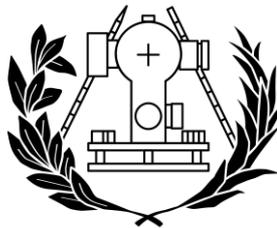




UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Trabajo Final de Grado

OBTENCIÓN DE MODELOS 3D A PARTIR DE IMÁGENES
SEM (SCANNING ELECTRON MICROSCOPY)



ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIERÍA GEODÉSICA
CARTOGRÁFICA Y TOPOGRÁFICA

Grado en Ingeniería en Geomática y Topografía

María Teresa Mínguez Hernández

Tutora: Matilde Balaguer Puig

Valencia, 2017

A mis padres, hermanas y a Paco

También quiero hacer una mención especial a todos aquellos que han hecho posible finalizar este proyecto final de grado:

A mi tutora Matilde Balaguer Puig por toda la ayuda y orientación ofrecida, sin las cuales no podría haber llevado a cabo la finalización de este trabajo.

Al Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental (SCSIE) de la Universitat de València por haberme facilitado la utilización del equipo de Microscopía Electrónica de Barrido Hitachi S-4800, ubicado en la Sección de Microscopía Electrónica.

A Carlos Martínez, profesor del departamento de geología de la Universitat de València, por prestarme muestras fósiles y la licencia del *software PhotoScan*. A Ximo Baixeras, profesor del departamento de Zoología de la Universitat de València, por dejarme ejemplares de escarabajo. Y también a Eva Barreno, catedrática del departamento de Botánica de la Universitat de València, por facilitarme el, tan difícil de conseguir, talo del líquen.

A todos los compañeros que me han apoyado y ayudado. En especial a Sales por estar siempre ahí durante todos estos años. A mi nueva compañera Clara por su ayuda y compañía. A un amor de amiga, Arantxa.

A Marc por facilitarme un PC para poder realizar el TFG, gracias.

A mi familia y amigos que han estado a mi lado en los momentos más difíciles. A mi madre y mi padre que los quiero. A mis dos hermanas dos soles. A Paco, mi compañero. A mi abuelo Manolo, que siempre está presente. A mi chache Ángel que siempre está cuando lo necesito. Y a mi perra Taca que me da tanto cariño y me hace tanta compañía.

RESUMEN

Con la realización del presente trabajo, se pretenden obtener Modelos Digitales 3D (MD-3D) de imágenes de muy alta resolución obtenidas con un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), utilizando la técnica fotogramétrica *Structure from Motion* (SfM) mediante el *software Agisoft-PhotoScan*.

El objetivo es comprobar si este tipo de *software*, que utiliza la técnica SfM, es apto para imágenes obtenidas con equipos SEM y generar Modelos 3D. Esto permitiría poder realizar impresiones 3D diferentes escalas y de esta manera trabajar con muestras muy valiosas, ya sea por lo difícil de conseguir, para no deteriorarlas o porque por su tamaño es compleja su manipulación.

Se realizará el MD-3D a diferentes tipos de muestras, aumentando la complejidad en el relieve de las mismas para así poner a prueba el software y ver si es útil para todo tipo de materiales (caracol, molar, liquen y escarabajo). Las imágenes se adquirirán de toda la superficie de la muestra para que el modelado sea completo.

La decisión de realizar un MD-3D de imágenes SEM es que estas son de alta resolución ya que, al utilizar un haz de electrones, la resolución obtenida en la imagen es mayor. Generando un detalle que no es posible alcanzar con imágenes adquiridas con luz, debido a que la longitud de onda de los electrones es menor que la de la luz.

Palabras clave: Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), Modelo Digital 3D (MD-3D), Tratamiento de imagen digital, Topografía, Fotogrametría, SfM.

RESUMEN	5
----------------	---

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. Introducción	15
1.1. Microscopía Electrónica	16
1.1.1. Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)	18
1.1.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	20
• Partes de un SEM	24
• Preparación de la muestra	25
1.2. Fotogrametría	28
1.2.1. Fotogrametría SfM (Structure from Motion)	29
• Fotogrametría aplicada a Microscopía Electrónica de Barrido	31
2. Objetivos	33
3. Materiales y métodos	35
3.1. Fósil de una concha de caracol (Estróbilos)	37
3.2. Fósil de un molar de un micromamífero	39
3.3. Apotecio de un líquen antártico (<i>Usnea aurantiaco-atra</i>)	40
3.4. Escarabajo <i>Stegobium Paniceum</i>	42
4. Resultados y discusión	45
4.1. Obtención del MD-3D de un fósil de una concha de caracol (Estróbilos)	46
4.2. Obtención del MD-3D de un fósil de un molar de un micromamífero	48
4.3. Obtención del MD-3D del apotecio de un líquen antártico (<i>Usnea aurantiaco-atra</i>)	51
4.4. Obtención del MD-3D del escarabajo <i>Stegobium Paniceum</i>	54
5. Conclusiones	59

6. Bibliografía

61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1.1. Variedad de técnicas en resolución y exploración de Microscopios	16
Figura 1.1.2. Patrón para el calibrado de los equipos SEM y TEM	17
Figura 1.1.1.1. Microscopio Electrónico de Transmisión, TEM, Jeol JEM 1010	19
Figura 1.1.1.2. (a) Fibras de arcilla en polímero; (b) de celulosa con bolas o esferas de plata nanométricas, utilizados en alimentación	19
Figura 1.1.1.3. (a) Oro con cobertura de sílice; (b) bohemia (AlOHH)	19
Figura 1.1.1.4. Imágenes de células animales. Detalle de: (a) golgi; (b) retículo rugoso	20
Figura 1.1.1.5. Inmunohistoquímica en cortes ultrafinos marcados con esferas de oro	20
Figura 1.1.1.6. (a) Imagen cloroplasto de célula vegetal; (b) grano de polen	20
Figura 1.1.2.1. Microscopio Electrónico de Barrido, SEM, Hitachi S-4800	21
Figura 1.1.2.2. Formación de cristales en material cerámico	21
Figura 1.1.2.3. (a) Polen mimosa; (b) Diatomeas obtenidas filtrando agua de mar	21
Figura 1.1.2.4. (a) Imagen de una concha de caracol; (b) ocelo de mosca	22
Figura 1.1.2.5. Esquema de la interacción de los electrones y la materia	22
Figura 1.1.2.6. Imagen de un filamento de emisión de campo de cristal de tungsteno o wolframio	23

Figura 1.1.2.7. Esquema de un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)	25
Figura 1.1.2.8 Imagen de un equipo de secado en punto crítico modelos Autosamdri-814	26
Figura 1.1.2.9. Soporte utilizados en SEM con la muestra sombreada y pegada para ser observada	26
Figura 1.1.2.10. Distintos tipos de portamuestra utilizados en SEM	26
Figura 1.1.2.11. Equipo Polaron Range con deposición de oro/paladio o carbón para SEM	27
Figura 1.1.1.1. Ejemplo de posicionamiento de la cámara en la adquisición de imágenes para la formación de modelos 3D con la técnica SfM	30
Figura 3.1.1. Imágenes SEM de la concha de caracol Estrobilos. (a) cancha apoyada en una superficie; (b) concha sujeta de una zona muy reducida, sin gran apoyo	36
Figura 3.1.2. Concha de caracol Estrobilos	37
Figura 3.1.3. Soporte de sujeción de muestras para la manipulación en el SEM	37
Figura 3.1.4. Imágenes del SEM de algunas posiciones del Estróbilos	38
Figura 3.1.5. Imagen con la pantalla de infrarrojos del interior del SEM con inclinación de la muestra a 30°	38
Figura 3.1.6. Ejemplo de imagen de la pantalla del software del SEM	38
Figura 3.2.1. Fósil de un diente molar de un micromamífero	39
Figura 3.2.2. Fósil de un diente molar de un micromamífero preparado para ser introducido en el SEM	39

Figura 3.2.3. Imágenes del SEM de algunas posiciones del molar	40
Figura 3.3.1. Imagen del Liquen antártico (<i>Usnea aurantiaco-atra</i>) en su hábitat natural	40
Figura 3.3.2 Muestra traída de la Antártida del Liquen antártico (<i>Usnea aurantiaco-atra</i>) y detalle de los apotecios	41
Figura 3.3.3. (a) Imagen de detalle de varios apotecios del Liquen antártico (<i>Usnea aurantiaco-atra</i>); (b) dibujo de un apotecio	41
Figura 3.3.4. Serie de imágenes del liquen <i>Usnea aurantiaco-atra</i> , obtenidas en el SEM	42
Figura 3.4.1. Escarabajo <i>Stegobium Paniceum</i>	42
Figura 3.4.2. Escarabajo <i>Stegobium Paniceum</i> preparado en el soporte para su observación en SEM	43
Figura 3.4.3. Serie de imágenes del escarabajo obtenidas en el SEM	43
Figura 4.1.1. Posición de las cámaras en <i>PhotoScan</i> del <i>Estróbilos</i>	46
Figura 4.1.2. Modelado del caracol <i>Estróbilos</i>	47
Figura 4.1.3. Modelado del caracol <i>Estróbilos</i> en diferentes orientaciones	47
Figura 4.1.4. Resultado del modelado del caracol <i>Estróbilos</i>	48
Figura 4.2.1. Posición de las cámaras en <i>PhotoScan</i> del molar	49
Figura 4.2.2. MD-3D del molar en diferentes orientaciones	49
Figura 4.2.3. Modelado del Molar con la escala	50

Figura 4.3.1. Imagen de la distribución de las cámaras obtenidas con <i>PhotoScan</i>	51
Figura 4.3.2. Serie de imágenes del líquen <i>Usnea aurantiaco-atra</i> , obtenidas en <i>PhotoScan</i>	51
Figura 4.3.3. Serie de imágenes del líquen <i>Usnea aurantiaco-atra</i> , obtenidas en <i>PhotoScan</i> con diferentes posiciones y <i>zoom</i>	53
Figura 4.3.4. Modelado del líquen con la escala	54
Figura 4.4.1. Imagen de la distribución de las cámaras obtenidas con <i>PhotoScan</i>	55
Figura 4.4.2. Modelado del escarabajo observando la malla de color y la triangulación	55
Figura 4.4.3. Modelado 3D del escarabajo en malla de color y malla de triangulación	56
Figura 4.4.5. Detalle del modelado 3D del escarabajo	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 5.1. Características de la adquisición de las imágenes en el SEM	44
Tabla 4.1. Datos generados por el <i>software PhotoScan</i>	58

ANEXOS

• Informe <i>PhotoScan</i> caracol	63
• Informe <i>PhotoScan</i> molar	68
• Informe <i>PhotoScan</i> liquen	73
• Informe <i>PhotoScan</i> escarabajo	78

1. INTRODUCCIÓN

En este trabajo final de grado se pretende conseguir un modelo digital de superficie 3D generado con imágenes obtenidas en un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) tanto a escala micro como nanométrica.

Para la realización del proyecto es necesario tener conocimientos previos de las técnicas de Microscopía Electrónica, así como el funcionamiento y la complejidad de los equipos a la hora de trabajar con muestras que tienen que cumplir unas determinadas condiciones y características para poder ser introducidas y manipuladas en los equipos.

Mediante la utilización de adecuados *software* fotogramétricos SfM y con las imágenes adquiridas en el SEM, a diferentes ángulos y rotaciones, se generan modelos 3D de las muestras.

Esta técnica nos permite poder reconstruir tanto muestras como materiales de un tamaño muy pequeño, como por ejemplo: insectos, semillas, fósiles, plantas, cristales,... con un equipo de alta resolución, que es facilitada por los equipos SEM, ya que la obtención de estas imágenes supera las limitaciones de las adquiridas con luz, ofreciendo una gran profundidad de campo y una alta resolución.

La principal razón por la que se decide realizar el trabajo utilizando imágenes SEM, es porque al dedicarme profesionalmente a las técnicas microscópicas y también haber estudiado el Grado en Ingeniería Geomática y Topografía, pretendo enlazar las dos ciencias; la que utilizan los equipos SEM para estudios científicos con la ciencia de la fotogrametría.

1.1 Microscopía Electrónica

La microscopía es una herramienta de gran utilidad para la visualización y el análisis cualitativo, y cada vez es más aplicado para la medida cuantitativa de medidas 3D, sobre todo en el campo de la nanotecnología, donde los aspectos de metrología dimensionales de medidas son críticos.

Según la escala de medición (figura 1.1.1) en la que nos encontremos podemos utilizar diferentes tipos de microscopios: Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) (figura 1.1.1.1), SEM (figura 1.1.2.1) y microscopio confocal.

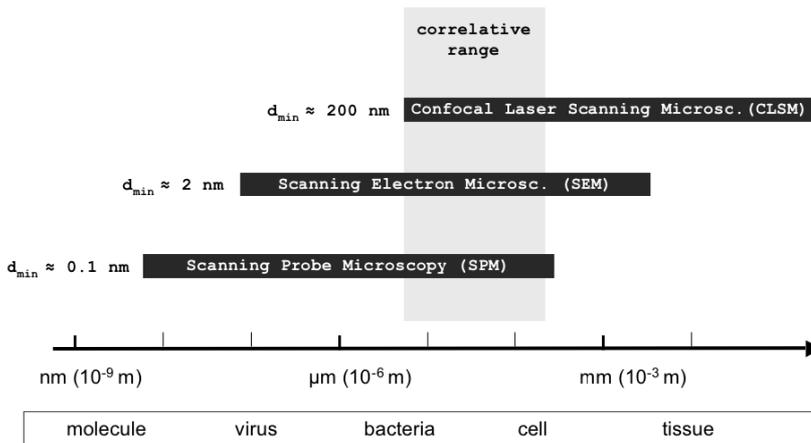


Fig.1.1.1. Variedad de técnicas en resolución y exploración de Microscopios.

La mayor parte de los microscopios requieren ser calibrados por normas de transferencia físicas. La fabricación de tales normas, sumamente exactas para escalas dimensionales, es un desafío y el procedimiento de calibración ha de realizarse con cuidado. El microscopio electrónico de barrido es calibrado con patrones, que tienen unas estructuras de prueba hechas de muy pequeñas partículas (figura 1.1.2). (Williams y Carter C.B. 1996) (Goldstein, 2007).

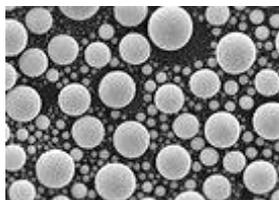


Fig.1.1.2- Patrón para el calibrado del SEM.

El primer microscopio electrónico fue diseñado por Ernst Ruska y Max Knoll entre 1925 y 1930, quienes se basaron en los estudios de Louis-Victor de Broglie acerca de las propiedades ondulatorias de los electrones.

Un microscopio electrónico funciona con un haz de electrones acelerados por un alto voltaje y focalizados por medio de lentes magnéticas. Los electrones son partículas cargadas eléctricamente que en determinadas ocasiones se comportan como una onda. El haz de electrones es generado en un cañón bajo una diferencia de potencial. La longitud de onda (λ) del electrón es inversamente proporcional a la diferencia de potencial aplicada. La trayectoria del electrón se puede modificar en presencia de campos magnéticos y eléctricos, así como focalizarse en un punto.

El poder de resolución del microscopio electrónico es mayor que el del microscopio óptico, tal como se deduce de la fórmula del poder de resolución (E_0) y del límite de resolución (do).

$$do = \frac{1,22*\lambda}{2n*sena} \quad ; \quad E_0 = \frac{1}{do}$$

λ - longitud de onda. n - índice de refracción. α - ángulo de semiapertura.

La λ del electrón es aproximadamente 100.000 veces inferior a la de la luz visible, por esto, el do será pequeño y por tanto el E_0 más grande. Es decir, en el microscopio electrónico la distancia que separa dos puntos, para que se puedan observar como dos puntos separados, es más pequeña que en el microscopio óptico, por eso se puede observar la ultra-estructura. Esta distancia depende del tipo y del avance tecnológico en microscopía.

