



UNIVERSIDAD DE LA CORUÑA

Escuela Politécnica Superior. Ferrol

TRABAJO FIN DE GRADO



**GRADO EN INGENIERÍA EN
TECNOLOGÍAS INDUSTRIALES**

**Título: DESARROLLO INSTRUMENTAL DE
UN MICROSCOPIO MEDIANTE SISTEMAS
DE ILUMINACIÓN LÁSER Y LED**

Autor: **José Manuel Prat Fernández**

Fecha: **Junio, 2015**



UNIVERSIDAD DE LA CORUÑA

Escuela Politécnica Superior. Ferrol

TRABAJO FIN DE GRADO



**GRADO EN INGENIERÍA EN
TECNOLOGÍAS INDUSTRIALES**

**Título: DESARROLLO INSTRUMENTAL DE
UN MICROSCOPIO MEDIANTE SISTEMAS
DE ILUMINACIÓN LÁSER Y LED**

Autor: **José Manuel Prat Fernández**

Tutor: **Ginés Nicolás Costa**

Fecha: **Junio, 2015**

Índice

0. Introducción	2
1. Estado del arte de la microscopía óptica	4
1.1. Breve reseña histórica de la microscopía óptica.....	4
1.2. Principio de funcionamiento del microscopio óptico	6
1.3. Introducción a los principales sistemas de iluminación en la microscopía óptica.....	8
1.3.1. Láser	9
1.3.2. Halógena.....	13
1.3.3. Led	16
2. Instrumentación.....	20
2.1. Microscopio óptico Leica.....	20
2.2. Microscopio óptico Nikon	21
2.3. Microscopio óptico desarrollado	21
2.3.1. Fuentes de luz	22
2.3.2. Etapa de traslación motorizada	27
2.3.3. Cámara CCD.....	29
2.3.4. Divisor de haz dicróico o “beam splitter”	30
2.3.5. Lentes	31
3. Resultados	32
3.1. Montaje de los diferentes sistemas de iluminación	32
3.1.1. Led	32
3.1.2. Halógeno	37
3.1.3. Láser	39
3.2. Metodología de obtención de las fotografías	41
3.3. Análisis de las fotografías	42
3.3.1. Comparación cualitativa.....	43
3.3.2. Comparación cuantitativa	45
3.4. Comparativa de los sistemas de iluminación (láser, led y halógeno)	56
4. Conclusiones.....	59
5. Bibliografía	60
Anexo I. Comparación cuantitativa de las muestras.....	62
Anexo II. Comparación cualitativa de las muestras	65

0. Introducción

En la evolución del hombre cabe destacar el progreso que se ha realizado en hacer visible aquello que no lo es. Aunque la agudeza del ojo humano no está limitada por la difracción, su resolución espacial está limitada a, aproximadamente, 100 μm .

Gracias a los avances realizados en el campo de la microscopía, hoy se cuenta con la capacidad de observar detalles muy por debajo de la resolución del ojo humano, lo cual permite ampliar nuestro conocimiento sobre diversos materiales y muestras biológicas.

Una de las partes fundamentales de cualquier microscopio es su fuente de iluminación. Las características del sistema de iluminación, así como la manera de enfocar el haz de luz, determinarán en gran medida la calidad de las imágenes obtenidas. Además, debido al papel clave que juega la iluminación en la microscopía, existe una tendencia hacia la experimentación con diferentes tecnologías, que aporten cada vez mejores resultados que las ya existentes, cumpliendo a su vez con los requerimientos técnicos y económicos en cada caso.

Estas premisas, junto con el dinamismo ideológico presente en el laboratorio y la necesidad de acoplar una nueva fuente de luz al dispositivo de microscopía óptico existente, han suscitado el interés en el laboratorio por el desarrollo de un nuevo tipo de sistema de iluminación basado en la tecnología led.

En la microscopía orientada a los materiales se busca una fuente de luz blanca, intensa y uniforme, es por ello que el led, que también es una opción económica y eficiente, se plantea como la mejor alternativa.

El proyecto se ha realizado en el Laboratorio de Aplicaciones Industriales del Láser de la Universidad de la Coruña.

Para la realización de este proyecto, se han marcado los siguientes objetivos:

- Desarrollo e implementación de un nuevo sistema de iluminación basado en la tecnología led o láser.
- Mejora del dispositivo de microscopía óptico desarrollado en el Laboratorio de Aplicaciones Industriales del Láser.
- Establecer una comparación entre los diferentes sistemas de iluminación de un microscopio óptico.

Esta memoria se divide en diversos capítulos:

En el capítulo 1, se realiza una pequeña introducción a la historia de la microscopía óptica, seguida de una caracterización de los tres sistemas de iluminación que se van a valorar.

En el capítulo 2, se da paso al análisis de todos aquellos elementos utilizados durante el desarrollo del proyecto, haciendo hincapié en los elementos que componen los sistemas de iluminación.

En el capítulo 3, se describe el sistema de iluminación desarrollado e implementado, así como los resultados obtenidos comparándolos con aquellos obtenidos con un microscopio óptico de referencia.

Por último, en el capítulo 4, se exponen las conclusiones a las que se ha llegado tras la realización de este proyecto.

1. Estado del arte de la microscopía óptica

El microscopio es un instrumento óptico diseñado para producir una magnificación visual de pequeños objetos.

Para que una imagen pueda ser observada de una manera nítida, debe existir la distancia suficiente entre el foco y la retina. El ojo humano es incapaz de distinguir detalles muy cercanos de manera independiente (resolución), además, debe existir el suficiente contraste entre los detalles adyacentes de la muestra para poder observar una imagen clara y magnificada.

Atendiendo a lo anteriormente expuesto el microscopio debe desempeñar tres funciones:

- Producir una imagen magnificada de la muestra (magnificación)
- Separar los detalles en la imagen (resolución)
- Convertir estos detalles para que sean apreciables por el ojo humano, por una cámara o por cualquier otro dispositivo de imagen (contraste)

Los microscopios ópticos pueden clasificarse en función de la forma que tienen de iluminar la muestra en:

- De transmisión
- De reflexión

Los microscopios ópticos de transmisión se caracterizan por iluminar la muestra desde debajo, haciendo que la luz la atraviese y recogiéndola con un objetivo. El empleo de este tipo de microscopios solamente es adecuado en el caso de tratar de observar una muestra biológica o una lámina muy delgada de material, en caso contrario, la luz no sería capaz de atravesar la muestra.

En el caso de los microscopios ópticos de reflexión, el haz de luz incide sobre la muestra y parte de la luz reflejada se recoge con el objetivo. Esta clase de microscopios se emplean habitualmente para la observación de materiales.

1.1. Breve reseña histórica de la microscopía óptica

A continuación se expone una pequeña reseña histórica de la invención y el desarrollo de esta tecnología:

1590 — Zacharias y Hans Jensen construyen el primer microscopio compuesto por dos lentes convergentes (Disney, 1928)



Figura 1-Microscopio compuesto de Jensen (Abramowitz & Davidson, n.d.)

1611 — Johannes Kepler diseña el primer microscopio compuesto en el que el objetivo y el ocular son de tipo convexo (Gage, 1947)

1655 — Robert Hooke descubre las unidades estructurales de vida a las que llama “celdas o células” utilizando un microscopio rudimentario (Edkins, 2005)

1674 — Anthony van Leeuwenhoek desarrolla cientos de microscopios (figura 2) que constaban de una sola lente y que eran capaces de magnificar la imagen hasta 300 veces. (Croft, 2006)



Figura 2-Microscopio de una sola lente de Leeuwenhoek

1678 — Christian Huygens desarrolla una teoría donde se explican la refracción, reflexión y doble refracción de la luz (Asimov, 1972)

1824 — Aparecen los primeros objetivos acromáticos gracias a la teoría desarrollada por Christian Huygens (Burge, 1980). En este mismo año George B. Airy introduce el concepto de apertura angular límite.

1846 — Ernest Abbe y Carl Zeiss logran producir el primer microscopio basado en cálculos matemáticos y conocimientos de óptica geométrica, apoyándose en la teoría de George B. Airy de formación de imágenes.

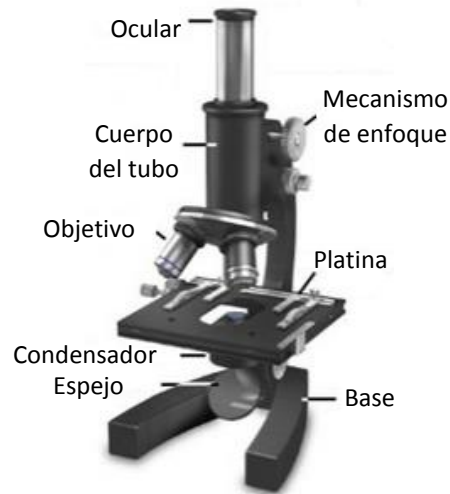


Figura 3-Microscopio óptico de laboratorio (Abramowitz & Davidson, n.d.)

En 1955, se desarrolla un nuevo tipo de microscopio óptico que asentara las bases de lo que posteriormente se conocerá como microscopia confocal. La creación del primer microscopio confocal se le atribuye a Marvin Minsky. (Minsky, 1957).

1.2. Principio de funcionamiento del microscopio óptico

Un microscopio óptico de transmisión funciona de la siguiente manera, en primer lugar, la luz procedente de una fuente pasa a través de un condensador e incide sobre la muestra, la función del condensador es la de limitar la cantidad de luz que le llega a la muestra, eliminando los rayos demasiado dispersos. En segundo lugar, tras atravesar la muestra, la luz es recogida por el objetivo que se encarga de realizar la primera magnificación de la imagen. El objetivo y el cuerpo del tubo son los encargados de enfocar la imagen a una distancia determinada para que, finalmente, el ocular, realice una segunda magnificación que pueda ser observada por el ojo humano (figura 4).

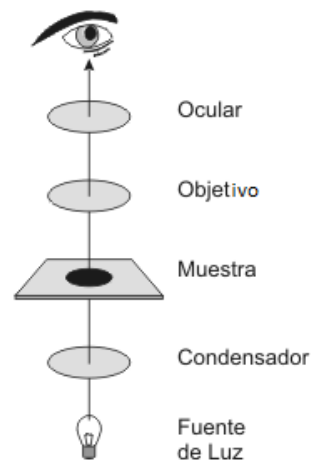


Figura 4-Recorrido de la luz en un microscopio óptico de transmisión

El funcionamiento de un microscopio óptico de reflexión es similar al de transmisión, solo que en este caso, el proceso que experimenta la luz no es el de transmisión, sino el de reflexión. Primero, el haz de luz procedente de la fuente se dirige hacia la muestra, utilizando para ello un divisor de haz, que refleja parte de la luz y deja pasar el resto. Una vez que la luz pasa por el objetivo e incide sobre la muestra, parte de esta luz se verá reflejada por la pieza, volviendo a atravesar el objetivo (primera magnificación), para finalmente llegar al ocular (segunda magnificación) a través del divisor de haz tal como se muestra en la figura 5.

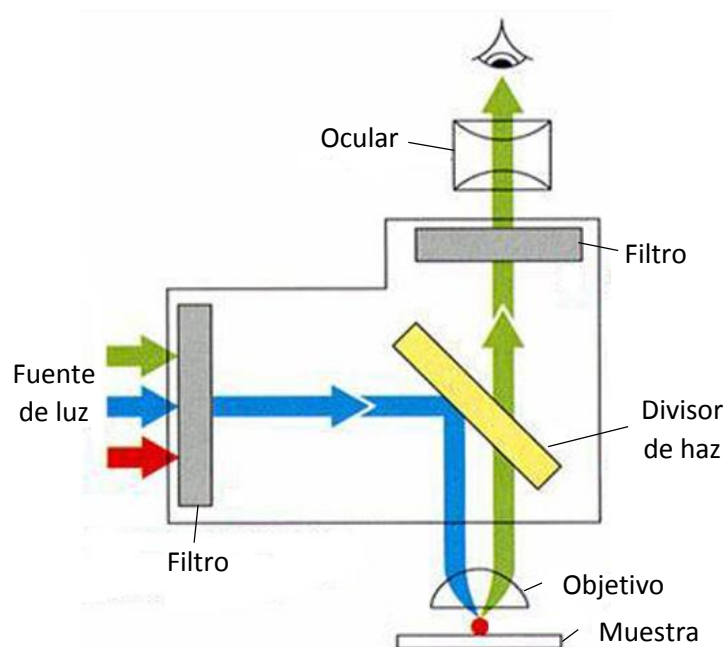


Figura 5- Esquema general de un microscopio óptico de reflexión

Por tanto, el principio de funcionamiento de un microscopio óptico se basa en una magnificación de dos etapas. Primero, el objetivo proyecta una imagen magnificada en el cuerpo del tubo, y tras esto, el ocular vuelve a magnificar la imagen proyectada por el objetivo.

La formación de la imagen se realiza de forma similar en un microscopio óptico de transmisión y en uno de reflexión, en la figura 6 se muestra un esquema de la formación de la imagen en un microscopio óptico de transmisión (Abramowitz, 2003). Lo que en realidad ocurre cuando se mira a través de un microscopio es que la imagen observada no es la muestra en sí misma, sino la imagen formada por el conjunto de lentes.

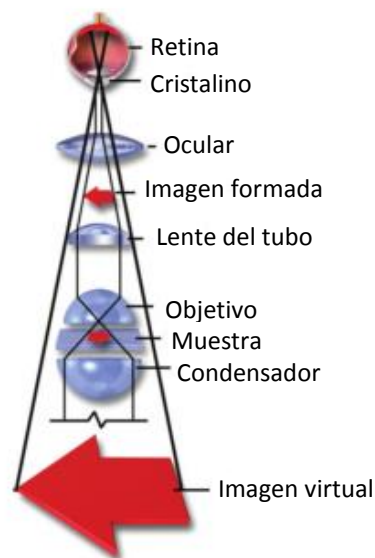


Figura 6- En un microscopio óptico, la imagen intermedia formada por el objetivo y la lente del tubo es magnificada por el ocular. (Abramowitz, 2003)

1.3. Introducción a los principales sistemas de iluminación en la microscopía óptica.

Desde sus orígenes, la microscopía óptica se emplea como una tecnología de observación enfocada a diversos campos, entre los que destacan la biología y la medicina (Paddock & Walker, 2014). Desde su incorporación a la microscopía, el láser ha sido la principal fuente de iluminación empleada para el estudio de muestras biológicas.

El láser es una fuente de luz brillante y monocromática que emite un rayo colimado y coherente. Lo que implica una fuente de luz puntual casi perfecta para un microscopio óptico. (Conn, 2010)

Gracias a una de las propiedades de la radiación láser es posible producir una luz con una única longitud de onda (monocromaticidad) que permite excitar partes de la muestra de forma independiente (fluorescencia), haciendo más sencilla su identificación y posterior caracterización.

Pero la microscopía óptica no está limitada solamente a estos campos, los grandes avances en la tecnología conllevan consigo una demanda creciente de nuevos materiales. El alcanzar propiedades cada vez más óptimas en dichos materiales solo es posible conociendo al detalle las características de los mismos.

Otro de los campos de aplicación más importantes de la microscopía óptica es el que se centra en los materiales. En este caso, la tecnología láser no presenta las mismas ventajas que en los casos anteriores, debido a que no es posible excitar las diferentes partes de la muestra mediante fluorescencia. Además, las desventajas asociadas al láser como la sobreintensidad, el coste y el rendimiento hacen que sea necesario valorar otras alternativas.

En los apartados posteriores se dará una visión general sobre las tres tecnologías que se van a valorar como posible sistema de iluminación. Son las siguientes:

- 1) Fuente de luz láser
- 2) Fuente de luz halógena
- 3) Fuente de luz led

1.3.1. Láser

1.3.1.1. *Definición y principales características*

El láser, por definición, es un “dispositivo electrónico que, basado en la emisión inducida, amplifica de manera extraordinaria un haz de luz monocromático, coherente y direccional”.

La definición anterior pone de manifiesto las propiedades únicas de este tipo de luz, que son:

- Coherencia
- Monocromaticidad
- Colimación

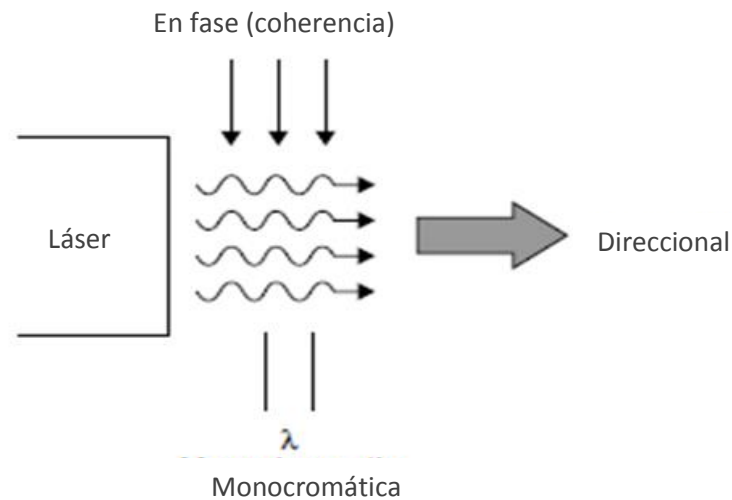


Figura 7-Propiedades de la luz láser. (Csele, 2004)

La **coherencia** establece que todos los fotones emitidos por el láser están exactamente en la misma fase, las ondas emitidas presentan “picos” y “valles” al mismo tiempo. Esta propiedad es consecuencia de la emisión estimulada, en este proceso los fotones son esencialmente copiados lo que explica la similitud entre las fases de los rayos que componen el haz.

Para permanecer en fase se requiere que todos los fotones emitidos tengan exactamente la misma longitud de onda (o muy, muy similar). Además todos ellos deben presentar una alta direccionalidad, esto es, que se desplacen todos en la misma dirección. Esta propiedad, entonces, está íntimamente relacionada con las otras dos. (Csele, 2004)

Se puede establecer entonces que la diferencia fundamental entre un láser y cualquier otra fuente de luz es su coherencia espacial y temporal. Mientras que una fuente de luz incoherente emite ondas desfasadas en todas las direcciones del espacio, un láser genera ondas en la misma fase con un alto grado de direccionalidad, tal como se muestra en la figura 8.

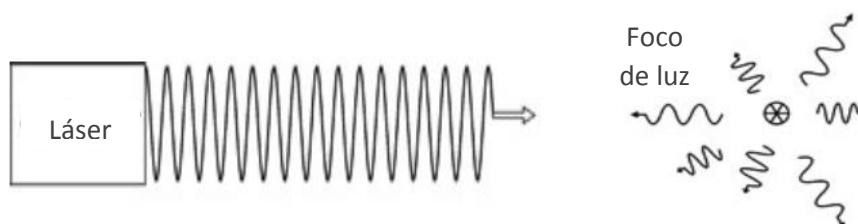


Figura 8- Fuente de luz láser frente a una fuente de luz no coherente (Grundmann, 2010)

La **monocromaticidad** es la propiedad de producir una luz con una única longitud de onda. Esta propiedad es un requisito fundamental para alcanzar la coherencia, ya que fotones con distintas longitudes de onda no poseen la misma fase. (Csele, 2004)

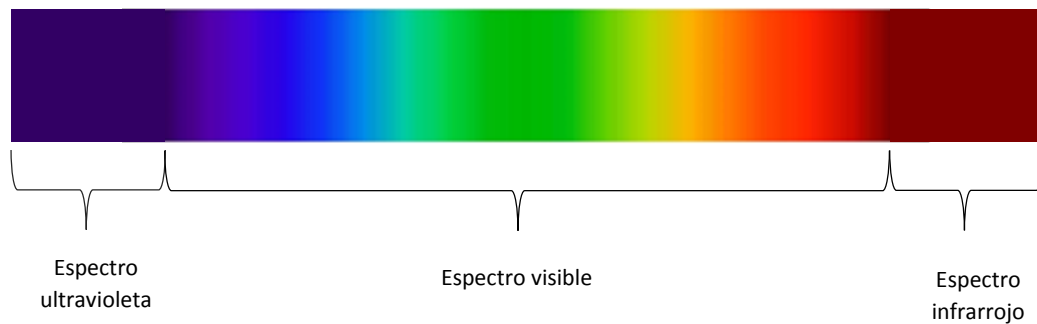


Figura 9- El espectro puede dividirse en tres grandes grupos, la primera el espectro ultravioleta (entre 0 y 400 nanómetros), la luz se caracteriza por tener unos niveles de energía muy altos, el espectro visible (entre 400 y 700 nanómetros), es aquella zona que asociamos con los diferentes colores y tonalidades, y por último, la zona infrarroja (más de 700 nanómetros), en este último caso la luz posee importantes componentes térmicos.

La **colimación** es la propiedad de la luz láser que le permite permanecer como un rayo de pequeño diámetro durante largas distancias. La explicación sobre por qué posee tal grado de direccionalidad se deriva del proceso de formación de la luz, explicado en el apartado siguiente. Como se verá a continuación, para que luz pueda salir de la cavidad láser debe estar alineada con el eje del tubo, mostrando una divergencia muy próxima a cero.

1.3.1.2. Componentes y principio de funcionamiento

Para poder entender cómo funciona un láser es necesario explicar de antemano los componentes que lo constituyen. La estructura básica de un láser se compone de:

- **Medio activo**, puede ser un sólido, un líquido, un gas o un semiconductor. El medio estará localizado dentro la cavidad óptica llenándola total o parcialmente, mediante la excitación del mismo se consigue obtener el haz láser.
- **Bombeo**. Para poder excitar el medio activo es necesario suministrarle una energía, el tipo de bombeo puede ser óptico (otro láser o una lámpara de flash), eléctrico (descarga eléctrica) o químico (energía desprendida en una reacción química).
- **Resonador óptico**, en su forma más simple consta de dos espejos paralelos colocados alrededor del medio activo que proporcionan retroalimentación de la luz. Por lo general uno será un gran reflector, y el otro será un reflector parcial. Este último se llama el acoplador de salida, ya que permite que una pequeña parte de la luz salga de la cavidad para producir el haz láser.

