que introduce el detector en función de la longitud de onda de la señal lumínica incidente. Por ejemplo, para dos señales lumínicas λ_1 y λ_2 , con longitudes de onda iguales a 600 nm y 800 nm respectivamente, y con la misma potencia de onda incidente, el sensor medirá prácticamente la misma potencia que a la entrada para λ_1 , mientras que para λ_2 solo medirá un 50% aproximadamente.

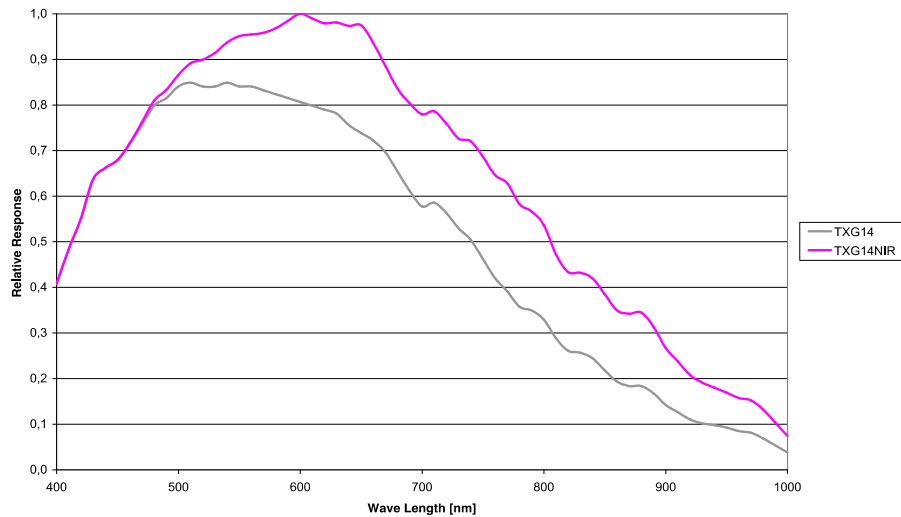


Figura 3-4: Sensibilidad espectral TXG14NIR.

3.1.2 Modo de uso

Como se ha mencionado anteriormente, la interfaz con la cámara consiste en dos conectores Ethernet. En la parte inferior de la cámara, como se observa en la Figura 3-5, se encuentra el conector Ethernet correspondiente con la cámara espectral, mientras que en la parte superior está el de la cámara espacial. Las IP de cada una de las cámaras son, 192.168.100.100 y 192.168.200.100 para la cámara espectral y espacial respectivamente. Las IP de los puertos del PC deben estar dentro de la misma red que la cámara, por lo que estas deberán ser 192.168.100.X y 192.168.200.Y, siendo X e Y cualquier número diferente a 100. El PC que se utilice debe tener dos tarjetas de red, o un adaptador Ethernet-USB en su defecto para poder conectarse con la cámara.

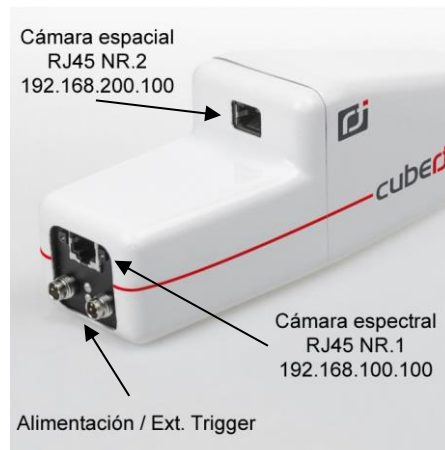


Figura 3-5: Conexiones cámara Cubert UHD-185.

En cuanto al control de la cámara, el fabricante no permite una comunicación directa con la cámara, como quedó demostrado en [60]. Es decir, no es posible comunicarse con las cámaras independientemente usando sus SDKs originales. Para poder realizar dicha comunicación, el fabricante facilita una aplicación que actúa como servidor y que supone a su vez un enlace entre la cámara y la interfaz de usuario, como se observa en el diagrama de la Figura 3-6. Esta aplicación, llamada C-Link y que trabaja en modo consola, recibe las peticiones del cliente y se las entrega a la cámara en formato XML. Los datos devueltos

por la cámara, tras el procesamiento de las correspondientes peticiones, son entregados al cliente a través del mismo C-Link. La comunicación con el servidor debe realizarse a través del protocolo TCP-IP en Localhost (127.0.0.1).

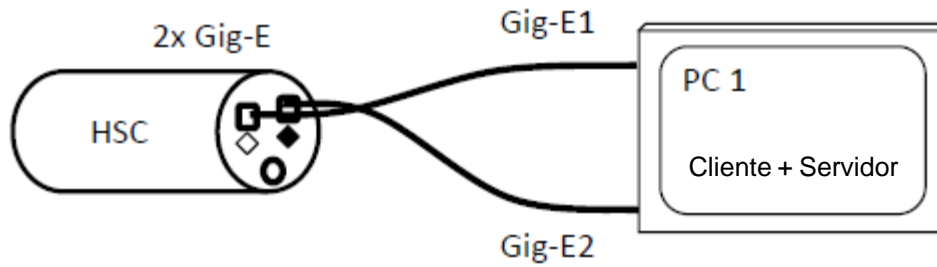


Figura 3-6: Esquemático de conexión cámara - PC.

La cámara puede ser empleada con dos tipos de lentes (Figura 3-7). Las lentes de alta resolución disponibles para la cámara, están optimizadas para el uso de sensores de 4 y 8 megapíxeles con micro-lentes en la superficie del sensor. El diseño óptico especial evita el sombreado no deseado en el sensor. Estas lentes se pueden utilizar en el rango visible de 400 – 700 nm o en el rango cercano al infrarrojo de 700 – 1000 nm. Las especificaciones de cada una de ellas se pueden observar en la Tabla 3-2. Cabe destacar la necesidad de calibrar la cámara cada vez que se cambia la lente. Para ello, el fabricante aporta un software destinado a tal efecto. Los pasos a seguir se explican en más detalle en el capítulo 6.

Tabla 3-2: Especificaciones técnicas de las lentes Schneider.

Especificaciones técnicas	Xenoplan 2.8/50	Cinegon 1.9/10
Apertura	2.8	1.9
Distancia focal	50.2 mm	10.4 mm
Circulo de imagen	24 mm	16 mm
Rango espectral	400 - 1000 nm	400 - 1000 nm
Rosca	Tipo - C	Tipo - C
Peso	135 g	136 g



(a)



(b)

Figura 3-7: Lentes Schneider.
(a) Xenoplan 2.8/50-0902 (b) Cinegon 1.9/10-0901

3.2 Microscopio

Para poder reproducir las técnicas de observación empleadas por los patólogos, será necesario sustituir la óptica de entrada de la cámara hiperespectral por una lente con resolución espacial microscópica.

En este caso, la División de Tecnología Microelectrónica (TME) del Instituto Universitario de Microelectrónica Aplicada (IUMA) ha cedido para la realización de este PFC el microscopio Olympus BH2-MJL (Figura 3-8).



Figura 3-8: Olympus BH2-MJL.

3.2.1 Descripción

Este microscopio dispone de adaptadores para permitir el acoplo de cámaras, cuya rosca cumpla con el estándar C, al trinocular del microscopio, dejando así la posibilidad de mantener operativo el binocular.

Las magnificaciones que es capaz de ofrecer este instrumento, están determinadas por sus lentes. Las características ópticas de las lentes Neo S Plan de Olympus se pueden observar en la Tabla 3-3.

Tabla 3-3: Características de las lentes Neo S Plan de Olympus.

Magnificación	5x	10x	20x	50x	100x
Distancia de trabajo (mm)	10,00	4,00	3,00	0,5	0,3
Longitud focal (mm)	35,9	18,0	9,0	3,6	1,8
Resolución (μm)	2,58/2,58	1,12/1,34	0,73/0,84	0,42/0,48	0,37/0,37

3.2.2 Modo de uso

Tras encender el microscopio, dependiendo del método de observación que se vaya a utilizar, se debe seleccionar la fuente lumínica correspondiente. En la Figura 3-9 se puede observar el método de observación por reflexión (EPI) o por absorción (DIA).



Figura 3-9: Método de observación.

El tubo de observación trinocular aumenta la eficiencia del trabajo fotográfico ya que permite el enfoque de la cámara a través del binocular. El selector de trayectoria de luz de tres pasos permite la fotomicrografía y la observación al mismo tiempo.

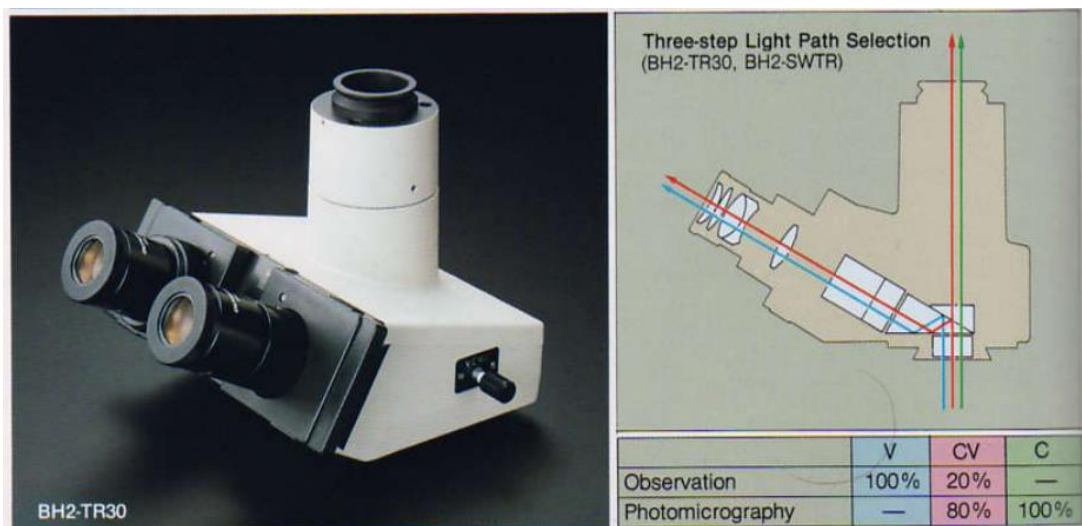


Figura 3-10: Tubo de observación trinocular.

La selección de la magnificación se realiza de forma electrónica, como se puede observar en la Figura 3-11(a), mientras que el ajuste de la potencia lumínica se controla con el potenciómetro de la Figura 3-11(b).

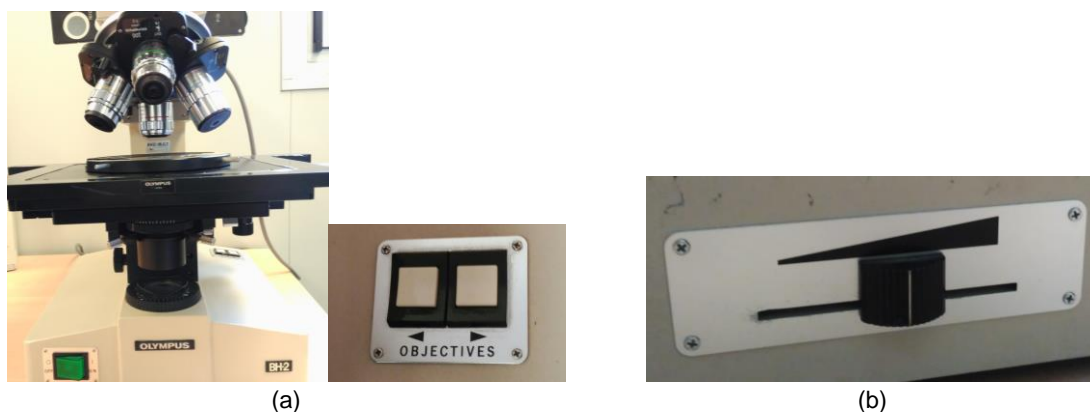


Figura 3-11: Controles del microscopio.
(a) Selector de magnificación (b) Potenciómetro iluminación.

3.3. Iluminación

Para observar o capturar imágenes a través del microscopio es necesario enfocar la muestra para su visualización. Para ello se debe actuar sobre los mandos circulares de la Figura 3-12. Para posicionar la muestra se hará uso de los mandos de la Figura 3-12(b). Enfocar consiste en encontrar la distancia a la cual la muestra puede ser observada con nitidez. Para ello deben usarse los mandos de la Figura 3-12(a), el exterior para el ajuste grueso y el interior para el ajuste fino.



Figura 3-12: Mandos de enfoque microscopio.
(a) eje Z (b) ejes X e Y

3.3 Iluminación

La parte lumínica juega un papel muy importante en los sistemas de medida HSI, ya que hay que decidir qué fuente se va emplear como sistema de excitación para el sistema de medida hiperespectral. La elección de dicha fuente dependerá de su rango y distribución espectral como se puede observar en la Figura 3-13.

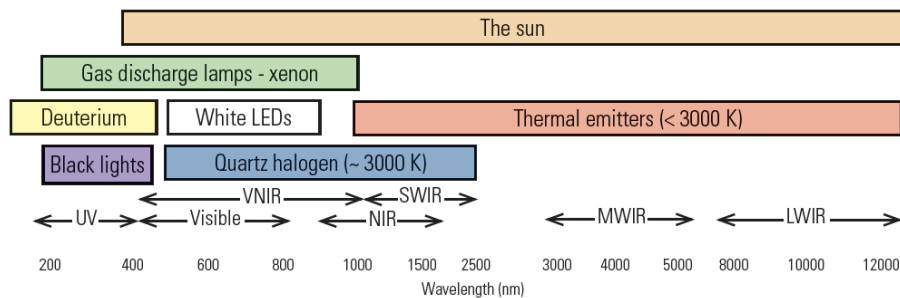


Figura 3-13: Fuentes lumínicas según su emisión espectral.

Cada fuente es capaz de radiar en un rango espectral determinado, por lo que se debe seleccionar aquella con la que se puedan obtener medidas en las longitudes de onda designadas.

Otro aspecto a tener en cuenta es la potencia y la uniformidad espacial de su haz.

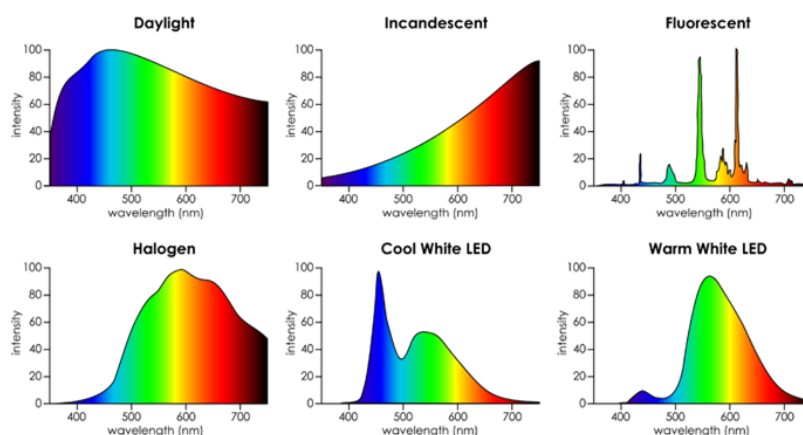


Figura 3-14: Espectros de diferentes fuentes lumínicas.

Como puede verse en la Figura 3-14, las fuentes de luz halógenas poseen una mejor relación potencia - uniformidad de su haz que el resto, y es por ello que son las más utilizadas para los rangos VNIR y SWIR.

El microscopio seleccionado posee dos sistemas de iluminación, ambos basados en una lámpara halógena de 12V 50W (Figura 3-15) cuya luminancia puede ser ajustada, permitiendo la observación tanto por absorción como por reflexión de la luz.



Figura 3-15: Lámpara halógena del microscopio.

3.4 Sistema de adquisición microscópico

El acople de la cámara Cubert UHD-185 se realiza a través de un adaptador (MTV-3) en el trinocular del microscopio, como se puede observar en la Figura 3-16.

Para calcular el campo de visión teórico (*FOV, Field Of View*) que tendrá la cámara hiperespectral, será necesario tener en cuenta todos los elementos ópticos que hay entre la cámara y la muestra. En este caso, además de la magnificación que se esté usando en cada momento, habrá que tener en cuenta dos accesorios: el NFK 3.3 LD y el MTV-3, mostrados en la Figura 3-17. El primero realiza una compensación de la distancia (3.3x) para cualquier adaptador de cámaras, mientras que el segundo es un adaptador para cámaras siguiendo el estándar de rosca del tipo C.



Figura 3-16: Cámara hiperespectral + microscopio.



Figura 3-17: Adaptadores, MTV-3 y NFK 3.3 LD.

Algunos investigadores quieren que el campo de visión capturado coincida con el campo visual visto en los oculares mientras que a otros no les importa una imagen de captura menor. Hay configuraciones especiales de objetivo/ocular en los microscopios trinoculares para capturar una configuración 1:1, pero generalmente el campo capturado es menor que lo que se ve visualmente a través de los oculares.

La imagen que se ve a través del ocular es circular, pero la cámara sólo puede capturar una imagen cuadrada. Idealmente, las esquinas del cuadrado (límites de la imagen de la cámara) sólo tocarán el borde del círculo. Para ello, el tamaño del sensor debe coincidir con la magnificación del adaptador lo más posible. De esta manera se maximiza el área a capturar. Por ejemplo, con un sensor de imagen de $\frac{1}{2}$ " , se debe utilizar un adaptador de 0,5x, y con un sensor de $\frac{1}{4}$ " , se debe utilizar un adaptador de 0,25x.

Debido a que el campo de visión del ocular es un círculo, una cámara con una relación de aspecto 4:3 capturaré más de la imagen que una cámara con una relación de aspecto de 16:9. Si el área de captura de la cámara se extiende fuera del círculo de visión del ocular, las esquinas se ennegrecerán. Estos casos pueden observarse en la Figura 3-18.

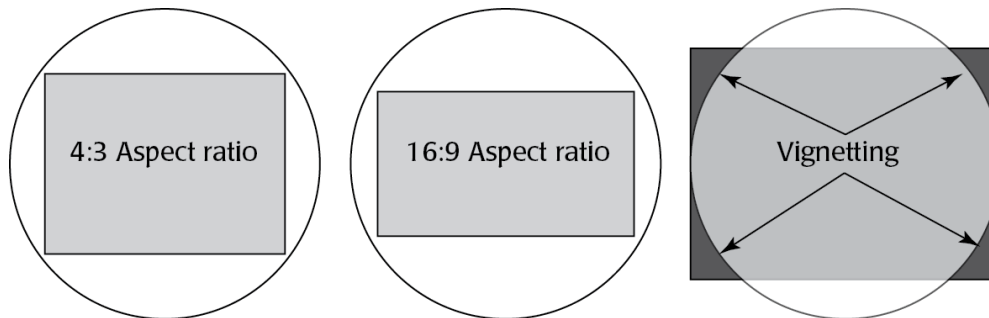


Figura 3-18: Campo de visión del ocular de un microscopio frente a la relación de aspecto de una cámara.

Teniendo en cuenta que el adaptador MTV-3 introduce una reducción de 0.3x, se obtendrá una magnificación total, que dependerá de la magnificación de lente óptica del microscopio que se use en cada momento (M_{lente}), de:

$$M_T = M_{NFK} * M_{MTV} * M_{lente} \quad \rightarrow \quad M_T = 3.3 * 0.3 * M_{lente} \quad (\text{Eq. 3-1})$$

$$M_T = 0.99 * M_{lente} \quad (\text{Eq. 3-2})$$

El campo de visión horizontal (Figura 3-19) se puede estimar como:

$$FOV = \frac{\text{Dimensión horizontal del sensor}}{M_T} \tag{Eq. 3-3}$$

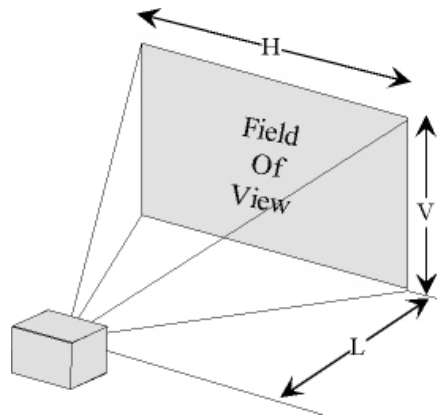


Figura 3-19: Field Of View, FOV.

La cámara posee un sensor de 2/3" (11 mm de diagonal), equivalente a un área de escaneado es de 8.8 mm x 6.6 mm, con una relación de aspecto de 4:3.

$$FOV = \frac{8.8 \text{ mm}}{0.99 * M_{lente}} \tag{Eq. 3-4}$$

De esta manera se puede completar la Tabla 3-4 con los campos de visión horizontal y vertical teórico para cada magnificación.

Tabla 3-4: FOV teórico para cada magnificación.

Magnificación	FOV (mm)	
	Horizontal	Vertical
5x	1.778	1.333
10x	0.889	0.666
20x	0.444	0.333
50x	0.178	0.133
100x	0.089	0.067

Las medidas se comprobarán una vez montado el sistema final, haciendo uso de una regla micrométrica y verificando empíricamente con el mecanismo de movimiento 2D.

3.5 Resumen

En este capítulo se han presentado los dispositivos de adquisición disponibles en este PFC para la captura de imágenes hiperespectrales. Se han estudiado sus especificaciones y limitaciones con el fin de aprovechar al máximo sus posibilidades. La cámara que se empleará en este PFC es la Cubert UHD-185, una cámara snapshot que trabaja en el rango VNIR (desde 450 nm hasta 950 nm) con una resolución espacial de 50x50 píxeles y una resolución espectral de 4 nm.

Finalmente, para la captura de imágenes hiperespectrales a escala microscópica, se ha adaptado la cámara hiperespectral al microscopio Olympus BH2-MJL. De este microscopio se ha estudiado su modo de uso, así como las limitaciones de FOV (*Field Of View*) que impone cuando se le conecta una cámara. Además este microscopio permite la captura de imágenes con distintos aumentos (5x, 10x, 20x, etc.) e incorpora una luz halógena, que emite radiación electromagnética en todo el rango espectral de trabajo de la cámara que se va a emplear

4 Diseño y desarrollo del sistema mecánico para asistencia a la adquisición de imágenes hiperespectrales

En este capítulo se explica el diseño de la estructura del sistema mecánico y el de las piezas que lo forman, así como su fabricación y ensamblado, queda reflejado en este capítulo.

4.1 Definición de las especificaciones del sistema mecánico

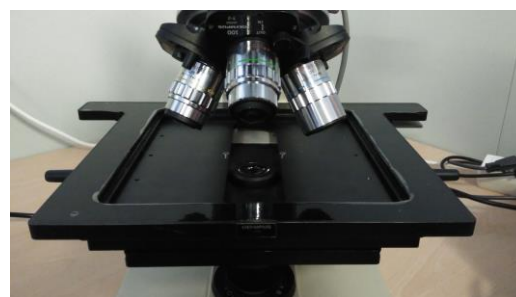
El microscopio es un dispositivo que permite, de manera manual, un movimiento espacial controlado de la muestra en observación (Figura 4-1(a)). Este movimiento tiene su interés, para el contexto de este PFC, en dos circunstancias específicas. Por una parte, la observación con gran detalle de zonas parciales en un área concreta de la muestra a estudiar, y por otro lado, la observación de distintas áreas de interés en la muestra.

El sistema a desarrollar, pretende sustituir este movimiento por uno automático y controlado a partir de unas especificaciones introducidas por el usuario. Se parte de la necesidad de un sistema que sea capaz de moverse en los ejes X e Y de coordenadas, de manera que se puedan realizar distintas exploraciones sobre la superficie de la muestra. Teniendo en cuenta los distintos objetivos ópticos que presenta el microscopio, este movimiento debe ser controlado por un factor determinado por el FOV. Considerando el objetivo de mayor magnificación, el sistema debe presentar una resolución micrométrica. Además, el sistema debe poder acoplarse y desacoplarse con facilidad al microscopio y ser adaptable, en la medida de la posible, a otros microscopios.

Como se puede observar en la Figura 4-1(b), la base es la unión de dos piezas y tiene una profundidad de 1 cm, lo que es una parte restrictiva del diseño. La distancia desde el fondo de ésta, hasta el objetivo más restrictivo (x100 por ser el más largo) es de 2,8 cm. De esta manera, se tendrá que diseñar un sistema que entre dentro de esas medidas sin obstaculizar los objetivos del microscopio.



(a)



(b)

Figura 4-1: Materiales base para la realización del sistema mecánico.
(a) Muestras histológicas (b) Base del microscopio

4.2 Diseño del sistema mecánico

El control numérico computarizado (CNC) tuvo su origen a principio de los años 50 en el Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT), en donde se automatizó por primera vez una gran fresadora. El término "Control Numérico" se debe a que las órdenes dadas a la máquina son indicadas mediante códigos numéricos.

En una máquina CNC, a diferencia de una máquina convencional o manual, una computadora controla la posición y velocidad de los motores que accionan los ejes de la máquina. Gracias a esto puede hacer movimientos que no se pueden lograr manualmente como círculos, líneas diagonales y figuras complejas tridimensionales.

Un ordenador controla el movimiento de la mesa de trabajo, el carro y el husillo. Una vez programada la máquina esta ejecuta todas las operaciones por sí sola, sin necesidad de que el operador esté manejándola.

4.2.1 Tipos de sistemas mecánicos

Partiendo de las especificaciones solicitadas, existen diferentes tipos de sistemas mecánicos que cumplen con dichas necesidades. A continuación, se detallan brevemente las principales características de cada uno de ellos.

4.2.1.1 *Sistemas de correas con poleas*

A continuación, se muestran diferentes sistemas mecánicos de movimiento en dos dimensiones realizados con correas dentadas y poleas.

4.2.1.1.1 *Sistema cartesiano:*

Este sistema usa una correa para cada eje unida a un motor, como se puede ver en la Figura 4-2. El motor del eje X se encuentra unido a la correa del motor del eje Y. Esto reduce la velocidad y aceleración del sistema, ya que el peso del motor afecta al movimiento. Además, solo existe un punto de tracción, tanto para el carro como para el portaobjetos, por lo que la estructura puede desequilibrarse.

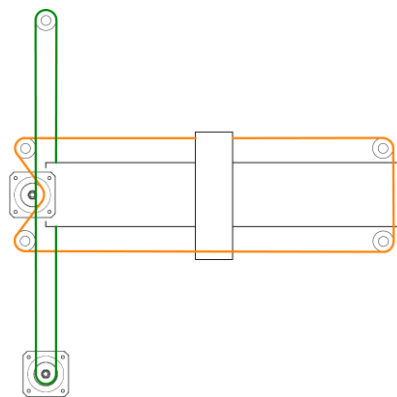


Figura 4-2: Sistema cartesiano.

4.2.1.1.2. Sistema cartesiano modificado:

Añadiendo un punto de tracción en el lado opuesto, se logra evitar que el carro pueda desequilibrarse con el movimiento en el eje Y, pero sigue existiendo el problema con el portaobjetos en el eje X, como se refleja en la Figura 4-3.

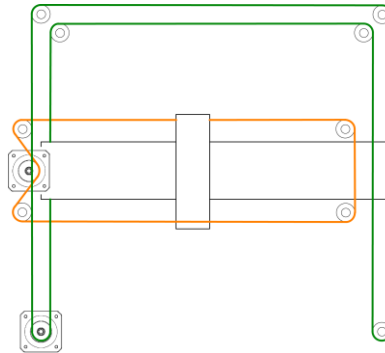


Figura 4-3: Diseño cartesiano modificado.

4.2.1.1.3. H-BOT:

Este tipo de sistema consta de dos motores unidos a una sola correa de longitud fija. Los movimientos X e Y son básicamente una suma de vectores de 45 grados. La dirección y la velocidad de rotación de los motores establece la dirección a lo largo del eje X e Y. Este sistema mejora la velocidad del carro y del portaobjetos gracias a que los motores están en la parte fija de la estructura y por ello no hay que moverlos. Por lo general, los motores son las piezas más pesadas y por tanto las que tienen mayor inercia. Si la inercia se reduce, se puede conseguir una mayor aceleración y alcanzar la velocidad máxima en menos tiempo y espacio. Como se aprecia en la Figura 4-4, las flechas de vector de fuerza muestran un defecto importante con el sistema de H-BOT. Cuando los motores giran en el mismo sentido, la estructura tiende a desestabilizarse debido a que las fuerzas no están compensadas. Para solventarlo se debe usar una base lo suficientemente robusta para que dichas fuerzas no afecten al sistema.

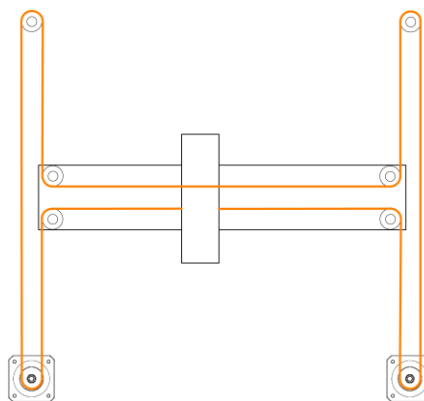


Figura 4-4: Diseño H-BOT.

4.2.1.1.4. Core XY:

Los movimientos de este sistema, al igual que H-BOT, son básicamente una suma de vectores de 45 grados que permite mover una plataforma en los ejes X e Y. Se diferencia

con el H-BOT en que utiliza dos correas en vez de una. Gracias a ello, y como se puede ver en la Figura 4-5, se consigue compensar las fuerzas que se generan con el movimiento.

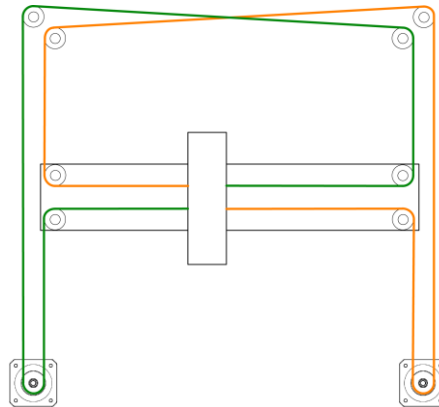


Figura 4-5: Diseño core XY.

4.2.1.1.5. Cálculo de la resolución del movimiento con poleas

Para realizar el cálculo se ha optado por un diseño core XY, con unas poleas que siguen el estándar GT2 (paso de 2 mm). Al ser todas las poleas iguales, la rotación del motor se transmite directamente a la correa abierta y al movimiento del carro. Por tanto, el desplazamiento lineal dependerá del número de dientes de la polea y el paso de la correa:

$$\text{Desplazamiento lineal por vuelta} = n^{\circ} \text{ de dientes por paso} \quad (\text{Eq. 4-1})$$

$$\text{Desplazamiento lineal por vuelta} = 20 \times 2 \text{ mm} = 40 \text{ mm}$$

Como los drivers del motor son capaces de dividir los pasos en función de su configuración, se obtiene el desplazamiento por micropaso (Resolución):

$$\text{Resolución} = \frac{\text{Desplazamiento lineal por vuelta}}{360^{\circ}} \times \frac{\text{Ángulo por paso}}{\text{microstepping}} \quad (\text{Eq. 4-2})$$

Al emplear un driver con un micropaso máximo de 1/32:

$$\text{Desplazamiento por } \mu\text{Paso (Resolución)} = \frac{40 \text{ mm}}{360^{\circ}} \times \frac{1.8^{\circ}}{32} = 6.25 \mu\text{m}$$

El número de pasos por mm para los ejes X e Y es:

$$n^{\circ} \text{ de pasos por mm} = \frac{1}{\text{Desplazamiento por } \mu\text{Paso}} \quad (\text{Eq. 4-3})$$

$$n^{\circ} \text{ de pasos por mm} = \frac{1}{6.25 \mu\text{m}} = 160 \mu\text{Pasos/mm para un } \mu\text{Paso máximo de } 1/32$$

4.2.1.2 Sistema con varilla roscada

Los sistemas de varilla roscada utilizan un sistema cartesiano clásico. Se basan en una guía acoplada sobre otra guía, como se puede observar en la Figura 4-6.

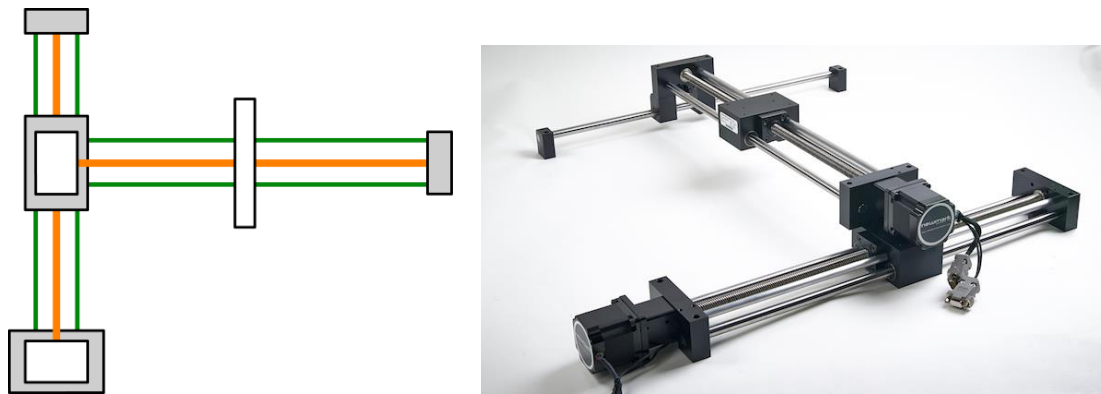


Figura 4-6: Diseño varilla roscada XY.

4.2.1.2.1. Cálculo de la resolución del movimiento con varilla roscada

El movimiento en el eje Z se transmite directamente desde el motor al husillo, o varilla roscada, a través de un acoplador metálico flexible. En este caso, el movimiento dependerá del paso de la rosca de la varilla roscada. Para los cálculos se ha usado las especificaciones de una varilla roscada de métrica M5, cuyo desplazamiento lineal por cada vuelta del motor es de 0.8 mm.

$$\text{Resolución} = \frac{\text{Desplazamiento lineal por vuelta}}{360^\circ} \times \frac{\text{Ángulo por paso}}{\text{microstepping}} \quad (\text{Eq. 4-4})$$

Al emplear un driver con un micropaso máximo de 1/32:

$$\text{Desplazamiento por } \mu\text{Paso (Resolución)} = \frac{0.8 \text{ mm}}{360^\circ} \times \frac{1.8^\circ}{32} = 125 \text{ nm}$$

El número de pasos por milímetro para los ejes X e Y es:

$$n^\circ \text{ de pasos por mm} = \frac{1}{\text{Desplazamiento por } \mu\text{Paso}} \quad (\text{Eq. 4-5})$$

$$n^\circ \text{ de pasos por mm} = \frac{1}{125 \text{ nm}} = 8000 \mu\text{Pasos/mm} \text{ para un } \mu\text{Paso máximo de } 1/32$$

4.2.2 Componentes

4.2.2.1 Controlador

El controlador es un conjunto de dispositivos electrónicos que recibe las órdenes de movimiento del ordenador y maneja en consecuencia los motores, como se muestra en la Figura 4-7. Así mismo, recibe información de finales de carrera, pulsadores de emergencia o sensores que transmiten de vuelta. Su elección es clave para el óptimo funcionamiento del sistema mecánico. Existen controladoras que incorporan "todo en uno" o bien cada elemento de forma modular, lo que permite mayor flexibilidad.

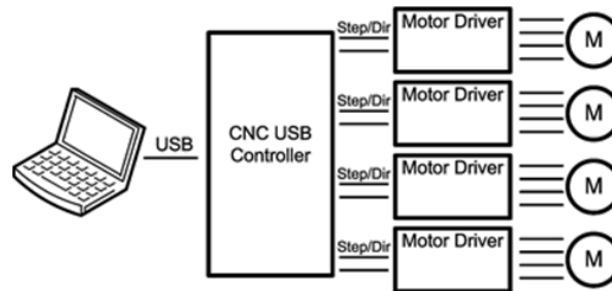


Figura 4-7: Controlador CNC.

Existen múltiples opciones a la hora de elegir un controlador para implementar una máquina CNC. A continuación, se muestran algunas de las placas más utilizadas y que entran dentro de los requisitos mínimos para este PFC.

- **CNC USB controller Mk3/4 (4 axis)**

Controlador de 4 ejes para motores paso a paso (Figura 4-8) con conexión USB, 3 salidas digitales, 3 salidas PWM con frecuencia seleccionable (10 Hz a 500 kHz), 3 salidas para servo motores RC, 4 entradas digitales en placa, filtradas y protegidas y tarjeta SD para usar GCode . Este controlador requiere de una licencia para su uso .

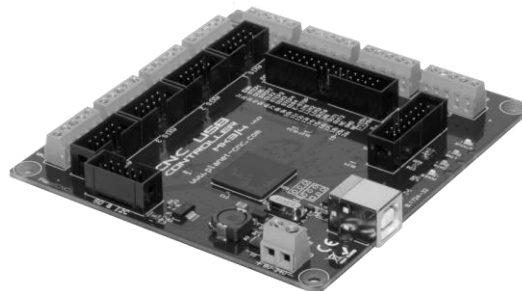


Figura 4-8: Controlador Mk3/4.

- **TinyG CNC Controller Board v8**

Microcontrolador Atmel ATxmega192 (Figura 4-9) con 4 drivers DRV8818 integrados en la placa. Acepta GCode por USB.

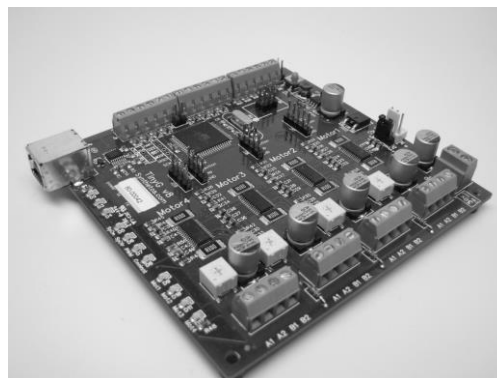


Figura 4-9: Controlador TinyG v8.

• **Arduino**

La familia Arduino tiene las placas más usadas y con un soporte muy bueno por parte de la comunidad, que ayuda a sacarle el máximo rendimiento posible. Entre todos los modelos disponibles, el One (Figura 4-10) y el Mega (Figura 4-11) son los más apropiados para el propósito de este PFC. A continuación se resumen las principales características de ambos modelos en la Tabla 4-1.

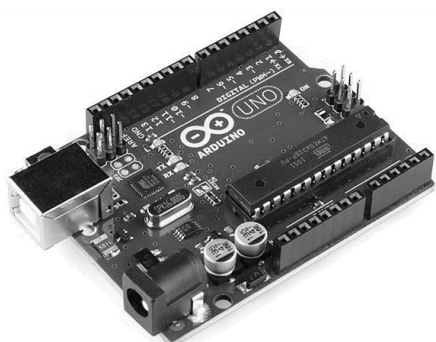


Figura 4-10: Arduino One

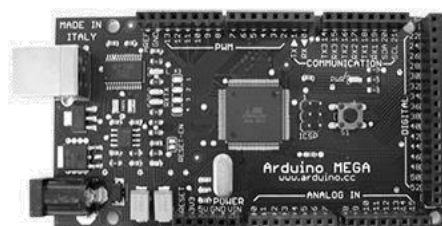


Figura 4-11: Arduino Mega.

Tabla 4-1: Características de la familia Arduino.

Arduino	One	Mega
Microcontrolador	ATmega328P	ATmega1280
Tensión de funcionamiento	5 V	5 V
Tensión de entrada (recomendada)	7-12 V	7-12 V
Tensión de entrada (máxima)	6-20 V	6-20 V
Pines digitales I/O	14	54
Pines digitales I/O PWM	6	-
Pines analógicos de entrada	6	16
Corriente DC por pin I/O	20 mA	40 mA
Corriente DC por pin 3.3V	50 mA	50 mA
Memoria Flash	32 KB, de los cuales 0.5 KB son para el arranque	128 KB, de los cuales 4 KB son para el arranque
SRAM	2 KB	8 KB
EEPROM	1 KB	4 KB
Velocidad del reloj	16 MHz	16 MHz

4.2.2.2 *Shield*

Para las placas de Arduino, es necesario calcular el número de pines que se van a usar para poder elegir entre los diferentes modelos de los que disponen. Una solución es utilizar una Shield, como las mostradas en la Figura 4-12 y en la Figura 4-13, que son placas de circuitos modulares que se montan unas encima de otras para dar funcionalidad extra a un Arduino.

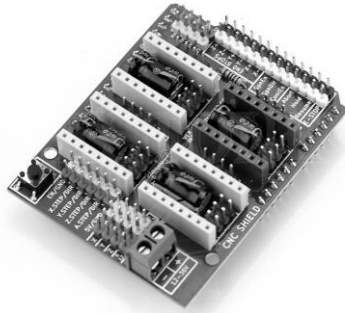


Figura 4-12: CNC Shield v3.

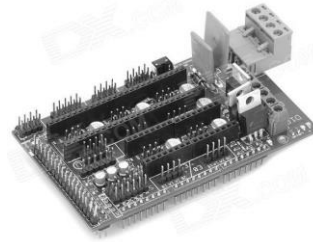


Figura 4-13: Shield RAMPS 1.4.

4.2.2.3 Drivers

La palabra Driver puede tener muchos significados (en software, la palabra driver se asocia a un "controlador de dispositivos"). En este PFC se limita la definición a cualquier equipo electrónico inteligente que proporcione un control ajustable de la velocidad para un motor.

Los drivers actúan como una válvula que controla la corriente de los motores. Cuando el controlador manda la señal, el driver permite pasar la corriente desde la fuente de alimentación a la bobina del motor. Por este motivo, se puede alimentar un Arduino con un conector USB de 5 V, pero se necesita además una fuente de alimentación de 12 V para los motores.

El driver, para un motor paso a paso, corresponde a un circuito electrónico, el cual tiene la característica de conmutar cada una de las bobinas del motor y a su vez, generar la secuencia en que debe alimentarse cada bobina para generar un paso. Junto con ello, permite invertir el giro del motor invirtiendo la secuencia en que las bobinas son conmutadas.

Un paso completo se divide en un número fijo de micro pasos. El driver va ajustando la cantidad de corriente que circula por la bobina, haciendo que el motor vaya avanzando micropasos, hasta terminar el paso completo. A mayor número de micropasos, la señal de salida se asemeja a una onda sinusoidal dentro de ese paso, consiguiendo así que el movimiento sea fluido y suave. En la Figura 4-14 se puede ver cómo cambia la salida al seleccionar diferentes configuraciones de micropasos.

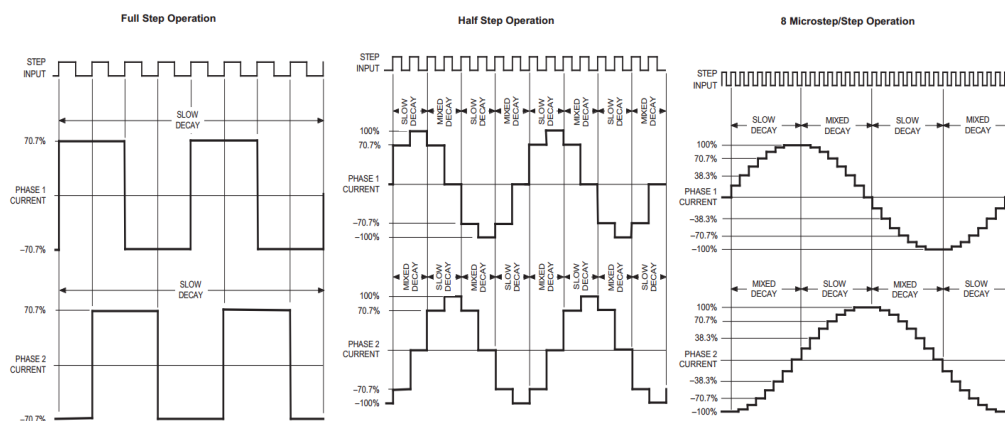


Figura 4-14: Intensidad de corriente por micropaso.

Existen diferentes tipos de drivers, de los cuales se consideran para el desarrollo de este PFC dos modelos compatibles con una placa tipo Shield y que se muestran en la Figura 4-15: Pololu A4988 y Pololu DRV8825.