La amplificación de la imagen, se produce por un conjunto de lentes magnéticas que forman una imagen sobre una placa fotográfica o sobre una pantalla sensible al impacto de los electrones, que transfiere la imagen formada a la pantalla de un ordenador. Las imágenes generadas por microscopios electrónicos son en blanco y negro puesto que no utilizan la luz, pero se le puede aplicar color con programas informáticos.

Estos equipos utilizan electrones en vez de fotones o luz visible para formar imágenes de objetos diminutos, permitiendo alcanzar una capacidad de aumento muy superior a los microscopios convencionales (hasta 1.000.000 aumentos en un TEM a los 500.000 aumentos en un SEM comparados con los 1000 aumentos de los mejores microscopios ópticos (MO) debido a que la longitud de onda de los electrones es mucho menor que la de los fotones. La imagen que se forma es el resultado del paso o interacción de los electrones con la materia. Según el tipo de electrones que usan para formar la imagen, se habla de distintos tipos de microscopios electrónicos que son: TEM y SEM.

1.1. Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM)

Estos microscopios (fig.1.1.1.1) utilizan un haz de electrones que atraviesa la materia, (electrones transmitidos) para ello las muestras utilizadas son secciones ultrafinas, en torno a los 60-90 nm de espesor. El resultado es una imagen en blanco y negro, donde los blancos están formados por los electrones transmitidos, (los que atraviesan la muestra) y los negros son los electrones que no han logrado atravesar la muestra. A continuación, se pueden observar algunos ejemplos de imágenes de diferentes tipos de materiales, figura 1.1.1.2 a la figura 1.1.1.6, obtenidas en el equipo JEOL-1010. (Williams y Carter C.B. 1996)



Fig.1.1.1.1. Microscopio Electrónico de Transmisión Jeol JEM-1010.

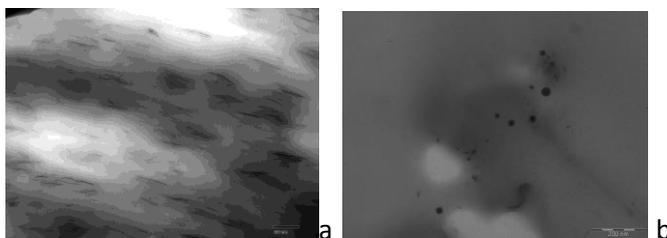


Fig.1.1.1.2. (a) Fibras de arcilla en polímero; (b) de celulosa con bolas o esferas de plata nanométricas, utilizados en alimentación

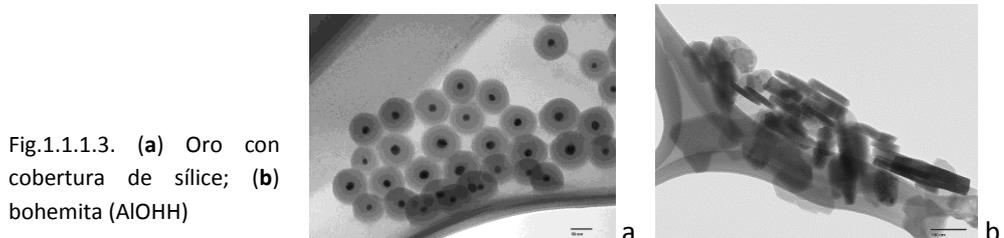


Fig.1.1.1.3. (a) Oro con cobertura de sílice; (b) bohemita (AlO(OH))

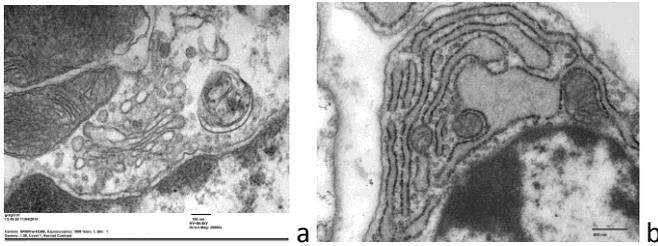


Fig.1.1.1.4. Imágenes de células animales. Detalle de: (a) golgi; (b) retículo rugoso

Fig.1.1.1.5. Inmunohistoquímica en cortes ultrafinos marcado con esferas de oro

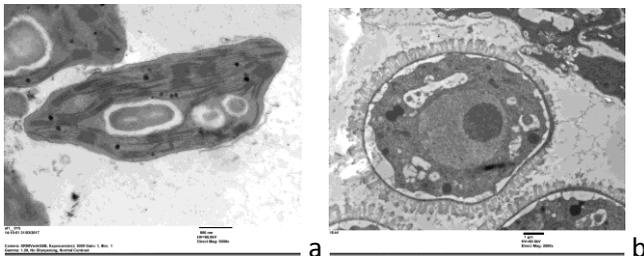
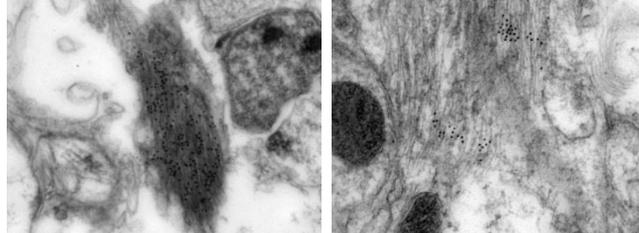


Fig.1.1.1.6. (a) Imagen Cloroplasto de célula vegetal; (b) grano de polen

1.2. Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)

En un SEM (figura 1.1.2.1) la imagen se obtiene a partir de señales producidas por la interacción del haz de los electrones con la superficie de la muestra, utilizando para formar la imagen los electrones secundarios, sin que sea necesario que estos atraviesen la muestra como ocurre en el TEM. El resultado obtenido con diferentes tipos de materiales se puede observar de la figura 1.1.2.2 a la figura 1.1.2.4. (Goldstein, 2007).



Fig.1.1.2.1. Microscopio Electrónico de Barrido Hitachi S-4800.

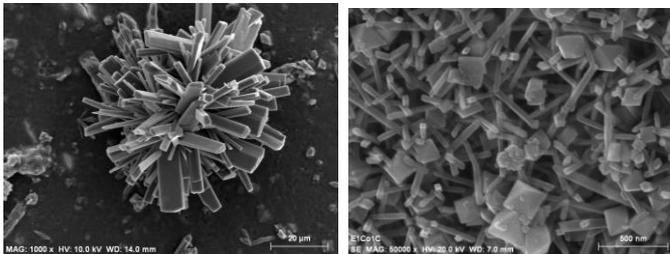
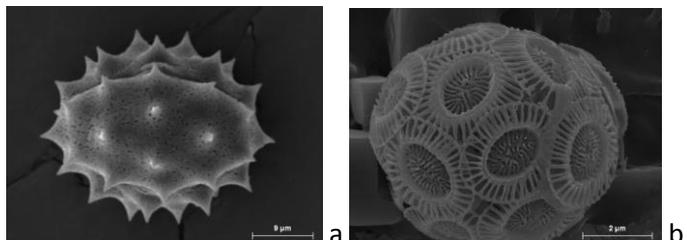


Fig.1.1.2.2. Formación de cristales en material cerámico

Fig.1.1.2.3. (a) Polen mimosa; (b) Diatomeas obtenidas filtrando agua de mar



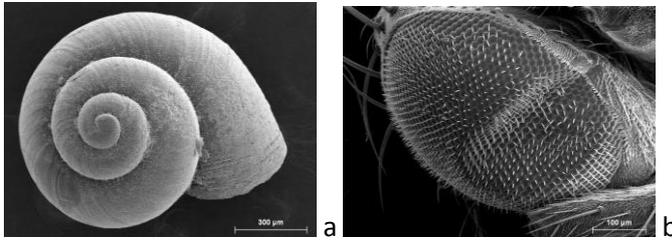


Fig.1.1.2.4. (a) Imagen de una concha de caracol; (b) ocelo de mosca.

Al impactar los electrones con la muestra pueden suceder distintos fenómenos (fig.1.1.2.5):

- Algunos electrones atraviesan la muestra sin apenas cambios en su energía y trayectoria, dando lugar al haz de electrones transmitidos.
- Otros electrones que inciden pueden ser dispersados después de atravesar la muestra, o sin llegar a atravesar la muestra, retrodispersados.
- En algunos casos los electrones dispersados pueden salir muy desviados, al chocar con un núcleo de la muestra, pero sin perder energía, llamados electrones elásticos; o perdiendo energía, electrones inelásticos. Debido al impacto del haz de electrones y de los electrones retro dispersados sobre la muestra, algunos electrones se generan en la superficie de la misma pudiendo escapar y así generar los electrones secundarios.

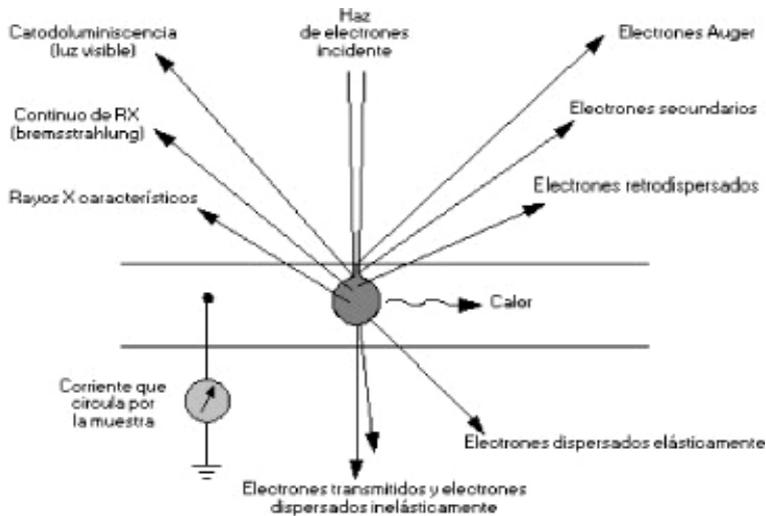


Fig.1.1.2.5. Esquema de la interacción de los electrones y la materia.

Como se observa en la figura 1.1.2.5, la trayectoria de los electrones no debe ser alterada por la interacción del haz de electrones con los átomos o moléculas a no ser que sea de la muestra que queremos observar, por eso se trabaja en alto vacío.

El SEM que se ha utilizado para la adquisición de las imágenes ha sido el modelo Hitachi S-8100 con filamento de emisión de campo (*Field Emission, FE*), con el que se consigue extraer electrones de un sólido por la acción exclusiva de un campo eléctrico potente, sistema que utiliza este microscopio para generar el haz de electrones. (Manual).



Fig.1.1.2.6. Imagen de un filamento de emisión de campo de cristal de tungsteno o wolframio.

El filamento tiene una punta muy fina constituida por un único cristal de wolframio (W) de 1\AA (Armstrong $1 \cdot 10^{-9}\text{m}$) de radio de curvatura (fig.1.1.2.6). Si le aplicamos alta tensión (de 0.5 a 30 Kv), por la acción de dos ánodos en un sistema de ultra vacío (10^{-7}Pa), se obtiene el haz de electrones. Dependiendo de la muestra observada el voltaje se variará.

Con este microscopio podemos conseguir un desplazamiento en el eje "X" de 0-100 mm, en el eje "Y" de 0-50 mm y en el eje "Z" de 5-40mm. También podemos inclinar de 0-30° y rotar de 0-360°.

Por tanto, las características de este equipo son las mejores para obtener unas imágenes con mucha resolución y muy buena calidad, que varía desde 1 hasta 12 megapíxel.

- **Partes que componen un SEM**

Un SEM está compuesto un (fig.1.1.2.7) por:

- Tubo o columna: en su interior hay alto vacío.
- Fuente de electrones o cañón: Filamento de wolframio al que se hace llegar un alto voltaje, que provoca, por calentamiento en el vacío, el haz de electrones (efecto termoiónico). Este filamento se encuentra encastrado en una pieza llamada *Wehnelt*.
- Ánodo (+): Atrae los electrones.
- Lente: Enfoca el haz en un punto de la muestra.
- Deflector: Placas cargadas que atraen o repelen el haz de electrones. Se consigue desplazar el haz de electrones y enfocar en un punto de la muestra, por toda la superficie de la misma (escaneo o barrido de la superficie de la muestra).
- Detectores: detectan los electrones desviados o primarios, electrones emitidos o secundarios, radiaciones emitidas, electrones retrodispersados y electrones transmitidos.
- Sistema de conversión: convierte la información obtenida en el detector a partir de los electrones y las radiaciones emitidas en una imagen, en la que cada píxel de la imagen corresponde con una determinada área según los aumentos que estemos empleando. Suele ser un monitor donde se muestra la señal de escaneo del haz de electrones en un sistema de 2D; por lo tanto, no es posible la presentación directa en un sistema 3D. Sin embargo, mediante la aplicación de procesamientos fotogramétricos a datos SEM, la imagen puede ser reconstruida mostrando la topografía. (Goldstein, 2007).

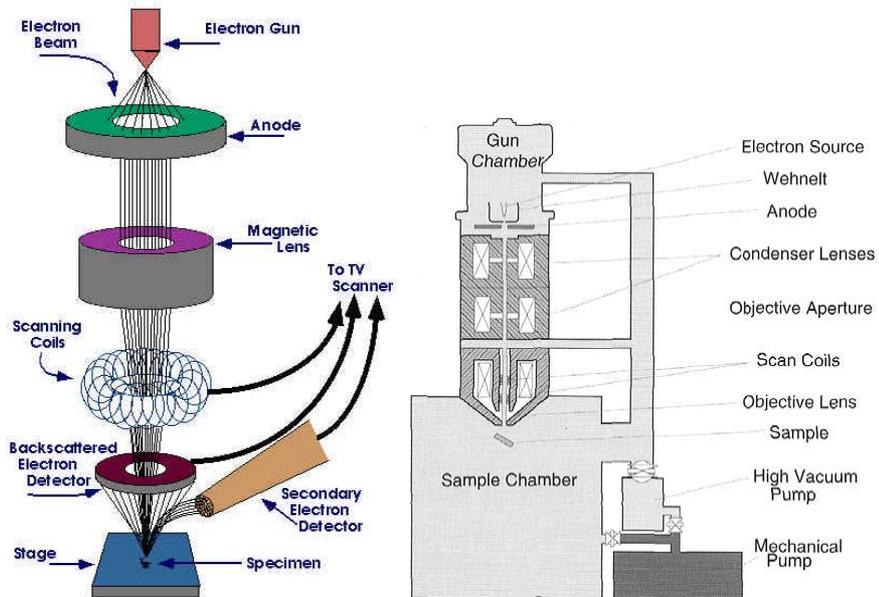


Fig.1.1.2.7. Esquema de un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)

- **Preparación de la muestra**

Los principales requisitos de una muestra para poder ser observada en un SEM son la ausencia de cualquier tipo de líquido, es decir, que la muestra esté completamente seca, y que sea conductora; de no ser así, esta se carga y como consecuencia de esto se presentaría los siguientes efectos:

- Distorsión de la imagen debido al sobre-brillo, deflexión del haz de electrones y astigmatismo.
- Daño térmico de la muestra.

Para eliminar el agua de material biológico y conservar su estructura intacta se realiza un proceso de secado llamado “punto crítico” (figura 3.2.8). En el caso de muestras delicadas, si no se aplica el secado en punto crítico, éstas se pueden deformar o estropear, ya que este proceso conserva la estructura de la superficie

de dicha muestra que, de otro modo, podría dañarse debido a la tensión de la superficie al cambiar de estado líquido a gaseoso. (Mercer y Brideck, 1974).



Fig.1.1.2.8 Imagen de un equipo de secado en punto crítico modelos Autosamdri-814.

Una vez seca la muestra ésta debe adherirse en la orientación correcta con una cinta adhesiva conductora de carbón de doble cara sobre un soporte o porta, como podemos observar en la figura 1.1.2.9, para poder introducirla dentro del equipo. Existen diferentes tipos, tamaños y formas de soportes según las necesidades a la hora de observarla, también puede cambiar el material del que están hechos los portas como puede ser cobre, aluminio, carbón, etc. (fig. 1.1.2.10).