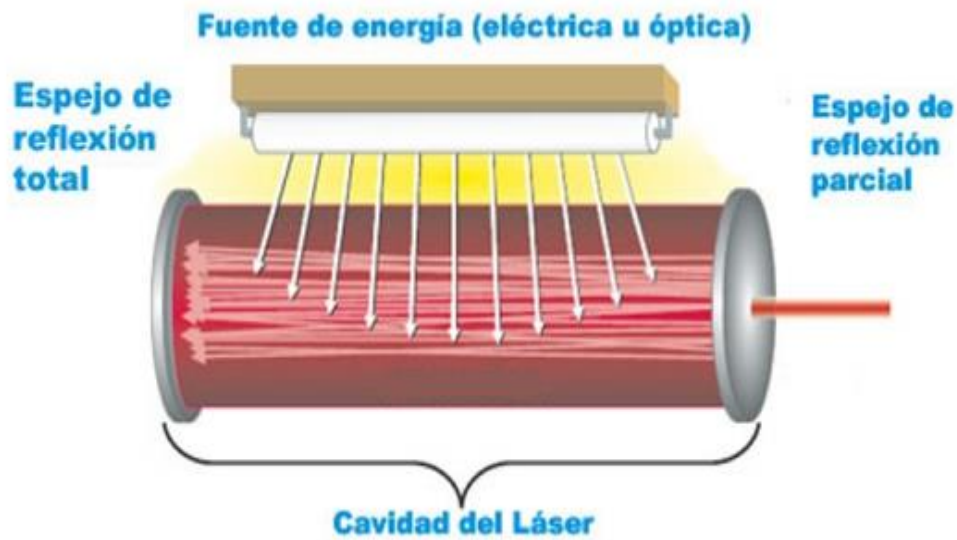


Figura 10-Componentes de un láser

Por un lado, cuando un electrón se encuentra en un nivel de energía elevado, tiende a caer espontáneamente a un nivel de energía inferior con la subsiguiente emisión de luz. Esto es lo que se llama emisión espontánea y es la responsable de la mayor parte de la luz visible.

Por otro lado, un fotón puede estimular la caída de un electrón a un nivel inferior si tiene una energía igual a la diferencia entre los dos niveles, en ese caso se emitirá un segundo fotón idéntico al que ha inducido la transición. Esta es la llamada emisión estimulada, que es la que se induce excitando el medio activo de forma continuada.



Figura 11- La emisión estimulada producirá la emisión de un segundo fotón idéntico al primero. La emisión estimulada, como se verá más adelante, dará lugar a la propiedad más importante de la luz láser, la coherencia.

1.3.1.3. Ventajas y aplicaciones

Las principales ventajas del láser son sus propiedades, que hasta día de hoy, no han sido alcanzadas por ninguna otra fuente de luz. Además, cabe destacar también, su elevada intensidad por unidad de superficie.

Las desventajas del láser provienen de su bajo rendimiento y su elevado coste. El rendimiento de un láser, en cuanto a conversión de energía se refiere, alcanza valores entorno al 1%.

Aunque el láser sea una fuente de luz, sus mayores beneficios no se encuentran en el campo de la iluminación. Sus aplicaciones en otros terrenos son elevadas y abarcan diversos ámbitos como el científico, el industrial y la biomedicina entre otros.

En el ámbito científico se utiliza en óptica no lineal, espectroscopia láser, femtoquímica, medición de la frecuencia y el tiempo, enfriamiento... En el ámbito industrial destaca su aportación en el procesado de materiales, corte, soldadura, perforado, marcado y los tratamientos superficiales. Por último en el ámbito de la biomedicina destaca su efecto en los tejidos (fotoablación, efectos térmicos, efectos fotoquímicos, ablación inducida) y sus aplicaciones en oftalmología, odontología y dermatología (Alonso Fernández & Arias Tobalina, 2010).

Por último, los láseres pueden ser clasificados atendiendo a numerosos factores, aquí se destacan en función del medio activo que los constituye:

- Láseres de gas
- Láseres de estado líquido
- Láseres de estado sólido
- Láseres de semiconductor

1.3.2. Halógena

1.3.2.1. *Definición y principales características*

Las lámparas incandescentes son aquellas basadas en el fenómeno de la incandescencia. Este fenómeno se basa en la emisión de radiación lumínica a medida que va aumentando la temperatura del cuerpo, empezando primero por una emisión en el espectro infrarrojo para, posteriormente, ir cubriendo el espectro visible a medida que la temperatura aumenta. (Moncton, 2010)



Figura 12- Ejemplo de luz visible emitida por un material incandescente

En el caso concreto de las lámparas incandescentes, el flujo de electricidad que atraviesa el filamento de la lámpara produce un incremento de su temperatura, dicho incremento excita los electrones del filamento a niveles de energía superiores que al volver a su estado original liberaran el exceso de energía en forma de fotones.

Las lámparas halógenas producen luz a partir de la incandescencia, pero las ventajas que ofrecen, comparadas con las lámparas incandescentes convencionales, son que su tiempo de vida es dos veces superior y poseen una mayor eficacia lumínica.(Taylor and Francis Group, 2011)

1.3.2.2. Componentes y principio de funcionamiento

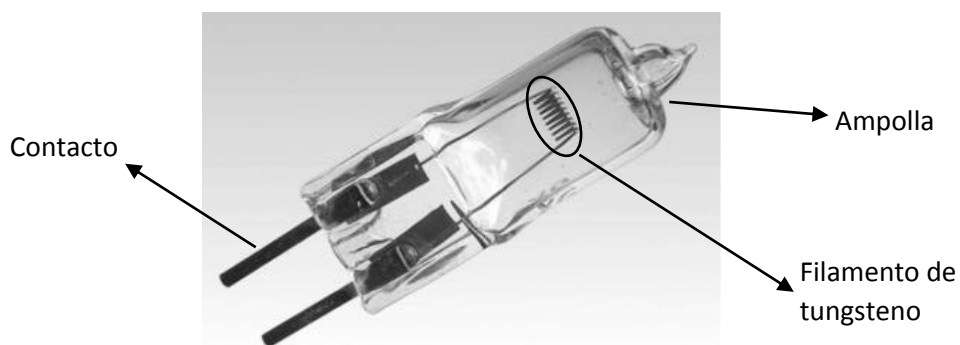


Figura 13-Lámpara halógena

El incremento de la vida media de la lámpara halógena es el resultado del balance químico que se produce entre el filamento de tungsteno de la lámpara y el gas halógeno. Este balance químico se conoce como ciclo del halógeno.

El ciclo del halógeno funciona de la siguiente forma: Los átomos de tungsteno que han escapado en fase gas, debido a la elevada temperatura del filamento, interaccionan y crean enlaces con los átomos del halógeno, formando un compuesto que no es depositado en los puntos fríos de la lámpara sino que continua su recorrido en fase gaseosa hasta que nuevamente alcanza el filamento y se disocia debido a las altas temperaturas; los átomos de tungsteno regresan al filamento y los átomos del gas halógeno, vuelven a estar listos para empezar nuevamente el proceso. (Taylor and Francis Group, 2011)

Debido a la naturaleza del proceso también se le conoce como ciclo regenerativo del halógeno, este proceso puede repetirse un número limitado de veces, a causa del progresivo deterioro de las partes frías del filamento.

CICLO REGENERATIVO DEL HALÓGENO

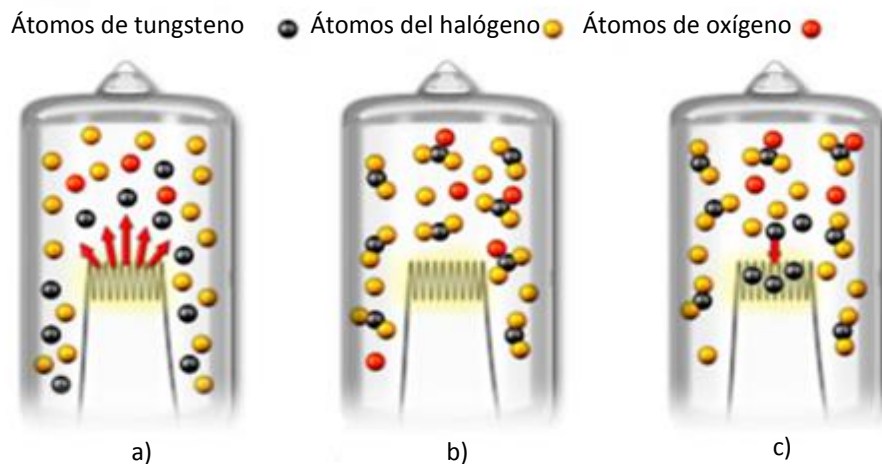


Figura 14- Esquema de funcionamiento de una lámpara halógena: (a) Se liberan los átomos de tungsteno del filamento (b) Se forman los compuestos constituidos por los átomos del halógeno y del tungsteno (c) finalmente el compuesto vuelve al filamento en donde se disocia, debido a la alta temperatura, depositando los átomos de tungsteno. (Gines & Davidson, 1995)

1.3.2.3. Ventajas y aplicaciones

Las lámparas halógenas presentan múltiples ventajas con respecto a otras tecnologías, tales como: encendido instantáneo, ausencia de materiales peligrosos tales como el mercurio, un tiempo de vida independiente de las variaciones en la frecuencia, además de, un tiempo de vida superior y una mayor eficacia lumínica que las lámparas incandescentes convencionales.

Por otro lado este sistema de iluminación posee un par de desventajas a tener en cuenta: la primera, se desprenden grandes cantidades de calor debido al propio proceso de incandescencia, y segundo, junto a la luz visible que se emite, las lámparas halógenas emiten radiación ultravioleta, la cual debe ser eliminada mediante filtros.

Las lámparas halógenas centran sus aplicaciones en los sistemas de iluminación. Antes de la aparición del láser y el led, prácticamente la totalidad de los microscopios contaban

con una fuente de iluminación halógena. Esta tecnología también puede ser encontrada en automovilística e iluminación de interiores (hogares, tiendas comerciales, oficinas).

1.3.3. Led

1.3.3.1. *Definición y principales características*

Todas las fuentes de luz artificial (excepto el láser) se fundamentan en tres tecnologías, en las cuales dos de ellas, las basadas en incandescencia y descarga, han alcanzado un alto grado de madurez con respecto a su eficacia, a pesar de ello todavía existen investigaciones en desarrollo. Por el contrario, la tercera tecnología, la luz de estado sólido, está mostrando un progreso muy acelerado y aunque su desarrollo y comercialización comenzaron mucho más tarde, esta tecnología posee la capacidad en la actualidad de competir con las otras dos, y en muchos casos, llega incluso a sustituirlas.

El diodo emisor de luz (o LED por sus siglas en inglés, “Light Emitting Diode”) produce luz a partir del fenómeno de la electroluminiscencia. La electroluminiscencia se basa en la emisión de fotones (luz) desde un cuerpo sólido (semiconductor) cuando un flujo de corriente pasa a través de él o cuando se coloca en el seno de un campo eléctrico, sus efectos son diferentes a los que se consiguen con la incandescencia. (Moncton, 2010).

1.3.3.2. *Componentes y principio de funcionamiento*

Los materiales utilizados para la fabricación de los leds son aquellos que se conocen como semiconductores. Si la configuración electrónica permite la excitación térmica de los electrones desde la parte superior de la banda de valencia completa, hasta la parte inferior de la banda de conducción vacía, se está tratando con un semiconductor, ejemplos de los mismos son: el germanio, el silicio y el conjunto formado por los elementos de la tercera y quinta columna de la tabla periódica. (Huebener, 2013)

Mediante la adición controlada (dopaje) de pequeñas cantidades de ciertos materiales a estos semiconductores, tales como el silicio, se consiguen propiedades adicionales y en función del material añadido existen dos posibilidades. En un caso, si el material adicionado se compone de un número de electrones en su capa de valencia superior al semiconductor, el material resultante será de “tipo n” y tendrá un exceso de cargas negativas o electrones. En el otro caso, cuando el material adicionado posee menor número de electrones en su capa de valencia, el semiconductor tendrá un exceso de cargas positivas, también conocidas como huecos, y el semiconductor resultante será considerado como de “tipo p”.

La conexión entre un semiconductor tipo n y un semiconductor tipo p crean una junta p-n, que funciona como un diodo, permitiendo el paso de la corriente en una sola dirección, desde el ánodo (tipo p) al cátodo (tipo n), tal como se muestra en la figura 15.

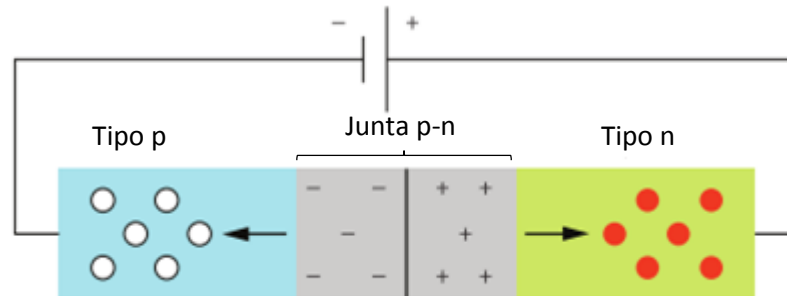


Figura 15- Elaboración de un diodo a partir de una unión p-n

Mientras se produce el flujo de electricidad que atraviesa el semiconductor, los electrones se recombinan en la junta p-n con los huecos, esta combinación genera que los electrones se sitúen en un nivel energético inferior. La diferencia de energía resultante de esta combinación se libera como radiación electromagnética con una longitud de onda que depende de los materiales del semiconductor.

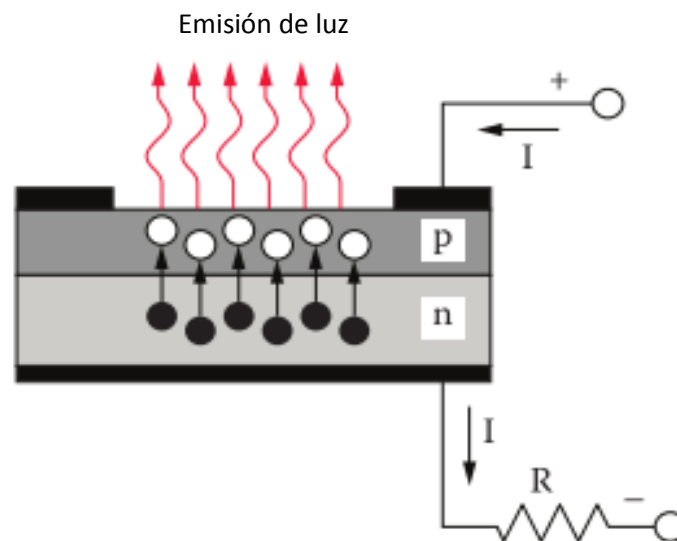


Figura 16-Radiación emitida por la unión de un semiconductor durante el flujo de corriente (Taylor and Francis Group, 2011)

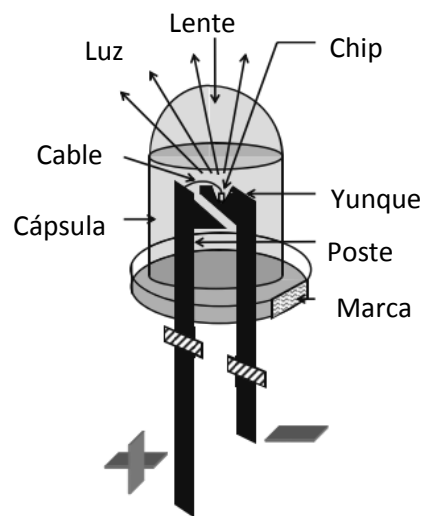


Figura 17- Diodo emisor de luz (led) de baja potencia (Khanna, 1952)

En las figuras 17 y 18 se muestran los diferentes componentes que constituyen un led.

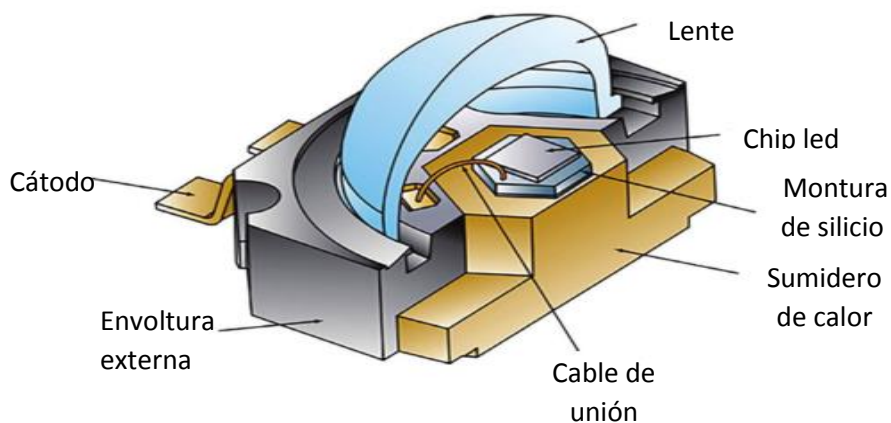


Figura 18- Lámpara led

Un led es una fuente de luz de baja potencia por eso es necesario mantener unos niveles de tensión y corriente adecuados, esta tarea es la que lleva a cabo el driver. Además de como regulador, el driver también es el encargado de transformar la corriente de la red y suministrar al led corriente continua.

Los drivers pueden funcionar a voltaje constante o a corriente constante siendo estos últimos los que presentan mejores resultados (Moncton, 2010).



Figura 19- Driver de un led

1.3.3.3. Ventajas y aplicaciones

En los últimos años el led ha experimentado una evolución sin precedentes que lo ha hecho colocarse como la fuente de iluminación más demandada. Su éxito se debe a la gran cantidad de ventajas que lleva asociado, como son: tiempo de vida muy alto, amplia variedad de colores en el espectro visible, bajo consumo y coste, inicio inmediato, gran eficiencia lumínica, etc.

Por otro lado sus desventajas provienen fundamentalmente de la producción de calor. A medida que se aumenta la potencia del led la generación de calor aumenta, esto hace que su diseño y construcción dependan de un adecuado control del exceso de calor mediante la utilización de sumideros de calor y sistemas de refrigeración.

Las aplicaciones de los leds en iluminación son muy numerosas, a continuación se enumeran algunos de los campos más importantes:

- Iluminación de interiores (oficinas, viviendas, industrias) y de exteriores (carreteras, pistas de aviación, señales de tráfico...).
- Automoción
- Aviación
- Tecnología LCD y móvil

2. Instrumentación

En este capítulo, se describen los elementos empleados en el montaje del sistema de iluminación, para ello, será necesario describir y caracterizar el dispositivo de microscopia óptico desarrollado en el laboratorio.

Los microscopios empleados para la realización de este proyecto han sido:

- Microscopio óptico Leica.
- Microscopio óptico Nikon.
- Microscopio óptico desarrollado en el Laboratorio de Aplicaciones Industriales del Láser.

Los elementos que constituyen el microscopio óptico desarrollado son:

- Fuentes de luz
- Etapa de traslación motorizada
- Cámara CCD
- Divisor de haz dicróico o “beam splitter”
- Lentes
- Espejo, modifica la dirección del haz de luz que incide sobre él.
- Diafragma, limita el paso de la luz.
- Objetivo, será el encargado de focalizar el haz de luz sobre la muestra y conducirlo posteriormente hasta la cámara.

2.1. Microscopio óptico Leica

Se emplea un microscopio óptico marca Leica modelo Leitz DMR, que cuenta con una fuente de iluminación halógena de 100W, unos objetivos de 5 ,10 ,20 ,50 aumentos y como captador, una cámara CCD.



Figura 20- Microscopio óptico Leica

Como se verá en el capítulo siguiente, este microscopio permite establecer un caso de referencia, pudiéndose realizar comparaciones entre los resultados obtenidos con este, con aquellos obtenidos con el microscopio óptico desarrollado una vez implementado el nuevo sistema de iluminación.

2.2. Microscopio óptico Nikon

Se dispone de un microscopio óptico marca Nikon modelo Eclipse. Este microscopio cuenta con una fuente de iluminación halógena de 100W, con unos objetivos de 5, 10, 20 y 50 aumentos y como captador, emplea una cámara CCD (figura 21).



Figura 21- Microscopio óptico marca Nikon

La utilización de un segundo microscopio óptico se debe a la necesidad de poder comparar los resultados obtenidos con estos dos dispositivos. Como se verá más adelante (capítulo 3), la comparación entre las fotografías de ambos microscopios da lugar a la justificación del caso de referencia escogido.

2.3. Microscopio óptico desarrollado

Se emplea un microscopio óptico desarrollado en el Laboratorio de Aplicaciones Industriales del Láser. Los elementos que constituyen dicho microscopio se muestran en la figura 22.

