

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 368 321**

21 Número de solicitud: 201130499

51 Int. Cl.:

G01N 21/57 (2006.01)

G01B 9/04 (2006.01)

G02B 21/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

31.03.2011

43 Fecha de publicación de la solicitud:

16.11.2011

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

21.03.2013

Fecha de la concesión:

28.05.2013

45 Fecha de publicación de la concesión:

07.06.2013

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID (50.0%)
RAMIRO DE MAEZTU, 7
28031 MADRID (Madrid) ES y
ASOCIACION PARA LA INVESTIGACION Y
DESARROLLO INDUSTRIAL DE LOS RECURSOS
NATURALES (AITEMIN) (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CASTROVIEJO BOLÍBAR, Ricardo;
ESPI RODRÍGUEZ, José Antonio;
BREA, Carolina Beatriz;
PÉREZ BARNUEVO, Laura;
CATALINA HERNÁNDEZ, Juan Carlos y
SEGUNDO GARCÍA, Fernando**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

54 Título: **MÉTODO PARA OBTENER IMÁGENES MULTIESPECTRALES DE REFLECTANCIA ABSOLUTA.**

57 Resumen:

Se describe un procedimiento para llevar a cabo medidas cuantitativas en diferentes bandas de interés mediante un microscopio óptico de reflexión (20) (o de luz transmitida) modificado. Dichas medidas se realizan de forma automatizada gracias a la intervención de una unidad de control (30) que se acopla con el microscopio modificado para asistir en la calibración del dispositivo. Adicionalmente, también lleva a cabo correcciones de las imágenes tomadas de acuerdo con la banda de interés para que cada nivel de gris se asocie con un nivel de reflectancia real de la muestra (o de transmitancia) para la que se ha tomado la imagen.

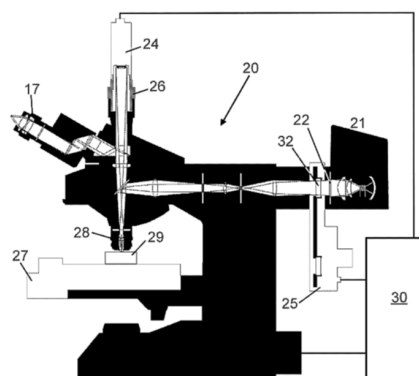


FIG. 2

ES 2 368 321 B2

DESCRIPCIÓN

**MÉTODO PARA OBTENER IMÁGENES MULTIESPECTRALES DE
REFLECTANCIA ABSOLUTA**

SECTOR TÉCNICO

5

La invención se encuadra en el sector técnico de la microscopía óptica.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Un microscopio óptico de reflexión es un instrumento específicamente diseñado para la observación microscópica de materiales ópticamente absorbentes u opacos. Para solventar la opacidad del material observado, que impide su observación con luz transmitida, se emplea luz incidente -sistema también denominado epi-iluminación. En este sistema de iluminación (ver figura 1), la
15 luz proveniente del iluminador, tras pasar por los diafragmas de apertura y de campo, se refleja en un espejo semitransparente inclinado 45° situado sobre el objetivo, que la redirige a través de éste para incidir perpendicularmente sobre la superficie observada. La luz reflejada por ésta es recogida por el objetivo, atraviesa el espejo semitransparente, y continúa por el tubo óptico del
20 microscopio hasta el ocular y/o hasta una cámara. Para evitar que las diferencias de acabado superficial influyan en la observación, las muestras se embuten en resina y la preparación resultante se pule cuidadosamente.

Tradicionalmente, la microscopía óptica de reflexión ha sido considerada una
25 técnica cualitativa, más que cuantitativa, para el estudio de materiales que presenten distintas fases como, por ejemplo, muestras geológicas. La razón estriba en que en numerosas ocasiones resulta difícil identificar una fase mediante la simple medida de su reflectancia o de su color, siendo necesaria la intervención del especialista para tener en cuenta criterios adicionales
30 (microdureza, observación bajo luz polarizada, conocimiento de las asociaciones minerales habituales, etc.) que permitan asegurar la exactitud de la identificación. La dificultad para utilizar dichos criterios adicionales de forma

automatizada ha impedido la aplicación sistemática de la microscopía óptica de reflexión al análisis cuantitativo de fases en la industria, restringiendo su utilización a los pocos laboratorios dotados de personal especializado existentes en la actualidad. Dado el coste laboral de dichos especialistas y el tiempo necesario para su realización, los análisis manuales sólo resultan
5 abordables en estudios aislados, y no es factible su aplicación generalizada en la industria.

Por dicho motivo, el análisis cuantitativo de fases ha tenido que ser abordado mediante otras técnicas, entre las cuales destacan la microscopía electrónica de barrido (Scanning Electron Microscope, SEM) y la microsonda electrónica (Electron Probe Micro Analyser, EPMA), cuyo desarrollo ha permitido poner a punto equipos especializados como el QEMSCAN, que permite identificar automáticamente las distintas fases presentes en una muestra. No obstante,
10 estas técnicas no han resuelto definitivamente el problema, dado que presentan una serie de inconvenientes que impiden su uso generalizado:

- La técnica EPMA permite determinar la composición elemental de la muestra en un cierto número de puntos de su superficie, pero esto no es suficiente para discriminar entre fases que, teniendo composiciones
20 similares, presentan estructuras diferentes, cosa relativamente frecuente en ciertas aplicaciones (mineralogía, por ejemplo).
- El coste de los equipos SEM/EPMA es muy elevado (del orden del millón de dólares USA para el QEMSCAN), y no está al alcance de todas las empresas (ni de todos los países).
- 25 • El manejo de estos equipos exige personal altamente capacitado, y un entorno especialmente acondicionado con elevados requisitos de estabilidad ambiental.
- La preparación de las muestras para SEM/EPMA precisa de un equipamiento y un personal especializado que suponen un considerable
30 coste por análisis.

Por todo ello, las técnicas SEM/EPMA distan de ser la solución más idónea al problema del análisis modal en materiales multifase, salvo para grandes

empresas de países desarrollados que puedan permitirse invertir grandes cantidades de dinero en laboratorios de última generación, y que puedan recurrir a la realización de análisis microscópicos manuales en caso de duda.

- 5 Teniendo en cuenta estos antecedentes, los inventores abordaron el desarrollo de la presente invención con el objetivo de superar las limitaciones que presenta la microscopía óptica para el análisis cuantitativo de fases mediante la puesta a punto de unos procedimientos avanzados para la calibración y la operación de un microscopio óptico de reflexión especialmente modificado para
10 la adquisición de imágenes multiespectrales en una porción del espectro más extensa que la banda visible. La información adicional proporcionada por la reflectancia de la muestra en el infrarrojo cercano (Near Infrared o NIR, en inglés) y/o en el ultravioleta cercano (Near Ultraviolet o NUV, en inglés) permite caracterizar las distintas fases con mucha mayor exactitud que únicamente a
15 partir de la reflectancia en la banda visible (Vis).

Como resultado, el sistema descrito alcanza una tasa de identificación automática de fases comparable a la obtenida por un equipo QEMSCAN, pero resulta mucho más asequible (su coste es unas 10 veces menor), lo que lo
20 hace utilizable en un gran número de aplicaciones e industrias, incluso en países poco desarrollados.

Se citan a continuación otros antecedentes relacionados en menor grado con la invención:

- 25 El documento JP2004347330-A no da precisiones sobre la metodología, indicando únicamente que usa un microscopio óptico, lo que lo sitúa en el campo tradicional, sin vestigios de recurso a bandas VNIR ni automatización alguna.

El documento JP1307664-A se refiere también a un microscopio óptico,
30 indicando que es de reflexión. Por lo demás, se perciben parecidas limitaciones e imprecisiones dado que no hay alusiones a medidas VNIR y, en

lugar de plantearse para cualquier material multifase, se limita a menas simples.

La invención descrita en PN SU811080-B presenta un fotómetro espectral basado con un sistema original de control y medida de la iluminación, mediante un cilindro rotatorio provisto de ventanas, pero no se plantea las medidas VNIR ni la automatización.

La invención divulgada en RU2001419-C1, aunque estudia y compara menas de pirita, no aplica ninguna medida espectral sino determinaciones morfológicas realizadas con estereomicroscopio y mediante ataques ácidos, a fin de obtener conclusiones de índole genética o aplicables a exploración y predicción, etc.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Es un objeto de la invención, un método avanzado para calibración y operación de un sistema automatizado de microscopía multiespectral NUV-Vis-NIR (del ultravioleta cercano al infrarrojo cercano) que asegura la calidad y reproducibilidad de las imágenes de reflectancia obtenidas para aplicaciones de caracterización cualitativa y cuantitativa de la composición de materiales multifase, es decir, materiales en los que pueden observarse distintos componentes físicamente diferenciables.

También es otro objeto de la presente invención, un método similar al anterior salvo en el empleo de la transmitancia en lugar de reflectancia.

25

El método propuesto es capaz de obtener imágenes de reflectancia absoluta con registro óptimo entre bandas mediante un microscopio óptico de reflexión modificado para la adquisición de imágenes multiespectrales mediante las etapas indicadas a continuación.

- Etapa para determinar el tiempo de exposición necesario para cada banda de interés del espectro.

- Etapa para determinar el ajuste de la distancia de enfoque entre cada banda y una banda seleccionada como banda de referencia.
- Etapa para calibrar la respuesta del microscopio frente a la falta de uniformidad en la distribución de la iluminación mediante el uso de patrones de alta y baja reflectancia.
- Etapa para calibrar geométricamente el microscopio modificado, caracterizando la aberración cromática del microscopio y determinando el ángulo de rotación de la cámara instalada en el microscopio respecto de la platina.
- Etapa para adquirir al menos una imagen multiespectral de una preparación microscópica, empleando para cada banda el tiempo de exposición y el ajuste de la distancia determinados anteriormente.
- Etapa para corregir el nivel de gris de la imagen de cada banda mediante el cálculo de la reflectancia absoluta correspondiente a cada píxel.
- Etapa para corregir geométricamente la imagen de cada banda para compensar la rotación de la cámara y la aberración cromática del microscopio entre imágenes sucesivas y entre bandas.

Para el método basado en la transmitancia absoluta las etapas son las mismas que las que se describen anteriormente. Sólo cambia que se aplica sobre un microscopio óptico de luz transmitida para obtener imágenes de transmitancia absoluta y que los patrones que se han de emplear son de transmitancia conocida. Para evitar redundancias innecesarias, la presente descripción está centrada principalmente en el caso de la reflectancia. No obstante, cualquier persona con conocimientos dentro del campo de la invención entenderá que con las modificaciones apuntadas, la alternativa de transmitancia está igualmente contemplada por la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra un esquema de un microscopio (10) de luz reflejada típico, se pueden ver diafragmas de campo (15) y de apertura (14), un espejo semitransparente (16) y un polarizador (19). Se indica el recorrido de la luz en su interior (el camino óptico) y la posición de algunos de los elementos que deben ser retirados, como el filtro antitérmico de reflexión de infrarrojo (12) o “hot mirror” y el filtro antitérmico de absorción de infrarrojos (13).

