

Puente entre **MEDICINA** e **INGENIERIA**
Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

LIBRO DE ACTAS

Ciudad Politécnica de la Innovación (UPV) | VALENCIA

23 AL 25 DE NOVIEMBRE DE 2016

 @caseib16

 <http://caseib16.es>



Organizado por:



UNIVERSITAT
POLITÀCNICA
DE VALÈNCIA

Avelado por:



Patrocinado por:





CASEIB
2016
XXXIV

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

LIBRO DE ACTAS



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Valencia, 23, 24 y 25 de noviembre de 2016

Congresos UPV

CASEIB 2016 XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Los contenidos de esta publicación han sido evaluados por el Comité Científico que en ella se relaciona y según el procedimiento que se recoge en www.caseib16.es

Editor científico

Raimon Jané Campos

Maquetación

Jose M. Bueno Barrachina

Yiyao Ye Lin

Diseño de portada

Carlos Garrigues

Editorial

Editorial Universitat Politècnica de València.

www.lalibreria.upv.es / Ref.: 6342_01_01_01

ISBN: 978-84-9048-531-6 (versión CD)



CASEIB 2016 XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Se distribuye bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional.

Caracterización sub-micrométrica de superficies en biomateriales mediante holografía digital

L. A. Arévalo-Díaz, F. Fanjul-Vélez, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av de los Castros s/n, 39005 Santander, España

arcedj@unican.es

Resumen

El nivel de rugosidad de los biomateriales juega un papel importante en el grado de adhesión de las células al material. Métodos actuales de fabricación de biomateriales son capaces de controlar el grado de aspereza con el fin de asegurar una mejor bio-compatibilidad. En este trabajo se analiza la viabilidad de la técnica de holografía digital para hacer una medida sub-micrométrica de superficies. La holografía es una técnica óptica de alta resolución que permite recuperar la onda objeto completa. Si el objeto se ha desplazado una cantidad muy pequeña y se comparan dos hologramas capturados antes y después del cambio, se tiene lo que se conoce como mapas de diferencia de fase. En general estos mapas se utilizan para medir los cambios que haya sufrido el objeto. Sin embargo en este trabajo se ha encontrado además que, la visibilidad de los mapas depende de la rugosidad de la superficie, con lo que se tendría un método para medir esta característica. La técnica permite medir rugosidades menores que 1/4 de objetos tridimensionales de tamaños milimétricos.

1. Introducción

Los biomateriales se utilizan frecuentemente en implantes dentales, dispositivos ortopédicos, marcapasos o catéteres. Como material más usado está el titanio y sus aleaciones debido a sus propiedades anti-corrosivas y a su alto grado de dureza [1]. Una de las principales preocupaciones de su uso es la bio-compatibilidad. La adhesión de las células al material depende en parte de la topografía de la superficie. Se ha visto que diferentes tipos de células se adhieren mejor a distintos grados de rugosidad [2,3]. En los últimos años se han desarrollado técnicas especiales de fabricación de biomateriales que permiten controlar el grado de rugosidad de la superficie [4]. De ahí la importancia de poder realizar una medida precisa de la topografía del material a nivel sub-micrométrico.

La microestructura de los materiales se puede observar a partir de imágenes de súper-resolución obtenidas con microscopios electrónicos de barrido (SEM) o microscopios de fuerza atómica (AFM), sin embargo estos equipos suelen ser costosos y/o de difícil acceso. Las técnicas ópticas permiten realizar diferentes tipos de medidas como deformaciones de objetos o velocidades de fluidos [5]. Son medidas no invasivas de alta precisión y sensibilidad. Su implementación ha empezado a tomar auge en el análisis de sistemas biomédicos dadas sus múltiples ventajas [6]. En la literatura se pueden encontrar medidas de rugosidad con técnicas ópticas como métodos de *scattering* [7], métodos interferométricos [8,9], o

métodos de *speckle* [10,11], donde se tiene en cuenta únicamente la intensidad capturada del frente de onda del objeto bajo estudio.