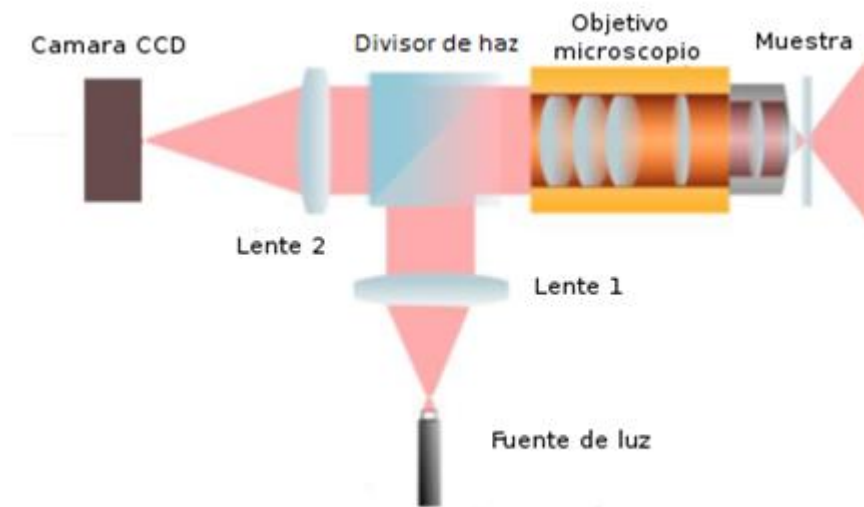


Figura 22-Esquema de los diferentes elementos que componen el microscopio óptico desarrollado

El sistema de iluminación es una de las partes fundamentales de cualquier microscopio óptico. La sustitución de los sistemas de iluminación ya existentes por uno basado en la tecnología led busca, primero, una reducción en el coste del dispositivo y, segundo, una mejora de la visualización de la muestra.

Para poder implementar un nuevo sistema de iluminación es necesario actuar sobre los diferentes elementos que componen el microscopio y que se describen a continuación.

2.3.1. Fuentes de luz

El sistema de iluminación es una de las partes más importantes de cualquier microscopio, de él va a depender la calidad de las imágenes obtenidas.

Un exceso de luz provocaría la saturación del detector y una iluminación deficiente provocaría que no se obtuviese ninguna imagen. Todo esto hace necesario analizar con detenimiento todos los sistemas de iluminación que se van a utilizar.

En este proyecto se dispone de tres fuentes de iluminación:

- Láser
- Halógeno
- Led

2.3.1.1. Láser

Se emplea como fuente de luz un láser de Argón, marca Molecular Dynamics modelo Sarastro 2000 (figura 23). Las propiedades del láser facilitan la tarea de alineamiento con el sistema óptico, al ser una fuente de luz totalmente direccional.



Figura 23- Fotografía del láser de Argón

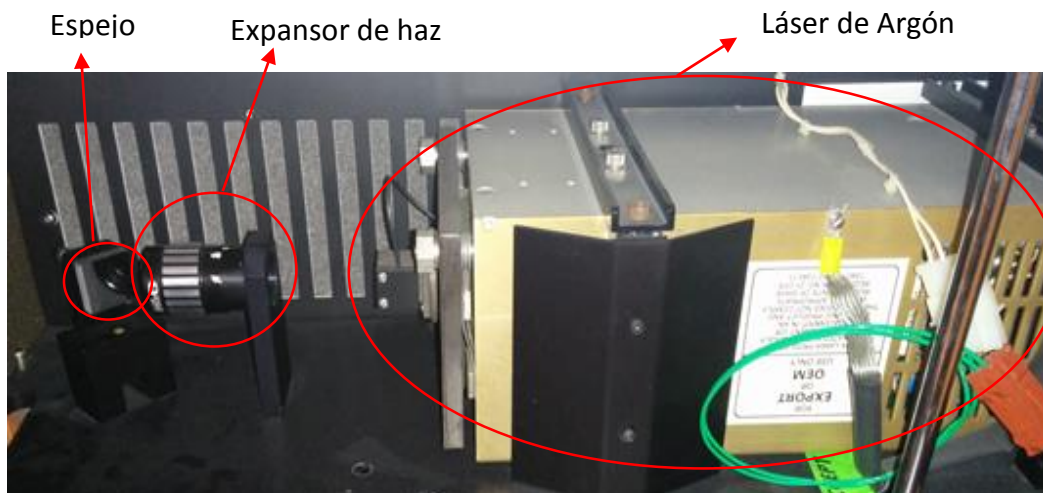


Figura 24- Detalles del láser de Argón

Respecto a las potencias proporcionadas por el láser, el valor mínimo y máximo corresponde respectivamente a 5 y 25 mW según especificaciones técnicas. Las condiciones de funcionamiento escogidas serán las de mínima energía para evitar la saturación del detector de la cámara CCD.

Las principales longitudes de onda producidas por este láser son:

- 457 nm
- 488 nm
- 514 nm

Al encontrarse las máximas potencias en estas longitudes de onda, el láser adquiere un tono entre el verde y el azul. Dichas longitudes de onda se sitúan en el visible y se muestran en la figura 25.

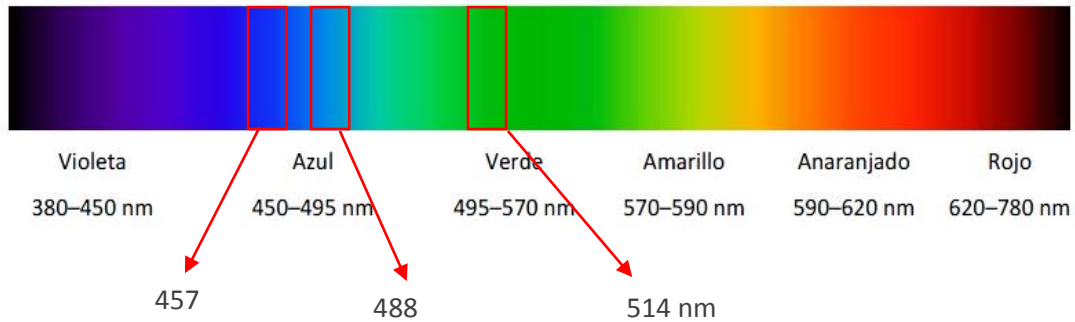


Figura 25 -Principales longitudes de onda del láser situadas en el espectro visible

2.3.1.2. Led

Se dispone de un led marca Bridgelux modelo BXRC, de 31 W de potencia y una eficacia de 142 lm/W según especificaciones técnicas (April, 2013). Además, el led cuenta con un disipador de aletas que se encarga de la refrigeración del tal como se muestra en la figura 26.

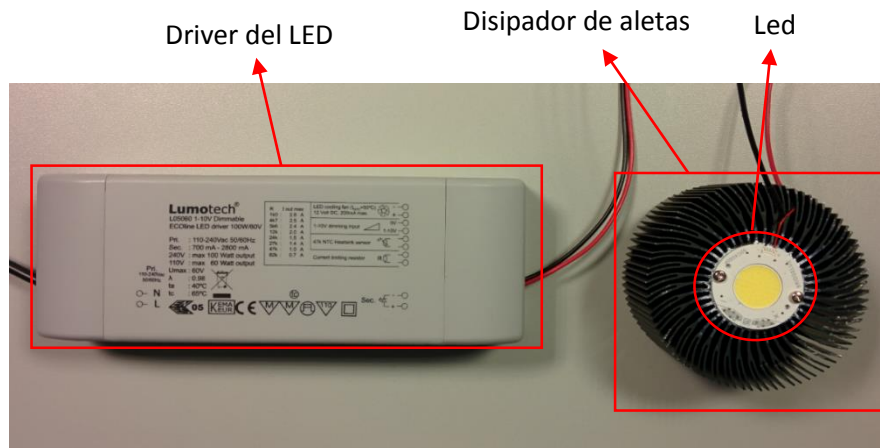


Figura 26-Fotografía del led de alta potencia y del driver



Figura 27-Instalación del potenciómetro

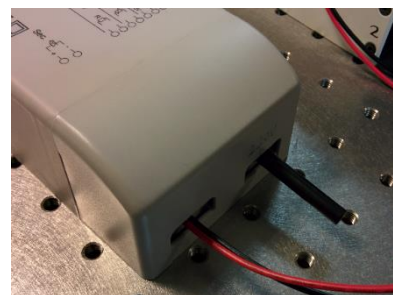


Figura 28-Vista lateral del driver del led

Además del disipador, el led posee un driver marca Lumotech (figura 26), que actúa como regulador de tensión y corriente para el led. El driver ofrece la posibilidad de instalar un regulador adicional de voltaje (Lumotech, n.d.), que permite regular la intensidad de luz a la salida, por ello, y para tener un mayor control sobre la fuente de iluminación, se ha decidido instalar un potenciómetro de 100k logarítmico, este se muestra en las figuras 27 y 28.

En otro orden de cosas, el color blanco de la luz se forma por la combinación de todas las longitudes de onda del espectro visible. En la distribución espectral de la luz blanca, las mayores intensidades se registran en la zona del azul y la zona próxima al rojo, pudiendo esta última variar en función del tipo de luz blanca deseada. En la figura 29 se muestra las posibles distribuciones espectrales de la luz blanca de un led, en nuestro caso se cuenta con un led que emite una luz blanca fría con una temperatura de color de 5000K.

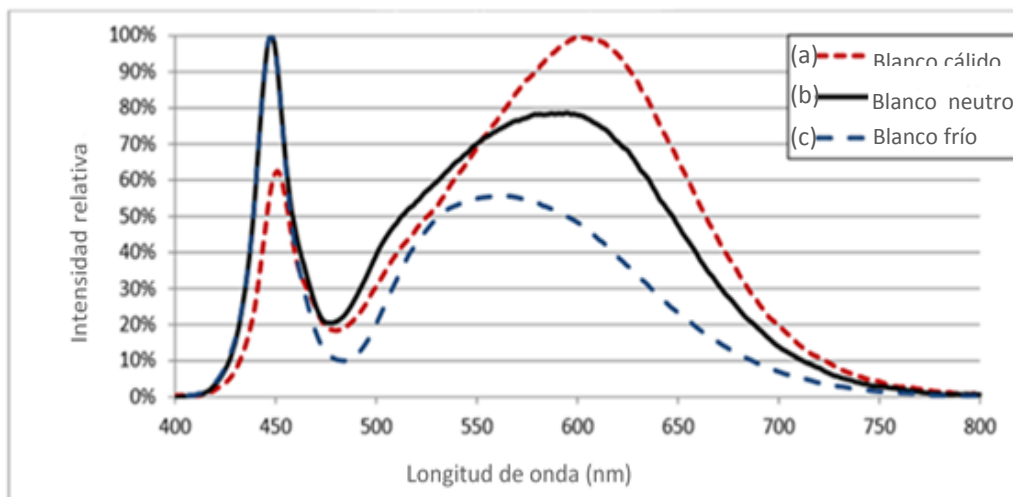


Figura 29- Espectro de emisión de un led de luz blanca. (a) Blanco cálido, 3500K con un CRI de 80 (b) Blanco neutro, 4000K con un CRI de 80 (c) Blanco frío, 5000k con un CRI de 70 (April, 2013)

2.3.1.3. Halógeno

Se dispone de un sistema de iluminación halógeno marca Intralux modelo 5100. Este sistema está compuesto por una bombilla halógena de 150W y un ventilador, colocados en el interior de una pequeña estructura metálica tal como se muestra en la figura 30 y 31.

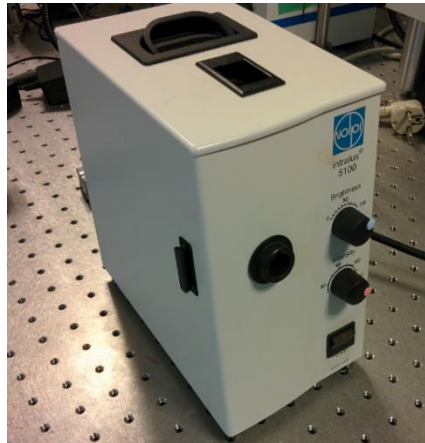


Figura 30-Sistema de iluminación halógeno

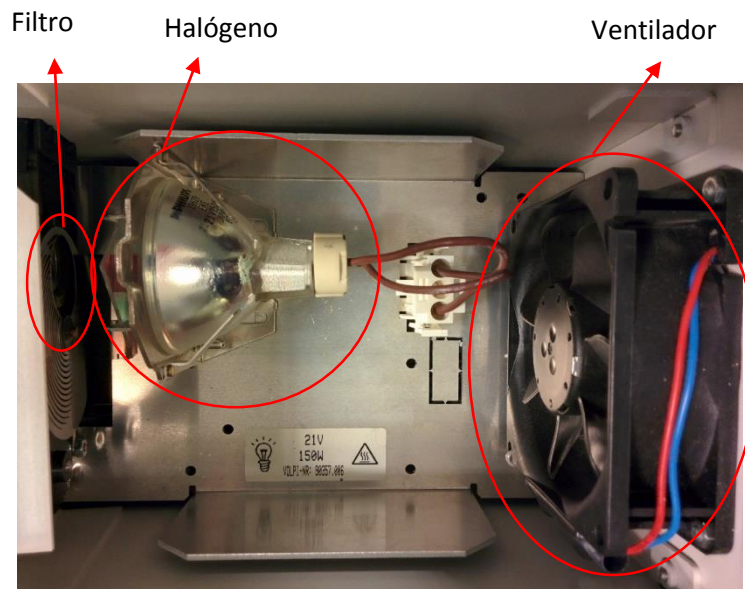


Figura 31-Detalle de la parte interior del sistema de iluminación halógeno

El sistema de iluminación cuenta a su vez con dos reguladores, uno permite actuar sobre la intensidad de la luz hasta un máximo del 110% de su valor nominal, y el otro permite variar el brillo de la luz (Specifications, 2008). Además de estos dos reguladores, el sistema posee una entrada adicional compatible con un dispositivo Volpi de fibra óptica. Para facilitar el proceso de alineación y colimación de la luz, se ha instalado una fibra óptica en el sistema de iluminación halógeno tal como se muestra en la figura 32.

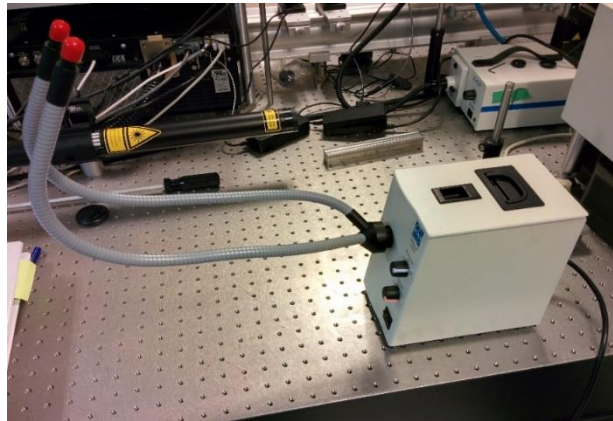


Figura 32-Sistema de iluminación halógeno con un dispositivo de fibra óptica acoplado

El sistema de iluminación halógeno emplea un filtro que convierte la luz procedente del halógeno en una luz blanca fría con una temperatura de color de 5500K.

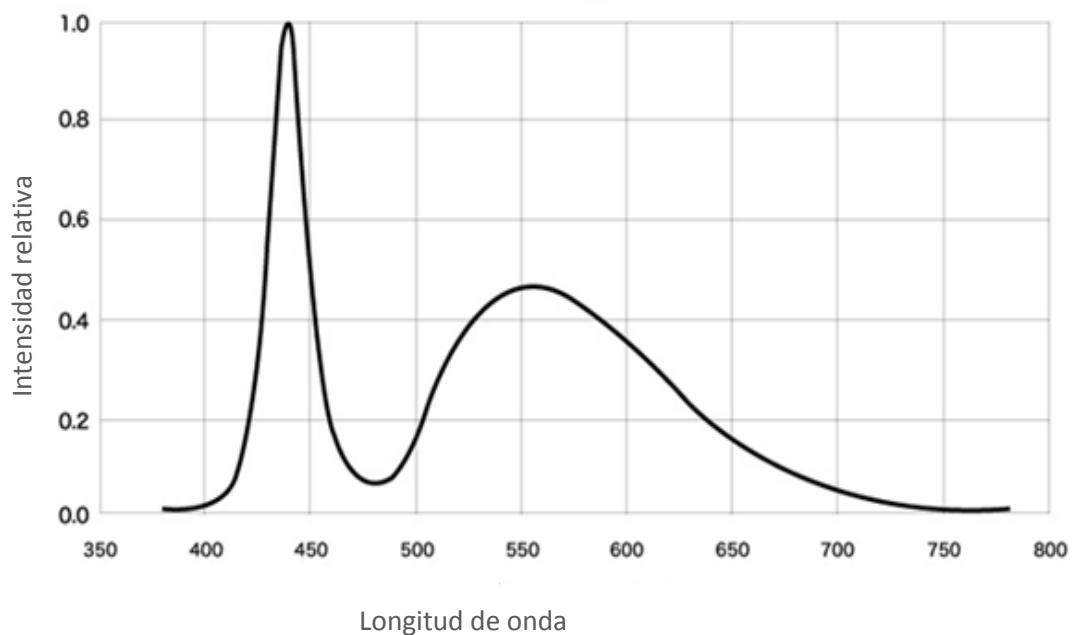


Figura 33-Espectro de emisión del halógeno, con una temperatura de color 5500K, tras la aplicación del filtro.

2.3.2. Etapa de traslación motorizada

En el laboratorio, se dispone de dos modelos distintos de etapas de traslación para cubrir las necesidades de movimiento en las tres direcciones del espacio. En las direcciones del plano superficial de la muestra se necesita menor precisión que en la medida de la profundidad. Es por ello que el sistema existente se adapta a dichas necesidades.

Para los ejes empleados en las direcciones del plano superficial de la muestra se emplean dos etapas de traslación marca Newport modelo M-UTM150CC1DD y, para el movimiento de profundidad, una etapa motorizada de mayor resolución marca Newport modelo UTS150CC. Las características técnicas de las dos etapas figuran en las tablas 1 y 2 respectivamente.

Tabla 1- Características de la etapa de traslación modelo M-UTM150CC1DD

Peso	3,8 kg
Resolución	1
Velocidad	2,5 mm/s
Modelo motor	UE31C
Potencia mecánica	2,53 W
Voltaje nominal	24 V
Resistencia del inducido	57

Tabla 2- Características de la etapa de traslación modelo UTS150CC

Peso	3,7 kg
Resolución	0,1
Velocidad	40 mm/s
Modelo motor	UE34C
Voltaje nominal	48 V
Resistencia del inducido	2,58

Las figuras 34 y 35 muestran el montaje de los distintos modelos de la mesa de traslación montados en un único sistema de desplazamiento.

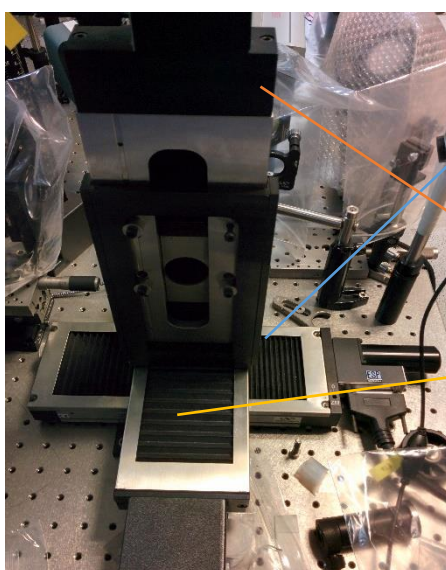


Figura 34- Vista posterior de las etapas de traslación

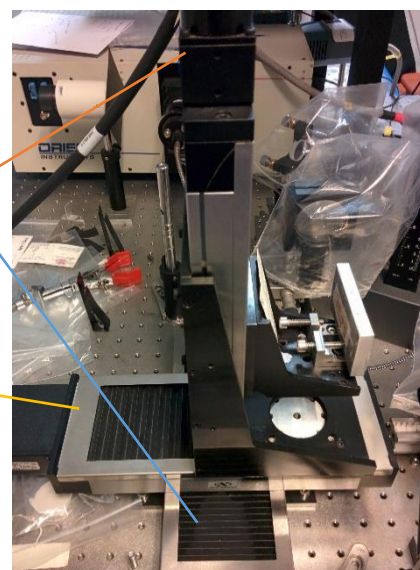


Figura 35- Vista lateral de las etapas de traslación

El movimiento de las etapas de traslación se realiza mediante un controlador que actúa de intermediario entre la comunicación del ordenador y de las etapas motorizadas, utilizando el puerto serie (RS-232). El elemento empleado para cumplir esta función es de la marca Newport modelo ESP300 (figura 36).



Figura 36-Controlador de las etapas motorizadas modelo ESP300 (Newport, 2002)

2.3.3. Cámara CCD

La cámara CCD empleada es una cámara marca Kappa modelo CF 15 DSP como la que se muestra en la figura 37.

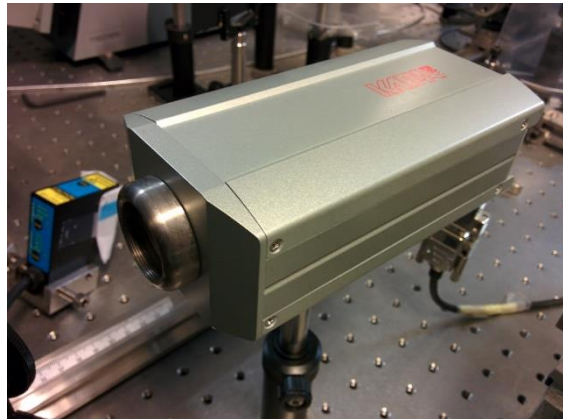


Figura 37-Fotografía de la cámara marca Kappa modelo CF 15 DSP

Las características principales de la cámara se resumen en la tabla 3.