La figura 2 muestra un esquema del instrumento que sirve de base a la invención, compuesto por un microscopio modificado (20) de luz reflejada. Se le han realizado una serie de modificaciones como se detalla más adelante.

La figura 3 presenta un ejemplo de la variación de la posición del plano de enfoque óptico con la longitud de onda. El resultado de la determinación de la posición del plano de enfoque óptico de cada banda relativa a la posición del plano de enfoque óptico de la banda de 550 nm para un objetivo Leica Fluotar 20x. Puede verse que los planos de enfoque de las bandas de 450, 500, 550, 600 y 650 nm están relativamente próximos entre sí, por lo que las imágenes de dichas bandas podrían ser adquiridas desde una misma posición sin necesidad de reenfocar. Sin embargo, el resto de las bandas quedan demasiado alejadas, por lo que se impone la realización de un enfoque independiente de cada banda.

Las figuras 4 y 5 muestran cómo varían la posición y la escala de la imagen de cada banda en relación a las de la banda de 550 nm, que ha sido tomada como referencia por ser la que presenta mejor calidad de imagen. Esta variación es consecuencia del diferente comportamiento del conjunto del sistema óptico del microscopio en función de la longitud de onda de la luz.

30

Figura 4 - Variación de la posición de la imagen con la longitud de onda.

Figura 5 - Variación de la escala de la imagen con la longitud de onda.

La figura 6 - Localización de los centros de gravedad de las zonas. Se ilustra el principio de funcionamiento del proceso de calibración geométrica: en cada una de las bandas se identifican los puntos del blanco más cercanos a las cuatro esquinas de la imagen, y se determinan sus respectivos centros de gravedad. La localización de éstos se marca sobre la imagen mediante aspas, empleando un color distinto para cada banda. La posición del centro de gravedad conjunto, asimilable al centro óptico, se indica mediante una cruz.

10

La figura 7 - Determinación del ángulo entre la cámara y la platina. Se ilustra el proceso mediante el cual se determina la orientación de la cámara respecto a la platina: se determina el centro de gravedad de un punto del blanco situado en un lado de la imagen, y a continuación se mueve la platina una cierta distancia a lo largo del eje X para desplazar el punto al otro lado de la imagen, volviendo a determinar el nuevo centro de gravedad. A partir de las diferencias ΔX y ΔY entre ambos, se calcula el ángulo de rotación entre los ejes de la cámara y de la platina.

20 DESCRIPCIÓN DETALLADA

El sistema automatizado de microscopía multiespectral de reflectancia que sirve de base a la invención comprende dos componentes principales: el instrumento y la unidad de control y proceso.

25

- El instrumento consiste en un microscopio óptico de reflexión (20) controlado por una unidad de control (p.e. un ordenador), con platina (27) y enfoque motorizados, al que se le han realizado una serie de modificaciones con el fin de permitir la adquisición de imágenes multiespectrales más allá de la banda visible (ver figura 2).

30

Las modificaciones principales comprenden las siguientes operaciones:

- 5

i. Sustitución del iluminador original (11) del microscopio por un dispositivo (21) que proporcione iluminación en las bandas de interés (es decir, visible, infrarrojo cercano y/o ultravioleta cercano). Por ejemplo, para trabajar en el visible y en el infrarrojo cercano se puede utilizar un iluminador con lámpara halógena convencional al que se le haya retirado el filtro antitérmico (12) tipo “*hot mirror*” que normalmente lleva a la salida para reflejar la radiación infrarroja de vuelta hacia la lámpara e impedir su paso al microscopio. Este filtro (12) puede ser sustituido por un filtro

10

especial (22) que refleje longitudes de onda más largas y que permita el paso del infrarrojo cercano al microscopio.
- 15

ii. Retirada de todos los filtros protectores antitérmicos (12) que absorben el infrarrojo en el microscopio (p.ej. en la entrada de iluminación, o en la entrada de la rueda de filtros (25)).
- 20

iii. Incorporación de una cámara (24) de vídeo blanco y negro de estado sólido (preferentemente con sensor CCD) que presente suficiente sensibilidad en toda la banda espectral de interés (debe retirarse el filtro de bloqueo del infrarrojo, si lo tuviera). La cámara debe disponer de una interfaz digital (p.ej. IEEE 1394) que proporcione imágenes de al menos 12 bits por píxel (para respetar el rango dinámico del sensor) y que permita controlar sobre la marcha el tiempo de exposición de la imagen. Si el tamaño del sensor lo admite, es aconsejable utilizar un adaptador

25

(26) de cámara con factor de aumento 1x, que no contiene lentes.
- 30

iv. Incorporación de una rueda de filtros (25) motorizada para seleccionar las bandas espectrales en las que se adquieren las imágenes. En esta rueda irán montados una serie de filtros de paso de banda (normalmente, filtros de interferencia (23) con un ancho de banda de 10 a 40 nm) distribuidos por las bandas de interés. La rueda de filtros puede ir montada entre el iluminador y el microscopio, para convertir la iluminación en monocromática, o entre el microscopio y la cámara, para hacer que la cámara se

comporte como si fuera monocromática. El resultado final en ambos casos es muy parecido (salvo que la muestra tenga fluorescencia), pero la primera opción es a priori más conveniente, por la disponibilidad de espacio y por mejorar la robustez del sistema.

Otras modificaciones que podrían ser necesarias, dependiendo de la banda de interés seleccionada y del modo de observación elegido, son:

- v. Retirada de filtros polarizadores existentes (19) en el camino óptico del microscopio (p.ej. el polarizador normalmente situado a la entrada del módulo reflector, o el analizador), en caso de que sea preciso realizar la observación con luz no polarizada.
 - vi. Sustitución de los objetivos estándar (18) por objetivos especiales (28) que tengan un mejor comportamiento en el ultravioleta y/o en el infrarrojo cercano (p.ej. objetivos de reflexión). Esto sólo resulta necesario en el caso de que haya que trabajar en el UV por debajo de 350-370 nm o en el NIR por encima de 1000-1200 nm.
 - vii. Sustitución de las lentes internas del microscopio (p.ej. la lente del tubo óptico y las lentes del sistema de luz incidente) por otras de materiales que presenten mayor transmitancia en el ultravioleta (p.ej. fluorita, sílice, etc). Esto sólo resulta necesario en el caso de que haya que trabajar en el UV por debajo de 350 nm.
- La unidad de control (30) consiste en un equipo informático que controla los diversos elementos del instrumento y que asiste al operador en la aplicación del método avanzado para calibración y operación del sistema objeto de la presente invención. Este método está constituido por diversos procedimientos, cada uno de los cuales ha sido diseñado para proporcionarle alguna ventaja de cara a asegurar la calidad, exactitud, repetibilidad y correcto registro de las imágenes de reflectancia obtenidas. Los procedimientos de corrección deben aplicarse cada vez que se adquieran imágenes de una muestra,

mientras que los procedimientos de calibración deben ejecutarse ocasionalmente y, por supuesto, siempre que se cambie o ajuste algún elemento del microscopio.

Los procedimientos desarrollados permiten realizar, entre otras, las siguientes operaciones:

- i. Determinación del tiempo de exposición óptimo de cada banda. El nivel de señal que proporciona el instrumento varía considerablemente de una banda a otra por diversos factores: el iluminador no emite la misma cantidad de luz en todas las bandas, la transmitancia de los filtros puede ser muy diferente, la sensibilidad de la cámara no es uniforme en toda la banda de interés, etc. Aunque el proceso de calibración compensa estas diferencias, la calidad de la imagen final inevitablemente se resiente cuando la imagen de partida es demasiado oscura, por lo que es recomendable partir de un nivel de señal adecuado en todas las bandas. Una forma de conseguirlo sería empleando una intensidad de iluminación diferente para cada banda, pero esta solución presenta serios inconvenientes: el rango útil de variación de la intensidad de iluminación suele ser limitado, y normalmente deja poco margen para aumentar la intensidad en las bandas oscuras, el proceso de adquisición se ralentizaría porque habría que esperar unos segundos a que el iluminador se estabilizara después de cada cambio, y se comprometería la estabilidad de la iluminación. Afortunadamente, el hecho de que la cámara disponga de interfaz digital permite recurrir a una solución equivalente, aunque mucho menos problemática: fijar un tiempo de exposición diferente para cada banda. Por esta razón se ha desarrollado un procedimiento para establecer el tiempo de exposición óptimo en cada banda mediante un algoritmo de aproximaciones sucesivas que toma imágenes de un patrón de reflectancia conocida. En cada paso, el algoritmo evalúa el

- 5 histograma de la imagen y ajusta el tiempo de exposición intentando que el valor de la moda se aproxime al nivel de gris correspondiente a la reflectancia nominal del patrón para esa banda. Para calcular dicha correspondencia se aplica el factor de conversión deseado para las imágenes finales, que normalmente viene expresado en % de reflectancia por cada nivel de gris. El objetivo final de esta operación es que las imágenes adquiridas por el instrumento aprovechen al máximo el rango dinámico de la cámara sin llegar a sufrir saturación, por lo que debe realizarse
- 10 periódicamente con cada uno de los objetivos utilizados, con el fin de ir compensando el envejecimiento de la lámpara del iluminador.
- 15 ii. Determinación del plano de enfoque óptimo de cada banda. En un microscopio, el enfoque de la imagen no se efectúa mediante la adaptación de lentes u otros elementos del camino óptico, sino mediante el ajuste de la separación entre el objetivo y la muestra, que se controla a través del desplazamiento vertical de la platina (movimiento en el eje Z). La mayoría de los objetivos de
- 20 microscopio están diseñados para su uso por un observador humano, por lo que proporcionan la máxima calidad de imagen en la parte central de la banda visible (entre 450 y 650 nm). Normalmente, esto se logra mediante un diseño acromático, que combina lentes de distintos tipos de vidrio para conseguir que la
- 25 luz azul se enfoque en el mismo plano que la luz roja, y que la luz verde se enfoque en un plano próximo, de forma que las imágenes de los tres colores puedan verse suficientemente nítidas al mismo tiempo (y, por lo tanto, desde una misma posición del eje Z). Lamentablemente, no ocurre lo mismo para
- 30 longitudes de onda inferiores a 450 nm o superiores a 650 nm. En estos casos, la luz se enfoca en planos crecientemente alejados del plano de enfoque rojo-azul, por lo que las imágenes

correspondientes a esas longitudes de onda no se ven nítidas desde dicha posición, y requieren que se reenfoque el microscopio. En consecuencia, durante el uso práctico del instrumento, y dado que no es posible tomar todas las imágenes desde una misma posición del eje Z, resulta preferible enfocar independientemente cada banda de la imagen multiespectral, para conseguir un enfoque óptimo en todas ellas. Afortunadamente, como el proceso de enfoque no produce cambios en el camino óptico del microscopio, las distancias entre los planos de enfoque óptimo de las distintas bandas son fijas para cada objetivo, por lo que, una vez enfocada una banda, las demás pueden enfocarse “a ciegas”, simplemente sumando los correspondientes ajustes a la posición del plano de enfoque de esa banda. Para determinar dichos ajustes se ha desarrollado un procedimiento que enfoca automáticamente una preparación que presente buen contraste en todas las bandas, determinando el valor de la coordenada Z del microscopio en el punto de enfoque óptimo de cada una de ellas. Seguidamente, se calculan las diferencias entre el valor de Z en una de las bandas, que será considerada como banda de referencia para el enfoque, y los valores de Z en el resto de las bandas (ver figura 3), y se guardan en un archivo para su uso ulterior. Esta operación debe realizarse una sola vez con cada uno de los objetivos utilizados.