En este trabajo se utiliza la holografía digital como técnica alternativa para medir la rugosidad de una superficie. La holografía digital es capaz de medir variaciones del camino óptico de hasta una centésima de la longitud de onda [12]. La técnica recupera no solo la amplitud de la onda objeto sino también su fase a partir de un único registro. Esta última variable almacenará información acerca de las variaciones de altura sub-micrométricas de la superficie.

Algunas medidas de rugosidad realizadas con la holografía digital ya han sido reportadas previamente. En [13] utilizan un objetivo de microscopio para observar el objeto. Este elemento óptico introduce una fase cuadrática difícil de eliminar y produce errores en la medida. Como forma de evaluar la rugosidad de la superficie de un cuerpo opaco o reflector, se medirá la visibilidad de las franjas del mapa de diferencia de fase resultante cuando el objeto ha sufrido un desplazamiento. Al ser un desplazamiento controlado y al utilizar mapas de diferencia de fase, la medida es independiente de la forma del objeto, pudiéndose analizar muestras con cualquier geometría.

En la siguiente sección se presentan los fundamentos teóricos de la holografía digital, donde se describe el proceso de registro de un holograma y la reconstrucción de la onda objeto. Después se muestran algunos hologramas junto con sus reconstrucciones, para objetos con diferente grado de rugosidad. Seguidamente se analizan los mapas de fase resultantes con el objetivo de evaluar la viabilidad de la técnica para caracterizar superficies a nivel sub-micrométrico. Y finalmente se presentan las conclusiones.

2. Fundamentos teóricos de la holografía digital

En la holografía digital se ilumina un objeto tridimensional con la luz de un láser y, el campo de luz que difracta o difunde el objeto (onda objeto) interfiere con un haz coherente (onda de referencia) en un sensor digital (CCD) colocado a una distancia d del objeto, como se muestra en la Figura 1.

La forma de ambas ondas en el sensor estará dada por:

$$o(x, y) = A_o(x, y) \exp[j\phi_o] \quad (1)$$

$$r(x, y) = A_r(x, y) \exp[j\phi_r] \quad (2)$$

donde A y φ corresponden a la amplitud y la fase de la onda respectivamente.

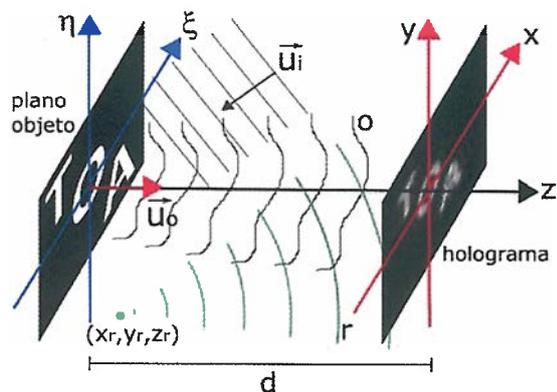


Figura 1. Proceso de registro de un holograma digital.

El patrón de interferencia u holograma almacenado preserva ambas magnitudes (A y φ), tal como se muestra en la siguiente expresión:

$$I(x, y) = A_o^2 + A_r^2 + 2A_o A_r \cos(\varphi_o - \varphi_r). \quad (3)$$

Mediante un proceso numérico de reconstrucción es posible recuperar la información de amplitud y la información de la fase de la onda objeto [12].

En la región de Fresnel ($\xi, \eta \ll d$), la reconstrucción de la amplitud compleja de la onda objeto se realiza mediante la propagación del holograma $I(x, y)$ multiplicado por una onda de reconstrucción $c(x, y)$. El campo óptico se propaga una distancia z mediante la transformada de Fresnel:

$$\Gamma(v, \mu) = \frac{\exp(jkz)}{j\lambda z} \exp[j\pi\lambda z(v^2 + \mu^2)] \times \mathfrak{F}^{-1} \left\{ I(x, y) c(x, y) \exp \left[\frac{jk}{2z} (x^2 + y^2) \right] \right\}, \quad (4)$$

