REDUCCIÓN DE RUIDO EN SEÑALES DE ESPECTROSCOPIA RAMAN

Por

Luis Arcesio Quintero-Pizo

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requerimientos para el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

en

INGENIERÍA ELÉCTRICA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2008

Aprobada por:

Miguel Vélez-Reyes, Ph.D Miembro, Comité Graduado	Fecha
Vidya Manian, Ph.D Miembro, Comité Graduado	Fecha
Shawn Hunt, Ph.D Presidente, Comité Graduado	Fecha
Samuel Hernández, Ph.D Representante de Estudios Graduados	Fecha
Isidoro Couvertier, Ph.D Director del Departamento	Fecha

Resumen de Disertación Presentado a Escuela Graduada
de la Universidad de Puerto Rico como requisito parcial de los
Requerimientos para el grado de Maestría en Ciencias

REDUCCIÓN DE RUIDO EN SEÑALES DE ESPECTROSCOPIA RAMAN

Por

Luis Arcesio Quintero-Pizo

2008

Consejero: Shawn Hunt
Departamento: Ingeniería Eléctrica y Computadoras

En este documento se desarrollan algoritmos de reducción de ruido para mejorar señales de espectroscopía Raman manteniendo la información de la señal. Dos tipos de ruido afectan las medidas, ruido impulsivo causado por radiación de alta energía y rayos cósmicos, y ruido aleatorio producido en la estimación de la dispersión Raman. Dos etapas secuenciales fueron desarrolladas para procesar imágenes Raman; la primera etapa trata de remover ruido impulsivo y la segunda reduce el ruido aleatorio. Los algoritmos fueron probados con datos reales, así como datos sintéticos, y comparados usando el promedio del cuadrado de los errores (MSE por sus siglas en inglés) y la norma infinita (L_∞). Con relación a la reducción de ruido aleatorio, los resultados muestran un mejor comportamiento para eliminación de ruido con Wavelets, en términos de MSE y L_∞, en comparación con los filtros Kalman y el ampliamente usado filtro de Savitzky-Golay.

Abstract of Dissertation Presented to the Graduate School
of the University of Puerto Rico in Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree of Maestría en Ciencias

NOISE REDUCTION IN RAMAN SPECTROSCOPY SIGNALS

By

Luis Arcesio Quintero-Pizo

2008

Chair: Shawn Hunt
Major Department: Electrical and Computer Engineering

Noise reduction algorithms were developed in order to improve Raman spectroscopy signals while preserving signal information. Two kinds of noise affect the measurements, impulsive noise caused by high-energy radiation and cosmic rays, and random noise produced in Raman backscattering estimation. Two sequential stages were developed to process the Raman images; the first stage attempts to remove the impulsive noise and the second one reduces the random noise. The explored algorithms have been tested using real data as well as synthetic data, and compared using the Means Squared Error (MSE) and the Infinity Norm (L_∞). In terms of random noise reduction, results show Wavelet denoising performs better, in the sense of MSE and L_∞, compared to Kalman filters and the widely used Savitzky-Golay filter.

TABLA DE CONTENIDO

página

RESUMEN ii

ABSTRACT iii

LISTA DE TABLAS vi

LISTA DE FIGURAS viii

1 INTRODUCCIÓN 1

1.1 Objetivos 3
1.1.1 Objetivo General 3
1.1.2 Objetivos Específicos 3
1.2 Resumen de la tesis 4

2 FUNDAMENTOS 6

2.1 Radiación Electromagnética 6
2.2 Espectroscopia 8
2.3 Espectroscopia Raman 9
2.4 Espectroscopios Raman Dispersivos 11
2.4.1 Sistema de Detección 13
2.4.1.1 Respuesta de los Sensores CCD 14
2.5 Microespectroscopía Raman e Imáganes Raman 16
2.6 Adquisición de Espectros Raman 16
2.7 Ruido y Señales Espurias en Espectroscopia Raman 18
2.7.1 Estadística del Ruido 19
2.7.2 Relación Señal a Ruido 21
2.8 Trabajo Previo 22
2.9 Filtro de Savitzky-Golay 25

3 MARCO TEÓRICO 29

3.1 Modelo de la Señal y Sistema de Reducción de Ruido 29
3.2 Filtro de Ruido Impulsivo 31
3.2.1 Método Basado en Espectro 32
3.2.1.1 Clasificación de Picos Cósmicos 36
3.2.2 Método Espacial 39
3.3 Filtrado de Ruido Aleatorio 43
3.3.1 Reducción de Ruido con Wavelets 44

3.3.1.1 Transformada Wavelet . . . 45
3.3.1.2 Transformada Discreta de Wavelet . . . 47
3.3.1.3 Análisis Multiresolución . . . 48
3.3.1.4 Aproximaciones Wavelets . . . 50
3.3.1.5 Método de Ubralizado Wavelets . . . 50
3.3.2 Filtros Kalman . . . 52

4 RESULTADOS DE EXPERIMENTOS . . . 55

4.1 Metodología . . . 56
4.1.1 Datos Reales . . . 56
4.1.1.1 Estadística del Ruido de los Datos Experimentales . 60
4.1.1.2 Relación Señal a Ruido . . . 62
4.1.2 Datos Sintéticos . . . 63
4.1.2.1 Picos Gaussianos y Lorentzianos . . . 64
4.1.2.2 Señal Suave y Mixta . . . 65
4.1.2.3 Background, Bias y Ruido Aleatorio . . . 66
4.1.3 Medidas de Rendimiento . . . 67
4.1.3.1 Error Cuadrático Medio . . . 67
4.1.3.2 Norma Infinita o Norma Máxima . . . 67
4.2 Resultados del Filtro de Ruido Impulsivo . . . 68
4.3 Resultados de los Filtros de Ruido Aleatorio . . . 72
4.3.1 Parámetros del Filtro de Savitzky-Golay . . . 72
4.3.2 Medidas de Rendimiento . . . 75
4.3.3 Resultados de Compuestos de Color . . . 89

5 CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO . . . 93

5.1 Conclusiones . . . 93
5.2 Trabajo Futuro . . . 95

REFERENCIAS . . . 96

LISTA DE TABLAS

Tabla página

3.1 Información espectral de las imágenes y compuesto de color 38

3.2 Muestras de entrenamiento de picos cósmicos. 38

3.3 Métodos de umbralizado 51

3.4 Ecuaciónes del filtro Kalman 54

4.1 Regresión lineal de $s[n]$ versus $\sigma_R[n]$. 62

4.2 Valores de SNR para los espectros de polímero y agua. 63

4.3 MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Polímero 75

4.4 MSE para Wavelets, polímero con tiempo de integración de 200ms . . 75

4.5 MSE para Wavelets, polímero con tiempo de integración de 400ms . . 75

4.6 MSE para Wavelets, polímero con tiempo de integración de 800ms . . 75

4.7 MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Agua 76

4.8 MSE para Wavelets, agua con tiempo de integración de 200ms 76

4.9 MSE para Wavelets, agua con tiempo de integración de 400ms 76

4.10 MSE para Wavelets, agua con tiempo de integración de 800ms 76

4.11 MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Picos Lorentzianos . . 77

4.12 MSE para Wavelets, picos Lorentzianos con $SNR = 10$ 77

4.13 MSE para Wavelets, picos Lorentzianos con $SNR = 20$ 77

4.14 MSE para Wavelets, picos Lorentzianos con $SNR = 40$ 77

4.15 MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Picos Gaussianos . . 78

4.16 MSE para Wavelets, picos Gaussianos con $SNR = 10$ 78

4.17 MSE para Wavelets, picos Gaussianos con $SNR = 20$ 78

4.18 MSE para Wavelets, picos Gaussianos con $SNR = 40$ 78

4.19 MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Señal suave 79

4.20 MSE para Wavelets, señal suave con $SNR = 10$ 79
4.21 MSE para Wavelets, señal suave con $SNR = 20$ 79
4.22 MSE para Wavelets, señal suave con $SNR = 40$ 79
4.23 MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Señal mixta 80
4.24 MSE para Wavelets, señal mixta con $SNR = 10$ 80
4.25 MSE para Wavelets, señal mixta con $SNR = 20$ 80
4.26 MSE para Wavelets, señal mixta con $SNR = 40$ 80
4.27 MSE y L_∞ para los mejores métodos, polímero. 83
4.28 MSE y L_∞ para los mejores métodos, agua. 84
4.29 MSE y L_∞ para los mejores métodos, picos Gaussianos. 85
4.30 MSE y L_∞ para los mejores métodos, picos Lorentzianos. 86
4.31 MSE y L_∞ para los mejores métodos, señal suave. 87
4.32 MSE y L_∞ para los mejores métodos, señal mixta. 88