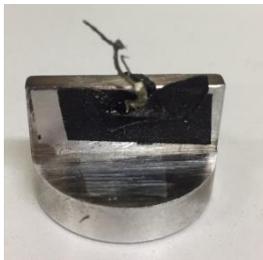


Fig.1.1.2.9. Soporte utilizado en SEM con la muestra sombreada y pegada para ser observada



Fig.1.1.2.10. Distintos tipos de porta muestra utilizados en SEM

Cuando la muestra está bien adherida al soporte y en la orientación correcta se procede al sombreado (figura 1.1.2.11), que consiste en la deposición, mediante evaporación al vacío, de una capa metálica delgada (5-20 nm) sobre las muestras, de materiales como: oro, una mezcla de oro-paladio, carbón o cromo; aunque el más utilizado es la mezcla de oro-paladio. Esta deposición se produce aplicando vacío y con atmosfera de un gas inerte (argón) para la óptima dispersión del metal. Para ello podemos utilizar:



Fig.1.1.2.11. Equipo Polaron Range con deposición de oro/paladio o carbón para SEM

1.2 Fotogrametría

La fotogrametría consiste en obtener información acerca de objetos físicos y su entorno a través de procesos de grabación, medición e interpretación de imágenes fotográficas y patrones de energía electromagnética radiante; permitiendo la reconstrucción de la posición, orientación, forma y tamaño de objetos a partir de imágenes que se podrán producir con fotografía convencional o digital. Los resultados de un análisis fotogramétrico muestran las coordenadas del objeto en un sistema tridimensional, mapas con los detalles planimétricos, curvas de nivel altimétricas, modelos geométricos (digitales), ortofotos o incluso fotomodelos tridimensionales con las texturas extraídas de las fotografías originales. Con este método son necesarias dos fotografías tomadas desde dos puntos de vista diferentes, a partir de la dirección de cada uno de los haces de proyección y de su situación en el espacio con respecto a un cierto sistema de referencia, es capaz de proporcionar las coordenadas de cada uno de los puntos del objeto. (Lerma, 2002).

Se denomina fotogrametría digital a aquella que utiliza imágenes digitales del objeto para su reconstrucción, realizando todo el proceso de visión mediante programas informáticos. La fotogrametría permite la reconstrucción de un objeto y el análisis de sus características sin contacto físico, basándose en el solapamiento entre fotografías tomadas desde diferentes ángulos.

Las técnicas fotogramétricas recogen la energía electromagnética en un soporte (físico o digital) con diversas configuraciones; en función de estas, se recoge información en distintas bandas del espectro electromagnético. La mayoría de los sensores fotogramétricos detectan la luz visible, aunque también se puede utilizar el infrarrojo.

La fotogrametría es una técnica de obtención de la información dimensional de objetos a partir de las medidas sobre imágenes adquiridas con diferentes tecnologías: vídeo, cámaras fotográficas, holografía, SEM, etc. Uno de los principios

fundamentales de la fotogrametría es la triangulación. Así, a partir de fotografías tomadas desde, al menos, dos posiciones diferentes se pueden establecer las líneas que unen puntos del objeto 3D con sus correspondientes puntos homólogos en ambas imágenes. Si se calcula la intersección de estas líneas se determinarán las coordenadas 3D de los puntos de interés del objeto. Este proceso conlleva el paso desde el espacio 3D real al sistema 2D imagen (toma de las fotografías) y, posteriormente, el cálculo analítico que supone la triangulación convierte las imágenes 2D en un modelo 3D ajustado en escala real o arbitraria. (Ball, 2017, Caracuel, J. E. et al. 2002).

1.2.1 Fotogrametría SfM (Structure from Motion)

El método SfM es un método fotogramétrico de bajo coste para la reconstrucción topográfica de alta resolución, adecuado para investigación de bajo coste y aplicaciones en áreas remotas. El algoritmo SfM opera bajo los mismos principios básicos que la fotogrametría estereoscópica, es decir, las estructuras 3D pueden resolverse a partir de series de solapamiento entre imágenes. Sin embargo, la diferencia fundamental con la fotogrametría clásica es que la geometría de la escena, las posiciones de la cámara y la orientación se resuelven automáticamente sin necesidad de especificar una red de puntos con coordenadas tridimensionales conocidas. De este modo, todos los parámetros anteriormente mencionados son resueltos utilizando un procedimiento de ajuste de haces iterativos con un elevado número de redundancias, basado en una base de datos de elementos extraídos automáticamente de un set de múltiples imágenes con solape (Snavely, 2008).

Se obtiene un resultado más adecuado para conjuntos de imágenes con un alto grado de solapamiento que formen la estructura tridimensional completa de la escena observada desde una amplia variedad de posiciones, dando así el nombre a la técnica, ya que las imágenes derivan de un sensor en movimiento (figura 1.2.1.1).

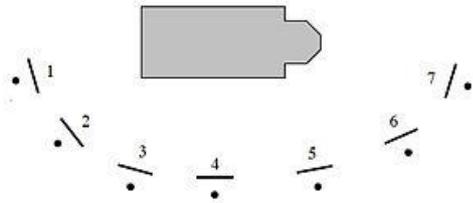


Fig.1.2.1.1. Ejemplo de posicionamiento de la cámara en la adquisición de imágenes para la formación de modelos 3D con la técnica SfM .

La fotogrametría SfM nos muestra la posición de las cámaras y la geometría del objeto, que son reconstruidos simultáneamente a través de la identificación de puntos homólogos de forma automática en múltiples imágenes que posicionan las cámaras y las coordenadas del objeto. Esta técnica identifica características en cada imagen que son invariantes con la escala, la rotación y los cambios en las condiciones de iluminación, de esta forma los puntos de interés se identifican automáticamente, obteniendo una base de datos del conjunto de los mismos, lo que nos ayuda a relacionar unas con otras. Para ello nos será de ayuda la textura del objeto, la resolución de la imagen y la disminución entre la cámara y el objeto (Ball, 2017).

Con la técnica SfM no se obtiene la escala de manera automática, pero sí nos permite utilizar marcadores y barras de escala para referenciar y escalar el modelo 3D reconstruido.

Para este trabajo se ha utilizado el *software* de *Agisoft PhotoScan Professional*, basado en la metodología SfM, que ha sido desarrollado para procesar imágenes digitales mediante técnicas de fotogrametría digital; permitiendo la reconstrucción 3D a partir del conjunto de imágenes de un objeto. En este caso ponemos a prueba el *software* para imágenes no habituales en las técnicas fotogramétricas, como son imágenes adquiridas mediante un SEM y que además son realizadas a partir de objetos de escalas micro y nano-métricas.

- **Fotogrametría aplicada a Microscopía Electrónica de Barrido.**

La reconstrucción 3D de los objetos del mundo real con el SEM se puede lograr de varias formas; por ejemplo, por métodos fotogramétricos utilizando imágenes de electrones secundarios o utilizando la señal de electrones retrodispersados. Ambos métodos son técnicas no destructivas para el análisis y modelado 3D. El SEM ha sido un excelente método para el análisis fotogramétrico desde sus orígenes, ya que ofrece una alta resolución, una gran profundidad de campo y las imágenes pueden ser capturadas en un alto rango de aumentos, en comparación con los microscopios ópticos, aunque hasta ahora no existían *softwares* capaces de analizar este tipo de imágenes. Además, la buena relación señal/ruido hace que la combinación de imágenes SEM y del análisis fotogramétrico sea muy interesante para estudios 3D en campos de las ciencias de los materiales, control de calidad y ciencias de la vida. En SEM la mayoría de las imágenes son generadas y almacenadas como datos digitales; por tanto, el método fotogramétrico es también una buena base para la automatización de la reconstrucción 3D.

Los nuevos avances en técnicas fotogramétrica hacen posible que la reconstrucción 3D a partir de imágenes SEM sea mucho más fácil y rápida, ya que se han creado *softwares* que permiten la orientación casi automática de multitud de fotografías sin necesidad de conocer la distancia de trabajo ni el ángulo con los que fueron adquiridos, aunque esta técnica no está muy extendida en los campos de estudio que utilizan el SEM.

2. OBJETIVO DEL TFG

El objetivo final del presente TFG es la obtención del Título de Graduado en Topografía y Geomática.

El trabajo consiste en la obtención y utilización de imágenes digitales de escala micrométrica o nanométrica, obtenidas con un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) y tratadas con técnicas de Fotogrametría SfM para obtener un modelo digital 3D.

Con este TFG se pretende establecer un método preciso para la toma y procesado de imágenes adquiridas en un SEM, para posteriormente obtener un modelo estereoscópico y poder realizar una modelización 3D. Se comprobará que los *softwares* que utilizan la técnica SfM de fotogrametría se pueden utilizar para este tipo de imágenes, ya que si pudiésemos obtener una réplica exacta de estas muestras, de tamaños tan reducidos, y también se pudiese modificar la escala nos permitiría poder hacer un estudio más preciso de una forma más rápida y cómoda. Así estas muestras, únicas, no sufrirían ningún tipo de deterioro en la manipulación requerida para su estudio o poder manipularlas fácilmente al realizar una impresión 3D modificando la escala. Por esta razón es tan importante realizar modelos 3D de materiales de un tamaño micrométrico.

El objetivo fundamental de la realización del presente TFG es conseguir optimizar un método de captura de imágenes en un SEM para posteriormente, mediante un programa informático, poder formar un MD-3D y así poder estudiar de una forma más cómoda, rápida y sin que sufran deterioros objetos de escalas muy reducidas (micro y nanométricas).

Para la realización del presente proyecto se llevan a cabo las siguientes fases:

- Elección de las muestras sobre las que se van a realizar las imágenes para obtener el Modelo 3D.

- Preparación de las muestras para poder ser introducidas en el SEM sin sufrir daños.
- Procesado de las imágenes y obtención del Modelo 3D de las muestras con el programa *PhotoScan*, estimando el nivel de precisión que obtendremos al extraer la información tridimensional a partir del modelado de las imágenes SEM.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Las imágenes utilizadas para la realización de este proyecto se han obtenido con un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) Hitachi modelo S-4800 FE, que se encuentra ubicado en la Sección de Microscopia Electrónica del Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental (SCSIE) de la Universitat de València y se han adquirido imágenes con una resolución de 2560x1920 y 1280x960 megapíxel.

Se decide procesar distintos tipos de muestras como caracol, molar, líquen y escarabajo, para ver si todas son aptas para el *software PhotoScan de Agisoft*, presentan dificultades o limitaciones y cuáles son estas.

La **metodología general** aplicada para poder observar de forma correcta las muestras en el SEM y realizar el MD-3D son (Ball, 2017; Tafti y col. (2015):

- Preparación de la muestra: realizar si fuese necesario un secado en punto crítico, posteriormente un metalizado de la muestra para hacerla conductora con oro/paladio y sujetarla y orientarla en el soporte del SEM.
- Obtención de las imágenes: adquisiciones cada 15° rotando la muestra hasta los 360° y con inclinaciones de 0°, 15° y 30°. Si el relieve de la muestra fuese mayor se tendrá que aumentar la toma de imágenes con un intervalo de ángulos menor, recomendando cada 10° mínimo.
- El procesado de la serie de imágenes con *PhotoScan* se hace de forma automática, eliminando los puntos que están fuera de la aproximación de la forma del objeto. El orden de los pasos que realiza el programa es: orienta las fotos, crea una nube de puntos densa, crea una malla y finalmente crea la textura.

Esta metodología general dependiendo del tipo de muestra y de su relieve (líquen y escarabajo), cambian como se detalla posteriormente.

Es fundamental que el entorno que aparece en los diferentes planos de las adquisiciones de imágenes en una misma muestra sea diferente, ya que si el fondo es muy homogéneo *PhotoScan* realiza el modelado del fondo y no del propio objeto. Esto se produce debido a que la muestra no está iluminada por luz, sino que se forma por la interacción del haz de electrones con la superficie de la muestra. Es importante saber que en SEM el color generado en la imagen, para un mismo punto tomado desde diferentes ángulos, se forma al interaccionar los electrones con la superficie, excitando los electrones de la capa más superficial de la muestra que es conductora. Estos electrones excitados son recogidos por un detector de electrones y dependiendo del ángulo de incidencia estos salen con un ángulo que es interpretado por el detector como blanco, negro o grises. De este modo aumenta la dificultad en el reconocimiento de un mismo punto al cambiar el color de este según el ángulo de interacción del haz. Comprobando que apoyando la muestra en la menor superficie posible la realización del modelado es más rápido (figura 3.1.1).

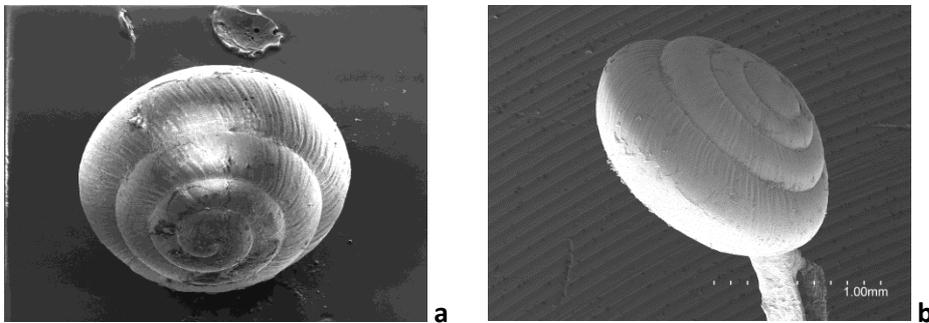


Fig. 3.1.1. Imágenes SEM de la concha de caracol *Estrobilos*. (a) cancha apoyada en una superficie; (b) concha sujeta de una zona muy reducida, sin gran apoyo.

Se colocan marcadores a los modelos obtenidos para poder poner la escala y que los marcadores coincidan con distancias conocidas en las imágenes adquiridas en un SEM. Para obtener la escala, al no conocer la focal ya que las imágenes no son adquiridas mediante una cámara digital, ya que la proyección formada no es cónica sino perpendicular normal con una focal tendiendo al infinito, facilita el trabajo la utilización de otros *software* como: *ImageJ* o *Autodesk's Meshmixer*. En los anexos

adjuntos se puede comprobar que la focal tiene un valor elevado, tendiendo al infinito.

Las muestras seleccionadas para ver si son aptas con el programa son:

3.1. Fósil de una concha de caracol (Estróbilos)

Se comprueba el *software* con una muestra sencilla, que no tenga cambios bruscos en el relieve; esta muestra es un fósil de la concha de un caracol, que tienen una superficie muy lisa pero torneada.

Esta concha de caracol de agua dulce es del Mioceno y ha sido recogida de la localidad del Castillo de Val, perteneciente a la provincia de Burgos (figuras 3.1.2).



Fig. 3.1.2. Concha de caracol Estróbilos

Este tipo de muestra que está seca, es decir, que no tienen ningún líquido, no es necesario realizarle el punto crítico. En este caso, solamente se sombrea la muestra con oro/paladio para hacerla conductora (figura 3.1.3).

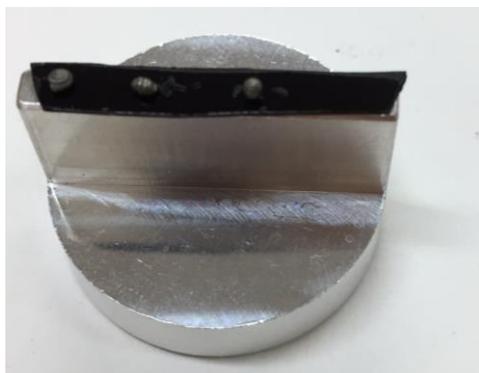


Fig. 3.1.3. Soporte de sujeción de la muestra y para la manipulación en el SEM

Las imágenes utilizadas se adquieren a una resolución de 2560x1920 píxeles, a 50 aumentos, con una distancia de trabajo de 8.1 mm y se le aplica un voltaje de 10 Kv. Se capturan un total de 51 imágenes (figura 3.1.4), como se indica en la metodología general (figura 3.1.4; tabla 3.1).