Tabla 3- Características de la cámara CCD empleada

Dispositivo de captación de datos	½ " CCD de transferencia interlineal con microlentes y matriz de filtros de color
Resolución de la imagen	752 (H) x 582 (V) (PAL) // 768 (H) x 494 (V) NTSC
Tamaño del sensor	6,4 (h) x 4,8 (v) (mm)
Tamaño del píxel	8,6 (H) x 8,3 (V) (PAL) // 8,4 (H) x 9,8 (V) NTSC
Sensibilidad del sensor	0,25 lux a 20 ms de tiempo de integración, 14 dB de ganancia
Tiempo de integración	Desde 1/50 s (PAL) o 1/60 s (NTSC) hasta 1/10000 s
S/N ratio	>50 dB
Montura de la lente	C-mount
Temperatura ambiente	73 x 50 x 148 (mm)
Peso	400 g
Humedad	<90%

2.3.4. Divisor de haz dicróico o "beam splitter"

El divisor de haz es una lente que refleja parte de la luz que le incide y deja pasar el resto.

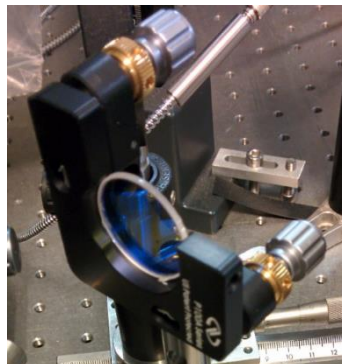


Figura 38- Divisor de haz dicróico

En este caso, se dispone de un divisor de haz de 510 nanómetros, esto implica que a partir de dicha longitud de onda la luz atraviesa el divisor de haz y se refleja la luz con una menor longitud de onda (tabla 4).

Tabla 4- Características del divisor de haz disponible

Tipo	Longitudes de onda reflejadas	Longitudes de onda transmitidas
510 nm	457 nm (violeta) 488 nm (azul)	A partir de 510 nm

2.3.5. Lentes

Se dispone de un conjunto de lentes para modificar el cono de luz procedente de las fuentes de iluminación. El empleo de lentes tiene como objetivo la colimación de la luz, este proceso de colimación será el más complejo de todo el montaje y será abordado en apartados posteriores.

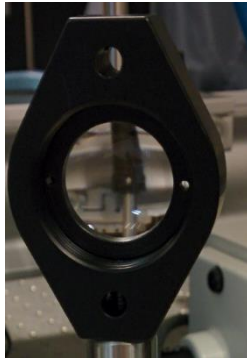


Figura 39-Lente de distancia focal corta

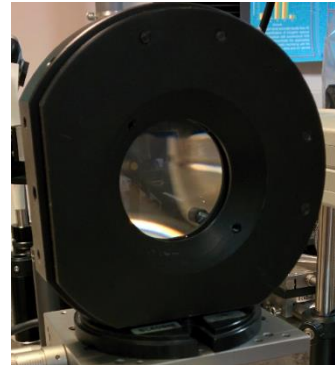


Figura 40-Lente de distancia focal larga

La distancia focal se define como la distancia entre el centro óptico de la lente y el foco (o punto focal). Atendiendo a esta definición las lentes pueden ser clasificadas en función de su distancia focal f en, lentes de focal corta y lentes de focal larga, en la tabla 5 se recogen las características de las lentes que se emplean en el montaje.

Tabla 5- Características de las lentes que se emplean

Tipo	Distancia focal
Lente de focal corta	$f = 50 \text{ mm}$
Lente de focal larga	$f = 300 \text{ mm}$

3. Resultados

El proyecto se divide en cuatro secciones bien diferenciadas:

- Montaje de los diferentes sistemas de iluminación
- Obtención de las fotografías.
- Análisis de las fotografías.
- Comparativa de los diferentes sistemas de iluminación

3.1. Montaje de los diferentes sistemas de iluminación

Antes de proceder con los montajes es necesario dar una breve explicación sobre el concepto de colimación.

Se dice que una luz está colimada cuando los rayos que componen el haz son paralelos entre sí, eliminando totalmente la divergencia. La colimación de la luz suele ser un proceso complejo y en la mayor parte de los casos esta no será completa. Este proceso no depende únicamente de la luz, sino también de los elementos ópticos que se empleen y de fenómenos ópticos tales como las aberraciones cromáticas o las interferencias.

Cuando la iluminación de la muestra no se realiza de forma directa, es necesario además conducir el haz de luz con la ayuda de una serie de elementos ópticos (lentes y espejos). Añadir más elementos al montaje complica aún más el proceso de colimación, ya que cada nuevo elemento modifica el cono de luz incidente.

En los apartados sucesivos se hace una descripción detallada de los montajes realizados con cada uno de los sistemas de iluminación, haciendo hincapié en los procesos de conducción y colimación de la luz.

3.1.1. Led

La colimación de un emisor de luz puntual es teóricamente sencilla, ya que bastaría con una sola lente convergente para dirigir el haz hacia la muestra, aprovechando casi la totalidad de la luz emitida (figuras 41 y 42).



Figura 41-Emisor de luz puntual

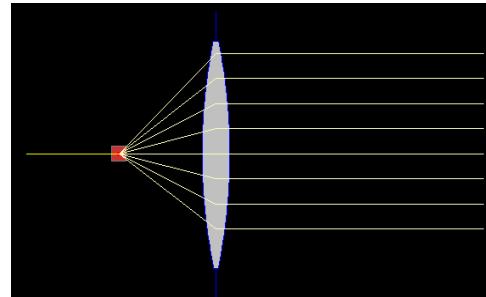


Figura 42-Colimación de un emisor de luz puntual

En el caso de contar con varios emisores de luz puntuales emitiendo simultáneamente (emisor no puntual), la colimación se vuelve mucho más compleja. Cada emisor de luz puntual debería colimarse de manera individualizada utilizando una lente, pero el elevado coste que supondría disponer de esta clase de sistema (colimador), hace necesario optar por un sistema más económico. En este caso, la colimación de un emisor de luz no puntual, como es el led del que se dispone, se ha llevado a cabo utilizando un conjunto de lentes en serie (figura 44).



Figura 43-Emisor de luz no puntual

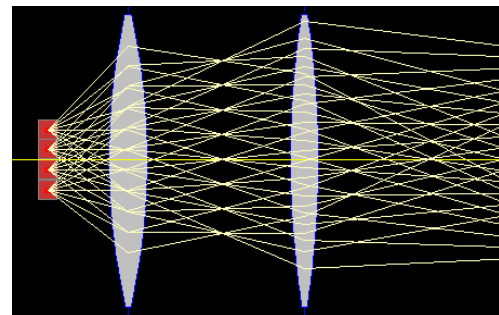
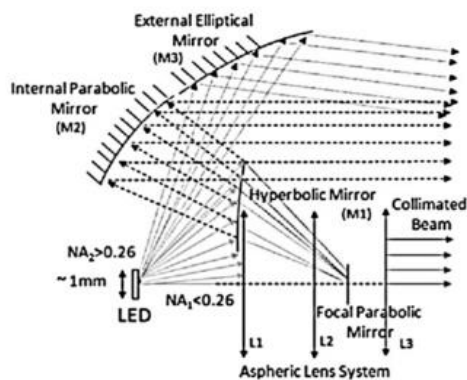


Figura 44-Esquema de la colimación de un emisor de luz no puntual con un conjunto de lentes

(a)



(b)

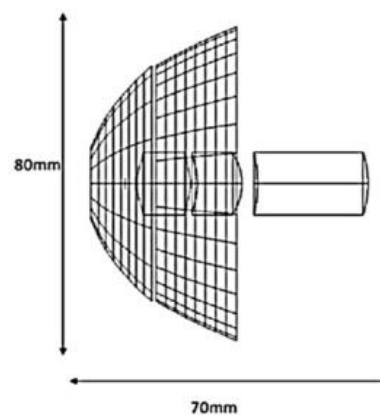


Figura 45-Ejemplo de un sistema de colimación de luz. (a) Descripción esquemática del funcionamiento del sistema (b) Dimensiones del sistema de colimación (Rodríguez-Vidal et al., 2014)

Se dispone de un led de alta potencia compuesto por una matriz de pequeños leds que emiten como un emisor de luz no puntual.

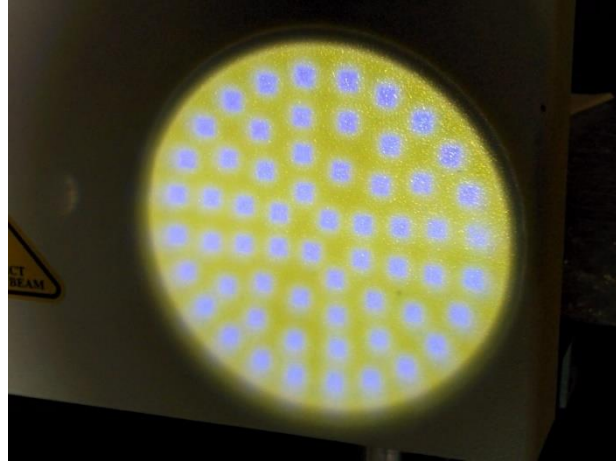


Figura 46- Matriz del led de alta potencia (microleds)

Para la colimación del led se ha optado por emplear un conjunto de lentes en serie que conduzcan y colimen la luz. La razón fundamental de optar por esta solución, en lugar de un sistema de colimación más complejo, se debe a que ya se disponía de un conjunto de lentes y elementos ópticos en el Laboratorio de Aplicaciones Industriales del Láser.

3.1.1.1. Configuración empleada en el sistema de iluminación led

Para poder conducir el haz de luz desde la fuente hasta el objetivo con la ayuda de un conjunto de lentes, es necesario colocar las lentes respetando la distancia focal de cada una de ellas, además, el número de lentes empleado en el montaje variara en función del haz de luz que trate de colimarse.

La distancia focal se define como el espacio que separa el eje óptico de la lente del foco de luz. Este dato viene proporcionado por el fabricante, ya que su cálculo no es trivial.

Se han valorado tres configuraciones distintas para tratar de colimar el haz de luz:

- Montaje con una sola lente
- Montaje con dos lentes
- Montaje con tres lentes

En el montaje con una sola lente se han valorado dos posibles alternativas, la primera, utilizar una sola lente de focal corta (50 mm) y la segunda, utilizar una lente de focal larga (300 mm).

En el primer caso, con la lente de focal corta, no se alcanza la colimación de la luz, ya que el haz vuelve a diverger a los pocos centímetros de atravesar la lente (figura 47). En el segundo caso, con la lente de focal larga, si se respeta su distancia focal, gran parte de la luz se pierde antes de alcanzar la lente.

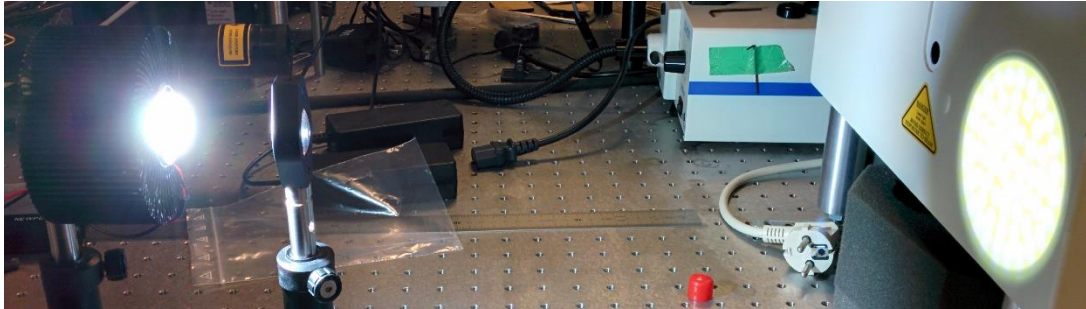


Figura 47-Montaje con una sola lente de focal corta (50 mm)

A la vista de los resultados obtenidos en el caso anterior, el montaje del sistema con dos lentes se ha realizado colocando en primer lugar la lente de focal corta, para minimizar la pérdida de luz y en segundo lugar, la lente de focal larga, consiguiendo de este modo colimar parcialmente la luz (figura 48).

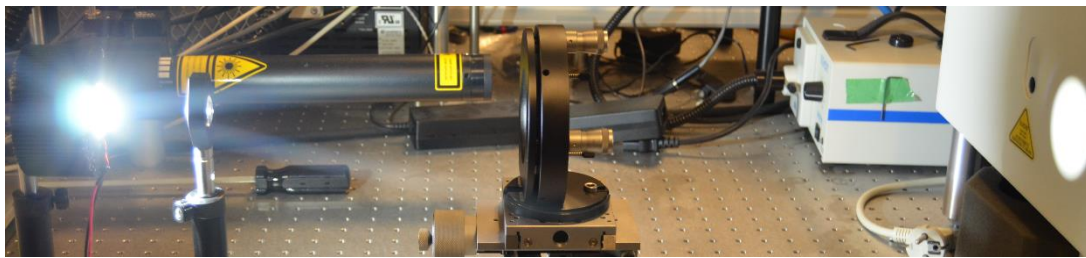


Figura 48- Montaje con dos lentes

Por último, el montaje con tres lentes no presentaba una mejora de los resultados obtenidos con respecto al caso anterior, además, el aumento del número de lentes incrementa el espacio necesario y hace que se pierda más cantidad de luz en el proceso.

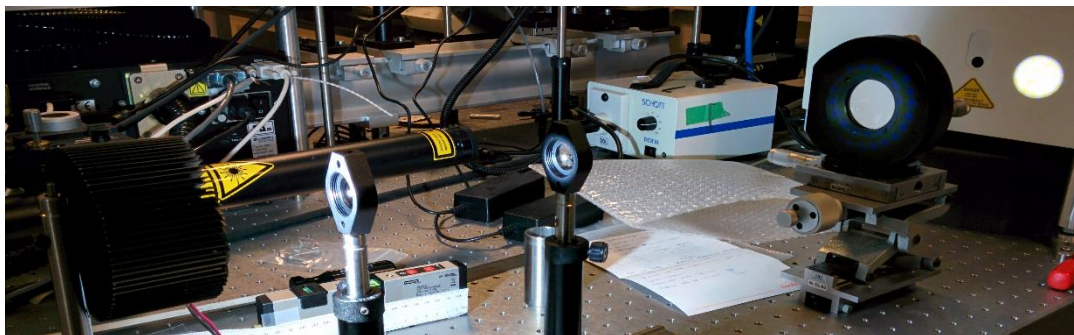


Figura 49-Montaje con tres lentes

Como resultado de estas pruebas se concluye que el segundo montaje, aquel compuesto por dos lentes en serie, presenta los mejores resultados y será el escogido cuando se implemente el sistema de iluminación en el microscopio óptico desarrollado.

3.1.1.2. Acoplamiento del sistema de iluminación led al microscopio óptico desarrollado

Tras haber seleccionado la configuración adecuada para el sistema de iluminación, se ha procedido a su incorporación al microscopio óptico desarrollado. En la figura 48 se muestra una fotografía del microscopio óptico desarrollado una vez incorporado el sistema de iluminación led.

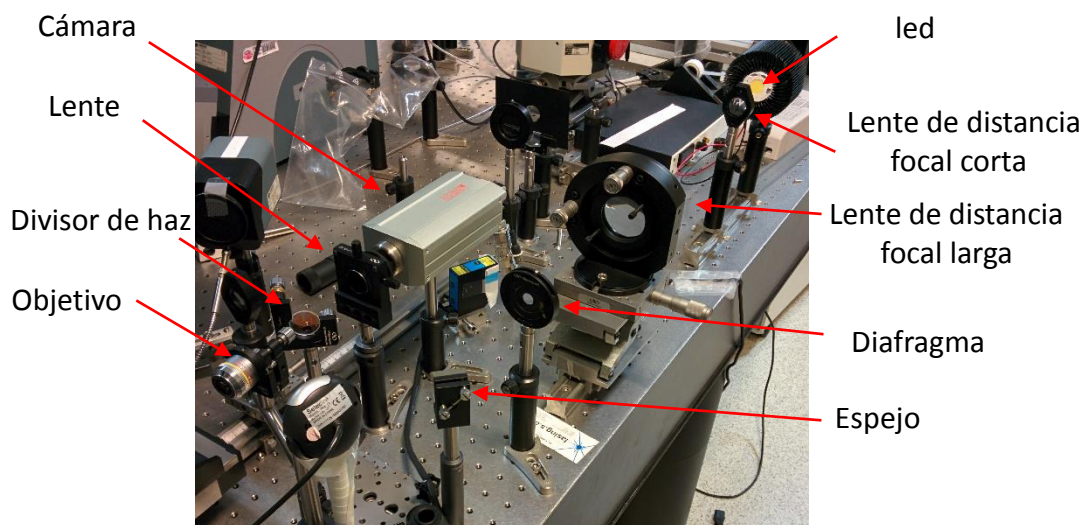


Figura 50-Fotografía del microscopio óptico desarrollado con el sistema de iluminación led.

El empleo de un diafragma después de la lente de distancia focal larga tiene como objetivo la adaptación del cono de luz a las dimensiones del espejo.

El recorrido de la luz a través del microscopio óptico desarrollado es el que se muestra en la figura 51.

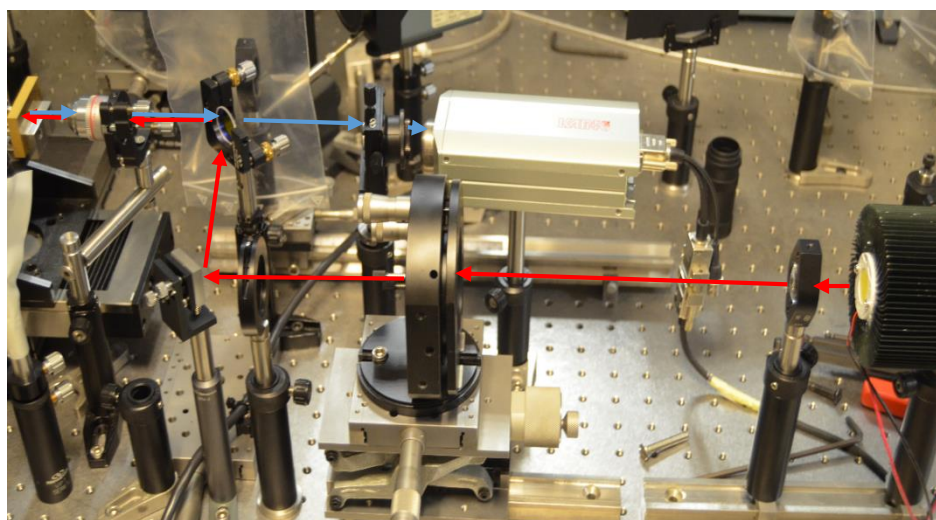


Figura 51-Recorrido de la luz procedente del sistema de iluminación led: fuente luz-sistema de lentes-objetivo-muestra (en rojo) y muestra-objetivo-divisor de haz- cámara (en azul)

Para finalizar el acoplamiento, es necesario alinear todos los elementos ópticos con la fuente de iluminación. El alineamiento es un proceso fundamental para poder visualizar correctamente la muestra y uno de los más difíciles de llevar a cabo.

Para alinear el microscopio óptico debe hacerse coincidir el haz de luz procedente de la fuente con el divisor de haz, de tal manera, que la luz reflejada por este, coincida con el eje horizontal del objetivo sin desviaciones. La mínima variación en la trayectoria que presente el haz de luz al penetrar en el objetivo modificaría su ángulo de salida, haciendo que la luz pueda no ser captada por la cámara CCD o simplemente, se capte una pequeña parte de la misma, formándose una imagen parcial de la muestra.

En el caso del LED, la alineación se complica, puesto que la colimación de la luz no es completa, lo que da lugar a que el haz de luz que penetra en el objetivo posea una ligera inclinación, que deberá ser corregida rotando la cámara hasta poder visualizar la muestra.

3.1.2. Halógeno

Tal como se ha descrito en el capítulo 2, se dispone de un sistema de iluminación halógeno que cuenta con una fibra óptica acoplada.

El sistema de iluminación halógeno es un emisor de luz puntual, lo que facilita en gran medida la tarea de colimar el haz de luz, además, la fibra óptica acoplada al sistema permite modificar la dirección del haz de luz, dotando a la fuente de cierta direccionalidad.

3.1.2.1. Configuración empleada en el sistema de iluminación halógeno

Gracias al uso de la fibra óptica, es posible conducir el haz de luz una mayor distancia que en el caso anterior, reduciéndose así la pérdida de luz y el número de lentes a emplear.

Para este montaje se emplea una lente de distancia focal corta para colimar y conducir la luz desde la salida de la fibra óptica hasta el objetivo, la configuración de este sistema se muestra en la figura 52.

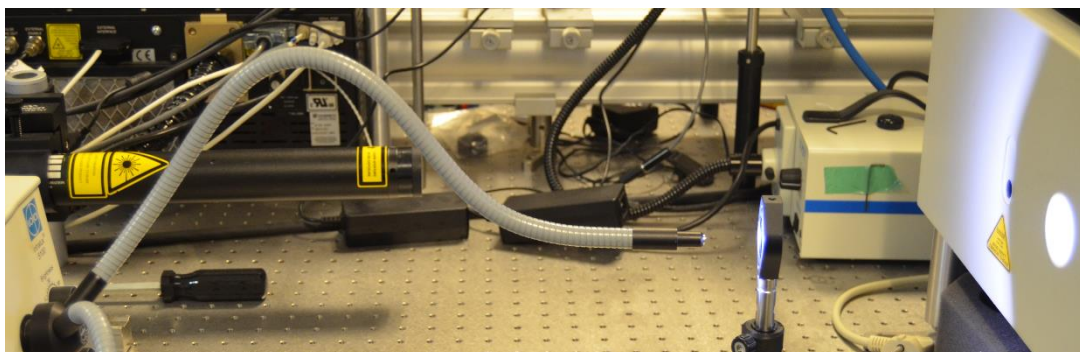


Figura 52- Configuración del sistema de iluminación halógeno

3.1.2.2. *Acoplamiento del sistema de iluminación halógeno al microscopio óptico desarrollado*

Tras haber decidido la configuración del sistema de iluminación, se ha procedido al acoplamiento del mismo al microscopio óptico desarrollado. La figura 53 es una fotografía de la distribución final de los elementos del microscopio óptico desarrollado, una vez incorporado el sistema de iluminación halógeno.