LISTA DE FIGURAS

Figura página

2.1 Espectro Electromagnético. 7

2.2 Procesos de absorción, emisión y emisión estimulada. 8

2.3 Dispersión Raman y Rayleigh 10

2.4 Espectro de radiación dispersada. 11

2.5 Espectroscopio Raman 12

2.6 Dispersión de longitud de onda 13

2.7 Detector CCD y señal de salida. 15

2.8 Imagen Raman - Imagen hiperespectral. 16

2.9 Picos cósmicos reales. 19

2.10 Mínimos cuadrados - Savitzky-Golay. 25

2.11 Respuesta en frecuencia de los filtros Savitzky-Golay 28

3.1 Modelo de la señal 30

3.2 Sistema de reducción de ruido 31

3.3 Ruido impulsivo espectral. 32

3.4 Single Spectrum Impulsive Noise Filter (SSINF) - Método espectral. . 33

3.5 Filtro de mediana. 33

3.6 Histograma del espectro y de los picos agudos aislados. 34

3.7 Espectro con bandas Raman agudas y ruido impulsivo. 35

3.8 Imágenes Raman contaminadas con ruido impulsivo 37

3.9 Área de picos cósmicos y no-cósmicos 39

3.10 Ruido impulsivo espacial. 40

3.11 Ventana deslizante de 3×3. 41

3.12 Ejemplo numérico de ventana deslizante 3×3. 42

3.13 Algoritmos de reducción de ruido aleatorio. 43
3.14 Diagrama de umbralizado con Wavelets. 45
3.15 Transformada Wavelet Continua (TWC) 47
3.16 Umbralizado fuerte y suave. 51
4.1 Espectro del polímero, tiempo de integración de 200ms 58
4.2 Espectro del polímero, tiempo de integración de 400ms 58
4.3 Espectro del polímero, tiempo de integración de 800ms 58
4.4 Espectro de agua, tiempo de integración de 200ms 59
4.5 Espectro de agua, tiempo de integración de 400ms 59
4.6 Espectro de agua, tiempo de integración de 800ms 59
4.7 Estadísticas de datos reales para tiempo de integración de 200ms . . . 60
4.8 Estadísticas de datos reales para tiempo de integración de 400ms . . . 60
4.9 Estadísticas de datos reales para tiempo de integración de 800ms . . . 61
4.10 Datos sintéticos. 64
4.11 Datos sintéticos con ruido, $SNR = 10$. 66
4.12 Resultados del filtro impulsivo, Conjunto de datos 1 68
4.13 Distorción del filtro impulsivo, Conjunto de datos 1 69
4.14 Resultados del filtro impulsivo, Conjunto de datos 2 70
4.15 Distorción del filtro impulsivo, Conjunto de datos 2 71
4.16 Filtro de Savitzky-Golay, Superficie MSE 74
4.17 Medidas de rendimiento para el polímero. 83
4.18 Medidas de rendimiento para el agua. 84
4.19 Medidas de rendimiento para los picos Gaussianos. 85
4.20 Medidas de rendimiento para los picos Lorentzianos. 86
4.21 Medidas de rendimiento para la señal suave. 87
4.22 Medidas de rendimiento para la señal mixta. 88
4.23 Compuesto de color para conjunto de datos 1 89

4.24 Compuesto de color para conjunto de datos 2 90
4.25 Compuesto de color para conjunto de datos 3 91
4.26 Compuesto de color para conjunto de datos 4 92

CAPÍTULO 1
INTRODUCCIÓN

Espectroscopia Raman es una herramienta potente en la medición de propiedades físicas y químicas de materiales. Está basado en la medición de intensidad de dispersión Stokes y anti-Stokes, también conocida como dispersión Raman. En química analítica, la dispersión Raman es producida por radiación monocromática, tal como *Laser*[1] , que ilumina la muestra de prueba. La radiación reflejada es medida con respecto a la longitud de onda, también representada por el número de onda, para producir el llamado espectro Raman. Este espectro es caracterizado por un conjunto de picos que representan vibraciones moleculares del material bajo estudio.

La espectroscopia Raman requiere una instrumentación especial normalmente compuesta por un sistema óptico que colecta y dispersa la radiación reflejada y un sistema de detección que mide la radiación dispersada para así producir el espectro Raman. Dado que la señal dispersada por una muestra es radiación infrarroja de baja energía, es necesario un detector con alta sensibilidad.

La industria ha diseñado instrumentación optoelectrónica especial para incrementar la precisión en las medidas de estimación de dispersión Raman. Dispositivos como detectores CCD (Charge-Coupled Devices) son usados frecuentemente en espectroscopios. A pesar de los avances tecnológicos, son inevitables las señales

[1] Laser: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

expureas y ruido en espectroscopia Raman. Las fuentes más comunes son: ruido de lectura, ruido térmico y ruido impulsivo.

Generalmente, es difícil obtener información directamente de un espectro ruidoso. En consecuencia, es necesario un sistema de preprocesamiento para estimar la radiación dispersada que es emitida por un segmento de muestra excitada por el rayo Laser. Una aproximación común en el modelo de un espectro ruidoso es considerar la señal de dispersión Raman junto con un *ruido aleatorio* y un componente de *ruido impulsivo*. El ruido impulsivo es causado principalmente por rayos cósmicos que caen en el detector CCD y producen picos en el espectro Raman.

Sistemas ópticos como microscopios son acoplados a espectroscopios Raman. Estos sistemas enfocan el rayo Laser y leen información en pequeñas áreas en la muestra. Esta técnica es conocida como micro-espectroscopia Raman. Adicionalmente, un sistema de posicionamiento es acoplado al espectroscopio para obtener información espacial de materiales heterogéneos. Las muestras son posicionadas en tres dimensiones obteniendo espectros en un patrón espacial. Generalmente las imágenes son procesadas usando algoritmos multivariable para producir mapas de clases que muestran la localización de diferentes componentes.

Imágenes Raman son ampliamente usadas en biología en la caracterización de materiales heterogéneos tales como células y tejidos con el propósito de detectar enfermedades, estudios morfológicos de las células, comportamiento celular o descubrimiento de medicamentos. Esta técnica es usada por que revela componentes celulares, permite explorar pequeñas áreas en la muestra y es una técnica de medida no destructiva.

Este trabajo es basado en un trabajo colaborativo con el grupo de investigación del grupo liderado por el profesor Max Diem en Northeastern University - Boston, MA.

Este grupo usa micro-espectroscopia Raman para estudios en biología celular. Generalmente las imágenes Raman usadas son adquiridas en las direcciones (x, y), y los resultados son procesados usando métodos de clasificación clásicos, tales como Principal Component Analysis y Hierarchical Cluster Analysis. Para mejorar los resultados de los algoritmos, el Dr. Diem diseñó un algoritmo para remover ruido impulsivo pero él argumenta que su algoritmo no es óptimo porque este no remueve algunos picos no deseados. Algunos métodos clásicos para remover ruido impulsivo son implementados en Cytospec®; un software comercial desarrollado por el Dr. Diem y su grupo.

En este trabajo, se estudia el ruido en espectroscopia Raman y se describen varias técnicas para remover el ruido en los espectros. Dos algoritmos son presentados para reducir el ruido impulsivo. Se proponen los métodos de reducción de ruido con Wavelets y filtros Kalman, y estos algoritmos son comparados con el clásico filtro de suavizado de Savitzky-Golay.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General

El objetivo general de esta investigación es diseñar un sistema de pre-procesamiento que remueva el ruido en espectros Raman minimizando la pérdida de información deseada.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar el ruido en espectros Raman para determinar las propiedades de las señales de dispersión Raman, la estadística del ruido no-impulsivo y las propiedades morfológicas del ruido impulsivo.
- Diseñar filtros para remover señales espúreas en espectros Raman usando propiedades del ruido y características del la dispersión Raman.

- Comparar los nuevos algoritmos con los reportados en la literatura.

1.2 Resumen de la tesis

Algunas convenciones acerca de la notación han sido tomadas en este documento para poder describir procedimientos teóricos y algoritmos. En general, letras minúsculas como $\{s, x, y\}$, indicaran señales o variables. Letras cómo $\{i, j, k, l\}$, serán subíndices de señales o variables e indicarán posiciones en arreglos o un elemento en un conjunto. Las letras mayúsculas y letras griegas serán escalares tales como dimensiones de matrices, constantes o parámetros de funciones. Letras minúsculas en negrilla (i.e. $\mathbf{x}$) indican vectores y letras mayúsculas en negrilla indican matrices (i.e. $\mathbf{A}$).

Cuando una señal está expresada con letras encerradas entre paréntesis (i.e. $x(t)$), esto denotará señales con un dominio continuo t. Si las letras están encerradas entre corchetes (i.e. $x([n])$, se referirá a señales de dominio discreto, siendo n entero.

Este documento esta organizado en primera instancia por un capítulo de introducción, seguido por cuatro capítulos, el apéndice y un listado de referencias usadas en este documento. El Capítulo 2 da una revisión acerca del espectro electromagnético y su interacción con la materia. En este capítulo se presenta una introducción a espectroscopia y espectroscopia Raman. También, se describe el proceso de adquisición de la radiación producto de la dispersión Raman y cómo las medidas pueden ser afectadas por ruido. Se mencionan trabajos previos relacionados con reducción de ruido y se presenta una descripción del algoritmo más famoso de reducción de ruido; filtro de suavizado de Savitzky-Golay.

El Capítulo 3 describe los algoritmos desarrollados en este trabajo para reducción de ruido en espectros Raman. Este capítulo se divide en dos partes, la primera parte esta relacionada con reducción de ruido impulsivo y la última parte describe los algoritmos de reducción de ruido aleatorio. El Capítulo 4 presenta una

discusión general acerca de metodología usada para comparar los métodos de reducción de ruido desarrollados en este documento. Datos reales y sintéticos fueron usados para probar los algoritmos. Medidas de rendimiento fueron calculadas para hacer comparaciones entre algoritmos.

El Capítulo 5 presenta las conclusiones de este trabajo y las futuras direcciones de la investigación sobre los tópicos discutidos en este documento.

CAPÍTULO 2
FUNDAMENTOS

Este trabajo se enfoca en la reducción de ruido en señales de espectroscopia Raman adquiridas con espectroscopios dispersivos. En este capítulo se presentan algunos conceptos sobre radiación electromagnética, su interacción con la materia, imágenes espectroscópicas y espectroscopia Raman. También se presentan las diferentes fuentes de ruido que afectan la estimación de la dispersión Raman. Finalmente, se presenta el trabajo previo con la intención de tener un estado del arte con respecto a estudios sobre reducción de ruido.

2.1 Radiación Electromagnética

La radiación electromagnética (EM) puede describirse usando propiedades de ondas y partículas. El modelo usado para radiación EM depende del fenómeno que se estudie, por ejemplo, los procesos de absorción y emisión se describen mejor como partículas o fotones; procesos como la difracción se describen mejor como ondas.

Las ondas EM consisten de campos eléctricos y magnéticos oscilantes, perpendiculares entre si. Estas ondas se propagan linealmente en el espacio en la dirección ortonormal a los campos eléctricos y magnéticos. En el vacío, la onda viaja a una velocidad de $c = 2.99792 \times 10^8\ m/s$. La radiación EM es generalmente caracterizada por su longitud de onda (λ) y/o frecuencia (ν).