aquí λ es la longitud de onda del láser, $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ es el número de onda, \mathfrak{F} hace referencia a la transformada de Fourier y la imagen resultante aparece re-escalada mediante la siguiente relación: $v = \frac{\xi}{\lambda d}$ y $\mu = \frac{\eta}{\lambda d}$. La intensidad y la fase de la onda objeto se calculan mediante las siguientes expresiones:

$$I(\xi, \eta) = |\Gamma(\xi, \eta)|^2 \quad (5)$$

$$\varphi(\xi, \eta) = \arctan \frac{\text{Im}[\Gamma(\xi, \eta)]}{\text{Re}[\Gamma(\xi, \eta)]}. \quad (6)$$

Cuando dos hologramas se capturan en dos instantes de tiempo diferentes, y si el objeto ha sufrido algún cambio, como un desplazamiento \vec{L} , la diferencia de las fases recuperadas, llamado mapa de diferencia de fase, está relacionado con el desplazamiento de la siguiente forma [14]:

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda} (\vec{u}_o - \vec{u}_i) \cdot \vec{L} \quad (7)$$

donde \vec{u}_o y \vec{u}_i corresponden a los vectores de observación y de iluminación del sistema óptico de registro (Figura 1). Cuando estos vectores son paralelos al eje z pero con sentido contrario, se tendrá que en el mapa de fase cada franja corresponderá a un desplazamiento del objeto en el eje óptico (L_z) de $\lambda/2$.

La definición clásica de visibilidad en el contexto de la interferometría es la siguiente:

$$\mathcal{V} = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}} \quad (8)$$

donde I_{\max} , I_{\min} son los valores máximos y mínimos del mapa. A partir de esta medida se inferirá la rugosidad del material.

3. Resultados y Discusión

Para modelar el proceso, se muestrea discretamente el plano objeto (ξ, η) (ver Figura 1) con una matriz de $N \times N$ y un paso de ancho Δ . Se utilizaron los siguientes parámetros: $\lambda = 630\text{nm}$, $d = 1\text{m}$, $N = 500$, $\Delta = 0.03\text{mm}$, con lo que observa una región de $15 \times 15\text{mm}^2$ en el plano objeto. La máxima frecuencia espacial tiene que adaptarse a la resolución del sensor CCD, para ello se ajusta la distancia entre el objeto y el sensor d , teniendo en cuenta el tamaño del objeto [12].

El objeto se ilumina con una onda plana de amplitud compleja $U_o(x, y, z)$. La onda que difunde el objeto se puede modelar de la siguiente forma:

$$o_o(\xi, \eta) = A_o e^{ik\Gamma(\xi, \eta)}, \quad (9)$$

donde $k\Gamma(\xi, \eta)$ es una función de fase aleatoria relacionada con la rugosidad de la superficie y $A_o = U_o(x, y, z)R(x, y)$. Si se supone que la onda de iluminación incide perpendicularmente y el objeto tiene un coeficiente de reflexión en su superficie ($R(x, y)$) de valor constante, se puede suponer por simplicidad que la amplitud es un valor constante ($A_o = 1$).

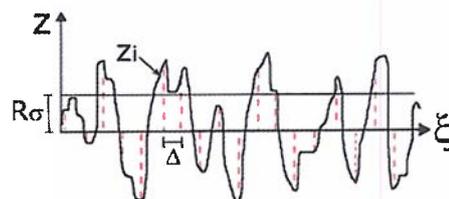


Figura 2. Descripción de la rugosidad de una superficie.

La función aleatoria sigue una distribución normal con una desviación típica (R_σ) del orden de una fracción (n) de la longitud de onda:

$$R_\sigma = n\lambda, \quad (10)$$

esta desviación se puede considerar como una medida de la rugosidad de la superficie (Figura 2).

En la Figura 3a se muestra un objeto en el plano (ξ, η), mientras que la Figura 3b muestra la onda objeto en el plano (x, y). Este campo óptico se encuentra propagando una distancia d , la onda $o_o(\xi, \eta)$ que emana una superficie poco rugosa ($n = 0.01$).