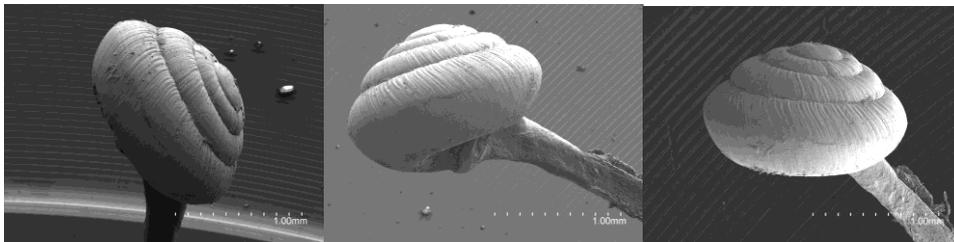


Fig. 3.1.4. Imágenes del SEM de algunas posiciones del Estrobilos



Fig. 3.1.5. Imagen con la pantalla de infrarrojos del interior del SEM con inclinación de la muestra a 30°

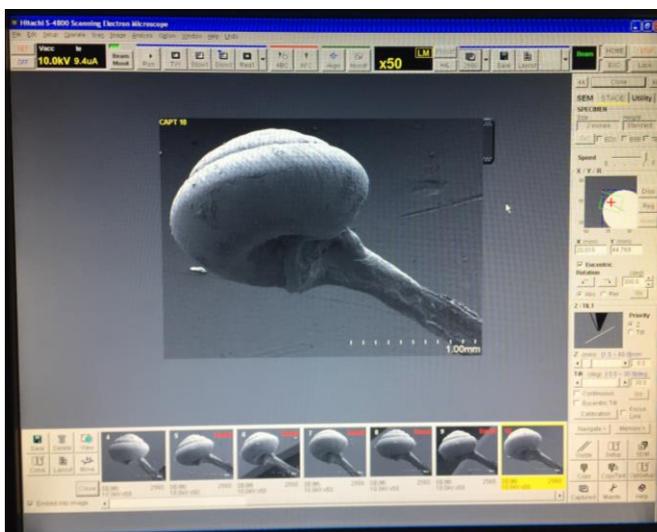


Fig. 3.1.6. Ejemplo de imagen de cómo trabaja el software del SEM

3.2. Fósil de un molar de un micromamífero

Este diente molar superior de un roedor, de la familia *Muridae* del plioceno, recogida en la localidad de Almenara, en la provincia de Castellón (figura 3.2.1). Los múridos pertenecen a la familia de roedores de pequeño tamaño, con hocico largo y puntiagudo y larga cola escamosa. Este molar es un fósil muy delicado y necesita poder ser estudiado sin sufrir ningún deterioro; tiene un tamaño muy reducido que dificulta el poder estudiar sus características, como ocurre con cualquier muestra de este tipo.



Fig. 3.2.1. Fósil de un diente molar de un micromamífero.

Para el procesado depositamos una capa nanométrica de oro/paladio para hacer la muestra conductora (figura 3.2.2).



Fig. 3.2.2. Fósil de un diente molar de un micro mamífero preparado para ser introducido en el SEM.

Las imágenes utilizadas se adquieren a una resolución de 2560x1920 píxeles, a 30 aumentos, con una distancia de trabajo de 8.1 mm y se le aplica un voltaje de 10 Kv. Se capturan un total de 50 imágenes (figura 3.2.3), como se indica en la metodología general (tabla 3.1).

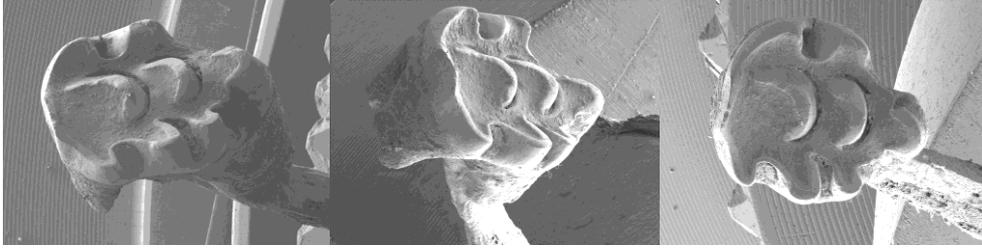


Fig. 3.2.3. Imágenes del SEM de algunas posiciones del molar

3.3. Apotecio de un líquen antártico (*Usnea aurantiaco-atra*)

Una de las muestras que se selecciona es un líquen de la especie *Usnea aurantiaco-atra*, como se puede ver en las figuras 3.3.1 y 3.3.2, que se encuentra en la Antártida.

Los líquenes son organismos que surgen de la simbiosis entre un hongo, llamado micobionte, y un alga/s, llamada ficobionte/s. La parte seleccionada para realizar la reconstrucción 3D es un apotecio, estructura reproductora con forma de copa.

Esta muestra biológica requiere de secado en punto crítico y posteriormente deposición de oro-paladio.



Fig. 3.3.1. Imagen del líquen antártico (*Usnea aurantiaco-atra*) en su hábitat natural.



Fig. 3.3.2 Muestra traída de la Antártida del liquen antártico (*Usnea aurantiaco-atra*) y detalle de los apotecios.

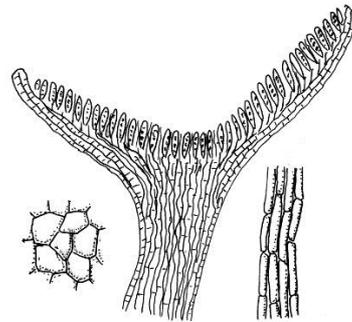


Fig. 3.3.3. (a) imagen de detalle de varios apotecios del liquen antártico (*Usnea aurantiaco-atra*); (b) dibujo de un apotecio.

Las condiciones de trabajo en el equipo fueron a 10 Kv, con una distancia de trabajo de 11,3 mm y a una magnificación de 50 aumentos. Las imágenes fueron adquiridas a una resolución de 1280x960 megapíxeles, en este caso se realizan modificaciones respecto a la metodología general que consiste en rotaciones cada 10° hasta los 360° y con cada rango de rotación se adquiere una imagen con inclinaciones de 0°, 10°, 20° y 30°. También se modifica la posición del liquen en el equipo para tener una imagen de todo el volumen de este, hasta obtener un total de 102 imágenes (figura 3.3.4; tabla 3.1).

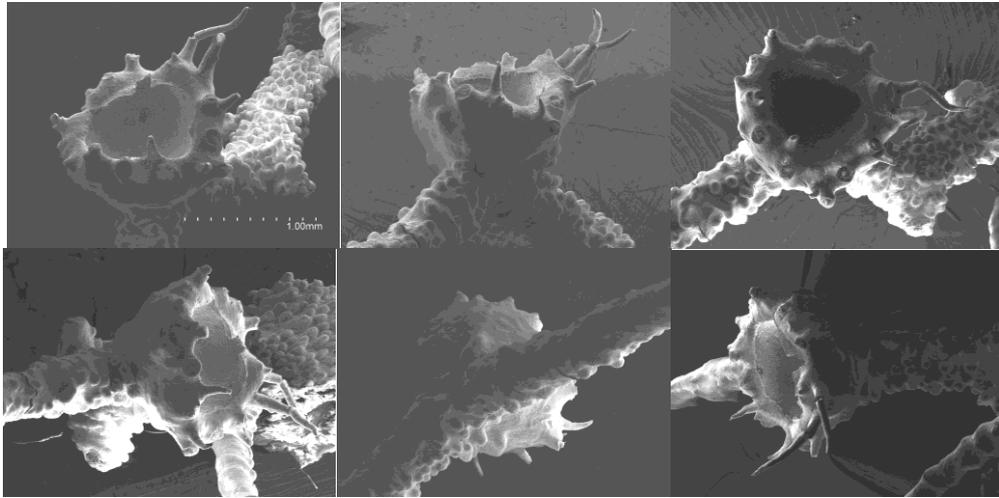


Fig. 3.3.4. Serie de imágenes del líquen *Usnea aurantiaco-atra*, obtenidas en el SEM.

3.4. Escarabajo *Stegobium Paniceum*

Por último, se selecciona una muestra complicada, debido a la gran cantidad de pelos que cubren todo su cuerpo; se trata de un escarabajo, insectos que pertenecen al orden de los coleópteros. Se elige *Stegobium Paniceu* (figura 3.4.1), escarabajo del pan duro, muy común en las casas. A esta muestra biológica se le realiza un secado en punto crítico para preservar su estructura y poder observar sin problemas en el SEM. Posteriormente se le realiza una deposición de oro-paladio para hacer la capa más superficial conductora a los electrones.



Fig.3.4.1. Escarabajo *Stegobium Paniceum*

A la muestra se le realizó el secado en punto crítico para conservar su estructura y poder introducirla al equipo sin líquido (figura 3.4.2). Las condiciones de trabajo en el equipo fueron 20 Kv, con una distancia de trabajo de 8 mm y a una magnificación de 50 aumentos. Las imágenes fueron adquiridas a una resolución de 1280x960 megapíxeles, en este caso se realizan modificaciones respecto a la metodología general que consiste en rotaciones cada 30° hasta los 360° y con cada rango de rotación se adquiere una imagen con inclinaciones de 0°, 10°, 20° y 30°, con un total de 40 imágenes (figura 3.4.3; tabla 3.1).

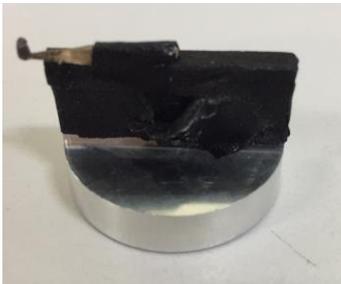


Fig.3.4.2. Escarabajo *Stegobium Paniceum* preparado en el soporte para su observación en SEM

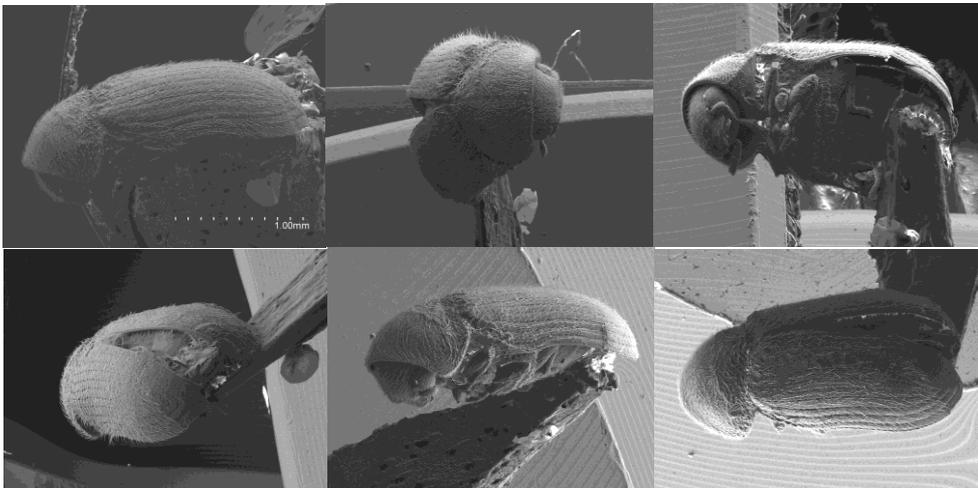


Fig. 3.4.3. Serie de imágenes del escarabajo obtenidas en el SEM

A continuación, se muestra una tabla resumen (Tabla 3.1) que las condiciones de trabajo en el SEM.

MUESTRA	VOLTAJE	PUNTO CRITICO	DEPOSICION ORO/PALADIO	AUMENTOS	RESOLUCION	Nº IMAGENES	ANGULOS
CONCHA	10Kv	NO	SI	50X	2560x1920	51	- Rotación cada 15° hasta 360. - Inclinación 0°, 15° y 30°
MOLAR	10kv	NO	SI	30X	2560x1920	51	- Rotación cada 15° hasta 360. - Inclinación 0°, 15° y 30°
LIQUEN	10Kv	SI	SI	50X	1280x960	102	- Rotación cada 10° hasta 360. - Inclinación 0°, 10°, 20° y 30°
ESCARABAJO	20Kv	SI	SI	50X	1280x960	40	- Rotación cada 30° hasta 360. - Inclinación 0°, 15° y 30°

Tabla 3.1. Características de la adquisición de las imágenes en el SEM

4. RESULTADOS y DISCUSION

Los resultados de los MD-3D obtenidos demuestran que la obtención y utilización de imágenes digitales de escala nanométrica obtenidas por el Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) y tratadas por el SfM son de muy alta calidad; esto conlleva un gran avance para poder hacer modificaciones de escala de estos objetos tan pequeños y así estudiarlos de una forma más cómoda y provechosa. Para escalar el modelo obtenido se trabaja en un sistema de coordenadas local, añadiendo a las imágenes una barra de escala conocida para facilitar posteriormente la modificación de la escala. Esta escala es más fácil de añadir y modificar mediante otros *softwares*, como: *ImageJ*, *Autodesk's Meshmixer*, etc., que poniendo marcadores en el propio *software PhotoScan*.

Primero se comienza con unas muestras de un tamaño reducido y por tanto, de mayor dificultad en su manipulación, y posteriormente se seleccionaron muestras más complejas con un relieve más marcado. Así se comprueba si el *software (PhotoScan de Agisoft)* es útil para muestras pequeñas y con la dificultad añadida por la ausencia de color. Las imágenes adquiridas en un SEM presentan dificultad en la captura por las limitaciones de movimiento de la muestra, además de que la formación del color la produce la incidencia de los electrones con la superficie, variando el brillo y el contraste de un mismo punto dependiendo de su posición con respecto a la incidencia del haz de electrones. De esta forma se produce la variación de color, lo que no sucede cuando se trabaja con imágenes adquiridas en el espectro visible. Se puede observar en las imágenes SEM adjuntas (figura 3.1.3, fig. 3.2.3, fig. 3.3.4 y fig. 3.4.3) que una misma zona tiene diferente color (grises, blanco o negro), por esta razón la dificultad de procesar este tipo de imágenes.

4.1. Resultados del MD-3D de un fósil de una concha de caracol (Estróbilos)

Después de procesar las imágenes de la concha el resultado obtenido es un MD-3D en el que se han utilizado el total de las 51 cámaras, con 3811 puntos enlace, 391691 puntos en la densificación de la nube y para el MD-3D utiliza 32742 caras (figura 4.1.1).

Para obtener el MD-3D de la concha se ha invertido un total de más de 10 horas, ya que al ser esta muestra la primera se ha tenido que optimizar tanto la manipulación de esta como el método de adquisición de las imágenes.

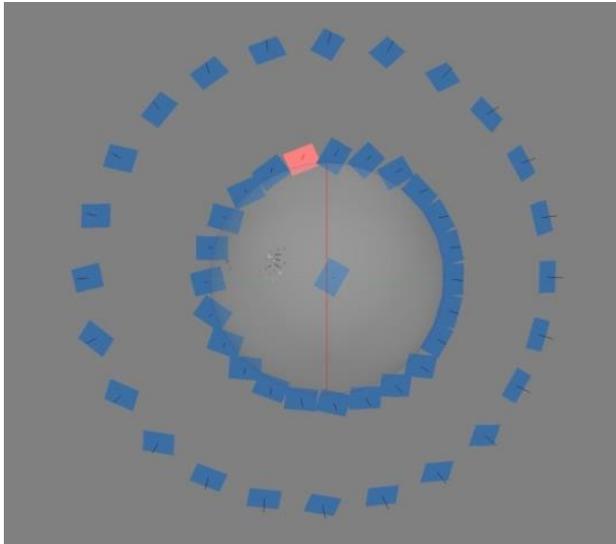


Fig. 4.1.1. Posición de las cámaras en *PhotoScan* del Estrobilos

Se comprueba que el modelo es adecuado, con una resolución alta (figura 4.1.2, figura 4.1.3 y figura 4.1.4).