Otra unidad usada para describir las ondas electromagnéticas es el número de onda ($\tilde{\nu}$), el cual es el recíproco de la longitud de onda

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c}.$$

Cuando la radiación EM se considerada como una partícula, esta consiste de partículas llamadas fotones. La energía de un foton depende solamente de su longitud de onda, o de forma equivalente, de su frecuencia

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = hc\tilde{\nu}, \tag{2.1}$$

donde h es la constante de Plank, $h = 6.626068 \times 10^{-34}\ J\ s$.

La radiación EM se divide típicamente en regiones de acuerdo con la longitud de onda o frecuencia. Cada región se define con base en la forma en que las ondas son generadas. Los límites entre las regiones no son rígidos y es posible encontrar solapamientos entre regiones. Estas regiones son conocidas como el *espectro electromagnético* (Figura 2.1).

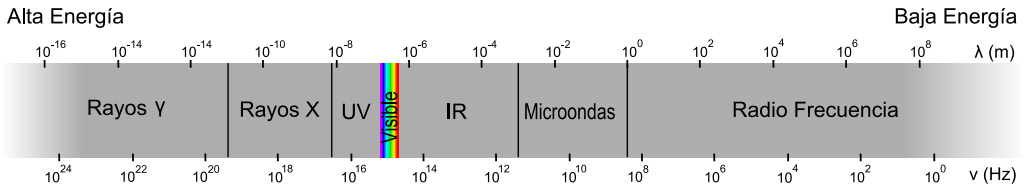


Figura 2.1: Espectro Electromagnético.

Los rayos Gamma, denotados como γ, son generados en procesos de alta energía procedentes de transiciones nucleares en la materia. Los *Rayos X* son producidos por desaceleración de electrones o por ionización de electrones cercanos a los núcleos de los átomos en la materia. Los *Rayos Ultravioleta (UV)* y radiación visible son producidas por reacciones químicas o ionización de los electrones de valencia en átomos. La *Radiación Infrarroja (IR)* es producida por vibraciones moleculares en la materia. Finalmente, las ondas de *Radio Frecuencia (RF)* son producidas

por cambios de espin electrónico en moléculas o por electrones libres en campos magnéticos.

2.2 Espectroscopia

La espectroscopia estudia la interacción de las ondas EM con los átomos y las moléculas en la materia. En espectroscopia, las propiedades de los átomos y moléculas son descritas por la mecánica cuántica. La energía de un sistema puede ser descrita solamente por medio de estados discretos (solamente ciertos niveles de energía son posibles). Cada nivel de energía de un átomo o molécula esta relacionado con su configuración electrónica dado por los orbitales atómicos y moleculares.

Diversos métodos espectroscópicos estudian transiciones entre niveles de energía en la materia causados por radiación electromagnética o reacciones químicas. Estos métodos se basan en *absorción*, *emisión* y *dispersión* de radiación. La absorción es el proceso en el cual los fotones transfieren toda su energía a la materia, los fotones desaparecen y una transición entre niveles de energía es producida en el átomo o molécula (ver Figura 2.2, $E_2 > E1$).

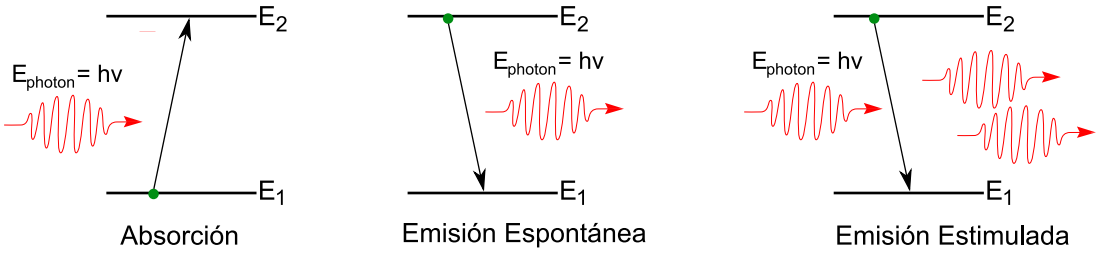


Figura 2.2: Procesos de absorción, emisión y emisión estimulada.

La emisión espontánea es un proceso en el cual un fotón es creado por transmisión de energía desde un nivel superior de energía (E_2) a un nivel inferior de energía (E_1). La emisión estimulada es cuando la transición de energía es producida por un segundo fotón de la misma energía. En los procesos de absorción y emisión,

las transiciones entre niveles de energía son producidos con una energía igual a la diferencia dada por: $\Delta E = h\nu = E_2 - E_1$.

Existen dos tipos de dispersión: elástica e inelástica. La dispersión elástica es el proceso de absorción seguido por un proceso de emisión al mismo nivel de energía, así, no hay perdida o ganancia de energía. Este tipo de dispersión generalmente es dividida en dispersión Rayleigh y dispersión Mie. La dispersión inelástica es producida cuando la radiación re-emitida tiene cambios de energía. Algunos efectos de la dispersión inelástica son la dispersión Brillouin, dispersión Raman y dispersión Compton.

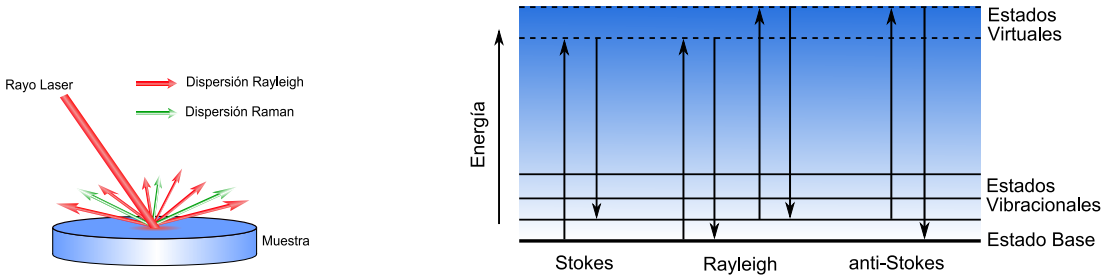
El instrumento que permite medir propiedades de los materiales por medio de la interacción radiación-materia es llamado espectroscopio. Este instrumento esta compuesto de una fuente de radiación que excita la muestra, un sistema de detección que mide la radiación resultante y un sistema de adquisición que permite visualizar y almacenar la señal en una forma conveniente. Las medidas resultantes son llamadas espectros y son gráficas de la intensidad de la radiación con respecto a la energía, también expresada en unidades de frecuencia o número de onda. El número de onda es la unidad que más se usa, está relacionada con la longitud de onda y es directamente proporcional a la energía (ver ecuación 2.1).

2.3 Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman esta basado en el fenómeno de dispersión inelástica. Esta es una de las técnicas más usadas en química en la identificación de moléculas. En esta técnica se usa una fuente monocromática de radiación para producir dispersión elástica e inelástica en una muestra, como se muestra en la Figura 2.3(a).

La radiación incidente interactúa con la materia y polariza (cambios de energía) los orbitales de las moléculas o átomos de la muestra. Esta radiación crea un nuevo estado llamado *estado virtual*. Como este nivel de energía no es un estado

estable, se re-emite un fotón rápidamente. En este proceso se presentan dos tipos de dispersión, dispersión elástica conocida como dispersión Rayleigh y dispersión inelástica conocida como dispersión Raman.



(a) (b)

Figura 2.3: Dispersión Raman y Rayleigh: (a) Dispersión; (b) Niveles de Energía.

El proceso mas probable es la dispersión Rayleigh y no cambia la energía de la radiación re-emitida (Figura 2.3(b)). Una pequeña parte de la radiación re-emitida es a diferente energía debido a la dispersión inelástica, dicha radiación es conocida como dispersión Raman. En este caso, el proceso de dispersión induce movimiento molecular y, consecuentemente, se puede presentar un intercambio de energía de fotón a molécula o átomo y viceversa[1]. La dispersión Raman es un proceso débil y solo 1 de $10^6 - 10^8$ fotones incidentes son dispersados de forma inelástica.

La dispersión Raman se divide en dos procesos, el primero de ellos es la dispersión Stokes y es producida cuando la molécula se excita desde el nivel vibracional de base y decae en un nivel vibracional más alto. En este caso, la molécula absorbe la energía. El segundo proceso es la dispersión anti-Stokes y es producida cuando la molécula cambia su nivel de energía desde un nivel vibracional excitado a un nivel energético inferior, en este caso la molécula pierde energía.

La dispersión anti-Stokes es un proceso débil debido a que la mayoría de las moléculas se encuentran en el nivel vibracional de base a temperatura ambiente. Por lo tanto, usualmente en espectroscopia Raman se observa la dispersión Stokes.

Un espectro Raman consiste en una gráfica de la intensidad de la radiación versus el desplazamiento de energía (energy shift) con respecto a la radiación incidente (número de onda de la radiación incidente). Usualmente, la energía de la radiación es expresada en términos del número de onda ($\tilde{\nu}$) en unidades de cm^{-1}. El rango de desplazamiento de energía Raman esta entre $0cm^{-1}$ y $3500cm^{-1}$. La Figura 2.4 muestra un ejemplo de un espectro de radiación dispersada, note la simetría del espectro Raman con respecto a la banda Rayleigh (banda central).