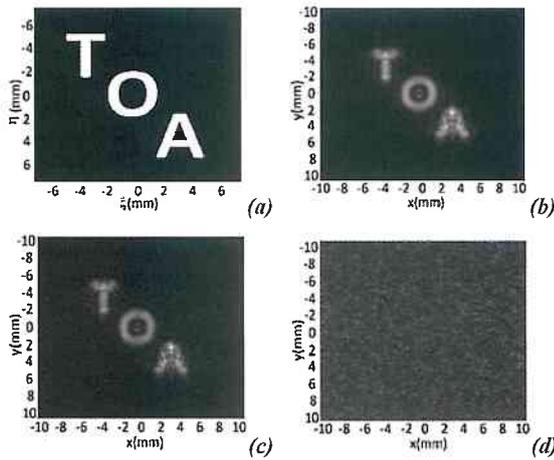


Figura 3. (a) Onda objeto en el plano (ξ, η) . (b) Onda objeto en el plano (x, y) con $n = 0.01$, (c) $n = 0.1$ y (d) $n = 0.5$.

Las imágenes de la Figura 3c-d corresponden a objetos con rugosidades mayores. Se tiene que para objetos poco rugosos, en la pantalla se observa claramente la figura de difracción del objeto, mientras que a medida que aumenta la rugosidad comienza a aparecer un patrón de *speckle* [15]. Técnicas como el *contraste de speckle* sirven para medir la rugosidad en patrones como el de la Figura 3d, sin embargo fallan con objetos con rugosidades pequeñas como el de la Figura 3b.

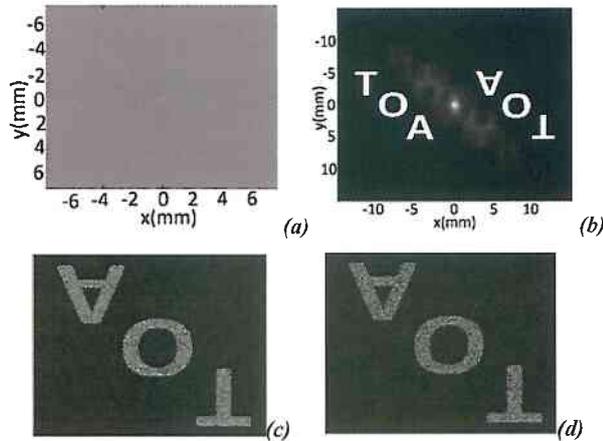


Figura 4. (a) Holograma digital de Fourier sin lente. (b) Reconstrucción de la imagen real y virtual con $n = 0.01$. (c) Imagen reconstruida con $n = 0.1$. (d) Imagen reconstruida con $n = 0.5$.

La onda de referencia es una onda divergente cuyo origen tiene coordenadas $(x_r, y_r, z_r) = (4mm, 0, d)$. Esta configuración corresponde al registro de un holograma de Fourier sin lente.

3.1. Reconstrucción numérica de un holograma digital

La Figura 4a muestra un holograma de este tipo y la Figura 4b muestra su espectro de Fourier, donde se observa tanto la imagen virtual como la imagen real y el orden cero en un mismo plano y completamente separados, tal y como se

espera en este tipo de holografía. Las Figuras 4c y 4d muestran las reconstrucciones de dos objetos con distinta rugosidad: $n = 0.1$ y $n = 0.5$, se ha seleccionado únicamente una de las imágenes reconstruidas. Esta información de intensidad no permite hacer discriminación entre las rugosidades, por eso se trabaja únicamente con la información de fase.

3.2. Análisis de los mapas de diferencia de fase

Para encontrar mapas de diferencia de fase se gira el objeto alrededor del eje ξ un ángulo de 0.01° . El resultado serán mapas de fase como los que se muestran en la Figura 5. Dada la configuración del sistema, cada franja corresponde a un desplazamiento de $\frac{\lambda}{2} = 315nm$. La Figura 5 muestra dos mapas junto con un perfil vertical (línea roja en el mapa) correspondientes a dos objetos con rugosidades distintas. Uno de ellos más rugoso ($n = 0.5$) que el otro ($n = 0.01$). En los mapas resultantes se observa que el contraste de las franjas es diferente. Además se tiene que la cantidad de ruido presente en la imagen también varía.