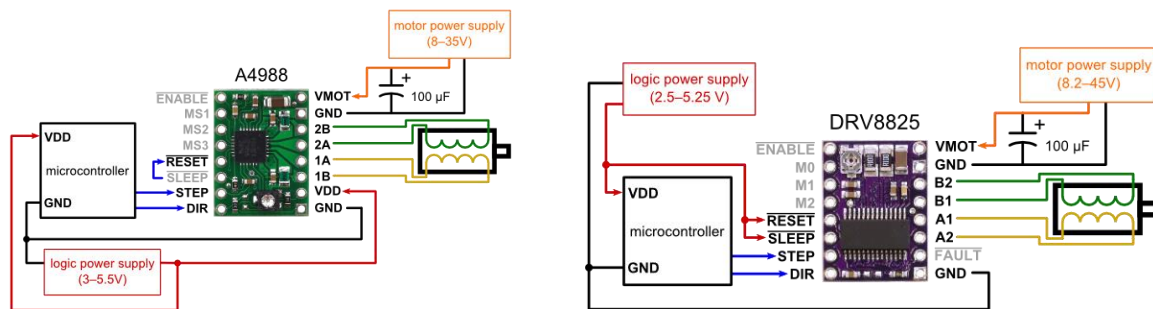


Figura 4-15: Driver A4988 y DRV8825.

Hay que tener claro el consumo de los motores para decidir qué driver se va a utilizar. Los fabricantes suelen indicar 2 valores, por un lado, la corriente que soportan de forma normal y sostenida, y por otro lado la corriente de pico, que es el máximo de corriente que soportan en un instante determinado antes de cortar.

El DRV8825 puede manejar 1.5 A sin necesidad de un disipador adicional, mientras que el A4988 sólo llega a los 1.2 A. Los periodos de las señales son ligeramente distintos. Los DRV8825 necesitan un tiempo mínimo de pulso de 1.9 μ s y el A4988 de 1 μ s. Esto puede afectar a la velocidad máxima a la que puedes mover el driver, ya que se debe esperar a que el driver detecte el pulso el doble de tiempo.

4.2.2.4 Motores

Como se ha comentado previamente en el capítulo 2, los motores más adecuados para el diseño que aquí se plantea son los motores paso a paso, por su precisión, control de la posición, control de la velocidad y la posibilidad de mantenerlos fijos en una posición.

4.2.2.5 Acopladores, rodamientos y varillas

Una serie de pequeños componentes son necesarios a la hora de integrar el sistema final. Los acopladores flexibles de la Figura 4-16(a) sirven para unir los motores con las varillas roscadas y evitar las desviaciones y movimientos que puede generar la curvatura de las varillas.



(a) Acoplador flexible (b) Rodamiento lineal

Figura 4-16: Componentes del sistema mecánico.

4.2. Diseño del sistema mecánico

Por su parte, los rodamientos lineales de la Figura 4-16(b) hacen deslizar las partes móviles del sistema a través de las varillas lisas.

En cuanto a las varillas, existen diferentes tipos de roscas (métrica, Whitworth, gas, americana unificada, cónica, etc.), donde las más comunes son el tipo métrica y Whitworth. En la Tabla 4-2 y en la Tabla 4-3 se pueden observar las características de cada una de ellas. Se debe tener en cuenta, tanto el diámetro de la varilla, que aportara grosor al sistema final, como el paso de la rosca, que determinará el mínimo avance por paso que se pueda lograr.

Tabla 4-2: Características principales de la gama de rosca métrica.

Medida nominal y paso normal	Ø broca agujero	Medida nominal y paso fino	Ø broca agujero
M2 x 0,40	1,60		
M2,5 x 0,50	2,00		
M3 x 0,50	2,50	M3 x 0,25	2,75
M4 x 0,70	3,30	M4 x 0,35	3,65
M5 x 0,80	4,20	M5 x 0,50	4,50
M6 x 1,00	5,00	M6 x 0,50	5,50
M7 x 1,00	6,00	M7 x 0,75	6,25
M8 x 1,25	6,75	M8 x 0,75	7,20
		M8 x 1,00	7,00
M9 x 1,25	7,75	M9 x 1,00	8,00
M10 x 1,50	8,50	M10 x 0,75	9,25

Tabla 4-3: Características principales de la rosca Whitworth.

Denominación	Paso normal	Medida nominal	Ø broca agujero	Denominación	Paso fino	Medida nominal	Ø broca agujero
W 1/16	60	1.5888	1.15				
W 3/32	48	2.381	1.8				
W 1/8	40	3.175	2.55				
W 5/32	32	3.969	3.1				
W 3/16	24	4.763	3.6	W 3/16	32	4.762	4
W 7/32	24	5.556	4.4				
W 1/4	20	6.35	5.1	W 1/4	26	6.35	5.2
W 5/16	18	7.938	6.5	W 5/16	22	7.938	6.6
W 3/8	16	9.525	7.9	W 3/8	20	9.525	8.1
W 7/16	14	11.112	9.25	W 7/16	18	11.113	9.5
W 1/2	12	12.7	10.5				

Paso = hilos/pulgadas

Una pulgada = 25.4 mm

4.2.3 Sistema Final

Tras considerar las diferentes opciones disponibles y las limitaciones presentes, se ha optado por realizar un sistema basado en varilla roscada como el mostrado en la Figura 4-6. Esto se debe a que es el que mayor resolución aporta. Si bien es posible que no sea necesario usar la máxima resolución para este PFC, sí que puede ser utilizado en futuras aplicaciones que así lo requieran. Para minimizar el tamaño y maximizar la precisión se ha optado por unas varillas roscadas de métrica M5, ya que poseen un menor paso en comparación con la rosca Whitworth.

A continuación, se describe la metodología seguida para este diseño. Inicialmente se diseñaron todas las piezas, como se verá en el apartado 4.3, siguiendo el esquema de la Figura 4-6, pero hubo que rediseñarlo ya que se comprobó experimentalmente que el movimiento del eje Y no era fluido. Al existir un único punto de tracción en el lado izquierdo, el lado derecho no respondía de forma simétrica debido a que no se generaba el suficiente momento. Para solucionarlo se añadió un tercer motor a modo de espejo, como se puede ver en Figura 4-17.

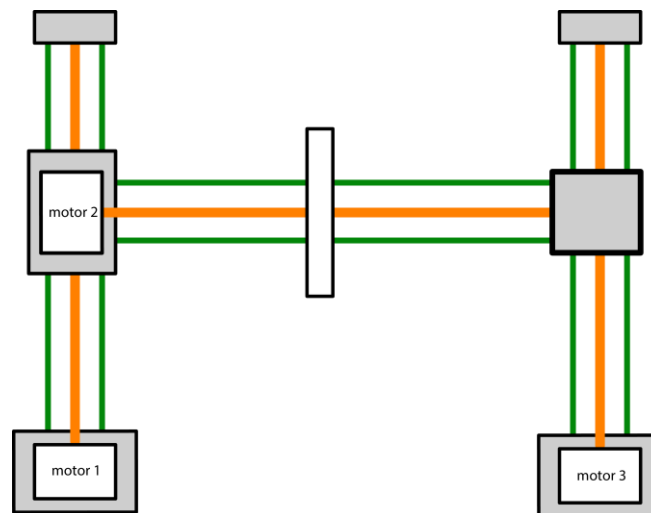


Figura 4-17: Diseño final del sistema mecánico propuesto.

El hardware seleccionado para este sistema, recogido en la Figura 4-18, se compone de: un Arduino One, una placa CNC Shield v3, tres drivers DRV8825, tres motores NEMA17 y dos finales de carrera.

Para el primer diseño se seleccionaron dos motores Nema17 17HS2408. Estos motores, como se puede ver en el Anexo.IV, son motores de 200 pasos (1.8°) y 0,6 A de corriente nominal. Para el segundo diseño, se escogió un tercer motor Nema17 17HS4401, también de 200 pasos, pero de 1,7 A de corriente nominal. Se trata de un motor con mayor torque que los anteriores y se eligió con vistas a hacer el sistema flexible frente a futuras modificaciones.

4.2. Diseño del sistema mecánico

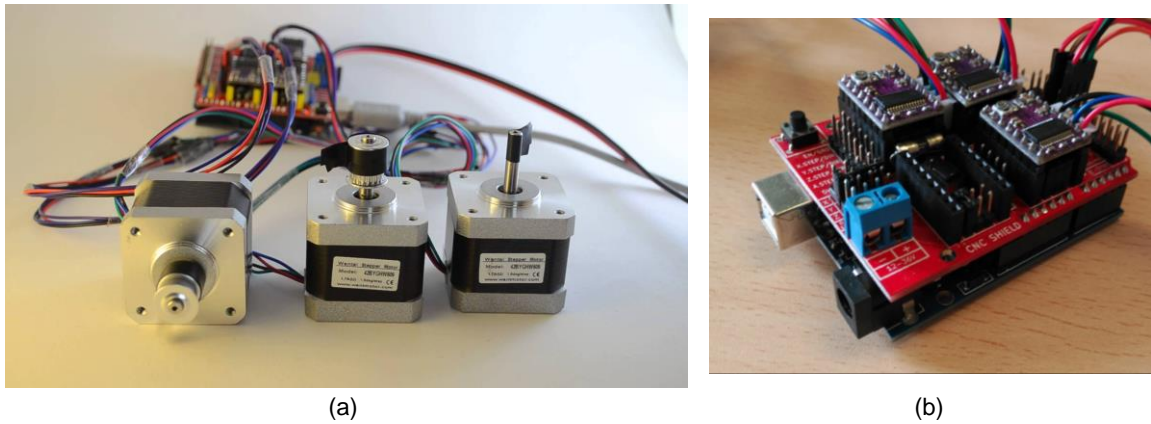


Figura 4-18: Hardware del sistema.
(a) Motores conectados (b) Shield y drivers sobre placa Arduino

Se ha optado por las placas Arduino ya que es una plataforma de hardware libre, con una gran comunidad de desarrolladores y con un precio mucho más asequible que el resto de alternativas. El Arduino One ofrece las prestaciones necesarias para poder realizar el diseño del sistema propuesto.

La placa CNC Shield v3 se monta sobre el Arduino One, como se aprecia en la Figura 4-18(b). En el esquema de la Figura 4-19, se puede ver la posición de los driver, la conexión de los motores y los finales de carrera, así como la configuración del cuarto motor (A).

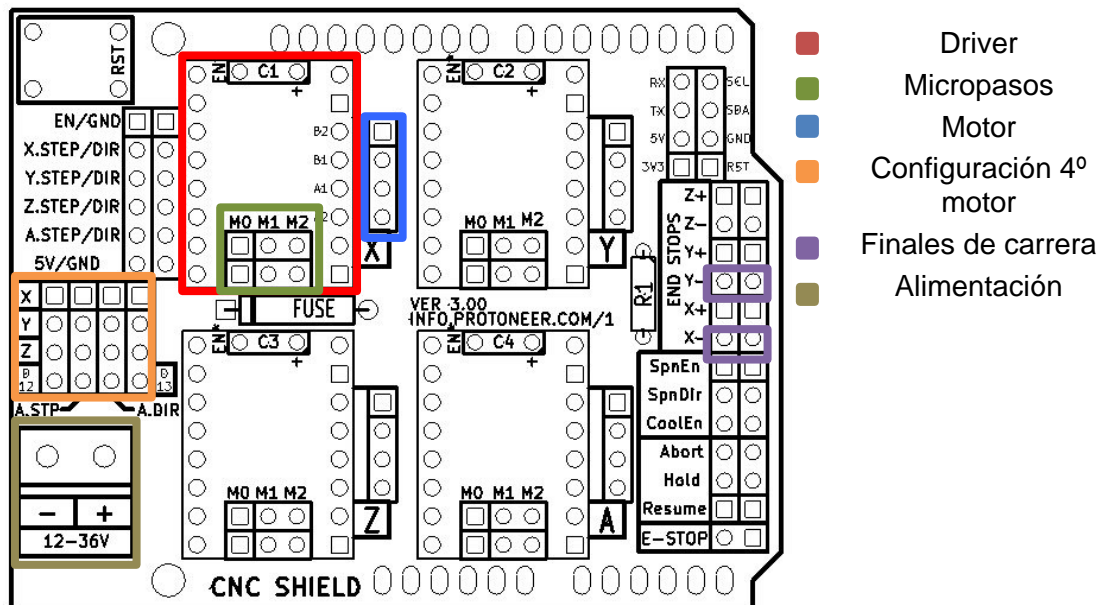


Figura 4-19: Esquema de la placa CNC Shield v3.

Usando dos jumpers se puede configurar el cuarto motor, de forma que clone alguno de los ejes X, Y o Z. También puede usarse de forma individual, utilizando el pin 12 como señal escalonada y el pin 13 como señal de dirección. Para el diseño de este PFC, se ha clonado el eje Y.

La configuración de los micropasos dependerá del driver que se utilice. A continuación, en la Tabla 4-4 y en la Tabla 4-5, se puede ver las diferentes configuraciones posibles para cada uno de los drivers.

Tabla 4-4: Configuración para Pololu A4988.

M0	M1	M2	Resolución de micropaso
0	0	0	Paso completo (Full step)
1	0	0	½ paso
0	1	0	¼ paso
1	1	0	1/8 paso
1	1	1	1/16 paso

0 = Libre, 1 = Con Jumper

Tabla 4-5: Configuración para Pololu DRV8825.

M0	M1	M2	Resolución de micropaso
0	0	0	Paso completo (Full step)
1	0	0	½ paso
0	1	0	¼ paso
1	1	0	1/8 paso
0	0	1	1/16 paso
1	0	1	1/32 paso
0	1	1	1/32 paso
1	1	1	1/32 paso

0 = Libre, 1 = Con Jumper

Para este sistema, se ha seleccionado el driver DRV8825 con una configuración 1/32 paso. De esta manera se consigue la máxima resolución y fluidez, a costa de perder velocidad y torque. A priori, no se necesita mover un cuerpo muy pesado ni tampoco una gran velocidad, por lo que se puede optar por esta configuración.

El driver DRV8825 es capaz de soportar hasta 1.5 A, lo que permite montar motores más potentes en caso de necesitarlos. El tiempo de reloj es mayor que el del A4988, pero la diferencia de velocidad que aporta al sistema no es apreciable.

Es necesario calibrar los drivers para limitar la corriente que puede llegar a los motores. Dicha calibración deberá cumplir que:

$$\text{Mínima corriente que necesita el motor para ejercer suficiente fuerza para el sistema} < \text{Valor al que se calibra la corriente del driver} < \text{Máxima corriente que puede entregar el driver}$$

El fabricante indica que hay dos maneras de limitar la corriente entregada por el driver.

- La primera consiste en colocar el driver en paso completo (full-step), activar el motor y medir la corriente que circula por una de sus bobinas. Esta no debe exceder el 70% de la corriente nominal.
- La segunda consiste en medir el voltaje de referencia en el pin REF con respecto a GND (Figura 4-20), aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Límite de corriente} = \frac{V_{REF}}{5 * R_{SENSE}} \quad (\text{Eq. 4-6})$$

Siendo $R_{SENSE} = 0.1 \Omega$.

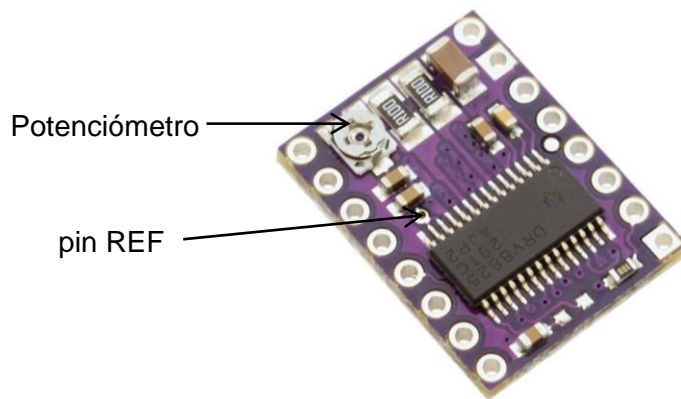


Figura 4-20: DRV8825 pin REF.

El límite elegido es del 60% referente a su corriente nominal. En este caso, para el motor 17HS4401, con una corriente nominal de 1,7 A, se calibrará a 1 A y para los motores 17HS2408, con una corriente nominal de 0,6 A, a 0,4 A; con lo que se obtiene una V_{REF} de aproximadamente 500 mV y 200 mV respectivamente. En la Figura 4-21 se muestra como, debido a la sensibilidad del potenciómetro, se ha intentado aproximar lo más posible a los valores calculados.

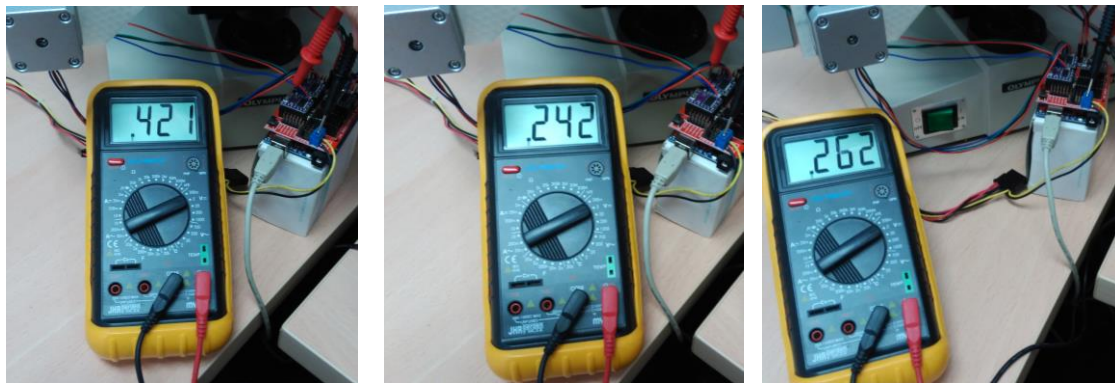


Figura 4-21: Ajuste del límite de corriente de los drivers DRV8825.

Para realizar todas las medidas, la placa debe estar alimentada tanto por 12V como por los 5V del USB.

4.3 Diseño de las piezas

Los modelos 3D son componentes cruciales de la producción digital y son usados en variadas industrias tales como la impresión 3D, la cinematográfica, la de los videojuegos, arquitectura o diseño de interiores.

La elección del software adecuado es importante. Existe una gran variedad de aplicaciones con una amplia gama de funciones disponibles. En la Tabla 4-6, se muestran algunas de las aplicaciones CAD (diseño asistido por computadora) más conocidas, para modelado mecánico en 3D.

Tabla 4-6: Software de modelado 3D.

Nombre	Usuario	OS	Precio	Formatos
123D Design	Principiante	Windows, Mac e iOS	Gratis	123x, step, stl, x3d, vrml
3D Slash	Principiante	Windows, Mac, Linux, Raspberry Pi o Navegador	Gratis, 24 €/año Premium	3dslash, obj, stl
Photoshop CC	Principiante	Windows y Mac	142 €/año	3ds, dae, kmz, obj, psd, stl, u3d
SculptGL	Principiante	Navegador	Gratis	obj, ply, sgl, stl
FreeCAD	Intermedio	Windows, Mac y Linux	Gratis	step, iges, obj, stl, dxf, svg, dae, ifc, off, nastran, Fcstd
OpenSCAD	Intermedio	Windows, Mac y Linux	Gratis	dxf, off, stl
Sculptris	Intermedio	Windows y Mac	Gratis	obj, goz
SketchUp	Intermedio	Windows y Mac	Gratis, 657 € Pro	dwg, dxf, 3ds, dae, dem, def, ifc, kmz, stl
AutoCAD	Profesional	Windows y Mac	1400 €/año	dwg, dxf, pdf
Blender	Profesional	Windows, Mac y Linux	Gratis	3ds, dae, fbx, dxf, obj, x, lwo, svg, ply, stl, vrml, vrml97, x3d
Rhino3D	Profesional	Windows y Mac	495 € Educativa, 1695 € Comercial	3dm, 3ds, cd, dae, dgn, dwg, emf, fbx, gf, gdf, gts, igs, kmz, lwo, rws, obj, off, ply, pm, sat, scn, skp, slc, sldprt, stp, stl, x3dv, xaml, vda, vrml, x_t, x, xgl, zpr
ZBrush	Profesional	Windows y Mac	400 € Educativa, 720 € Licencia	dxf, goz, ma, obj, stl, vrml, x3d
CATIA	Industrial	Windows	7.180 €; Dispone de licencias educativas	3dxml, catpart, igs, pdf, stp, stl, vrml
Fusion 360	Industrial	Windows y Mac	499.80 €/año, Dispone de licencias educativas	catpart, dwg, dxf, f3d, igs, obj, pdf, sat, sldprt, stp
Inventor	Industrial	Windows y Mac	2,060 €/año	3dm, igs, ipt, nx, obj, prt, rvt, sldprt, stl, stp, x_b, xgl
Solidworks	Industrial	Windows	9.950 €, Dispone de licencias educativas	3dxml, 3dm, 3ds, 3mf, amf, dwg, dxf, idf, ifc, obj, pdf, sldprt, stp, stl, vrml

El software seleccionado para la realización de las piezas del sistema mecánico ha sido SolidWorks, con una licencia para estudiantes, gracias a sus múltiples funcionalidades y fácil manejo.

Inicialmente se ha partido de la reproducción 3D de la base del microscopio, mostrada en la Figura 4-22, donde el sistema a diseñar ha de integrarse. Para ello se tomaron medidas y varias imágenes a fin de tenerlas de referencia a la hora de diseñar.

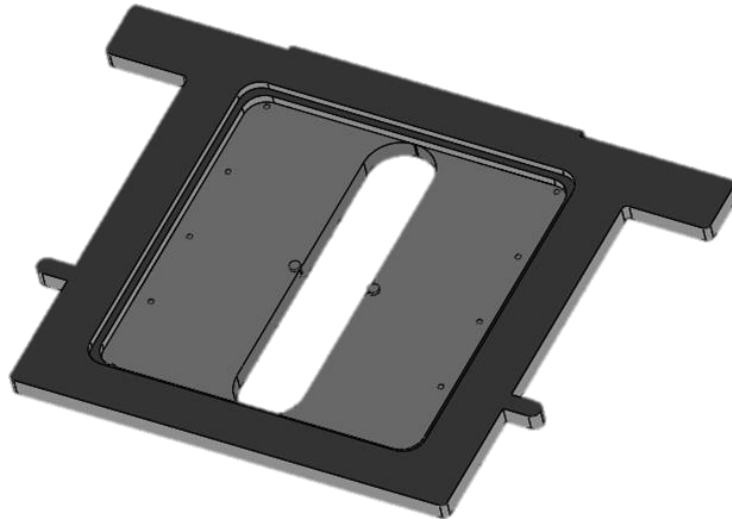


Figura 4-22: Base microscopio.

Durante el diseño de las piezas hay que tener en cuenta que estas van a ser impresas en una impresora 3D, y es por ello que no se puede crear una pieza de forma totalmente libre; es necesario tener en cuenta una serie de recomendaciones para que la impresión no falle.

- Partiendo de la base de que las impresiones son realizadas capa a capa, es ideal que el objeto tenga una base plana sobre la que se asiente todo y esta sea la primera parte en imprimir. De esta manera se evita tener que utilizar materiales de soporte que encarecen la impresión, y que posteriormente serán desechados. Por ejemplo, para el diseño de una botella, será mejor empezar por su base que imprimirla tumbada, dado que para que la deposición de las capas fuese correcta sería necesario incorporar materiales de soporte.
- Los objetos pueden tener partes como voladizos o por su forma natural incorporar partes que queden en el aire, como los brazos de un muñeco. Como recomendación, siempre que el ángulo que exista no sea superior a los 45° aproximadamente, no habrá ninguna complicación añadida, sin embargo, si se supera este umbral, como se muestra en la Figura 4-23, será necesario añadir soportes para la impresión, ya que de lo contrario, el material que se añade no tendrá ningún apoyo y caerá por su propio peso.



Figura 4-23: Diseño de voladizos.

A medida que se van creando y uniendo piezas, ha sido necesario rediseñar piezas anteriores para que el diseño cumpla con las especificaciones requeridas. En la Figura 4-24 se muestra el diseño final, con el fin de ver la posición de las piezas y así poder mejorar la comprensión de cada una de ellas en su explicación por separado.

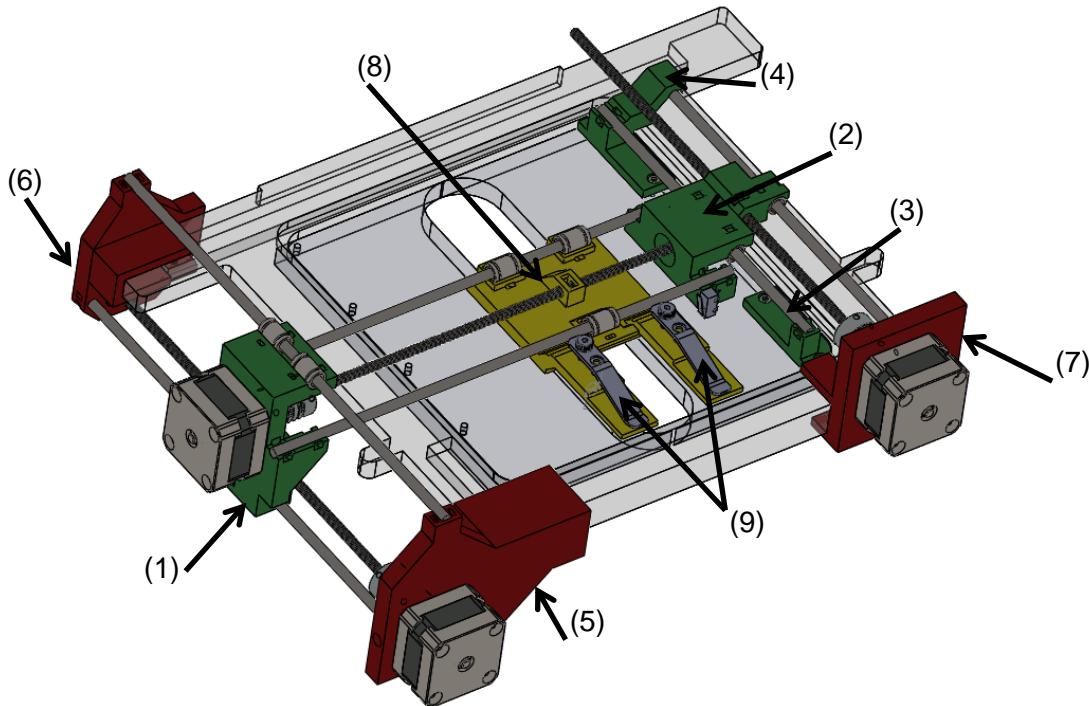
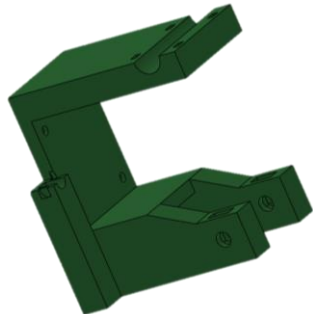
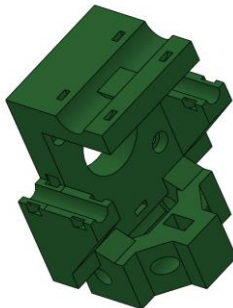


Figura 4-24: Diseño final del sistema mecánico.

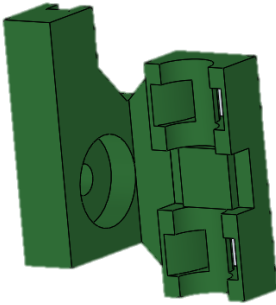
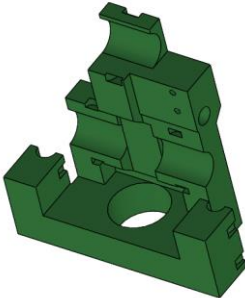
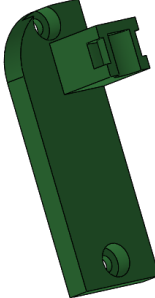
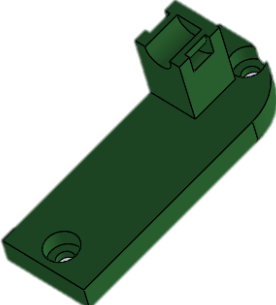
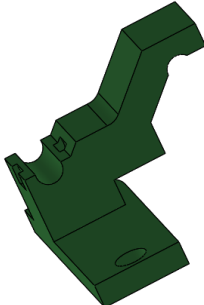
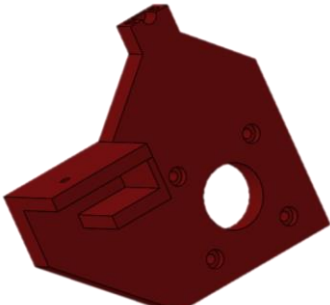
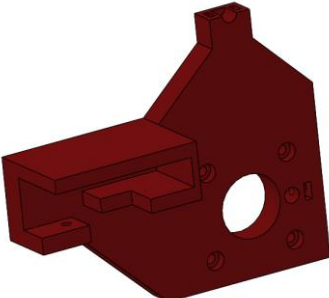
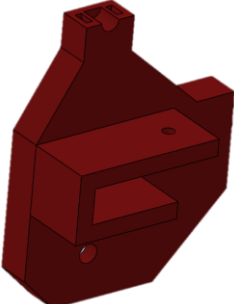
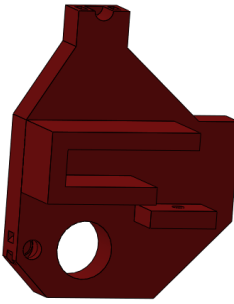
En la Tabla 4-7 se pueden ver todas las piezas diseñadas, tanto su versión inicial como la final. Se han coloreado de rojo las piezas diseñadas para el eje de las Y, en verde las del eje de las X y en amarillo el portaobjetos.

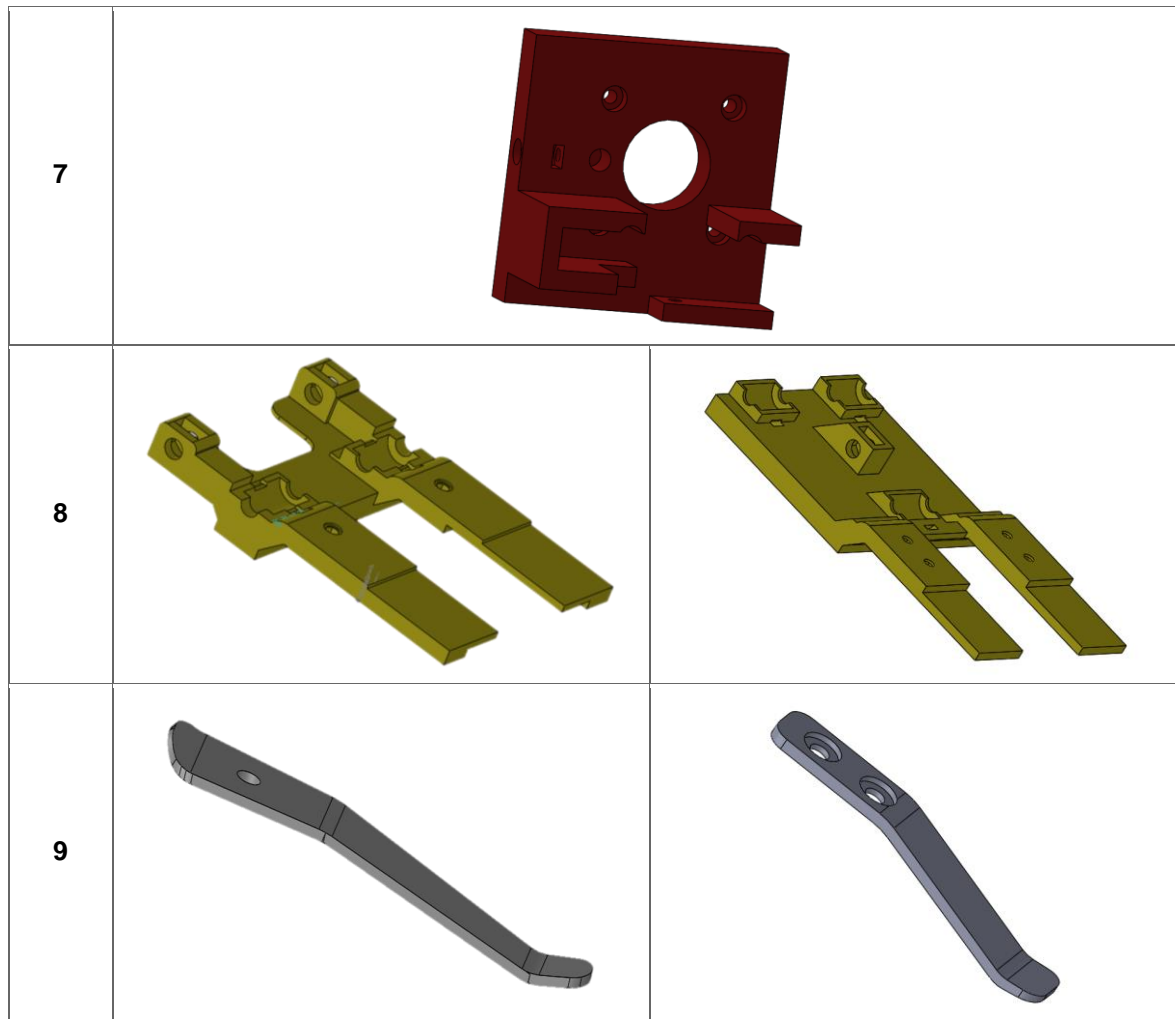
Las medidas detalladas de cada una de las piezas se pueden consultar en el Anexo.V.

Tabla 4-7: Diseño inicial y final de las piezas del sistema.

Pieza	Versión inicial	Versión Final
1		

4.3. Diseño de las piezas

2		
3		
4		
5		
6		



Pieza 1: es el soporte del motor del eje X. En sus laterales, se ha diseñado unos soportes para dos varillas lisas lo suficientemente largos para generar el momento adecuado. En un principio se diseñaron muy cortos y al realizar movimientos con el motor, no se generaba suficiente momento para mover de forma perpendicular el resto de piezas ancladas a las varillas. La pieza lleva a su vez varios rodamientos lineales y una tuerca para la varilla roscada.

Pieza 2: da soporte lateral al eje X. Se ha tenido la consideración de crear los soportes para las varillas lisas a semejanza de la pieza 1. Esta pieza, además de los rodamientos lisos y de un hueco para la varilla roscada, lleva atornillados los dos finales de carrera, por lo que se le han preparado unos huecos de métrica M2 para ello.

Pieza 3: fija una de las varillas lisas del eje Y y se atornilla a la base del microscopio por la parte superior.

Pieza 4: al igual que la pieza 3, fija la misma varilla del eje Y y se atornilla a la base del microscopio, pero tras rediseñar el sistema con un tercer motor, esta pieza sufrió una modificación. Ahora soporta una segunda varilla para el eje Y y hace de tope para uno de los finales de carrera.

Pieza 5: soporte del motor izquierdo del eje Y. Fija dos varillas lisas del eje Y y se atornilla a la base del microscopio por la parte inferior.

Pieza 6: da soporte en el eje Y a las varillas lisas conectadas con la pieza 5. Se atornilla a la base del microscopio por la parte inferior.

Pieza 7: soporte del motor derecho del eje Y. Fija una varilla lisa para el eje Y y se atornilla a la base del microscopio por la parte inferior.

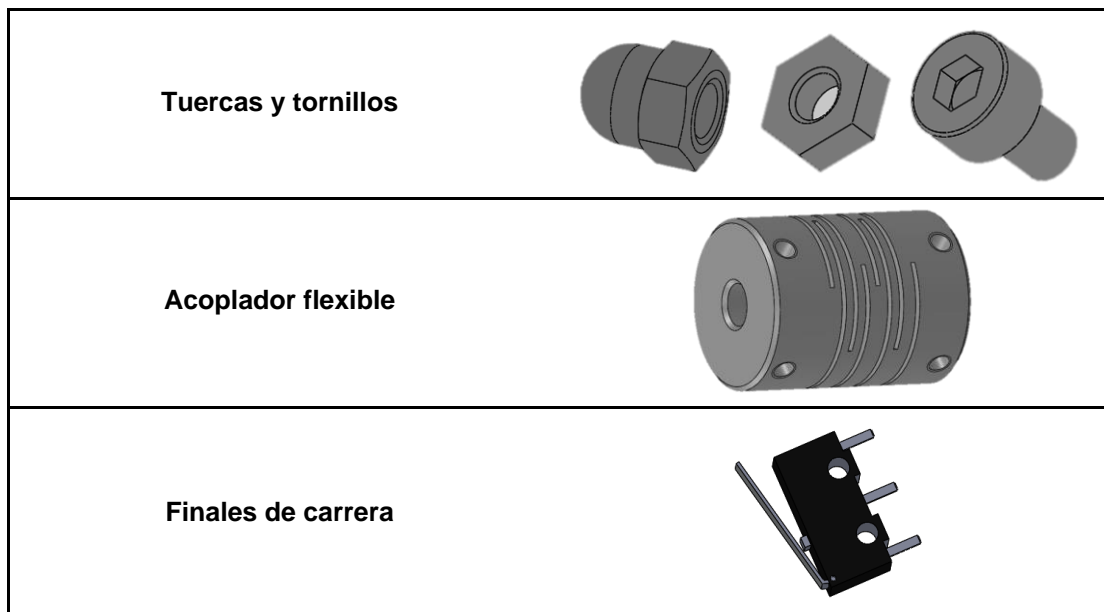
Pieza 8: soporte para el portaobjetos. Inicialmente, el diseño buscaba minimizar el tamaño de la pieza para maximizar el movimiento dentro de la base del microscopio, pero la primera versión desarrollada no reflejaba correctamente los movimientos transmitidos por los motores. Para solucionarlo, se introdujo en el diseño un soporte para una segunda varilla lisa y se eliminó una de las tuercas que transmitían el movimiento. Además, se modificó el sistema de pinza añadiendo un segundo tornillo.

Pieza 9: pinza para sostener las muestras en el soporte. Con el diseño final, al añadirle un segundo tornillo se puede pulsar en el borde de la pinza para que esta se eleve y se pueda introducir el portaobjetos en el soporte. También se ha hecho más gruesa para darle más firmeza.

Además de las piezas mostradas anteriormente, otras muchas han sido diseñadas y descargadas de repositorios [61-63], a fin de tener un diseño lo más completo posible. Dichas piezas se muestran en la Tabla 4-8.

Tabla 4-8: Piezas adicionales del sistema mecánico.

Piezas	
Muelle para el soporte de la pinza del portaobjetos.	
Varillas lisas y roscadas	
Motor Nema 17	
Rodamiento lineal	



4.4 Fabricación y montaje del mecanismo

Los programas de fabricación asistida por ordenador (CAM) suelen generar directamente documentos con las instrucciones GCode para controlar los sistemas de fabricación (mecanizado, tradicionalmente) es decir, documentos GCode. Los programas genéricos de modelado tridimensional no siempre tienen prevista esta opción por lo que se utiliza un formato intermedio (el más común es el STL) que puede ser leído por aplicaciones específicas que generan el GCode para la fabricación. Este proceso se llama comúnmente laminado.

Desde Solidworks, se ha exportado cada una de las piezas diseñadas a archivos STL para su posterior procesado e impresión en una impresora 3D. Existen muchos programas de laminado, siendo los más conocidos los que aparecen en la Tabla 4-9.

Tabla 4-9: software de laminado 3D.

Software	Usuario	Precio	OS
3DPrinterOS	Avanzado	Gratis	Browser, Windows, Mac
Astroprint	Principiante y Avanzado	Gratis	Browser, Raspberry Pi, pcDuino
Craftware	Principiante y Avanzado	Gratis	Windows, Mac
Cura	Principiante y Avanzado	Gratis	Windows, Mac, Linux
IceSL	Avanzado	Gratis	Windows, Linux
MakerBot Print	Principiante	Gratis	Windows, Mac
Netfabb Standard	Intermedio y Avanzado	De \$1,000 a \$4,300 (suscripción anual)	Windows
OctoPrint	Intermedio y Avanzado	Gratis	Raspberry Pi, Windows, Mac Linux
Repetier Host	Intermedio y Avanzado	Gratis	Windows, Mac, Linux
Simplify3D	Principiante y Avanzado	\$150	Windows, Mac

4.4. Fabricación y montaje del mecanismo

El software utilizado para procesar y preparar las piezas ha sido Repetier Host, el cual incorpora la herramienta Slic3r, que corta el modelo en rebanadas horizontales (capas), genera las trayectorias para rellenarlas y calcula la cantidad de material a extruir.

Las primeras piezas que se diseñaron (Figura 4-25), se imprimieron en una impresora 3D P3Steel. Tras rediseñar el sistema, las nuevas piezas se imprimieron en una impresora totalmente diseñada con un sistema coreXY de poleas.

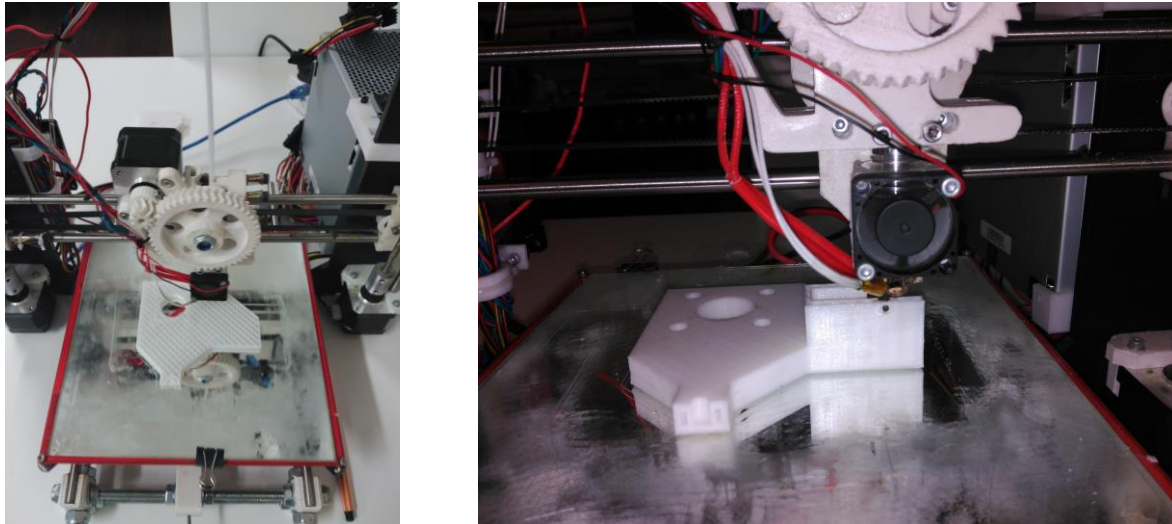


Figura 4-25: Impresión de piezas en impresora P3Steel.

Existe una gran variedad de materiales para imprimir. Entre los más conocidos y usados están:

ABS: el acrilnitrilo butadieno estireno es uno de los termoplásticos más usados en la impresión 3D. No es biodegradable, pero es duro y rígido, con resistencia química y a la abrasión, pero que sufre con la exposición a rayos UV. Es soluble en acetona y su densidad es de $1,05 \text{ g/cm}^3$. Requiere una temperatura de cabezal de unos $240 \text{ }^\circ\text{C}$ y de bandeja de $110 \text{ }^\circ\text{C}$. Las piezas de LEGO están hechas de ABS.

PLA: el ácido poliláctico es otro de los filamentos estrella de la impresión 3D. Es biodegradable y normalmente se obtiene de almidón de maíz, por lo que al derretirse huele casi a comida y puede usarse para recipientes de comida. La textura de las piezas no tiene tan buen acabado como con el ABS, pero sí son más brillantes y las esquinas quedan mejor definidas. Su densidad es de entre $1,2$ y $1,4 \text{ g/cm}^3$. La temperatura necesaria para su impresión es de unos $210 \text{ }^\circ\text{C}$ con la cama a unos $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

HIPS: el poliestireno de alto impacto es un material muy parecido al ABS, y que requiere los mismos perfiles de temperaturas. Suele usarse en combinación con el ABS para hacer piezas con espacios huecos, usando el HIPS como soporte que luego se eliminará con D-Limoneno, con el que es soluble mientras que a él la acetona no le afecta. Al igual que el ABS soporta mal la luz UV y su densidad es de $1,04 \text{ g/cm}^3$.