iii. Calibración de la respuesta del instrumento. La calibración de la respuesta del instrumento es una operación esencial para asegurar la exactitud de las medidas de reflectancia y garantizar la reproducibilidad de los resultados, tanto a lo largo del tiempo como entre distintos laboratorios. El procedimiento desarrollado está basado en la adquisición de imágenes de patrones de reflectancia conocida en cada una de las bandas, con el fin de caracterizar las imperfecciones del instrumento para poder

compensarlas posteriormente mediante el procedimiento descrito en el apartado v. Las principales imperfecciones son la falta de uniformidad en la distribución de la iluminación en el campo visual del instrumento y las “manchas” (variaciones locales en la respuesta del sistema óptico) originadas por motas de polvo o suciedad en filtros, lentes, cámara, etc. Para evitar que los defectos superficiales y las partículas de suciedad del patrón (prácticamente inevitables en cualquier patrón en uso) puedan falsear la calibración, el procedimiento desarrollado realiza un pequeño barrido en X e Y sobre el patrón y promedia las imágenes de los campos recorridos aplicando un novedoso algoritmo que filtra tanto las zonas excesivamente oscuras como las excesivamente claras para impedir que intervengan en el cálculo. El proceso está diseñado de forma que las imágenes promedio obtenidas tengan una resolución efectiva de 16 bits por píxel. Para calibrar el instrumento adecuadamente es necesario emplear al menos dos patrones, que idealmente deberían tener reflectancias nominales próximas a los límites superior e inferior de la franja de reflectancias en la que se va a trabajar. No obstante, si se dispusiera de patrones adicionales con reflectancias nominales intermedias también sería posible aprovecharlos para afinar aún más la calibración. Frente a la práctica habitual de calibrar un sistema de adquisición usando un solo patrón, o usando un patrón y una imagen de negro (adquirida simplemente impidiendo que llegue luz a la cámara) el uso de dos o más patrones permite caracterizar con mayor precisión el comportamiento real del sistema óptico de un microscopio de luz incidente, en particular en lo relativo a la luz reflejada y dispersada en las lentes del objetivo, que en buena medida es independiente de la reflectancia de la muestra. En resumen, este procedimiento de calibración incorpora varias novedades: la imagen de un patrón se obtiene promediando un cierto número de

- 5 imágenes adquiridas en distintos puntos, se aplica un algoritmo de promediado que filtra los defectos manifiestos del patrón, y se emplea un patrón de baja reflectancia (en lugar de una imagen de negro) además del patrón de alta reflectancia. Esta operación debe realizarse frecuentemente con cada uno de los objetivos utilizados, con el fin de mantener el instrumento perfectamente calibrado a pesar de la evolución de la intensidad y distribución de la luz en el iluminador.
- 10 iv. Calibración geométrica del instrumento. Al analizar el comportamiento real de los objetivos de dos de las principales marcas de microscopios (Leica y Zeiss), se ha comprobado que tanto la posición del centro óptico de la imagen como la escala efectiva de ésta varían con la longitud de onda de la luz (ver
- 15 figuras 4 y 5), lo que hace que las imágenes de las distintas bandas presenten un registro muy imperfecto. Este defecto resulta especialmente problemático en las zonas próximas a los bordes de las fases, donde se pueden producir efectos de aureola que den lugar a identificaciones erróneas, con la consiguiente
- 20 aparición de materiales inexistentes. Por este motivo, se ha desarrollado un novedoso procedimiento de calibración geométrica del instrumento que determina automáticamente las correcciones que hay que aplicar a cada banda para conseguir un registro perfecto. El procedimiento está basado en el uso de un
- 25 blanco (*dot grid target*) que contiene una disposición reticular de puntos de tamaño y separación conocidos, que debe ser colocado, enfocado y centrado en el campo visual del instrumento por el operador del sistema. Una vez hecho esto, el operador arranca el proceso de calibración propiamente dicho, que realiza
- 30 las siguientes operaciones sucesivamente en cada una de las bandas: captura de la imagen del blanco, binarización de la imagen para aislar las zonas que destaquen del fondo (los puntos

de la red y pequeños defectos del blanco), eliminación de las zonas que no cumplan ciertos límites de tamaño y distancia al borde de la imagen (para descartar los puntos situados en el borde y los defectos del blanco), selección de las cuatro zonas más próximas a las esquinas de la imagen, y extracción de las coordenadas de imagen de sus respectivos centros de gravedad (X_{CGi} , Y_{CGi}). A partir de ellas se determinan los parámetros finales de la calibración geométrica, que serán utilizados en el procedimiento de corrección geométrica descrito en el apartado v:

el promedio (X_{GC} , Y_{CG}) de los cuatro centros de gravedad será considerado como el centro de gravedad global de la imagen, que es asimilable al centro óptico, y el promedio de las distancias euclídeas entre los centros de gravedad 1 y 2 y entre los centros de gravedad 3 y 4, junto con el conocimiento de la distancia de separación real entre dichos puntos, permitirán calcular la escala efectiva de la imagen. La figura 6 muestra gráficamente la aplicación de este proceso de calibración geométrica sobre una imagen simulada. Esta operación debe realizarse una sola vez con cada uno de los objetivos, por lo que el momento ideal para llevarla a cabo es durante la instalación del sistema, o tras el montaje de un objetivo nuevo.

Otro problema de tipo geométrico, aunque completamente diferente, es la existencia de un pequeño error de orientación entre los ejes del sensor de la cámara y los ejes de la platina motorizada, prácticamente inevitable debido a que el ajuste de la orientación de la cámara debe hacerse a mano. Aunque el ángulo suele ser inferior a dos grados y no tiene trascendencia en la adquisición de imágenes aisladas, sus consecuencias se hacen patentes al componer un mosaico con imágenes adquiridas en el barrido automático de una preparación, por lo que resulta aconsejable medirlo para poder corregirlo posteriormente. El

- procedimiento de calibración geométrica descrito anteriormente ha sido ampliado para incorporar una segunda etapa de proceso específicamente concebida para medir este ángulo de forma automática. En esta segunda etapa se ordena a la platina (27)
- 5 realizar un desplazamiento en el eje X de una magnitud similar a la distancia entre los puntos de las esquinas, para llevar un punto de un lado al lado contrario de la imagen, tras lo cual se determina su nuevo centro de gravedad sobre la imagen de una sola banda. El ángulo α entre los ejes de la platina (27) y los de la cámara (24)
- 10 puede ser calculado como el arco tangente de los desplazamientos ΔX y ΔY producidos. La figura 7 muestra gráficamente el efecto producido al desplazar el blanco una cierta distancia hacia la derecha respecto a la situación de la figura 6, así como el ángulo α determinado por los desplazamientos ΔX y
- 15 ΔY del centro de gravedad del punto inferior derecho (correspondiente al anterior centro de gravedad 3). Esta operación debe realizarse cada vez que se monte o se altere la posición de la cámara, pero sólo es necesario hacerla con uno de los objetivos.
- 20
- v. Adquisición de una imagen multiespectral. Se ha desarrollado un procedimiento para obtener imágenes multiespectrales de una preparación microscópica en las que los valores de gris de cada
- 25 píxel representan exactamente la reflectancia del correspondiente punto de la muestra en las distintas bandas consideradas. El procedimiento consiste en la adquisición de una imagen multiespectral “en bruto” empleando los tiempos de exposición y ajustes de posición de enfoque determinados previamente mediante los procedimientos descritos en los apartados i y ii,
- 30 seguida de la aplicación sucesiva de dos correcciones: una corrección de la respuesta del instrumento, basada en las imágenes de los patrones de reflectancia adquiridas según el

procedimiento de calibración de la respuesta del instrumento descrito en el apartado iii, y una corrección geométrica, basada en los parámetros determinados en el procedimiento de calibración geométrica del instrumento descrito en el apartado iv.

5

La adquisición de la imagen multiespectral “en bruto” se lleva a cabo mediante un proceso en el que se van obteniendo sucesivamente imágenes de 16 bits por píxel de cada una de las bandas consideradas, tras fijar el tiempo de exposición de la cámara (24), aplicar el ajuste de posición de enfoque y seleccionar el filtro de la rueda (25) que corresponden a cada una de ellas. Dado que la cámara (24) ya proporciona imágenes de 12 bits por píxel, para conseguir imágenes de 16 bits por píxel se puede optar por acumular 16 cuadros consecutivos de la cámara o por desplazar el acumulador 4 bits a la izquierda, en función de las necesidades de velocidad del sistema y precisión del resultado. También puede optarse por una solución intermedia, como acumular 4 cuadros y desplazar el acumulador 2 bits a la izquierda.

20

A continuación, se efectúa la corrección de la respuesta del instrumento, en la que se determina la reflectancia correspondiente a cada uno de los píxeles mediante la interpolación (o incluso extrapolación) de su nivel de gris entre los niveles de gris que presente dicho píxel en las imágenes de dos patrones, según la fórmula siguiente:

25

$$G_i(j,k) = \frac{1}{f_R} \left(R_{Li} + \frac{F_i(j,k) - P_{Li}(j,k)}{P_{Hi}(j,k) - P_{Li}(j,k)} (R_{Hi} - R_{Li}) \right)$$

Donde:

30

$G_i(j,k)$ es el nivel de gris del píxel (j,k) de la banda i de la imagen “corregida” del campo

f_R es el factor de conversión de nivel de gris a reflectancia

$F_i(j, k)$ es el nivel de gris del píxel (j,k) de la banda i de la imagen “en bruto” del campo

$P_{Hi}(j, k)$ es el nivel de gris del píxel (j,k) de la banda i de la imagen del patrón de alta reflectancia

5 $P_{Li}(j, k)$ es el nivel de gris del píxel (j,k) de la banda i de la imagen del patrón de baja reflectancia

R_{Hi} es la reflectancia del patrón de alta reflectancia en la banda i

R_{Li} es la reflectancia del patrón de baja reflectancia en la banda i

10 Para acelerar el cálculo, esta fórmula puede reordenarse de forma que sólo sea necesario realizar dos operaciones de imagen:

$$G_i(j, k) = \frac{F_i(j, k) - N_i(j, k)}{D_i(j, k)}$$

Donde

$$N_i(j, k) = P_{Li}(j, k) - \frac{R_{Li}}{R_{Hi} - R_{Li}} (P_{Hi}(j, k) - P_{Li}(j, k))$$

15 y

$$D_i(j, k) = \frac{f_R}{R_{Hi} - R_{Li}} (P_{Hi}(j, k) - P_{Li}(j, k))$$

son imágenes “constantes” que se calculan con antelación.