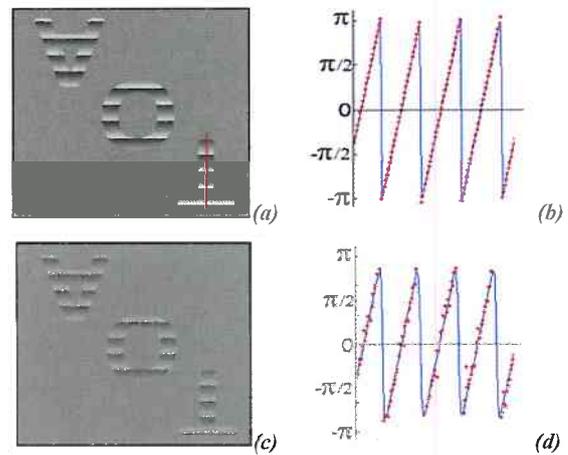


Figura 5. Mapas de diferencia de fase y perfil vertical central para (a-b) $n = 0.01$ y (c-d) $n = 0.5$.

Para medir la visibilidad \mathcal{V} primero se filtran los mapas para eliminar el ruido. Sobre estas imágenes se calcula \mathcal{V} usando la ecuación (4). El resultado de esta medida para diferentes rugosidades se observa en la Figura 6. Se analizaron objetos cuya rugosidad variaba, variando n entre 0 y 0.5 cada 0.01.

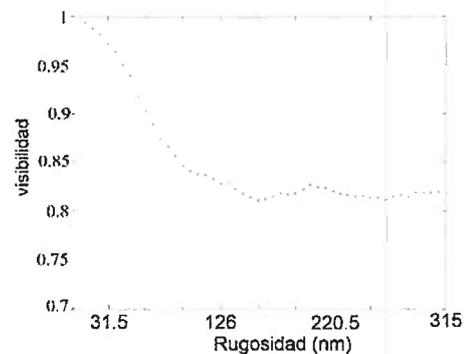


Figura 6. Visibilidad de las franjas del mapa de diferencia de fase con respecto a una medida de rugosidad (n).

Es claro que la visibilidad decrece a medida que aumenta la rugosidad de la superficie hasta alcanzar un límite entorno a $\nu = 0.82$, este valor se alcanza cuando $n = 0.3$. Para rugosidades mayores la visibilidad de las franjas permanece constante.

También es de interés medir el ruido presente en los mapas. Para ello se encuentra la desviación típica de los datos con respecto a un mapa de fase filtrado (sin ruido). El resultado se muestra en la Figura 7, nuevamente se observa una tendencia clara, la cantidad de ruido aumenta cuando aumenta la rugosidad hasta que se alcanza un valor constante.

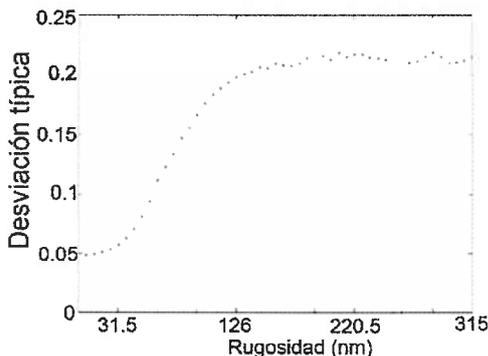


Figura 7. Desviación típica de los valores del mapa de diferencia de fase con respecto a n .