PET: el tereftalato de polietileno es uno de los materiales más usados para las botellas y otro tipo de envases. Su principal propiedad es su capacidad de cristalización, generando

piezas transparentes con efectos sorprendentes. Es muy fuerte y resistente a los impactos. Su densidad cristalina es de 1,45 g/cm³.

Laywoo-d3: material que requiere condiciones de temperatura similares a las del PLA, con la peculiaridad de que, si se aumenta o disminuye unos grados, el color obtenido es más claro u oscuro. Tras enfriarse tiene textura parecida a la madera y las variaciones de temperatura, ya sean controladas directamente, por fluctuaciones o tipo de enfriamiento, dejarán vetas más o menos oscuras.

Ninjaflex: se trata de un revolucionario elastómero termoplástico (TPE) que permite crear piezas con una gran flexibilidad. En sí el filamento tiene prácticamente la consistencia de una cuerda de goma, y las piezas resultantes puede deformarse ampliamente. La temperatura es muy parecida a la del PLA, con el cabezal a 215 °C y la bandeja a 40 °C.

Nylon: el nylon es quizás uno de los materiales más complejos para la impresión 3D. Su principal problema es la falta de adhesión de la pieza a la bandeja, que causa muchos. Además, suele coger fácilmente humedad, por lo que previamente a la impresión 3D se debe secar en el horno durante 3 o 4 horas. A cambio de todas estas dificultades, el nylon es un material muy resistente, poco viscoso, muy resistente a la temperatura y con distintas variedades que le aportan flexibilidad y transparencia.

El material empleado en ambas impresoras ha sido PLA, ya que es biodegradable, ofrece unos mejores acabados y tiene una mayor rigidez frente al ABS. El ABS es más duro, pero también más flexible. Además, en este PFC no se va a trabajar con altas temperaturas.

El sistema completo, una vez impreso y montado, puede verse en la Figura 4-26.

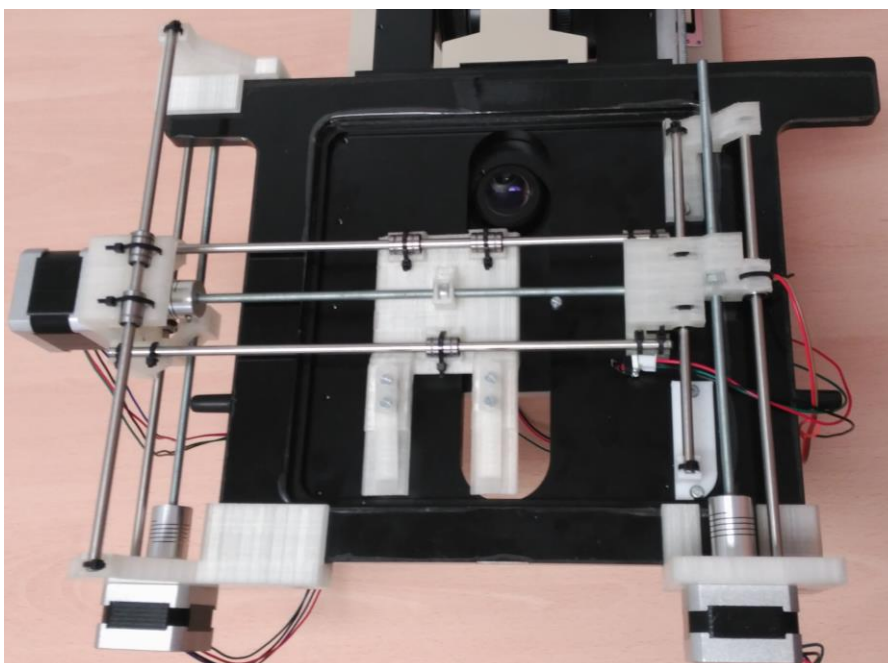


Figura 4-26: Sistema mecánico, impreso y montado.

4.5 Resumen

En este capítulo se ha presentado el diseño del sistema mecánico que se emplea en este PFC para posicionar el portaobjetos a la hora de hacer las capturas. Este sistema mecánico está compuesto por dos ejes motorizados que permiten el desplazamiento a través del plano horizontal. Se han utilizado motores paso a paso y varillas roscadas permitiendo alcanzar una precisión micrométrica, todo ello controlado con una placa Arduino.

Para su realización, en primer lugar se han definido las especificaciones que debe cumplir el sistema mecánico y la metodología que se ha seguido para su diseño e implementación. Se ha realizado la elección de componentes hardware y mecánicos, y se han diseñado y fabricado las piezas 3D necesarias para el montaje del sistema.

En este punto del PFC, se dispone de un sistema mecánico capaz de mover de forma precisa un portaobjetos en la base del microscopio. En los siguientes capítulos, este sistema mecánico de posicionamiento será integrado conjuntamente con el microscopio y la cámara hiperespectral para crear un sistema de adquisición de imágenes hiperespectrales.

5 Diseño del software de control para el sistema de adquisición

El control del sistema de adquisición microscópico abarca el software de captura de la cámara, el software de control del movimiento y la sincronización entre ambos subsistemas. En este capítulo se muestran y detallan las funcionalidades desarrolladas para el control del sistema de adquisición. Para un mayor detalle, el código creado se encuentra disponible en el Anexo.VI.

5.1 Diseño del software de control de la cámara

En este PFC se ha diseñado un software, a semejanza del proporcionado por el fabricante, capaz de controlar la cámara con mayor autonomía e independencia y para poder integrarlo con el control de movimiento.

Como se menciona en el apartado 3.1.2, la comunicación entre la cámara y el PC se realiza obligatoriamente a través del servidor C-Link proporcionado por el fabricante, el cual responde a una serie de instrucciones, descritas en el Anexo.III, que deben estar encapsuladas entre `<Cmd>` y `</Cmd>` y que el servidor convierte a formato XML (Figura 5-1). Como ejemplo, la instrucción `GetVersion`, que es enviada como `<Cmd>GetVersion</Cmd>`, retorna la versión del servidor C-Link que se está ejecutando. Cabe destacar que el C-Link es sensible a las mayúsculas (*case sensitive*).

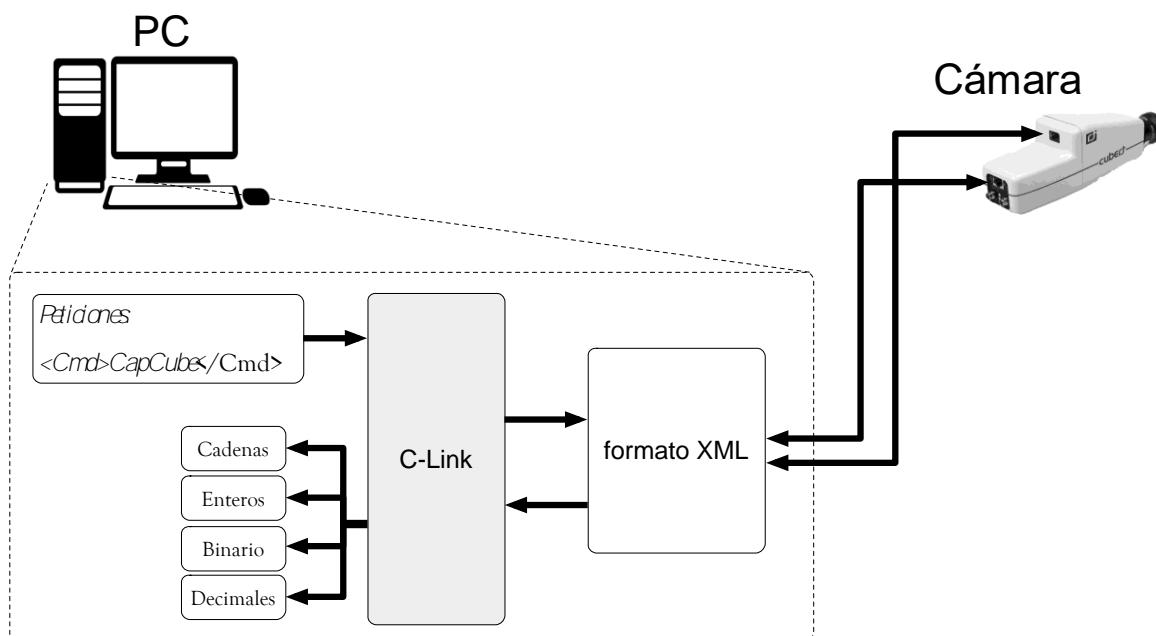


Figura 5-1; Diagrama para el control de la cámara.

El lenguaje de programación elegido para el desarrollo de este software ha sido C++, ya que actualmente existen varios proyectos de la división desarrollándose en paralelo en este mismo lenguaje. De esta manera se facilita la reutilización del software en un futuro, o

partes de éste, en otras aplicaciones. La herramienta de desarrollo elegida es Visual Studio 2015.

La comunicación con el servidor se realiza a través del espacio de nombres *System.Net.Sockets*, el cual proporciona una implementación de la interfaz Windows Sockets (*Winsock*) para desarrolladores que necesitan controlar el acceso a la red. En concreto se hace uso de las clases *TcpClient*, *NetworkStream* y *MemoryStream*. La comunicación se establece en la dirección IP 127.0.0.1 (*Localhost*), donde se encuentra escuchando el servidor C-Link.

El servidor responde a cada comando con un tipo de dato específico. Los tipos pueden ser:

- Cadenas (*String*)
- Enteros (*Int* o *Int16*)
- Binarios
- Float (número de 4 *bytes* de punto flotante)

Por ello, se ha decidido recoger los datos entregados por el servidor en un array de bytes y transformar dichos bytes en el tipo de dato específico si fuese necesario.

Las funcionalidades implementadas para el control de la cámara se pueden dividir en tres apartados.

- **Configuración**

Inicialmente es necesario configurar la cámara con los ajustes pertinentes. De forma manual se pueden modificar los tiempos de exposición, así como el promediado de las capturas para reducir el ruido de las imágenes, con los comandos *SetInt* y *SetAvg*, respectivamente.

Al realizar la medida del factor de reflectancia o de transmitancia (balance de blancos), los ajustes de exposición se realizan de forma automática. Para ello la cámara toma varias imágenes y realiza un promediado entre estas. Con el comando *CapDark* y ausencia de luz a la entrada del sensor, se toman veinte imágenes y se realiza un promediado, mientras que con el comando *CapRef* y la luz que se vaya a usar para las capturas, se empieza con un tiempo de exposición alto que va disminuyendo hasta que se maximice el rango dinámico de la cámara sin llegar a saturarla. En ese momento, se toman veinte imágenes y se realiza un promediado. Estas referencias de blanco y negro se emplearán para la calibración de las imágenes.

- **Captura y exportación**

Por defecto, el servidor crea una carpeta con la fecha actual para las capturas que se realicen. En el caso de querer cambiar la ruta, se debe utilizar el comando *SetPath*.

Dependiendo del tipo de captura que se desee realizar, debe seleccionarse uno de entre los siguientes métodos de normalización:

- **Raw Spectra** (*CapRaw*): Captura la imagen con la totalidad de los datos, tal y como ha sido captada por el sensor, sin normalizar.

$$I = I_{raw} \quad (\text{Eq. 5-1})$$

- **Dark Subtract** (*CapDS*): Captura la imagen y la normaliza frente a las corrientes oscuras.

$$I = I_{raw} - I_{dark} \quad (\text{Eq. 5-2})$$

- **Reflectance** (*CapCube*): Captura la imagen teniendo en cuenta el balance de blancos. Es el método de normalización por defecto, por lo que es necesario realizar siempre el balance de blancos al inicio, siempre que no se vaya a usar otro modo.

$$I = \frac{I_{raw} - I_{dark}}{I_{white} - I_{dark}} \quad (\text{Eq. 5-3})$$

En las fórmulas anteriores I es el valor de reflectancia o transmitancia calculado, I_{raw} es el valor de radiancia de los datos en crudo de un píxel dado, I_{dark} e I_{white} son la referencia de negro y la intensidad de referencia blanca del píxel dado, respectivamente.

Existe un cuarto tipo de captura disponible en el C-Link, *Spectral Radiance* (*CapSpRad*), pero no es compatible con la cámara Cubert UHD-185. Igualmente, se ha implementado para posibles actualizaciones futuras por parte del fabricante. El servidor, al recibir dicha instrucción, cambia el modo automáticamente a *Reflectance*, por lo que es el equivalente a enviar el comando *CapCube*.

Debido a que los cubos hiperespectrales capturados por la cámara se guardan con un formato propio del fabricante (*.cub*) y resultan ilegibles sin el software proporcionado por este, se debe realizar una exportación de dichos cubos a algún formato estándar para poder trabajar con ellos. Las opciones de exportación disponibles son:

- **ExportMultiTiff**: Exporta el cubo de datos que esté actualmente en la memoria del servidor, a un formato tiff de varias páginas.
- **ExportTiff**: Exporta cada uno de los canales espectrales del cubo de datos que esté actualmente en la memoria del servidor, a un archivo tiff separado.
- **ExportEnvi**: Exporta el cubo de datos que esté actualmente en la memoria del servidor, a un formato ENVI con su correspondiente cabecera (*.hdr*).
- **ExportEnviSlim**: (Modo en desuso). Esta opción no realiza un muestreo, dando como resultado un archivo más pequeño. Se consigue el mismo resultado con *ExportEnvi* y el *SetPanScale* igual a 1.

Los datos se almacenan en la ubicación de la carpeta actual independientemente del modo de exportación. Se puede establecer un nuevo nombre para el archivo, de lo contrario, éste se guarda con el nombre original de la captura.

Además, se deben tener en cuenta los parámetros *SetPanInterpolation*, *SetPanScale*, *SetExportSelection*, *SetSpecFactor* y *SetExportFirstgray*. Estos parámetros permiten la selección de la resolución o el rango espectral, la habilitación de un multiplicador para el ajuste del brillo, y añadir la vista previa en el primer canal.

- **Visualización**

El comando *Preview* muestra una imagen capturada con la cámara pancromática. Al realizar un bucle de llamadas con este comando, se permite la visualización en tiempo real.

Una vez capturado un cubo, las opciones de visualización de este pueden ser modificadas. Con *GetThreeChannel* se especifican los valores RGB para mostrar la imagen, mientras que con *SetGamma* se puede ajustar los valores de brillo.

También se puede mostrar el espectro de un pixel específico con el comando *GetSpectra*.

Todas estas configuraciones pasan por una función de control *SendAndProcess*. De forma general, se comprueba que la cámara esté conectada antes de enviar alguna petición con el comando *GetConnectionState*. Para evitar bloqueos relativos al tiempo de respuesta del servidor, algunas funciones han sido implementadas en hilos paralelos. En la Figura 5-2 se puede ver un diagrama de flujo del control que se realiza con la cámara. La funcionalidad del *SendAndProcess*, así como la del hilo paralelo se pueden ver en la Figura 5-3 y en la Figura 5-4, respectivamente.

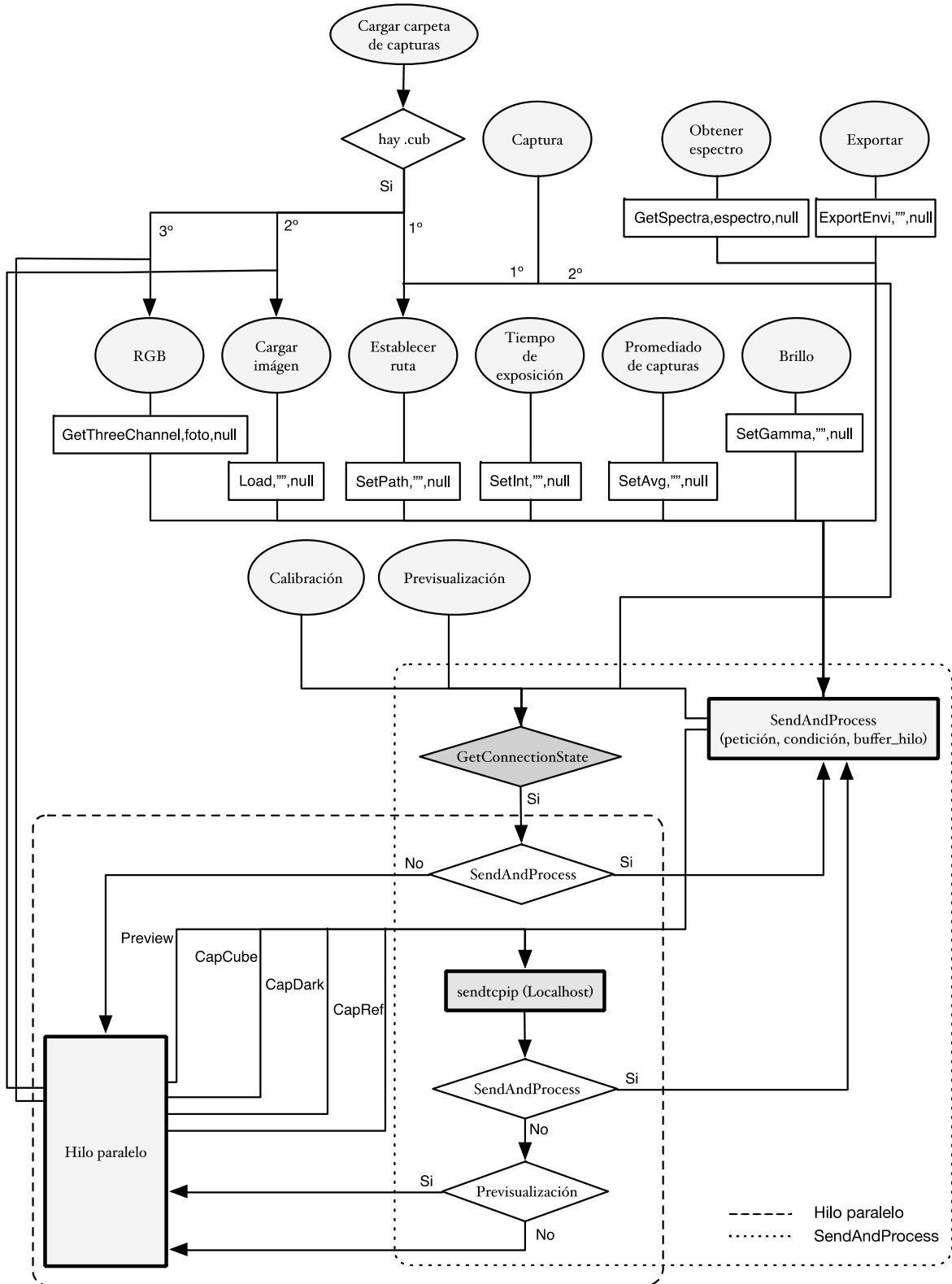


Figura 5-2: Diagrama de flujo del control de la cámara.

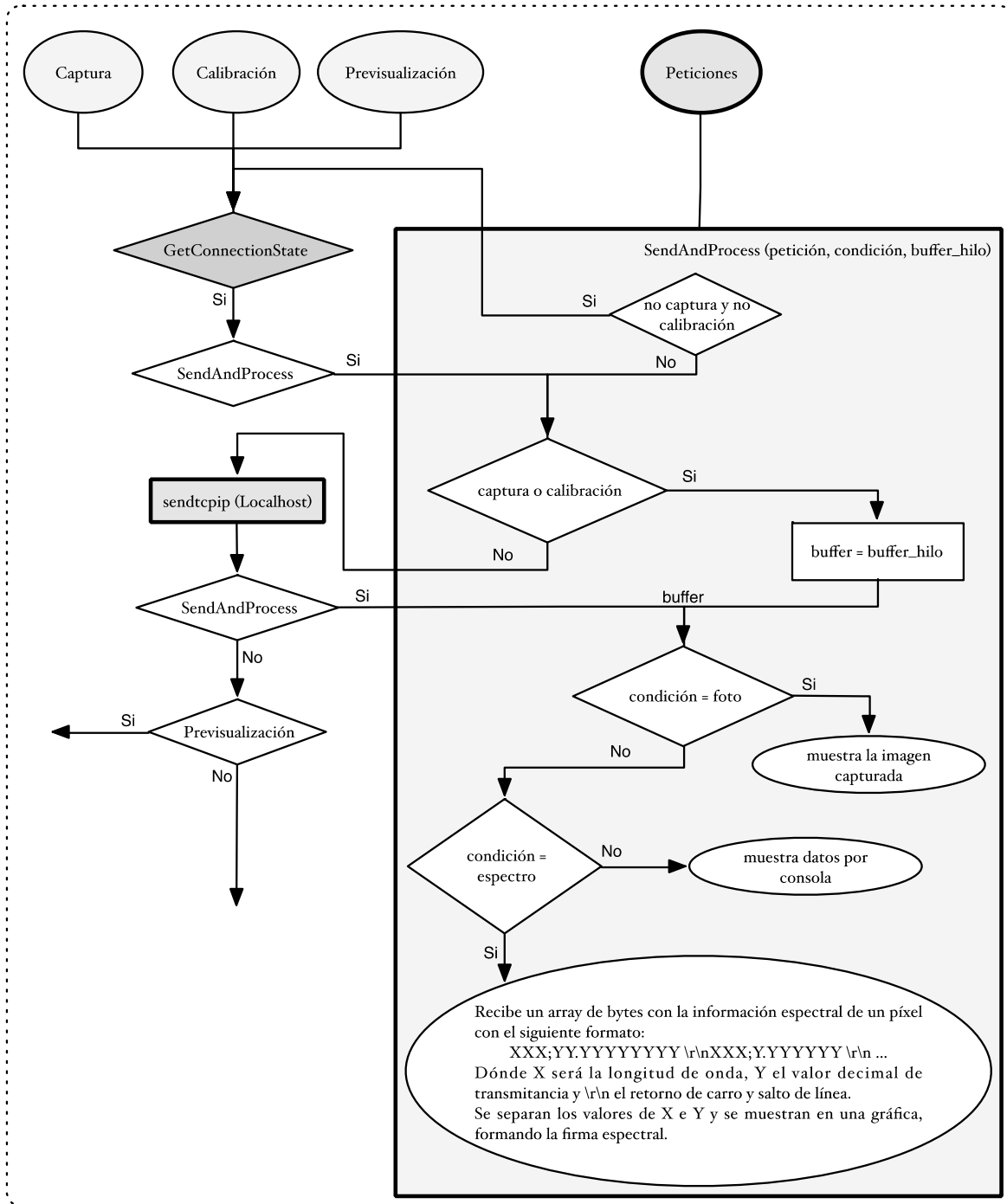


Figura 5-3: Diagrama de flujo de la función de control SendAndProcess.

como los pulsos enviados son conocidos, se sabe cuánto ha avanzado la máquina. Lo que se necesita es pasar de un lenguaje de pulsos a algo más sencillo de usar. Es más práctico decirle a un motor que avance 1 cm a decirle que avance 2000 pasos.

Teniendo esto en cuenta, se puede ver en la Figura 5-5 un ejemplo de cómo mover una máquina describiendo un cuadrado de 10 mm de lado utilizando GCode.

G90 G71	(cotas absolutas referidas al punto 0,0; Programación en mm)
G00 X0 Y0	(posicionamiento rápido lineal al punto 0,0 del plano XY)
G01 X10	(movimiento lineal de 10 mm en X+)
G01 Y10	(movimiento lineal de 10 mm en Y+)
G01 X0	(movimiento lineal de 10 mm en X-)
G01 Y0	(movimiento lineal de 10 mm en Y-)

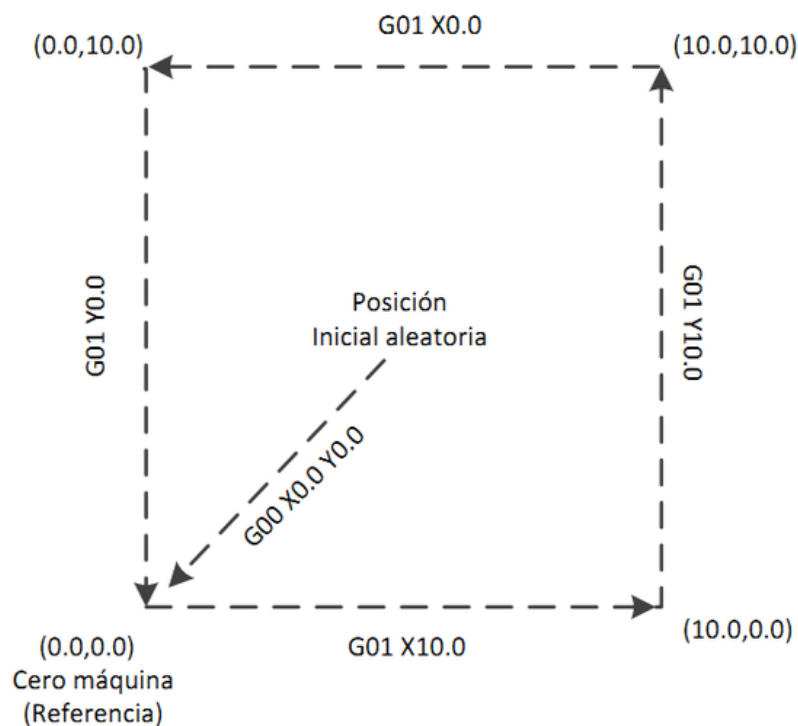


Figura 5-5: Ejemplo de movimiento usando GCode.

Como se observa en el diagrama de la Figura 5-6, para que el Arduino pueda interpretar GCode, es necesario un intérprete. Grbl es un firmware de código abierto que se ejecuta en Arduino siempre y cuando el Arduino cuente con un microcontrolador Atmega 328 [66].

Una vez descargado y compilado Grbl² en Arduino, es necesario configurarlo para que se adapte a las especificaciones de diseño que se han implementado en este PFC. Se debe tener en cuenta que el firmware está preparado para trabajar con los ejes XYZ por defecto. Para el diseño realizado, en el cual únicamente se trabaja en el plano XY, ha sido necesario modificar el firmware para desactivar la funcionalidad del eje Z.

² Versión Grbl v0.9j.

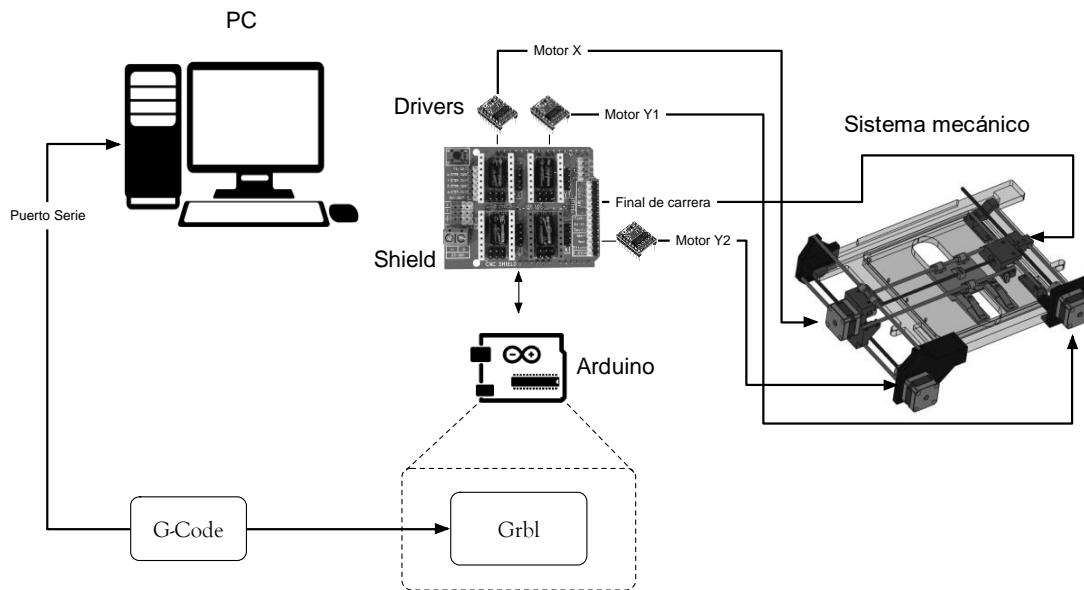


Figura 5-6: Diagrama de conexión para el sistema mecánico.

La forma de conectarse al Arduino desde un PC es a través de un terminal serie. Por ello, se ha utilizado la clase *SerialPort* del espacio de nombres *System.IO.Ports*, la cual proporciona un marco de trabajo para la entrada y salida (E/S) síncrona y orientada a eventos, el acceso a los estados de punto de conexión e interrupción y el acceso a las propiedades del controlador serie.

Los diagramas de flujo, tanto del establecimiento y cierre de la conexión, como del envío de datos a través del puerto serie, se pueden ver en la Figura 5-7 y en la Figura 5-8, respectivamente. Una vez seleccionado el puerto disponible y pulsada la opción de apertura, se envían los parámetros para su configuración. El cierre envía la petición de desconexión del puerto serie. Las funcionalidades de la interfaz gráfica, que se tratan en la función para el envío de datos, se explican más adelante en el apartado 5.3.2.

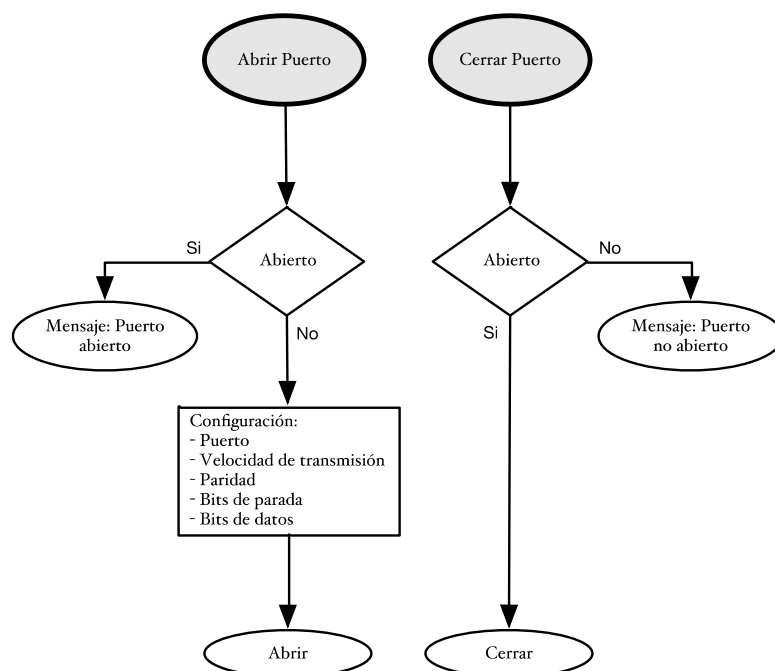


Figura 5-7: Diagrama de flujo del establecimiento y cierre de la conexión por puerto serie.

La configuración para el puerto serie que establece la versión 0.9j de Grbl, es la siguiente:

- Velocidad de transmisión = 115.200 Baudios
- Paridad = No
- Bits de parada = 1
- Bits de datos = 8

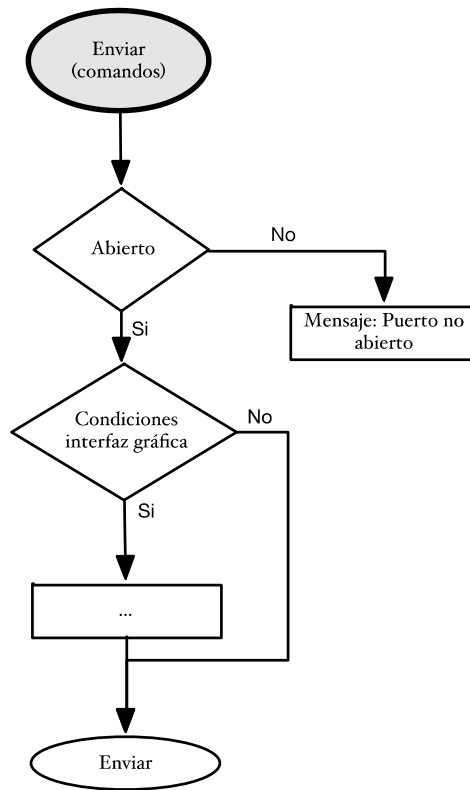


Figura 5-8: Diagrama de flujo del envío de datos a través del puerto serie.

En esta memoria no se detallan todos los comandos existentes en GCode, ya que la mayoría no son necesarios para la finalidad de este PFC. Por ello, se hace referencia únicamente a aquellos que han sido relevantes para la configuración y manejo del sistema.

La lista de comandos disponible para la configuración y control es la que se muestra a continuación en la Tabla 5-1:

Tabla 5-1: Lista de comandos de configuración y control del Grbl.

Comando	Descripción
\$\$	Muestra de los parámetros de Grbl
\$#	Muestra los parámetros #
\$G	Muestra el estado del parseador de GCode
\$I	Muestra la información del firmware, build, etc.
\$N	Muestra los bloques de inicio
\$x=valor	Almacena un valor en la EEPROM
\$Nx=line	Almacena un bloque de inicio
\$C	Comprueba el modo actual de GCode

\$X	Desactiva el bloqueo de alarma
\$H	Hace un ciclo homing
!	Pausa el avance
~	Reinicia un ciclo o el continuar después de la pausa
?	Muestra el estado actual, posición, etc
Ctrl-x	Reinicia Grbl
Gx	Diferentes modos de movimiento

Para visualizar los ajustes actuales del Grbl, se debe enviar el comando \$\$, a lo que el sistema responderá con una lista de los ajustes establecidos, como se muestra en la Figura 5-9.

```

$0=10 (step pulse, usec)
$1=25 (step idle delay, msec)
$2=0 (step port invert mask:00000000)
$3=6 (dir port invert mask:00000110)
$4=0 (step enable invert, bool)
$5=0 (limit pins invert, bool)
$6=0 (probe pin invert, bool)
$10=3 (status report mask:00000011)
$11=0.020 (junction deviation, mm)
$12=0.002 (arc tolerance, mm)
$13=0 (report inches, bool)
$20=0 (soft limits, bool)
$21=0 (hard limits, bool)
$22=0 (homing cycle, bool)
$23=1 (homing dir invert mask:00000001)
$24=50.000 (homing feed, mm/min)
$25=635.000 (homing seek, mm/min)
$26=250 (homing debounce, msec)
$27=1.000 (homing pull-off, mm)
$100=314.961 (x, step/mm)
$101=314.961 (y, step/mm)
$102=314.961 (z, step/mm)
$110=635.000 (x max rate, mm/min)
$111=635.000 (y max rate, mm/min)
$112=635.000 (z max rate, mm/min)
$120=50.000 (x accel, mm/sec^2)
$121=50.000 (y accel, mm/sec^2)
$122=50.000 (z accel, mm/sec^2)
$130=225.000 (x max travel, mm)
$131=125.000 (y max travel, mm)
$132=170.000 (z max travel, mm)
    
```

Figura 5-9: Ajustes por defecto de Grbl.

De todas las opciones disponibles para configurar, se han modificado las que se especifican a continuación en la Tabla 5-2, para adaptar el sistema a las especificaciones diseñadas.

Tabla 5-2: Opciones de configuración modificadas.

Comando	Descripción
\$20= soft limits	Característica de seguridad para ayudar a evitar que la máquina vaya más allá de los límites establecidos
\$22=homing cycle	Se utiliza para localizar de forma precisa una posición conocida cada vez que se inicia el Grbl. De esta manera se obtiene la posición (0,0)
\$23=homing dir masc	Invertir la dirección de los motores para realizar el homing en otro sentido
\$24=homing feed	Velocidad que se aplica para encontrar el (0,0) una vez se ha llegado a los finales de carrera
\$25=homing seek	Velocidad inicial para buscar los finales de carrera
\$26=homing debounce	Cada vez que un interruptor se activa, alguno de ellos puede tener ruido eléctrico, por lo que hay que introducir un retardo
\$100 - 101 XY step/mm	Como se detalló en 4.2.1.2.1 los pasos necesarios para avanzar 1 mm
\$110 - 111 XY max rate	Velocidad máxima que pueden alcanzar los motores
\$120 - 121 XY acceleration	Establece los parámetros de aceleración de los ejes
\$130 - 131 XY max travel	Recorrido máximo que pueden realizar los motores

Las modificaciones realizadas en la configuración pueden observarse en la Figura 5-10.

```

$20=1 (soft limits, bool)
$22=0 (homing cycle, bool)
$23=1 (homing dir invert mask:00000001)
$24=100.000 (homing feed, mm/min)
$25=260.000 (homing seek, mm/min)
$26=50 (homing debounce, msec)
$100=8000.000 (x, step/mm)
$101=8000.000 (y, step/mm)
$110=260.000 (x max rate, mm/min)
$111=260.000 (y max rate, mm/min)
$120=10.000 (x accel, mm/sec^2)
$121=10.000 (y accel, mm/sec^2)
$130=50.000 (x max travel, mm)
$131=50.000 (y max travel, mm)

```

Figura 5-10: Configuración Grbl.

Una de las operaciones más importantes es el Home. Cuando se conecta el puerto serie, el Arduino desconoce la posición actual del mecanismo y desde dónde tiene que empezar a contar los pasos. Para poder hacer esto, se debe realizar un *homing*, que es el proceso de búsqueda de los finales de carrera y establecimiento de la posición en (0,0). Se ha programado un *homing* al inicio para que se ejecute automáticamente, pero también se puede realizar en cualquier momento haciendo uso del comando \$H. Por seguridad, el sistema se bloquea tras realizar un *homing*. Para desbloquearlo y poder trabajar normalmente, será necesario pasarle el comando \$X.

Existen diferentes formas de mover el sistema haciendo uso del lenguaje GCode. Con el comando G90 se va a la posición indicada, mientras que G91 mueve una distancia específica.

Por ejemplo:

- G90 X10Y10 → Mueve el sistema a la posición (10,10).
- G91 X10Y10 → Mueve el sistema X*10 e Y*10, siendo X e Y los avances definidos en cada momento. Si X e Y son iguales a 1 mm, avanzará 10 mm en el sentido positivo tanto del eje X como del Y.

Cada vez que se envía una instrucción al Arduino, éste responde de una determinada manera. Por ejemplo, después de enviarle una orden de posicionamiento, y de éste responder con un *ok*, se envía un “?” para conocer la posición y el estado del sistema. Estas peticiones se han programado en bucle, para recoger toda la información hasta que el sistema se posicione en las coordenadas establecidas. La respuesta emitida por el Arduino a cada petición, presenta la siguiente estructura:

```
<Idle,MPos:-2.000,-1.000,0.000,WPos:20.000,15.000,0.000>\r\n
```

En ella se informa del estado actual del sistema (*Idle*, *Run*), de la posición de la máquina (*MPos*) y de la posición de trabajo (*WPos*). La posición de la máquina se establece a partir del (0,0) calculado tras un *homing*, mientras que la posición de trabajo coincide con la posición de la máquina a no ser, como se verá más adelante, que se establezca una nueva referencia (0,0) u *offset* para trabajar.

Tras realizar varias pruebas de funcionamiento se ha detectado que, dependiendo del nivel de carga que tenga el Arduino y el equipo, las tramas enviadas por el Arduino pueden variar, como se puede ver en la siguiente tabla de ejemplos.

Tabla 5-3: Ejemplos de tramas enviadas por el Arduino.

Ejemplos	
Ejemplo 1	
1ª trama	<Idle,MPos:-2.300,0.050,0.
2ª trama	000,WPos:20.000,15.450,0.000>
Ejemplo 2	
1ª trama	Ok\r\n<Idle,MPos:-2.000,-1.000,0.000,WPos:20.000,15.000,0.000>\r\nOk\r\n
Ejemplo 3	
1ª trama	<Run,MPos:-2.000,-1.000,0.000,WPos:20.000,15.000,0.000>\r\nOk\r\n
	<Run,MPos:-2.550,-1.550,0.000,WPos:19.450,14.450,0.000>\r\nOk\r\n
	<Idle,MPos:-3.000,-2.000,0.000,WPos:19.000,14.000,0.000>\r\nOk\r\n
	<Idle,MPos:-3.000,-2.000,0.000,WPos:19.000,14.000,0.000>\r\nOk\r\n

Debido a que la respuesta por parte del Arduino es variable según las condiciones en las que se encuentre, ha sido necesario almacenar el total de la trama como paso previo a su análisis, con el fin de conocer la posición del sistema en cada momento. Inicialmente se

optó por capturar los seis primeros decimales posteriores a $Mpos$, pero como se puede ver en el ejemplo 1 de la Tabla 5-3, existe un problema de captura al partir los números decimales. Por ello, se optó por capturar toda la información incluida entre “<” ”>” y analizarla posteriormente, guardando las 4 posiciones relevantes para el sistema, X e Y de $Mpos$ y X e Y de $WPos$, en un array.

Por otro lado, es posible almacenar en memoria EEPROM hasta seis posiciones de trabajo ($Wpos$) y dos de posicionamiento ($MPos$). Con el comando $G10 L2 P\sim X\sim Y\sim Z\sim$, donde P puede variar de uno a seis, se establecen las posiciones de trabajo u *offsets*. Cada posición de P hace referencia a un comando, siendo G54 el offset de P1, G55 el de P2 y así sucesivamente hasta G59. Por otro lado, el comando $G28.1 X\sim Y\sim Z\sim$ y $G30.1 X\sim Y\sim Z\sim$ almacenan posiciones referidas al (0,0) de la máquina. En el siguiente ejemplo se explica el funcionamiento de estas memorias.

1. Realiza un *homing* en busca del (0,0) del sistema.
2. $G90 X2Y2 \rightarrow$ Va a la posición (2,2).
3. $G91 X0Y0 \rightarrow$ No se mueve, ya que debe avanzar $0*X$ e $0*Y$.
4. $G10 L2 P1 X15Y15 \rightarrow$ Establece un offset (G54) en (15,15).
5. $G28.1 X30Y30 \rightarrow$ Guarda la posición (30,30).
6. $G54 G90 X0Y0 \rightarrow$ Va a la posición (15,15) y establece allí el (0,0) de trabajo.
7. $G90 X2Y2 \rightarrow$ Va a la posición (2,2) de trabajo, que es la (17,17) de la máquina.
8. $G28 \rightarrow$ Va a la posición (30,30) de la máquina o (15,15) de trabajo.
9. $G91 X1Y1 \rightarrow$ Avanza a las posición (31,31) de la máquina.
10. $G90 X2Y2 \rightarrow$ Vuelve a la posición (2,2) de trabajo o la (17,17) de la máquina
11. $G90 X2Y2 \rightarrow$ No se mueve. Ya está en esa posición.

En la Figura 5-11 se muestra el diagrama de flujo de la recepción de datos por el puerto serie, donde quedan reflejadas todas las opciones que se han tenido en cuenta y se han detallado anteriormente.