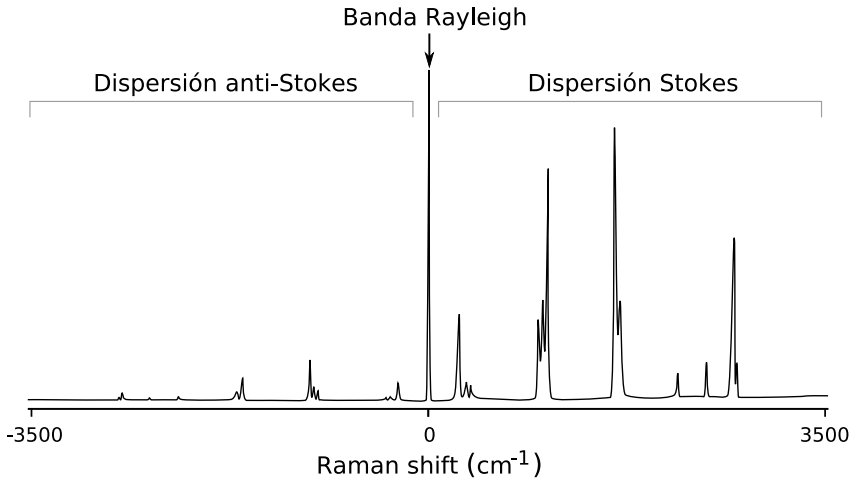


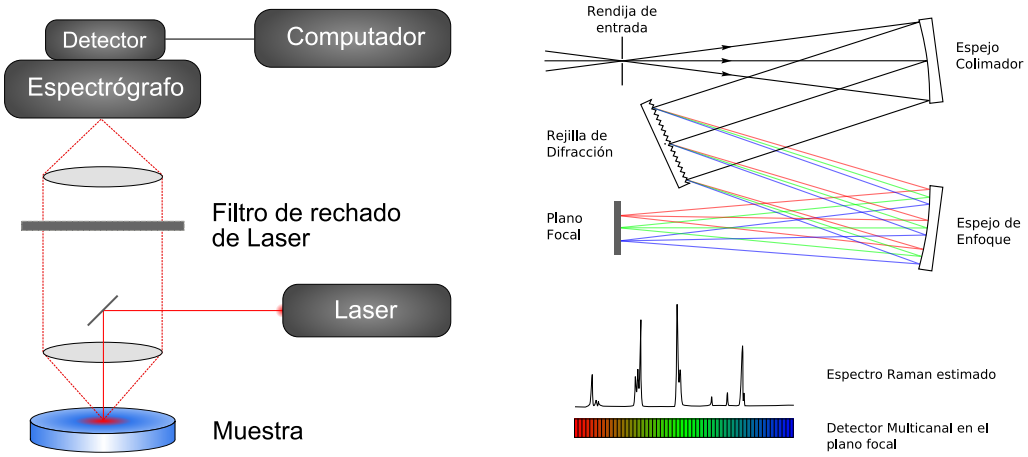
Figura 2.4: Espectro de radiación dispersada.

Los espectros Raman son usados generalmente para determinar propiedades químicas y físicas de los materiales por medio del estudio de los estados vibracionales de las moléculas. Cada estado vibracional es representado en el espectro por medio de picos, también llamados bandas Raman, en la correspondiente posición de energía o número de onda.

2.4 Espectroscopios Raman Dispersivos

La Figura 2.5(a) muestra un esquema de un espectroscopio Raman dispersivo. La radiación monocromática es producida por un Laser. Dicha radiación es enfocada sobre una muestra por medio de un sistema óptico. La radiación de retrodispersión

(backscattering radiation) pasa a través del sistema óptico de nuevo hasta el *espectrógrafo*, pasando por un filtro de rechazo del Laser. Este filtro es usado para bloquear la radiación Rayleigh obteniendo solamente la dispersión Raman.



(a) (b)

Figura 2.5: Espectroscopio Raman, (a) Representación esquemática; (b) Espectrógrafo.

El espectrógrafo es un sistema óptico que dispersa la radiación Raman. La Figura 2.5(b) muestra el esquema de un *espectrógrafo de Czerny-Turner*. Después de que la radiación es dispersada y enfocada internamente en el espectrógrafo, se acopla un sistema de detección en el plano focal para poder medir la intensidad de la radiación de la dispersión Raman usando detectores individuales o multicanal. Se obtiene como resultado un vector con medidas de intensidad con respecto al numero de onda.

El espectrógrafo de Czerny-Turner es la configuración más simple de espectrógrafos y bastante usados en espectroscopia óptica. La parte más importante del espectrógrafo es la rejilla de difracción (ver Figura 2.6). Esta rejilla dispersa la radiación de acuerdo a la longitud de onda con una dispersión lineal de longitudes de onda en el plano

focal del espectrómetro. La dispersión en la longitud de onda es lineal, pero no lo es con respecto al número de onda.

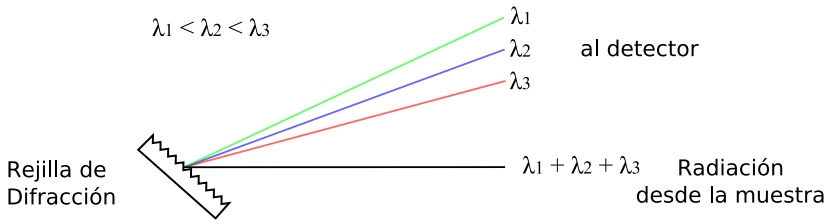


Figura 2.6: Dispersión de longitud de onda por una rejilla de difracción.

Por lo general, se usan Laser de Infrarrojo Cercano en estudios de materiales biológicos. Esta radiación es de baja energía y es usada para reducir el daño en las muestras de estudio por alta potencia en el Laser o sobre exposición del material. La radiación resultante de este proceso es difícil de medir y es necesario un sistema de detección especial.

2.4.1 Sistema de Detección

Es importante tener un sistema sensible y con bajo ruido para poder tener una estimación de la intensidad de radiación de baja energía. Alrededor del año 1960, la tecnología de conteo de fotones tuvo avances significativos con los tubos fotomultiplicadores (PMT, pos sus siglas en ingles). Un PMT convencional consiste de electrodos que amplifican simultáneamente la energía de los fotones incidentes por medio de efecto fotoeléctrico. El resultado de la amplificación simultanea es medida en el ánodo del PMT. Estos detectores tienen una sensibilidad alta y un buen rechazo al ruido, pero son muy delicados y costosos.

Los diodos de avalancha (APD) fueron desarrollados como una alternativa en estado sólido para la detección de fotones. Los APD consisten de un diodo fotosensible construido con materiales semiconductores. Por lo tanto, estos elementos son mucho más pequeños y económicos que los PMT. Estos dispositivos están disponibles

como sensores individuales o multicanal. Los detectores multicanal son usados para detección simultánea de fotones. Desafortunadamente, los APD son más sensibles al ruido que los PMT[2].

Los detectores más usados recientemente son los CCD (Charge-Couple Devices). Estos detectores son arreglos de semiconductores fotosensibles que tienen la capacidad de almacenar carga producida por fotones. Cada elemento en el arreglo actúa como un pozo de potencial que atrae y mantiene fotoelectrones. Estos pozos de potencial pueden almacenar cerca de 10^4 a 10^6 fotoelectrones[2]. En los espectroscopios Raman, cada pozo de potencial corresponde a diferentes niveles de energía de radiación (ver Figura 2.5(b)). Se requiere un tiempo de integración para recolectar fotoelectrones, después de este tiempo, el CCD es leído electrónicamente y los electrones acumulados en cada pozo de potencial son con contados para determinar la intensidad de la radiación como función del número de onda.

Los detectores PMT requieren tiempos altos de adquisición para un solo espectro. Los detectores multicanal hacen la estimación de la dispersión Raman más rápida. Actualmente, se prefieren los detectores CCD multicanal debido a que son más pequeños, sensibles y permiten construirse en sistemas portátiles.

2.4.1.1 Respuesta de los Sensores CCD

El espectrógrafo dispersa y enfoca la radiación Raman sobre el detector CCD multicanal. El sensor recolecta radiación a lo largo de un tiempo de integración seleccionado por el espectroscopista y cada elemento es leído para obtener la estimación de la dispersión Raman. Cada medida de intensidad son unidades digitales, generalmente llamadas *cuentas* (counts), que son proporcionales a la cantidad de fotoelectrones acumulados en cada pozo de potencial. La señal de salida del CCD[2] esta dada por la siguiente expresión

$$x'[n] = x[n] + \sigma_{dark}[n] + s_{bias}[n] \tag{2.2}$$

donde $x'[n]$ es la señal digitalizada en el elemento n del CCD, $x[n]$ es la cantidad de cuentas resultantes de la radiación incidente, $\sigma_{dark}[n]$ es el número cuentas causadas por los electrones generados espontáneamente por generación térmica y $s_{bias}[n]$ es una señal de bias en cada elemento. En este caso, el dominio de la señal n indica la posición de cada elemento CCD, pero esta posición se relaciona con el número de onda correspondiente. Esta relación de número de onda-elemento del sensor, se hace por medio de un procedimiento de calibración. El parámetro de interés en esta ecuación es $x[n]$ ya que está relacionado con la dispersión Raman. Esta variable es el resultado de un proceso de conteo y su medición puede estar afectada por ruido.

Los sensores CCD usados en espectroscopia usualmente son arreglos de $N \times 1024$ elementos, tal como se muestra en la Figura 2.7. Por lo general, N puede ser 256 o 127. En la misma figura se puede ver una representación de un espectro medido en el CCD.

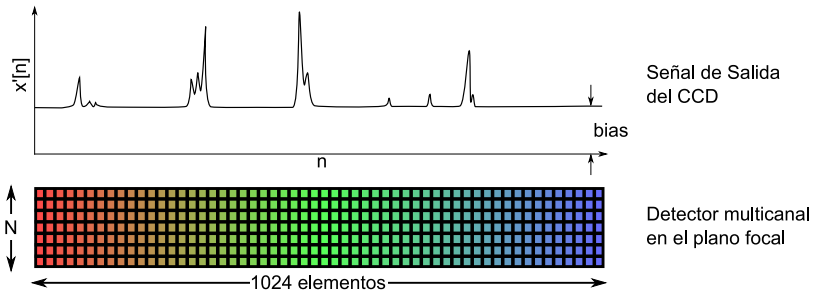


Figura 2.7: Detector CCD y señal de salida.