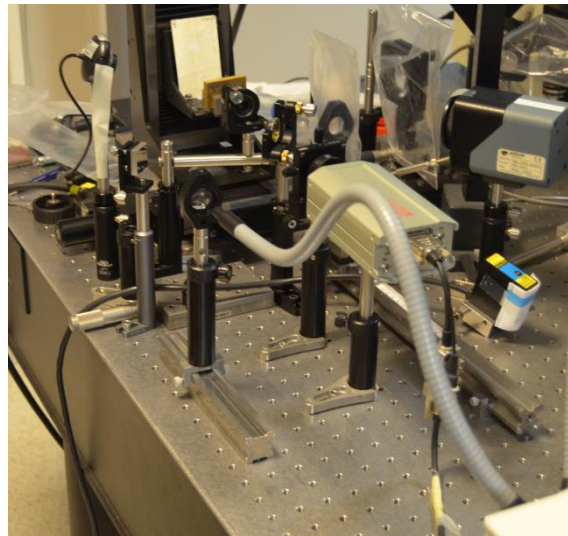


Figura 53- Microscopio óptico desarrollado una vez acoplado el sistema de iluminación halógeno

El recorrido que describe la luz, desde la fuente de iluminación halógena, hasta la cámara CCD, es el que se muestra en la figura 54.

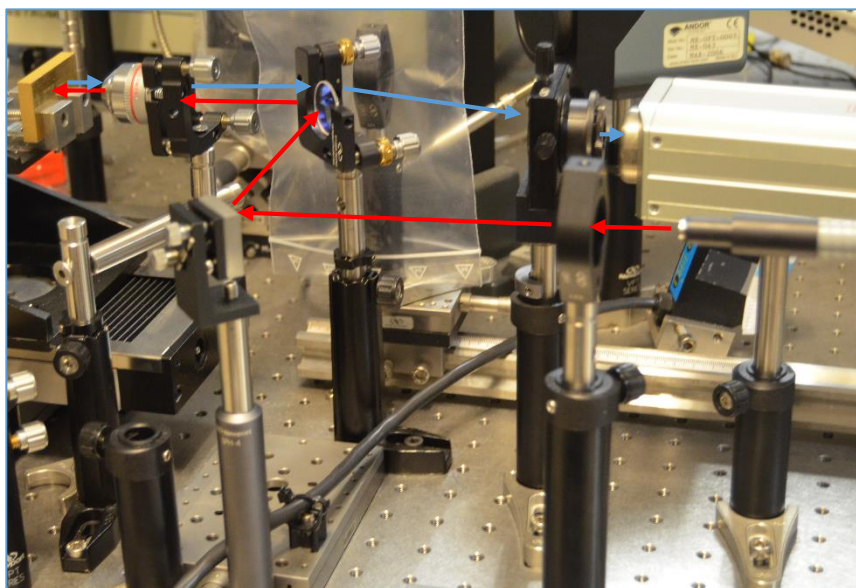


Figura 54- Recorrido de la luz en el sistema de iluminación halógeno: fuente luz-sistema de lentes-objetivo-muestra (en rojo) y muestra-objetivo-divisor de haz-cámara (en azul)

Para finalizar el acoplamiento, es necesario alinear los diferentes elementos ópticos del microscopio con la fuente de iluminación. El alineamiento de este sistema es más sencillo que en el caso del LED, debido al mayor grado de colimación que se alcanza con un emisor de luz puntual.

Uno de las principales dificultades que presenta la alineación de este sistema, viene dada por la fibra óptica. La parte final de la fibra óptica debe colocarse paralela a la mesa, para que el haz de luz pueda entrar en el objetivo sin presentar desviaciones en su trayectoria. A menudo, alcanzar una alineación perfecta suele ser muy complicado, y debido a la falta de un sistema de alineación mecánico, se suele rotar la cámara para ajustarse a las desviaciones del haz.

3.1.3. Láser

Como se ha descrito en capítulos anteriores, el láser emite una luz coherente, direccional y colimada. Estas dos últimas propiedades facilitan en gran medida el proceso de conducción y colimación de la luz, además, puesto que los fotones procedentes de la fuente viajan en fase (coherencia), se eliminan gran parte de las pérdidas que surgen en los otros sistemas de iluminación.

3.1.3.1. Configuración empleada en el sistema de iluminación láser

A causa de las dimensiones del láser no es posible colocarlo en el mismo lugar donde se situaban las otras fuentes de iluminación. Las otras fuentes de iluminación se posicionaban en paralelo a la muestra, pero en este caso, el láser se sitúa en perpendicular a la misma y en otra mesa de trabajo, tal como se muestra en la figura 55.

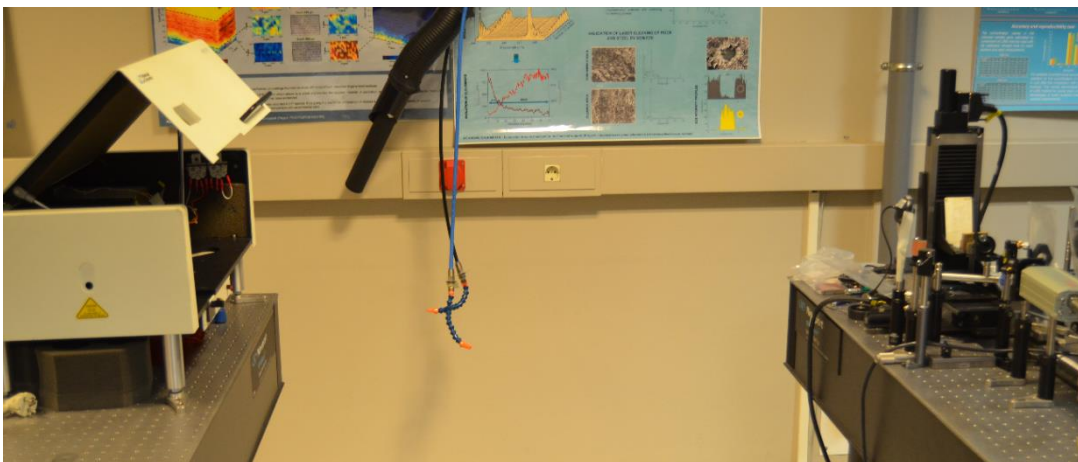


Figura 55- Posición del láser respecto al microscopio óptico desarrollado

Debido a que la línea de emisión de la luz láser no coincide con el divisor de haz, es necesario emplear un conjunto de lentes para modificar la trayectoria de la luz. Por ello, se han empleado dos espejos colocados a 45 grados para conducir la luz hasta el divisor de haz (figura 56).

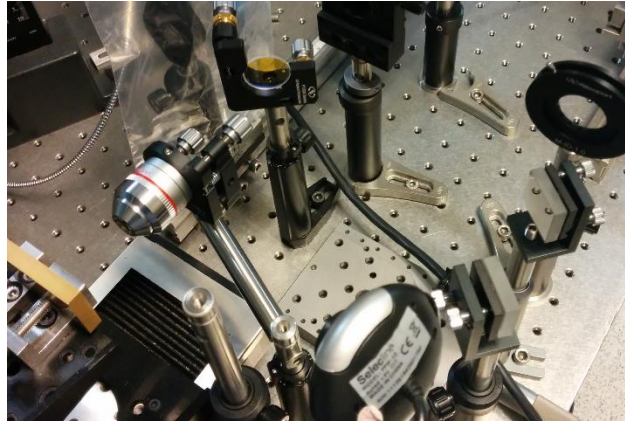


Figura 56- Configuración del sistema de iluminación láser

3.1.3.2. Acoplamiento del sistema de iluminación láser en el microscopio óptico desarrollado

Tras haber encontrado la forma de redirigir la luz láser, se procede a la colocación de los espejos en paralelo a la muestra (figura 57).

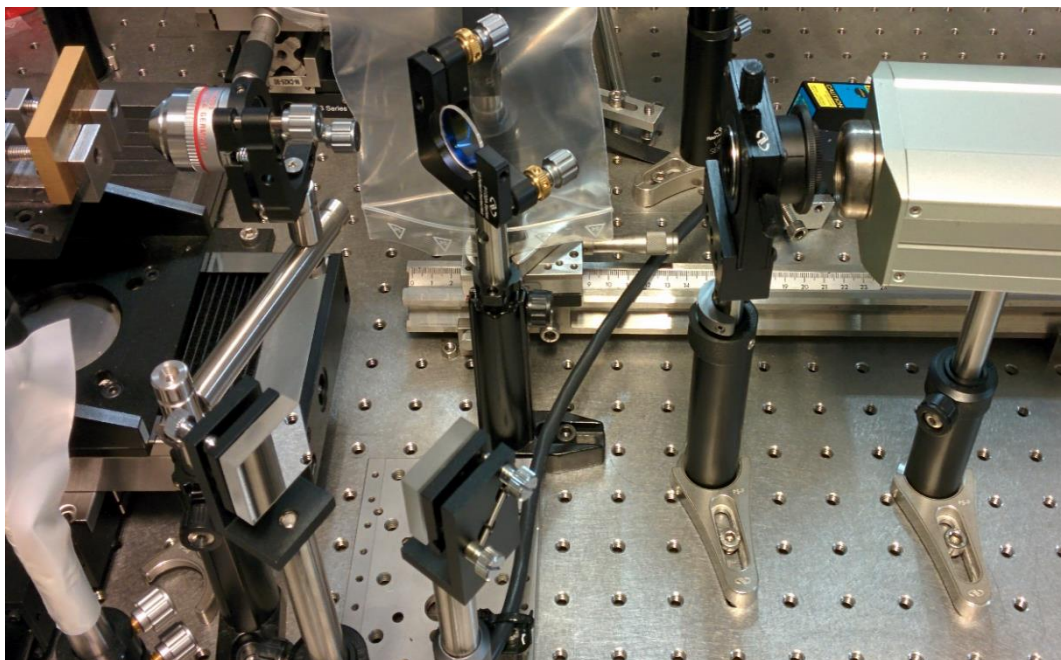


Figura 57- Microscopio óptico desarrollado una vez acoplado el sistema de iluminación láser

La trayectoria que describe la luz, a través de los diferentes elementos ópticos del microscopio óptico desarrollado, se recoge en la figura 58.

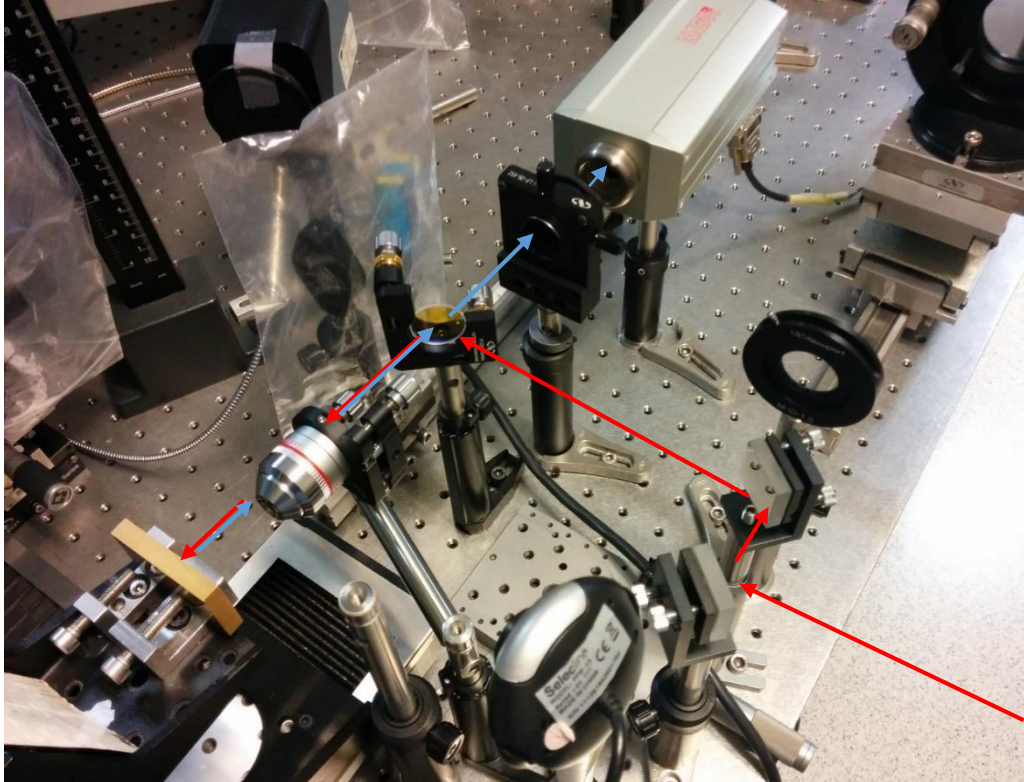


Figura 58-Trayectoria de la luz láser. La luz procedente de la fuente de iluminación se refleja en los dos espejos y sale en dirección al divisor de haz, desde el que se dirige al objetivo que focaliza la luz en la muestra (en azul), tras esto, el objetivo recoge

Al tratarse de una luz direccional, colimada y coherente, que emite en el espectro visible (capítulo 1 y 2), la alineación de este sistema se simplifica, gracias a la posibilidad de, un por lado realizar un seguimiento visual continuo de la trayectoria del haz y por otro, evitar los inconvenientes derivados de la necesidad de colimar.

3.2. Metodología de obtención de las fotografías

Una vez montado y alineado el microscopio óptico desarrollado, se procede a la toma de fotografías con la cámara CCD. Tanto la visualización de la muestra a nivel microscópico, como la toma de fotografías, se realizan con la utilización de un programa desarrollado en el entorno Matlab por el Laboratorio de Aplicaciones Industriales del Láser.

El programa desarrollado en Matlab, permite realizar varias funciones de forma remota:

- Visualización y reposicionamiento de la muestra.
- Obtención de fotografías.

Para la visualización en tiempo real de la muestra, se emplea la propia cámara CCD. El programa desarrollado permite la previsualización de la fotografía antes de su obtención. Observar la muestra antes de obtener la fotografía, equivaldría a la observación a través de los oculares de un microscopio óptico convencional.

Otra de las funciones que incluye este programa es la del reposicionamiento de la muestra. Este reposicionamiento se consigue actuando de manera remota sobre el controlador de las etapas motorizadas, esto permite, por un lado, enfocar la muestra gracias a la etapa de traslación del eje Z, y por otro lado, la observación de las diferentes zonas de la muestra gracias al movimiento de la etapa de traslación de los ejes X e Y.

En la figura 59 se muestra el interfaz del programa desarrollado en el Laboratorio de Aplicaciones Industriales en el entorno Matlab.

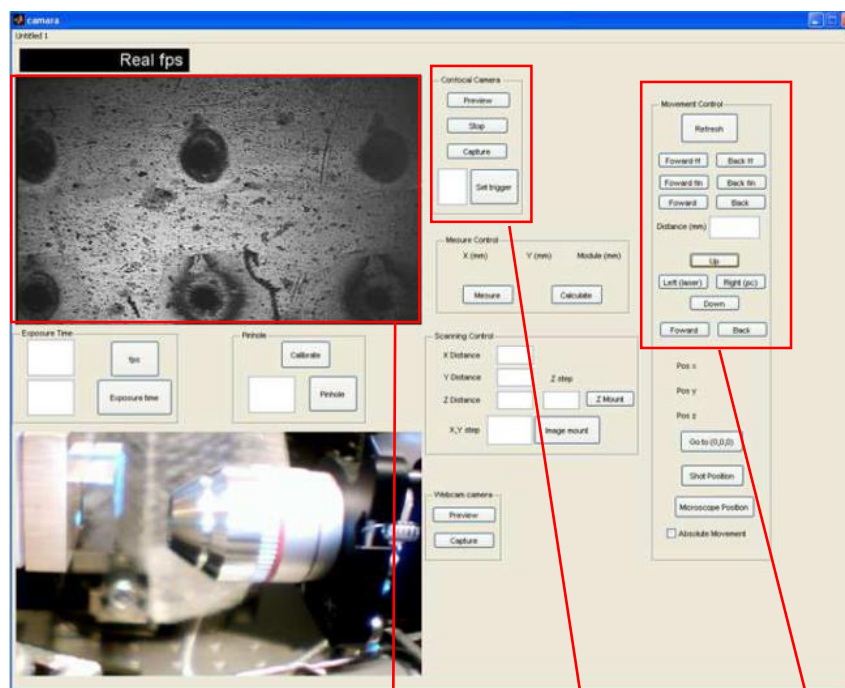


Figura 59- Interfaz del programa

Visualización en
tiempo real de la
muestra

Controles de la
cámara

Controles de las
etapas de
traslación

3.3. Análisis de las fotografías

Para el análisis de las fotografías se ha valorado, por un lado, la calidad visual de las imágenes y, por otro lado, su calidad numérica. El procesado numérico de las imágenes se ha llevado a cabo, como se verá más adelante, por las dificultades encontradas en muchos casos para distinguir dos fotografías de la misma región o zona.

3.3.1. Comparación cualitativa

Se han seleccionado varias muestras de distintos materiales, con la intención de comprobar los resultados obtenidos con cada sistema de iluminación. Estas muestras han sido sometidas previamente a un proceso de ablación láser, causando pequeños agujeros o surcos en la superficie, siendo estas zonas las escogidas para realizar las comparaciones.

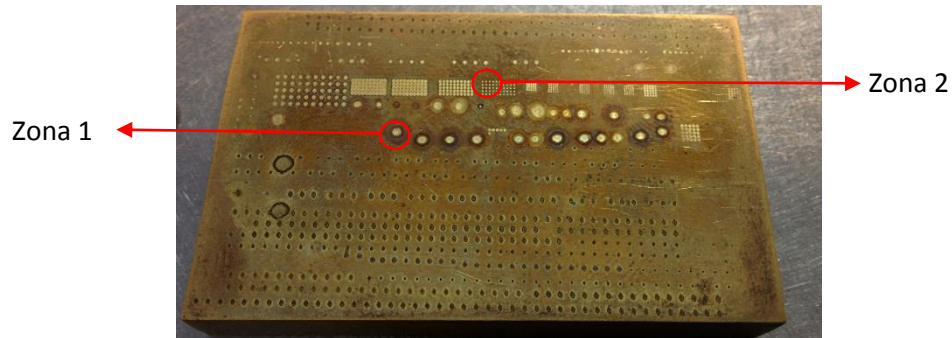


Figura 60-Muestra de latón de 52x32 mm

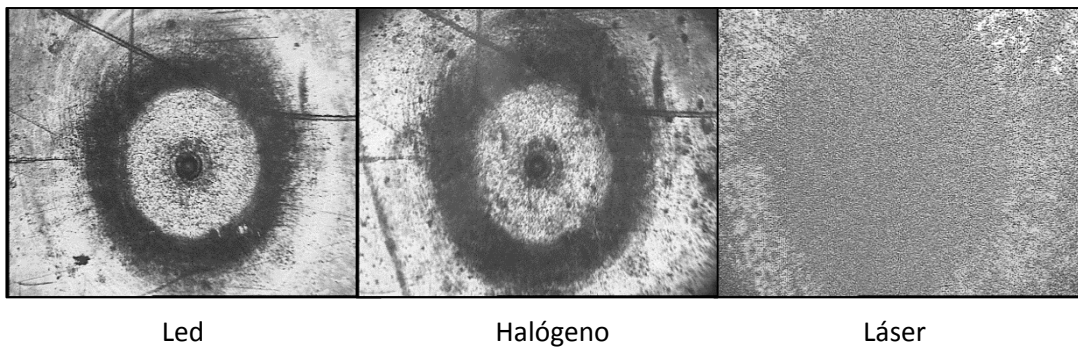


Figura 61- Fotografías de la zona 1 de la muestra de latón

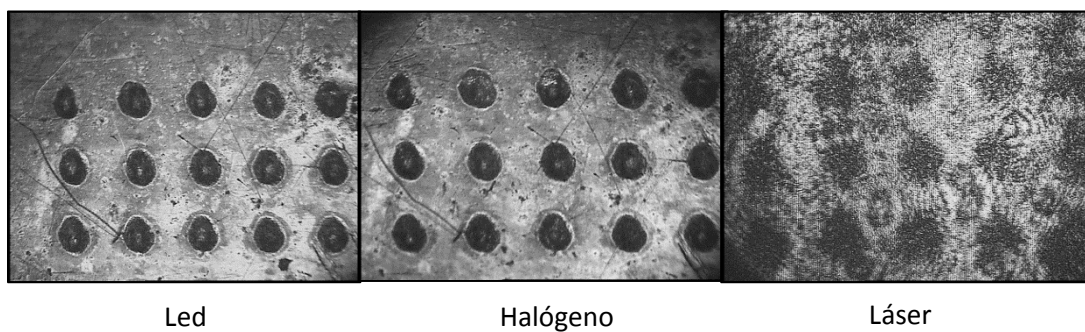


Figura 62- Fotografías de la zona 2 de la muestra de latón

En las figuras 61 y 62 se muestran las fotografías obtenidas con cada uno de los sistemas de iluminación de una muestra de latón (figura 60). Estas primeras fotografías permiten observar que tanto el LED como el halógeno, ofrecen una buena visualización de la pieza, mientras que el láser produce que el sensor de la cámara CCD se sature, dando una imagen borrosa y llena de puntos.