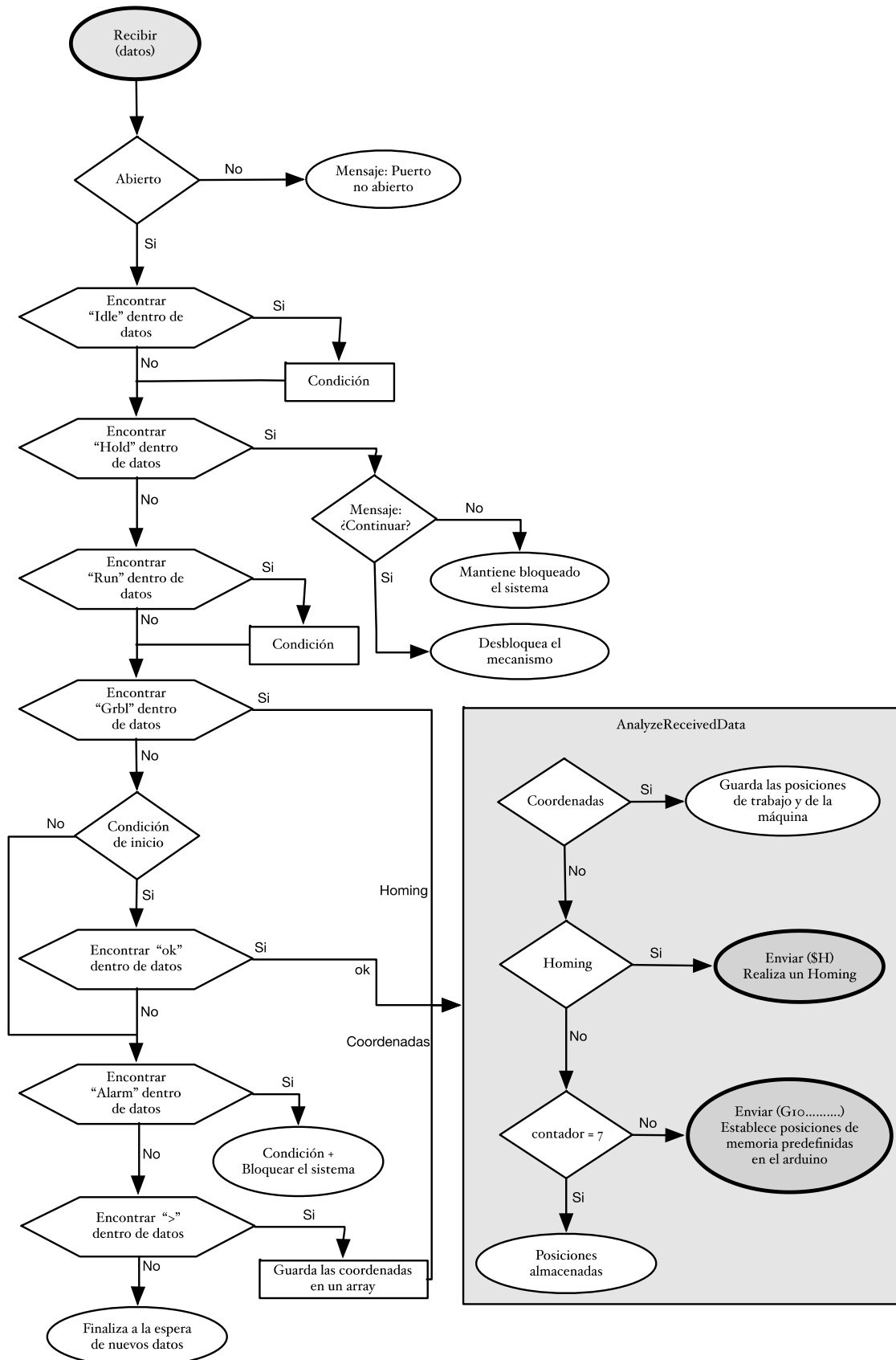


Figura 5-11: Diagrama de flujo de la recepción de tramas por puerto serie.

5.3 Diseño de la interfaz de usuario genérica y automatización de las capturas

Se ha diseñado una interfaz gráfica, tanto para el control de la cámara como para el manejo de la parte mecánica, con el fin de facilitar al usuario final el uso del sistema. Para ello se ha usado el diseñador de *Windows Forms*, que proporciona una solución de desarrollo rápida para la creación de aplicaciones. *Windows Forms* (o formularios *Windows*) es el nombre dado a la interfaz de programación de aplicación gráfica (API) que se incluye como parte de *Microsoft .NET Framework*, que proporciona acceso a los elementos de la interfaz de *Microsoft Windows* nativas incluyendo la API de *Windows* existente en código administrado.

En este documento únicamente se menciona aquellas clases que han sido utilizadas para diseñar la interfaz gráfica, y que pertenecen al espacio de nombres *System.Windows.Forms*, sin entrar en mayor detalle. Toda la información referente a ellas se puede encontrar en [67]. Las clases utilizadas son: *ComboBox*, *TextBox*, *FolderBrowserDialog*, *TabControl*, *TabPage*, *Button*, *Label*, *TrackBar*, *ProgressBar*, *Panel*, *ImageList*, *ListView*, *NumericUpDown*, *PictureBox*, *CheckBox*, *ToolTip*,

Dentro del espacio de nombres *System.ComponentModel*, que proporciona clases que se utilizan para implementar el comportamiento de tiempo de ejecución y tiempo de diseño de componentes y controles, se ha utilizado la clase *BackgroundWorker* que es capaz de ejecutar una operación en un subproceso distinto para poder trabajar con diferentes hilos.

5.3.1 Interfaz gráfica para el control de la cámara

Como se puede ver en la Figura 5-12, se han creado una serie de pestañas dentro del *formulario* con el fin de agrupar las funcionalidades disponibles. En la primera pestaña (Cubert) se accede a todas las funcionalidades de control de la cámara descritas en el apartado 5.1.

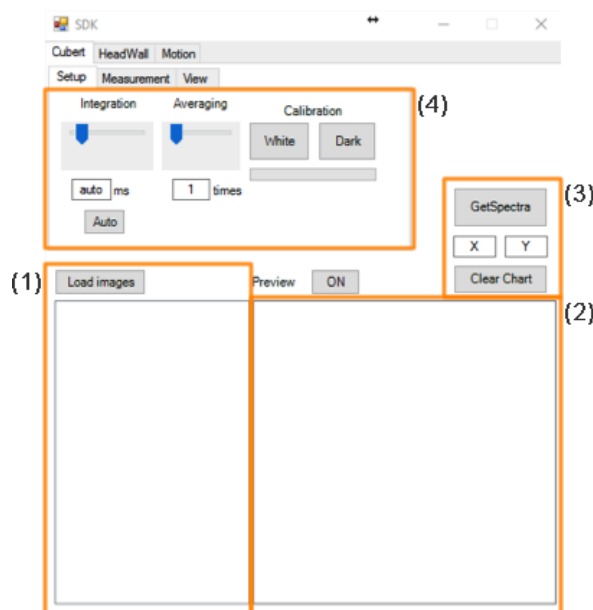


Figura 5-12: Interfaz gráfica para el control de la cámara.

De forma general, hay un panel de visualización en el que se muestran las imágenes capturadas (1), con un botón para cargar rutas existentes y poder trabajar con imágenes ya capturadas, y otra donde se muestra la imagen cargada en memoria (2), ya sea por haber sido capturada o porque está activo el botón de previsualización. Al introducir la posición de un píxel y pulsar sobre el botón *GetSpectra* (3) o pulsar sobre la imagen cargada, se abre un segundo formulario (*Cubert Plot panel*), como se muestra en la Figura 5-13, mostrando la firma espectral del píxel o píxeles seleccionados. También aparecerá remarcado el píxel de la imagen seleccionado. Esta funcionalidad busca mostrar rápidamente la información espectral del cubo capturado para que el usuario se haga una idea de lo que ha obtenido.

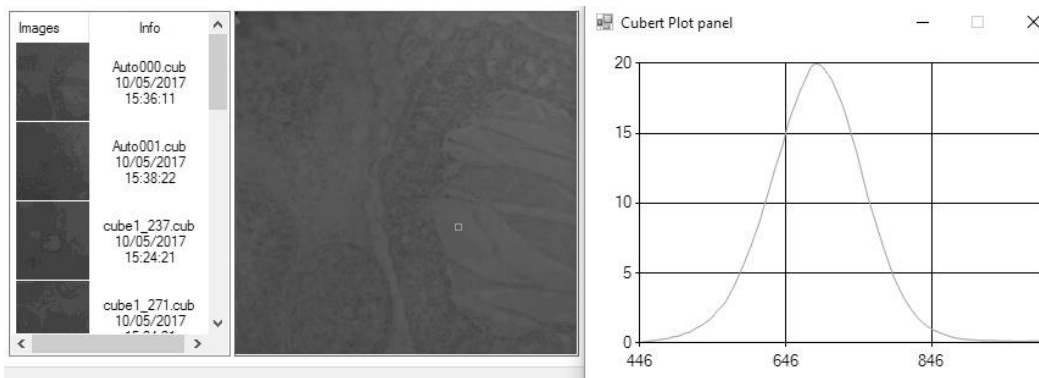
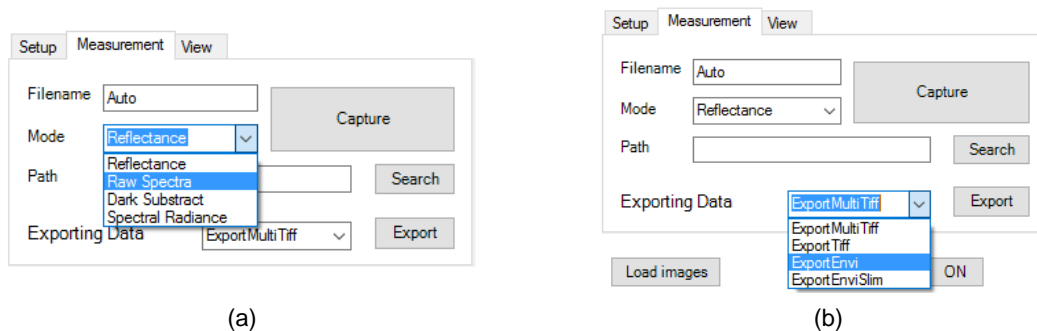


Figura 5-13: Formulario para la visualización de la firma espectral de un píxel.

En la sub-pestaña *Setup* (4), se tiene acceso a la configuración de la cámara, pudiendo cambiar parámetros como el tiempo de exposición, así como el promediado de las capturas. Para ello se puede tanto mover la barra de seguimiento como introducir el valor manualmente. También se ha habilitado un botón para establecer como automático el valor del tiempo de exposición.

Por otro lado, con el botón *White* se realiza la captura del balance de blancos, mientras que con *Dark* se realiza la captura de la referencia de negro.

En la pestaña de medición, como se observa en la Figura 5-14(a), se permite establecer el nombre de la captura, el tipo de captura y la ruta para su almacenamiento. Cabe destacar que, si no se establece un nombre o una ruta para las capturas, el servidor C-Link pondrá unos valores por defecto. También se contempla la opción de exportar el cubo que se encuentre en memoria, como se observa en la Figura 5-14(b).



(a)

(b)

Figura 5-14: Interfaz gráfica de la cámara: Medición.

(a) Modo de captura (b) Exportar

En la última sub-pestaña *View*, se puede modificar tanto el brillo como la representación en RGB de la imagen capturada. Para ello pueden usarse tanto las barras de seguimiento como la introducción manual de los valores en cada una de las casillas correspondientes, tal y como se muestra en la Figura 5-15.

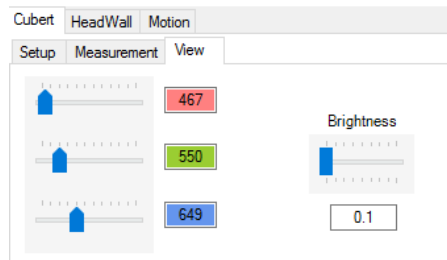


Figura 5-15: Interfaz gráfica de la cámara: Vista.

5.3.2 Interfaz gráfica para el control del sistema mecánico

En la pestaña de movimiento, como puede verse en la Figura 5-16, se ha diseñado el control del sistema mecánico y la automatización del sistema de capturas de mosaicos. En este apartado se especifican aquellas partes que hacen referencia únicamente al control del sistema mecánico.

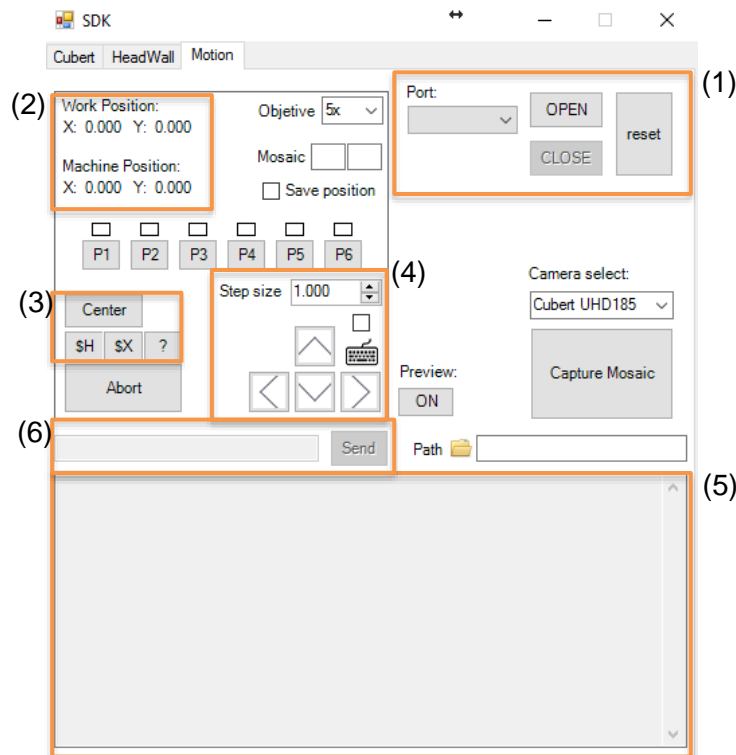


Figura 5-16: Interfaz gráfica para el control del sistema mecánico.

1. Espacio destinado a la apertura y cierre de la conexión con el puerto serie. Se ha implementado un desplegable para comprobar los puertos serie disponibles en cada momento. Una vez seleccionado se puede enviar la petición de conexión con el botón *OPEN*. Si la conexión resulta exitosa, este botón se desactiva y se activa el botón *CLOSE*. El botón de *reset* envía un *ctrl-x* al Arduino para reiniciar el Grbl.

2. Cuatro etiquetas que muestran en cada momento la posición del portaobjetos, tanto la real, relativa al (0,0) de la máquina, como la relativa al offset que esté activo en cada momento. En el caso de parada o de llegada a un límite marcado, el sistema se bloquea y muestra las etiquetas en color como muestra la Figura 5-17.

Work Position: X: 2 Y: 13	Work Position: X: 2 Y: 9.413
Machine Position: Alarm X: -19 Y: -1	Machine Position: Hold X: -19 Y: -4.587

Figura 5-17: Avisos de alarma para el sistema mecánico.

3. El botón *Center* es una posición precargada G30 que se ha establecido en el centro de la mesa de trabajo, coincidiendo con la posición de las lentes del microscopio. El botón “\$H” envía una petición de *homing* al Arduino, “\$X” desbloquea el sistema mecánico y el botón de ayuda “?” muestra una ventana con la información de cada una de las opciones disponibles, como se puede observar en la Figura 5-18.

Open / Close	Open or Close the serial port
Reset	Send a CTRL + X to Arduino
Objective	Magnification selected
Mosaic	Establish how many images form the mosaic
\$X	Manual Unlock
\$H	Do Homing
Center	Going to center
Abort	Cancel all operations
Step Size	How much advances in each order
\$G	GRBL status information
\$#	Work coordinate offsets and pre-defined positions
P1-P6	Available positions to save new offsets

Figura 5-18: Ventana de ayuda de la interfaz gráfica del sistema mecánico.

4. Este apartado está reservado al movimiento del sistema. Cada flecha mueve el portaobjetos en la dirección especificada. Cada movimiento será de X mm, siendo X el valor especificado en el cajón numerado *Step size*. Si se activa la casilla de teclado, el sistema responderá a las pulsaciones realizadas en las flechas físicas del teclado. Se ha programado la detección por subida de tecla y no por pulsación. De esta manera se asegura que el usuario final no deje pulsada una de las teclas y el sistema se des controle.
5. *LogBox* es el que se muestra parte de la información enviada tanto por el usuario como por el Arduino. Debido a que la mayor parte de los mensajes que se envían entre las dos partes son de posicionamiento, así como mensajes de control, se ha optado por mostrar únicamente aquellos que sean relevantes para un usuario final. Se ha dejado en segundo plano una consola en la que se muestra la totalidad de la comunicación, así como mensajes de control introducidos en el código para depuración.
6. Por último, se ha creado un *TextBox* para que el usuario pueda enviar comandos personalizados al Arduino. Para ello se puede pulsar el botón *Send* o la tecla *Enter* del teclado. Además se ha creado una memoria circular del tipo LIFO (*Last In, First Out*) (Figura 5-19). Estando en el *TextBox* y pulsando las teclas de dirección arriba

o abajo, se podrá acceder a los últimos datos enviados. Se ha establecido el tamaño de la pila en diez, pero es un valor configurable dentro del código.

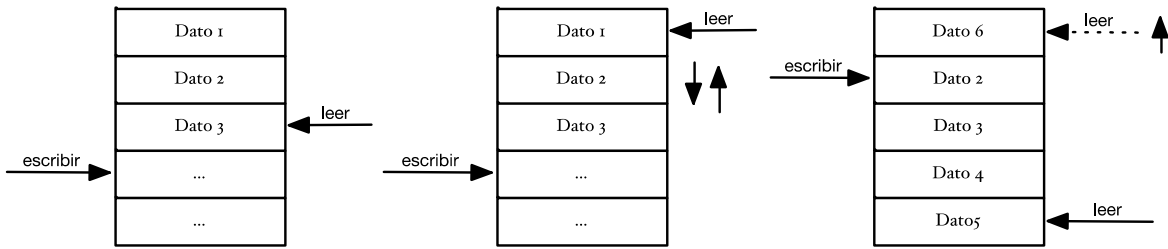


Figura 5-19: Memoria LIFO circular

5.3.3 Automatización de la captura de mosaicos

La idea de este sistema es realizar un barrido con el cual construir un mosaico de cubos hiperspectrales partiendo de una posición inicial establecida por el usuario. Para un mosaico de 3x3, el sentido del barrido será como el mostrado en la Figura 5-20. Cabe destacar que, en ocasiones, existen varias zonas de interés susceptibles de ser analizadas. Para ello se hace uso de los *offsets* disponibles, marcando las posiciones de cada uno de los mosaicos que se quieren capturar, como se muestra en la Figura 5-21, para finalmente capturarlos todos de forma continuada. Esto reduce la interacción del usuario con el sistema, haciendo que únicamente se tengan que definir las zonas de interés de forma previa a realizar la captura.

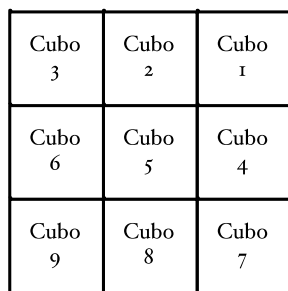


Figura 5-20: Generación de un mosaico 3x3.

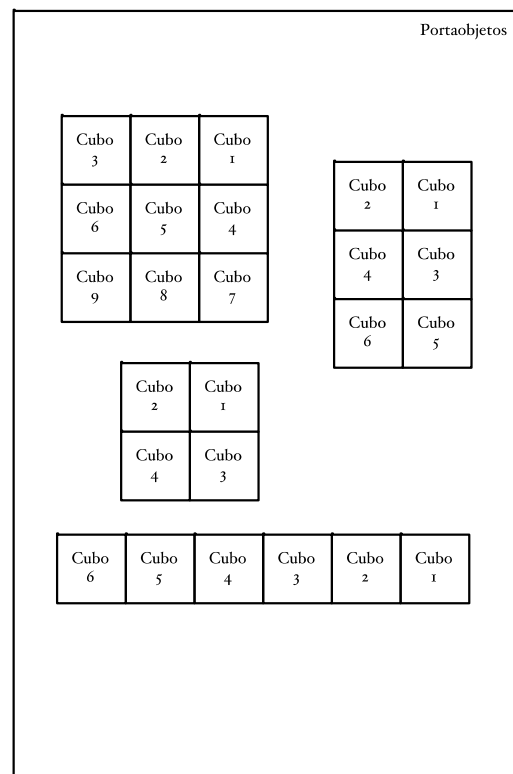


Figura 5-21: Mosaicos dentro de un portaobjetos.

En este apartado se explican las partes de la interfaz gráfica, mostradas en la Figura 5-22, que intervienen en la captura de los mosaicos, así como el funcionamiento del código que se ha creado para la automatización de este proceso.

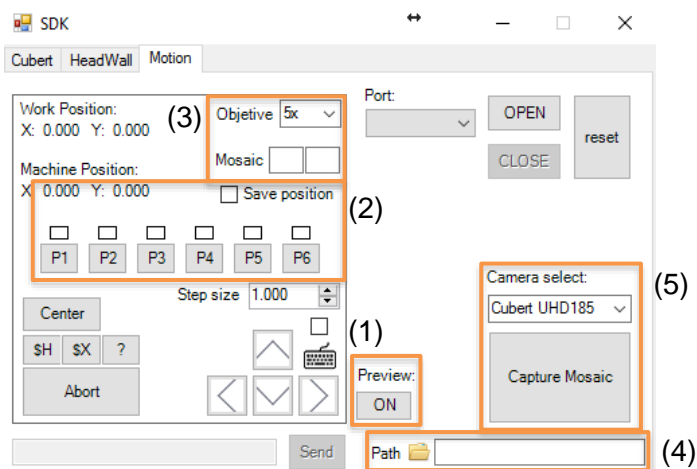


Figura 5-22: Interfaz gráfica para la automatización de los mosaicos.

1. Este botón funciona igual que el que se encuentra en la pestaña de *Cubert*. Al activarse, aparece un nuevo formulario con la previsualización de la cámara. Este punto es bastante útil ya que se puede variar el enfoque y mover el sistema al mismo tiempo que se muestra una imagen en directo de lo que se visualiza en el microscopio, sin tener que enfocar haciendo uso del binocular del microscopio.
2. Los botones P hacen referencia a los *offsets* disponibles. Para guardar una nueva posición, se debe llevar el sistema al punto deseado, marcar la casilla *Save Position* y pulsar sobre alguno de los botones P. Inmediatamente el indicador de posición correspondiente se ilumina en verde, validando dicha posición. Pulsando sobre los indicadores, se puede desactivar el mosaico para la siguiente captura, pasando este a color rojo. A la hora de realizar las capturas, se utilizan todas aquellas posiciones que aparezcan activadas. Todas las posiciones son reutilizables, mostrando un mensaje de confirmación para cambiar la posición del offset (Figura 5-23). Al pulsar sobre alguno de los botones, sin estar marcada la casilla *Save Position*, el sistema se posicionará en las coordenadas guardadas en ese offset y establecerá ahí su (0,0) de trabajo. Su diagrama de flujo se puede ver en la Figura 5-24.

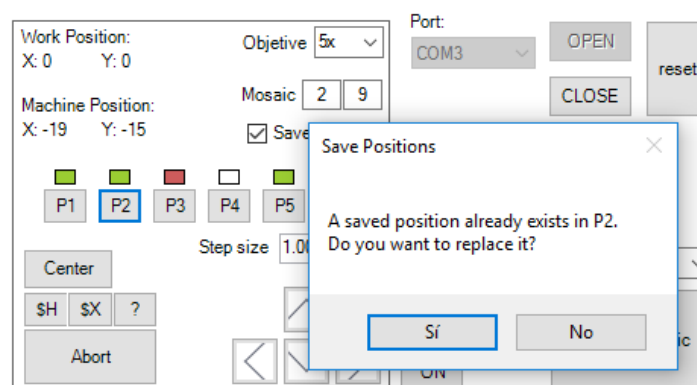


Figura 5-23: Posiciones de guardado y mensaje de reutilización.

3. Desplegable de magnificación. Se debe elegir la magnificación que se esté usando en el microscopio, ya que el desplazamiento entre capturas variará según la lente que se esté usando. Los *TextBox* para el mosaico establecen el tamaño de este, es decir, el número de capturas que se van a tomar (2x3, 5x3, 10x10, 25x30, etc.).
4. Ruta para el almacenamiento de las capturas realizadas por la cámara. Junto a ellas se generará tanto el mosaico como su cabecera.
5. Inicio de la captura. Antes de comenzar, se muestra un aviso para que el usuario se asegure de que las lentes no tocarán ninguna parte del sistema mecánico.

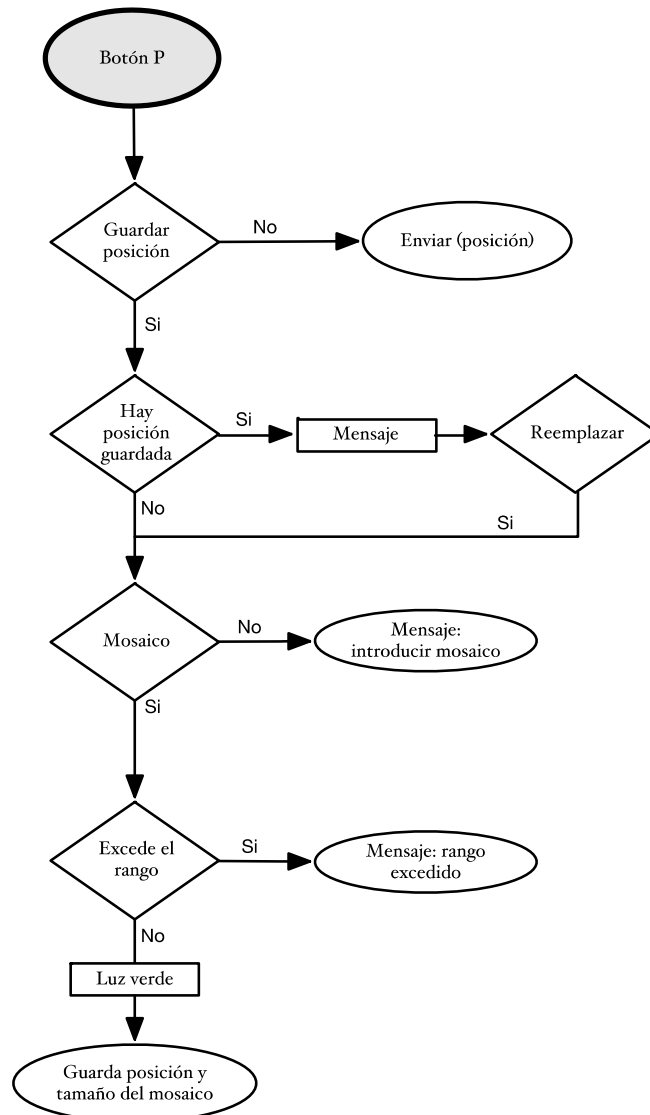


Figura 5-24: Diagrama de flujo del almacenamiento de posiciones.

La interfaz se ha diseñado de manera que el proceso resulte simple y guiado. Cada paso tiene mensajes de aviso si no se ha realizado algún paso necesario previo. Por ejemplo, no se permite capturar un mosaico sin haber seleccionado una ruta para guardar las capturas, o guardar una posición sin haber establecido el tamaño del mosaico. Además, si el mosaico introducido excede el rango de movimiento del sistema, se muestra un mensaje de aviso para que se cambie la posición inicial o se reduzca el mosaico. Lo que sí es posible es realizar la captura de un único mosaico sin haber guardado previamente la posición. Una vez se pulse el botón de capturar, se guarda automáticamente la posición actual del

sistema y el tamaño del mosaico en la primera posición de memoria libre que haya, siempre y cuando el mosaico no exceda el rango del sistema, tras lo cual se inicia el proceso de capturas.

En la Figura 5-25 se muestra el diagrama de flujo para el proceso de captura de uno o varios mosaicos.

Todo el proceso de captura se realiza en múltiples hilos paralelos. De esta manera se ha ganado en optimización y rendimiento, permitiendo además que la interfaz gráfica no quede bloqueada durante el proceso de adquisición.

El **primer hilo**, mostrado en la Figura 5-26(a), se encarga de llevar el control sobre los mosaicos que se van a capturar, modificando además los colores de la interfaz gráfica para mostrar la evolución del proceso, como puede verse en la Figura 5-27, donde el primer mosaico ya está terminado y se está procesando el segundo. Este hilo queda activo hasta que el hilo 5, donde se generan los mosaicos, finalice, para poder liberar la memoria reservada en el proceso de captura de mosaicos mostrado en la Figura 5-25, y evitar que el usuario final intente realizar alguna otra captura durante el proceso.

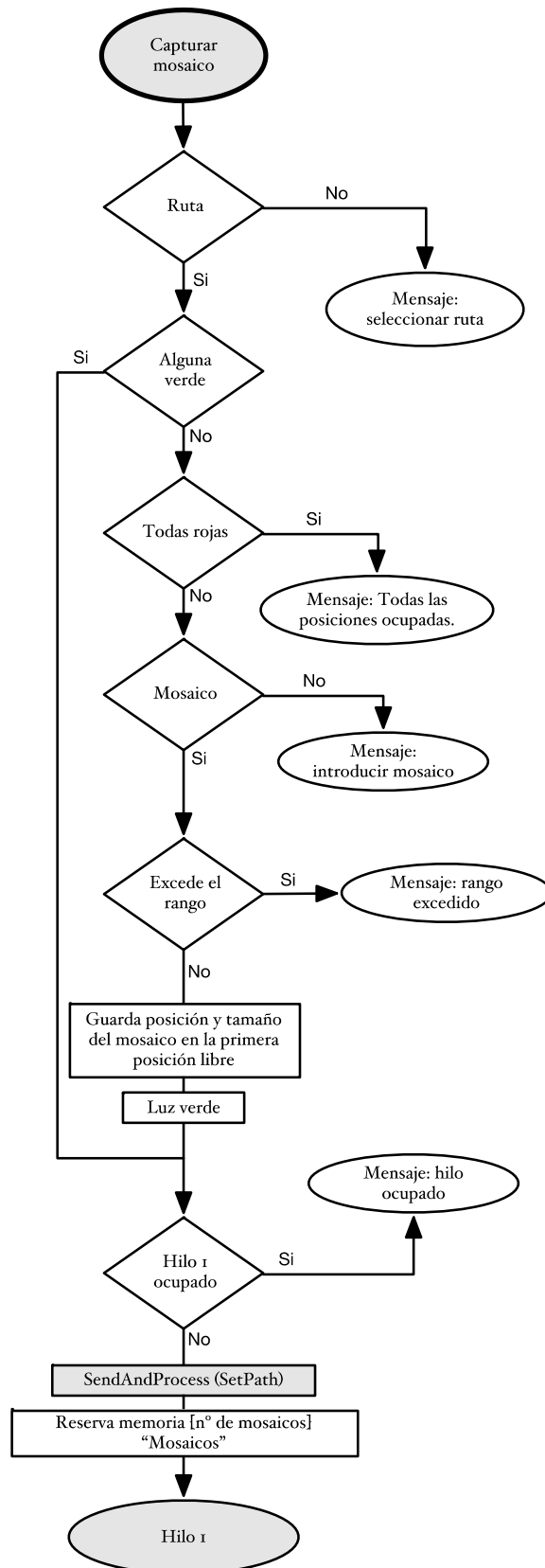


Figura 5-25: Diagrama de flujo para la captura de mosaicos.

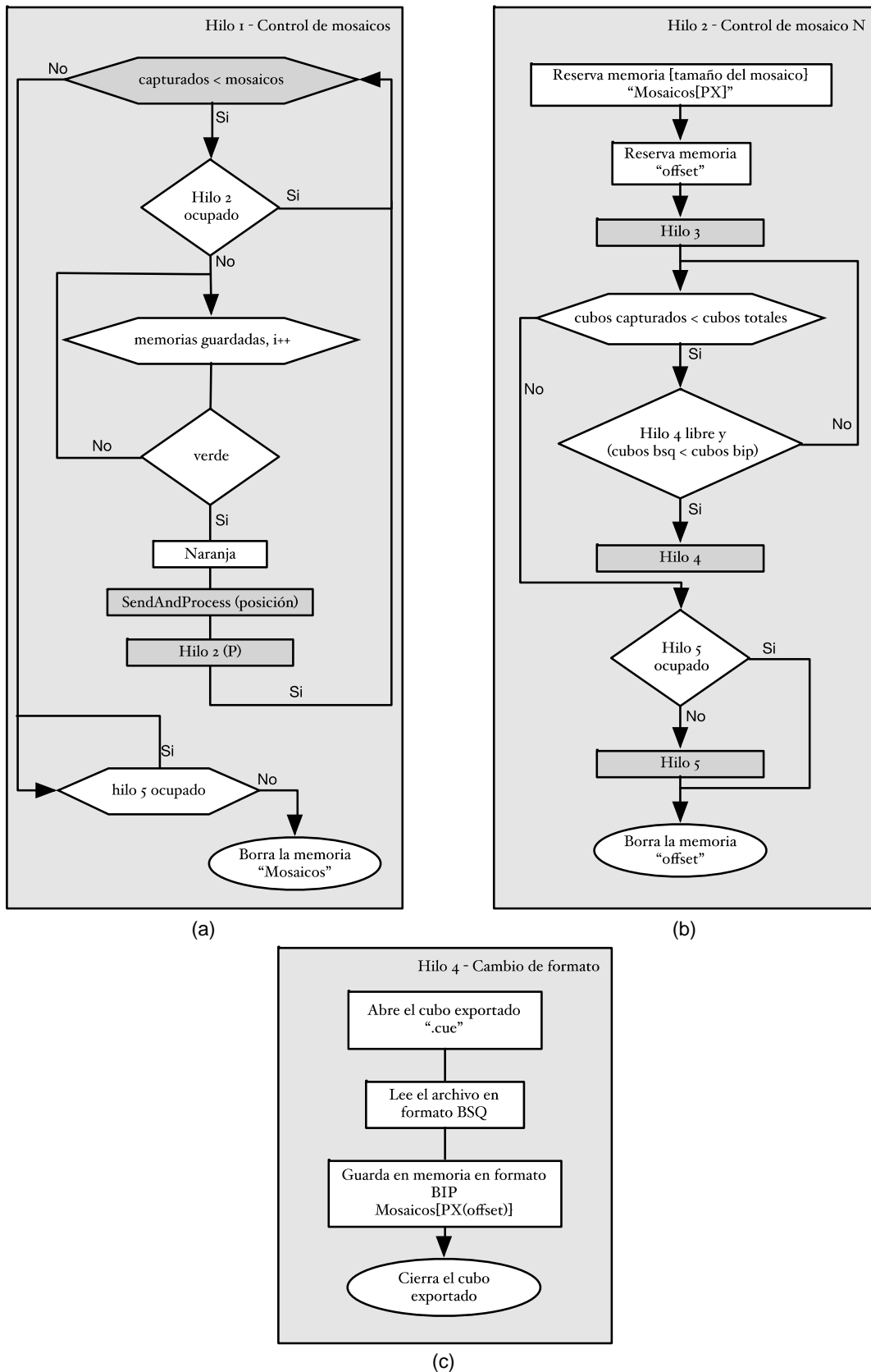


Figura 5-26: Diagramas de flujo de los hilos paralelos de la captura de mosaicos.
(a) Hilo 1 (b) Hilo 2 (c) Hilo 4

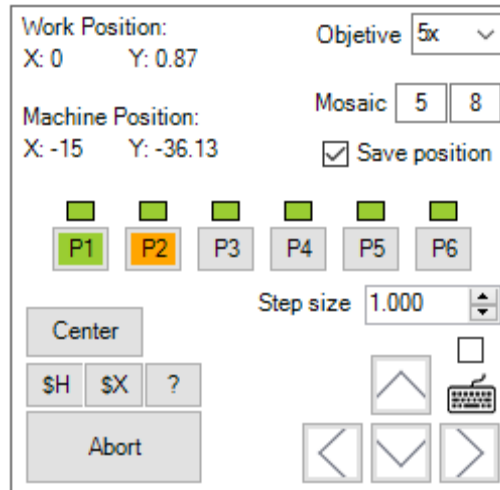


Figura 5-27: Control de mosaicos a procesar.

El **segundo hilo** (Figura 5-26(b)) es el encargado de controlar el proceso de captura de cada mosaico. En él, se realizan dos reservas de memoria. La primera se encarga de reservar el espacio necesario para guardar los datos del mosaico que se va a capturar y se establece en una de las posiciones de la memoria reservada anteriormente en el proceso de captura. A continuación, se muestra un ejemplo de una reserva de memoria para seis mosaicos, creando un array de seis posiciones, y la correspondiente reserva para la captura del segundo mosaico, la cual se guarda en la posición dos del array.

Mosaicos a capturar → Mosaicos[1,2,3,4,5,6]

Tamaño del mosaico en píxeles → Mosaicos[2]=CC*FC*BC*CM*FM

Siendo CC=Columnas del Cubo, FC=Filas de Cubo, BC=Bandas del Cubo, CM=Columnas del Mosaico, FM= Filas del Mosaico.

La segunda reserva hace referencia a una memoria *offset* encargada de determinar la posición de los píxeles. Tras la reserva se hace una llamada al hilo 3, para comenzar con las capturas, y se realiza un bucle hasta que se capturen todos los cubos del mosaico. En el bucle, cada vez que el hilo 3 haya exportado un cubo, se realizará una llamada al hilo 4 para que comience el cambio de formato. Una vez ambos han terminado, se realiza una llamada al hilo 5 y comienza a montarse el mosaico. Esta llamada sólo se realiza la primera vez que se captura un mosaico. En el caso de que hayan programados varios mosaicos para capturar, el hilo 5 se autogestiona, ya que puede darse el caso donde la captura (hilo 3) y el cambio de formato (hilo 4) acaben antes que la generación del mosaico (hilo 5), haciendo que el hilo 2 quede bloqueado hasta que el 5 termine, provocando que el hilo 1 no ordene nuevas capturas.

El **tercer hilo** (Figura 5-28(a)) se encarga del control de la cámara y del movimiento. En este hilo se realiza: 1) el movimiento a cada una de las posiciones donde se toman las capturas, 2) la obtención de cada uno de los cubos del mosaico, 3) se exporta a formato ENVI cada uno de los cubos capturados y 4) se actualiza el *offset* de la posición. Además, se comprueba que el sistema mecánico esté en todo momento en la posición correcta.

Los cubos hiperespectrales se almacenan en archivos binarios. Existen tres formatos comunes para la organización de los datos dentro de estos archivos son BSQ (*Band Sequential*), BIP (*Band Interleaved by Pixel*) y BIL (*Band Interleaved by Line*). Como se muestra en la Figura 5-29, en BSQ se disponen todos los píxeles de cada banda antes de proceder con la siguiente, en BIP se encuentra la información de cada píxel para todas las bandas antes de proceder con el siguiente píxel y en BIL se organiza la información de cada línea de píxeles para todas las bandas antes de proceder a la siguiente línea.

La cámara UHD-185 exporta los cubos con un formato BSQ. Este formato es útil si el algoritmo de procesamiento que se utilice trabaja banda a banda, pero en el caso de trabajar a nivel de líneas o de píxeles, será necesario esperar a tener el cubo al completo para poder procesarlo.

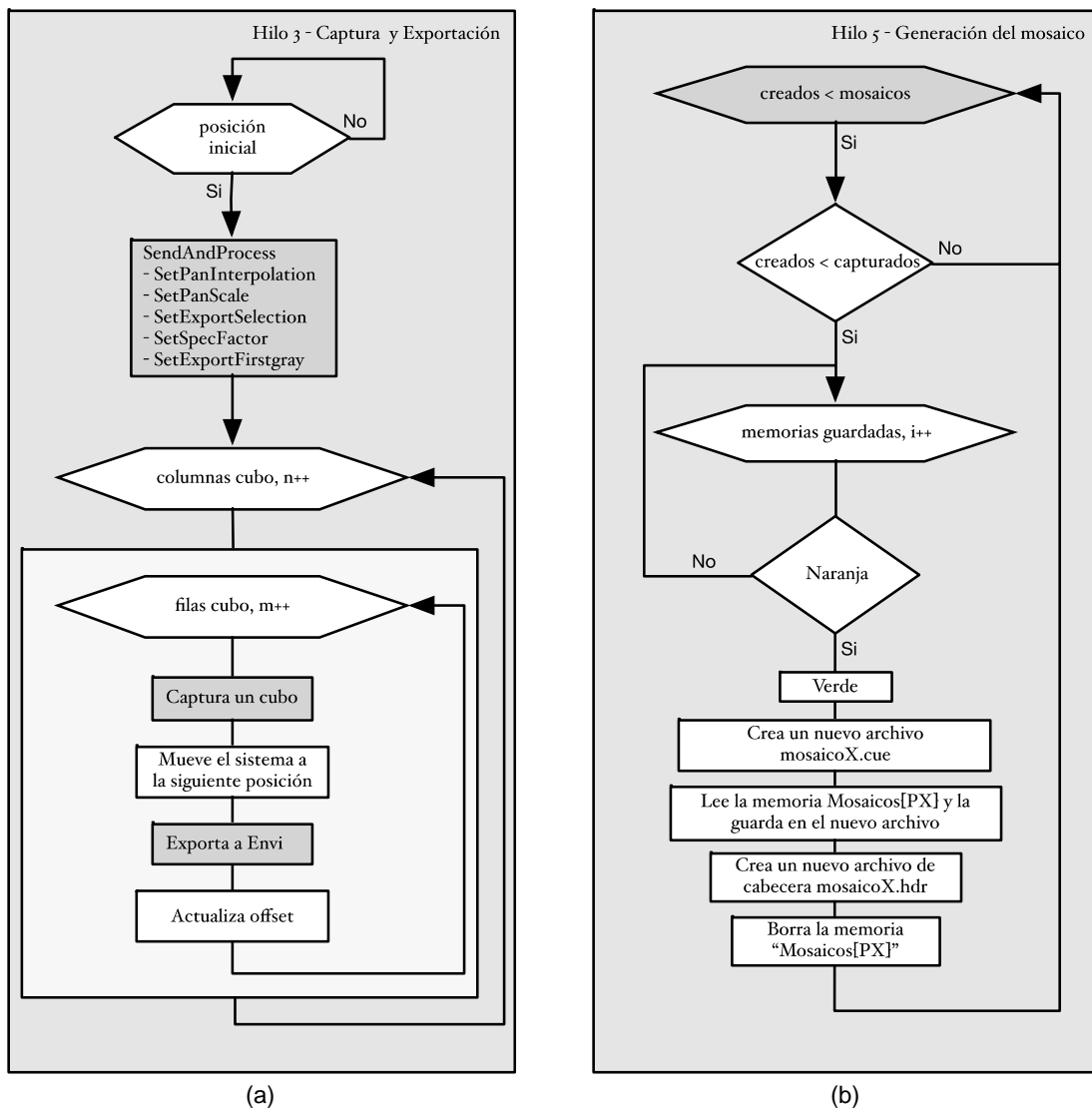


Figura 5-28: Diagramas de flujo de los hilos paralelos de la captura de mosaicos. (a) Hilo 3 (b) Hilo 5

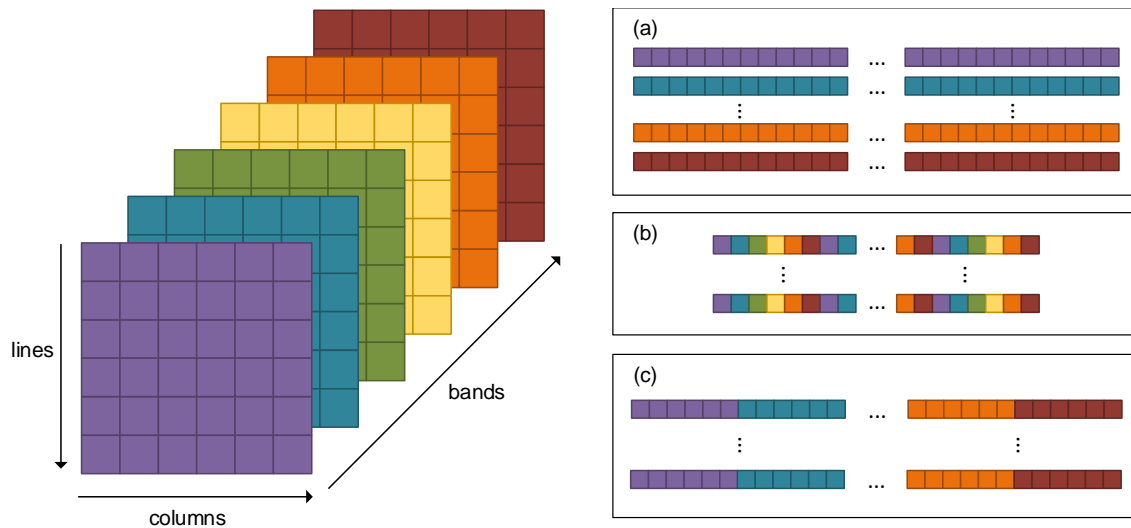


Figura 5-29: Métodos de organización de datos para imágenes multibanda.
(a) BSQ (b) BIP (c) BIL

Teniendo en mente la posibilidad de realizar procesamientos futuros con los mosaicos obtenidos y así facilitar su procesado, se ha decidido implementar un cambio de BSQ a BIP en todos los cubos capturados antes de formar el mosaico. De esta manera, al ir almacenando la información de cada píxel banda a banda, una vez guardado dicho píxel ya estará disponible para ser procesado. Esta funcionalidad se implementa en el **cuarto hilo** (Figura 5-26©). La nueva organización de los datos se guarda en la memoria reservada en el hilo 2.