De esta forma, la imagen “en bruto” de la muestra se transforma eficientemente en una nueva imagen “corregida” (con la misma resolución de 16 bits por píxel, que puede truncarse posteriormente a 8 en función de las necesidades de precisión) en la que el nivel de gris de cada píxel representa directamente la reflectancia de la muestra (aplicando el factor de conversión deseado), con lo que se neutralizan de forma efectiva la falta de uniformidad de la iluminación del campo microscópico y los posibles defectos del sistema óptico en las distintas bandas espectrales.

20

25

Finalmente se aplica a esta imagen una corrección geométrica derivada de la calibración geométrica del instrumento que se realizó tras la instalación del sistema. Esta corrección consiste

30

básicamente en la aplicación sucesiva de un desplazamiento, un escalado y otro desplazamiento a cada banda de la imagen, de forma que todas ellas pasen a tener el mismo centro que la banda seleccionada como referencia y la escala física prefijada para la imagen final (especificada en micras/píxel). Además, se corrige el error de orientación entre los ejes de la cámara (24) y los ejes de la platina (27) mediante la rotación de la imagen un ángulo igual y de sentido opuesto al medido en la calibración. Todas estas transformaciones pueden ser realizadas en un único paso mediante una operación de proceso de imagen denominada “*warping*”, lo que acelera considerablemente el proceso.

La aplicación de este novedoso procedimiento permite obtener imágenes microscópicas multiespectrales de alta calidad expresadas en unidades de reflectancia absoluta, con un registro perfecto de las distintas bandas, que además presentan una escala geométrica prefijada y cuyos ejes coinciden con los ejes reales de la platina, por lo que resulta muy fácil referenciar puntos y construir mosaicos a partir de ellas. Estas imágenes podrán ser luego utilizadas en otros sistemas para identificar la fase correspondiente a cada píxel, y establecer la composición, distribución, granulometría, etc. de las distintas fases.

Es importante recalcar que el procedimiento descrito arriba puede ser aplicado para la adquisición de imágenes multiespectrales de transmitancia absoluta mediante un microscopio óptico de luz transmitida modificado de una forma similar. Tan sólo es necesario reemplazar las referencias a reflectancia por transmitancia. Por ejemplo, para calibrar la respuesta del instrumento se emplearían patrones de transmitancia, en lugar de patrones de reflectancia, pero por lo demás el procedimiento seguido sería el mismo.

Las imágenes obtenidas pueden ser también convertidas a coordenadas de color, con el fin de reproducir el color real de cada fase observada al microscopio para aplicaciones de documentación fotomicrográfica, evitando las desviaciones ligadas a la subjetividad o limitaciones visuales del observador o a variaciones instrumentales introducidas por las cámaras en color convencionales. Por ejemplo, promediando las bandas de 400 y 450 nm para obtener la banda azul, las bandas de 500 y 550 nm para obtener la banda verde, y las bandas de 600 y 650 nm para obtener la banda roja se consiguen imágenes RGB con un color muy natural.

EJEMPLO

A continuación se describe con un ejemplo, una realización preferida del sistema consistente en un prototipo específicamente preparado para la adquisición y proceso de imágenes multispectrales VNIR de minerales metálicos. Se ha decidido utilizar 13 filtros de interferencia (23) con un ancho de banda de 40 nm, centrados cada 50 nm entre 400 y 1000 nm. De esta forma se cubre la totalidad de la banda visible, y toda la parte del infrarrojo próximo a la cual son sensibles las cámaras con sensor CCD de silicio, que suelen llegar hasta los 1050-1100 nm.

El sistema de acuerdo con esta realización particular está integrado por:

- El instrumento consiste en un microscopio de luz reflejada comercial (modelo Leica DM6000M, con objetivos PL FLUOTAR de 2.5x, 5x, 10x y 20x e iluminador estándar con lámpara halógena de 100W), al que se le han realizado las siguientes modificaciones:
 - i. Sustitución del filtro “*hot mirror*” del iluminador por un filtro “*hybrid hot mirror*” especial, que permite el paso de luz con longitudes de onda inferiores a 1200 nm.

- 5

10

15

20

25

30

- ii. Retirada de todos los filtros polarizadores (19) existentes en el camino óptico del microscopio, para trabajar con luz no polarizada.
 - iii. Incorporación de un adaptador para cámaras (26) con montura de rosca C con factor de aumento 1x.
 - iv. Incorporación de una cámara de vídeo (24) Basler scA1400-17fm, con sensor CCD de 2/3" de 1392(H)x1040(V) píxeles, interfaz digital IEEE 1394, y montura de rosca C.
 - v. Incorporación de una rueda de filtros (25) DTA RPF Max-16, montada entre el iluminador y el microscopio, controlada por el ordenador a través de un puerto serie RS232. En dicha rueda se han montado 13 filtros de interferencia Melles Griot de Ø 25 mm, con longitudes de onda nominales de 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 y 1000 nm, paso de banda (FWHM) de 40 nm y transmitancia mínima del 50%. Además, en la primera posición de la rueda se ha colocado una combinación pancromática, compuesta por un filtro KG-3 y un filtro de densidad neutra, que permite al operador observar la muestra a través de los oculares (17) sin deslumbrarse.
 - vi. Incorporación de una sección de tubo para separar el iluminador de la rueda de filtros (25), con la que interfería por limitaciones de espacio.
- 25

- Ciertos elementos auxiliares de importancia decisiva para el correcto funcionamiento del sistema:
 - i. Patrones de reflectancia. Se ha adquirido dos patrones de reflectancia especular de la casa Ocean Optics, uno de alta reflectancia (referencia STAN-SSH, fabricado en sílice fundida con recubrimiento de aluminio, con $R \approx 89\%$) y otro de baja reflectancia (referencia STAN-SSL, fabricado en vidrio negro, con $R \approx 4,5\%$). Ambos venían con sus correspondientes hojas de

calibración, lo que ha permitido calcular con exactitud su reflectancia promedio en cada una de las bandas.

- 5 ii. Patrón geométrico. Se ha adquirido un divisor de haz 50/50 del tipo “*polka-dot*” (referencia NT46-461 de la casa Edmund Optics) que por sus características constructivas (placa transparente sobre la que se ha depositado una matriz bidimensional de pequeños cuadrados reflectantes de 106 μm de lado con un espaciado entre centros de 150 μm) resulta adecuado para realizar la calibración geométrica del sistema con objetivos de 5x a 20x.

- 15 • La unidad de control y proceso (30) consiste en un ordenador Dell Precision T3400 al que están conectados los diversos elementos del instrumento y que ejecuta una aplicación de software especialmente desarrollada para operar el sistema de acuerdo con los procedimientos descritos anteriormente. El ordenador dispone de una gran pantalla de 24 pulgadas que permite visualizar a tamaño real las imágenes adquiridas por el sistema. Los procedimientos implantados realizan, entre otras, las siguientes operaciones:

- 20 i. Determinación del tiempo de exposición óptimo de cada banda. Los tiempos de exposición del sistema varían típicamente entre los 0,84 ms de la banda centrada en 650 nm y los 44 ms de la banda centrada en 400 nm o los 62 ms de la banda centrada en 1000 nm.

- 25 ii. Determinación del plano de enfoque óptimo de cada banda. Las posiciones relativas de los puntos de enfoque óptimo de las distintas bandas han sido establecidas para cada objetivo. Se ha tomado como banda de referencia la centrada en 550 nm. Por ejemplo, para el objetivo de 20x, los ajustes varían desde -5.68

μm para la banda centrada en 400 nm hasta $-17.84 \mu\text{m}$ para la banda centrada en 1000 nm.

- 5 iii. Calibración reflectométrica del instrumento. La calibración reflectométrica del sistema se realiza con dos patrones: un patrón STAN-SSH de aluminio con una reflectancia nominal en torno al 89%, y un patrón STAN-SSL de vidrio negro con una reflectancia nominal en torno al 4,5%.
- 10 iv. Calibración geométrica del instrumento. El sistema se calibra utilizando como blanco de puntos un divisor de haz tipo “polka-dot”, que por sus características constructivas (matriz bidimensional de pequeños cuadrados reflectantes de $106 \mu\text{m}$ de lado con un espaciado entre centros de $150 \mu\text{m}$) resulta muy

15 adecuado para realizar la calibración geométrica del sistema con objetivos de hasta 20x.
- 20 v. Adquisición de una imagen multiespectral. Puesto que al procesar minerales metálicos es posible que aparezcan metales nativos, que tienen reflectancias muy altas, se ha decidido que las imágenes multiespectrales deben cubrir la totalidad del rango de reflectancia, es decir, del 0% al 100% de reflectancia. También se ha decidido que, para reducir las necesidades de espacio en disco, resulta preferible guardar las imágenes multiespectrales

25 finales en archivos individuales (uno por cada banda) truncadas a una resolución de 8 bits por píxel. Como resultado de estas decisiones, se ha fijado un valor de 0,4 (% de reflectancia por cada nivel de gris) para el factor de conversión que relaciona los niveles de gris de las imágenes finales con la reflectancia del

30 punto de la preparación. Es decir, el píxel correspondiente a un punto de la preparación que tuviera una reflectancia del 100% tendría un nivel de gris de 250. Dado que las imágenes finales

van a tener sólo 8 bits por píxel, se ha considerado que no merece la pena promediar varios cuadros al adquirir las imágenes “en bruto”, por lo que el número de imágenes acumuladas ha sido establecido en 1 en lugar de 16, lo que acelera sensiblemente el proceso de captura.

5

- vi. Barrido automático de una preparación. Se ha desarrollado un procedimiento para adquirir automáticamente una serie de imágenes multiespectrales de una preparación, mediante el barrido de una zona rectangular con un factor de cobertura dado. La zona que se desea barrer es seleccionada por un operario mediante la indicación de dos vértices opuestos. A continuación se realiza el enfoque (manualmente, por el operario, o de forma automática, por el sistema) de unos pocos campos distribuidos por la zona, a partir de los cuales se determina un plano de regresión del enfoque que será utilizado para interpolar la coordenada Z de enfoque (o de predicción de enfoque) para la adquisición de cada campo. Una vez hecho esto, la unidad de control y proceso (30) comienza a ejecutar una secuencia automática de adquisición de imágenes que efectúa un barrido de la zona seleccionada de la preparación con el factor de cobertura especificado, enfocando automáticamente (o no) cada campo y adquiriendo una imagen multiespectral de reflectancia en cada uno.