La señal de bias en la respuesta del sensor es causado por un proceso de *binning* en la lectura del CCD. Binning se refiere al proceso en el cual se inyectan electrones en los elementos del CCD durante y después de la lectura del pozo de potencial. La señal $s_{bias}[n]$ no depende del tiempo de integración usado y puede cambiar para

cada elemento del CCD. Usualmente esta señal es adquirida y almacenada para un tiempo de integración de $0s$ para poder después corregir los espectros medidos.

2.5 Microespectroscopía Raman e Imáganes Raman

Un micro-espectroscopio Raman es una combinación de un espectroscopio Rama y un microscopio óptico. Este instrumento es usado en el estudio de muestras pequeñas o en materiales heterogéneos. La forma más simple espectroscopia de este tipo es la adquisición de un solo punto en la muestra. Aunque se pueden adquirir varios puntos en la muestra, no se pueden adquirir estos simultáneamente.

Se puede obtener un análisis completo de una muestra midiendo los espectros para diferentes puntos dentro de la muestra. Así, se pueden formar imágenes Raman como un conjunto de espectros medidos a lo largo de los ejes espaciales (x, y, z). la Figura 2.8 muestra una ilustración de una imagen Raman tomada para dos dimensiones espaciales (x, y).

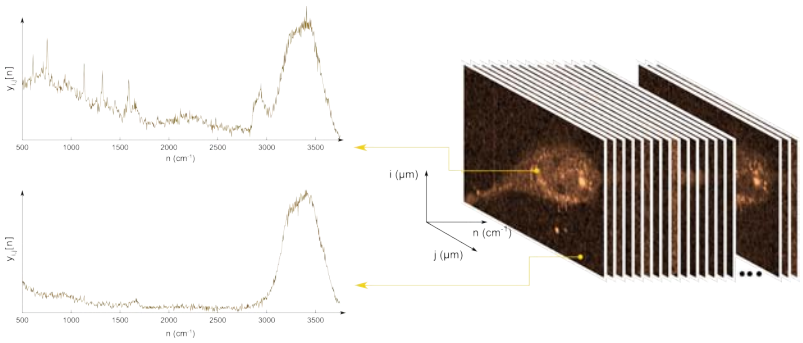


Figura 2.8: Imagen Raman - Imagen hiperespectral.

2.6 Adquisición de Espectros Raman

Este trabajo es motivado por el grupo de investigación del profesor Max Diem en Northeastern University - Boston, MA. Este es un trabajo colaborativo entre el Departamento de Ingeniería Eléctrica y Computadoras de la Universidad de Puerto

Rico en Mayaguez y el Departamento de Química y Biología Química en Northeastern University por medio del grupo Gordon-CenSSIS (Bernard M. Gordon Center for Subsurface Sensing and Imaging Systems).

Gran parte de los datos usados en este trabajo fueron adquiridos usando el micro-espectroscopio del grupo de investigación del profesor Diem. Christian et al. presentan en su más reciente paper una descripción del instrumento usado en Boston[3].

El instrumento es un Microscopio Raman Confocal modelo CRM 2000 producido por WITec Inc. (Ulm, Germany). La radiación de excitación es producida por un Laser de Argon refrigerado con aire y acoplado a un microscopio Zeiss a través de una fibra óptica monomodo. La radiación del Laser es colimanda por medio de lentes acromáticos, pasando posteriormente por un filtro holográfico pasa banda y enfocándola sobre la muestra a través de un objetivo de inmersión de agua Nikon Fluor.

La muestra es colocada sobre un posicionador piezo-eléctrico para poder mover la muestra en las coordenadas (x, y, z). La muestra es escaneada siguiendo un arreglo cuadrado de puntos sobre la imagen a una velocidad constante de fracciones de un micrómetro por segundo. El movimiento continuo previene la degradación de la muestra en el punto focal del rayo Laser.

La radiación Raman retrodispersada es colectada por medio del objetivo del microscopio, pasando por un filtro holográfico que bloquea la dispersión Rayleigh y la luz del Laser reflejado y se enfoca en una fibra óptica multimodo. La luz de la salida de la fibra se dispersa por un monocromador de Czerny-Turner y la luz finalmente es detectada por una cámara de 1024×128 pixeles operando a -82°Cs.

La configuración de dicho instrumento permite tener una resolución espacial hasta de $1\mu m^2$ y una resolución espectral de $4cm^{-1}$. Los espectros pueden ser

adquiridos en desplazamientos Raman desde $150cm^{-1}$ hasta $4500cm^{-1}$ aproximadamente.

2.7 Ruido y Señales Espurias en Espectroscopia Raman

Generalmente una medida tiene envuelta una incertidumbre que es causada por múltiples fuentes de error en el sistema. Existen errores sistemáticos que pueden evitarse haciendo uso de instrumentos precisos y procedimientos estandarizados. Los errores aleatorios son causados por factores difíciles de controlar y las medidas en espectroscopia Raman no son la excepción. A continuación se presentan las fuentes de error o ruido que afectan las mediciones[2]. Entre paréntesis aparece el nombre en ingles con la intención de no perder el significado al traducir los términos al español.

Ruido de Disparo (Shot Noise): este tipo de ruido esta relacionado con métodos basados en conteo, tales como los detectores CCD. El ruido de disparo (σ_s) se caracteriza por tener una varianza proporcional al valor medio de la medida. En la siguiente sección se presenta una descripción completa de este tipo de ruido.

Ruido de Fondo (Background Shot Noise): la radiación de fondo viene de fotones emitidos que son diferentes a la radiación Raman. La radiación de fondo incluye la luminiscencia de la muestra o el sistema óptico. El ruido de fondo (σ_B) tiene la misma estadística del ruido de disparo.

Ruido Oscuro (Detector Dark Noise): esta señal se produce por la generación espontánea de electrones generalmente producida por efectos térmicos. Este ruido también es conocido como ruido térmico (σ_d). Puede reducirse la influencia de este ruido por medio de un sistema de refrigeración en el detector.

Ruido de Lectura (Readout Noise): el ruido de lectura (σ_r) está relacionado con el proceso de digitalización de los electrones producidos por los fotones incidentes en el detector CCD.

Picos cósmicos (Noise Spikes o Cosmics): este ruido se produce por radiación de alta energía proveniente de fuentes locales o extraterrestres (rayos cósmicos). En este trabajo, este ruido también es llamado *ruido impulsivo*. La Figura 2.9 muestra algunos ejemplos de picos cósmicos. Un pico cósmico tiene una ocurrencia baja pero tiene suficiente energía para producir una distorsión notable en los espectros Raman. Como resultado, se obtienen cuentas grandes de fotoelectones en pocos puntos a lo largo del número de onda.

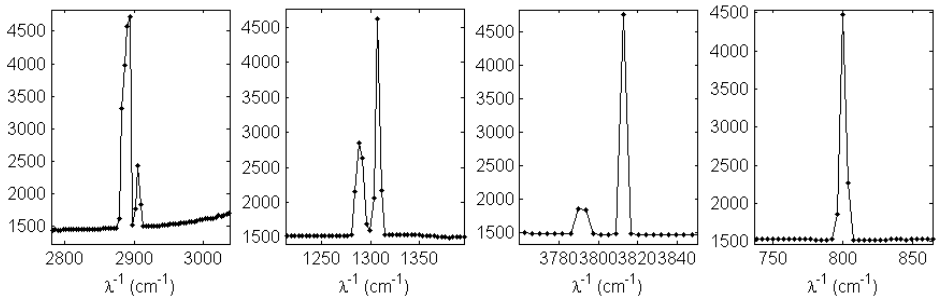


Figura 2.9: Picos cósmicos reales.

2.7.1 Estadística del Ruido

Para poder diseñar algoritmos que eliminen ruido en señales, es necesario tener un modelo del ruido. El ruido impulsivo no se estudia estadísticamente por que no se puede hacer un estudio paramétrico de estas señales. El mayor efecto que se tiene en el ruido es la contribución del ruido de disparo (σ_s and σ_B) y todo esto es llamado ruido aleatorio en el resto del documento. El ruido oscuro y el ruido de lectura son menos significativos ya que pueden ser controlados con procedimientos de instrumentación. Bialkowski[4] en 1989 analiza la estadística del ruido de disparo desde el punto de vista de una variable aleatoria que viene de un proceso de conteo.

La función de distribución de probabilidad (PDF por sus siglas en inglés) de los fotones detectados en un solo elemento del detector, viene dada por una distribución Binomial

$$P(k|n,p) = \binom{n}{k} p^k (1-p)^{n-k}, \tag{2.3}$$

donde $P(k|n,p)$ es la probabilidad de contar k partículas de n medidas y p es la probabilidad de ocurrencia del evento ($0 < p < 1$). Trabajar directamente con la ecuación (2.3) es difícil y generalmente se pueden hacer algunas aproximaciones. Una de esas aproximaciones esta dada por el teorema de Poisson. En casos limitados donde $p \to 0$ y $np \to s$, entonces la PDF Binomial se aproxima a la siguiente ecuación

$$P(k|s) = \frac{e^{-s} s^k}{k!}. \tag{2.4}$$

En espectroscopia Raman el proceso se muestrea a lo largo de un tiempo de integración. Usualmente el parámetro s es asignado al producto $\tilde{s}t$, donde $\tilde{s}$ es la velocidad de emisión de partículas o flujo de fotones y t es el tiempo de integración.