Por último, en el **quinto hilo** (Figura 5-28(b)) se genera el mosaico con todas las capturas realizadas. Para ello, se accede a las posiciones de memoria, donde se han almacenado los datos en formato BIP, y se guardan en un archivo con extensión “.cue”. Además se genera una archivo de cabecera “.hdr” con el mismo nombre. La memoria reservada, donde se almacena la información de los cubos en formato BIP, se elimina y se procede con el siguiente mosaico si lo hubiese.

En la Figura 5-30 se muestra un cronograma con un ejemplo de ejecución del sistema en el que se capturan dos mosaicos. Inicialmente el Hilo1 (encargado del control de mosaicos) activa el Hilo_i2 (encargado del control de capturas) con un mosaico de 2x3. Este a su vez activa el Hilo_i3 (encargado del proceso de las capturas) que comienza a capturar los cubos. Por cada cubo capturado, el Hilo_i2 activa el Hilo_i4 (encargado de transformar de BSQ a BIP). Una vez el Hilo_i4 finaliza con el último cubo, el Hilo_i2 activa el Hilo_i5 (encargado de la generación del mosaico) y se cierra, avisando al Hilo1 para que prosiga con nuevos mosaicos. Este activa nuevamente el Hilo_{i+1}2 con un nuevo mosaico de 2x2. Se repite el proceso de captura y transformación de los hilos 3 y 4. En el caso de que el Hilo_i5 termine de generar el mosaico antes que el Hilo_{i+1}4, se queda esperando a que termine para comenzar con el nuevo mosaico. Una vez finalizado, se cierra tanto el Hilo_{i+1}5 como el Hilo1.

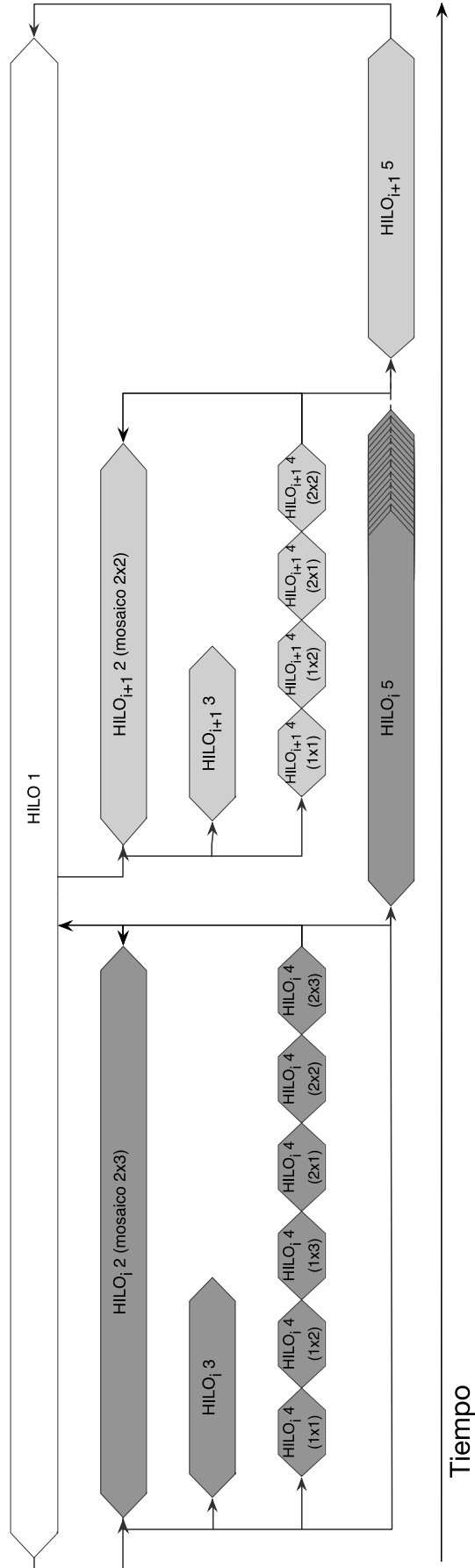


Figura 5-30: Cronograma de un ejemplo de ejecución de hilos.

5.4 Resumen

En este capítulo se ha detallado el desarrollo del software necesario para controlar el sistema de adquisición hiperespectral. Esto incluye tanto el software de control del sistema mecánico, como el software de control de la cámara para la adquisición de imágenes. Una vez se han desarrollado ambos controladores por separado, se ha desarrollado un programa que permite el control sincronizado de ambos sistemas, permitiendo mover el portaobjetos para realizar capturas sucesivas de un mismo portaobjetos.

Además, se ha expuesto la metodología seguida para la generación de un cubo hiperespectral generado con el sistema de captura microscópico, que consiste en la creación de un mosaico en el que cada cubo generado por la cámara (perteneciente a campos de visión cercanos) se une con el resto.

Finalmente, se ha desarrollado una interfaz de usuario que permite el manejo del sistema de captura de forma intuitiva. Esta interfaz de usuario se ha desarrollado de forma amigable, separando cada uno de los procesos en pestañas para una mayor claridad.

6 Integración y verificación del sistema de adquisición

Hasta ahora se ha estudiado cada una de las diferentes partes que forman el sistema de adquisición por separado, pero para tener una idea clara de la forma de trabajar del sistema, se debe tener una perspectiva sencilla y global. El sistema queda integrado en el microscopio siguiendo el diagrama de bloques mostrado en la Figura 6-1. La cámara acoplada al microscopio, a través del trinocular, a la vez que se conecta a un ordenador con dos cables de red; el sistema mecánico fijado a la base del microscopio con el cableado de los motores y de los finales de carrera conectado a la placa CNC Shield y al Arduino el cual, a su vez, se conecta al ordenador por un puerto USB.

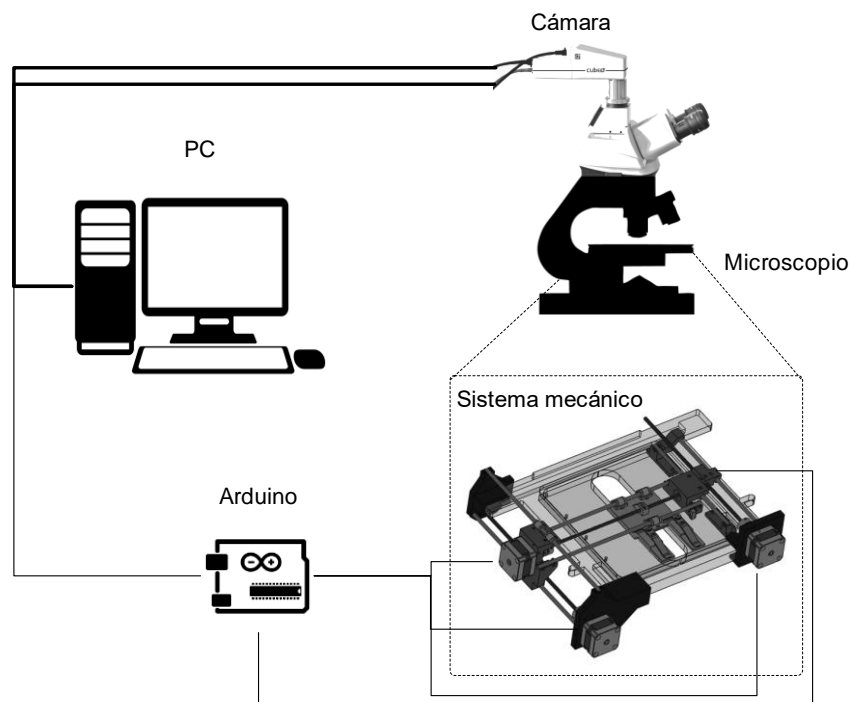


Figura 6-1: Componentes que forman el sistema de captura.

6.1 Evaluación del sistema de medida en microscopio

La cámara UHD-185 de Cubert precisa de un calibrado cada vez que la lente es cambiada. Para ello, el fabricante facilita un software con el cual realizar de forma guiada dicha calibración. Los requisitos previos para realizarlo son:

- Un cajón de calibrado
- Led verde
- Led rojo
- Luz blanca

Se ha fabricado un cajón de calibración a semejanza del fabricante, cuyas especificaciones establecen que el tamaño de la caja debe ser como mínimo 1,5 veces el área de

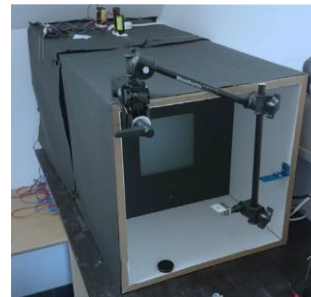
iluminación. Mientras que el fabricante hace uso de diodos láser, para el desarrollo de este PFC se ha optado por el uso de diodos LED, los cuales permiten realizar el proceso de calibración con un coste menor. Además, al usar diodos led SMD (*Surface Mount Device*), se ha logrado reducir considerablemente el tamaño del cajón. Las medidas utilizadas para fabricarlo, quedan reflejadas en la Tabla 6-1. El resultado final puede verse en la Figura 6-2(a) frente al del fabricante en la Figura 6-2(b). Los diodos se han soldado en una placa para poder utilizarlos junto con una fuente de alimentación, mientras que la luz blanca se toma de un foco halógeno suministrado junto con la cámara.

Tabla 6-1: Medidas del cajón de calibración.

Área de iluminación	14x14 cm ²
Largo	46 cm
Ancho	24 cm
Alto	24 cm
Distancia entre paneles	8 cm



(a)



(b)

Figura 6-2: Cajón de calibrado.
(a) Cajón fabricado (b) Cajón del fabricante

La calibración marcada por el software del fabricante pasa por capturar las componentes espectrales del verde (530 nm), el rojo (627 nm) y el blanco, como se puede observar en la Figura 6-4. Este proceso requiere una fuente de luz homogénea, por lo que se han utilizado piezas de plástico translúcido para lograr dispersar la luz lo más homogéneamente posible por toda la superficie capturada por la cámara. Para el calibrado de las lentes del microscopio ha sido necesario acoplar la placa de leds al sistema mecánico y guardar cada una de las posiciones en las que los leds se alinean perpendicularmente con la lente, como se muestra en la Figura 6-3, para lograr que el haz de luz no incida de forma oblicua.

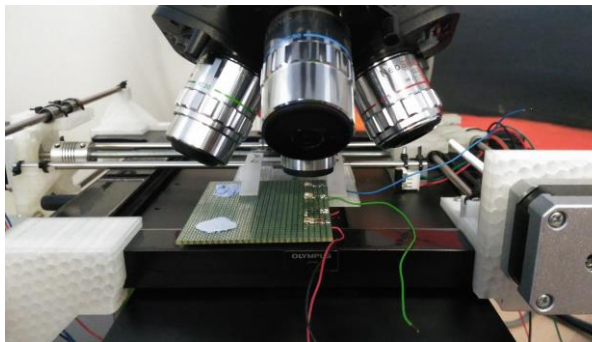


Figura 6-3: Diodos led alineados para la calibración.

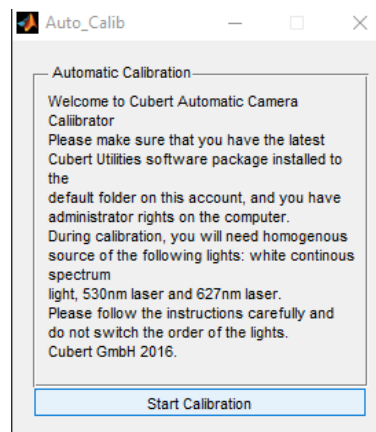


Figura 6-4: Software de calibración de la cámara.

El proceso de calibración seguido, tanto para las lentes normales como las del microscopio, puede verse en la Figura 6-5 y en la Figura 6-6 respectivamente.

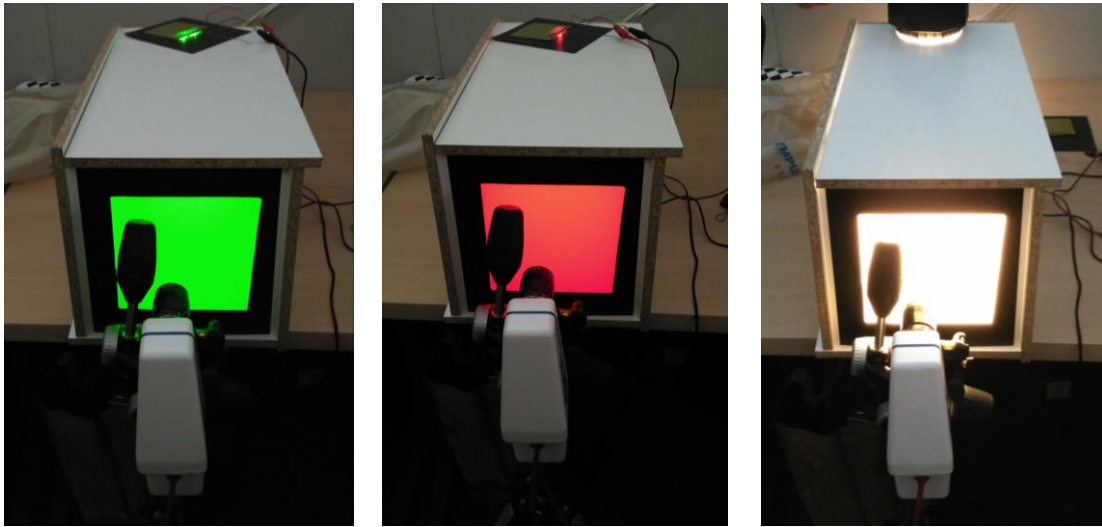


Figura 6-5: Proceso de calibración con cajón de calibrado.

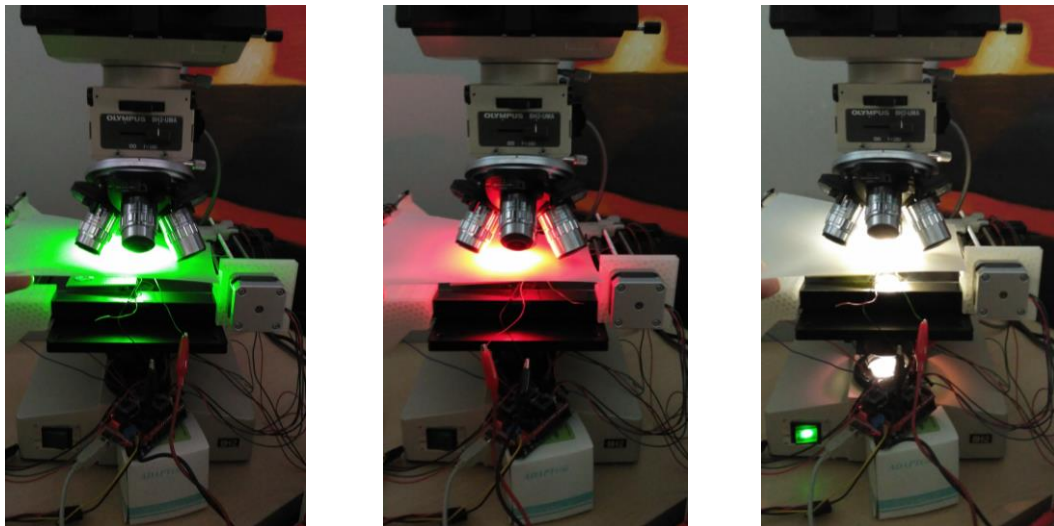


Figura 6-6: Proceso de calibración en microscopio.

Para comprobar la necesidad del calibrado, se han tomado capturas de cada una de las fuentes de luz antes y después del calibrado. En la Figura 6-7(a) se ve una comparativa realizada con luz blanca donde se aprecia como las lentes del microscopio filtran las componentes espectrales más cercanas al infrarrojo. Por tanto, para el procesado de estos espectros habrá que tener en cuenta que el ancho de banda de trabajo que se escoja estará limitado por las longitudes de onda que deja pasar el microscopio. Además, se puede comprobar que la cámara sin calibrar, con las lentes del microscopio, capta un mayor número de componentes espectrales. Para comprobar si la cámara está captando componentes espectrales erróneas cuando no está calibrada, se ha realizado el mismo proceso con una fuente de luz LED verde. Como se observa en la Figura 6-7(b), tanto la firma espectral de la cámara calibrada con las lentes normales como con las lentes del microscopio coincide, mientras que la firma espectral de la captura realizada con las lentes del microscopio y con la cámara sin calibrar difiere de las anteriores. Con esto se justifica la necesidad de calibrar la cámara cada vez que se cambia de lente.

6.1. Evaluación del sistema de medida en microscopio

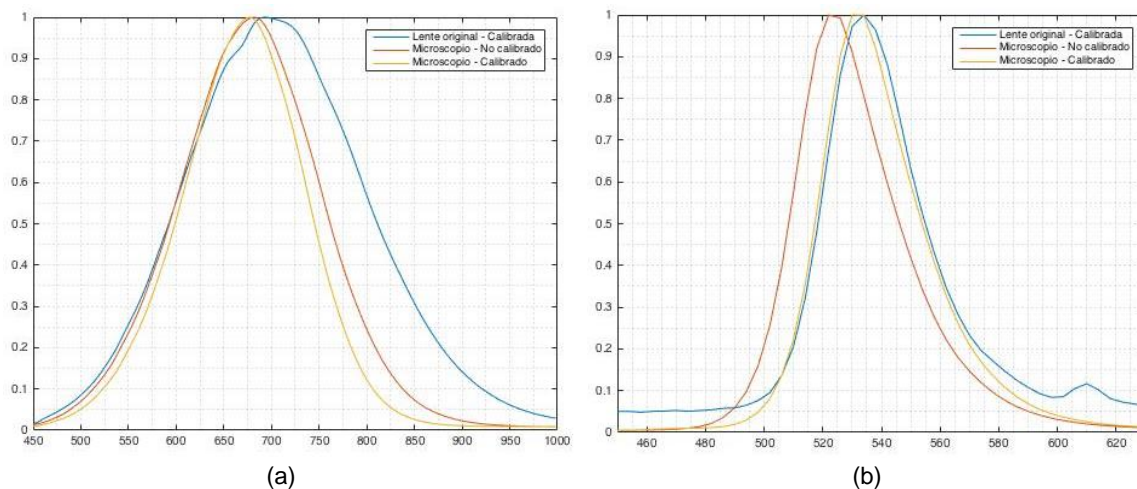


Figura 6-7: Firmas espectrales para las diferentes lentes calibradas y sin calibrar.
(a) Luz blanca halógena (b) Led verde

El preprocesamiento de HSI implica principalmente la normalización de datos y el registro de imágenes. La normalización de los datos convierte o normaliza las observaciones de radiancia hiperespectral a valores de reflectancia o transmitancia, que describen las propiedades intrínsecas de las muestras biológicas. Dicha normalización también reduce el ruido del sistema y prepara mejor los datos para un análisis posterior.

Los arrays CCD utilizados en los sistemas HSI generalmente tienen corriente oscura, incluso sin que la luz brille sobre ellos. La corriente oscura depende de la temperatura y es proporcional al tiempo de integración. Por lo tanto, para convertir la intensidad captada en reflectancia o transmitancia, se toman imágenes de referencia y oscuras antes de adquirir imágenes de muestra. La imagen de referencia se toma con una superficie de reflectancia estándar colocada en la escena, o capturando la luz directamente para la transmitancia, mientras que la corriente oscura se mide manteniendo el obturador de la cámara cerrado.

Las capturas de los mosaicos se realizan en modo RAW, normalizando posteriormente a partir de las referencias de blanco que deben ser tomadas antes de cada captura.

La orientación de la cámara juega un papel fundamental ya que, dependiendo de cómo esté orientada, los cubos podrán o no solaparse de forma correcta. En la Figura 6-8(a)(b)(c) se muestran tres capturas para el borde de un portaobjetos, donde la cámara se encuentra mal posicionada en las dos primeras y correctamente alineada en la última. Las dos primeras provocan que las capturas consecutivas no se solapen correctamente, como se muestra en el mosaico de 1x9 de la Figura 6-8(d), mientras que la tercera, al estar bien alineada, consigue un solape perfecto (Figura 6-8(e)).

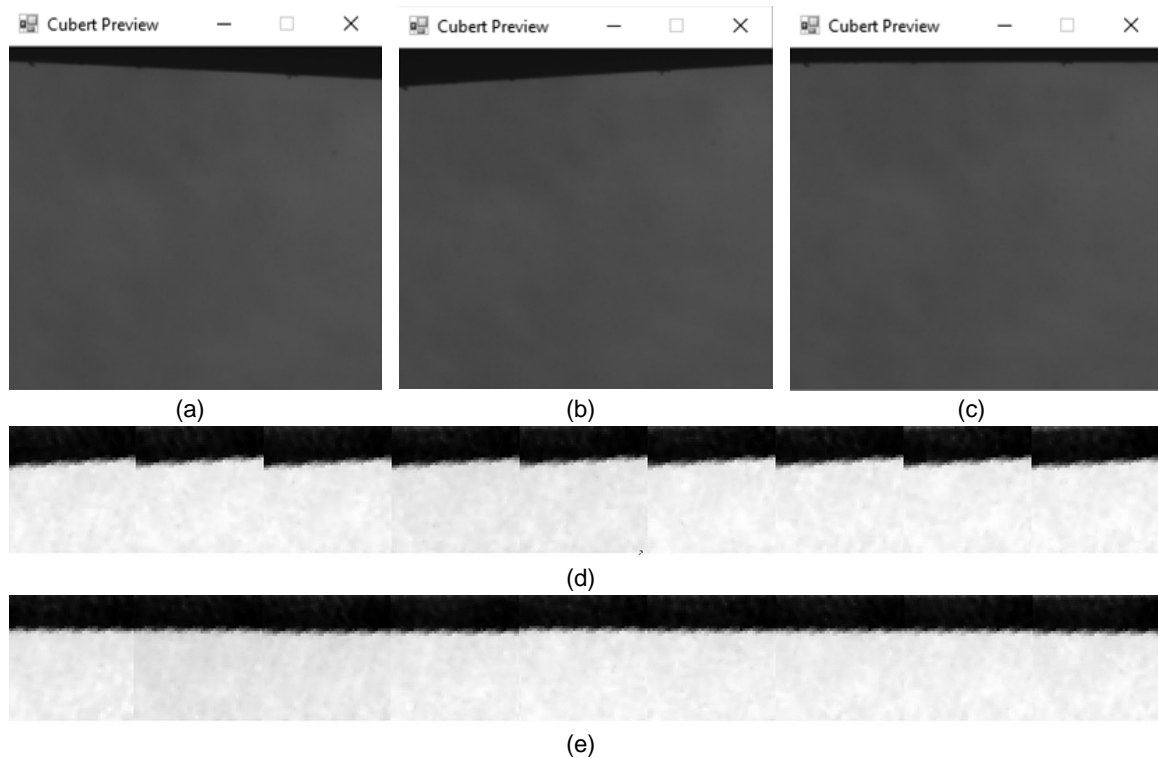


Figura 6-8: Orientación de la cámara.
(a) y (b) Captura con cámara mal orientada (c) Captura con cámara orientada (d) Mosaico con cámara mal orientada (e) Mosaico con cámara bien orientada

6.2 Optimización de la captura de los mosaicos / Ajuste fino

El cálculo del FOV (*Field Of View*) teórico se puede ver en el apartado 3.4. Este cálculo sirve como aproximación ya que la distancia entre el sensor y el colimador del espectrógrafo es desconocida, además que, para acoplar la cámara al adaptador MTV-3 han sido necesarias dos anillas extensoras. Además, el sensor de la cámara posee una relación de aspecto de 4:3, pero se realiza un recorte de la imagen para lograr una relación 1:1 y obtener un cubo de 50x50. Para realizar el cálculo del FOV real, se ha utilizado una regla micrométrica, con una resolución máxima aproximada de 0.1 mm (Figura 6-9), con la que se ha obtenido un FOV aproximado de 0.95 mm como se muestra en la Figura 6-10(c), en la que se pueden ver nueve líneas y parte de una décima de 0.1 mm cada una.

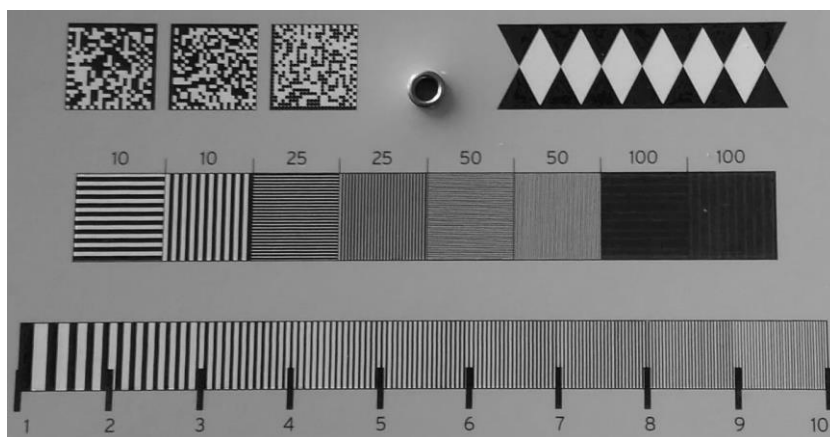


Figura 6-9: Regla micrométrica.

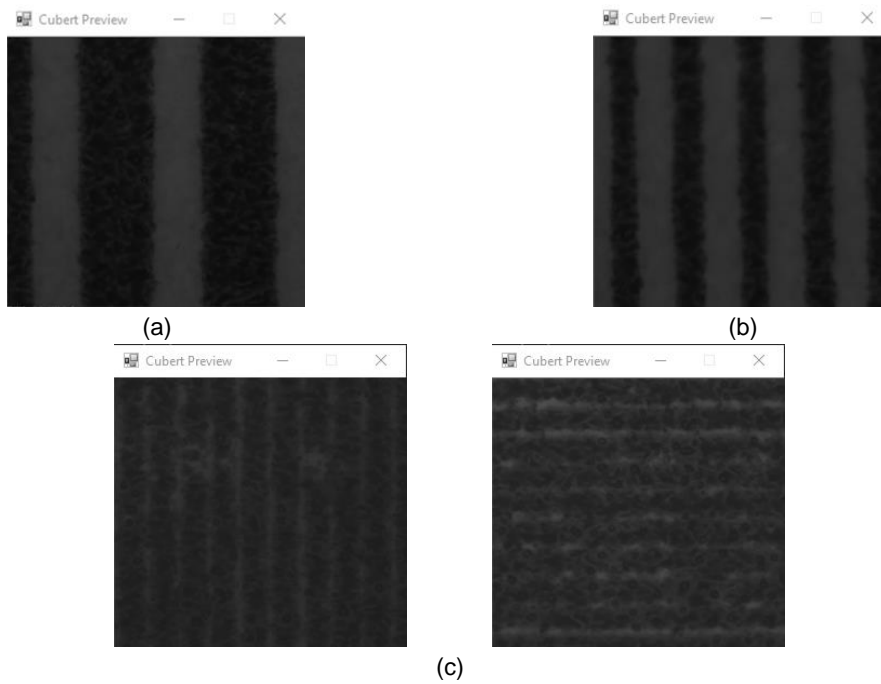
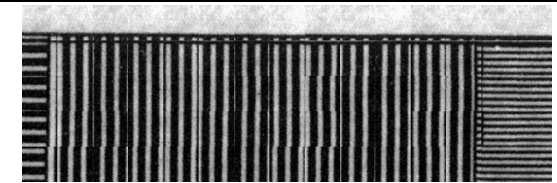
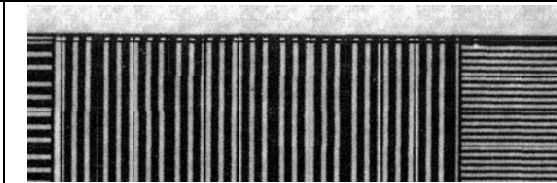
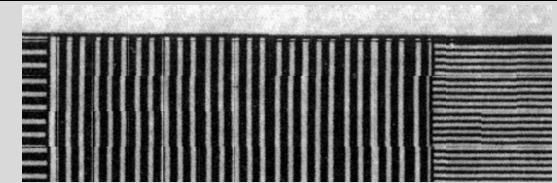
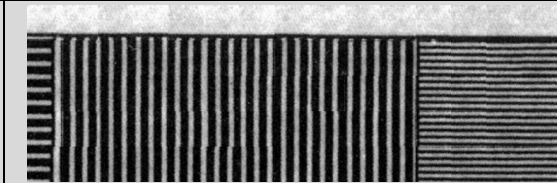
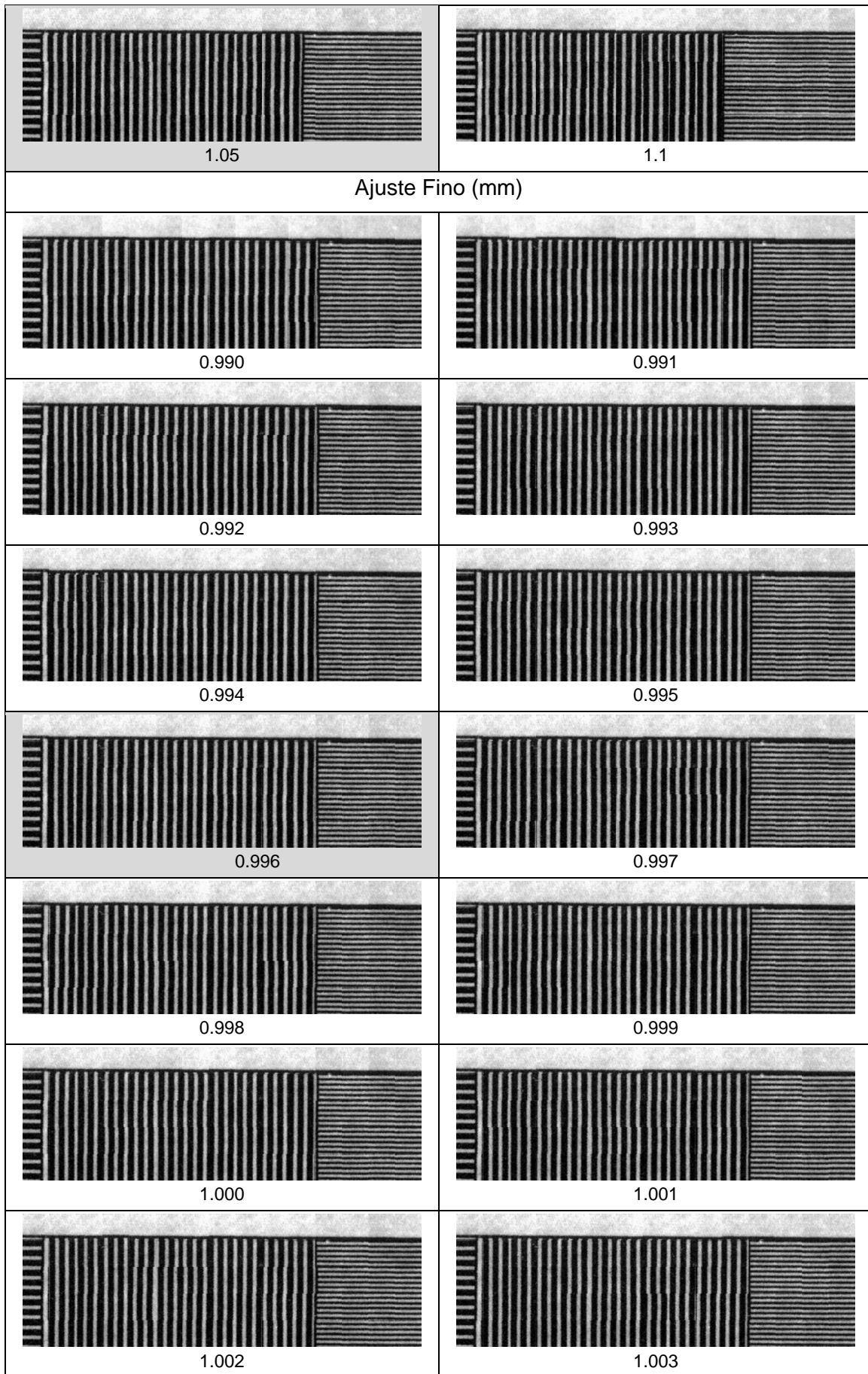


Figura 6-10: Capturas regla micrométrica (líneas/cm).
(a) 25 (b) 50 (c) 100, vertical y horizontal.

Para obtener un FOV más preciso se ha realizado un ajuste fino tras un primer ajuste grueso, mediante un proceso iterativo en el cual se han capturado varios mosaicos de 15x5 cubos, modificando los saltos entre estos a partir del valor obtenido con la rejilla micrométrica, hasta conseguir el mejor resultado. Para no mostrar todos los mosaicos capturados, se hace un resumen de aquellos más significativos para el cálculo del FOV. Inicialmente se ha establecido un rango entre 0,85 mm y 1,10 mm con saltos de 0,05 mm, como se puede ver en el ajuste grueso de la Tabla 6-2. El avance que mejor resultados ofrece está entre 0,95 mm y 1,05 mm. A continuación, se han realizado saltos de 0,001 mm entre estos valores para obtener un ajuste fino. Como se observa en el ajuste fino de la Tabla 6-2, el avance que genera un mejor resultado es el correspondiente al valor 0,996 mm, por lo que se establece este valor como el FOV del sistema.

Tabla 6-2: Ajuste grueso y fino para el cálculo del FOV.

Ajuste Grueso (mm)	
	
0.85	0.90
	
0.95	1.00



6.3 Resumen

En este capítulo se ha justificado la necesidad de calibrar la cámara cada vez que se cambia la lente, para lo cual se ha fabricado un cajón de calibración y se han realizado varias pruebas empleando tanto las lentes originales de la cámara como el microscopio. Además, se ha estimado el cálculo del FOV por medio de un proceso empírico iterativo. En este proceso se han capturado mosaicos sucesivamente, empleando diferentes resoluciones mecánicas hasta conseguir el mosaico que mejor solape presenta entre las imágenes que lo forman. Por otra parte, se ha demostrado la necesidad de orientar la cámara para cada nuevo acople con el microscopio, ya que, de no estar alineada, no habría continuidad entre las imágenes capturadas para generar el mosaico.

Al realizar un análisis del sistema, se ha determinado que algún componente óptico del microscopio filtra las componentes espectrales más cercanas al infrarrojo. Esto repercutirá en que el rango espectral de las capturas realizadas con este sistema se verá reducido.

7 Creación de una base de datos hiperespectral

En este capítulo se explican los tipos de tumores que se pueden encontrar en las muestras a tratar, así como una descripción de su preparación para su observación. Posteriormente se plantea el protocolo de captura de los mosaicos, mostrando alguno de ellos y varias firmas espectrales comparativas.

También se describe el proceso de creación de la base de datos HSI y se describen las principales características de los cubos hiperespectrales capturados.

7.1 Descripción de muestras biológicas

Tipos de cáncer

El cáncer de mama se origina anatómicamente en la unidad terminal ducto-lobulillar de la glándula mamaria. Cuando el proceso de malignización se dirige en dirección al conducto se origina el Carcinoma Ductal, mientras que, si se dirige hacia el lobulillo, el resultado es el Carcinoma Lobulillar.

La mama es una glándula, cuyo detalle se puede observar en la Figura 7-1. Se llama cáncer de mama al tumor originado en las células y estructuras de esta glándula, por ello el cáncer de mama es un Adenocarcinoma.

1. Caja torácica
2. Músculos pectorales
3. Lóbulos
4. Superficie del pezón
5. Areola
6. Conducto lactífero
7. Tejido adiposo
8. Piel

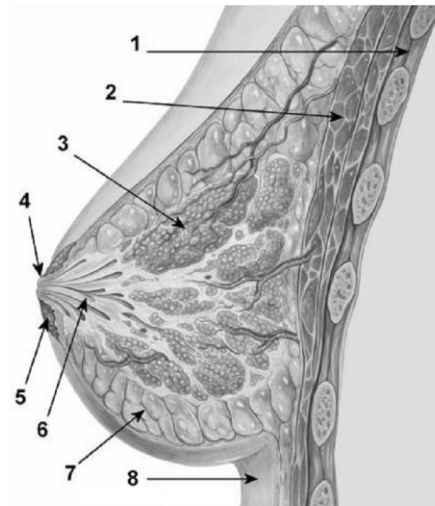


Figura 7-1: Anatomía de la glándula mamaria.

Carcinoma "In situ"

Se llama así a la proliferación celular maligna que ocurre en el interior del conducto mamario, sin traspasar la pared (membrana basal) del mismo, es decir sin invasión o infiltración del tejido (estroma) que lo rodea.

Se denomina:

- **Carcinoma ductal *in situ*** o carcinoma intraductal si es dentro de un ducto.
- **Carcinoma lobulillar *in situ*** si es dentro de un lobulillo. Hace años, el carcinoma lobulillar *in situ* se consideraba una lesión premaligna, sin embargo, en la actualidad se entiende como un marcador que identifica a mujeres con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama invasivo. El término más adecuado es el de neoplasia lobular.

La incidencia del carcinoma ductal *in situ* ha aumentado en los últimos años. Con frecuencia este tipo de tumor es multicéntrico (varias lesiones en la misma mama) y bilateral (afectación de ambas mamas).

En la actualidad se desconoce qué tumores *in situ* y qué porcentaje pasan a ser tumores invasivos. El tiempo en que esto ocurre puede ser tan largo como 6 a 10 años.

Carcinoma invasivo o infiltrante.

Se llama así a la proliferación celular maligna que traspasa la frontera natural anatómica del ducto o el lobulillo, invadiendo el tejido circundante.

Fundamentalmente existen dos tipos de cáncer de mama invasivo:

- **Carcinomas ductales:** se originan en las células que revisten los conductos galactóforos (conductos por donde circula la leche hacia el pezón). Es el tipo más frecuente, representando el 80% de los cánceres infiltrantes de mama.
- **Carcinomas lobulillares:** se originan en las células de los lobulillos mamarios, donde se produce la leche. Su incidencia es mucho menor, del 10%.

Otros tipos de cáncer de mama menos frecuentes son el medular, el coloide y el tubular.

En el Carcinoma Inflamatorio de mama, las células tumorales infiltran los vasos linfáticos y la piel. La mama está globalmente enrojecida y caliente, como si estuviese inflamada, porque las células tumorales bloquean los vasos linfáticos de la piel. La incidencia es baja, del 1 al 3% de todos los cánceres de mama.

Preparación de las muestras histológicas

La mayoría de los tejidos, sobre todo los de los animales, son incoloros y por ello la necesidad de teñirlos para observar sus características morfológicas con el microscopio óptico. Ello se consigue con el uso de los colorantes, sustancias que son capaces de unirse de manera más o menos específica a estructuras del tejido aportándoles color. Se utilizan normalmente para teñir a las células y componentes tisulares que van a ser observados con el microscopio óptico y por ello se realizan habitualmente sobre secciones de tejido, siendo las más utilizadas las secciones obtenidas a partir de inclusiones en parafina u obtenidas en el criostato. Los colorantes son los elementos principales de las tinciones generales.

La molécula de un colorante tiene normalmente dos componentes importantes: uno que aporta el color, denominado cromógeno, y otro que posibilita la unión a elementos del tejido denominado auxocromo. El cromóforo es la organización molecular dentro del cromógeno responsable de la absorción de un espectro determinado de longitudes de onda. El auxocromo que se une al cromógeno puede influir en su coloración y muchos colorantes tienen más de un grupo auxocrómico. El auxocromo puede ser un grupo ionizable, un grupo que reacciona covalentemente con iones metálicos (mordientes) o puede reaccionar covalentemente con el sustrato, en este caso el tejido. Los colorantes son normalmente hidrosolubles, aunque hay colorantes que carecen de grupos ionizables y sirven para teñir sustancias grasas, como gotas de lípidos.

Según la naturaleza química del cromóforo hay varios tipos de colorantes: nitrosos, ozoicos, derivados de la antroquinona, derivados de la acridina, derivados de iminas quinónicas, derivados de diferrilmetano y triferrilmetano, derivados del xanteno y derivados de las talocianinas.

En el ámbito clínico, la mayoría de laboratorios de anatomía patológica realizan la detección de proteínas *in situ* sobre el tejido mediante tinción inmunohistoquímica (IHQ). En el cáncer de mama existen diferentes perfiles moleculares [68] con diferentes pronósticos y tratamientos, que pueden ser caracterizados mediante tinción IHQ [69]. En el diagnóstico clínico del cáncer de mama se clasifican 4 perfiles (Luminal A, Luminal B, HER2 y triple-negativo) [70]. La caracterización de los perfiles moleculares se realiza mediante tinción IHQ de los receptores de estrógenos(RE), receptores de progesterona (RP), del Human epidermal Growth factor receptor 2(HER2) y del Ki67 (Proteína nuclear que se encuentra en todas las fases del ciclo celular y, por tanto, un marcador de proliferación celular).

Para conseguir una correcta interpretación de los RE, RP, Ki67 y HER2, diferentes guías han sido escritas por paneles de expertos en un intento de unificar y estandarizar la evaluación mediante IHQ [71-73]. Sea cual sea el método de valoración que se utilice, es bien sabido que la evaluación manual microscópica de RE y RP es subjetiva, tediosa, requiere mucho tiempo y puede conducir a variabilidad significativa entre observadores, existiendo discrepancias en su evaluación entre diferentes laboratorios o tests [74-76], además de existir críticas sobre la manera de interpretar los marcadores [77, 78].

Una posible solución a los problemas planteados sería la identificación y la evaluación de los RE, RP, HER2 y Ki67 sin la necesidad teñir las biopsias.

Este PFC se centra en un primer paso que será comprobar si es posible la diferenciación de un tumor entre muestras con tinción simple HE (*hematoxilina-eosina*), sin tinción y secadas al aire, usando imágenes hiperespectrales. El proceso de tinción HE se describe gráficamente en la Figura 7-2, donde los tiempos son aproximados porque dependen del grosor de los cortes y de la concentración de los colorantes. Los pasos seguidos para realizar la tinción son:

- Inicialmente, y tras el corte de las muestras, se realiza el desparafinado, sumergiendo los preparados histológicos en xileno para eliminar los excesos de parafina. El xileno es un alcohol tóxico pero existen reactivos (como el Hemo-D) que ejercen la misma función aclarante de parafina sin la toxicidad del xileno.

7.1. Descripción de muestras biológicas

- Luego pasan por una serie de alcoholes en concentración decreciente para rehidratar la muestra (100°, 96° y 80°).
- Se lava en agua destilada para eliminar el exceso de alcohol.
- Se sumerge en hematoxilina y se lava en agua para eliminar excesos, donde el paso por agua de grifo es típico de la hematoxilina y se denomina diferenciación. Las sales del agua permiten obtener una coloración más violácea, en vez de púrpura.
- Se sumerge en eosina y se pasa rápidamente por alcohol.
- La deshidratación final es necesaria porque el medio de montaje no suele ser hidrosoluble. Se pasan las muestras por otra serie de alcoholes, esta vez en orden creciente (80°, 96° y 100°) para deshidratar la muestra y que se pueda realizar el montaje.
- Finalmente se deja remojar en xileno antes de realizar el montaje final.
- Los medios de montaje no afectan al tejido, ni a los colorantes y tienen unas propiedades ópticas excelentes. Además, conservan las preparaciones durante años en buenas condiciones. Tras el montado y secado (evaporación del xileno), las secciones se pueden observar con el microscopio óptico.