10

15

20

25

REIVINDICACIONES

- 1.- Método para obtener imágenes de reflectancia absoluta con registro optimizado entre bandas mediante un microscopio óptico de reflexión modificado (20) para la adquisición de imágenes multiespectrales caracterizado por que comprende los siguientes pasos:
- determinar el tiempo de exposición necesario para cada banda de interés del espectro adquiriendo imágenes de un patrón de reflectancia, de forma que el nivel de gris promedio de la imagen obtenida corresponde con la reflectancia del patrón en dicha banda según un factor de proporcionalidad prefijado,
 - determinar el ajuste de la distancia de enfoque entre cada banda y una banda seleccionada como banda de referencia,
 - calibrar la respuesta del microscopio (20) frente a la falta de uniformidad en la distribución de la iluminación mediante el uso de patrones de alta y baja reflectancia,
 - calibrar geométricamente el microscopio (20), caracterizando la aberración cromática del microscopio y determinando el ángulo de rotación de la cámara (24) instalada en el microscopio respecto de la platina (27),
 - adquirir al menos una imagen multiespectral de una preparación microscópica (29), empleando para cada banda el tiempo de exposición y el ajuste de la distancia determinados anteriormente,
 - corregir el nivel de gris de la imagen de cada banda mediante el cálculo de la reflectancia absoluta correspondiente a cada pixel,
 - corregir geométricamente la imagen de cada banda para compensar la rotación de la cámara (24) y la aberración cromática del microscopio (20) entre imágenes sucesivas y entre bandas.

2.- Método según la reivindicación 1, donde la determinación del tiempo de exposición de cada banda se realiza ajustando un valor inicial dentro de unos límites mediante aproximaciones sucesivas.

5 3.- Método según la reivindicación 2, donde la distancia de enfoque de cada banda se determina realizando un autoenfoco o un enfoque manual sobre una preparación (29).

10 4.- Método según la reivindicación 3, donde los ajustes de la distancia de enfoque se determinan como la diferencia entre la distancia de enfoque de cada banda y la distancia de enfoque de la banda seleccionada como banda de referencia.

15 5.- Método según la reivindicación 4, donde las distancias de enfoque del resto de las bandas se calculan sumando a la distancia de enfoque de la banda de referencia, los respectivos ajustes de la distancia de enfoque determinados.

20 6.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde se adquieren dos imágenes multiespectrales, una primera imagen de un patrón de alta reflectancia y una segunda imagen multiespectral de un patrón de baja reflectancia.

25 7.- Método según la reivindicación 6, donde los patrones de reflectancia empleados se eligen entre patrones de reflectancia especular y patrones de reflectancia difusa, de acuerdo con las características superficiales del material observado.

30 8.- Método según las reivindicaciones 6 o 7, donde la imagen multiespectral de un patrón se obtiene como el promedio de una pluralidad de imágenes multiespectrales adquiridas en distintos puntos del patrón, para mejorar la relación señal/ruido de la imagen y difuminar el efecto de las variaciones locales del patrón.

- 9.- Método según las reivindicaciones 6, 7 u 8, donde el promedio de las imágenes multiespectrales del patrón se calcula teniendo en cuenta únicamente los píxeles cuyo nivel de gris esté comprendido entre un valor
5 mínimo y un valor máximo, ambos referidos al nivel de gris promedio.
- 10.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el nivel de gris de una imagen multiespectral se corrige mediante la determinación de la reflectancia correspondiente a cada uno de los píxeles en cada una de las
10 bandas de la imagen.
- 11.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la reflectancia de cada píxel en cada banda de una imagen multiespectral se determina mediante:
- 15 - una interpolación de su nivel de gris entre los niveles de gris que presente dicho píxel en las imágenes de los dos patrones de reflectancia,
- una transformación de la reflectancia obtenida a un nivel de gris aplicando el factor de proporcionalidad prefijado.
- 20 12.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el patrón utilizado contiene una disposición reticular de puntos de alta reflectancia con separación entre centros conocida para caracterizar la aberración cromática.
- 25 13.- Método según la reivindicación 12, donde se seleccionan cuatro puntos próximos a las esquinas de la imagen del patrón de puntos, y se calculan las coordenadas de imagen de sus respectivos centros de gravedad en cada una de las bandas.
- 30 14.- Método según las reivindicaciones 12 o 13, donde se determina el desplazamiento del centro de la imagen de una banda como la diferencia entre las coordenadas del centro de gravedad conjunto de los cuatro puntos en dicha

banda y las coordenadas del centro de gravedad conjunto de los cuatro puntos en la banda seleccionada como banda de referencia.

5 15.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, donde la escala de imagen de una banda se calcula dividiendo la separación nominal, en micrómetros, entre los centros de los puntos elegidos por la distancia promedio, en píxeles, entre sus respectivos centros de gravedad.

10 16.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, donde el ángulo de rotación de la cámara (24) respecto a la platina (27) del microscopio (20) se calcula mediante la determinación del cambio de posición del centro de gravedad de uno de los puntos del patrón al desplazar la platina (27) una cierta distancia.

15 17.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, donde la corrección geométrica de una imagen multiespectral se efectúa mediante una transformación geométrica a cada una de las bandas, combinando traslación, escalado y rotación para corregir el desplazamiento del centro de la imagen y la diferencia de escalas respecto a la banda de referencia, así como la rotación
20 de la cámara (24) respecto a la platina (27).

18.- Método para obtener imágenes de transmitancia absoluta con registro optimizado entre bandas mediante un microscopio óptico de luz transmitida
25 modificado para la adquisición de imágenes multiespectrales caracterizado por que comprende los siguientes pasos:

- determinar el tiempo de exposición necesario para cada banda de interés del espectro adquiriendo imágenes de un patrón de transmitancia, de forma que el nivel de gris promedio de la imagen obtenida corresponde con la transmitancia
30 del patrón en dicha banda según un factor de proporcionalidad prefijado,

- determinar el ajuste de la distancia de enfoque entre cada banda y una banda seleccionada como banda de referencia,
- calibrar la respuesta del microscopio frente a la falta de uniformidad en la distribución de la iluminación mediante el uso de patrones de alta y baja transmitancia,
- calibrar geométricamente el microscopio, caracterizando la aberración cromática del microscopio y determinando el ángulo de rotación de la cámara instalada en el microscopio respecto de la platina,
- adquirir al menos una imagen multiespectral de una preparación microscópica, empleando para cada banda el tiempo de exposición y el ajuste de la distancia determinados anteriormente,
- corregir el nivel de gris de la imagen de cada banda mediante el cálculo de la transmitancia absoluta correspondiente a cada pixel,
- corregir geométricamente la imagen de cada banda para compensar la rotación de la cámara y la aberración cromática del microscopio entre imágenes sucesivas y entre bandas.

19.- Método según la reivindicación 18, donde la determinación del tiempo de exposición de cada banda se realiza ajustando un valor inicial dentro de unos límites mediante aproximaciones sucesivas.

20.- Método según la reivindicación 19, donde la distancia de enfoque de cada banda se determina realizando un autoenfoque o un enfoque manual sobre una preparación (29).

21.- Método según la reivindicación 20, donde los ajustes de la distancia de enfoque se determinan como la diferencia entre la distancia de enfoque de cada banda y la distancia de enfoque de la banda seleccionada como banda de referencia.

22.- Método según la reivindicación 21, donde las distancias de enfoque del resto de las bandas se calculan sumando a la distancia de enfoque de la banda de referencia, los respectivos ajustes de la distancia de enfoque determinados.

5

23.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 18 a 22, donde se adquieren dos imágenes multiespectrales, una primera imagen de un patrón de alta transmitancia y una segunda imagen multiespectral de un patrón de baja transmitancia.

10

24.- Método según la reivindicación 23, donde la imagen multiespectral de un patrón se obtiene como el promedio de una pluralidad de imágenes multiespectrales adquiridas en distintos puntos del patrón, para mejorar la relación señal/ruido de la imagen y difuminar el efecto de las variaciones locales del patrón.

15

25.- Método según las reivindicaciones 23 ó 24 donde el promedio de las imágenes multiespectrales del patrón se calcula teniendo en cuenta únicamente los píxeles cuyo nivel de gris esté comprendido entre un valor mínimo y un valor máximo, ambos referidos al nivel de gris promedio.

20

26.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 18 a 25, donde el nivel de gris de una imagen multiespectral se corrige mediante la determinación de la transmitancia correspondiente a cada uno de los píxeles en cada una de las bandas de la imagen.

25

27.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 18 a 26 donde la transmitancia de cada píxel en cada banda de una imagen multiespectral se determina mediante:

- una interpolación de su nivel de gris entre los niveles de gris que presente dicho píxel en las imágenes de los dos patrones de transmitancia,
- una transformación de la transmitancia obtenida a un nivel de gris aplicando el factor de proporcionalidad prefijado.

5

28.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 18 a 27, donde el patrón utilizado contiene una disposición reticular de puntos de baja transmitancia con separación entre centros conocida para caracterizar la aberración cromática.

10

29.- Método según la reivindicación 28, donde se seleccionan cuatro puntos próximos a las esquinas de la imagen del patrón de puntos, y se calculan las coordenadas de imagen de sus respectivos centros de gravedad en cada una de las bandas.

15

30.- Método según las reivindicaciones 28 ó 29, donde se determina el desplazamiento del centro de la imagen de una banda como la diferencia entre las coordenadas del centro de gravedad conjunto de los cuatro puntos en dicha banda y las coordenadas del centro de gravedad conjunto de los cuatro puntos en la banda seleccionada como banda de referencia.

20

31.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones 28 a 30, donde la escala de imagen de una banda se calcula dividiendo la separación nominal, en micrómetros, entre los centros de los puntos elegidos por la distancia promedio, en píxeles, entre sus respectivos centros de gravedad.

25

32.- Método según una cualquiera de las reivindicaciones 28 a 31, donde el ángulo de rotación de la cámara (24) respecto a la platina (27) del microscopio se calcula mediante la determinación del cambio de posición del centro de

gravedad de uno de los puntos del patrón al desplazar la platina (27) una cierta distancia.