Es muy interesante poder hacer una reconstrucción precisa 3D de un fósil como en este caso ya que es muy delicado y preciado, por tanto, es un tipo de material del que sería de gran relevancia poder obtener una réplica exacta, así no se tendría que manipular la muestra original para su estudio. Con esta técnica se evita el posible deterioro que pudiese sufrir.



Fig. 4.1.2. Resultado del modelado del caracol Estrobilos con escala

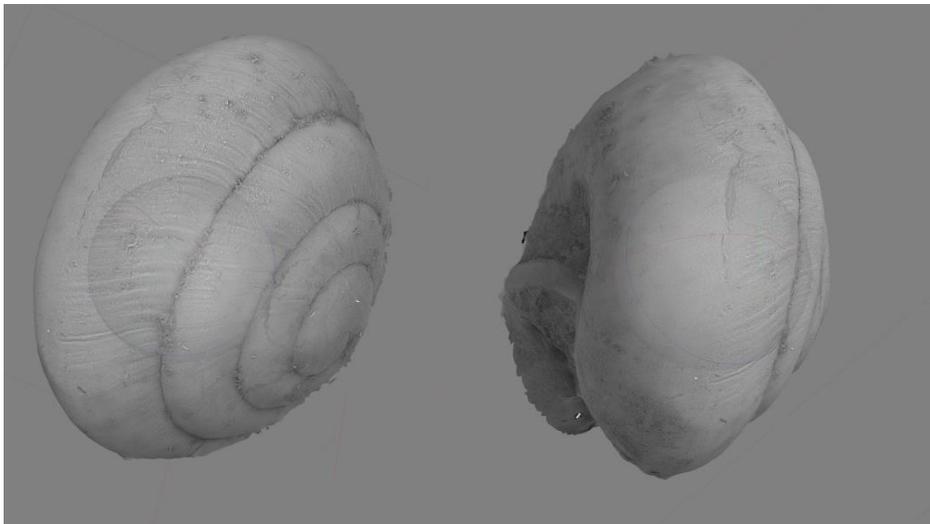


Fig. 4.1.3. Resultado del modelado del caracol Estrobilos en diferentes orientaciones



Fig. 4.1.4. Resultado del modelado del caracol Estrobilos

4.2. Resultados del MD-3D de un fósil de un molar de un micro mamífero

En el caso del molar el resultado obtenido es un MD-3D en el que se ha utilizado el total de las 50 cámaras, con 8966 puntos enlace, 654822 puntos en la densificación de la nube y para el MD-3D utiliza 21683 caras (figura 4.2.1).

Para obtener el MD3D del molar se ha invertido 6 horas. Este tiempo incluye tanto la preparación de la muestra como la adquisición y el procesado de las imágenes.

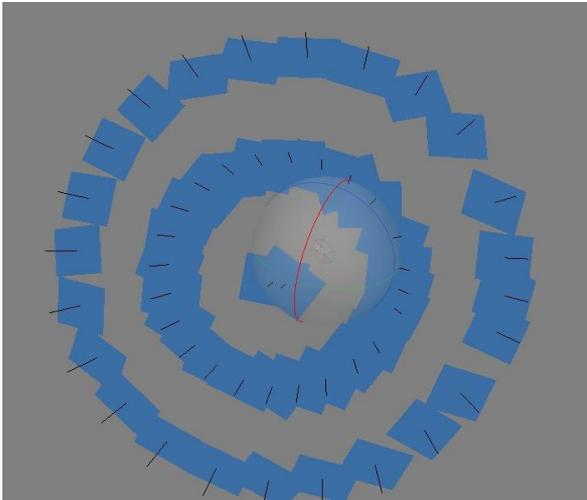


Fig. 4.2.1. Posición de las cámaras en *PhotoScan* del molar

Se puede comprobar en la serie de imágenes que se adjuntan (figuras 4.2.2 y 4.2.3) el MD-3D obtenido es de una elevada resolución.

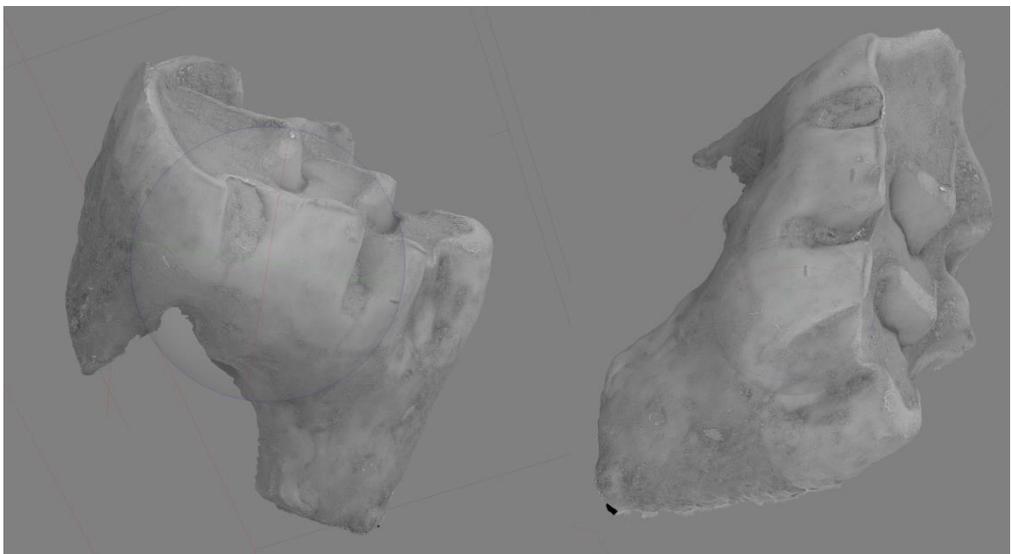


Fig. 4.2.2. Resultado del MD 3D del molar en diferentes orientaciones

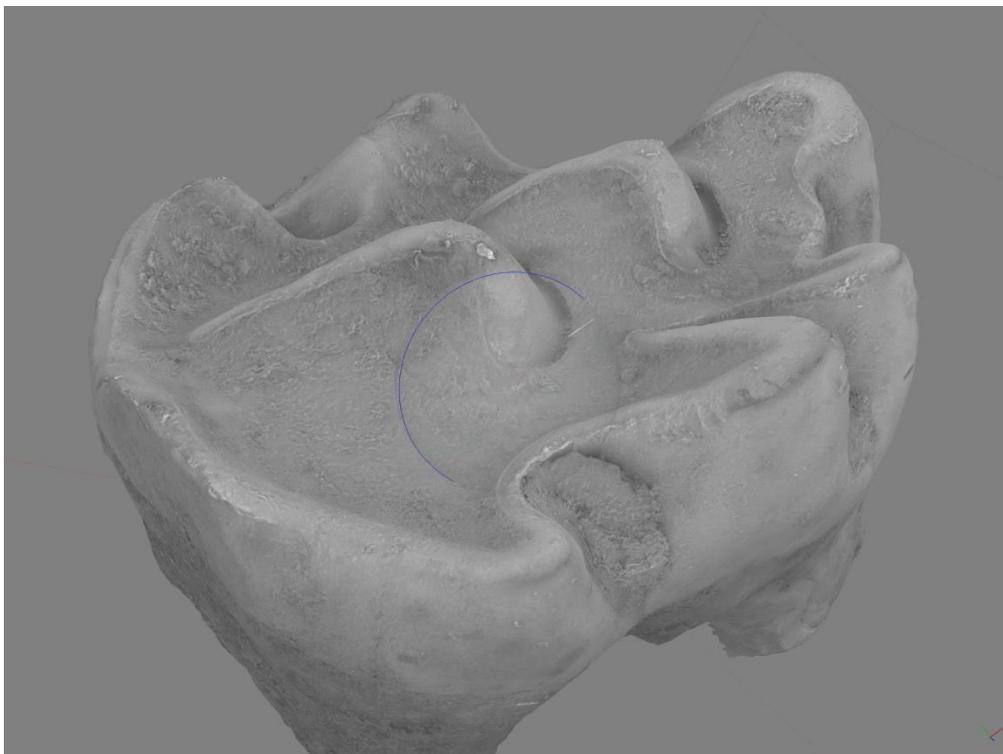


Fig. 4.2.3. Resultado del modelado del Molar con la escala

4.3. Resultados del MD-3D del apotecio de un líquen antártico (*Usnea aurantiaco-atra*)

Después de haber aumentado la complejidad de la muestra, por su relieve y forma poco homogénea, sorprende gratamente el modelado obtenido después del procesado de las imágenes con el *software*. A continuación se observa el modelo 3D generado con altísima resolución, sin realizar casi ninguna modificación y se aproxima fielmente a la muestra real, utilizándose las 81 cámaras y más de 38000 puntos, 598910 puntos en la densificación de la nube y 106741 cara para la obtención del modelo 3D (figura 4.3.1).

Para obtener el MD3D del líquen se ha utilizado un total de más de 24 horas, debido a la compleja preparación de la muestra, por el gran número de imágenes realizadas y por el volumen de imágenes procesadas.

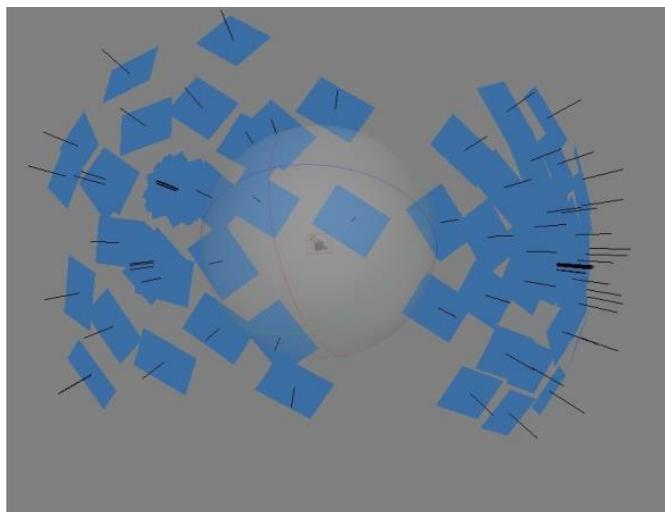


Fig. 4.3.1. Imagen de la distribución de las cámaras obtenidas con *PhotoScan*

Se observan varias imágenes de los resultados obtenidos en diferentes posiciones, formatos (mostrando las cámaras, la malla de color, la malla sombreada, la malla de alambre y la malla con textura) y aumentos (figuras 4.3.2, figura 4.3.3 y figura 4.3.4).

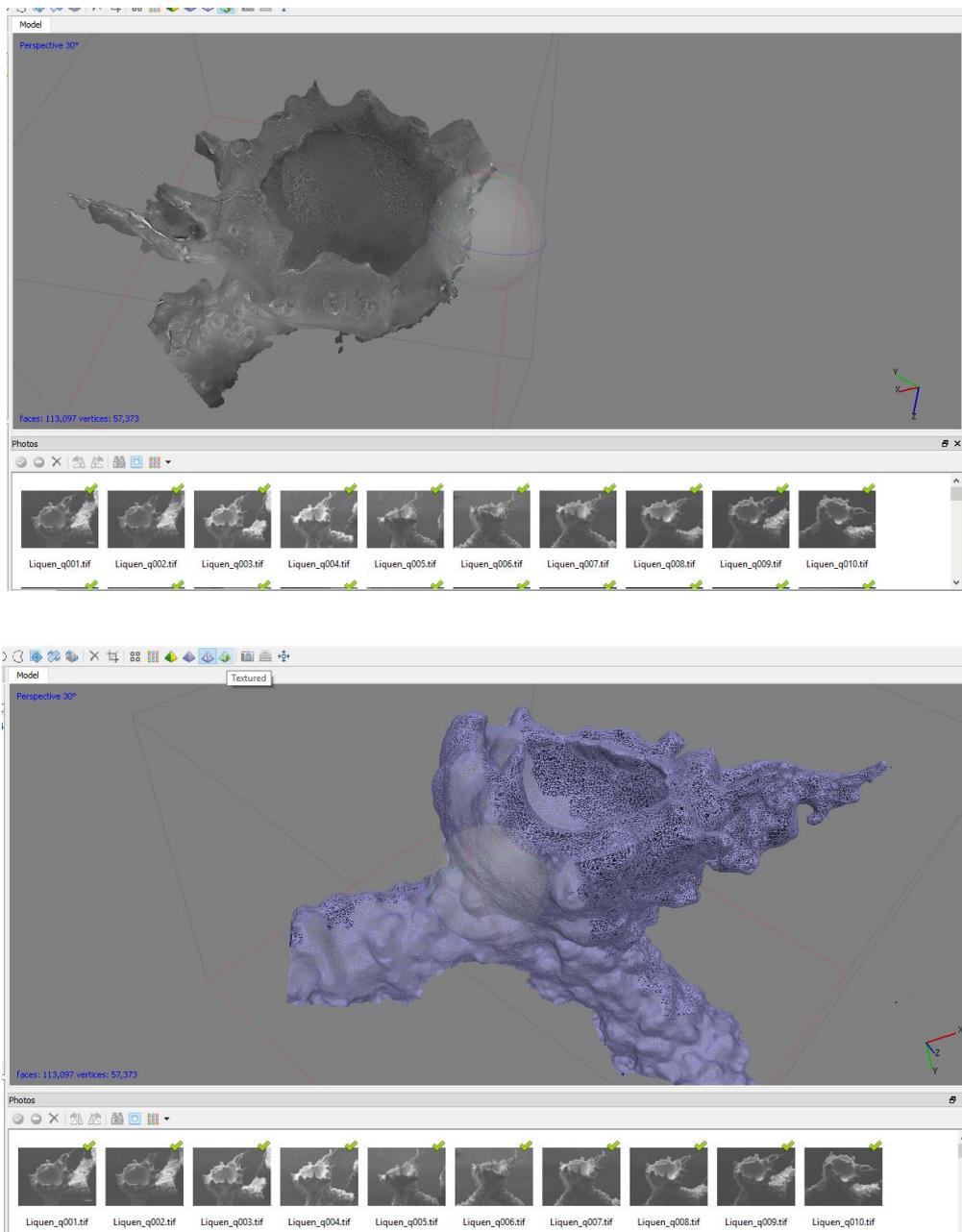


Fig. 4.3.2. Serie de imágenes del líquen *Usnea aurantiaco-atra*, obtenidas en *PhotoScan*