Otra aproximación de la distribución Binomial es la PDF Normal $N(\mu, \sigma^2)$) que ocurre en el límite cuando $np(1-p) \gg 1$. Esta aproximación es válida en el límite cuando se tiene un conteo de fotones grande. Por lo tanto, la media de la distribución es $\mu = np$ y su varianza es $\sigma^2 = np(1-p)$. Cuando la probabilidad de detección es grande, entonces $(1-p) \approx 1$ y para un n grande se tiene la siguiente aproximación

$$f(x|s) = \frac{1}{\sqrt{2\pi s}} e^{\frac{(x-s)^2}{2s}} = N(s,s). \tag{2.5}$$

Sea $\sigma_R = x - s$, entonces $\sigma_R \sim N(0,s)$. Se puede ver que x se puede expresar como una función de s mas un ruido Gaussiano con media cero y varianza s

$$x = s + \sigma_R, \quad \sigma_R \sim N(0,s). \tag{2.6}$$

La variable x en el sistema es la señal observada y se desea estimar s debido a que esta relacionada directamente con la intensidad de la radiación o el flujo de fotones $s = \tilde{s}t$. Por lo tanto, las medidas se pueden considerar como la intensidad de la dispersión Raman mas un ruido Gaussiano con media cero y varianza igual a la raíz cuadrada de la intensidad Raman.

2.7.2 Relación Señal a Ruido

La Relación Señal a Ruido (SNR por sus siglas en inglés) de una medida en espectroscopia se define como el inverso de la desviación estándar relativa. El SNR de la intensidad de una banda Raman es la altura promedio del pico por encima de la línea de base, $\bar{S}$, dividido por la desviación en la altura del pico σ_R[2]

$$SNR = \frac{\bar{S}}{\sigma_R}, \tag{2.7}$$

donde σ_R es el resultado de la suma de todas las fuentes de ruido. Asumiendo que la mayoría del ruido es shot noise

$$\sigma_R = (\sigma_s^2 + \sigma_B^2)^{\frac{1}{2}}. \tag{2.8}$$

Si no se considera un ruido de fondo y si la banda Raman tiene un flujo de fotones s, la medida del SNR se puede escribir como

$$SNR = \frac{s}{\sigma_s} = s^{\frac{1}{2}} = (\tilde{s}t)^{\frac{1}{2}}. \tag{2.9}$$

Esta expresión muestra que el SNR es mejorado incrementando el tiempo de integración. El problema al tener tiempos de integración grandes es que se aumenta la probabilidad de tener picos coósmicos en el espectro. Otra consecuencia es el aumento del tiempo total de adquisición de una imagen Raman.

2.8 Trabajo Previo

Los algoritmos de reducción de ruido en espectros Raman básicamente se dividen en dos. En primera instancia se tienen los algoritmos de reducción de ruido impulsivo. Por otra parte, se tienen los algoritmos de reducción de ruido aleatorio.

Dentro de los algoritmos de reducción de ruido impulsivo, se han usado muchos filtros de suavizado para eliminar los picos cósmicos, pero no se logran buenos resultados. Por ejemplo, si se aplica un filtro de promedio o un filtro de Savitzky-Golay[5], se pueden reducir estos picos en intensidad pero no pueden removerse completamente. En otros procedimientos se ha usado los filtros de suavizado para detectar la ubicación del ruido impulsivo[6]. Por lo general, las posiciones son detectadas a partir de la diferencia de la señal original y la señal suavizada. Si se obtienen valores por encima de un umbral, entonces se detecta un pico. Una vez detectados los picos, estos son eliminados y se reemplazan por valores obtenidos de un ajuste polinomial[7].

Hilling y Morris[8] hacen uso de splines cúbicos de regiones locales, sin incluir las intensidades a ser probadas (un punto central en una ventana deslizante). Si la muestra cae por fuera de la interpolación de splines, se dice que un pico cósmico fue detectado y se reemplazan las intensidades del pico por puntos cercanos a la curva de splines. De forma similar, Phillips y Harris[9] implementaron un filtro de ruido impulsivo, pero en este caso con una interpolación polinomial (en inglés missing-point polynomial filters).

El filtro de mediana[10] también ha sido usado para remover picos agudos en señales. Este tipo de filtro tiene un excelente rechazo a picos agudos en señales, pero se obtiene una señal suavizada lo cual puede producir una distorsión en los espectros. Adicionalmente, incrementar el ancho del filtro garantiza remover el ruido impulsivo, pero también pueden ser removidas bandas Raman.

Otra aproximación para remover ruido impulsivo es midiendo varios espectros en la muestra. Takeuchy et. al[11], miden dos espectros en condiciones similares y comparan los espectros para poder determinar la posición de los picos cósmicos. Zhang et al.[12] reporta un método más avanzado para remover picos cósmicos usando varios espectros del mismo material. Ellos calculan un límite superior de dos o más espectros consecutivos y argumentan: "si cualquier medida en cualquiera de los espectros adquiridos exceden el límite superior, éste es considerado un pico cósmico y es reemplazado por su correspondiente valor no contaminado de otro espectro". Este método es llamado el algoritmo de Upper-Bound Spectrum (UBS).

Los algoritmos de reducción de ruido impulsivo, basados en varios espectros, son eficientes removiendo picos cósmicos, pero es necesario tomar medidas dos veces o más. Adquirir múltiples espectros de una muestra implica un tiempo mayor en la adquisición de los datos y más espacio de almacenamiento para las señales. En el caso de tener muestras biológicas, estas se pueden dañar debido a sobre-exposición de radiación. Para solucionar este tipo de deficiencias, se han reportado algunas modificaciones del algoritmo UBS[13]. Este nuevo algoritmo solamente requiere una sola medida del espectro, pero es necesario tener información de los espectros de la vecindad del punto donde fue tomada la medida. Esto limita el método a ser usado solamente para imágenes Raman, no se puede usar para espectros individuales.

Behered et al.[14] presentan un algoritmo para remover ruido impulsivo de imágenes Raman usando los pixeles vecinos. Se identifica si un píxel esta contaminado usando una vecindad de 3×3. Los picos cósmicos que son identificados se remueven y son reemplazados por interpolación polinomial a lo largo del espectro. La desventaja de este método es que es sensible a variaciones en la intensidad del Laser, inestabilidades en el fondo de la imagen o fluorescencia. Adicionalmente, se asume al menos un espectro no contaminado en la imagen.

En resumen, los métodos descritos anteriormente remueven ruido impulsivo de los espectros sin hacer transformaciones de la señal. Otros algoritmos usan transformaciones para detectar la posición de los picos en otro dominio de la señal. Uno de estos algoritmos usa la transformada de Wavelets[15] para este proceso. Este tipo de algoritmos detecta afectivamente la posición de los picos, al igual que los algoritmos citados anteriormente, pero requiere algoritmos más complejos.

Después de remover el ruido impulsivo, el siguiente paso es remover el ruido aleatorio. Uno de los métodos más usados en química analítica es el filtro de suavizado de mínimos cuadrados polinomial (en inglés polynomial least-squares smoothing filter), también llamado filtro de Savitzky-Golay[5]. Generalmente los filtros de suavizado remueven componentes que tienen cambios rápidos en intensidad de la señal, dichos componentes pueden ser parte del ruido o de bandas Raman. Otra de las desventajas del filtro de suavizado es que pueden cambiar el ancho de las bandas Raman, produciendo distorsión ya que no se conserva la forma de los picos.

Otros algoritmos de reducción de ruido se basan en transformaciones las cuales eliminan el ruido en otro dominio distinto al original de la señal. Barclay et al.[16] presenta un resumen de cómo puede ser usada la transformada de Wavelets para reducir ruido en señales. Betiermann et al.[17] muestran algoritmos de filtrado usando la transformada de Fourier.

Wentzell y Brown[18] describen los filtros FIR, filtros IIR y filtros Kalman como alternativas para suavizar o eliminar ruido en espectros Raman. En este documento también se plantea la transformada Hadamard como alternativa de eliminación de ruido.

Greek et al.[19] en 1995 y Craggs et al.[20] en 1996, presentaron el método de máxima entropía como método para recuperación de señales. Estos algoritmos requieren solucionar sistemas de ecuaciones multivariadas, lo cual vuelve este método

computacionalmente costos. Adicionalmente, Greek et al. reportan problemas de convergencia en los algoritmos de maximización. No se encontraron referencias más recientes relacionadas con estos algoritmos. Por lo tanto, esta aproximación no se tendrá en cuenta en este trabajo como alternativa de reducción de ruido en espectros Raman.

2.9 Filtro de Savitzky-Golay

Abraham Savitzky y Marcel Golay en 1964[5] presentaron un filtro digital de suavizado y derivada de señal usando suavizado de mínimos cuadrados polinomial. Ellos mostraron como un ajuste polinomial puede calcularse por medio de una función de convolución. Para un filtro de tamaño y orden dados, se pueden calcular los coeficientes del filtro para cualquier señal de entrada. Por lo tanto, se pueden obtener los coeficientes del filtro de una tabla previamente calculada.

La Figura 2.10 ilustra el ajuste de mínimos cuadrados usando un suavizado polinomial. A la izquierda, la línea representa una señal de referencia (señal sin ruido). Los puntos alrededor de la señal de referencia son medidas afectadas por ruido. Las gráficas de la derecha muestran un ajuste lineal y cuadrático usando las muestras con ruido, para una ventana de siete puntos. El resultado en el proceso de ajuste es el punto central de la ventana evaluado en la función ajustada.

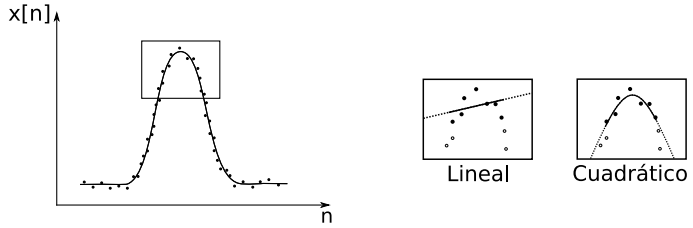


Figura 2.10: Mínimos cuadrados - Savitzky-Golay.