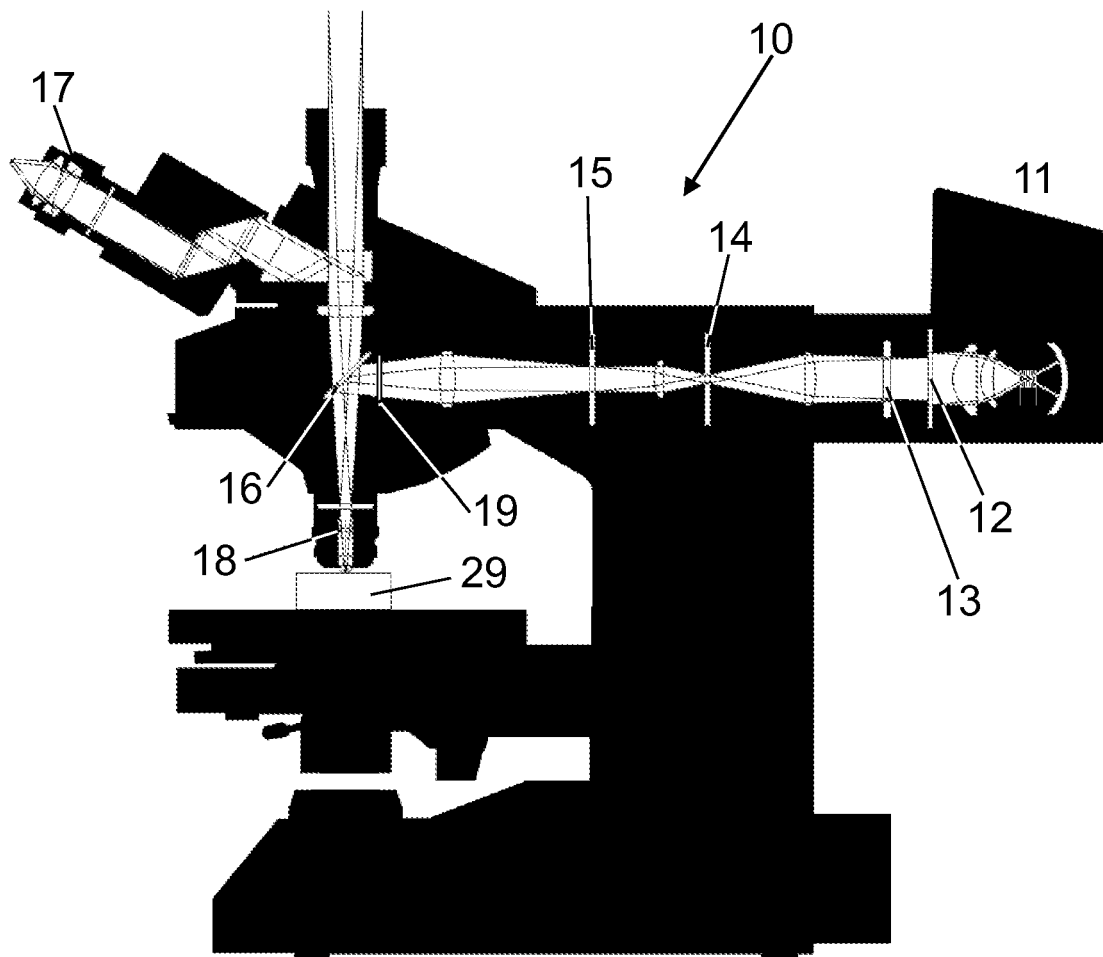


FIG. 1

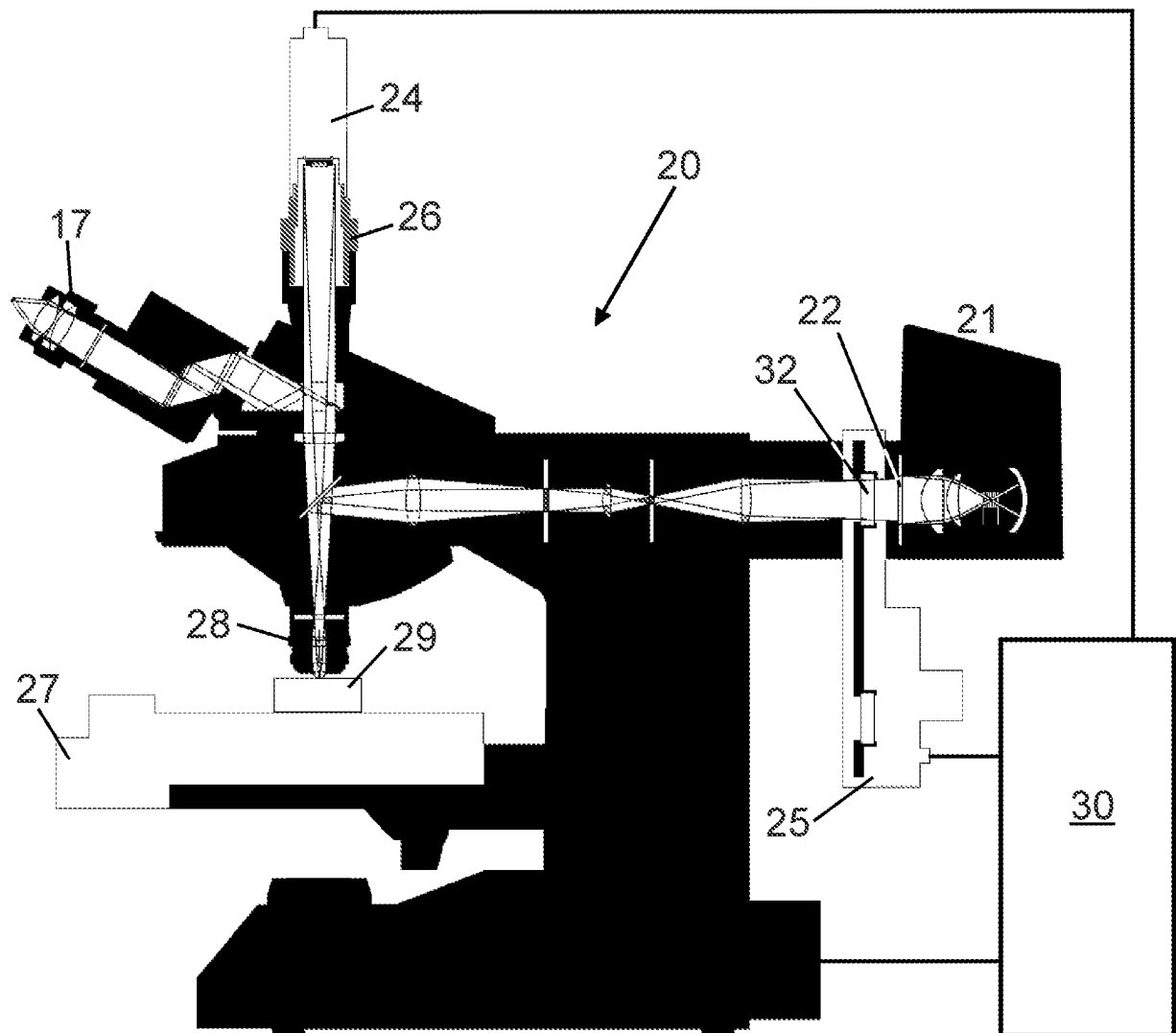
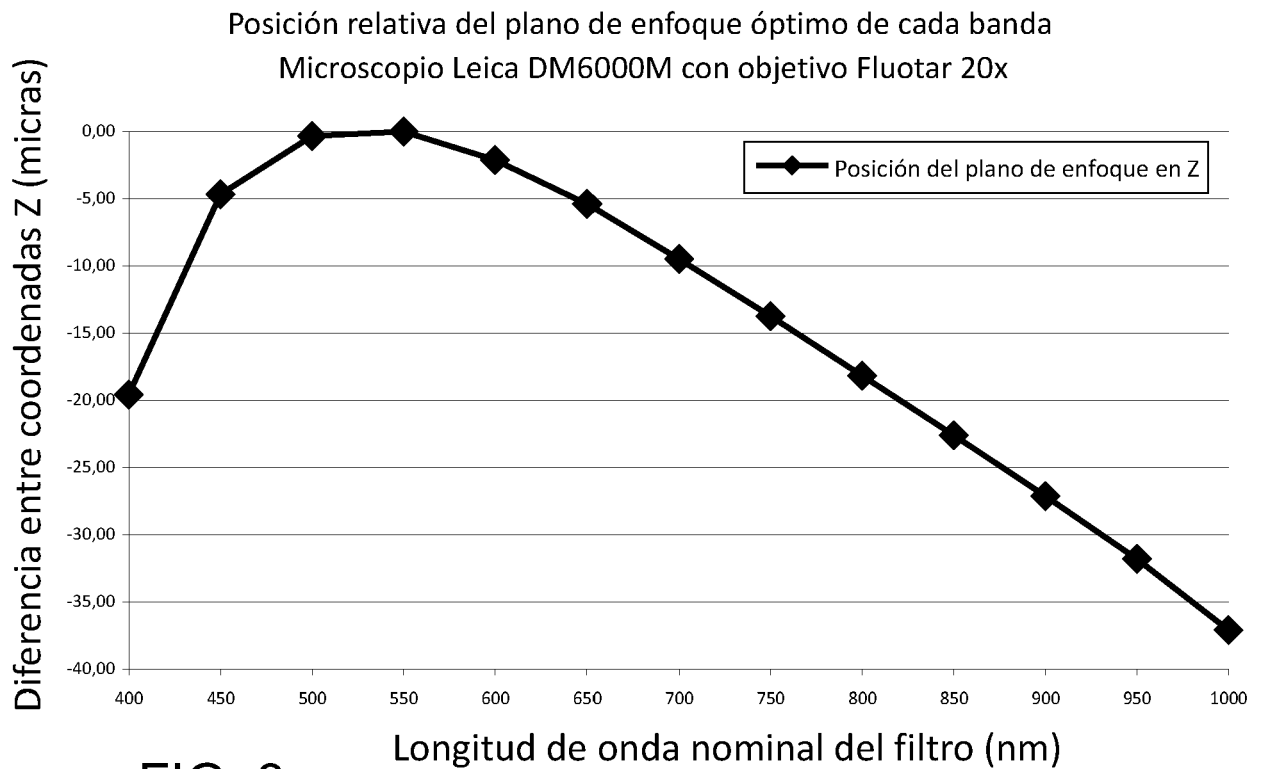
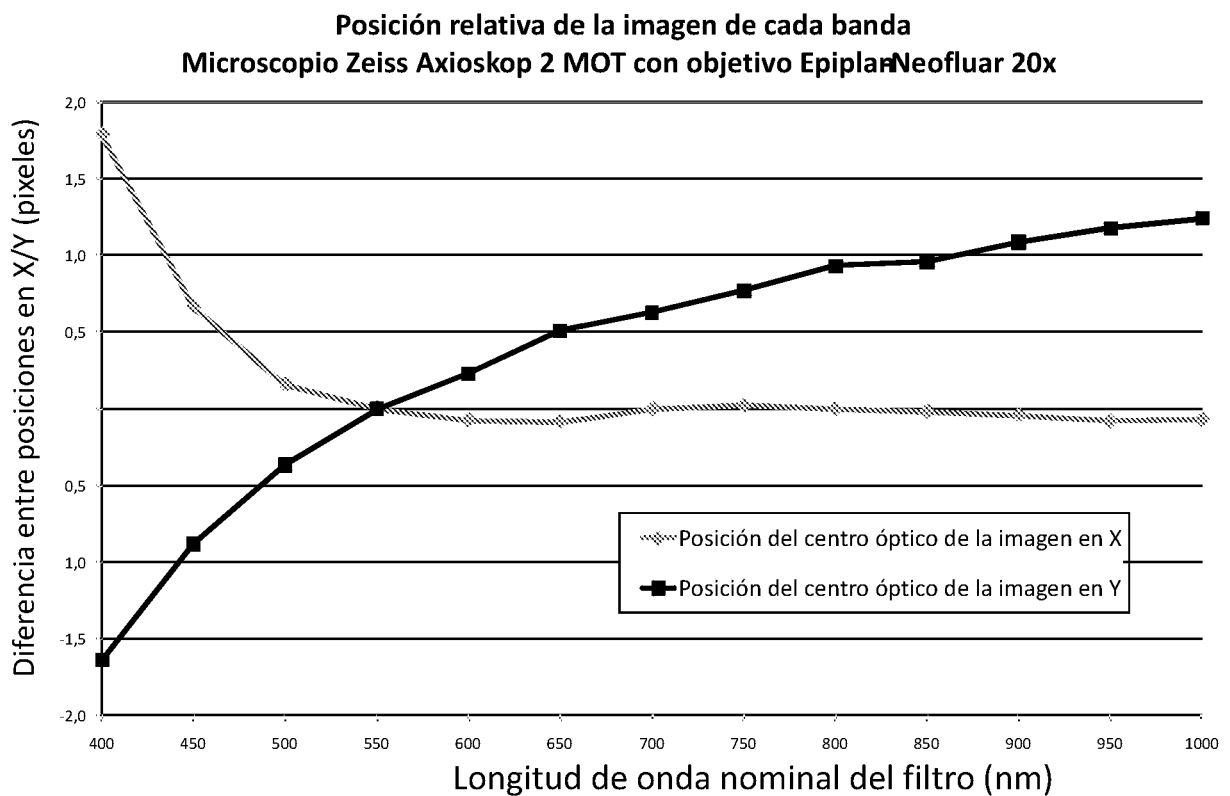