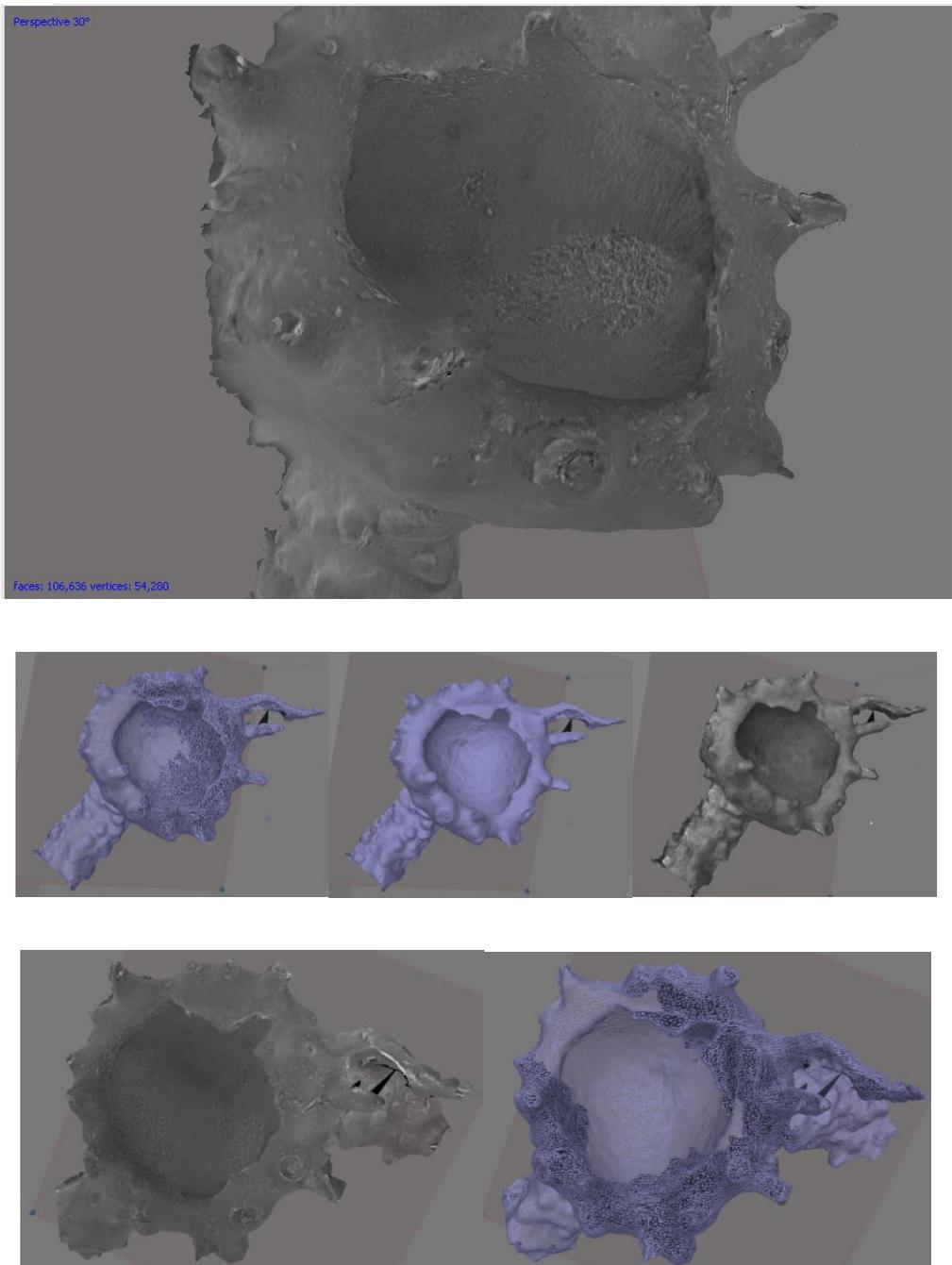


Fig. 4.3.3. Serie de imágenes del líquen *Usnea aurantiaco-atra*, obtenidas en *PhotoScan* con diferentes posiciones y *zoom*

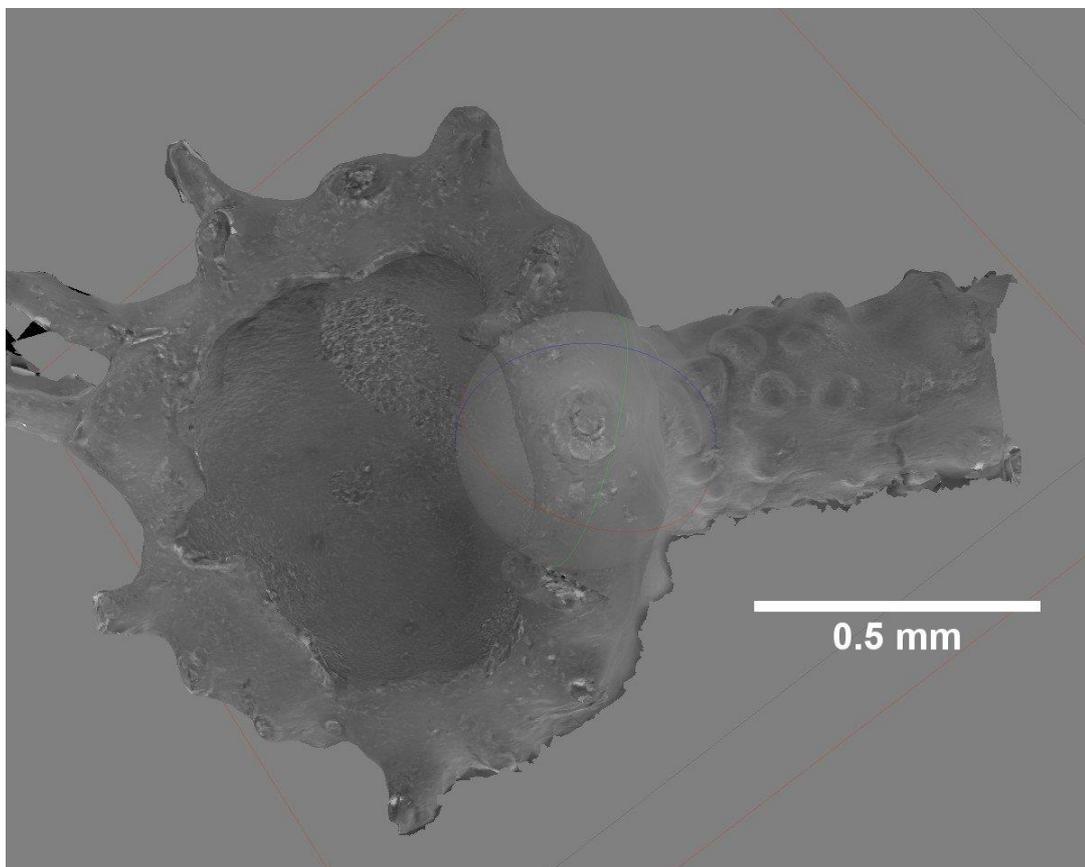


Fig. 4.3.4. Resultado del modelado del liquen con la escala

4.4. Resultados del MD-3D de un escarabajo *Stegobium Paniceum*

La elección de esta muestra demuestra la elevada definición obtenida por el *software*, ya que se trata de un animal con pelos. Así que, después de pensar que era una muestra muy complicada y que no se podría obtener ningún resultado, sorprendió demostrando que es factible procesar muestras con mucho relieve y a la vez compuestas por estructuras pequeñas y salientes, como son los pelos.

Para obtener el MD-3D de esta muestra se ha utilizado un total de más de 10 horas. Este tiempo incluye tanto la preparación de la muestra, la adquisición y el procesado de las imágenes.

En este caso se utilizaron un total de 30 cámaras, con un resultado de 19530 puntos, 1795973 puntos en la densificación de la nube y 95511 cara para la obtención del modelo 3D (figura 4.4.1 y figura 4.4.2).

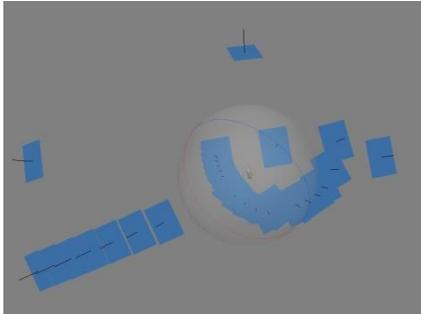


Fig. 4.4.1. Imagen de la distribución de las cámaras obtenidas con *PhotoScan*

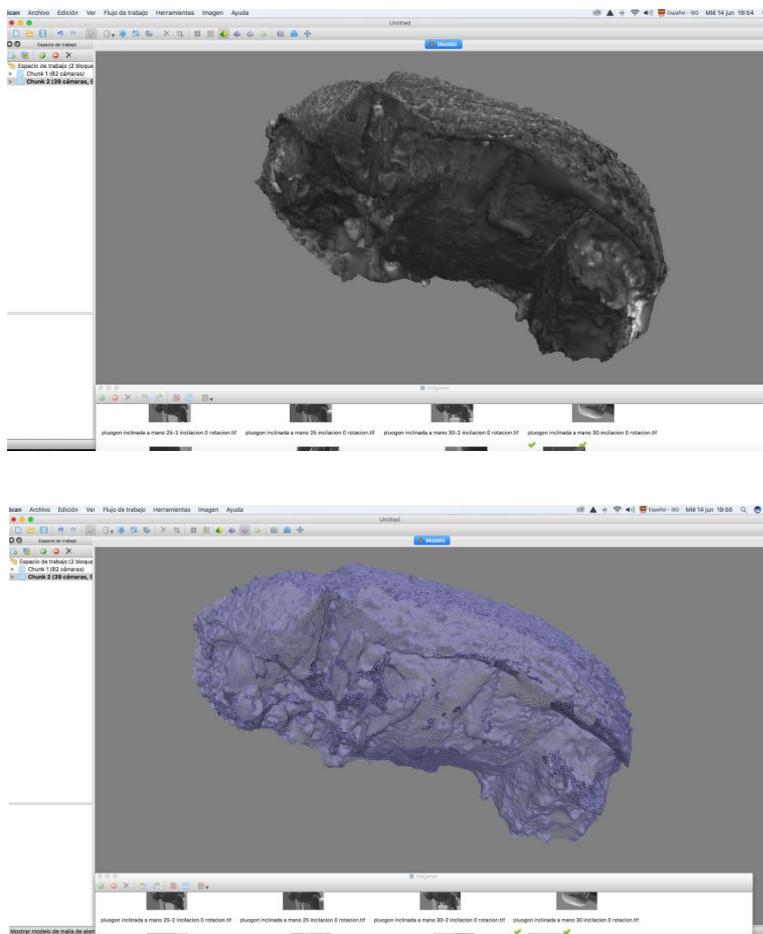


Fig. 4.4.2. Resultado del modelado del escarabajo observando la malla de color y la triangulación

El resultado después del modelado de las imágenes con el *software* es sorprendente. Se pueden ver detalles del escarabajo: los pelos, los poros de los pelos, los ocelos,... como si se observase directamente en el SEM, pero en este caso en 3D (figuras 4.4.3 y figura 4.4.4).

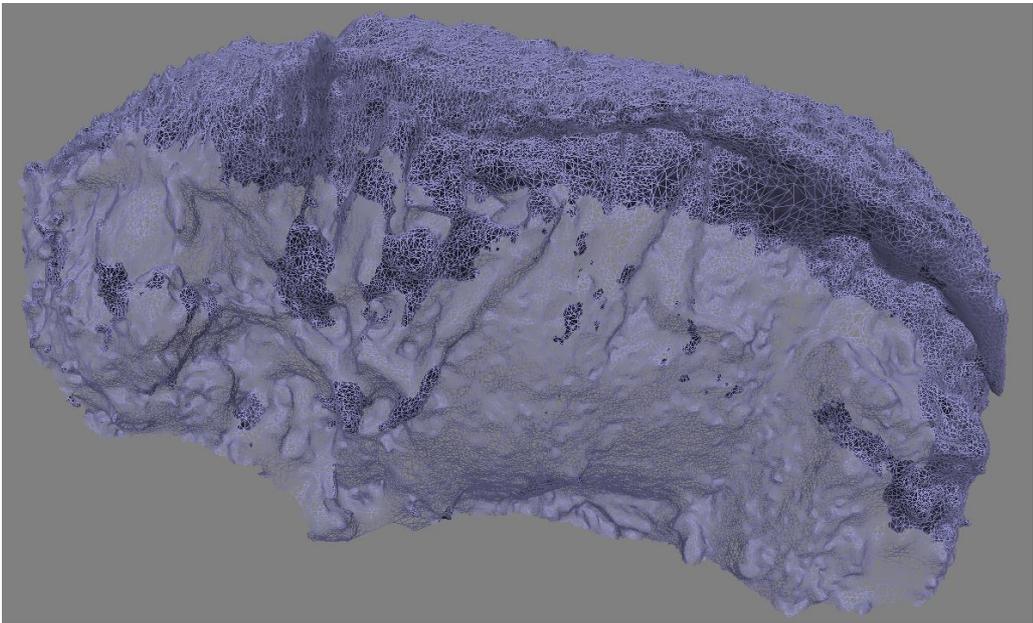
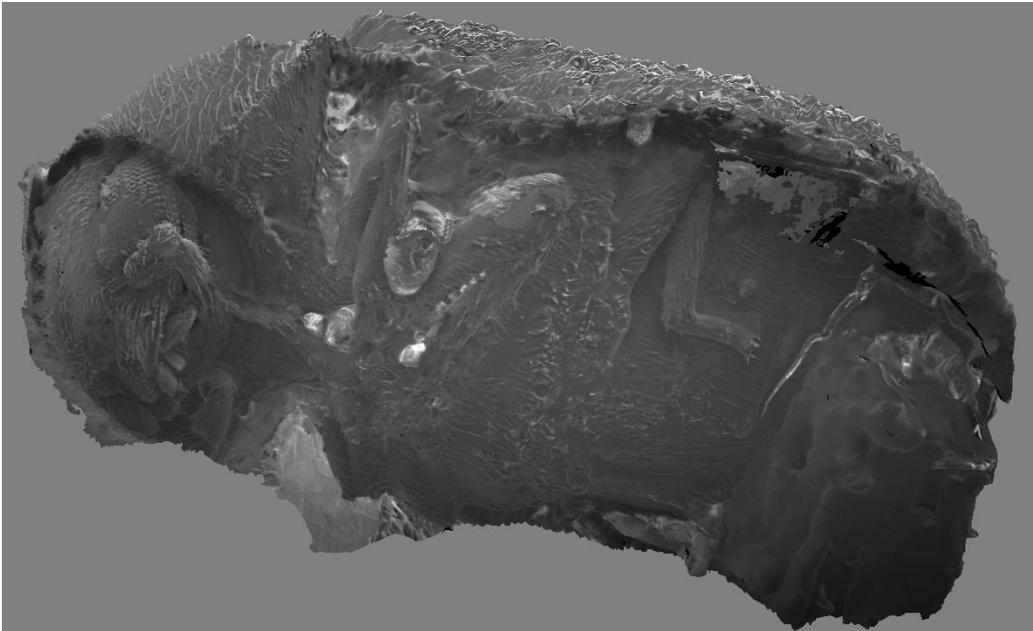


Fig. 4.4.3. Resultado del modelado 3D del escarabajo en malla de color y malla de triangulación

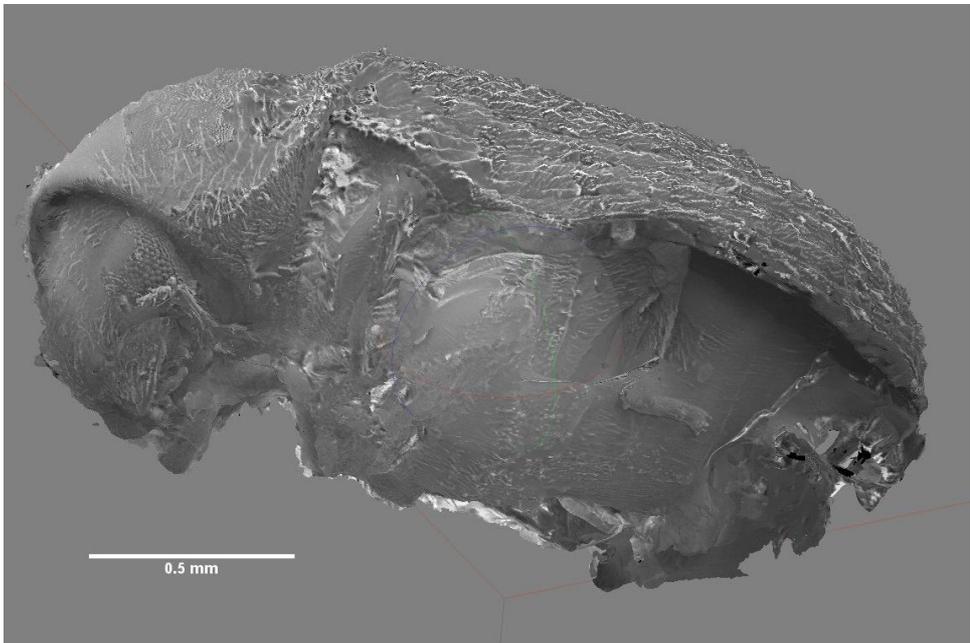
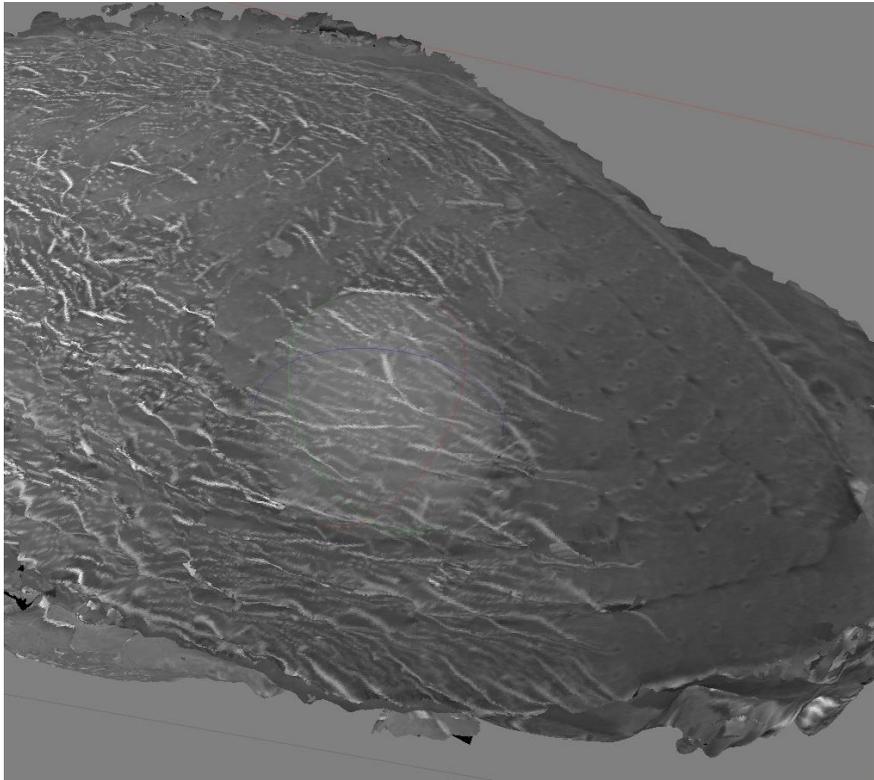


Fig. 4.4.4. Detalle del modelado 3D del escarabajo.