El procedimiento descrito a continuación esta basado en [21]. Sea $x_i \equiv x[n_i]$ donde $n_i \equiv n_0 + i\Delta$ para un espaciamiento constante Δ e $i = \ldots -2, -1, 0, 1, 2 \ldots$

Se asume que la función de convolución tiene respuesta finita al impulso donde el estimado i^{th} esta dado por $s_i \equiv s[n_i]$

$$s_i = \sum_{k=-k_L}^{k_R} h_k x_{i+k},$$

donde k_L y k_R son el número de puntos a la izquierda y derecha del punto i, respectivamente. Entonces, el valor s_i esta dado por el promedio ponderado de los puntos desde x_{i-k_L} hasta x_{i+k_R}. El filtro de Savitzky-Golaynormalmente se calcula para $k_L = k_R$. El siguiente procedimiento describe como se calculan los coeficientes h_k por medio de un ajuste polinomial.

Para derivar los coeficientes h_k es necesario considerar como se obtiene s_0. Se ajusta un polinomio de grado M en i, llamado $a_0 + a_1 i + \ldots + a_M i^M$, a los valores desde x_{i-k_L} hasta x_{i+k_R}. Por lo tanto, s_0 es el valor de dicho polinomio para $i = 0$, llamado a_0.

Sea $\mathbf{A}$ la matriz con entradas

$$A_{ij} = i^j \quad i = k_L, \ldots, 0, \ldots, k_R, \quad j = 0, 1, \ldots, M.$$

Los coeficientes $\mathbf{a} = [a_0 a_1 \ldots a_M]^T$ se pueden calcular usando mínimos cuadrados[1] en términos de $\mathbf{x} = [x_{-k_L} \ldots x_{-k_R}]^T$ por medio de la siguiente ecuación

$$\mathbf{a} = (\mathbf{A}^T \mathbf{A})^{-1} \mathbf{A}^T \mathbf{x}.$$

[1] con la restricción de $k_L + k_R + 1 > M$

Dado que los coeficientes h_k son el componente a_0 cuando $\mathbf{x}$ es reemplazado por el vector unitario $\mathbf{e}_k$, $-k_L \leq k \leq k_R$, entonces

$$h_k = \left\{(\mathbf{A}^T\mathbf{A})^{-1}(\mathbf{A}^T\mathbf{e}_k)\right\}_0 . \tag{2.10}$$

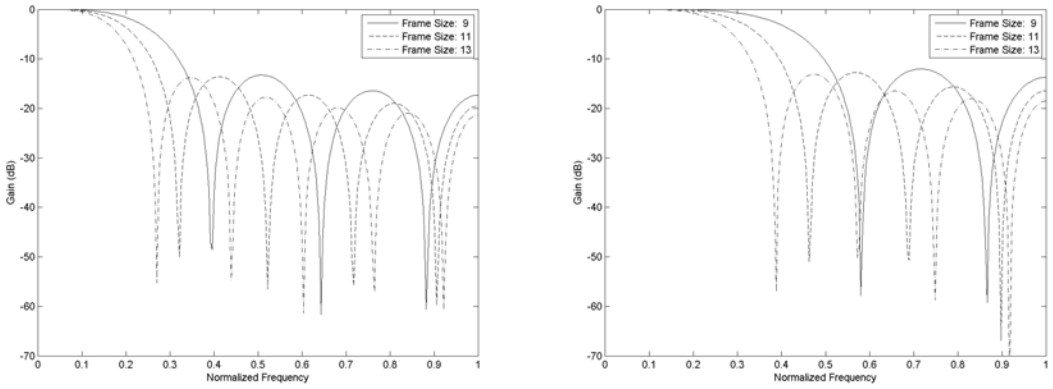
De acuerdo con (2.10), los coeficientes del filtro son independientes de los valores x_i. Por lo tanto, estos valores pueden ser calculados solamente en una oportunidad para un orden M y un número de puntos $k_L + k_R + 1$. Otra de las simplificaciones del problema de mínimos cuadrados, para $k_L = k_R$, se puede obtener de la siguiente expresión

$$\left\{(\mathbf{A}^T\mathbf{A})\right\}_{ij} = \sum_{k=-k_L}^{k_R} A_{ki}A_{kj} = \sum_{k=-k_L}^{k_R} k^{i+j}. \tag{2.11}$$

Recuerde que los coeficientes h_k están dados para $i = 0$ y note que $\left\{(\mathbf{A}^T\mathbf{A})\right\}_{ij} = 0$ para valores impares de $i+j$. Entonces, h_k tienen el mismo valor para un polinomio de orden M y $M+1$ para M par. Por ejemplo, los filtros de Savitzky-Golayde orden dos y tres tienen los mismos coeficientes.

Betty et al.[22] en 1977 reportaron la respuesta en frecuencia de estos filtros. La Figura 2.11 muestra la respuesta en frecuencia de filtros de orden dos y cuatro para diferentes números de puntos $k_L + k_R + 1$. Desde este momento el número de puntos será llamado tamaño de ventana y serán considerados filtros simétricos $k_L = k_R$. Estas gráficas fueron obtenidas aplicando la transformada de tiempo discreto de Fourier (DTFT por sus siglas en inglés).

Es conveniente aclarar que en las figuras, el término *frecuencia normalizada* no está relacionado con la frecuencia de la radiación vista en la Sección 2.1. La frecuencia normalizada tiene que ver con los cambios en la variación de la intensidad de las bandas Raman.



(a) (b)

Figura 2.11: Respuesta en frecuencia de los filtros Savitzky-Golay, (a) Orden 2 ó 3; (b) Orden 4 ó 5.

Variaciones de baja frecuencia en el dominio de Fourier representan bandas Raman anchas (cambios suaves de intensidad). Las frecuencias altras junto con las frecuencias bajas pueden tener componentes que producen bandas Raman agudas.

Se puede ver claramente que los filtros de Savitzky-Golayson filtros pasa bajas. Las variaciones rápidas de la intensidad de la señal son atenuadas por este tipo de filtros. Note que la frecuencia de corte de los filtros decrece a medida que se incrementa el tamaño de ventana o del orden del filtro.

CAPÍTULO 3
MARCO TEÓRICO

En este capítulo se discute el marco teórico relacionado con señales Raman. Las siguientes secciones describen los métodos de reducción de ruido propuestos en este trabajo. Los algoritmos de reducción de ruido generalmente se dividen en dos partes. La primera parte es un filtro de ruido impulsivo y la segunda parte es un filtro de ruido aleatorio. Cada etapa es descrita a continuación.

3.1 Modelo de la Señal y Sistema de Reducción de Ruido

Sea $s(\tilde{\nu})$ la dispersión Raman emitida por una muestra a diferentes números de onda $\tilde{\nu}$ (Figure 3.1(a)). Esta radiación es colectada por un sistema óptico y dispersada por un espectrógrafo. Un detector CCD hace una estimación discreta de $s(\tilde{\nu})$ obteniendo una nueva señal $x'[n]$. Combinando (2.2) y (2.6), se obtiene la siguiente expresión

$$x'[n] = s[n] + s_{bias}[n] + \sigma_R[n],$$

donde n son muestras discretas de $\tilde{\nu}$ y no son igualmente espaciadas con respecto al número de onda. Por simplicidad, la respuesta del detector será denotada por $x[n]$ y la señal $s[n]$ será la dispersión Raman sumada con la señal de bias del detector.

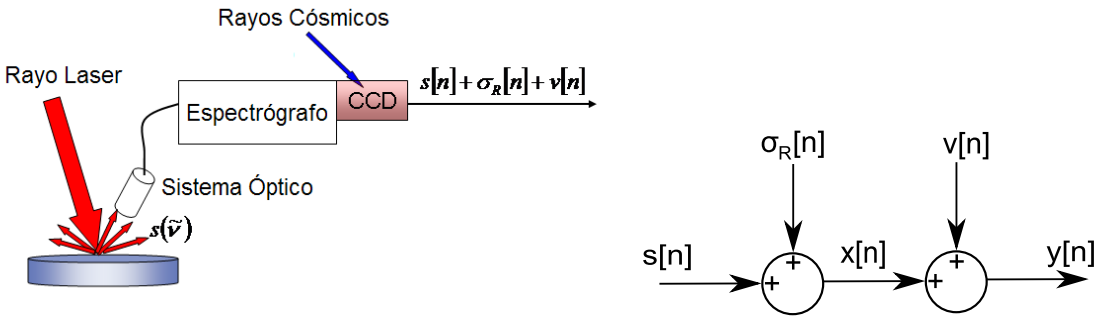
Así, la respuesta del detector será

$$x[n] = s[n] + \sigma_R[n] \tag{3.1}$$

La respuesta del CCD puede estar afectada por ruido impulsivo, como se muestra en la Sección 2.7. Esta señal será representada como $v[n]$. Por lo tanto, la señal de salida del detector con ruido impulsivo puede escribirse como

$$y[n] = x[n] + v[n] = s[n] + \sigma_R[n] + v[n]. \tag{3.2}$$

La Figura 3.1(b) muestra el modelo de la señal asumido en este trabajo.

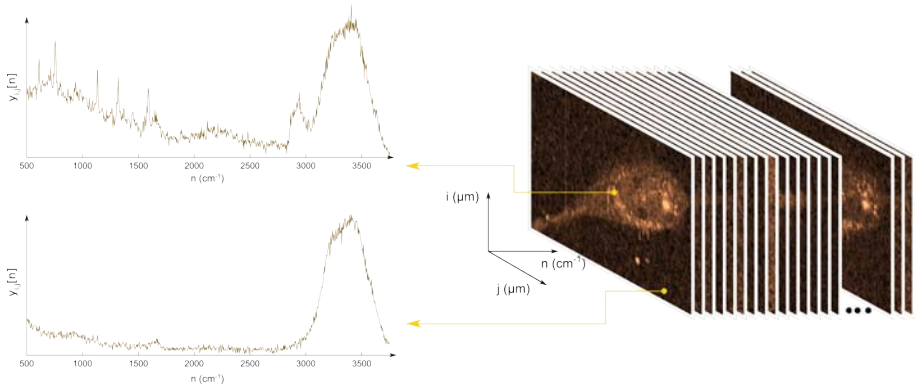


(a) (b)

Figura 3.1: Modelo de la señal, (a) Espectroscopio Raman y modelo de la señal; (b) Diagrama de la Señal.