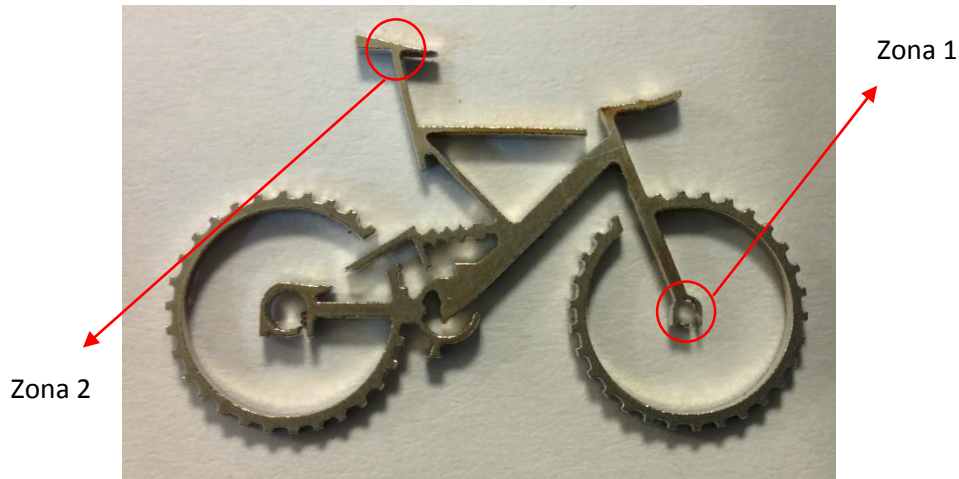


Figura 63- Muestra mecanizada con láser de 26x16 mm

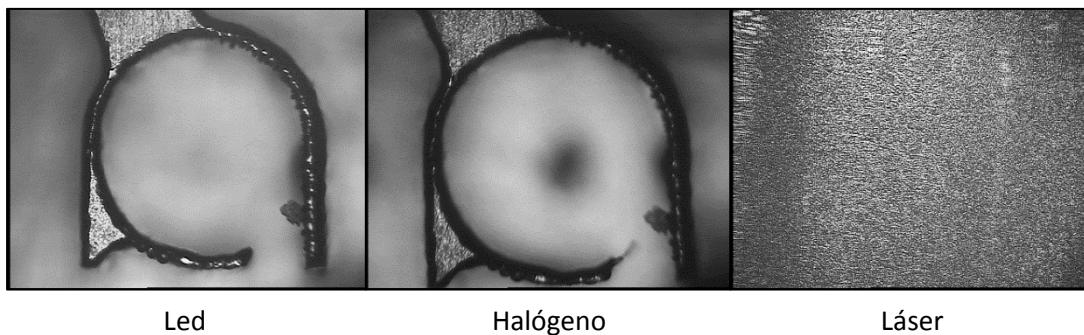


Figura 64- Fotografías tomadas en la zona 1 con los diferentes sistemas de iluminación

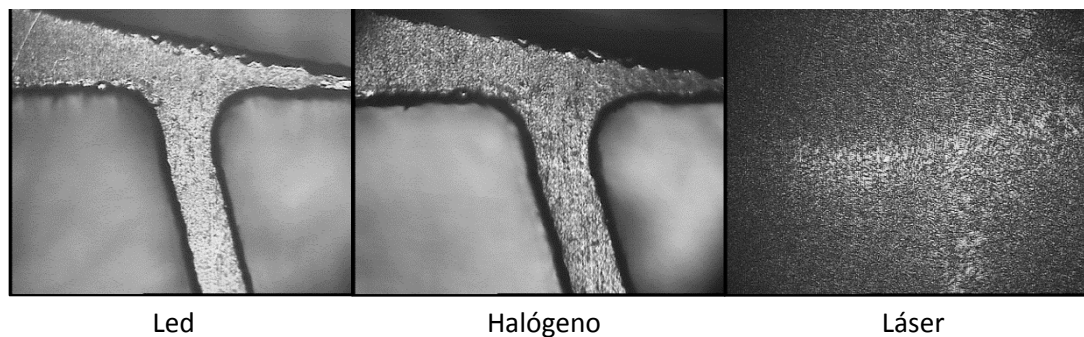


Figura 65- Fotografías tomadas en la zona 2 con los diferentes sistemas de iluminación

En las figuras 64 y 65 se muestran nuevamente, que tanto los resultados obtenidos con el LED, como aquellos obtenidos con el halógeno, son notablemente superiores a los obtenidos con el láser, a pesar de que estos últimos hayan mejorado con respecto al caso anterior, todavía no es posible apreciar con claridad la zona seleccionada a causa de la sobreintensidad de la luz.

Además de lo visto hasta ahora, se han realizado comparaciones entre las fotografías obtenidas de: una muestra de acero inoxidable AISI 304, una pieza cortada y marcada con láser, una muestra de aluminio y una muestra de cobre (anexo I)

En todos estos resultados es posible comprobar que, en las fotografías obtenidas con el LED y el halógeno se observan los detalles de la muestra, ofreciéndose una imagen clara de la región enfocada, mientras que en el caso del láser, la visualización de los detalles es a menudo borrosa, siendo en algunos casos, imposible. Debido a la mala visualización que ofrece, se ha eliminado el láser de posteriores comparaciones en el aspecto visual.

Los sistemas de iluminación LED y halógeno presentan resultados muy similares, aunque no idénticos. En el afán por discernir cuál de las dos fuentes de iluminación ofrece una mejor calidad de imagen, se ha optado por comparar las fotografías mediante métodos numéricos.

3.3.2. Comparación cuantitativa

Se han empleado los programas de Photoshop y Matlab para las tareas de alineación y comparación de las fotografías respectivamente.

El Matlab permite el procesado de fotografías convirtiéndolas en matrices, siendo cada uno de los elementos de la matriz, un pixel de la fotografía. En función del tipo de fotografía, es posible obtener, una matriz (fotografía en blanco y negro) o tres matrices (fotografías en color), en este proyecto las fotografías que se van a procesar serán en blanco y negro.

Para el alineamiento de las distintas fotografías se emplea el programa Photoshop. Aunque las fotografías obtenidas reflejen la misma zona de la muestra, es prácticamente imposible para un observador obtener dos fotografías idénticas en cuanto a posición, además, al variar el sistema de iluminación el haz de luz que llega a la cámara también varía modificándose por tanto el ancho de la zona visualizada.

La importancia del alineamiento previo de dos fotografías reside en el modo de procesarlas. Al tratar las fotografías como matrices y comparar sus elementos, la más mínima variación en la posición de estos, implicaría cambios sustanciales en los resultados, puesto que los valores comparados no corresponderían a la misma zona espacial de la pieza. En las figuras 66 y 67 se muestran los resultados obtenidos antes y después de alinear dos fotografías.

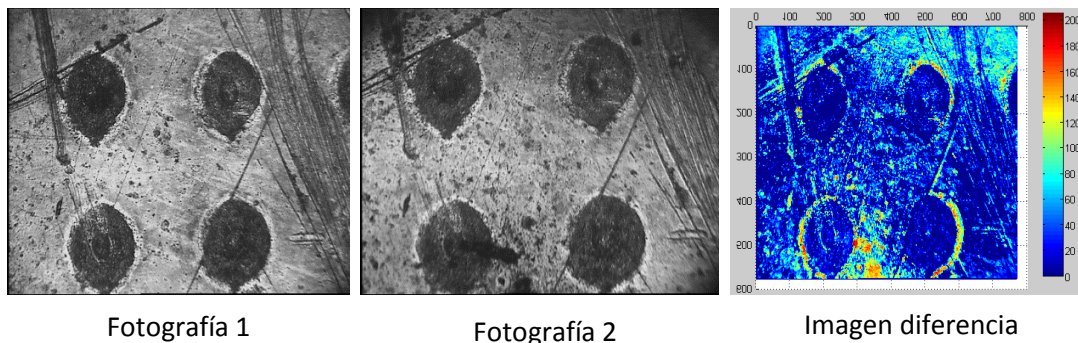


Figura 66- Imagen diferencia obtenida, antes de la alineación, de la resta de las fotografías 1 y 2

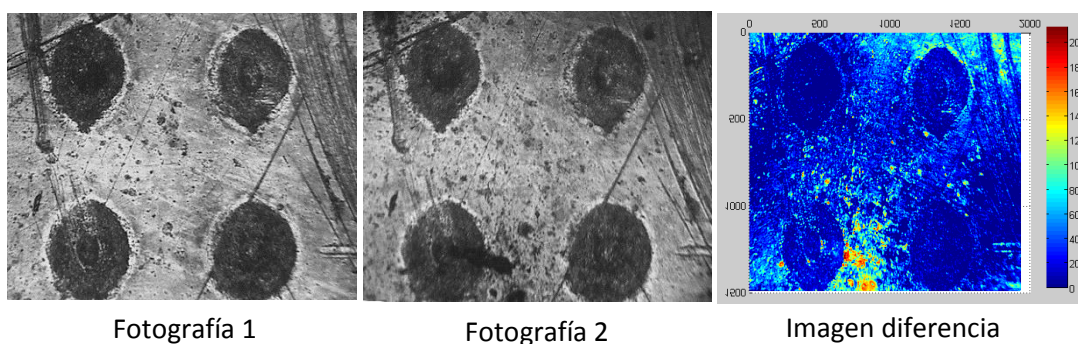


Figura 67- Imagen diferencia obtenida, tras la alineación, de la resta de las fotografías 1 y 2

Cuando se restan dos fotografías (matrices) elemento a elemento, se obtiene una imagen diferencia, esta imagen resalta las variaciones de intensidad pixel por pixel, en una escala de colores desde el azul (pequeña diferencia) hasta el rojo (gran diferencia). La imagen diferencia permite visualizar de manera rápida y simple, donde se encuentran las mayores diferencias de intensidad entre dos fotografías.

La figura 66 muestra la influencia de las pequeñas variaciones de posición. En la imagen diferencia es posible apreciar grandes diferencias de intensidad en las zonas cercanas a los agujeros, debido a que la más mínima variación de la posición origina estar comparado un agujero de una foto, con una zona plana de la otra, de esto se derivan las grandes variaciones observadas en la primera figura.

En la figura 67, en cambio, el alinear previamente las fotografías, produce que la imagen diferencia resultante posea pocas diferencias de intensidad, ajustándose más a la realidad.

A partir de este punto, todas las fotografías que vayan a procesarse se les someterán a un alineado previo empleando Photoshop.

Una vez justificado el alineamiento es necesario dar una breve explicación de los parámetros que se van a evaluar y describir el caso de referencia que se va a emplear, antes de pasar a analizar las fotografías obtenidas con los microscopios.

3.3.2.1. *Coficiente de correlación lineal e índice de similitud estrutural*

El coeficiente de correlación lineal mide la intensidad de la relación lineal, ya sea directa, inversa o inexistente entre dos variables. Se dice que es directa cuando el valor del coeficiente es superior a cero, en caso contrario, la correlación es inversa y es inexistente cuando la correlación es nula. Por tanto, su valor oscila entre -1 y 1.

El coeficiente de correlación lineal, se define como el cociente entre, la covarianza y las desviaciones típicas de las variables x e y.

$$r = \frac{\sigma_{xy}}{\sigma_x \sigma_y} \quad \text{\{EC.1\}}$$

La covarianza es un valor que indica el grado de variación conjunta de dos variables x e y, se expresa como:

$$\sigma_{xy} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \mu_x)(y_i - \mu_y) \quad \text{\{EC.2\}}$$

La varianza da una idea de la variación de los resultados respecto al valor medio. La expresión general de la varianza es:

$$\sigma_x^2 = \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i^2 \right) - \mu_x^2 \quad \text{\{EC.3\}}$$

Al emplear el coeficiente de correlación a dos fotografías, o lo que es lo mismo, a dos matrices, se obtiene su relación lineal, para ello, Matlab convierte dichas matrices en columnas, y aplicando la ecuación nº1 obtiene el coeficiente de correlación lineal, un ejemplo es el que se muestra en la figura 68.

Este coeficiente se ha empleado para, por un lado, conocer si la relación entre las variables es lineal o no, y por otro lado, conocer si la variabilidad en la obtención de una fotografía solamente depende de la fuente de iluminación y el captador o por el contrario depende de algún otro factor.

Pero este coeficiente, por sí solo, no permitiría diferenciar dos fotografías por su calidad, esta es la razón por la cual se ha continuado con el estudio de los resultados introduciendo un nuevo parámetro.

```

Command Window

>> A,B

A =

    96    95    14
    15    48    42
    97    80    91

B =

    79     3    67
    95    84    75
    65    93    74

>> r=corrcoef(A,B)

r =

    1.0000   -0.3788
   -0.3788    1.0000
  
```

Figura 68-Ejemplo del cálculo del coeficiente de correlación lineal entre dos matrices cualesquiera

La Similitud Estructural es una medida que pretende cuantificar de forma numérica y automática la calidad visual de una imagen para un observador humano. El índice similitud estructural (SSIM) fue introducido como medida de calidad de imagen para dar solución a la problemática existente en un gran número de aplicaciones de procesado de imagen.

Hasta la aparición del índice SSIM, la mayoría de métodos de cuantificación de la calidad correspondían a diferentes derivaciones del cálculo de la suma del error cuadrático medio (ECM). Este tipo de medidas acusan la falta de adaptación al sistema visual humano, ya que puede darse el caso que imágenes con el mismo valor de ECM tengan dos tipos de error distintos uno mucho más visible que otro.

La propuesta de este índice toma como premisa que el sistema visual humano está altamente adaptado a la extracción de información estructural de las escenas observadas. Según esta idea, las señales de imágenes naturales disponen de píxeles con gran dependencia entre ellos, especialmente si están próximos entre sí, haciendo que exista gran cantidad de información sobre la estructura de los objetos que componen la escena visual (Hernández García, 2013).

Para hallar el valor de este índice se diferencian tres partes fundamentales: la luminancia, el contraste y la estructura. El SSIM es una combinación multiplicativa de estos tres términos.

$$SSIM(x, y) = [l(x, y)]^\alpha [c(x, y)]^\beta [s(x, y)]^\gamma \quad \text{\{EC.4\}}$$

El término $l(x,y)$ corresponde a la luminancia (EC.5), el término $c(x,y)$ corresponde al contraste (EC.6), el término $s(x,y)$ corresponde a la estructura (EC.7) y los coeficientes c_1 , c_2 y c_3 toman valores muy pequeños en función del rango dinámico de L .

$$l(x, y) = \frac{2\mu_x\mu_y + c_1}{\mu_x^2 + \mu_y^2 + c_1} \quad \text{\{EC.5\}}$$

$$c(x, y) = \frac{2\sigma_x\sigma_y + c_2}{\sigma_x^2 + \sigma_y^2 + c_2} \quad \text{\{EC.6\}}$$

$$s(x, y) = \frac{\sigma_{xy} + c_3}{\sigma_x\sigma_y + c_3} \quad \text{\{EC.7\}}$$

$$c_1 = (0,01L)^2 \quad \text{\{EC.8\}}$$

$$c_2 = (0,03L)^2 \quad \text{\{EC.9\}}$$

$$c_1 = c_2/2 \quad \text{\{EC.10\}}$$

Para el análisis de las fotografías, se empleara una versión simplificada de la ecuación nº 4 (Matlab, 2007), en donde $\alpha=\beta=\gamma=1$, aplicando esta simplificación se obtiene:

$$SSIM(x, y) = \frac{(2\mu_x\mu_y + c_1)(2\sigma_{xy} + c_2)}{(\mu_x^2 + \mu_y^2 + c_1)(\sigma_x^2 + \sigma_y^2 + c_2)} \quad \text{\{EC.11\}}$$

El SSIM oscila entre 0 y 1, siendo 1 el caso de dos fotografías idénticas y cero, el caso contrario. Se ha implementado una función en Matlab que permite el cálculo del índice (figura 69).

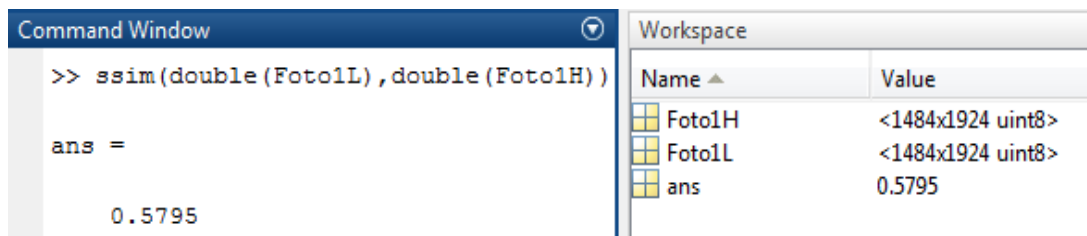


Figura 69- Ejemplo del cálculo del índice de similitud estructural entre dos matrices

3.3.2.2. Caso de referencia

El deseo de comparar dos fotografías de forma numérica, establece la necesidad de encontrar un caso de referencia, con el objetivo de dar una respuesta objetiva a cuál de las fotografías ofrece mejores resultados.

Con esta premisa, se ha empleado el microscopio óptico Leica, presente en el laboratorio, como referencia. Las razones que han motivado esta decisión han sido, primero, que al tratarse de un equipo comercial ofrecerá, por norma general, mejores resultados que un equipo experimental desarrollado, y segundo, que la instrumentación empleada en el microscopio óptico es de mayor calidad que aquella empleada en el microscopio óptico desarrollado.

En la práctica, los resultados obtenidos entre dos microscopios, independientemente de la calidad que ofrezcan, varían. Atendiendo a la afirmación anterior, se ha querido comparar dos microscopios ópticos, uno marca Leica y otro marca Nikon, para establecer de manera cuantitativa sus diferencias.

Se han obtenido varias fotografías de diferentes muestras, empleando para ello ambos microscopios.

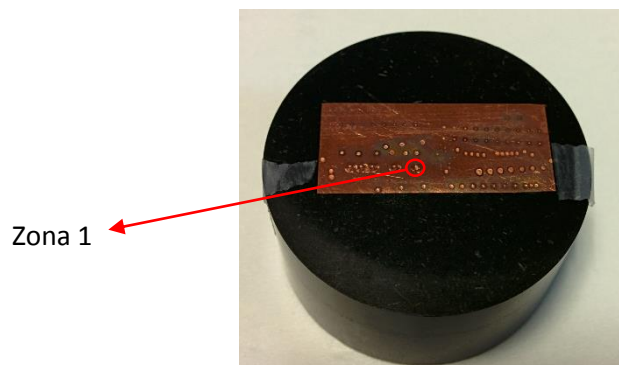


Figura 70-Muestra de cobre de 23x10 mm



Figura 71- Fotografías obtenidas de la zona 1 con los microscopios y su imagen diferencia

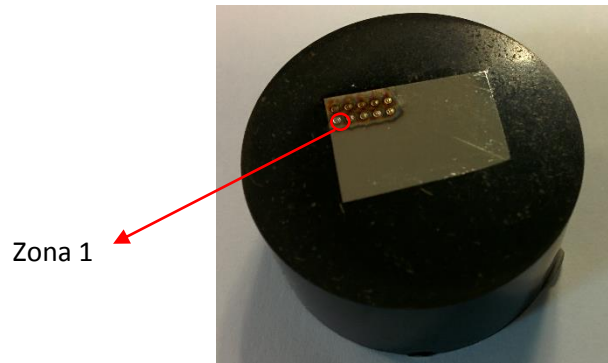
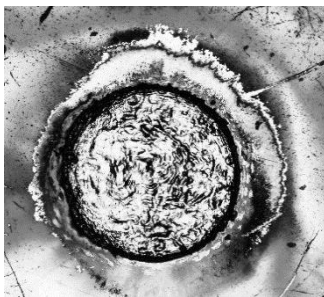
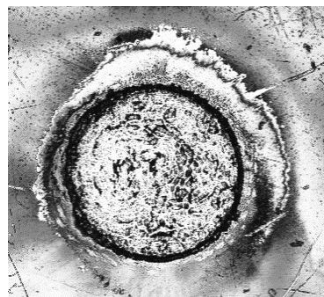


Figura 73-Muestra de acero de 16x11 mm



Fotografía realizada con el microscopio Leica



Fotografía realizada con el microscopio Nikon

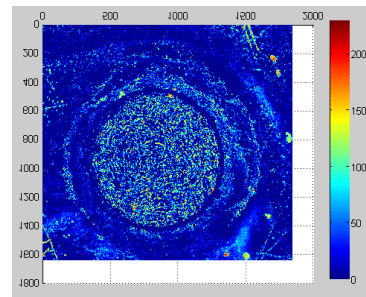


Imagen diferencia

Figura 73-Fotografías obtenidas en la zona 1 con los microscopios, a la derecha su imagen diferencia

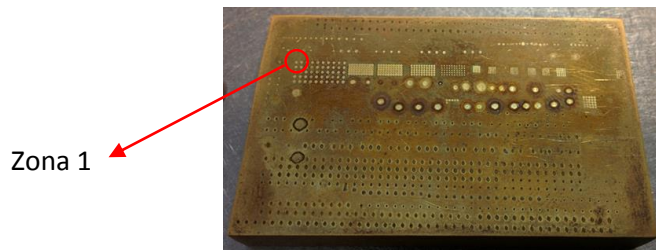
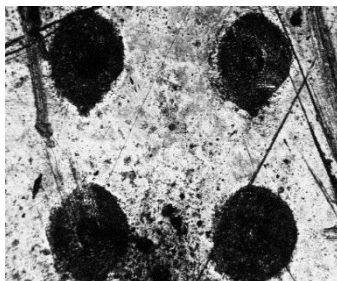
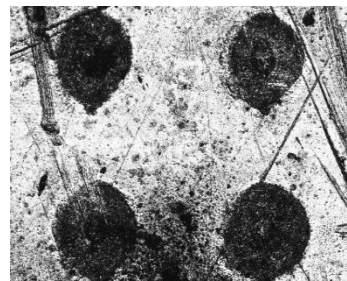


Figura 74-Muestra de latón de 52x32 mm



Fotografía realizada con el microscopio Leica



Fotografía realizada con el microscopio Nikon

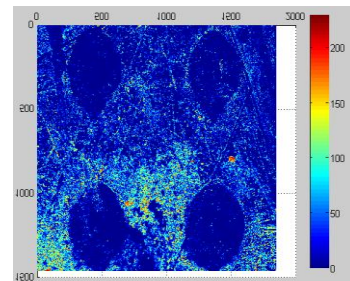


Imagen diferencia

Figura 72- Fotografías obtenidos de la zona 1 utilizando los microscopios, a la derecha su imagen diferencia

A partir de las fotografías que se muestran en las figuras 71, 73 y 75, se han calculado los parámetros anteriormente explicados.