FIG. 2

**FIG. 3****FIG. 4**

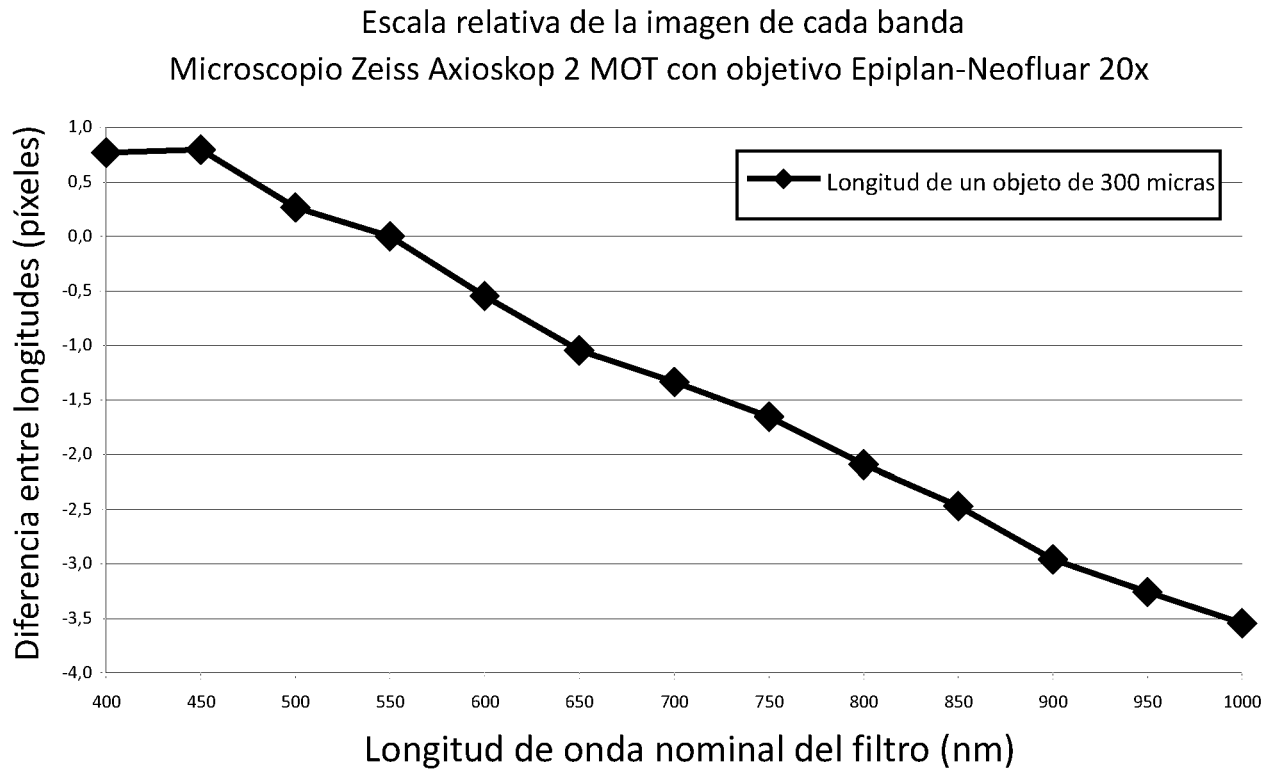


FIG. 5

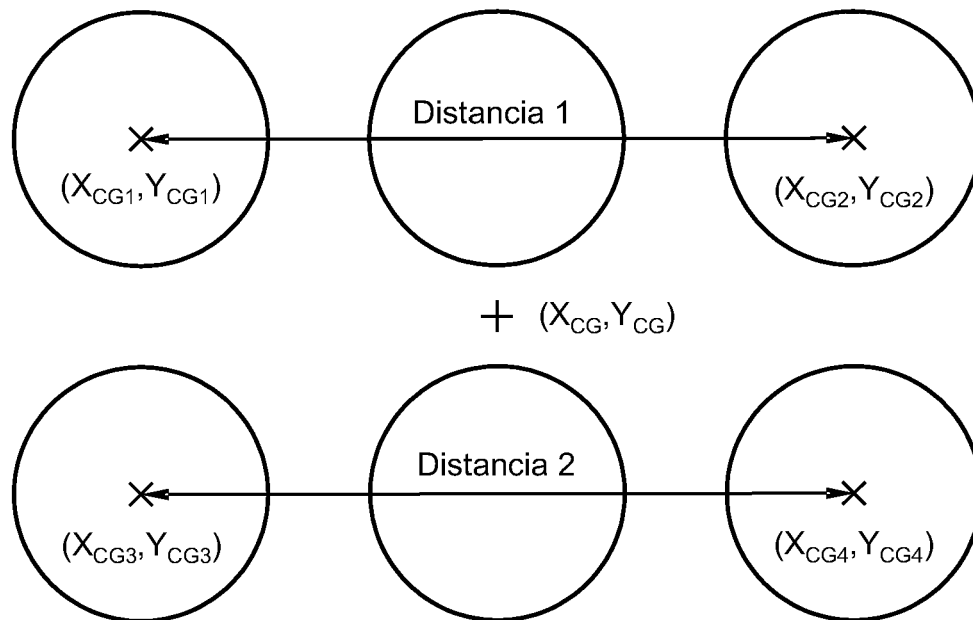


FIG. 6

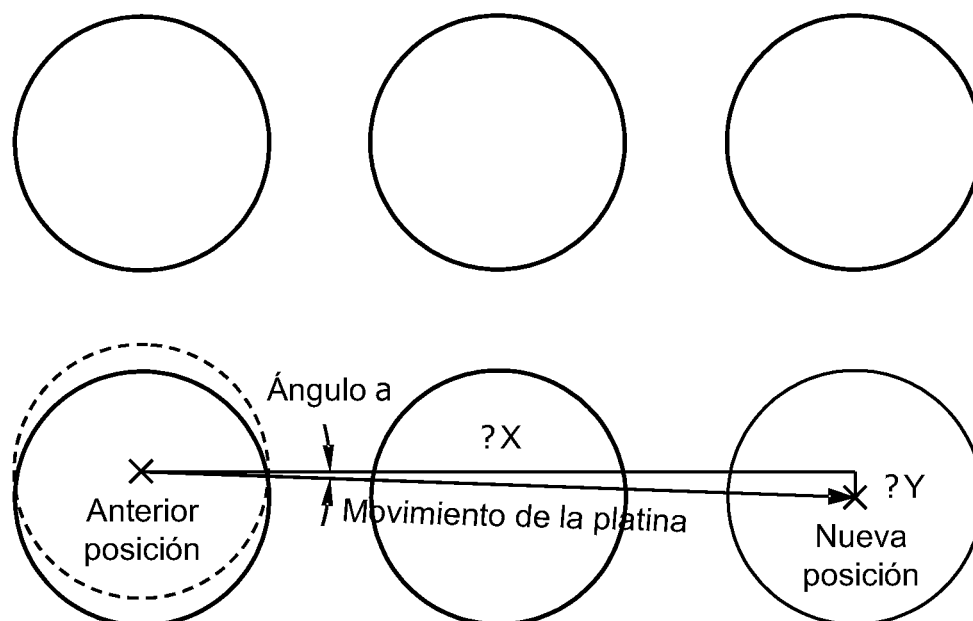


FIG. 7



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201130499

②② Fecha de presentación de la solicitud: 31.03.2011

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	PIRARD, E.: "Multispectral imaging of ore minerals in optical microscopy". Mineralogical Magazine, abril de 2004, Vol. 68(2), páginas 323-333.	1,7,19,25
A		2-6,8-16,20-24, 26-33
A	CATALINA, J. C. et al.: "Aplicación del análisis multi-espectral para el reconocimiento automatizado de menas metálicas". GEOGACETA, 46, 2009, páginas 47-50, ISSN 0213683X.	1,7,19,25
A	PIRARD, E. et al.: "From Spectrophotometry to Multispectral Imaging of Ore Minerals in Visible and Near Infrared (VNIR) Microscopy". En : 9th International Congress for Applied Mineralogy (ICAM), Brisbane, Australia, 2008, páginas 1-6.	1-12,19-29
A	BREA, C. et al.: "Identificación automatizada de minerales de mena con microscopio de reflexión: uso de imágenes multiespectrales". Revista de la Sociedad Española de Mineralogía, septiembre de 2009, Macla nº 11, páginas 41-42.	1-6,19-24
A	CASTROVIEJO, R. et al.: "Caracterización y cuantificación automatizadas de menas metálicas mediante visión artificial: Proyecto CAMEVA". En: XIII Congreso Latinoamericano de Geología - XIV Congreso Peruano de Geología, Lima, Perú, 2008, páginas 1-6.	
A	EP 0631105 A2 (DAINIPPON SCREEN MFG. CO., LTD.) 28.12.1994	
A	WO 0075636 A1 (KAIIROS SCIENTIFIC, INC.) 14.12.2000	

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
21.10.2011

Examinador
Ó. González Peñalba

Página
1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

G01N21/57 (2006.01)**G01B9/04** (2006.01)**G02B21/00** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N, G01B, G02B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, INSPEC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 21.10.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-34	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 2-6, 8-18, 20-24, 26-34	SI
	Reivindicaciones 1, 7, 19, 25	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

Consideraciones:

La presente Solicitud se refiere, respectivamente en sus reivindicaciones 1 y 19, a un método para obtener imágenes de reflectancia, o transmitancia, absoluta con registro optimizado entre bandas mediante un microscopio óptico de reflexión, o, respectivamente, de luz transmitida, modificado para la captación de imágenes multiespectrales, que comprende diversas etapas de calibración y corrección para un funcionamiento óptimo, como son:

- determinar un tiempo de exposición para cada banda de interés del espectro,
- determinar una distancia de enfoque para cada banda, referida a la posición de enfoque para una banda de referencia,
- calibrar la respuesta del microscopio frente a la falta de uniformidad en la distribución de la iluminación mediante el uso de patrones de alta y baja reflectancia (o, respectivamente, transmitancia),
- calibrar geométricamente el microscopio determinando su aberración cromática y el ángulo de rotación de una cámara en él instalada con respecto a la platina,
- captar al menos una imagen multiespectral de una preparación empleando para cada banda el tiempo de exposición y el ajuste de la distancia antes determinados,
- corregir el nivel de gris de la imagen de cada banda mediante el cálculo de la reflectancia (o, respectivamente, transmitancia) absoluta correspondiente a cada píxel de la imagen de la cámara, y
- corregir geométricamente la imagen de cada banda para compensar la rotación de la cámara y la aberración cromática del microscopio entre imágenes sucesivas y entre bandas.