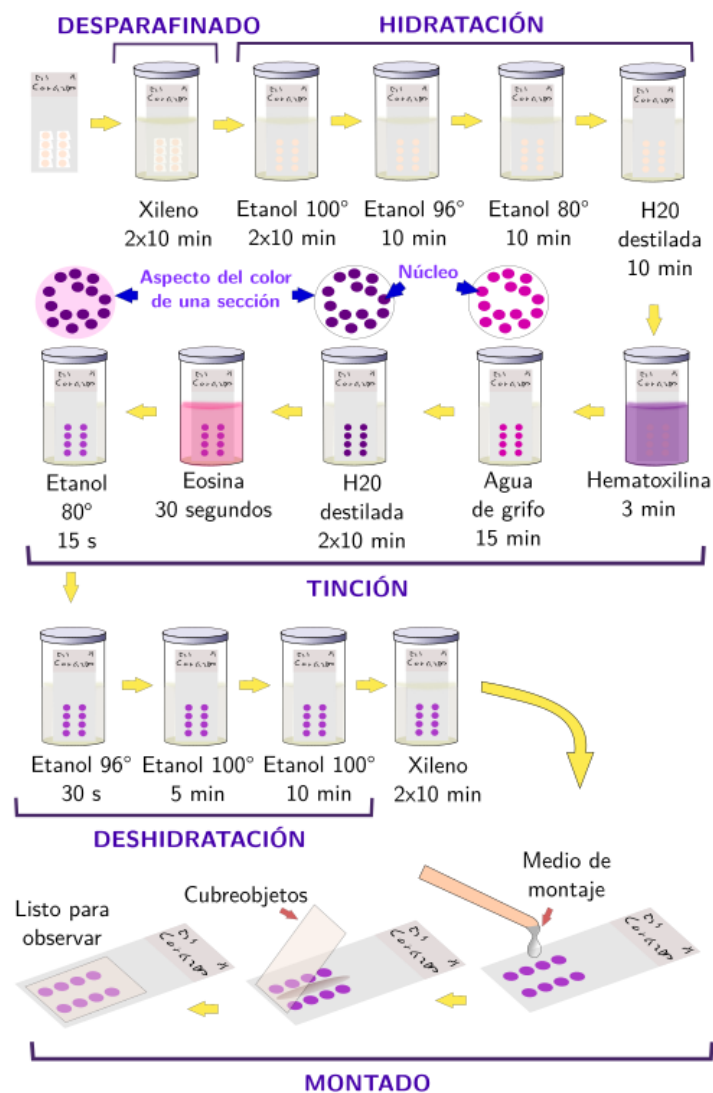


Figura 7-2: Pasos que se siguen durante una tinción general de hematoxilina-eosina.

7.2 Origen y protocolo de captura de las muestras

Las muestras facilitadas por el departamento de Anatomía Patológica del Hospital de Tortosa Verge de la Cinta, que se pueden observar en la Figura 7-3, pertenecen a dos biopsias realizadas y conservadas en parafina. A cada una de ellas se le han realizado cortes consecutivos para procesar cada uno de ellos de una forma diferente, obteniendo así tres procesados para una misma muestra. Esto se justifica por el parecido biológico entre muestras procedentes de cortes consecutivos.

Los procesos realizados en las muestras han sido:

1. Tinción HE.
2. Desparafinado de la muestra, hidratación y secado al aire sobre el portaobjetos.
3. Proceso realizado para la tinción HE pero sin la tinción propia, es decir, se realiza el desparafinado, la hidratación, la deshidratación y el montaje.



Figura 7-3: Muestras biológicas.

Además, como se observa en la Figura 7-4, junto con las muestras se han facilitado unas capturas digitales de las mismas en las que el equipo de patología se ha encargado de señalar diferentes zonas a tener en cuenta, como son: tumor, delimitado por el color verde; tejido fibrótico, delimitado por el color azul; y tejido adiposo, delimitado por el color rojo. También se encuentra una zona mixta formada por tumor y tejido fibrótico, que se ha delimitado en color naranja. Dichas zonas no son exclusivas, ya que delimitan las áreas con un tipo de tejido predominante. Para poder diferenciar correctamente cada uno de estos tejidos, es necesario observar la tinción de HE realizada, con la cual se han obtenido tres tonalidades: rosa chicle para el tejido fibrótico, rosa palo para el tejido adiposo, y finalmente morado para el tejido tumoral.

7.2. Origen y protocolo de captura de las muestras

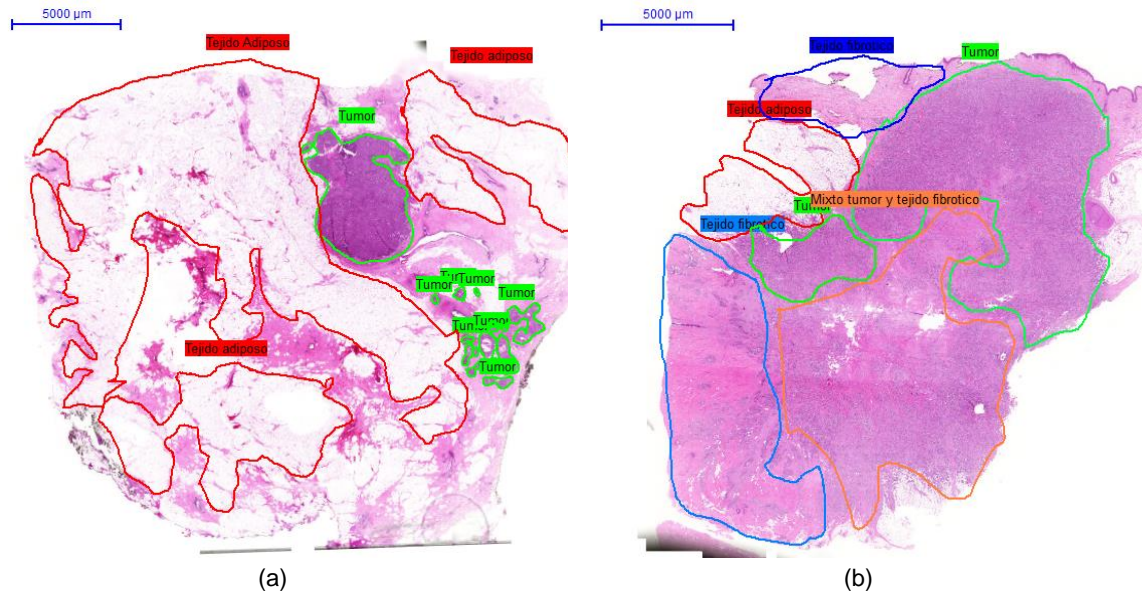


Figura 7-4: Laminillas escaneadas con áreas de interés señaladas.
(a) 14B12436-A14 H.E (b) 15B129-A6 H.E

La organización de la base de datos seguirá una estructura jerárquica, como se muestra en el diagrama de la Figura 7-5, partiendo de cada uno de los pacientes y clasificando las capturas según su procesado, magnificación y zona capturada. Cada paciente será designado con un número, guardando así su anonimato. Para ello se aprovechará la nomenclatura adjunta en las muestras facilitadas, como se aprecia en el título de la Figura 7-4(a)(b). Para comprobar si es posible distinguir entre los diferentes tejidos, se tratará de tomar aquellas zonas de la muestra en las que los tejidos estén bien diferenciados. Aprovechando la información de las muestras digitales facilitadas, se marcará sobre ellas dichas zonas, evitando así escribir o manchar el portaobjetos.

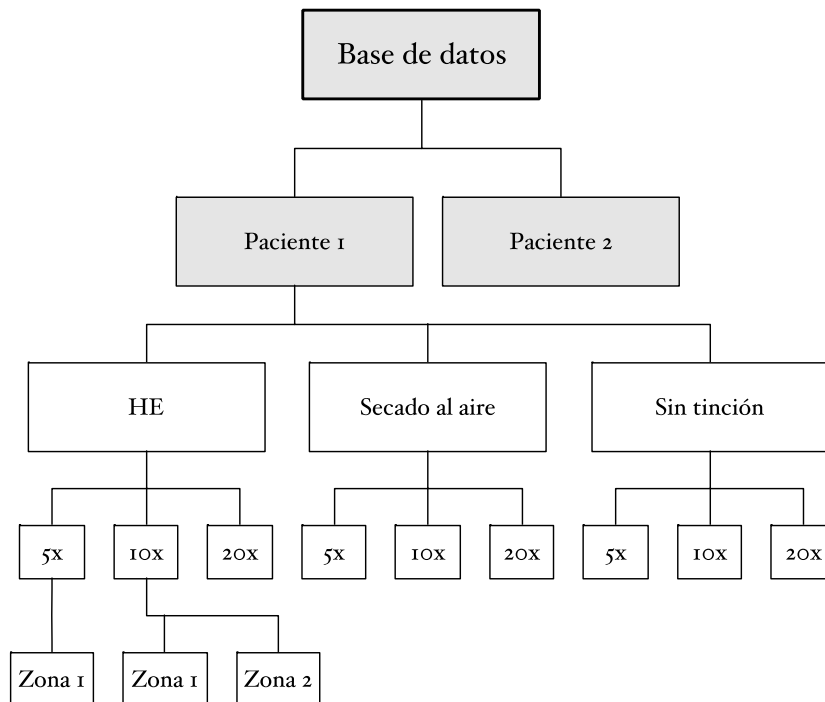


Figura 7-5: Diagrama de la estructura de la base de datos histológica.

Los pasos a seguir para realizar una primera captura son:

1. Comprobar que las lentes del microscopio no interfieren con el sistema mecánico.
2. Realizar la conexión al puerto serie con el Arduino para que se establezca la posición (0,0) a través de un *homing*.
3. Ejecutar el servidor C-Link.
4. Centrar la muestra y enfocarla.
5. Fijar la potencia lumínica de entrada como la máxima posible sin llegar a saturar.
6. Realizar un balance de blancos, como se explica en el apartado 5.3.1, para establecer el tiempo de exposición de la cámara.
7. Orientar la cámara haciendo uso del portaobjetos.
8. Buscar el punto de partida para realizar el mosaico.
9. Guardar la posición junto con el tamaño del mosaico a capturar.
10. Seleccionar la magnificación³ del microscopio.
11. Establecer la ruta de guardado para las capturas, como se puede observar en el diagrama de la Figura 7-5.
12. Comenzar la captura.

7.3 Imágenes hiperespectrales capturadas

Las capturas tomadas a cada una de las muestras histológicas, han sido realizadas con las magnificaciones 5x, 10x y 20x.

- Para la magnificación de 5x se han realizado mosaicos de 22x22.
- Para la magnificación de 10x se han realizado mosaicos de 12x12.
- Para la magnificación de 20x se han realizado mosaicos de 12x12.

En la Figura 7-6(a) se pueden ver las zonas de interés que han sido capturadas con las diferentes magnificaciones para el paciente uno. Se han seleccionado dichas zonas, ya que aportan información de los tres tipos de tejido presentes en las muestras.

En las Figura 7-6(b), Figura 7-6(c) y Figura 7-6(d) se pueden ver los mosaicos realizados en las zonas de interés comentadas anteriormente, para las muestras de tinción HE, secada al aire y sin tinar respectivamente, preparadas para el paciente uno, con una representación RGB del RAW capturado sin normalizar.

De la misma forma, tanto las zonas de interés para el paciente 2 como los mosaicos capturados para dicho paciente, se pueden ver en la Figura 7-7.

Si bien los puntos de partida de los mosaicos capturados para las muestras de tinción He y secado al aire han sido relativamente sencillas de buscar, no ha ocurrido lo mismo con las muestras sin tinción. Esto es debido a una casi total transparencia de la muestra, que dificulta su observación y la búsqueda de zonas específicas dentro de ésta.

³ Para cada nueva selección de magnificación, es necesaria la calibración de la cámara.

7.3. Imágenes hiperespectrales capturadas

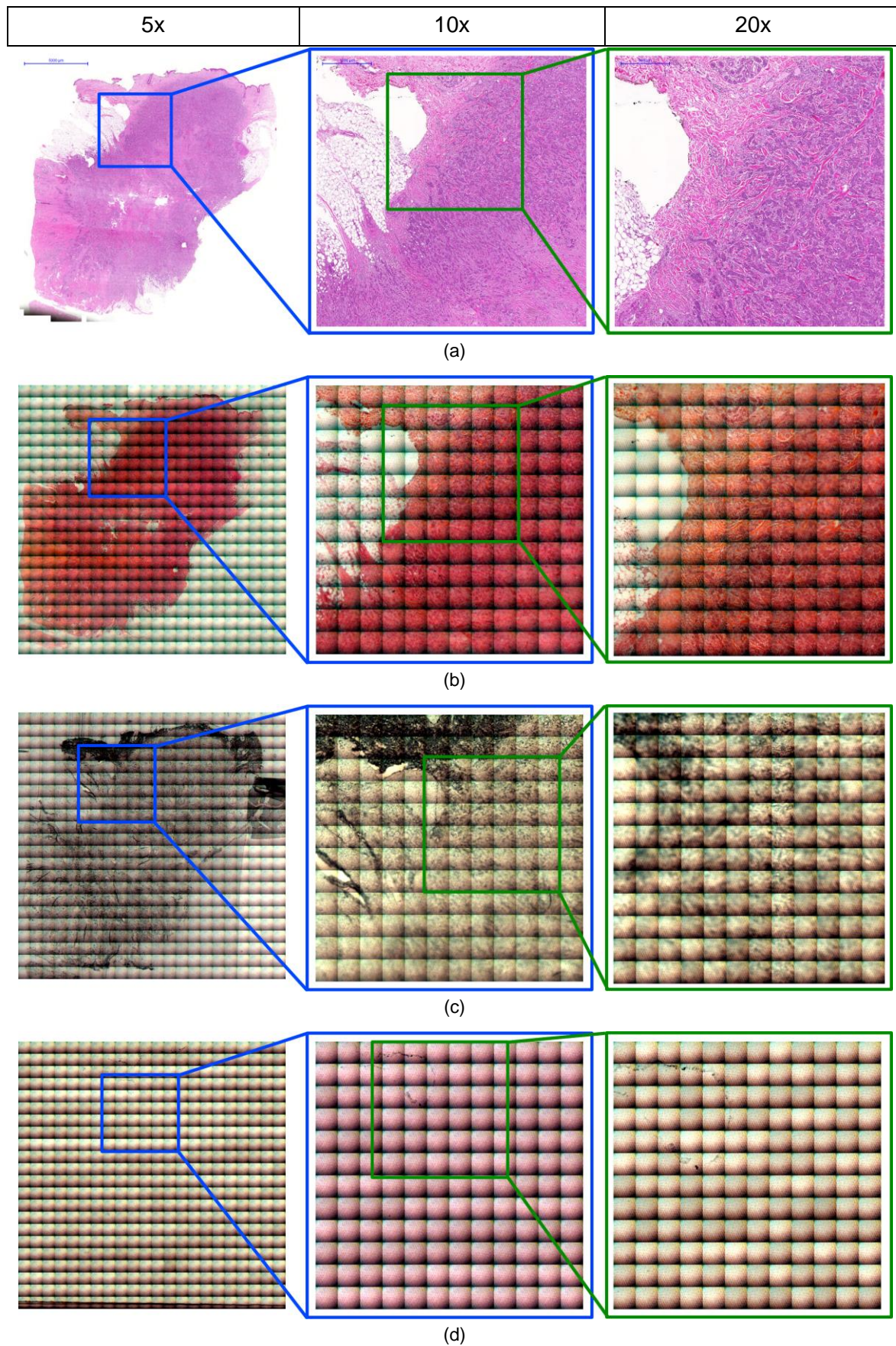


Figura 7-6: Capturas de las muestras histológicas del paciente 1.
(a) Muestra digital (b) Mosaicos con tinción HE (c) Mosaicos con secado al aire (d) Mosaicos sin tinción

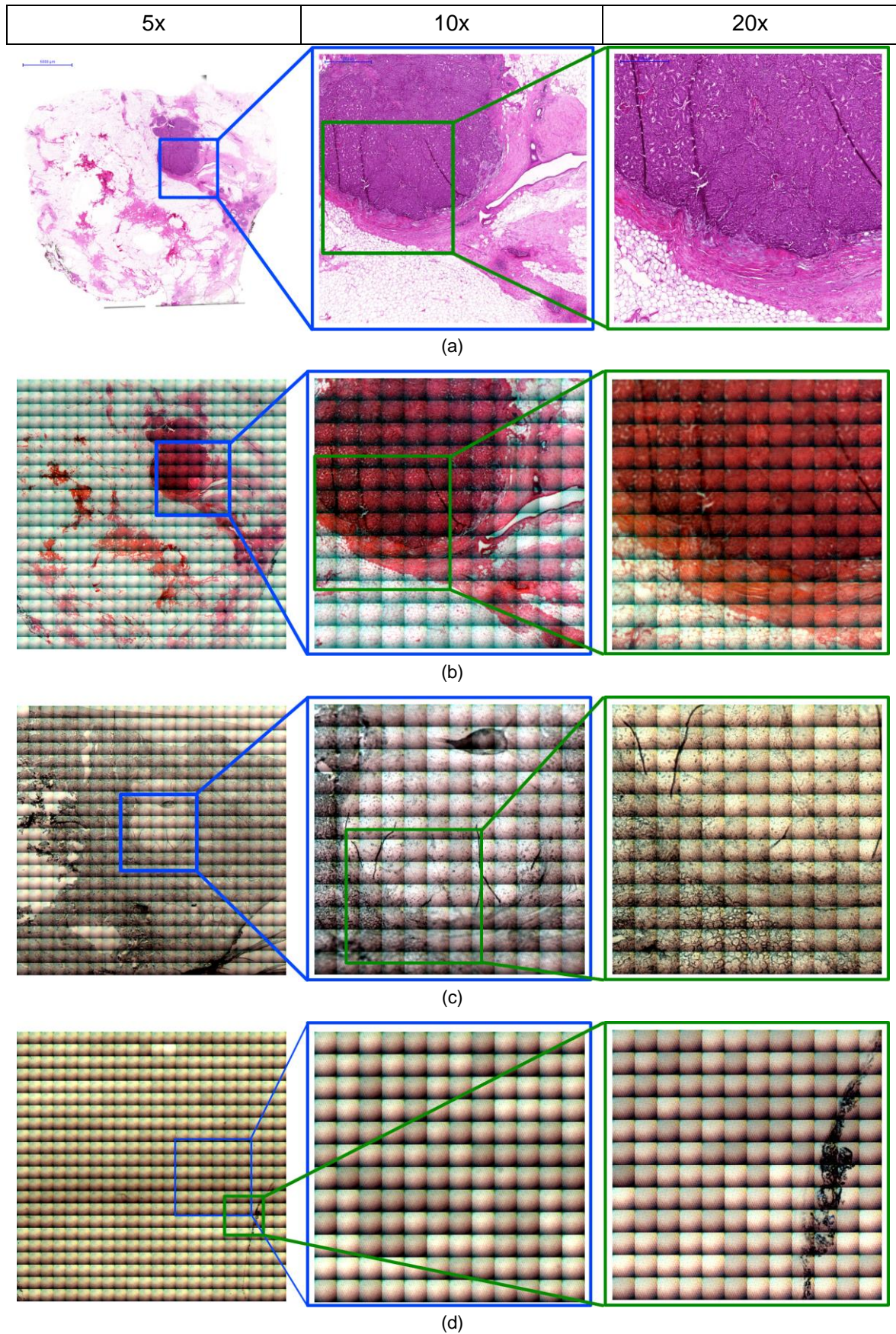


Figura 7-7: Capturas de las muestras histológicas del paciente 2.
(a) Muestra digital (b) Mosaicos con tinción HE (c) Mosaicos con secado al aire (d) Mosaicos sin tinción

7.4 Resultados obtenidos de las capturas realizadas

Como se ha visto en el apartado 5.1, la cámara hiperespectral de cubert UHD-185 almacena los datos capturados en un archivo con formato propio. Dependiendo de la configuración de la cámara para realizar las capturas, el tamaño de dichos archivos y el tiempo de captura variará. De la misma manera, tanto los tiempos de exportación como el tamaño del archivo exportado dependen de las diferentes configuraciones posibles. Esta variabilidad de los tiempos muestra como el cuello de botella del sistema completo se encuentra en la cámara de cubert UHD-185.

En la Tabla 7-1 se muestran los tiempos y tamaños de las capturas y exportaciones para las diferentes configuraciones que son útiles para los objetivos de este PFC. A modo aclaratorio, es necesario explicar que la temporalidad de los distintos procesos se ha estimado a través de funciones propias del sistema operativo Windows creadas para tal fin, y en el entorno de Microsoft Visual Studio sobre el código de referencia. Las funciones se han utilizado en los puntos concretos de inicio y finalización de operación para cada sección de código a temporalizar. Debido a la carga arbitraria del sistema operativo, una medida única y aislada se asemeja a un número pseudo-aleatorio, por lo que se han realizado medidas de tiempo de manera repetitiva y finalmente se ha aplicado una media.

Se ha dividido este análisis según la configuración utilizada:

1. Capturas individuales: Cada uno de los cubos obtenidos en el formato propio del fabricante (.cub).
2. Exportar capturas: Exportar dichos cubos a formato ENVI.
3. Captura de mosaicos: Se muestra el tiempo de captura y tamaño del mosaico generado en ENVI para una magnificación de 5x, así como el tamaño ocupado por todas las capturas y exportaciones llevadas a cabo para su realización.

Para una mejor comprensión de la Tabla 7-1 hay que recordar que la cámara hiperespectral puede realizar un fusionado entre la imagen espacial monocromática de alta resolución y la espectral mediante una interpolación ponderada con respecto a la captura completa de la imagen espacial (Fusión). En caso de no realizar la fusión, es posible hacer uso de una interpolación por el vecino más cercano (esta configuración se ha llamado *Genuino* por el software del fabricante). Al aumentar el multiplicador de fusionado se generan cubos con mayor número de píxeles, aumentando tanto los tiempos de exportación como los de procesado (para cambiar de formato BSQ a BIP y para generar el mosaico final). Por ello, los tiempos y los tamaños calculados para la obtención de mosaicos han sido tomados con las configuraciones que consumen un menor tiempo, es decir, sin promediar las capturas y con un multiplicador de fusión igual a uno para la interpolación del vecino más próximo⁴. Para mostrar la diferencia de tiempos de captura existente entre las diferentes configuraciones, se han capturado dos mosaicos con las siguientes características:

⁴ También porque este proceso de fusión puede realizarse a posteriori.

1. Mosaico con un tamaño de 5x5, con el máximo multiplicador (x20) y realizando un fusionando con la imagen espacial
2. Mosaico con un tamaño de 10x10, con la magnificación 20x ya que, aunque los tiempos de captura individual son iguales, el retorno del eje X a su posición inicial para cada fila del eje Y variará según la magnificación que se esté usando. Esto se debe a que el avance con la lente 5x es de 0.996 mm (el FOV calculado) y el avance para la magnificación 20x es de 0.249 mm.

Tabla 7-1: Tamaño y tiempos de las capturas.

Capturas individuales				
Promediado (capturas)	Tiempo (s)		Tamaño (MB)	
1	1		7,23	
10	2		7,23	
20	3		7,23	
Exportar capturas				
Multiplicador de fusionado	Tiempo (s)		Tamaño (MB)	
	Fusión	Genuino	Fusión	Genuino
1	0,5	0,5	0,695	
2	1,5	1	2,8	
3	1,8	1,2	6,3	
4	2	1,5	11,1	
5	2,3	1,88	17,4	
10	7	6	69,5	
20	23	21	278	
Captura de mosaicos (Magnificación 5x)				
Tamaño del mosaico	Tiempo	Tamaño del mosaico (MB)	Tamaño total generado (GB)	
5x5	1'03"	16,9	0,220	
5x5 (Mul x5 + Fusionado)	3'55"	424,2	0,99	
10x10	3'45"	67,8	0,884	
10x10 (Magnificación 20x)	3'23"	67,8	0,9	
20x20	14'13"	271,5	3,45	
40x40	55'54"	1085,9	13,8	

Como se puede observar en los resultados para la captura de mosaicos de la Tabla 7-1, aunque el tamaño final del mosaico no llega a ser excesivamente grande, del orden de cientos de megas, sí que es indispensable tener espacio extra disponible para almacenar todas las capturas y exportaciones previas. Un ejemplo claro queda reflejado en los datos obtenidos para el mosaico de 40x40, donde el espacio ocupado en disco es de 1 GB aproximadamente, pero es necesario disponer de 13,8 GB para poder almacenar todas las capturas y exportaciones previas pertenecientes a cada uno de los cubos que forman dicho mosaico.

Análisis de las firmas espectrales

Finalmente, se ha obtenido un conjunto de firmas espectrales para cada uno de los mosaicos, con el fin de comprobar si existe la posibilidad de diferenciar entre los distintos tipos de procesado de las muestras (tinción estándar HE, al aire y sin tinar), así como entre los diferentes tipos de tejidos (fibrótico, tumoral y adiposo) con igual proceso histológico.

Para obtener las firmas se ha desarrollado un procedimiento haciendo uso del software MATLAB, con el que, tras generar una imagen RGB de los mosaicos capturados, permite la selección de las tres zonas a tratar para su análisis.

Cada cubo está formado por una matriz de $M \times N \times B$, siendo M el número de columnas, N el número de filas y B el número de bandas. Para generar la imagen RGB se han extraído las tres bandas correspondientes, se les ha realizado una conversión a $unit16^5$ y se han escalado sus valores para representar intensidades. Además, cada cubo ha sido normalizado con la imagen de referencia de blancos correspondiente.

$$I = \frac{I_{raw}}{I_{white}} \quad (\text{Eq. 7-1})$$

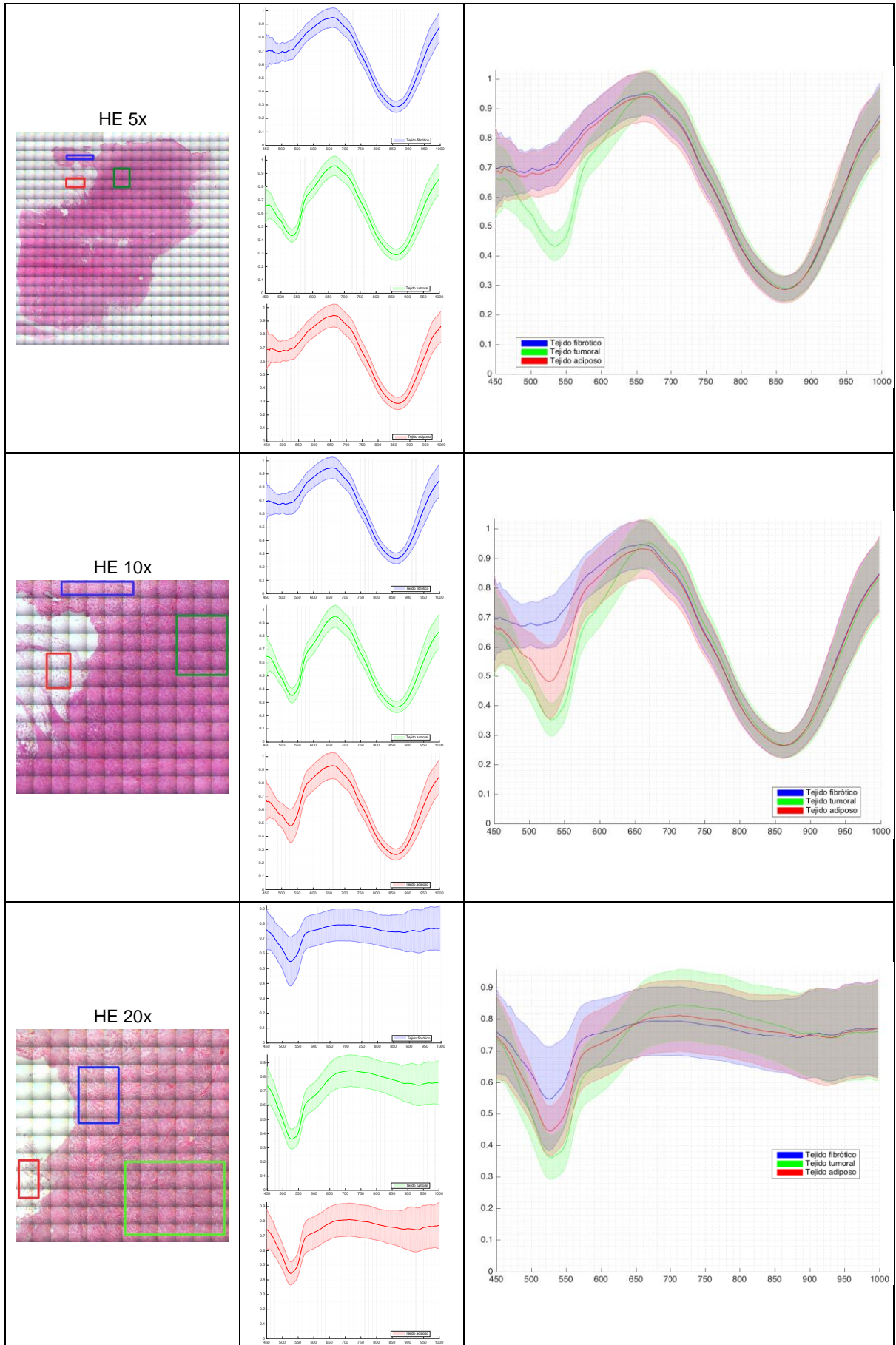
Donde I es el valor de transmitancia calculado, I_{raw} es el valor de radiancia de los datos de un píxel dado, e I_{white} es la referencia de blanco.

Una vez mostrada la imagen RGB generada, se selecciona un área rectangular para cada tipo de tejido y se guarda la posición de los píxeles seleccionados. Para cada una de las áreas que identifican a un tipo de tejido, se calcula su media y la desviación típica sobre el cubo normalizado, obteniendo así las firmas espectrales. Las firmas hiperespectrales extraídas para cada tipo de tejido pueden observarse en la Tabla 7-2 y la

Tabla 7-3, de forma separada y en una comparativa conjunta. Por claridad, se ha mantenido una correspondencia con los colores usados por los patólogos para señalar las diferentes zonas de tejido de las muestras digitales mostradas en la Figura 7-4, siendo el azul para el tejido fibrótico, el verde para el tumoral y el rojo para el adiposo.

⁵ Enteros de 16 bits en el rango de [0, 65535] (2 bytes por elemento)

Tabla 7-2: Firmas espectrales obtenidas del paciente 1.



7.4. Resultados obtenidos de las capturas realizadas

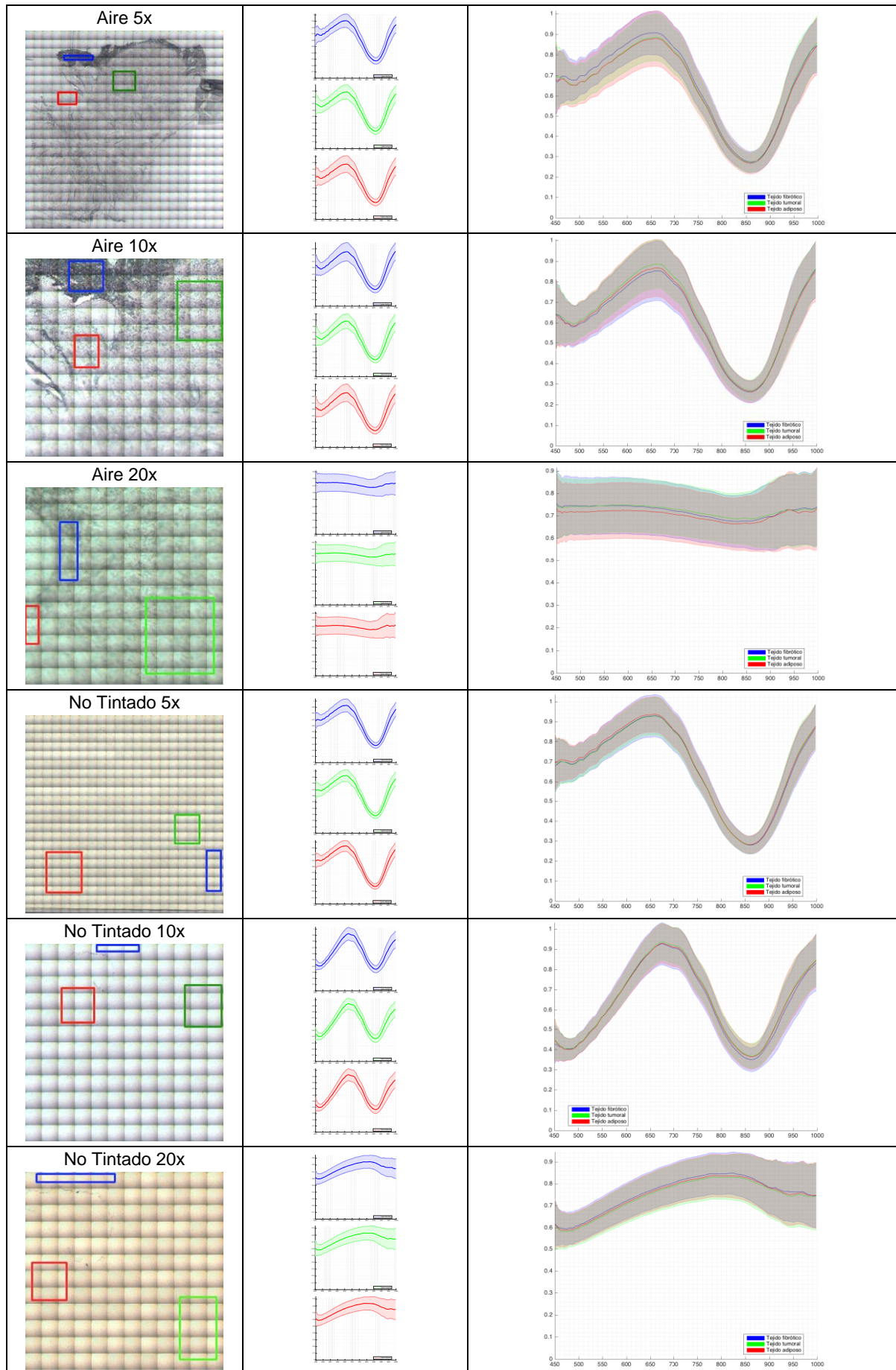
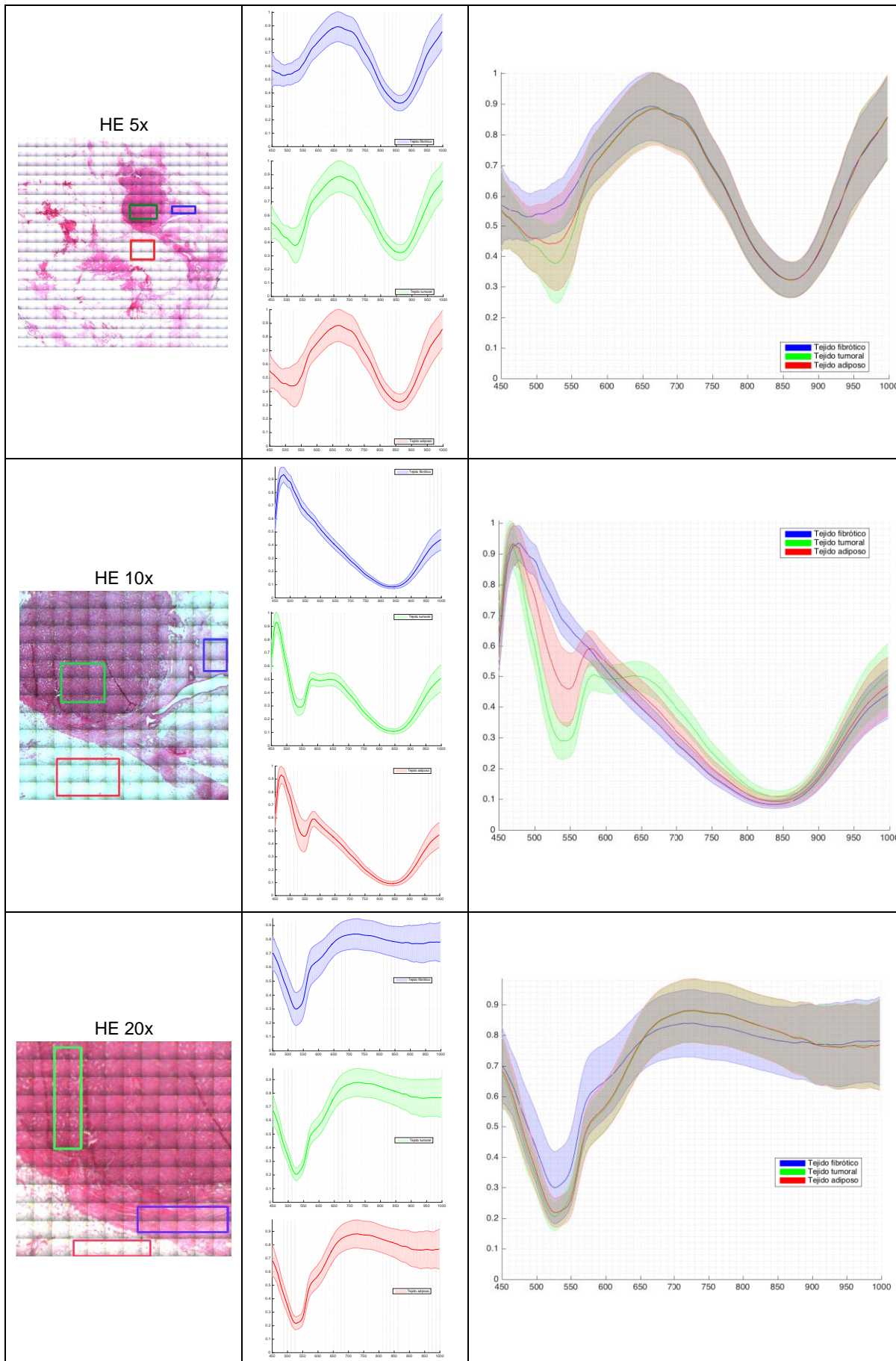
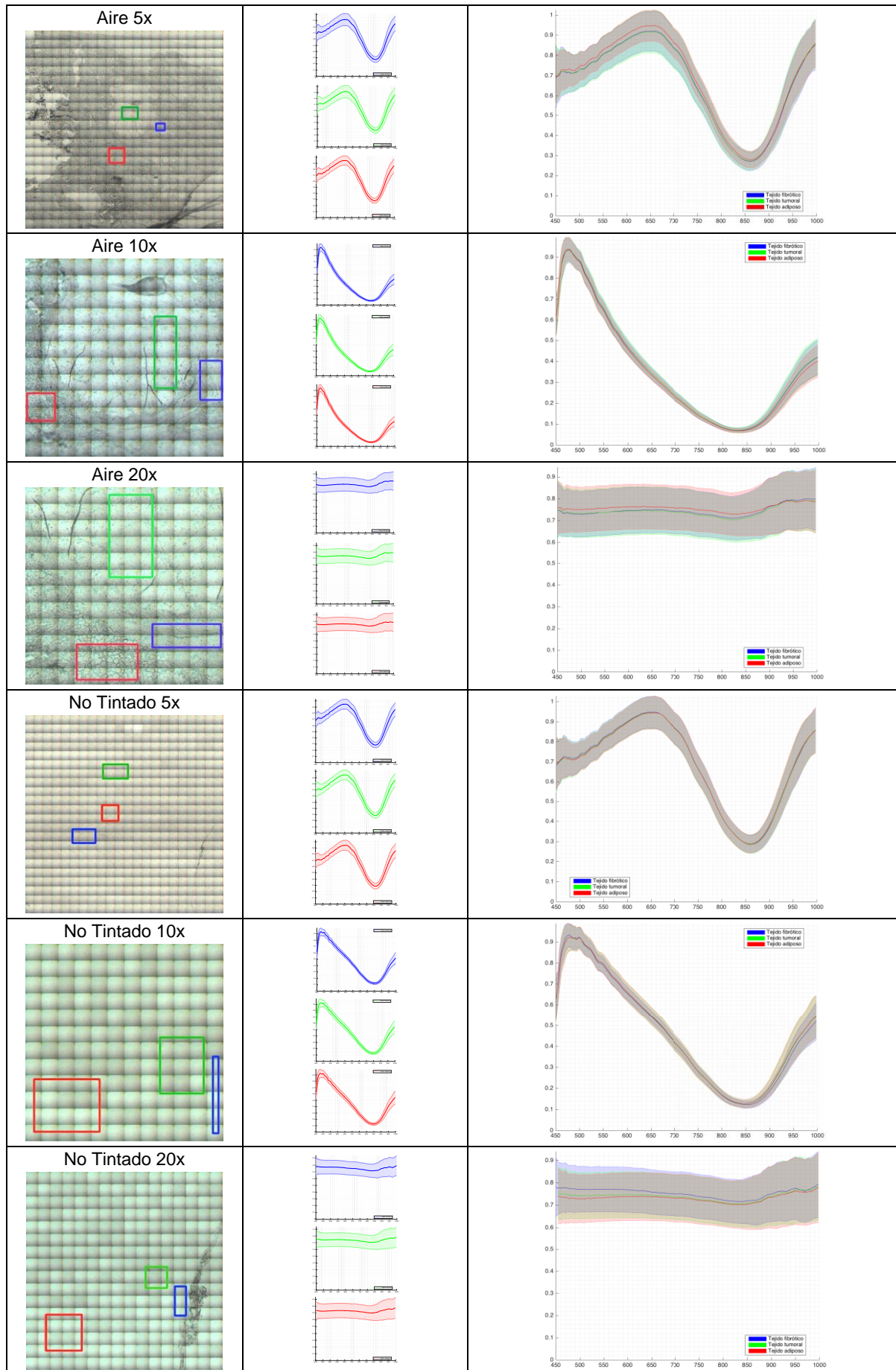


Tabla 7-3: Firmas espectrales obtenidas del paciente 2.



7.4. Resultados obtenidos de las capturas realizadas



De las firmas espectrales obtenidas se concluye que, a través de las muestras procesadas sin tinción y secadas al aire, que se han utilizado en este PFC, a priori no es posible la diferenciación de los diferentes tejidos haciendo uso de la información espectral obtenida con la realización de la media y la desviación típica de las áreas seleccionadas, ya que el comportamiento de las firmas espectrales a lo largo de todas las bandas es muy similar. Esto puede deberse a varios factores, como pueden ser el grosor de las muestras, su iluminación o su enfoque. Puede que con cortes más gruesos sea posible obtener una mayor información espectral.

Por otro lado, las muestras con tinción HE sí muestran una diferenciación entre los diferentes tejidos, donde se observa una menor dispersión para las magnificaciones de 5x y 10x. Esto puede deberse a que no todas las zonas del mosaico, capturado con una magnificación de 20x, han quedado bien enfocadas debido a posibles alteraciones originadas por las piezas del sistema mecánico.

7.5 Resumen

En este capítulo se ha empleado el sistema de adquisición descrito en los capítulos anteriores para crear una base de datos hiperespectral de muestras histológicas de cáncer de mama. Para ello, en primer lugar se han descrito las muestras biológicas disponibles, enumerando los diferentes tipos de tumores que se pueden encontrar en las muestras a tratar y se ha descrito la preparación de éstas para su observación.

Seguidamente, se ha propuesto un procedimiento para realizar la captura hiperespectral de las muestras biológicas disponibles y se han realizado las capturas para generar la base de datos empleando distintas magnificaciones (5x, 10x y 20x). Esta base de datos está compuesta por cubos hiperespectrales correspondientes a muestras con tinción HE, no tintadas y secadas al aire, facilitadas por el departamento de Anatomía Patológica del Hospital de Tortosa Verge de la Cinta.

Finalmente se han mostrado algunos de los mosaicos capturados, especificando el formato en el que se han almacenado, su tamaño y el tiempo requerido para su captura. Además, se han extraído las firmas espectrales de dichos mosaicos, obteniendo resultados de los diferentes tipos de tejidos contenidos en las muestras. El análisis de estas firmas espectrales ha revelado que sí es posible la diferenciación de los tejidos en las muestras con tinción HE. En cuanto a las muestras no tintadas y secadas al aire, no ha sido posible obtener una diferenciación de los tejidos con las capturas realizadas.

8 Conclusiones y trabajo futuro

8.1 Conclusiones

Acorde con los objetivos planteados para este Proyecto Fin de Carrera, se ha desarrollado un sistema mecánico capaz de automatizar capturas de imágenes HSI de muestras histológicas, procedentes de tejidos mamarios. Para ello se ha usado una cámara hiperespectral, en el rango VNIR y de tipo *snapshot*, acoplada a un microscopio con el objetivo de reproducir la observación de muestras por parte de un médico patólogo, pero con la particularidad de utilizar imágenes hiperespectrales, comprobando así si existe diferencia alguna entre los diferentes tejidos, tras los diferentes procesos de tinción, en el rango VNIR del espectro electromagnético.