Tabla 6- Valores de los parámetros obtenidos al procesar las fotografías

Muestra	Coefficiente de correlación (%)	Índice de similitud estructural (%)
Cobre	86,82	73,17
Acero	80,69	70,45
Latón	85,20	70,01

Se observa que las diferencias que existen entre dos fotografías, tomadas con distintos microscopios ópticos, son de, aproximadamente, un 20% para el caso de coeficiente de correlación, y un 30% para el caso del índice de similitud. Estas diferencias marcan las variaciones que consideraremos aceptables cuando comparemos el microscopio óptico Leica con aquel desarrollado en el laboratorio.

La diferencia de un 20% en el coeficiente de correlación indica que este no depende solamente de la fuente y de la cámara, puesto que ambos microscopios poseen la misma iluminación y el mismo detector (halógeno de 100W y cámara CCD). Entonces, el coeficiente de correlación ha de depender también del sistema de colimación y del resto de elementos ópticos.

A partir de este momento, en base a los resultados obtenidos, el coeficiente de correlación será tratado como una medida de similitud entre microscopios, abandonando la idea de continuar con el desarrollo de la recta de mínimos cuadrados, debido a la imposibilidad de aislar la variabilidad que introduce el sistema de iluminación.

Se ha empleado el microscopio óptico Leica en lugar del microscopio óptico Nikon, por tratarse del microscopio que actualmente se encuentra en el Laboratorio de Aplicaciones Industriales del Láser y tener una mayor disponibilidad del mismo.

3.3.2.3. *Comparativa entre los resultados obtenidos con los sistemas de iluminación LED y halógeno con los obtenidos con el microscopio óptico de referencia.*

Volviendo al objetivo inicial de este capítulo, se procederá ahora, a la comparación numérica de las fotografías tomadas con el microscopio óptico desarrollado (sistemas de iluminación LED y halógeno), con aquellas que se obtienen del microscopio óptico de referencia.

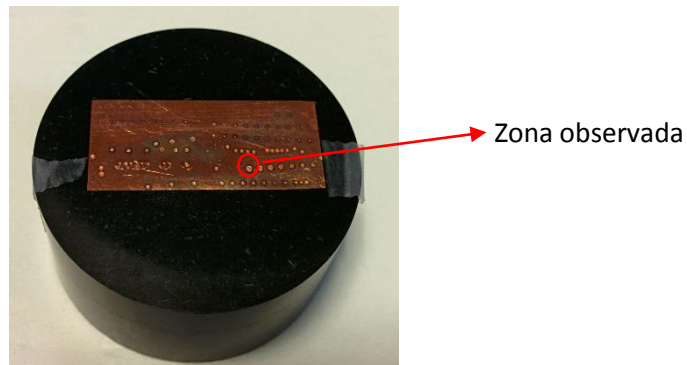


Figura 74- Muestra de cobre de 23x10 mm

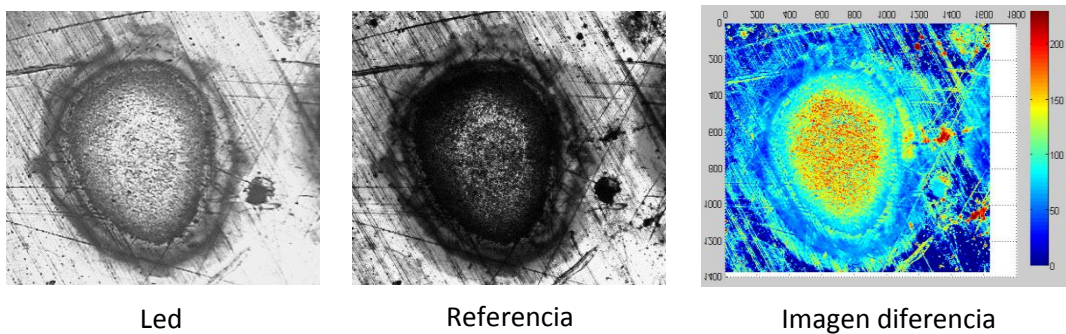


Figura 75- Comparativa entre, la fotografía obtenida empleando el sistema de iluminación led en el microscopio óptico desarrollado, y la obtenida con el microscopio óptico de referencia

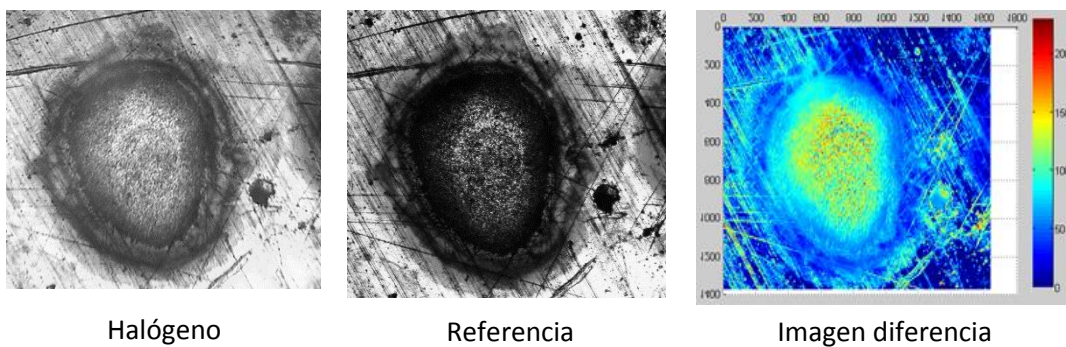


Figura 76-Comparativa entre, la fotografía obtenida empleando el sistema de iluminación halógeno en el microscopio óptico desarrollado, y la obtenida con el microscopio óptico de referencia

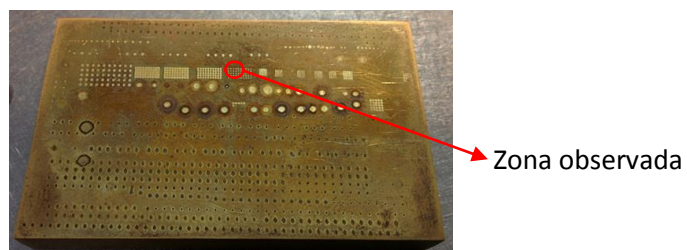


Figura 77- Muestra de latón de 52x32 mm

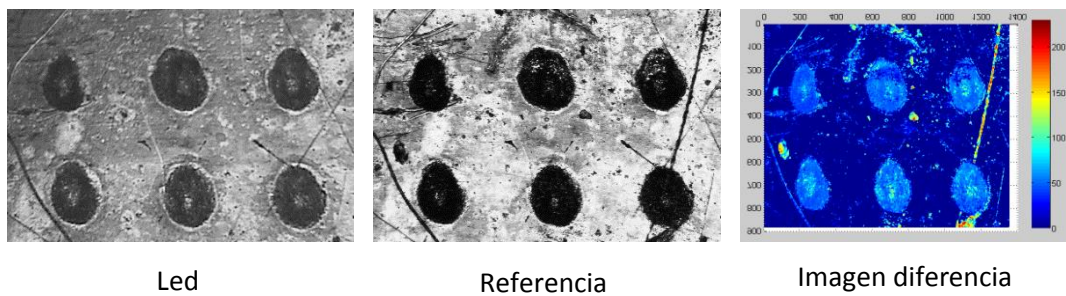


Figura 78-Comparativa entre, la fotografía obtenida empleando el sistema de iluminación led en el microscopio óptico desarrollado, y la obtenida con el microscopio óptico de referencia

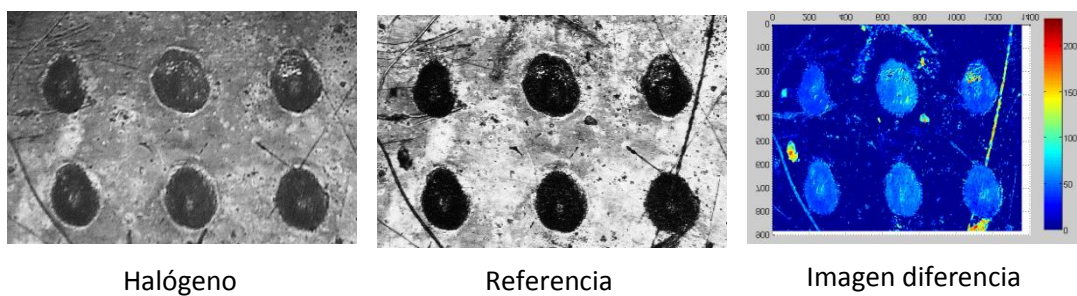


Figura 79-Comparativa entre, la fotografía obtenida empleando el sistema de iluminación halógeno en el microscopio óptico desarrollado, y la obtenida con el microscopio óptico de referencia

En estas fotografías es posible observar pequeñas zonas o líneas, en donde la diferencia de intensidad se acentúa, esto es debido a desperfectos sufridos por la pieza ocasionados por pequeñas colisiones, arañazos o polvo y óxido. Estas imperfecciones introducen un pequeño error en la medición, del que es necesario ser consciente, pero a causa de su naturaleza, son difíciles de eliminar.

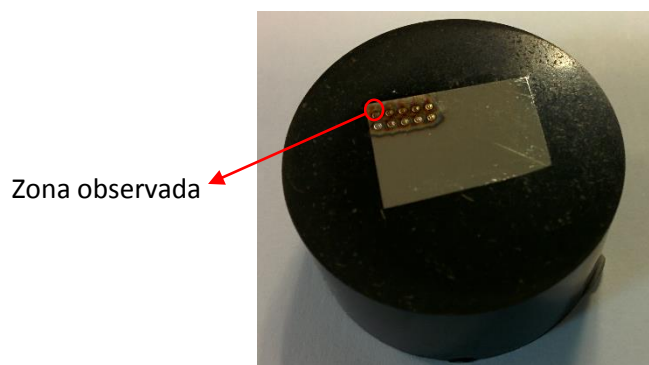


Figura 80- Muestra de acero de 16x11 mm

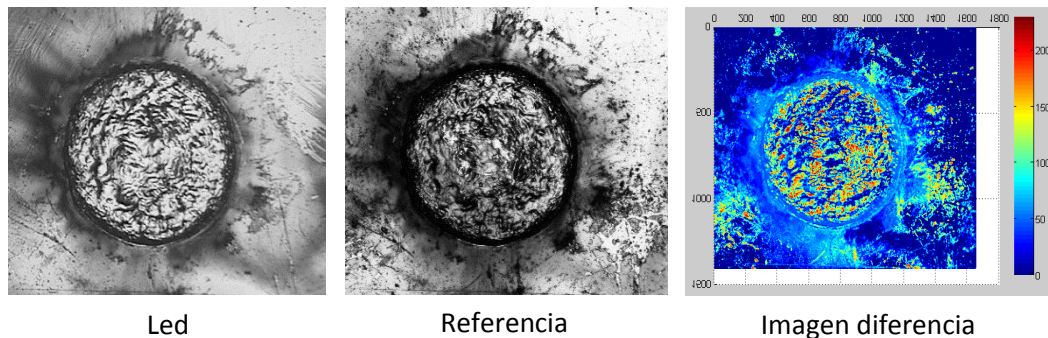


Figura 81- Comparativa entre la fotografía obtenida empleando el sistema de iluminación led en el microscopio óptico desarrollado, y la obtenida con el microscopio óptico de referencia

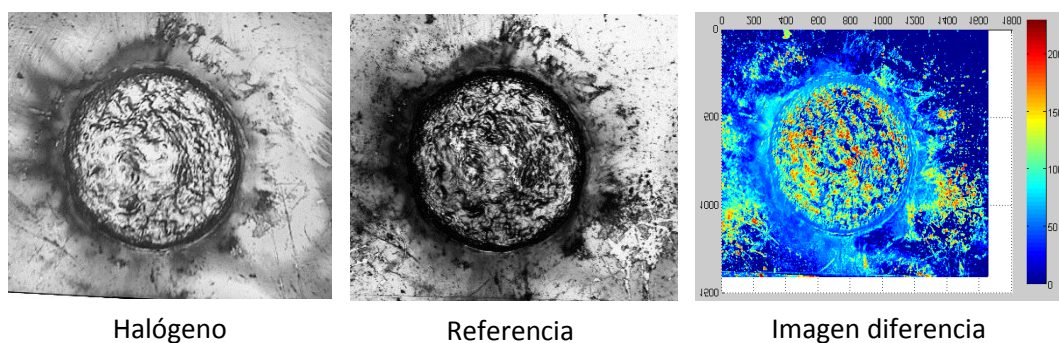


Figura 82-Comparativa entre la fotografía obtenida empleando el sistema de iluminación halógeno en el microscopio óptico desarrollado, y la obtenida con el microscopio óptico de referencia

Se ha elaborado una tabla a partir de los resultados obtenidos, comparando el microscopio óptico desarrollado con cada una de las fuentes, con el microscopio óptico Leica.

Tabla 7-Coeficientes de correlación e índices de similitud estructural de las diferentes muestras, utilizando el microscopio óptico desarrollado con las fuentes de iluminación led y halógena.

Muestra	Coeficiente de correlación (%)		Índice de similitud estructural (%)	
	Led	Halógeno	Led	Halógeno
Cobre	82,03	85,03	53,22	57,21
Latón	74,73	76,14	42,11	45,27
Acero inoxidable	71,19	72,12	43,53	43,23

Para completar estos datos, se ha continuado este análisis extendiéndolo a distintas zonas de las muestras de cobre, acero y latón, los resultados han quedado recogidos en el anexo II.

A partir de los datos obtenidos se concluye que:

- Las diferencias entre el led y el halógeno, atendiendo a los parámetros calculados, son poco significativas.
- Los valores de los coeficientes de correlación obtenidos con el led, son similares a los que se obtuvieron al comparar los dos microscopios ópticos, mientras que las diferencias con respecto a los índices de similitud son más pronunciadas.

En el caso del coeficiente de correlación, las variaciones entre un sistema de iluminación y el otro, son muy bajas (menores al 3%), mientras que en el caso del SSIM, estas diferencias son ligeramente superiores (entorno al 4%). De lo anterior es posible afirmar que ambos sistemas de iluminación ofrecen resultados muy similares, tanto de manera cuantitativa como cualitativa.

Si comparamos ahora el microscopio óptico desarrollado una vez implementado el sistema de iluminación led con el microscopio óptico desarrollado, las diferencias son significativas en el caso del SSIM (entorno a un 20%) y poco notables en el caso del coeficiente de correlación (menores del 9%) tal como puede comprobarse en las tablas 6 y 7.

Las variaciones en el SSIM son más acentuadas, poniendo de manifiesto las diferencias que se observan visualmente entre las fotografías obtenidas, por un lado, con el microscopio óptico desarrollado, y por otro lado, con el microscopio óptico de referencia. Estas diferencias tienen en cuenta no solo la fuente de iluminación, sino también el resto de elementos, resaltando las diferencias entre la instrumentación empleada en uno y otro caso.

De todo esto se puede concluir que, aunque la calidad ofrecida por el microscopio óptico desarrollado en conjunto, todavía no esté a la altura de un microscopio óptico comercial, la implementación del sistema de iluminación led muestra buenos resultados, igualando aquellos obtenidos con los sistemas de iluminación previos, con la ventaja de que esta tecnología posee un mayor potencial que las otras., pudiendo en un futuro próximo competir con un microscopio óptico.

3.4. Comparativa de los sistemas de iluminación (láser, led y halógeno)

Aunque el objetivo de implementar un nuevo sistema de iluminación sea la de obtener una buena visualización de la muestra, un estudio centrándose simplemente en la finalidad generaría unos resultados irreales que no reflejarían las verdaderas repercusiones del cambio.

Con el objetivo anterior, se han evaluado diversos factores que influyen a la hora de plantearse el cambio entre un sistema de iluminación y otro, como son: el coste, el tiempo de vida, la eficacia y las dimensiones.

Tabla 8- Comparativa entre los sistemas de iluminación evaluados

		Láser	Led	Halógeno
Parámetros con respecto al caso de referencia	Coefficiente de correlación	-	72-81 %	73-82 %
	SSIM	-	40-50 %	45 - 50%
Calidad visual		No se aprecian detalles	Buena apreciación de los detalles	Buena apreciación de los detalles
Coste (€)		3000-5000	135	300
Eficacia (lm/W)		≈1	90 - 100	10 - 25
Tiempo de vida (horas)		50.000	50.000	1000-2000
Dimensiones: largo x ancho x alto (mm)		350 x 80 x 120	212 x 76 x 46	200x120x215

La calidad visual de las fotografías ha permitido descartar en primera instancia el láser. Debido a la gran potencia por unidad de área que posee el láser, la sobreintensidad se plantea como el principal problema de esta fuente, que imposibilita la visualización de las muestras.

Las fuentes de iluminación led y halógena ofrecen una buena visualización de los detalles. Los resultados numéricos alcanzados por el sistema halógeno son ligeramente superiores a los del led, pero esto no permite afirmar que el halógeno sea mejor que el led.

Los resultados obtenidos por el led se ven desfavorecidos respecto a aquellos obtenidos con el halógeno, porque al escoger como caso de referencia el microscopio óptico Leica, que posee una fuente de luz halógena, esto favorece la similitud con el halógeno e incrementa las diferencias con el led.

En cuanto al coste, el led es la opción más económica, presentando unas cifras muy inferiores al resto de sistemas, en cuanto a precio de adquisición.

Nuevamente, el led vuelve a plantearse como la mejor opción, atendiendo esta vez a su eficacia. La razón fundamental de la gran diferencia que existe entre el led y el resto de sistemas, es el proceso de formación de la luz explicado previamente en el capítulo 1. La producción de calor en el caso del halógeno es mayoritaria, mientras que en el láser, solo una pequeña parte de la energía producida se libera al exterior desde la cavidad.

Tanto el led como el láser presentan elevados tiempos de vida, mientras que el halógeno presenta unos valores muy bajos en este aspecto. El tiempo de vida puede presentarse como un nuevo coste, ya que el halógeno necesita ser reemplazado incrementando los costes de mantenimiento. Entre el láser y el led, el led vuelve a salir beneficiado puesto que sus recambios son mucho más económicos que los del láser.

Por último, las dimensiones del láser lo convierten en un dispositivo muy pesado y muy poco manejable, mientras que el halógeno y el led son más ligeros, lo que permite desplazarlos con mayor facilidad.

En conclusión, el sistema de iluminación led presenta mejores características que el resto de sistemas de iluminación ya existentes, salvo en el aspecto numérico de calidad de imagen, pero estas pequeñas diferencias han sido justificadas debido a los criterios tomados como de referencia. Por tanto, se justifica ampliamente la sustitución de los sistemas de iluminación anteriores por una basado en la tecnología led, debido a sus ventajas en cuanto a coste, tiempo de vida, eficacia a la vez de mantener unos niveles altos de calidad visual.

4. Conclusiones

Para la consecución de este proyecto se han realizado tareas experimentales, contrastando los resultados obtenidos con la ayuda de software informático, tanto de cálculo (Matlab), como de análisis fotográfico (Photoshop).

Se ha logrado:

- El desarrollo e implementación de un sistema de iluminación led que, acoplado al microscopio óptico desarrollado, consigue una reducción del coste total del dispositivo sin disminuir la calidad de los resultados obtenidos, mejorando al mismo tiempo las prestaciones del sistema de iluminación con el que se contaba.
- Se ha establecido un procedimiento que permite evaluar y comparar la calidad visual de una serie de fotografías de forma cuantitativa, calculando tres parámetros (SSIM, coeficiente de correlación y la imagen diferencia).
- Desarrollo de un sistema de colimación con un conjunto de lentes en serie para un emisor de luz led no puntual.

Como perspectivas de futuro, se pueden citar una serie de puntos que mejorarían las características del sistema de iluminación y del microscopio óptico desarrollado, que son:

- **Mejora del sistema de colimación.** La captación de la totalidad de la luz emitida por una fuente de luz no puntual, como es el caso del led, pasa por la mejora del sistema de colimación desarrollado. Esta mejora implicaría un incremento en la calidad de las fotografías obtenidas.
- **Mejora del dispositivo de captación.** La obtención de una cámara CCD más sensible y con una mayor tasa de adquisición de fotogramas permitiría obtener una mayor calidad en las fotografías.