Estos resultados muestran que con el análisis propuesto es posible diferenciar grados de rugosidad a partir de los mapas de diferencia de fase. Con esta propuesta, además de tener una medida acerca de los cambios que haya sufrido el objeto, también se podrá medir su grado de rugosidad.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha evaluado numéricamente la capacidad de la holografía digital para medir las variaciones submicrométricas de un biomaterial. Como propuesta novedosa se mide la calidad de los mapas de fase resultantes cuando el objeto se somete a un giro de 0.01° . Se observó que la curva de visibilidad de las franjas con respecto a la rugosidad mantiene una tendencia a decrecer a medida que la rugosidad aumenta hasta llegar a un valor límite. Situación similar que ocurre con el ruido presente en la imagen, el cual aumenta cuando aumenta la rugosidad. Estos resultados muestran que es posible caracterizar la rugosidad de materiales por medio de una técnica óptica que requiere pocos elementos ópticos y que es altamente sensible. Como trabajo futuro se espera continuar con las medidas experimentales correspondientes con el fin de validar los resultados.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España "Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión" (MAT2015-69508-P), cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Brunette, D. M., Tengvall, P., Textor, M., & Thomsen, P. (Eds.). (2012). Titanium in medicine: material science, surface science, engineering, biological responses and medical applications. Springer Science & Business Media.
- [2] Jouanny, I., Labdi, S., Aubert, P., Buscema, C., Maciejak, O., Berger, M. H. & Jeandin, M. (2010). Structural and mechanical properties of titanium oxide thin films for biomedical application. *Thin Solid Films*, 518(12), 3212-3217.
- [3] Hu, X., Park, S. H., Gil, E. S., Xia, X. X., Weiss, A. S., & Kaplan, D. L. (2011). The influence of elasticity and surface roughness on myogenic and osteogenic-differentiation of cells on silk-elastin biomaterials. *Biomaterials*, 32(34), 8979-8989.
- [4] Ozdemir, Z., Ozdemir, A., & Basim, G. B. (2016). Application of chemical mechanical polishing process on titanium based implants. *Materials Science and Engineering: C*.
- [5] Laura Arévalo, Virginia Palero, Julia Lobera, Nieves Andrés, Pilar Arroyo. "Combining endoscopes with PIV and digital holography for the study of vessel model mechanics". *Meas. Sci. & Tech.* 26, 115701 (2015).
- [6] Laura Arévalo, "Desarrollo de técnicas ópticas avanzadas para el análisis de sistemas biomédicos," Tesis de Doctorado (Universidad de Zaragoza, España 2015).
- [7] Tay, C. J., Wang, S. H., Quan, C., & Shang, H. M. (2003). In situ surface roughness measurement using a laser scattering method. *Optics Communications*, 218(1), 1-10.
- [8] Blunt, R. T. (2006, April). White Light Interferometry—a production worthy technique for measuring surface roughness on semiconductor wafers. In *Proceedings of CS MANTECH Conference* (pp. 59-62).
- [9] Lehman, M. M., Pomarico, J. A., & Torroba, R. D. (1995). Digital speckle pattern interferometry applied to a surface roughness study. *Optical Engineering*, 34(4), 1148-1152.
- [10] Leonard, L. C., & Toal, V. (1998). Roughness measurement of metallic surfaces based on the laser speckle contrast method. *Optics and Lasers in Engineering*, 30(5), 433-440.
- [11] Léger, D., Mathieu, E., & Perrin, J. C. (1975). Optical surface roughness determination using speckle correlation technique. *Applied optics*, 14(4), 872-877.
- [12] Schnars U. and Jueptner W., [Digital Holography], Springer Berlin Heidelberg, New York (2005).
- [13] Montfort, F., Emery, Y., Solanas, E., Cuche, E., Aspert, N., Marquet, P. & Depeursing, C. (2006, November). Surface roughness parameters measurements by Digital Holographic Microscopy (DHM). In *Third International Symposium on Precision Mechanical Measurements* (pp. 62800V-62800V). International Society for Optics and Photonics.
- [14] Vest C.M., [Holographic Interferometry], Wiley Series in Pure and Applied Optics, Wiley, New York (1979).
- [15] Rastogi, Pramod K. "Digital speckle pattern interferometry and related techniques." *Digital Speckle Pattern Interferometry and Related Techniques*, by PK Rastogi (Editor), pp. 384. ISBN 0-471-49052-0. Wiley-VCH, December 2000. 1 (2000).