El sistema mecánico que se ha diseñado y construido es capaz de posicionarse con precisión, al nivel de micras, y realizar barridos controlados para poder obtener capturas con diferentes tipos de cámaras hiperespectrales, tipo *snapshot*, *pushbroom*, etc., pudiendo incluso usar cámaras digitales convencionales. Además, con una pequeña modificación de las piezas 3D diseñadas, este sistema mecánico se podría acoplar a cualquier microscopio óptico con facilidad. De esta manera se ha mejorado el sistema de captura hiperespectral basado en microscopio creado en el PFC de Samuel Ortega Sarmiento [79], el cual únicamente aceptaba cámaras de tipo *pushbroom* y sólo permitía movimientos del portaobjetos en un único eje.

Adicionalmente se ha creado el software, tanto del control de la cámara disponible para este PFC, como el del control del sistema mecánico, integrando así mismo la automatización de las capturas para la realización de uno o varios mosaicos. Los cubos hiperespectrales capturados pasan de estar ordenados en formato BSQ a formato BIP para posibles procesados futuros con algoritmos ya disponibles en la división DSI.

En lo que respecta al sistema de medida hiperespectral basado en microscopio, éste se ha testeado y probado con éxito su funcionalidad, así como su calibración.

Finalmente, el sistema de adquisición desarrollado se ha empleado para crear una base de datos de muestras histológicas y se ha creado una función de MATLAB® que permite obtener la información espectral de dichas muestras, de las cuales se puede concluir que a priori, con los datos obtenidos y las muestras utilizadas, no es posible la diferenciación de los tejidos presentes en las muestras no tintadas y secadas al aire.

8.2 Trabajos futuros

El trabajo futuro asociado a este PFC tiene muchas variantes. Por un lado, sería pertinente reproducir el mismo proceso de captura con muestras que posean diferentes grosores de corte. Dependiendo del tipo de muestra a estudiar o el estudio específico a realizar, las muestras deben tener distintos grosores, y es por eso que para realizar un análisis hiperespectral de muestras histológicas, primero es necesario saber el grosor mínimo necesario para obtener resultados significativos.

Por otro lado, durante el desarrollo de este PFC se ha detectado que mantener el enfoque de las muestras con una magnificación superior a 20x resulta bastante complicado durante el desplazamiento lineal. Esto es debido a que el margen de movimiento del eje Z es muy reducido, del orden de micras, y el sistema mecánico obtenido tiende a no realizar un movimiento 100% paralelo debido a los materiales que se han utilizado. Como mejora del sistema mecánico se propone sustituir las varillas roscadas por husillos, aunque esto suponga la pérdida de resolución de movimiento. También se podrían usar varillas lisas más gruesas, ya que los rodamientos de 5 mm de diámetro son algo endebles. Estos cambios supondrían el rediseño de las piezas 3D para poder acoplar las nuevas piezas, atendiendo siempre a las restricciones de espacio del microscopio. Estos cambios se podrían realizar aprovechando el acople a otros microscopios y haciendo uso de nuevas cámaras conectadas al sistema.

Ya que el sistema de adquisición desarrollado permite la captura de cualquier tipo de muestra contenida en un portaobjetos, existen varios trabajos de investigación pendientes de ser realizados con este sistema. Por ejemplo, la captura de imágenes hiperespectrales de tumores cerebrales humanos (en colaboración con el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín) o la captura de imágenes hiperespectrales de cerebros de moscas (en colaboración con el Instituto Ramón y Cajal y la Universidad Politécnica de Madrid).

Otra línea de trabajo futuro se centrará en el procesado de las imágenes que se han capturado. Por un lado, se propone el uso de técnicas de *stitching*, para mejorar la unión de los mosaicos creados o para realizar las capturas de varias muestras de forma más rápida. Por otro lado, también sería conveniente el empleo de técnicas de *Machine Learning* para tratar de diferenciar automáticamente entre los distintos tipos de tejidos que puede contener una muestra.

Bibliografía

- [1] I. A. for Research on Cancer, "Globocan 2012," 2017, accessed 30-09-2016. [Online]. Available: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>
- [2] R. Angelis, M. Sant, M. P. Coleman, S. Francisci, P. Baili, D. Pierannunzio, A. Trama, O. Visser, H. Brenner, E. Ardanaz, M. Bielska-Lasota, G. Engholm, A. Nennecke, S. Siesling, F. Berrino, R. Capocaccia, and E. U. R. O. C. A. R. E.-. W. Group, "Eurocare 5 survival analysis 2000 - 2007," mar 2014, accessed 30-09-2016. [Online]. Available: <https://w3.iss.it/site/EU5Results>
- [3] G. Lu and B. Fei, "Medical hyperspectral imaging: a review," *J. Biomed. Opt.* 0001;19(1):010901, 2014.
- [4] Q. Li, X. He, Y. Wang, H. Liu, D. Xu, and F. Guo, "Review of spectral imaging technology in biomedical engineering: achievements and challenges," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 18, no. 10, p. 100901, oct 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1117/1.jbo.18.10.100901>
- [5] S. L. Jacques, "Optical properties of biological tissues: a review." 2013.
- [6] M. A. Calin, S. V. Parasca, D. Savastru, and D. Manea, "Hyperspectral imaging in the medical field: Present and future," *Applied Spectroscopy Reviews*, vol. 49, no. 6, pp. 435–447, 2014. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1080/05704928.2013.838678>
- [7] A. F. Goetz, G. Vane, J. E. Solomon, and B. N. Rock, "Imaging spectrometry for earth remote sensing," *Science*, vol. 228, no. 4704, pp. 1147–1153, jun 1985. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1126/science.228.4704.1147>
- [8] G. A. Shaw and H. K. Burke, "Spectral imaging for remote sensing," *Lincoln Laboratory Journal*, vol. 14, no. 1, pp. 3–28, 2003.
- [9] R. B. Smith, *Introduction to Hyperspectral Imaging*. TNTmips, 2001.
- [10] L. Homolová, Z. Malenovský, J. G. Clevers, G. Garcá-Santos, and M. E. Schaepman, "Review of optical-based remote sensing for plant trait mapping," *Ecological Complexity*, vol. 15, pp. 1–16, sep 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2013.06.003>
- [11] D. Manolakis, D. Marden, and G. A. Shaw, "Hyperspectral image processing for automatic target detection applications," 2003.
- [12] N. M. Nasrabadi, "Hyperspectral target detection : An overview of current and future challenges," *IEEE Signal Processing Magazine*, vol. 31, no. 1, pp. 34–44, jan 2014. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1109/msp.2013.2278992>
- [13] S. M. Arafat, M. A. Aboelghar, and E. F. Ahmed, "Crop discrimination using field hyper spectral remotely sensed data," *Advances in Remote Sensing*, vol. 2, 2013.

- [14] D. F. Correa and E. Posada, "The social and economic benefits of remote sensing and earth observation satellite systems," 2013.
- [15] T. H. Kurz, S. J. Buckley, and J. A. Howell, "CLOSE RANGE HYPERSPECTRAL IMAGING INTEGRATED WITH TERRESTRIAL LIDAR SCANNING APPLIED TO ROCK CHARACTERISATION AT CENTIMETRE SCALE," *ISPRS - International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences*, vol. XXXIX-B5, pp. 417–422, jul 2012. [Online]. Available: <https://doi.org/10.5194/isprsarchives-xxxix-b5-417-2012>
- [16] E. B. Obando and J. A. Carbonell, "Caracterización espectral y mineralógica de los suelos del valle del río cauca por espectroscopía visible e infrarroja (400 - 2.500 nm)," *Agronomía Colombiana; Vol. 28, núm. 2 (2010); 291-301 Agronomía Colombiana; Vol. 28, núm. 2 (2010); 291-301 2357-3732 0120-9965*, Octubre 2010. [Online]. Available: <http://www.bdigital.unal.edu.co/21586/>
- [17] M. Zhang, Z. Qin, X. Liu, and S. L. Ustin, "Detection of stress in tomatoes induced by late blight disease in California, USA, using hyperspectral remote sensing," *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, vol. 4, pp. 295–310, Nov. 2003.
- [18] J. Richards and X. Jia, *Remote Sensing Digital Image Analysis*. Springer, 2006.
- [19] E. Underwood, S. Ustin, and D. Dipietro, "Mapping nonnative plants using hyperspectral imagery." *Remote Sensing of Environment*, 86(2), 2002.
- [20] D. Wu and D.-W. Sun, "Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review -part ii: Applications," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, 2013.
- [21] P. Baranowski, W. Mazurek, J. Wozniak, and U. Majewska, "Detection of early bruises in apples using hyperspectral data and thermal imaging," *Journal of Food Engineering*, 110,, 2012.
- [22] V. Leemans, H. Magein, and M.-F. Destain, "Automation and emerging technologies: On-line fruit grading according to their external quality using machine vision," *Biosystems Engineering* 83(4), 2002.
- [23] P. S. and M. T. Richardson, *Principles of Intermediate-Moisture Foods and Related Technology, in Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK. doi: 10.1002/9780470376454.ch11, 2007.
- [24] Y. Montembeault, P. Lagueux, V. Farley, and A. Villemaire, "Hyper-cam: Hyperspectral ir imaging applications in defence innovative research," *IEEE Workshop on Hyperspectral Image and Signal Processing: Evolution in Remote Sensing.*, 2010.
- [25] L. Balick, A. Gillespie, A. French, I. Danilina, J.-P. Allard, and A. Mushkin, "Longwave thermal infrared spectral variability in individual rocks," *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters*, Vol. 6, No. 1, 2009.

- [26] E. W. Ciurczak and B. Igne, *Pharmaceutical and medical applications of near-infrared spectroscopy*. CRC Press, 2014.
- [27] M. Milanic, A. Bjorgan, M. Larsson, T. Strömberg, and L. L. Randeberg, "Detection of hypercholesterolemia using hyperspectral imaging of human skin," in *Clinical and Biomedical Spectroscopy and Imaging IV*, J. Q. Brown and V. Deckert, Eds. SPIE, jul 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1117/12.2183880>
- [28] M. Milanic, L. A. Paluchowski, and L. L. Randeberg, "Hyperspectral imaging for detection of arthritis: feasibility and prospects," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 20, no. 9, p. 096011, sep 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1117/1.jbo.20.9.096011>
- [29] A. Bjorgan, M. Denstedt, M. Milanic, L. A. Paluchowski, and L. L. Randeberg, "Vessel contrast enhancement in hyperspectral images," mar 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1117/12.2075703>
- [30] H. Akbari, Y. Kosugi, K. Kojima, and N. Tanaka, "Blood vessel detection and artery-vein differentiation using hyperspectral imaging," sep 2009. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1109/iembs.2009.5332920>
- [31] H. Akbari and Y. Kosugi, "Hyperspectral imaging: a new modality in surgery," in *Recent Advances in Biomedical Engineering*. InTech, oct 2009.
- [32] D. J. Mordant, I. Al-Abboud, G. Muyo, A. Gorman, A. Sallam, P. Ritchie, A. R. Harvey, and A. I. McNaught, "Spectral imaging of the retina," *Eye*, vol. 25, no. 3, pp. 309–320, mar 2011. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/eye.2010.222>
- [33] M. Mori, T. Chiba, A. Nakamizo, R. Kumashiro, M. Murata, T. Akahoshi, M. Tomikawa, Y. Kikkawa, K. Yoshimoto, M. Mizoguchi, T. Sasaki, and M. Hashizume, "Intraoperative visualization of cerebral oxygenation using hyperspectral image data: a two-dimensional mapping method," *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, vol. 9, no. 6, pp. 1059–1072, apr 2014. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1007/s11548-014-0989-9>
- [34] E. O. Olweny, S. Faddegon, S. L. Best, N. Jackson, E. F. Wehner, Y. K. Tan, K. J. Zuzak, and J. A. Cadeddu, "First place: Renal oxygenation during robot-assisted laparoscopic partial nephrectomy: Characterization using laparoscopic digital light processing hyperspectral imaging," *Journal of Endourology*, vol. 27, no. 3, pp. 265–269, mar 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1089/end.2012.0207>
- [35] H. Akbari, L. V. Halig, D. M. Schuster, A. Osunkoya, V. Master, P. T. Nieh, G. Z. Chen, and B. Fei, "Hyperspectral imaging and quantitative analysis for prostate cancer detection," *J. Biomed. Opt.* 17(7), 076005, 2012.
- [36] G. Lu, X. Qin, D. Wang, Z. G. Chen, and B. Fei, "Quantitative wavelength analysis and image classification for intraoperative cancer diagnosis with hyperspectral imaging," mar 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1117/12.2082284>
- [37] S. V. Panasyuk, S. Yang, D. V. Faller, D. Ngo, R. A. Lew, J. E. Freeman, and A. E. Rogers, "Medical hyperspectral imaging to facilitate residual tumor identification during

surgery,” *Cancer Biology & Therapy*, vol. 6, no. 3, pp. 439–446, mar 2007. [Online]. Available: <https://doi.org/10.4161/cbt.6.3.4018>

[38] Z. Liu, H. Wang, and Q. Li, “Tongue tumor detection in medical hyperspectral images,” *Sensors*, vol. 12, no. 12, pp. 162–174, dec 2011. [Online]. Available: <https://doi.org/10.3390/s120100162>

[39] J. Martin, J. Krueger, and D. Gareau, “Hyperspectral imaging for melanoma screening,” mar 2014. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1117/12.2040396>

[40] H. Akbari, K. Uto, Y. Kosugi, K. Kojima, and N. Tanaka, “Cancer detection using infrared hyperspectral imaging,” *Cancer Science*, vol. 102, no. 4, pp. 852–857, feb 2011. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2011.01849.x>

[41] J. F. Piñeiro, D. Bulters, S. Ortega, H. Fabelo, S. Kabwama, C. Sosa, S. Bishop, A. Martínez-González, A. Szolna, and G. M. Callico, “P04.20 hyperspectral imaging for brain tumour identification and boundaries delineation in real-time during neurosurgical operations,” *Neuro-Oncology*, vol. 19, no. suppl_3, pp. iii44–iii44, apr 2017. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox036.160>

[42] S. Ortega, G. M. Callico, M. L. Plaza, R. Camacho, H. Fabelo, and R. Sarmiento, “Hyperspectral database of pathological in-vitro human brain samples to detect carcinogenic tissues,” in *2016 IEEE 13th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*. IEEE, apr 2016.

[43] L. Pantanowitz, J. H. Sinard, W. H. Henricks, L. A. Fatheree, A. B. Carter, L. Contis, B. A. Beckwith, A. J. Evans, A. Lal, and A. V. Parwani, “Validating whole slide imaging for diagnostic purposes in pathology: Guideline from the college of american pathologists pathology and laboratory quality center,” *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, vol. 137, no. 12, pp. 1710–1722, dec 2013.

[44] L. Pantanowitz, A. Evans, J. Pfeifer, L. Collins, P. Valenstein, K. Kaplan, D. Wilbur, and T. Colgan, “Review of the current state of whole slide imaging in pathology,” *Journal of Pathology Informatics*, vol. 2, no. 1, p. 36, 2011.

[45] J. Molin, S. Thorstenson, and C. Lundström, “Implementation of large-scale routine diagnostics using whole slide imaging in sweden: Digital pathology experiences 2006-2013,” *Journal of Pathology Informatics*, vol. 5, no. 1, p. 14, 2014.

[46] S. J and R. MG., “Digital pathology in personalized cancer therapy.” *Via Medica*, 2011.

[47] S. Ribback, S. Flessa, K. Gromoll-Bergmann, M. Evert, and F. Dombrowski, “Virtual slide telepathology with scanner systems for intraoperative frozen-section consultation,” *Pathology - Research and Practice*, vol. 210, no. 6, pp. 377–382, jun 2014.

[48] A. Evans, B. Garcia, C. Godin, M. Godlewski, G. Jansen, A. Kabani, S. Louahlia, L. Manning, R. Maung, L. Moore, J. Phillely, J. Slatnik, J. Srigley, A. Thibault, D. Picard, B. Tetu, C. Bernard, S. Chandrakanth, I. Cornell, H. Cracower, and J. Dalton, “Guidelines from the canadian association of pathologists for establishing a telepathology service for

anatomic pathology using whole-slide imaging,” *Journal of Pathology Informatics*, vol. 5, no. 1, p. 15, 2014.

[49] A. A. Habeeb, D. Ghazarian, and A. Evans, “Virtual microscopy using whole-slide imaging as an enabler for teledermatopathology: A paired consultant validation study,” *Journal of Pathology Informatics*, vol. 3, no. 1, p. 2, 2012.

[50] J. M. Lerner and A. Thevenon, “The optics of spectroscopy,” *Jobin Yvon Inc*, 1988.

[51] M. C. Hutley, “Diffraction gratings,” *Academic Press*, 1982.

[52] L. Bei, G. Dennis, H. Miller, T. Spaine, and J. Carnahan, “Acousto-optic tunable filters: fundamentals and applications as applied to chemical analysis techniques,” *Progress in Quantum Electronics* 28, 2004.

[53] J. Beeckman, K. Neyts, and P. J. M. Vanbrabant, “Liquid-crystal photonic applications,” *Optical Engineering*, vol. 50, no. 8, pp. 081202–081202–17, 2011. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1117/1.3565046>

[54] E. Hecht, *Optics 4rd ed.* Addison-Wesley, 2001.

[55] L. Gao, R. T. Kester, and T. S. Tkaczyk, “Compact image slicing spectrometer (ISS) for hyperspectral fluorescence microscopy,” *Optics Express*, vol. 17, no. 15, p. 12293, jul 2009. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1364/oe.17.012293>

[56] N. Hagen, “Snapshot advantage: a review of the light collection improvement for parallel high-dimensional measurement systems,” *Optical Engineering*, vol. 51, no. 11, p. 111702, jun 2012.

[57] N. Sclater, *Mechanisms and mechanical devices sourcebook*. McGraw-Hill, 2001.

[58] A. Fitzgerald, *Electric Machinery*. McGraw-Hill, 2005.

[59] A. Mookambiga and V. Gomathi, “Comprehensive review on fusion techniques for spatial information enhancement in hyperspectral imagery,” *Multidimensional Systems and Signal Processing*, 2016.

[60] B. A. Erdozain, S. Ortega Sarmiento, and G. I. Marrero Callicó, “Instrumentation for the acquisition of hyperspectral imaging: Development of custom software for capture and analysis,” Master’s thesis, Trabajo Fin de Grado del Grado en Ingeniería Electrónica Industrial y Automática, Junio 2016.

[61] STRATASYS, “grabcad community,” 2010, accessed 02-07-2016. [Online]. Available: <https://grabcad.com/library>

[62] D. Systemes, “Solidworks cad 3d models,” 2007, accessed 02-07-2016. [Online]. Available: <http://my.solidworks.com/cadmodels>

[63] ———, “3dcontentcentral,” 2007, accessed 02-07-2016. [Online]. Available: <http://www.3dcontentcentral.com/>

- [64] ISO, "G-code," dec 2014, accessed 01-10-2016. [Online]. Available: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=13540
- [65] Shapeoko, "G-code," dec 2014, accessed 01-10-2016. [Online]. Available: <http://www.shapeoko.com/wiki/index.php/G-Code>
- [66] Open_Sourcee_Project, "Grbl code," mar 2016, accessed 11-09-2016. [Online]. Available: <https://github.com/grbl/grbl>
- [67] Microsoft, "System.windows.form," 2016, accessed 15-09-2016. [Online]. Available: [https://msdn.microsoft.com/es-es/library/system.windows.forms\(v=vs.110\).aspx](https://msdn.microsoft.com/es-es/library/system.windows.forms(v=vs.110).aspx)
- [68] C. M. Perou, T. Sørli, M. B. Eisen, M. van de Rijn, S. S. Jeffrey, C. A. Rees, J. R. Pollack, D. T. Ross, H. Johnsen, L. A. Akslen, Ø. Fluge, A. Pergamenschikov, C. Williams, S. X. Zhu, P. E. Lønning, A.-L. Børresen-Dale, P. O. Brown, and D. Botstein, *Nature*, vol. 406, no. 6797, pp. 747–752, aug 2000. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1038/35021093>
- [69] A. S. Coates, E. P. Winer, A. Goldhirsch, R. D. Gelber, M. Gnant, M. Piccart-Gebhart, B. Thürlimann, and H.-J. Senn, "Tailoring therapiesimproving the management of early breast cancer: St gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2015," *Annals of Oncology*, vol. 26, no. 8, pp. 1533–1546, may 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv221>
- [70] A. Goldhirsch, W. C. Wood, A. S. Coates, R. D. Gelber, B. Thurlimann, and H.-J. S. and, "Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the st gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011," *Annals of Oncology*, vol. 22, no. 8, pp. 1736–1747, jun 2011. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr304>
- [71] M. Dowsett, T. O. Nielsen, R. AHern, J. Bartlett, R. C. Coombes, J. Cuzick, M. Ellis, N. L. Henry, J. C. Hugh, T. Lively, L. McShane, S. Paik, F. Penault-Llorca, L. Prudkin, M. Regan, J. Salter, C. Sotiriou, I. E. Smith, G. Viale, J. A. Zujewski, and D. F. Hayes, "Assessment of ki67 in breast cancer: Recommendations from the international ki67 in breast cancer working group," *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, vol. 103, no. 22, pp. 1656–1664, sep 2011. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1093/jnci/djr393>
- [72] M. E. H. Hammond, D. F. Hayes, M. Dowsett, and et al, "American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer," *J Clin Oncol* 28:2784-95, 2010.
- [73] A. C. Wolff, M. E. H. Hammond, D. G. Hicks, M. Dowsett, L. M. McShane, K. H. Allison, D. C. Allred, J. M. Bartlett, M. Bilous, P. Fitzgibbons, W. Hanna, R. B. Jenkins, P. B. Mangu, S. Paik, E. A. Perez, M. F. Press, P. A. Spears, G. H. Vance, G. Viale, and D. F. Hayes, "Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American society of clinical oncology/college of american pathologists clinical practice guideline update," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 31, no. 31, pp. 3997–4013, nov 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1200/jco.2013.50.9984>

- [74] T. Khoury, L. Yan, S. Liu, and W. Bshara, "Oncotype DX RT-qPCR assay for ER and PR correlation with IHC," *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, vol. 23, no. 3, pp. 178–187, mar 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1097/pai.0000000000000078>
- [75] M.-Y. C. Polley, S. C. Y. Leung, L. M. McShane, D. Gao, J. C. Hugh, M. G. Mastropasqua, G. Viale, L. A. Zabaglo, F. Penault-Llorca, J. M. Bartlett, A. M. Gown, W. F. Symmans, T. Piper, E. Mehl, R. A. Enos, D. F. Hayes, M. Dowsett, and T. O. Nielsen, "An international ki67 reproducibility study," *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 105, no. 24, pp. 1897–1906, nov 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1093/jnci/djt306>
- [76] A. A. Renshaw and E. W. Gould, "Reducing false-negative and false-positive diagnoses in anatomic pathology consultation material," *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, vol. 137, no. 12, pp. 1770–1773, dec 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.5858/arpa.2013-0012-0a>
- [77] G. C. Bethune, D. V. van Zanten, R. F. MacIntosh, D. Rayson, T. Younis, K. Thompson, and P. J. Barnes, "Impact of the 2013 american society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) testing of invasive breast carcinoma: a focus on tumours assessed as 'equivocal' for HE," *Histopathology*, vol. 67, no. 6, pp. 880–887, jun 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1111/his.12723>
- [78] K. E. Muller, J. D. Marotti, V. A. Memoli, W. A. Wells, and L. J. Tafe, "Impact of the 2013 ASCO/CAPHER2 guideline updates at an academic medical center that performs PrimaryHER2fish testing," *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 144, no. 2, pp. 247–252, aug 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1309/ajcpe5nchwpsmr5d>
- [79] S. Ortega Sarmiento and G. I. Marrero Callicó, "Detección de tumores cerebrales ex-vivo usando imágenes híperespectrales: sistema de adquisición mediante microscopio," Master's thesis, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Escuela de Ingeniería de Telecomunicación y Electrónica, Febrero 2015.

Parte II

Presupuesto

Presupuesto

El presupuesto del presente Proyecto de Fin de Carrera se ha valorado en función de la última lista de Honorarios Orientativos publicada por el Colegio Oficial de Ingenieros de Telecomunicación, denominada Costes Estimados de Trabajos Profesionales correspondiente al año 2008. Así, el presupuesto se ha estructurado en siete secciones:

- 1) Recursos Humanos
- 2) Recursos Hardware
- 3) Recursos Software
- 4) Material Fungible
- 5) Redacción del PFC
- 6) Aplicación de Impuestos
- 7) Presupuesto total

Hay que indicar que el motivo por el que este presupuesto toma como referencia una lista publicada en 2008 se debe a las modificaciones introducidas en el ordenamiento jurídico y a la actuación de los colegios profesionales en la ley 25/2009 del 22 de diciembre, por la cual se liberalizan los honorarios profesionales y ya no es posible seguir publicando este tipo de listas por parte del COIT.

P.1 Recursos Humanos

El coste de los recursos humanos está asociado al tiempo empleado por un ingeniero en la realización de este proyecto. El coste se establece aplicando la fórmula propuesta por el COIT para trabajos por tiempo empleado:

$$\text{Honorarios}(e) = (74,88 \cdot H_n + 96,72 \cdot H_e)C_t \quad (\text{Eq. 8-1})$$

Donde H_n representa el número de horas normales dentro de la jornada laboral, mientras que H_e se considera el número de horas especiales, siendo 260 € el honorario mínimo a cobrar independientemente del número de horas trabajadas. El coeficiente C_t es el factor de corrección que se debe aplicar al número de horas, variando en función del número de horas empleadas según la Tabla 8-1.

Teniendo en cuenta una jornada laboral de ocho horas diarias a razón de veinte días laborales cada mes durante 12 meses, el número total de horas empleadas es de 1920 horas normales, siendo cero el número de horas especiales trabajadas. Según la Tabla 8-1, el factor de corrección que corresponde al número de horas trabajadas es $C_t = 0,40$.

Tabla 8-1: Factor de corrección en función de horas trabajadas.

Horas trabajadas	Ct
0 - 36	1
36 - 72	0,90
72 - 108	0,80
108 - 144	0,70

144 - 180	0,65
180 - 360	0,60
360 - 540	0,55
540 - 720	0,50
720 - 1080	0,45
+ 1080	0,40

En la Tabla 8-2 se muestra el resultado de la aplicación de la ecuación anterior, recogiendo los costes asociados a los recursos humanos libres de impuestos, que ascienden a cincuenta y siete mil quinientos siete euros con ochenta y cuatro céntimos (57.507,84 €).

Tabla 8-2: Coste total de recursos humanos.

Concepto	Tiempo trabajado (horas)	Factor de corrección	Importe (€)
Ingeniero	1.920	0,40	57.507,84
Coste Total			57.507,84

P.2 Recursos Hardware

El coste de los recursos hardware vendrá determinado por la instrumentación de medida y los equipos informáticos empleados en la realización del presente Proyecto Fin de Carrera.

- Cámara hiperespectral UHD-185 Cubert
- Microscopio Olympus BH-2 MJLT
- Arduino UNO
- CNC shield
- Drivers DRV8825
- Motor paso a paso
- Fuente de alimentación 12 V 3 A
- Fuente de alimentación regulable
- Polímetro digital
- Impresora 3D
- Leds SMD
- Ordenador de sobremesa (Intel Core i5 – 8 GB (RAM) – 1 TB (HDD))

Para el cálculo de los costes de los recursos materiales, hardware y software, se utilizará un sistema de amortización lineal o constante, en el que se supone que el inmovilizado material se deprecia de forma constante a lo largo de su vida útil. La cuota de amortización anual se calcula usando la siguiente fórmula:

$$Cuota\ anual = \frac{Valor\ de\ adquisición - Valor\ residual}{Años\ de\ vida\ útil} \quad (Eq.\ 8-2)$$

El valor residual es el valor teórico que tendrá el elemento analizado después de su vida útil.

El periodo de amortización de estos recursos se ha considerado de 36 meses, y su tiempo de uso ha sido de 12 meses en la mayoría de los casos. Los costes asociados a los recursos hardware libres de impuestos se recogen en la Tabla 8-3 y ascienden a ocho mil setecientos veintinueve con noventa y un céntimos (8.729,91 €).

Tabla 8-3: Coste total de recursos hardware.

Concepto	Coste unitario (€)	Valor residual (€)	Coste mensual (€)	Uds	Uso (meses)	Importe (€)
Cámara hiperespectral	46.939,00	30.000,00	470,53	1	12	5.646,33
Microscopio	18.000,00	10.000,00	222,22	1	12	2.666,67
Arduino UNO	22,00	0,00	0,61	1	12	7,33
CNC Shield	17,30	0,00	0,48	1	12	5,76
Driver DRV8825	9,00	0,00	0,25	3	12	9,00
Motor paso a paso	15,00	5,00	0,28	3	12	10,08
Fuente de alimentación	12,00	0,00	0,33	1	12	3,96
Fuente de alimentación	600,00	300,00	8,33	1	6	49,98
Polímetro	39,90	15,00	1,10	1	6	6,60
Impresora 3D	449,00	50,00	11,08	1	2	22,16
Leds SMD	2,00	0,00	0,05	3	6	1,00
Ordenador	899,95	0,00	24,99	1	12	299,98
Coste Total						8.729,91

P.3 Recursos software

Para los recursos software se utilizan los mismos criterios que en el epígrafe anterior, tomando en este caso un periodo de amortización de 24 meses. Las herramientas software usadas han sido las siguientes:

- Sistema Operativo Microsoft Windows 10 Enterprise Edition 64 bits
- Visual Studio 2015
- SolidWorks 2016 versión Estudiantes
- Repetier-Host
- Matlab 2010
- Microsoft Office 2016
- Arduino open-source (IDE)

En la Tabla 8-4 se recogen los costes asociados a los recursos software libres de impuestos. El coste total asociado a las herramientas software empleadas asciende a mil quinientos treinta y uno con ochenta y tres céntimos (1.531,83 €).

Tabla 8-4: Coste total de recursos software

Concepto	Coste unitario (€)	Valor residual (€)	Coste mensual(€)	Importe (€)
Windows 10	279,00	0,00	11,625	139,50
Visual Studio	444,00	0,00	18,5	222,00
MATLAB	2.000,00	0,00	83,33	833,33
SolidWorks	135,00	0,00	5,625	67,50
Microsoft Office	539,00	0,00	22,46	269,50
Arduino (IDE)	0,00	0,00	0,00	0,00
Repetier-Host	0,00	0,00	0,00	0,00
			Coste Total	1.531,83

P.4 Material fungible

En este apartado se recopilan los costes relacionados con los materiales utilizados en la realización del proyecto, como son: componentes de ferretería para el sistema mecánico, bobina de PLA para la fabricación de piezas, material de papelería, servicio de impresión del IUMA, discos CD-R y los costes de impresión y encuadernación de la memoria.

Los costes asociados al material fungible libres de impuestos son en este Proyecto Fin de Carrera de trescientos setenta y cinco (375 €).

Tabla 8-5: Coste total del material fungible.

Concepto	Importe (€)
Ferretería	60,00
Servicio de impresión	235,36
CD-R	2,50
Memoria	77,14
Total	375,00

P.5 Redacción del proyecto

De acuerdo a los honorarios orientativos del COIT, el importe de la redacción del presente PFC se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$R = 0,07 \cdot Pt \cdot Cr + 0,03 \cdot Pc \cdot Cr \quad (\text{Eq. 8-3})$$

Donde Pt es el presupuesto de ejecución material de telecomunicaciones, Pc es el presupuesto de obra civil y Cr es el coeficiente de ponderación por tramos en función del coste del presupuesto. Este Proyecto Fin de Carrera no tiene asociada ninguna obra civil, por lo que Pc es nulo. El presupuesto de ejecución material se corresponde con la suma de los cuatro apartados anteriores:

$$Pt = 57507,84 + 8729,91 + 1531,83 + 375 = 68.144,58 \text{ €}$$

Para este valor de P_t , el coeficiente C vale 0,8. Por tanto, el valor de R es:

$$R = 0,07 \cdot 68.144,58 \cdot 0,8 = 3.816,09 \text{ €}$$

Por lo tanto, los costes asociados a la redacción del proyecto libres de impuestos ascienden a tres mil ochocientos dieciséis con nueve céntimos (3.816,09 €).

P.6 Aplicación de impuestos

En los anteriores apartados se ha recogido cada uno de los costes que se han generado para el desarrollo de este Proyecto Fin de Carrera. La realización del mismo estará gravada con el Impuesto General Indirecto Canario (IGIC), en un siete por ciento (7%).

Tabla 8-6; Coste total del Proyecto Final de Carrera.

Concepto	Importe (€)
Recursos humanos	57.507,84
Recursos hardware	8.729,91
Recursos software	1.531,83
Material Fungible	375,00
Redacción del PFC	3.816,09
Subtotal	71.960,67
IGIC (7 %)	5.037,24
Total	76.997,91

P.7 Presupuesto total

En la Tabla 8-6 se recogen todos los costes asociados al Proyecto Fin de Carrera y el importe total del mismo después de impuestos.

Así pues, D. Noé Afonso Rivero declara que el presupuesto para este Proyecto de Fin de Carrera asciende a un total de setenta y seis mil novecientos noventa y siete con noventa y un céntimos (76.997,91 €).

Parte III

Pliego de condiciones

Pliego de condiciones

Pl.1 Introducción

En el pliego de condiciones se describen las condiciones que se exigen en este Proyecto Fin de Carrera para su correcta reproducibilidad. A continuación, se describe de forma muy breve el conjunto de los componentes hardware y software empleados durante la realización del proyecto, así como de las muestras biológicas que se han utilizado.

Pl.2 Recursos hardware

- **Cámara hiperespectral Cubert UHD-185:** es una cámara hiperespectral de tipo Snapshot, lo que quiere decir que es capaz de capturar toda la información espacial y espectral contenida en una escena sin necesidad de realizar ningún tipo de barrido. Esta cámara trabaja en el rango VNIR (450 nm – 1000 nm) con una resolución espectral de 8 nm.
- **Microscopio Olympus BH-2 MJLT:** microscopio destinado a la observación de circuitos integrados. Dispone de dos sistemas de iluminación basados en lámpara halógena de 12 V 50 W que permiten utilizar métodos de observación tanto por reflexión como por transmisión de la luz. Permite magnificaciones de 5x, 10x, 20x, 50x y 100x.
- **Arduino UNO:** placa electrónica, basada en el ATmega328P. Cuenta con 14 pines digitales de entrada / salida, 6 entradas analógicas, un cristal de cuarzo de 16 MHz y conexión USB.
- **CNC shield:** módulo para Arduino destinado, utilizando firmware *open source* de Arduino, a controlar 4 motores paso a paso por medio de controladores de motor.
- **DRV8825:** *driver* para el control de motores paso a paso con seis resoluciones diferentes: *full-step*, *half-step*, *1/4-step*, *1/8-step*, *1/16-step*, y *1/32-step*.
- **Motor paso a paso:** dispositivo electromecánico que convierte una serie de impulsos eléctricos en desplazamientos angulares discretos, lo que significa que es capaz de avanzar una serie de grados (paso) dependiendo de sus entradas de control.
- **Ordenador de sobremesa** con un procesador Intel Core i5, 8 GB de memoria RAM y un disco duro de 1 TB.

Pl.3 Recursos software

- **Microsoft Visual Studio 2015 Enterprise Edition:** Entorno de desarrollo integrado para sistemas Windows. Soporta varios lenguajes de programación, como Visual C++, Visual C#, Visual J#, ASP.NET y Visual Basic .NET.
- **MATLAB 2010:** Herramienta de software matemático que ofrece un entorno de desarrollo integrado con un lenguaje de programación propio que permite el análisis y la visualización de datos.
- **SolidWorks 2016:** aplicación CAD (diseño asistido por computadora) para modelado mecánico en 3D.

- **Repetier-Host:** aplicación necesaria para convertir un modelo digital 3D en las instrucciones de impresión para una impresora 3D. Incorpora la herramienta Slic3r que corta el modelo en rebanadas horizontales (capas) , genera las trayectorias para rellenarlas y calcula la cantidad de material a extruir.
- **Arduino open-source (IDE):** Herramienta de comunicación para la placa Arduino UNO.
- **Microsoft Office 2016:** paquete ofimático utilizado para la redacción de este PFC.

PI.4 Recursos biológicos

El departamento de Anatomía Patológica del Hospital de Tortosa Verge de la Cinta ha seleccionado, entre los bloques de parafina conservadas en el Biobanco del Hospital, algunas biopsias correspondientes a cáncer de mama con tejido tumoral representativo. El estudio de las muestras ha sido evaluado positivamente por el comité de ética del hospital.

Parte IV

Anexos

Anexo.I Especificaciones técnicas MXGC20.



GIG GEN<i>CAM



sensor information	
sensor	CMOS/IS CMV2000
type	2/3" progressive scan CMOS, global shutter
resolution	2040 × 1084 px
pixel size	5.5 × 5.5 µm
acquisition formats	
image formats, frame rate max.	Full Frame, 2040 × 1084 px, max. 55.0 fps
pixel formats	Mono8 Mono12 Mono12 Packed
Image pre-processing	
analog controls	Gain (0 ... 18 dB) Offset (0 ... 255 LSB 12 Bit)
color models	Mono
Interfaces and connectors	
data interface	Gigabit Ethernet, Transfer rate 1000 Mbits/sec, Fast Ethernet, Transfer Rate 100 Mbits/sec, Connector: 8P8C Modular Jack (RJ45)
process interface	JSTBM06B-SRSS-TB 6 pins
power supply	JSTBM03B-SRSS-TB 3 pins
mechanical data	
material	without housing
lens mount	C-mount / S-mount (adapter)
width	28.5 mm (sensor print) 48 mm (system print)
height	28.5 mm (sensor print) 48 mm (system print)
weight	≤ 30 g
electrical data	
voltage supply	12 ... 24 V DC (external power supply)
range +Vs	36 ... 57 V DC (Power over Ethernet)
power consumption	approx. 3,5 W @ 12 VDC and 55,0 fps approx. 3,8 W @ 48 VDC (PoE) and 55,0 fps

non-volatile memory	
flash memory size	32 Mbit
environmental conditions	
operating temperature	Depends on the thermal encapsulation (T _{ref} = 70 °C @ Measurement Point)
humidity	10 ... 90 % (non-condensing)
digital I/Os	
lines	1 input line 3 output lines
dimension drawing	



EN 020017 The product characteristics and technical data provided do not represent or imply any warranty. Technical modifications and errors reserved.

Anexo.II Especificaciones técnicas TXG14.

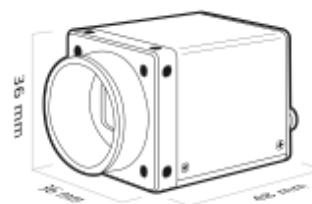


GIG VISION **GEN<i>i>CAM**



sensor information	
sensor	Sony ICX285
type	2/3" progressive scan CCD, global shutter
resolution	1392 × 1040 px
exposure time	0,004 ... 60000 ms
pixel size	6.45 × 6.45 µm
acquisition formats	
image formats,	Full Frame HQ, 1392 × 1040 px, max. 10,0 fps
frame rate max.	Full Frame, 1392 × 1040 px, max. 20,0 fps
	Binning 2×2 HQ, 696 × 520 px, max. 19,0 fps
	Binning 2×2, 696 × 520 px, max. 39,0 fps
	Binning 1×2 HQ, 1392 × 520 px, max. 19,0 fps
	Binning 1×2, 1392 × 520 px, max. 39,0 fps
	Binning 2×1 HQ, 696 × 1040 px, max. 10,0 fps
	Binning 2×1, 696 × 1040 px, max. 20,0 fps
pixel formats	Mono8
	Mono12
	Mono12 Packed
Image pre-processing	
analog controls	Gain (0 ... 20 dB)
	Offset (0 ... 255 LSB 12 Bit)
color models	Mono
Interfaces and connectors	
data interface	Gigabit Ethernet, Transfer rate 1000 Mbits/sec, Connector: 8P8C Modular Jack (RJ45), screwable type
process interface	M8 / 4 pins
power supply	M8 / 3 pins
mechanical data	
material	housing: aluminum
lens mount	C-mount
width	36 mm
height	36 mm
depth	48 mm

mechanical data	
weight	≤ 90 g
electrical data	
voltage supply range +Vs	8 ... 30 V DC
power consumption	approx. 4,0 W
non-volatile memory	
flash memory size	16 Mbit
environmental conditions	
operating temperature	+5 ... +50 °C
humidity	10 ... 90 % (non-condensing)
protection class	IP 40
dimension drawing	



The product characteristics and technical data provided do not express or imply any warranty. Technical modifications and errors reserved.

EN 122017

Anexo.III Lista de comandos para la cámara de Cubert UHD 185.

Commands	Description
Loading Data	
Load="Path+Filename"	Loads the designated measurement to the server by designating the path and the file name.
LoadDark="Path+Filename"	Loads a previous dark measurement to the server by designating the path and the file name.
LoadRed="Path+Filename"	Loads a previous reference measurement to the server by designating the path and the file name.
Exporting Data	
ExportMultiTiff =(“Filename”)	Exports the data cube currently in the memory of the server to a multi-page Tiff Format. The data is stored into the current folder location. The file size of one dataset is up to 280 MB The Options SetFirstGray, ExportSelection, SetFirstGray and SetPanScale are regarded.
ExportTiff=(“Filename”)	Exports the data cube currently in the memory of the server to the Envi Format. The data is stored into the current folder location. The file size of one dataset is up to 280 MB. The Options SetFirstGray, ExportSelection and SetPanScale are regarded.
ExportEnviSlim =(“Filename”)	Exports the data cube currently in the memory of the server to the Envi Format. The data is stored into the current folder location. No upsampling is performed resulting in a small file.
Retrieve Information	
GetVersion	Returns the version number of C-Link
GetCubeVersion	Returns the version number of C-link used with the measurement
GetConnectionState	Returns the connection State of the server: 0, No camera initialized 1, Both cameras initialized 2, Connection error
GetInt	Returns the integration time of the camera Auto-exposure OFF, exposure value in milliseconds. Auto-exposure ON, “auto;exposure-compensation”
GetAvg	Returns the number of averages set to the camera
GetCubeInt	Returns the integration time of the measurement in memory.
GetCubeAvg	Returns the number of averages of the measurement in memory.
GetGPS	Returns the GPS position stored with the measurement in memory.
GetCaptureTime	Returns the precise capture time of the measurement in memory Format: “yyyyMMdd_HHmms_ff”
GetFilename	Returns the original filename of the image in the memory.
GetComment	Returns the comment attached to the image stored with the measurement in memory.
GetAllSpectra	Returns all spectra over socket as a string array.
GetAllSpectraBinary	Returns all spectra over socket as a binary array.

GetSpectra="x,y"	Returns one spectra determined by the position x and y as a string.
GetPluginView	Calculates the selected User Plugin on the measurement in memory
GetThreeChannel="R;G;B"	Returns an image with the designed red, green and blue levels, with values between 0 and 138.
GetFactoryCalibration	Returns the factory calibration as a string.
GetCubeFactoryCalibration	Returns the factory calibration of the measurement as a string.
GetDarkCalibration	Get the time at which the dark reference image got recorded. Format: "yyyyMMdd_HHmms_fff"
GetReflectanceCalibration	Get the time at which the reflectance image got recorded. Format: "yyyyMMdd_HHmms_fff"
GetSerialNumber	Returns the serial number of the device.
GetCubeSerialNumber	Get the serial number of the device used for the measurement in memory.
GetMode	Returns the measurement mode.
GetModel	Returns the model of the device, "UHD 185"
GetCubeModel	Returns the model used for the measurement in memory.
GetArchitecture	Returns the architecture of the system, 32 or 64bits
GetCubeArchitecture	Returns the architecture of the system used for the measurement, 32 or 64 bits.
GetRadiometricCalib	Returns the file of the radiometric calibration of the measurement in memory.
GetTemp	Returns the temperature of the device.
GetAxis	Returns the axis of the gyrometer
GetComment	Returns the comment which was set with the measurement
GetCubeGan	Returns the gain factor from the measurement in memory.
GetGan	Returns the gain factor of the device.
GetStreamThreeChannel	Returns the three channel live streaming.
Set Information	
SetIntLiveMultiplier="X"	Sets the multiplication value of the integration time for the camera. This allows the adjustment of illumination between live and spec camera without increasing the gain.
SetGPS="XX"	Sets the GPS value position along with the measurement.
SetInt="XX"	Sets the integration time of the camera.
SetAvg="XX"	Sets the average of the camera.
SetComment="Comment"	Sets the comment along with the measurement.
SetUserPlugin="escaped xml string"	Sets the user plugin for live preview or data view.
SetRamDisk="Location"	Sets the location on the Ram drive for the fast data export.
SetGan="XX"	Sets the gain factor of the camera.