5. Bibliografía

- Abramowitz, M. (2003). *Basics and Beyond*, 1.
- Abramowitz, M., & Davidson, M. W. (n.d.). *Anatomy of the microscope: Introduction*. Retrieved from <http://www.olympusmicro.com/primer/anatomy/introduction.html>
- Alonso Fernández, B., & Arias Tobalina, I. (2010). *El láser*.
- April, P. (2013). Bridgelux Vero 13 Array Series, (92 5), 1–24.
- Asimov, I. (1972). *Biographical Encyclopedia of Science and Technology*.
- Burge, R. E. (1980). *An introduction to microscopy by means of light, electrons, X-rays or ultrasound*. *Journal of Biomedical Engineering* (Vol. 2). [http://doi.org/10.1016/0141-5425\(80\)90081-3](http://doi.org/10.1016/0141-5425(80)90081-3)
- Conn, P. M. (2010). *Techniques in Confocal Microscopy*.
- Croft, W. J. (2006). *Under the Microscope: A brief history of Microscopy* (Vol. 5).
- Csele, M. (2004). *Fundamentals of light sources and lasers. America* (Vol. 1). <http://doi.org/10.1097/00024382-200205000-00022>
- Disney, A. H. (1928). Origin and development of the microscope. *The Royal Microscopical Society*. Retrieved from www.rms.org.uk
- Edkins, K. (2005). The Project Gutenberg eBook , *Micrographia* , by Robert Hooke. *Society*, 1–178. Retrieved from <http://www.gutenberg.org/dirs/2/4/6/8/24689>
- Gage, S. H. (1947). Brief history of lenses and microscopes.
- Gines, T. B., & Davidson, M. (1995). Zeiss. Retrieved from <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/tutorials/halogencycle/indexflash.html>
- Grundmann, M. (2010). *Graduate Texts in Physics Graduate Texts in Physics*. http://doi.org/10.1007/978-3-642-00710-1_2
- Hernandez García, M. (2013). *Integración de la Similitud Estructural en un marco de registro de imagen variacional , y evaluación de sus prestaciones .*
- Huebener, R. P. (2013). *Conductors , Semiconductors , .*
- Khanna, V. K. (1952). *Fundamentals of Solid-State Lighting*.

- Lumotech. (n.d.). Especificaciones técnicas del driver. Retrieved from <http://www.lumotech.com/Products/-150W/L05060-LED-Driver-100W-20-60-Vdc-700-2800-mA-1-10V>
- Matlab. (2007). Mathworks. Retrieved from <http://es.mathworks.com/help/images/ref/ssim.html>
- Minsky, M. (1957). *Microscopy Apparatus*.
- Moncton, D. E. (2010). *Light Sources*.
- Paddock, S. W., & Walker, J. M. (2014). *Confocal Microscopy*.
- Rodríguez-Vidal, E., Otaduy, D., Ortiz, D., González, F., Moreno, F., & Saiz, J. M. (2014). Optical performance of a versatile illumination system for high divergence LED sources. *Optik*, 125(5), 1657–1662. <http://doi.org/10.1016/j.ijleo.2013.09.064>
- Specifications, T. (2008). Intralux® 5100.
- Taylor and Francis Group. (2011). *Light sources: Technologies and Applications*.

Anexo I. Comparación cuantitativa de las muestras

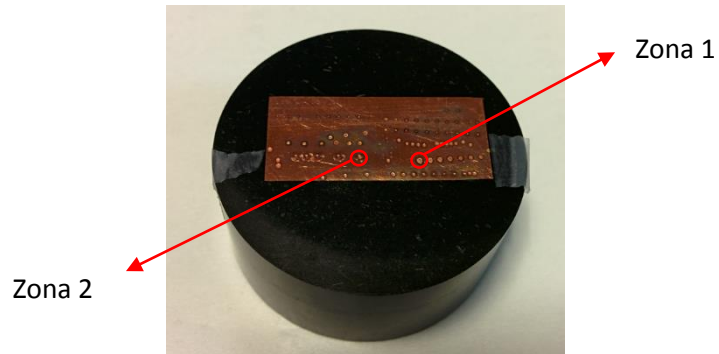


Figura 83-Muestra de cobre

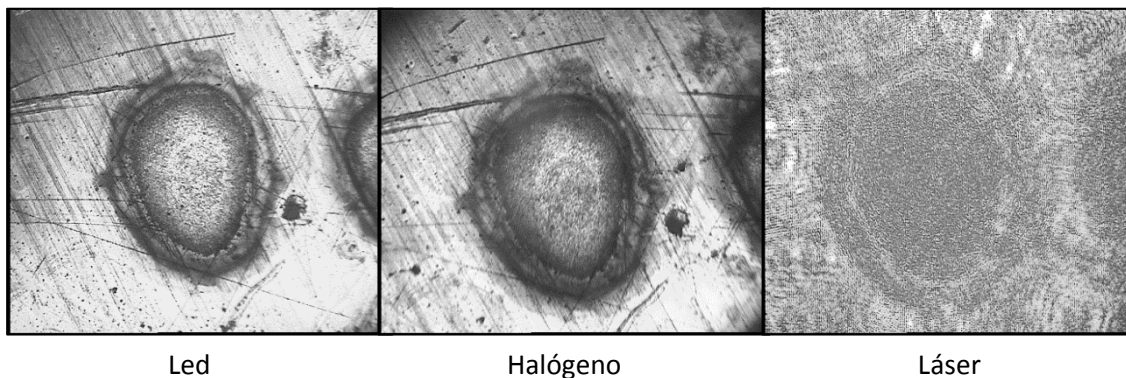


Figura 84- Fotografías obtenidas con cada uno de los sistemas de iluminación de la zona 1

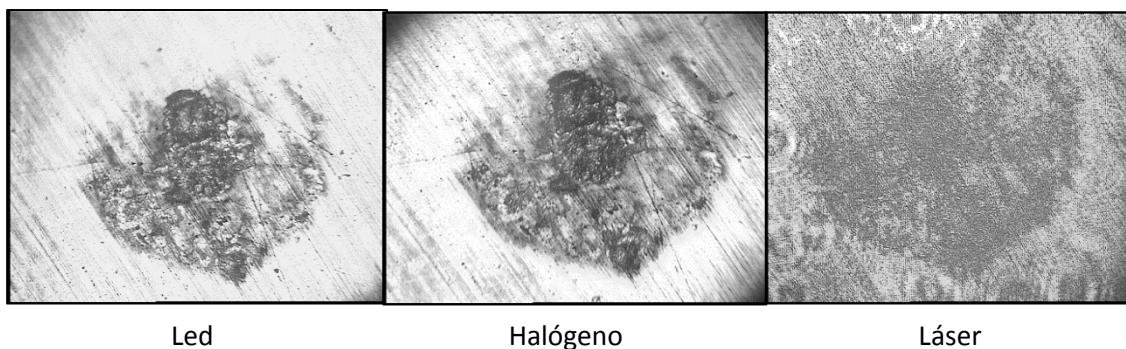


Figura 85-Fotografías obtenidas con cada uno de los sistemas de iluminación de la zona 2

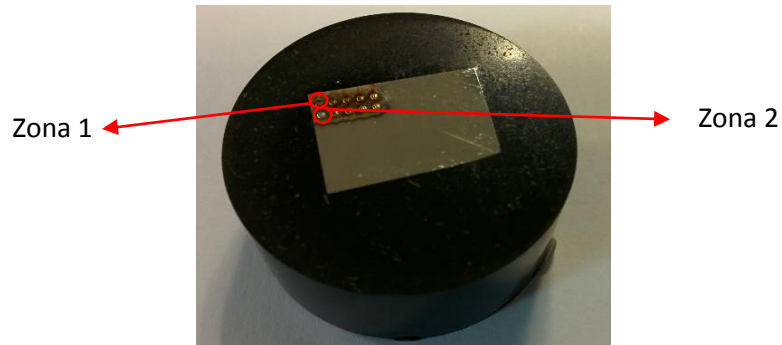
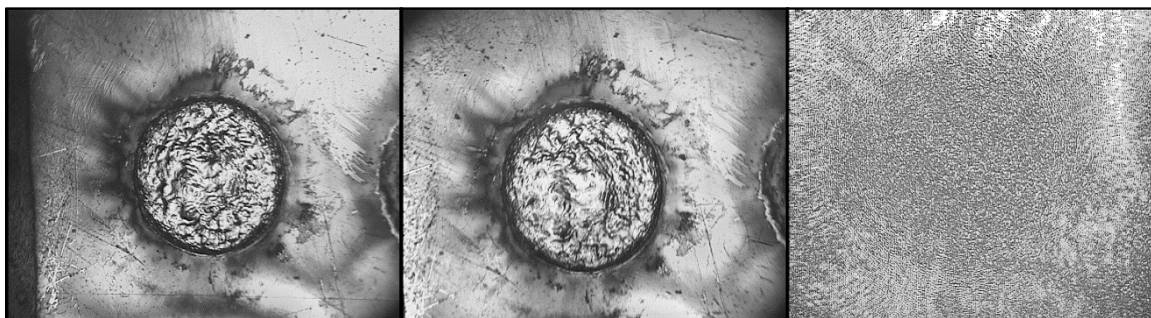


Figura 86-Muestra de acero inoxidable

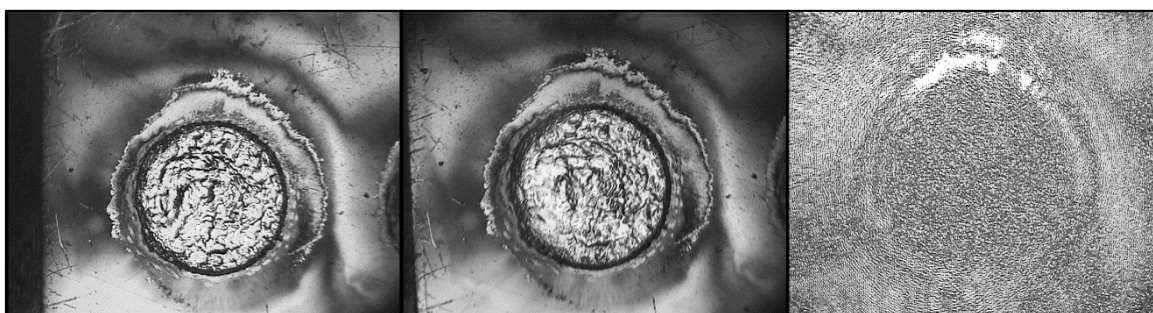


Led

Halógeno

Láser

Figura 87-Fotografías obtenidas con cada uno de los sistemas de iluminación de la zona 1



Led

Halógeno

Láser

Figura 88-Fotografías obtenidas con cada uno de los sistemas de iluminación de la zona 2

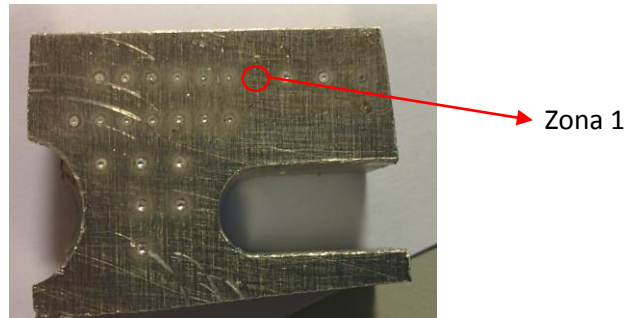


Figura 89-Muestra de aluminio

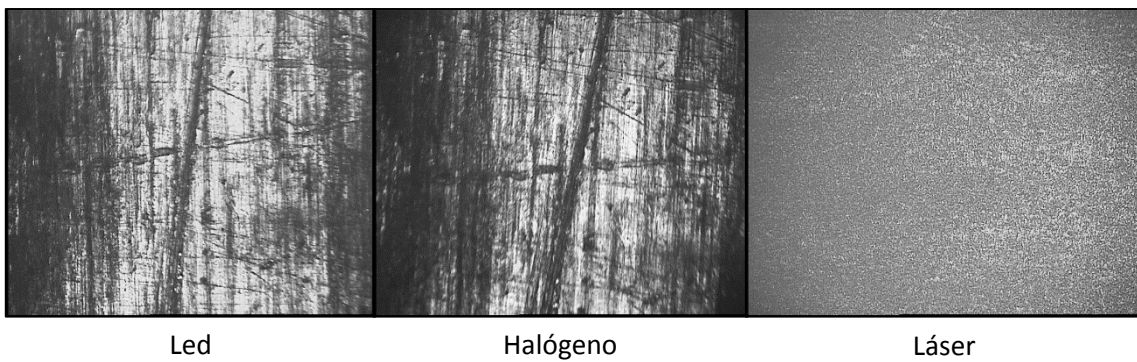


Figura 90-Fotografías obtenidas con cada uno de los sistemas de iluminación de la zona 1

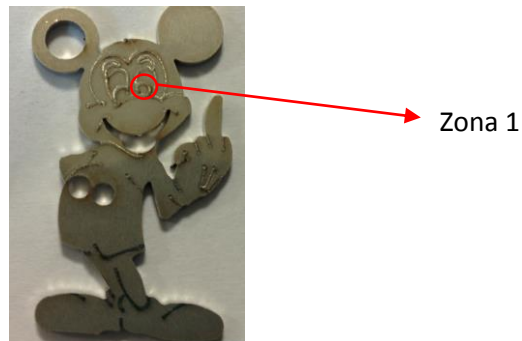


Figura 91-Pieza mecanizada y marcada con láser

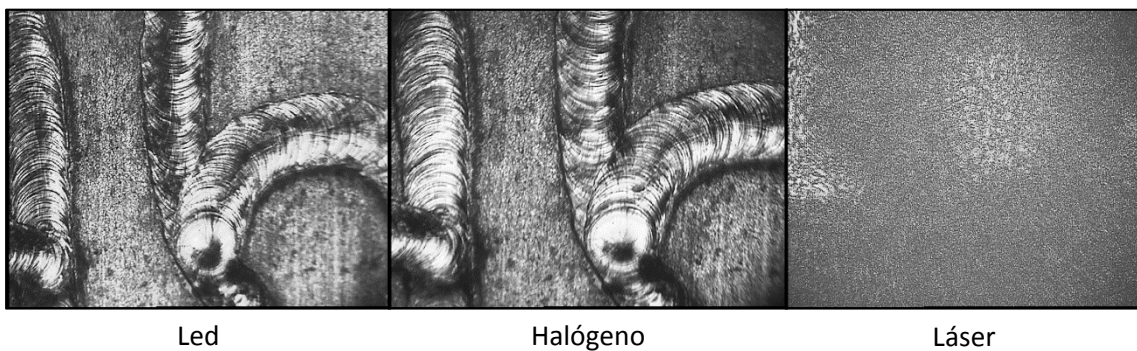


Figura 92-Fotografías obtenidas con cada uno de los sistemas de iluminación de la zona 1

Anexo II. Comparación cualitativa de las muestras

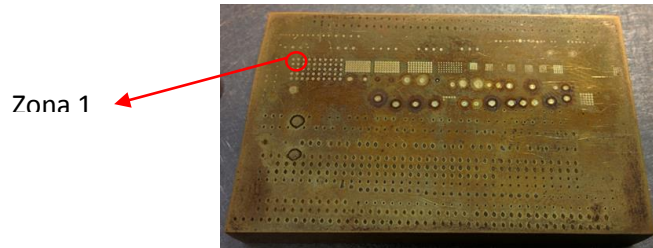


Figura 93-Muestra de latón

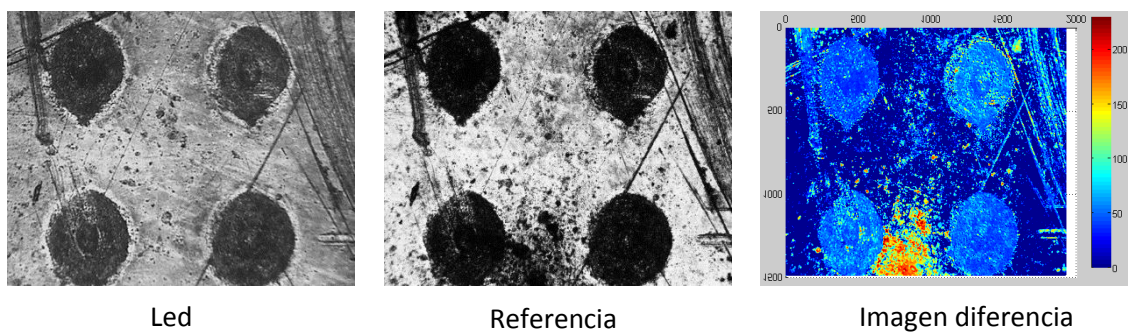


Figura 94- Comparación entre las fotografías obtenidas con el led y con el microscopio óptico de referencia y su imagen diferencia

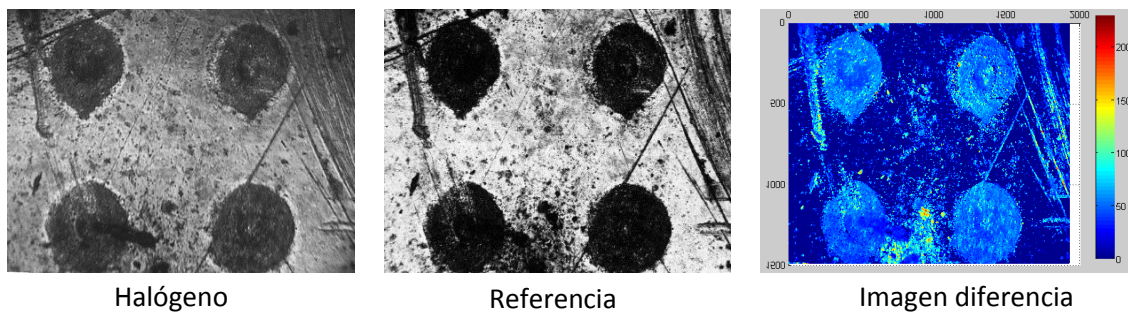


Figura 95- Comparación entre las fotografías obtenidas con el halógeno y con el microscopio óptico de referencia y su imagen diferencia

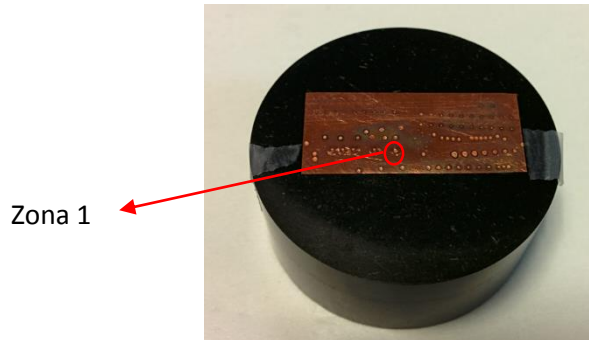


Figura 96-Muestra de cobre

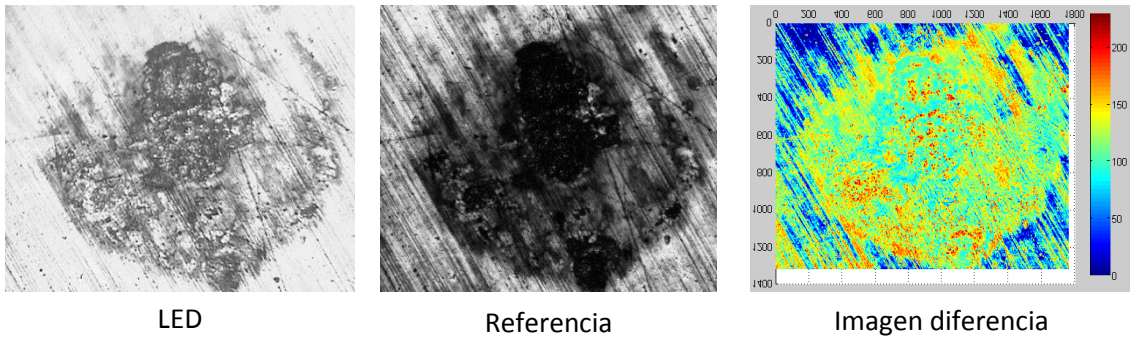


Figura 97- Comparación entre las fotografías obtenidas con el led y con el microscopio óptico de referencia y su imagen diferencia

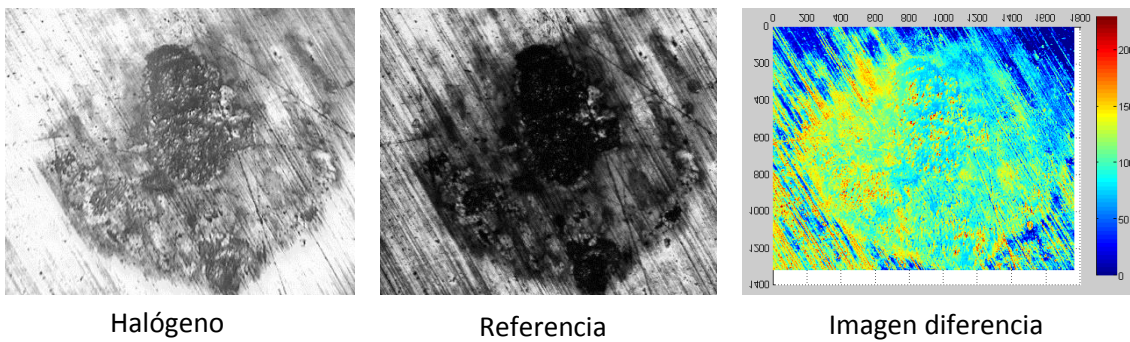


Figura 98-Comparación entre las fotografías obtenidas con el halógeno y con el microscopio óptico de referencia y su imagen diferencia