En este caso, el escarabajo presenta mucho relieve, es decir, gran detalle y al analizar el modelo 3D, se ha visto que se deberían tomar más imágenes para que el resultado fuese lo más similar posible al objeto real. Por tanto, el MD-3D obtenido del escarabajo es mejorable, por tanto las imágenes se adquirirán con un menor ángulo de lo que en un principio se recomienda, es decir, menos de 15°, llegando a una precisión de detalle que sin estas dos técnicas (fotogrametría SfM y SEM) combinadas no sería posible.

A continuación, se muestra una tabla resumen (Tabla 4.1) que contiene todos los datos generados por *PhotoScan* al procesar las imágenes.

MUESTRA	IMAGENES	CAMARAS	PUNTOS ENLACE	DENSIFICACION DE LA NUBE DE PUNTOS	CARAS DEL MD-3D
CARACOL	51	51	3811	391691	32742
MOLAR	50	50	8966	654822	21683
LIQUEN	102	81	38482	598910	106741
ESCARABAJO	40	30	19530	1795973	95511

Tabla 4.1. Datos generados por el *software PhotoScan* en el procesado del MD-3D

5. CONCLUSIONES

La completa automatización de este proceso hace que el método de SfM sea una clara ventaja con respecto a otras técnicas fotogramétricas digitales más tradicionales, el procesado final permite eliminar partes que no sean de interés y aportar texturas y color al objeto.

Para obtener unos buenos resultados con el programa *PhotoScan* con imágenes SEM, que presentan la dificultad añadida al ser imágenes adquiridas en una gama de colores grises, blanco y negro, como consecuencia se debe realizar una foto cada 15° hasta completar los 360° y con una inclinación cada 15° como mínimo hasta los 30°, que es lo máximo que nos permite el equipo SEM. Por esta razón, se ha obtenido un buen MD-3D de los objetos seleccionados.

Cuantas más diferencias de relieve tenga la muestra, es decir, cuanto más detalle tenga la muestra, como es el caso del escarabajo, más imágenes se deberían tomar para que el modelo fuese lo más similar o coincidente posible al objeto real. Por tanto, se concluye que el modelo obtenido del escarabajo es mejorable si se realizan un mayor número de imágenes y con menos ángulo de lo que en un principio se recomienda, es decir, menos de 15°, llegando a una precisión de detalle que sin estas dos técnicas combinadas no sería posible.

Se pretendía probar si con imágenes obtenidas en un SEM era posible obtener un MD-3D y se ha demostrado que las nuevas técnicas lo hacen posible, abriendo la fotogrametría a otros campos en el ámbito científico interesados en el gran potencial de la técnica para obtener MD-3D de muestras que solo se pueden observar en un SEM.

En el pasado la posibilidad de obtener un MD-3D a partir de imágenes adquiridas mediante un SEM no era fácil, por la gama de color blanco, negro y grises que compone las imágenes, ya que estos colores no están formados por la luz, sino que

este color lo da el ángulo con el que incide el haz de electrones sobre la muestra, no siendo el mismo color en puntos homólogos dependiendo de cómo incida el haz sobre la muestra. Con los nuevos avances que han generado las nuevas técnicas con bases fotogramétricas, se ha logrado el tratamiento de imágenes a partir de objetos pequeños y con mucha dificultad, siendo una línea abierta para mejorar el método. Por tanto, es un gran avance para todos los científicos que trabajan con materiales de escalas micro y nanométricas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Ball A.D. (2017) SEM-microphotogrammetry, a new take on an old method for generating high-resolution 3D models from SEM images. *Journal of Microscopy* DOI:10.1111/jmi.12560.

Eulitz M., Reiss G. (2015) 3D reconstruction of SEM images by use optical photogrammetry software. *Journal of Structural Biology* 191:190-196.

Tafti A.P., Kirkpatrick A.B., Alavi Z., Owen H.A., Yu Z. (2015) Recent advances in 3D SEM Surface reconstruction. *Micron* 78:54-66.

Tafti A.P., Kirkpatrick A.B., Alavi Z., Owen H.A., Yu Z. (2015) 3DSEM: a 3D microscopy dataset *Data in Brief* 6: 112-116.

Cornille N., García D., Sutton M.A., McNeill S.R., Orteu J.J. (2003) Automated 3-D Reconstruction Using Scanning electron Microscope. *Proceedings of the SEM Conference on experimental and applied mechanics*.

Agisoft PhotoScan. (2013). Agisoft PhotoScan User Manual Professional Edition, Version 1.0.0. St.Petersburg: Agisoft LLC.

Westoby M.J., Brasington J., Glasser N.F., Hambrey M.J., Reynolds J.M. (2012). Structure From-Motion'photogrammetry: A low-cost, effective tool for geoscience applications. *Geomorphology* 179: 300-314.

Williams D.B., Carter C.B., (1996) Trasmision Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science. 1ª Edición. Nueva York. *Plenum Publishing Corporation*.

Goldstein J., Newbury D.E., Joy D.C., Leyman CH.E., Echlin P., Lifshin E., Sawyer L., Michael J.R. (2007) Scanning Electron Microscopy and X-Ray Mycroanalysis. *Third Edition*.

LERMA J. L.,(2002) Fotogrametría moderna: analítica y digital. 1ª Edición. Valencia: *Editorial Universidad Politécnica de Valencia*.

Mercer E.R. y Brideck M.S.C., (1974) Manual de Microscopía Electrónica para Biólogos. 1ª Edición. Madrid. *Editorial Blume*.

Caracuel, J. E., Cardenal J., Delgado J., (2002) Digital photogrammetric applications in morphometric fossil analysis, *Boletín Geológico y Minero*, 113 (1): 85-95

Snavely K.N., (2008), Scene Reconstruction and Visualization from Internet Photo Collections, *Computer Science & Engineering*

Manual Microscopio Electrónico de Barrido Hitachi S-4800.

http://www.hitachi-hightech.com/us/product_list/?ld=sms2 , junio 2017.

<https://natureduca.com/antartida-ecologia-vegetacion-liquenes-y-fanerogamas.php>, junio 2017.

<http://www.escarabajopedia.com/>, junio 2017.

ANEXOS

- Informe *PhotoScan* caracol

Agisoft PhotoScan informe caracol

Informe de procesamiento

06 julio 2017

Datos del levantamiento

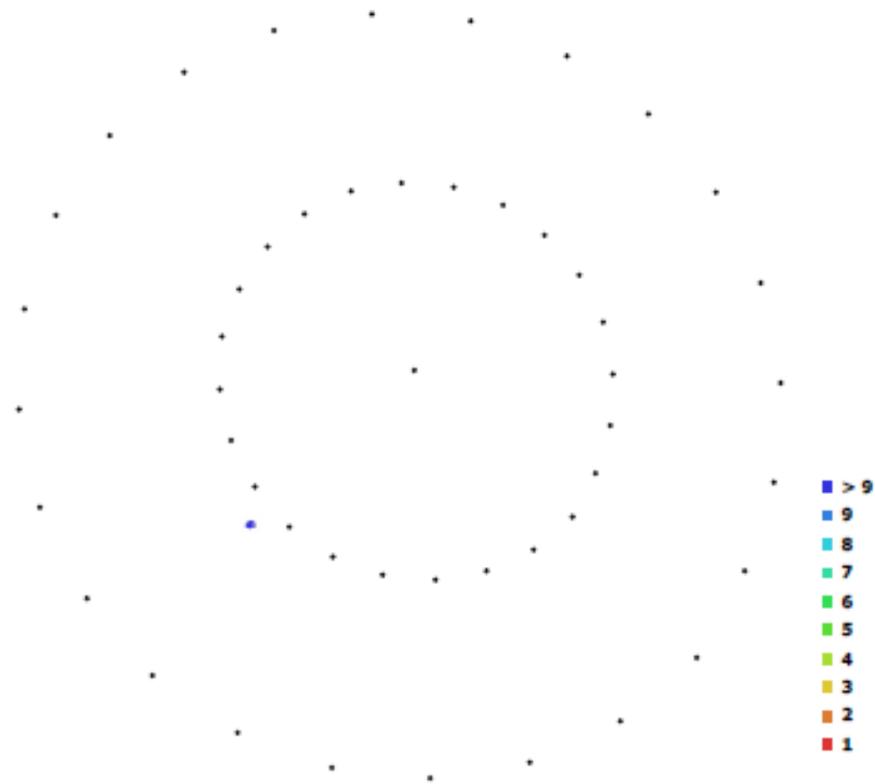


Fig. 1. Posiciones de cámaras y solapamiento de imágenes.

Número de imágenes: 49

Posiciones de cámara: 49

Puntos de enlace: 3,715

Proyecciones: 9,228

Error de reproyección: 1.68 pix

Modelo de cámara	Resolución	Distancia focal	Tamaño de píxel	Precalibrada
unknown	2560 x 1920	desconocido	desconocido	No

Tabla 1. Cámaras.

Calibración de cámara

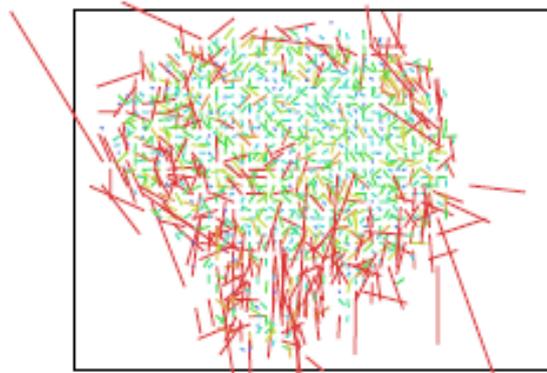


Fig. 2. Gráfico de residuos para unknown.

unknown

49 imágenes

Tipo
Cuadro

Resolución
2560 x 1920

Distancia focal
desconocido

Tamaño de píxel
desconocido

	Valor	Error	F
F	113422	1.1e+04	1.00

Tabla 2. Coeficientes de calibración y matriz de correlación.

Modelo digital de elevaciones



Fig. 3. Modelo digital de elevaciones.

Parámetros de procesamiento

Generales	
Cámaras	49
Cámaras orientadas	49
Sistema de coordenadas	Local Coordinates (m)
Ángulo de rotación	Güñada, cabeceo, alabeo
Nube de puntos	
Puntos	3,715 de 6,005
RMS error de reproyección	0.208276 (1.68224 pik)
Error de reproyección máximo	0.620552 (25.9552 pik)
Tamaño promedio de puntos característicos	7.40239 pik
Superposición efectiva	2.71624
Parámetros de orientación	
Precisión	Medio
Pre-selección genérica	Sí
Puntos claves por foto	40,000
Puntos de enlace por foto	1,000
Adaptativo ajuste del modelo de cámara	Sí
Tiempo búsqueda de puntos homólogos	8 minutos 6 segundos
Tiempo de orientación	46 segundos
Nube de puntos densa	
Puntos	370,173
Parámetros de reconstrucción	
Calidad	Medio
Filtrado de profundidad	Agresivo
Tiempo de generación de mapas de profundidad	2 minutos 13 segundos
Tiempo de generación de nube de puntos densa	3 minutos 37 segundos
Modelo	
Caras	31,470
Vértices	15,987
Textura	4,096 x 4,096, uint8
Parámetros de reconstrucción	
Tipo de superficie	Arbitrario
Datos fuente	Densa
Interpolación	Habilitada
Calidad	Medio
Filtrado de profundidad	Agresivo
Número de caras	60,000
Duración del procesamiento	1 minuto 1 segundo
Parámetros de texturizado	
Modo de mapeado	Genérico
Modo de mezcla	Mosaico
Tamaño de textura	4,096 x 4,096
Realzar corrección de color	No
Realzar el relleno de agujeros	Sí
Tiempo de mapeado en UV	8 segundos
Tiempo de mezcla	3 minutos 1 segundo
Software	
Versión	1.3.2 build 4205
Plataforma	Windows 64

- Informe *PhotoScan* molar

Agisoft PhotoScan informe 30-6-17

Informe de procesamiento

06 julio 2017



Datos del levantamiento

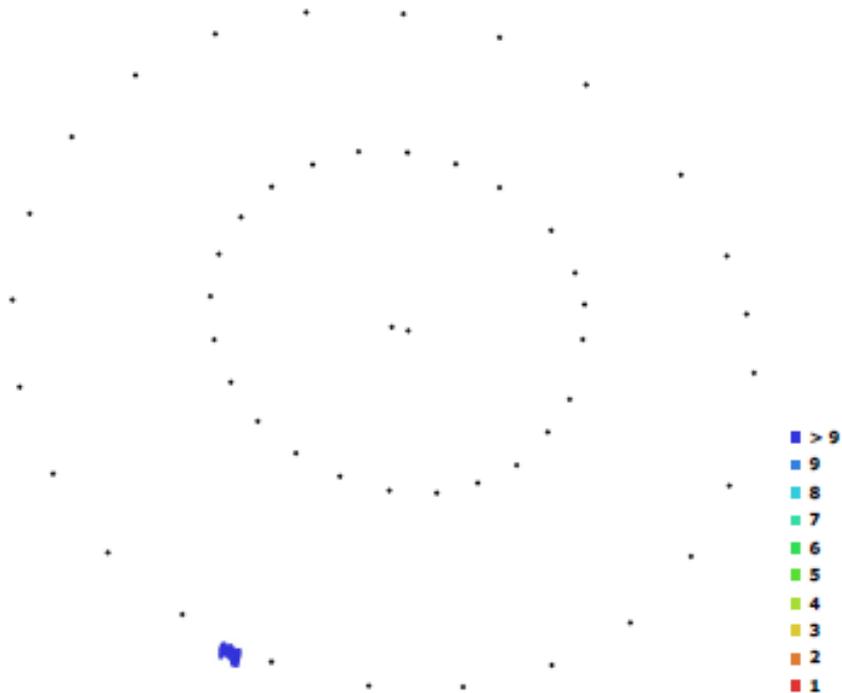


Fig. 1. Posiciones de cámaras y solapamiento de imágenes.