SetChannel="R;G;B"	Sets the index for Red, Green and Blue channel for pseudo RGB. The values must be between 0 and 138.
SetGamma="Gamma Factor"	Sets the gamma factor of the camera.
SetPath="Path"	Sets the storage location on the drive of the data.
SetFileName="FILENAME"	Determines the name of the next measurement.
SetTriggerMode="XXX"	Sets the trigger mode. The camera must support the mode for it to work. All, activates all modes Soft, software trigger. FreeRunning. Hard, hardware trigger.
SetFactoryCalibration="XXX"	Sets the factory calibration by default of the camera.
SetSerialNumbre="XXX"	Sets the serial number of the camera.
SetRadiometricCalib="XXX"	Sets the radiometric calibration.
SetPanSharpening	Sets sharpening ON or OFF
SetPanScale="XXX"	Set the scale of the image. Where XXX is an integer from 1 to 20. 1 : 50x50 pixels 20: 1000x1000 pixels
CaptureData	
StartHardTrigger	Activates a monitoring process that runs in the background to detect hardware trigger.
StopHardTrigger	Deactivates the monitoring of the hardware trigger.
StoreRef	Stores the White reference image.
StoreDark	Stores the Black reference image.
CapMovie="X1;X2;X3"	Retrieves image series. X1, Fps X2, Length X3, Mode
CapRaw="Filename"	Assigns the name of the next Raw image.
CapDS="Filename"	Assigns the name of the next dark subtract image.
CapCube="Filename"	Assigns the name of the next cube image.
Calibrate_White="Filename"	Captures and saves with the assigned name the white reference image.
Calibrate_Dark="Filename"	Captures and saves with the assigned name the dark reference image.
CapTimeLaps="X1,X2,X3"	Captures a number of images with a designed delay. X1, number of captures. X2, Delay in ms between captures X3 = 0, Reflectance X3 = 1, Raw X3 = 2, Raw-Dark
CapThreeChannel="Path"	Captures a cube and writes a three channel view into the cube directory.
RmdPreview	Generates a quick preview grayscale image and stores it in the Ram disk.
Preview	Returns a preview image over the socket in jpg format.
Store_Raw	Stores the Raw image.

CapStream	Captures the live streaming
RmdStrea	Captures the grayscale live streaming
For Developers only	
Exporting Data	
ExportBinary("Filename")	Exports binary data to the disk.
Get Information	
GetStreamL	Returns fast live streaming.
GetStreamS	Returns the spectrum of the live streaming.
Set Information	
SetTemp="XXX"	Sets the temperature.
SetAxis="XXX"	Sets the Axis of the gyrometer
Capture Data	
StartContinuousCapture	Captures the frames continuously or the live image.
StopContinuousCapture	Stops the continuous capture of frames.

Anexo.IV Motor Nema 17HS series.



HB Stepper Motor Catalog

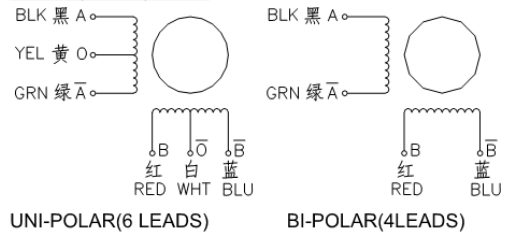
MotionKing (China) Motor Industry Co., Ltd.

2 Phase Hybrid Stepper Motor

17HS series-Size 42mm(1.8 degree)



Wiring Diagram:

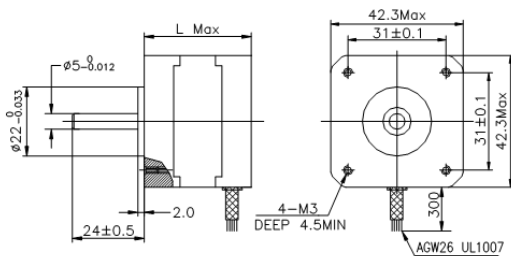


Electrical Specifications:

Series Model	Step Angle (deg)	Motor Length (mm)	Rated Current (A)	Phase Resistance (ohm)	Phase Inductance (mH)	Holding Torque (N.cm Min)	Detent Torque (N.cm Max)	Rotor Inertia (g.cm ²)	Lead Wire (No.)	Motor Weight (g)
17HS2408	1.8	28	0.6	8	10	12	1.6	34	4	150
17HS3401	1.8	34	1.3	2.4	2.8	28	1.6	34	4	220
17HS3410	1.8	34	1.7	1.2	1.8	28	1.6	34	4	220
17HS3430	1.8	34	0.4	30	35	28	1.6	34	4	220
17HS3630	1.8	34	0.4	30	18	21	1.6	34	6	220
17HS3616	1.8	34	0.16	75	40	14	1.6	34	6	220
17HS4401	1.8	40	1.7	1.5	2.8	40	2.2	54	4	280
17HS4402	1.8	40	1.3	2.5	5.0	40	2.2	54	4	280
17HS4602	1.8	40	1.2	3.2	2.8	28	2.2	54	6	280
17HS4630	1.8	40	0.4	30	28	28	2.2	54	6	280
17HS8401	1.8	48	1.7	1.8	3.2	52	2.6	68	4	350
17HS8402	1.8	48	1.3	3.2	5.5	52	2.6	68	4	350
17HS8403	1.8	48	2.3	1.2	1.6	46	2.6	68	4	350
17HS8630	1.8	48	0.4	30	38	34	2.6	68	6	350

*Note: We can manufacture products according to customer's requirements.

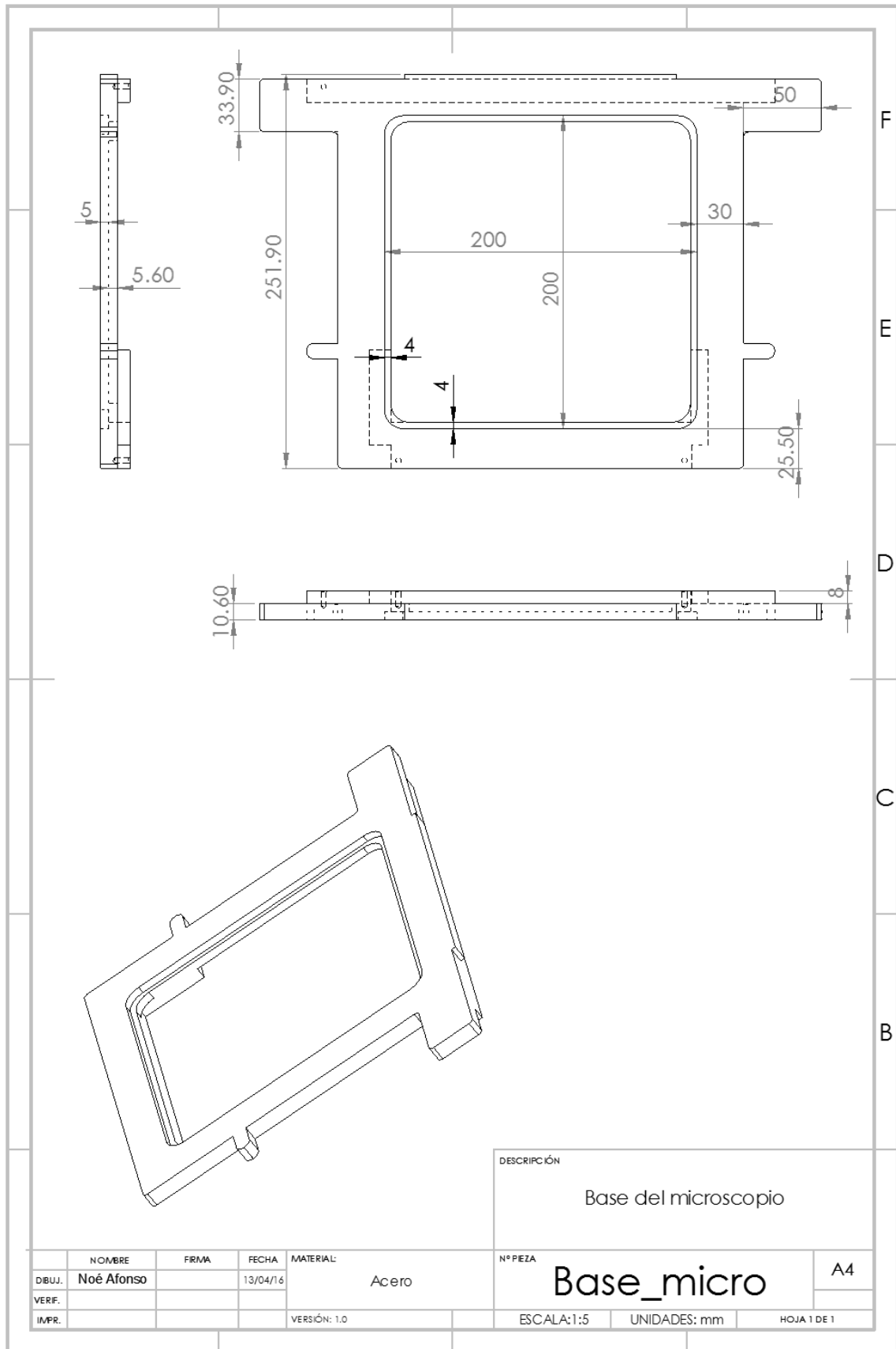
Dimensions: unit=mm

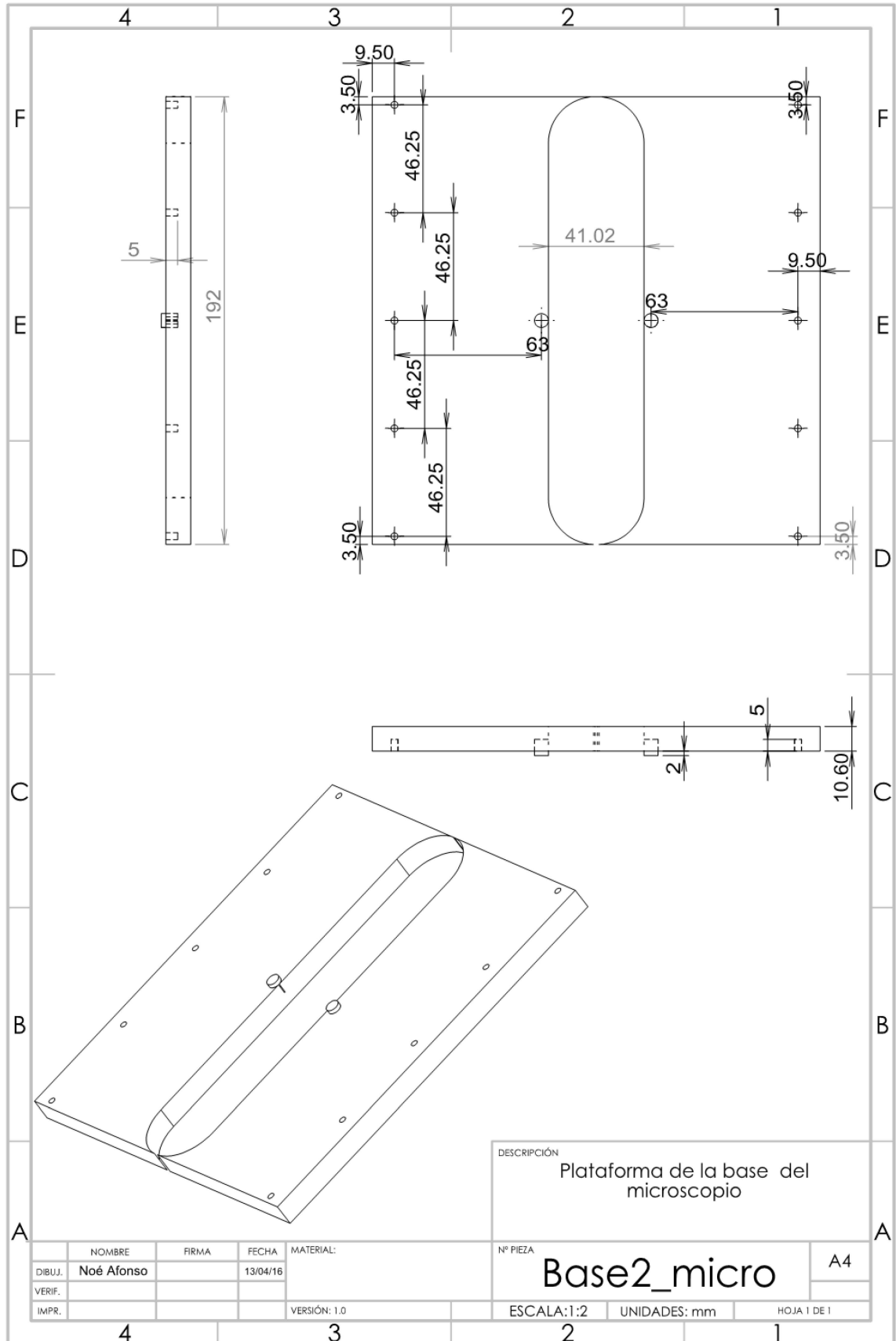


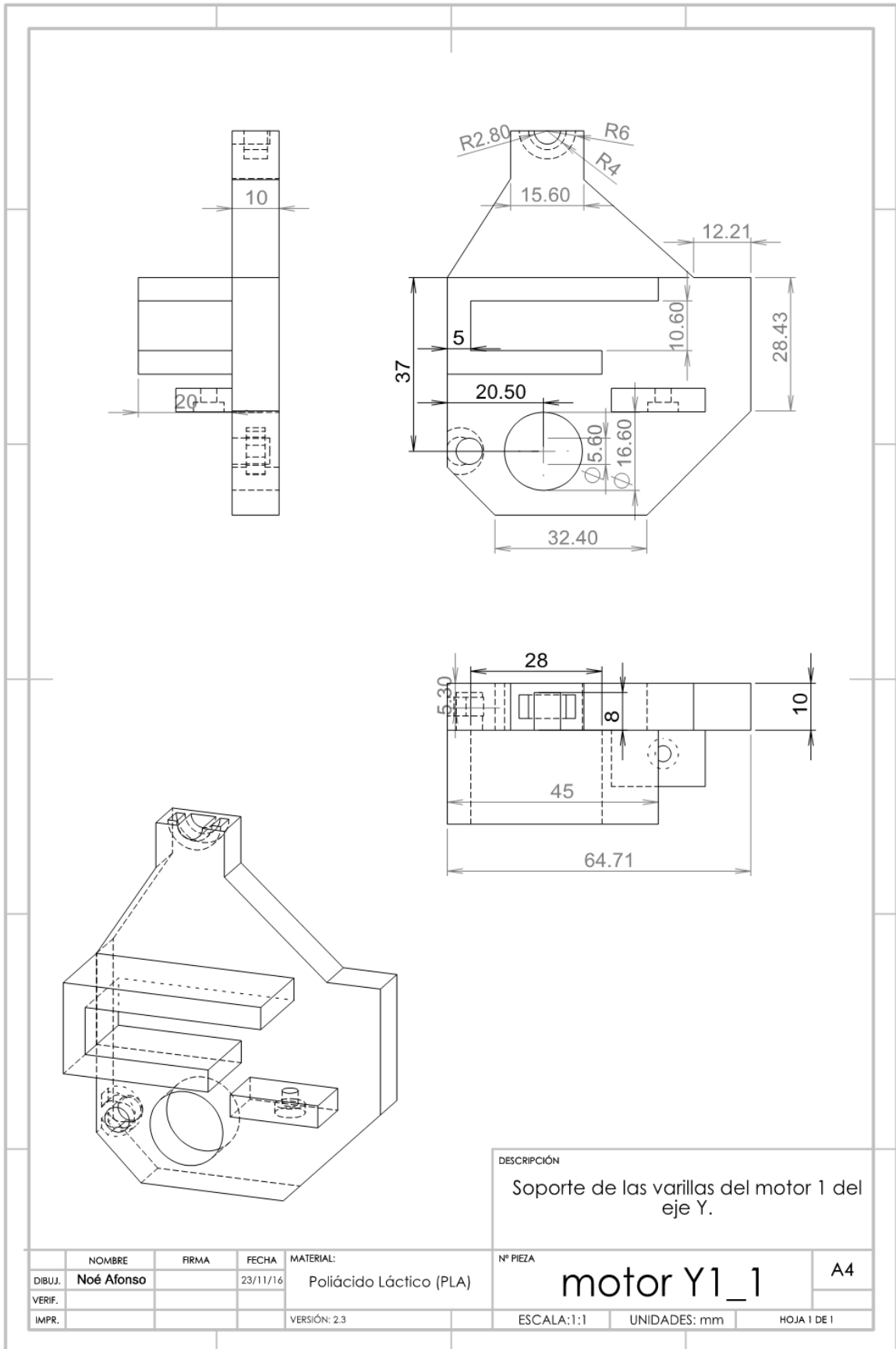
Motor Length:

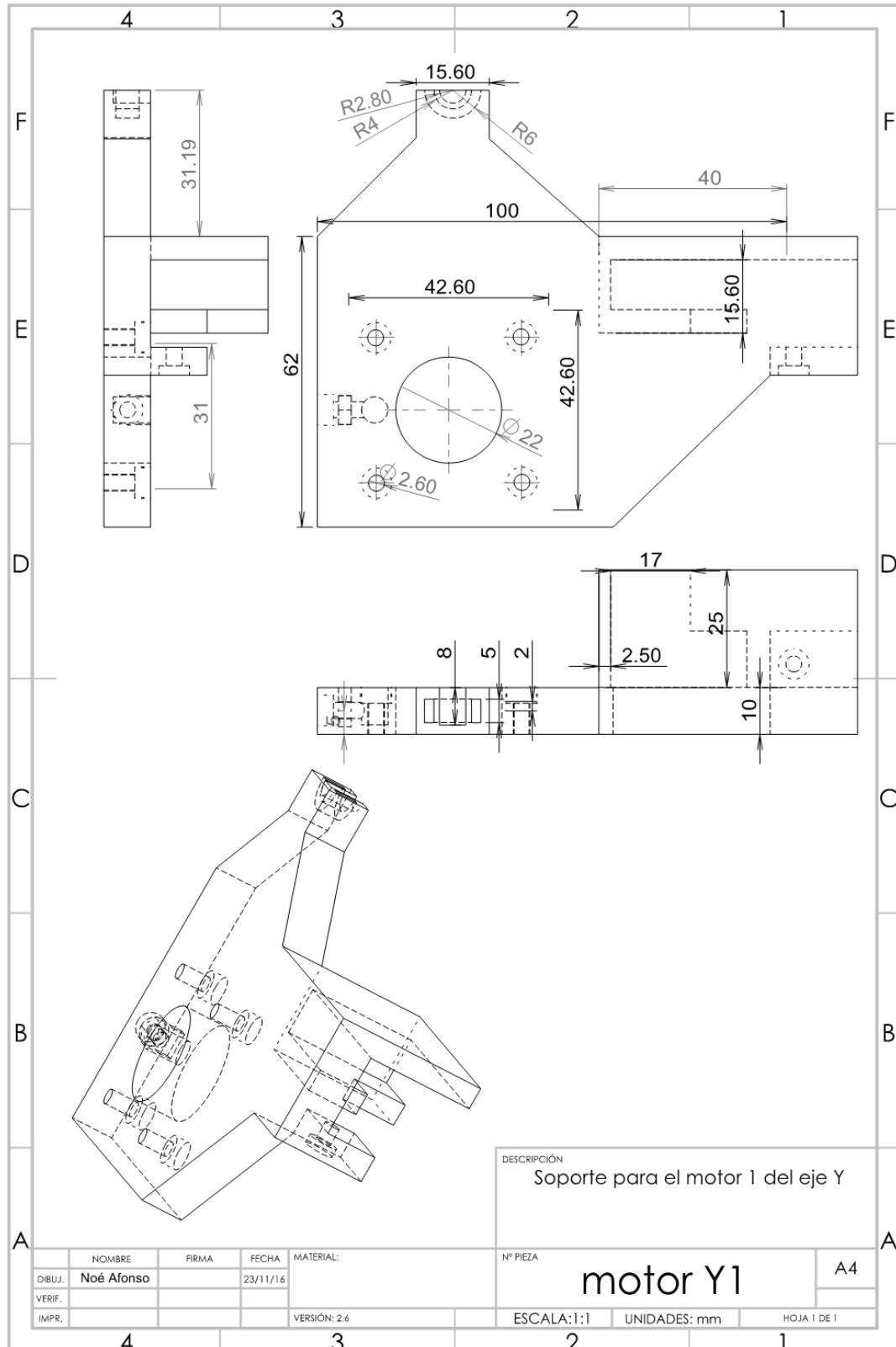
Model	Length
17HS2XXX	28 mm
17HS3XXX	34 mm
16HS4XXX	40 mm
16HS8XXX	48 mm

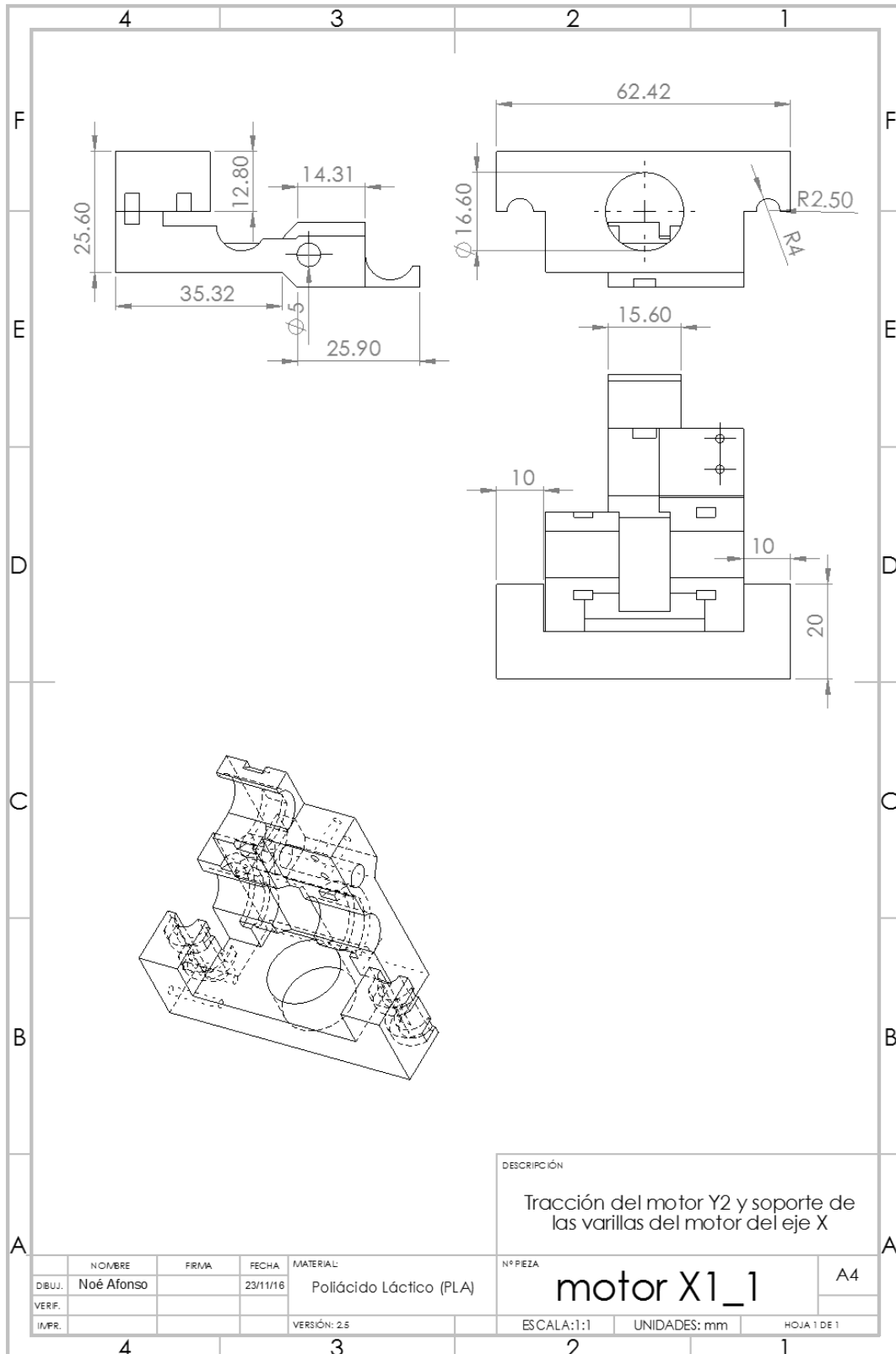
Anexo.V Esquemáticos de las piezas del sistema mecánico

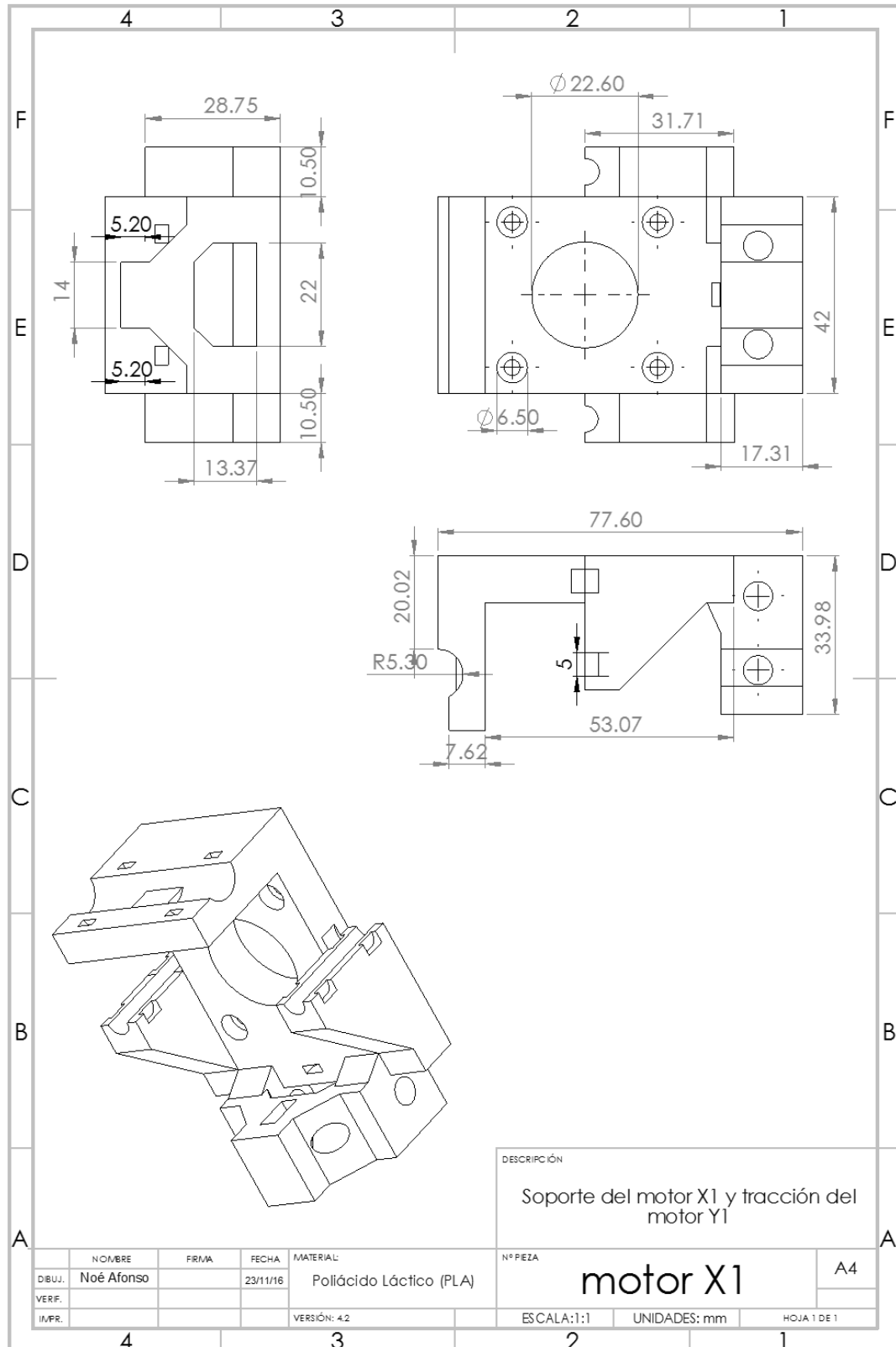


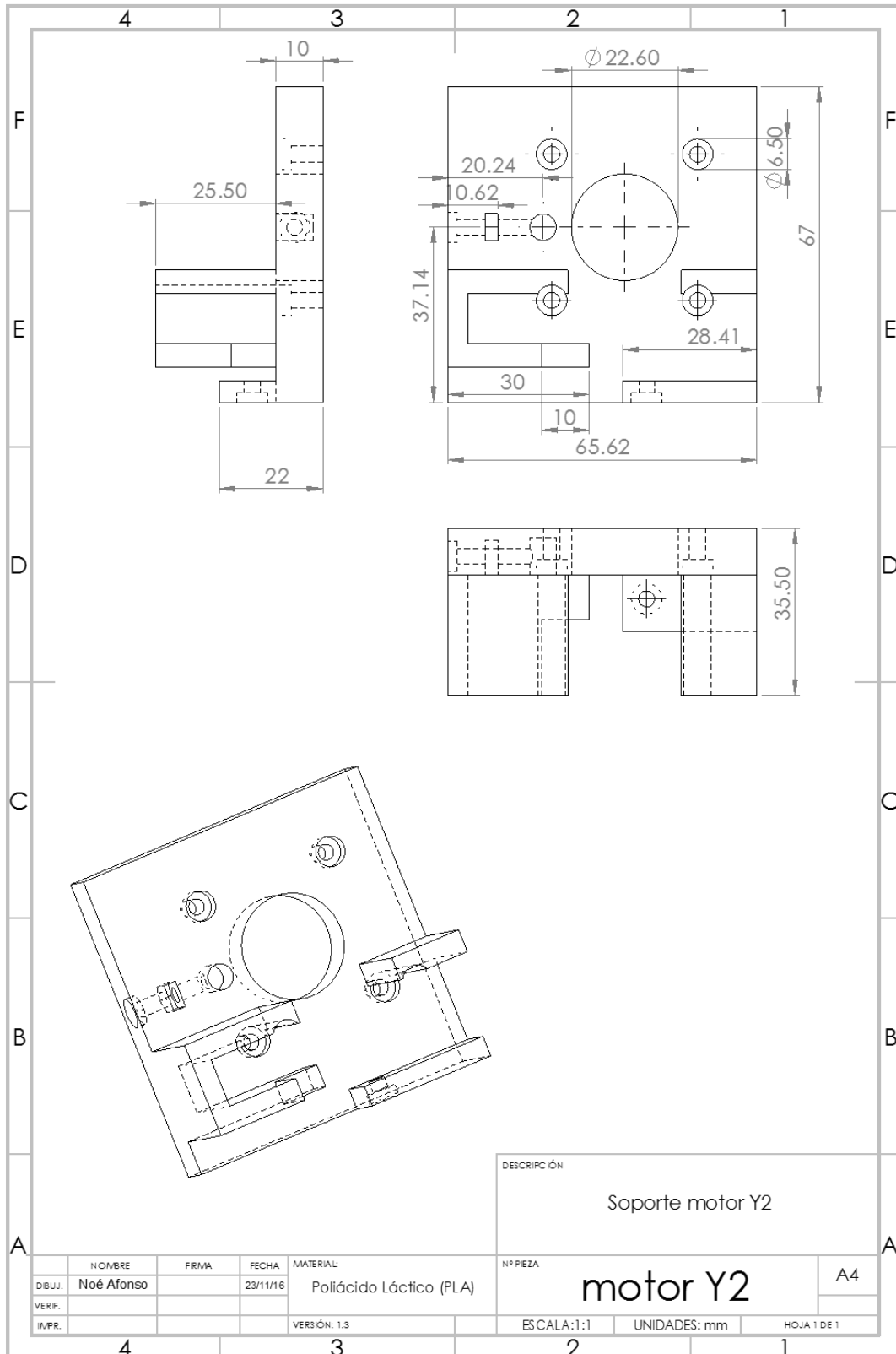


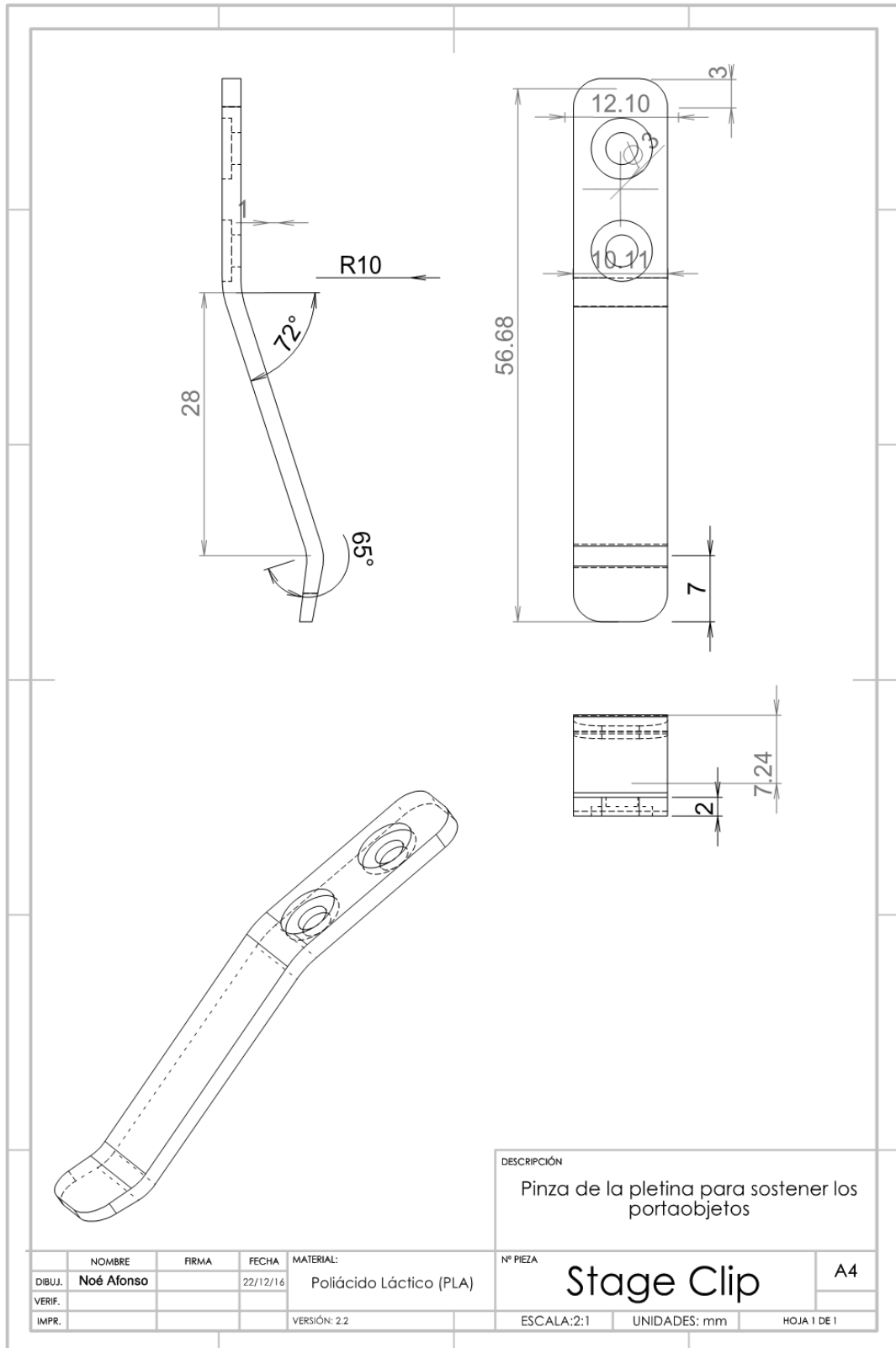






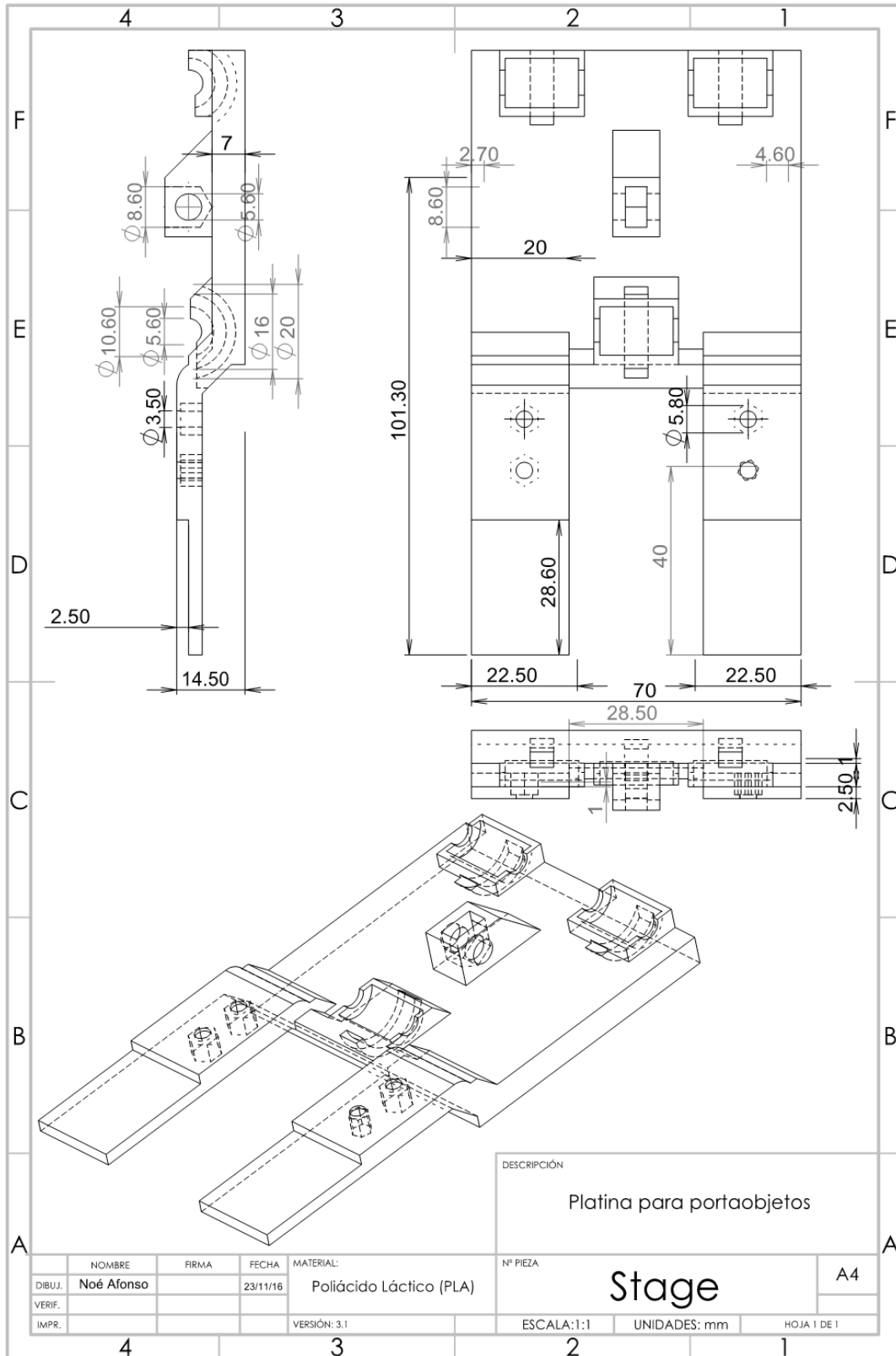


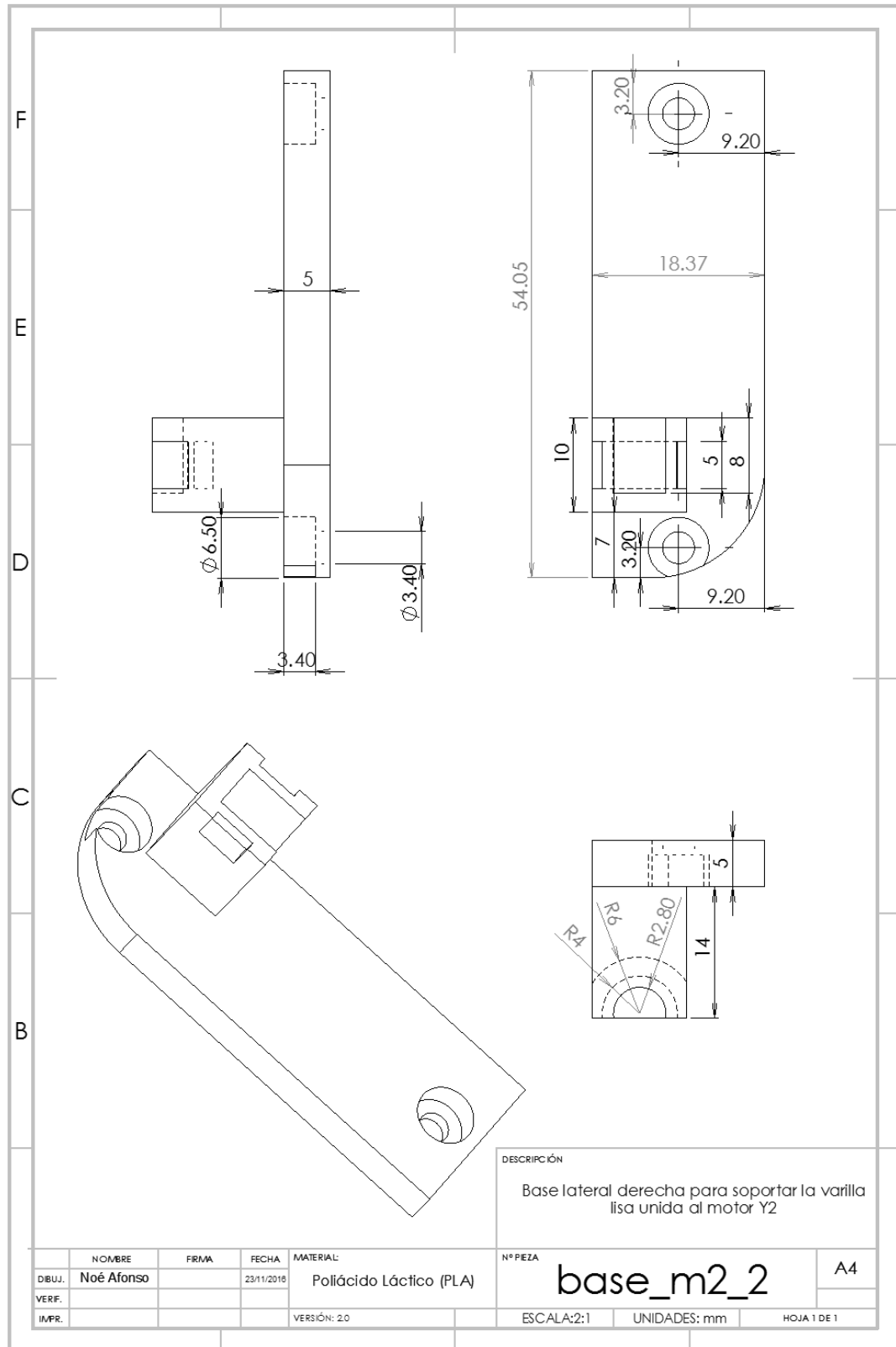




DESCRIPCIÓN
 Pinza de la pletina para sostener los portaobjetos

DIBUJ.	NOMBRE	FIRMA	FECHA	MATERIAL:	Nº PIEZA	A4
VERIF.	Noé Afonso		22/12/16	Poliácido Láctico (PLA)	Stage Clip	
IMPR.				VERSIÓN: 2.2	ESCALA:2:1	UNIDADES: mm HOJA 1 DE 1





Anexo.VI Código

Para consultar el código creado, debe ponerse en contacto con el tutor de este PFC por motivos de confidencialidad.