Las restantes reivindicaciones, dependientes directa o indirectamente, respectivamente, de las reivindicaciones 1 y 19, concretan o detallan las diversas etapas del método para las alternativas de microscopio de reflexión o transmisión, y las características relevantes de los elementos auxiliares en él empleados (patrones de reflectancia).

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	PIRARD, E.: "Multispectral imaging of ore minerals in optical microscopy". Mineralogical Magazine, abril de 2004, Vol. 68(2), páginas 323-333.	abril de 2004
D02	CATALINA, J. C. et al.: "Aplicación del análisis multi-espectral para el reconocimiento automatizado de menas metálicas". GEOGACETA, 46, 2009, páginas 47-50, ISSN 0213683X.	2009
D03	PIRARD, E. et al.: "From Spectrophotometry to Multispectral Imaging of Ore Minerals in Visible and Near Infrared (VNIR) Microscopy". En : 9th International Congress for Applied Mineralogy (ICAM), Brisbane, Australia, 2008, páginas 1-6.	2008

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

Se considera que la invención definida en las reivindicaciones 1, 7, 19 y 25 de esta Solicitud carece de actividad inventiva por poder deducirse de un modo evidente del estado de la técnica por un experto en la materia. Para llegar a esta conclusión se ha partido, como antecedente considerado más próximo en el estado de la técnica, del documento D01, citado en el IET (Informe sobre el Estado de la Técnica) con la categoría X para dichas reivindicaciones. En él se describe un método de uso de un microscopio de reflexión con similares características técnicas a las descritas para el microscopio de la presente invención, también con el propósito de obtener imágenes multispectrales de reflectancia de especímenes para su comparación e identificación.

Analizando, en primer lugar, la reivindicación 1, puede apreciarse que, al igual que esta, D01 recoge: i) una determinación del tiempo de exposición adecuado para cada banda ("listas indicativas de tiempos de exposición" -final de la primera columna de la página 328), que se utilizará, una vez establecido, en todas las captaciones de imágenes, según la banda; ii) una calibración de la respuesta del microscopio frente a la falta de uniformidad en la distribución de la iluminación, mediante el uso de patrones de reflectancia nula (ausencia de iluminación) y de alta reflectancia (patrón de "reflectancia blanca" -segunda columna de la página 327); iii) una calibración geométrica del microscopio ("desalineación del eje óptico"), caracterizando la aberración cromática (página 328, segunda columna); iv) la captación de al menos una imagen multispectral de una preparación microscópica, empleando para cada banda el tiempo de exposición anteriormente determinado; v) corregir el nivel de gris de la imagen mediante el cálculo de una señal de intensidad de la cámara correspondiente a cada píxel; vi) corregir geométricamente la imagen de cada banda para compensar la aberración cromática en el microscopio entre imágenes sucesivas y entre bandas.

Puede constatar, por tanto, que las diferencias técnicas entre el método de D01 y el de la invención radican:

- 1) En que en D01 no se menciona un ajuste de la distancia de enfoque adecuado para cada banda.
- 2) En que la corrección del nivel de gris en D01 no se realiza, aparentemente, por una interpolación directa de la reflectancia absoluta entre los valores de reflectancia conocidos de dos patrones de alta y baja reflectancia, ponderados por los niveles de gris obtenidos por la cámara para ambos patrones, como en la invención (expresión algébrica de la página 17 de la memoria de Solicitud).
- 3) En que no se menciona en D01 una corrección de la rotación de la platina con respecto a la cámara.

La actividad inventiva de la reivindicación 1 dependerá, por tanto, del grado de relevancia de estas características diferenciales. En el análisis que sigue se verá que tales diferencias, o bien son soluciones evidentes a problemas ya planteados en el estado de la técnica e igualmente resueltos, o bien constituyen equivalentes técnicos para la resolución de un determinado problema, es decir, opciones técnicas alternativas pero estrechamente relacionadas, de manera que un experto de la técnica pasará de una a otra de un modo evidente según las circunstancias concretas.

Así, la primera diferencia, el ajuste de la distancia de enfoque para cada banda, es una necesidad obvia conocida en todos los sistemas ópticos sometidos a aberración cromática, es decir, a variaciones en el camino óptico dependiendo de la longitud de onda de la luz que lo recorre, debidas a la diferente velocidad de la luz según la longitud de onda. Estas variaciones serán, obviamente, más acusadas cuanto mayor sea el intervalo espectral de la luz empleada, requiriendo una adaptación que, como se indica en la propia memoria de la Solicitud, se realiza en los microscopios ajustando la distancia de enfoque (separación entre platina y objetivo). Esto se recoge, por ejemplo, en el documento D03, citado en el IET con la categoría A y perteneciente al mismo campo técnico de obtención de imágenes multispectrales en microscopía metalúrgica, y en el que se utiliza una determinación de la distancia de enfoque que se ha de emplear para cada banda en la obtención de las imágenes (último párrafo de la página 3). Las distancias, además, deberán estar referidas, en todo sistema práctico, a alguna posición física de referencia, por lo que referirlas a la posición de enfoque de una banda concreta, aunque no se menciona ni D01 ni en D03, no es sino un caso particular obvio con respecto a la idea general. La diferencia 1) en conclusión, es una solución evidente a un problema ya conocido e igualmente resuelto en el estado de la técnica, como lo atestigua el mencionado documento D03.

Otro tanto cabe decir de la corrección de la rotación que constituye la diferencia 3): si en el estado de la técnica (documento D01, segunda columna de la página 328) se contempla una corrección geométrica ante traslaciones de las imágenes como consecuencia de la aberración cromática y de las propias imperfecciones geométricas del microscopio, es obvio, partiendo de esto, corregir igualmente las rotaciones de la imagen si también se produjesen, sin más que recurrir, para ello, a los mismos medios de tratamiento digital de imágenes, trabajando con similares instrucciones computacionales.

Y, por último, en cuanto a la diferencia 2), el documento D01 recoge un método de calibración de la falta de uniformidad de la distribución de iluminación que, si bien parece diferente por utilizar magnitudes aparentemente distintas, es en realidad equivalente al de la invención, al menos en su esbozo general de la reivindicación 1, por estar basado en los mismos principios y emplear parámetros de medida y patrones estrechamente relacionados, intercambiables de un modo evidente por un experto de la técnica. Esto se constatará si se cae en la cuenta de que, en la expresión utilizada en D01 (expresión (1) de la página 327) para la corrección del nivel de gris de las imágenes obtenidas en cada píxel, lo que esencialmente se está obteniendo es un valor de reflectancia absoluto, interpolado entre dos patrones, oscuro y blanco, a los que se les ha hecho corresponder, respectivamente, una reflectancia de 0 y 1. De hecho, el cociente calculado en (1) es un número adimensional (como una reflectancia absoluta, también expresable en fracción unitaria o en porcentaje) al que puede añadirse a la izquierda un sumando igual a 0 (reflectancia en ausencia de iluminación, equivalente a un patrón oscuro), y a la derecha un factor $(1 - 0) = 1$ (reflectancia del patrón blanco - reflectancia del patrón oscuro). Se tiene, así, una expresión muy parecida a la utilizada en la invención, con la diferencia, ahora, de que los patrones empleados no son intermedios, sino extremos, y los valores de ponderación no son niveles de gris, sino intensidades. Pero tampoco esto último es una diferencia sustancial si se tiene en cuenta que ambas magnitudes están estrechamente relacionadas: la intensidad de salida de cada píxel de una cámara CCD (el tipo de cámara empleado como ejemplo en el documento D01 y de uso más extendido en la actualidad) guarda una relación de proporcionalidad (o al menos, así se pretende en toda cámara de uso práctico) con el nivel de gris de la imagen reproducida por la cámara. De hecho, ambas magnitudes, intensidad de la cámara y nivel de gris de la imagen reproducida, pueden englobarse en el concepto genérico de "respuesta" de la cámara, en alusión, no a los efectos (intensidad o nivel de gris), sino al fenómeno físico que los produce (conversión de la luz en una señal eléctrica en la cámara). Introduciendo esta estrecha relación de proporcionalidad en la ecuación (1), que se cancela en el numerador y el denominador, se tiene finalmente la misma expresión de la invención. Ambas expresiones son, por tanto, equivalentes, al recoger un mismo fenómeno físico, aunque referido, en una, a patrones "intermedios" y en la otra, a patrones "extremos" (oscuro y blanco), limitándose la diferencia entre ellas al intervalo o separación entre los patrones. No puede considerarse, sin embargo, esta diferencia como inventiva, pues supone una mera traslación o extensión obvia de unos límites de medición, sin que ello produzca resultados sorprendentes o inesperados.

Que ambas opciones son equivalentes lo corroboran también apreciaciones adicionales como el hecho de que ninguna de ellas parece definitivamente ventajosa respecto de la otra. Utilizar un patrón negro o sin iluminación, aunque rechazado por la invención, tiene la inequívoca ventaja frente a esta de reducir a la mitad las imágenes de calibración que se han de tomar de los patrones para cada banda, puesto que la imagen del patrón oscuro será la misma para todas las bandas y, por tanto, solo deberá tomarse una vez.

Pero aunque se considerase no evidente dicha diferencia y, por tanto, inventivo el uso de patrones de calibración intermedios respecto de los patrones extremos empleados en D01, esta posibilidad está ya anticipada en otros documentos del estado de la técnica. Así, el documento D02, citado también en el IET con la categoría A, contempla el uso de patrones de calibración de alta y baja reflectancia en un microscopio de reflexión similar al de la invención (tercera columna de la página 48). El experto de la técnica podría recurrir de forma evidente al uso de estos patrones de reflectancia en D01 para obtener el mismo efecto técnico que en la reivindicación 1, de modo que esta reivindicación carecería, en todo caso, de actividad inventiva con respecto a la combinación de D01 y D02.

Cabe concluir de todo lo dicho que la invención definida en la reivindicación 1 constituye una yuxtaposición de soluciones conocidas en el estado de la técnica o evidentemente deducibles de este a diversos problemas que concurren al utilizar un microscopio de reflexión para la obtención de imágenes multiespectrales en aplicaciones metalúrgicas, ya conocidos y resueltos del mismo modo o de un modo equivalente como lo demuestran los documentos D01, D02 y D03.

Por su parte, la reivindicación 7 no añade contenido técnico respecto a lo ya analizado en esta Opinión Escrita para la primera reivindicación, y como depende de esta, carecerá también de actividad inventiva al igual que ella.

Y, finalmente, respecto a las reivindicaciones 19 y 25, se verán igualmente afectadas en su actividad inventiva al constituir, como el propio Solicitante indica en la memoria de la invención, una extensión evidente de los principios de esta para el caso de un microscopio de transmisión, no de reflexión, considerando entonces la transmitancia y no la reflectancia.