Número de imágenes: 50

Posiciones de cámara: 50

Puntos de enlace: 8,966

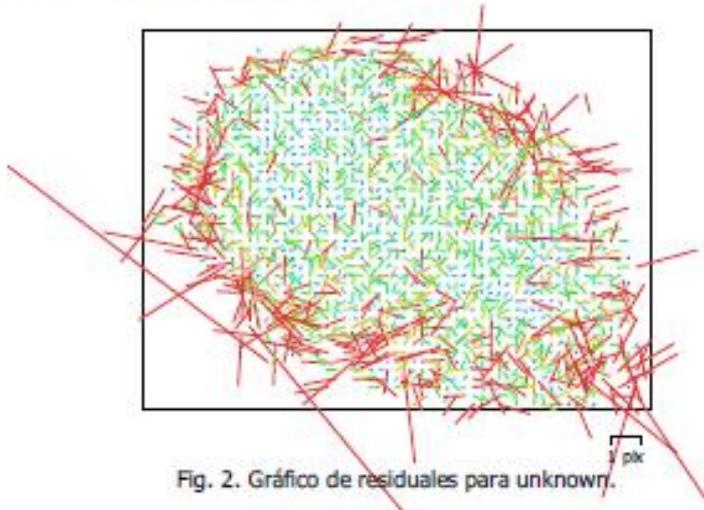
Proyecciones: 23,130

Error de reproyección: 1.92 pix

Modelo de cámara	Resolución	Distancia focal	Tamaño de píxel	Precalibrada
unknown	2560 x 1920	desconocido	desconocido	No

Tabla 1. Cámaras.

Calibración de cámara



unknown
50 imágenes

Tipo
Cuadro

Resolución
2560 x 1920

Distancia focal
desconocido

Tamaño de píxel
desconocido

	Valor	Error	F
F	59142.2	2.5e+03	1.00

Tabla 2. Coeficientes de calibración y matriz de correlación.

Modelo digital de elevaciones



Fig. 3. Modelo digital de elevaciones.

Parámetros de procesamiento

Generales	
Cámaras	50
Cámaras orientadas	50
Marcadores	16
Medidas de distancia	3
Sistema de coordenadas	Local Coordinates (m)
Ángulo de rotación	Gulfiada, cabeceo, alabeo
Nube de puntos	
Puntos	8,966 de 10,927
RMS error de reproyección	0.222114 (1.9157 pik)
Error de reproyección máximo	0.674171 (27.2877 pik)
Tamaño promedio de puntos característicos	8.04548 pik
Superposición efectiva	2.71703
Parámetros de orientación	
Precisión	Medio
Pre-selección genérica	Sí
Puntos claves por foto	40,000
Puntos de enlace por foto	4,000
Adaptativo ajuste del modelo de cámara	Sí
Tiempo búsqueda de puntos homólogos	7 minutos 14 segundos
Tiempo de orientación	1 minuto 12 segundos
Nube de puntos densa	
Puntos	654,822
Parámetros de reconstrucción	
Calidad	Medio
Filtrado de profundidad	Agresivo
Tiempo de generación de mapas de profundidad	9 minutos 42 segundos
Tiempo de generación de nube de puntos densa	12 minutos 21 segundos
Modelo	
Caras	21,683
Vértices	11,137
Textura	4,096 x 4,096, uint8
Parámetros de reconstrucción	
Tipo de superficie	Arbitrario
Datos fuente	Densa
Interpolación	Habilitada
Calidad	Medio
Filtrado de profundidad	Agresivo
Número de caras	60,000
Duración del procesamiento	1 minuto 45 segundos
Parámetros de texturizado	
Modo de mapeado	Genérico
Modo de mezcla	Mosaico
Tamaño de textura	4,096 x 4,096
Realizar corrección de color	No
Realizar el relleno de agujeros	Sí
Tiempo de mapeado en UV	6 segundos
Tiempo de mezcla	3 minutos 2 segundos
Software	
Versión	1.3.2 build 4205
Plataforma	Windows 64

- Informe *PhotoScan* liquen

Agisoft PhotoScan informe liquen

Informe de procesamiento

06 julio 2017



Datos del levantamiento

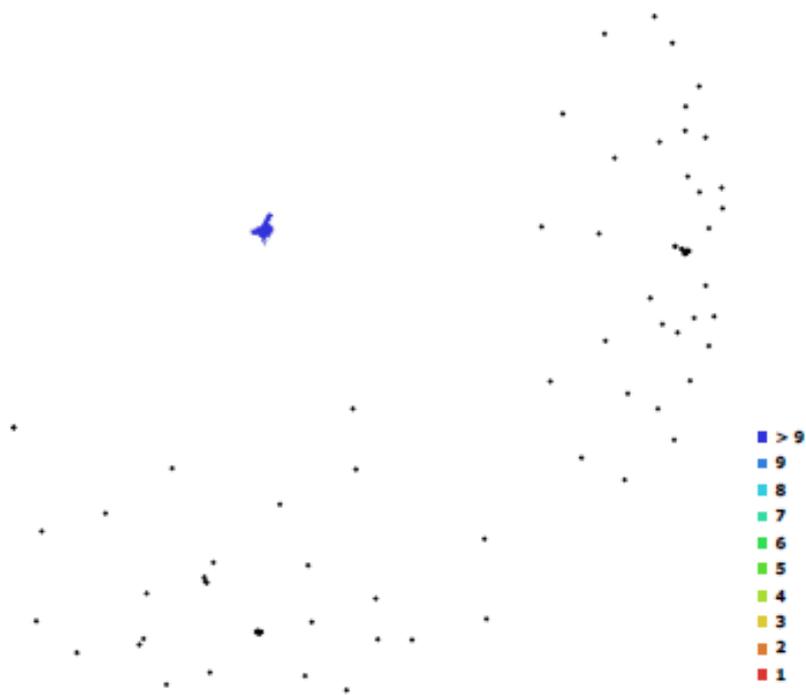


Fig. 1. Posiciones de cámaras y solapamiento de imágenes.

Número de imágenes: 102

Posiciones de cámara: 81

Puntos de enlace: 38,482

Proyecciones: 108,948

Error de reproyección: 0.683 pix

Modelo de cámara	Resolución	Distancia focal	Tamaño de píxel	Precalibrada
unknown	1280 x 960	desconocido	desconocido	No

Tabla 1. Cámaras.

Calibración de cámara

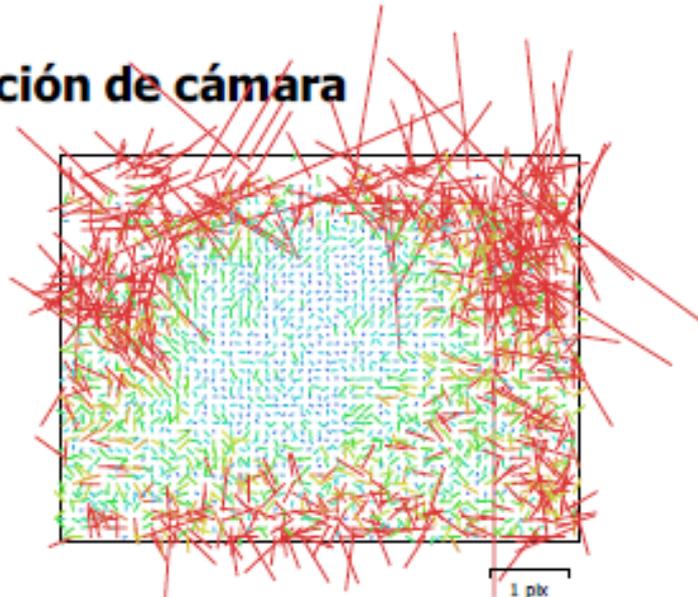


Fig. 2. Gráfico de residuos para unknown.

unknown
102 imágenes

Tipo **Cuadro** Resolución **1280 x 960** Distancia focal **desconocido** Tamaño de píxel **desconocido**

	Valor	Error	F	B1	B2	P1	P2
F	17401.8	1.3e+02	1.00	-0.32	-0.14	-0.29	-0.32
B1	-36.3282	0.91		1.00	0.09	0.24	0.31
B2	-11.3174	0.81			1.00	-0.02	0.16
P1	-0.0504434	0.0011				1.00	0.09
P2	-0.0511407	0.001					1.00

Tabla 2. Coeficientes de calibración y matriz de correlación.

Modelo digital de elevaciones



Fig. 3. Modelo digital de elevaciones.

Parámetros de procesamiento

Generales	
Cámaras	102
Cámaras orientadas	81
Sistema de coordenadas	Local Coordinates (m)
Ángulo de rotación	Guñada, cabeceo, alabeo
Nube de puntos	
Puntos	38,482 de 79,775
RMS error de reproyección	0.354833 (0.682981 pik)
Error de reproyección máximo	1.0827 (28.0565 pik)
Tamaño promedio de puntos característicos	1.82393 pik
Superposición efectiva	2.82174
Parámetros de orientación	
Precisión	Máxima
Pre-selección genérica	No
Pre-selección de referencia	No
Puntos claves por foto	40,000
Puntos de enlace por foto	4,000
Restricción de máscara activa	No
Adaptativo ajuste del modelo de cámara	Sí
Tiempo búsqueda de puntos homólogos	2 horas 0 minutos
Tiempo de orientación	6 minutos 11 segundos
Nube de puntos densa	
Puntos	598,910
Parámetros de reconstrucción	
Calidad	Alta
Filtrado de profundidad	Moderado
Tiempo de generación de mapas de profundidad	15 minutos 28 segundos
Tiempo de generación de nube de puntos densa	22 minutos 57 segundos
Modelo	
Caras	106,741
Vértices	54,169
Textura	4,096 x 4,096, uint8
Parámetros de reconstrucción	
Tipo de superficie	Arbitrario
Datos fuente	Densa
Interpolación	Habilitada
Calidad	Alta
Filtrado de profundidad	Moderado
Número de caras	180,000
Duración del procesamiento	1 minuto 35 segundos
Parámetros de texturizado	
Modo de mapeado	Genérico
Modo de mezcla	Mosaico
Tamaño de textura	4,096 x 4,096
Realzar corrección de color	Sí
Realzar el relleno de agujeros	Sí
Tiempo de mapeado en UV	59 segundos
Tiempo de mezcla	5 minutos 13 segundos
Software	
Versión	1.3.2 build 4205
Plataforma	Windows 64

- Informe *PhotoScan* escarabajo

Agisoft PhotoScan informe escarabajo

Informe de procesamiento
06 julio 2017

Datos del levantamiento

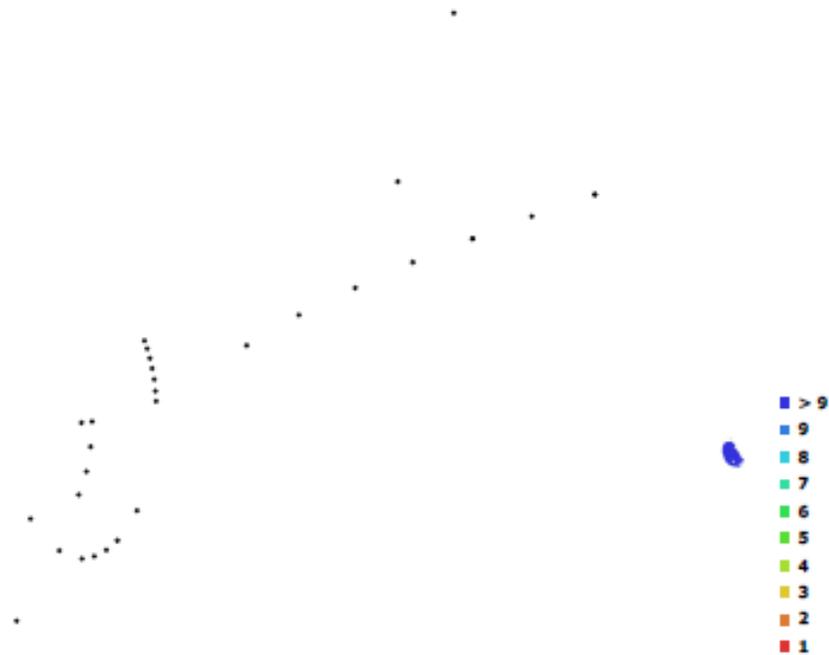


Fig. 1. Posiciones de cámaras y solapamiento de imágenes.

Número de imágenes: 39

Posiciones de cámara: 31

Puntos de enlace: 4,596

Proyecciones: 19,202

Error de reproyección: 0.84 pix

Modelo de cámara	Resolución	Distancia focal	Tamaño de píxel	Precalibrada
unknown	1280 x 960	desconocido	desconocido	No

Tabla 1. Cámaras.

Calibración de cámara

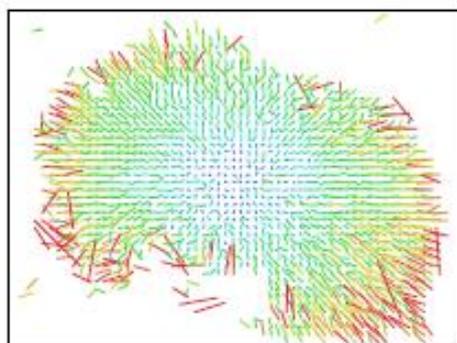


Fig. 2. Gráfico de residuos para unknown. 1 pix

unknown

39 imágenes

Tipo

Cuadro

Resolución

1280 x 960

Distancia focal

desconocido

Tamaño de píxel

desconocido

	Valor	Error	F
F	31043.5	1.2e+03	1.00

Tabla 2. Coeficientes de calibración y matriz de correlación.

Modelo digital de elevaciones



Fig. 3. Modelo digital de elevaciones.

Parámetros de procesamiento

Generales

Cámaras	39
Cámaras orientadas	31
Sistema de coordenadas	Local Coordinates (m)
Ángulo de rotación	Gulfiada, cabeceo, alabeo

Nube de puntos

Puntos	4,596 de 8,594
RMS error de reproyección	0.439581 (0.840267 pik)
Error de reproyección máxima	1.38805 (12.6813 pik)
Tamaño promedio de puntos característicos	1.96401 pik
Superposición efectiva	3.62509

Parámetros de orientación

Precisión	Máxima
Pre-selección genérica	No
Pre-selección de referencia	No
Puntos claves por foto	40,000
Puntos de enlace por foto	1,000
Restricción de máscara activa	No
Adaptativo ajuste del modelo de cámara	Sí
Tiempo búsqueda de puntos homólogos	14 minutos 40 segundos
Tiempo de orientación	1 minuto 14 segundos

Nube de puntos densa

Puntos	1,772,945
Parámetros de reconstrucción	
Calidad	Extra alta
Filtrado de profundidad	Moderado
Tiempo de generación de mapas de profundidad	35 minutos 20 segundos
Tiempo de generación de nube de puntos densa	9 minutos 11 segundos

Modelo

Caras	158,379
Vértices	80,062
Textura	4,096 x 4,096, uint8

Parámetros de reconstrucción

Tipo de superficie	Arbitrario
Datos fuente	Densa
Interpolación	Habilitada
Calidad	Extra alta
Filtrado de profundidad	Moderado
Número de caras	354,585
Duración del procesamiento	6 minutos 18 segundos

Parámetros de texturizado

Modo de mapeado	Genérico
Modo de mezcla	Mosaco
Tamaño de textura	4,096 x 4,096
Realzar corrección de color	Sí
Realzar el relleno de agujeros	Sí
Tiempo de mapeado en UV	1 minuto 30 segundos
Tiempo de mezcla	1 minuto 49 segundos

Software

Versión	1.3.2 build 4205
Plataforma	Windows 64