La Figura 3.2 muestra el procedimiento de reducción de ruido para las señales de espectroscopia Raman. La primera etapa es un *filtro de ruido impulsivo*, donde este filtro intenta remover el efecto del *ruido impulsivo* $v_{i,j}[n]$ desde la señal medida $y_{i,j}[n]$. La siguiente etapa es un filtro de *reducción de ruido aleatorio* el cual obtiene un estimado de la señal $\hat{s}_{i,j}[n]$ usando el estimado $\hat{x}_{i,j}[n]$. Los índices (i, j) indican la localización espacial de cada píxel en la imagen.

Las siguientes secciones explican los algoritmos usados para reducción de ruido. La Sección 3.2 habla acerca del *filtro de ruido impulsivo* y la Sección 3.3 acerca de *random noise filtering*.



(a)

(b)

Figura 3.2: Sistema de reducción de ruido, (a) Imagen Raman; (b) Modelo de la señal y diagrama en bloques.

3.2 Filtro de Ruido Impulsivo

Excesos de carga son producidos en detectores afectados por rayos cósmicos y radiación local de alta energía. Dichas cargas almacenadas en el detector son cuantificadas por un sistema de adquisición de datos. En caso de usar un detector multicanal, como un detector CCD, varios detectores adjuntos pueden ser afectados por la radiación de alta energía. Como resultado, se obtiene un pico en pocas medidas con intensidades grandes.

McCreery[2] reporta una velocidad de rayos cósmicos de $1/min^{-1}cm^{-2}$ de silicio, pero este valor puede aumentar mucho más. Para este trabajo, cada espectro se obtiene con tiempos de integración menores de un segundo y el área del sensor es

menor de $1cm^{-2}$; por lo tanto, se asume una probabilidad baja de tener un rayo cósmico en un espectro.

Las secciones que siguen describen los métodos desarrollados para filtrar ruido impulsivo. Se desarrollaron dos métodos, uno basado en información espectral y otro basado en información espacial.

3.2.1 Método Basado en Espectro

Este método usa las características de los picos cósmicos en espectros Raman. La Figura 3.3 muestra un ejemplo de un rayo cósmico en un píxel de la imagen que aparece a la derecha. En este método, cada espectro se procesa individualmente.

Cada espectro es seleccionado usando los índices (i, j) y es dado por los valores de $y_{i,j}[n]$ para todo n. El filtro basado en espectro toma cada espectro para poder estimar el valor de $x_{i,j}[n]$ removiendo el componente de ruido impulsivo $v_{i,j}[n]$. Este proceso es repetido para todos los pixeles de la imagen.

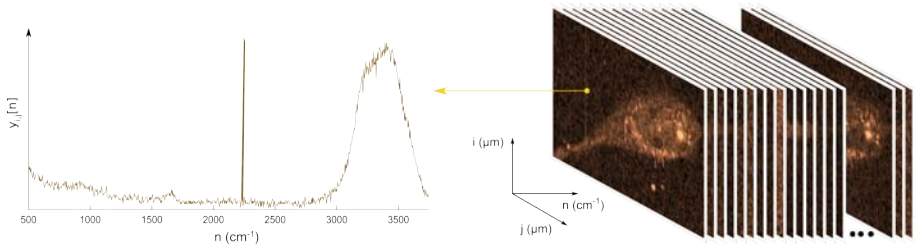


Figura 3.3: Ruido impulsivo espectral.

En general, pocos elementos del arreglo CCD son afectados por los rayos cósmicos. Donde hay algun efecto, tiene como resultado picos agudos ocupando alrededor de seis mediciones consecutivas[11]. Se observaron numerosos espectros afectados por rayos cósmicos en imágenes adquiridas en Northeastern University. En la mayoría de los casos, los picos cósmicos tienen un comportamiento similar.

Se diseñó un filtro basado en la forma de los picos cósmicos llamado Single Spectrum Impulsive Noise Filter (SSINF). La Figura 3.4 muestra un diagrama en

bloques del filtro diseñado. El primer paso en este filtro es detectar picos agudos en un espectro. Un pico agudo se define como pocas medidas de intensidad, con gran amplitud en comparación con los puntos adyacentes. Estos picos generalmente son producidos por bandas Raman agudas o rayos cósmicos. Una vez los rayos cósmicos son detectados, se eliminan las medidas afectadas, reemplazando estos valores por el resultado de una interpolación.

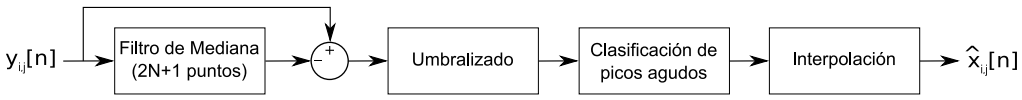


Figura 3.4: Single Spectrum Impulsive Noise Filter (SSINF) - Método espectral.

El espectro Raman es filtrado con un filtro de mediana con la intención de detectar picos agudos en la señal. Se desplaza una ventana de 2N+1 elementos sobre el espectro, el valor de mediana es calculado y reemplazado en el punto central de la ventana. El filtro de mediana tiene la propiedad de mantener las características de la señal mientras los afloramientos son filtrados. La Figura 3.5 muestra el efecto del filtro de mediana en un espectro de ejemplo. El pico a la derecha simula un afloramiento, observe que el filtro de mediana lo elimina.

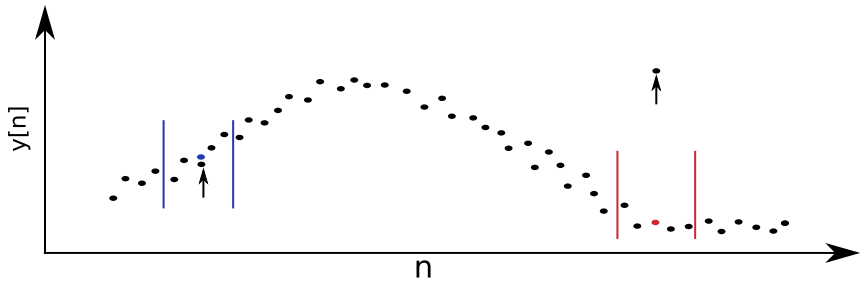


Figura 3.5: Filtro de mediana.

Los picos agudos pueden aislarse restando el espectro $y[n]$ y el espectro filtrado $y_{med}[n]$. De esta manera, el resultado es una distribución unimodal con afloramientos fácilmente apreciables. La Figura 3.6 muestra a la izquierda un ejemplo de un espectro contaminado con ruido impulsivo y su correspondiente histograma de intensidades en la parte inferior. A la derecha, se puede ver la diferencia $y[n] - y_{med}[n]$. Esta señal contiene los picos agudos de la señal y pueden ser detectados por medio de un umbralizado.

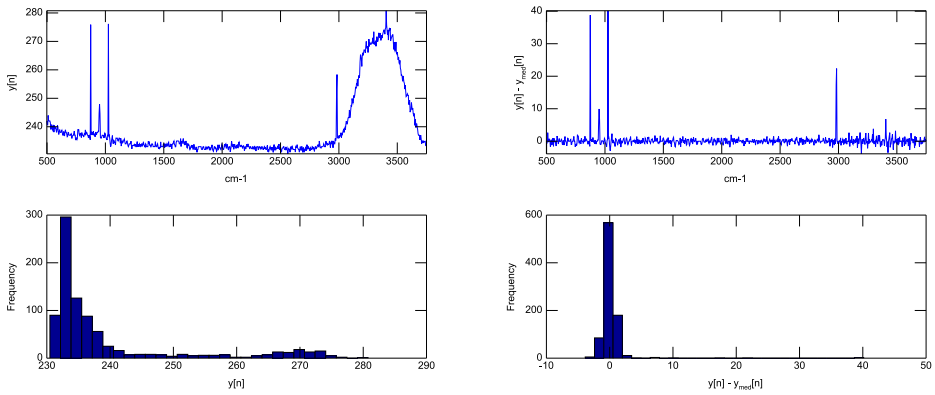


Figura 3.6: Histograma del espectro y de los picos agudos aislados.

Una vez los picos agudos son detectados, se detecta la posición de cada pico en el espectro. Conociendo la información acerca de la estadística del ruido (Poisson o Gaussiano), se puede calcular un umbral usando la señal $s[n]$. La amplitud de esta señal no es conocida, pero puede usarse la salida del filtro de mediana para calcular el umbral ya que esta cantidad es cercana a $s[n]$.

La amplitud del ruido aleatorio es proporcional a la magnitud de la señal, entonces, el resultado del filtro de mediana es también proporcional al nivel del ruido aleatorio. Por lo tanto, se asume que la variabilidad de la señal es menor a la raíz cuadrada del resultado del filtro de mediana $T[n] = \sqrt{y_{med}[n] - s_{bias}}$.

El umbralizado puede producir un vector con varios puntos por encima del umbral. El siguiente paso en el algoritmo es detectar los grupos de puntos y dar una posición única del punto central del pico agudo.

Recuerde que este procedimiento también detecta la posición de bandas Raman agudas, en el momento del filtrado, no se desea remover estos picos de la señal. En consecuencia, el siguiente paso es una etapa de clasificación que permitirá decidir si un pico es removido o conservado.

Se uso el área bajo el pico para clasificarlo como pico cósmico o banda Raman. La Figura 3.7 muestra un espectro real con varios picos. Se puede observar a la derecha dos bandas acopladas anchas en la región de $3000cm^{-1}$ a $3600cm^{-1}$, una banda cerca de los $1600cm^{-1}$ y otra banda Raman cercana a los $400cm^{-1}$. Estas señales representan información química del material. Adicionalmente, un pico de ruido impulsivo aparece en $1900cm^{-1}$.

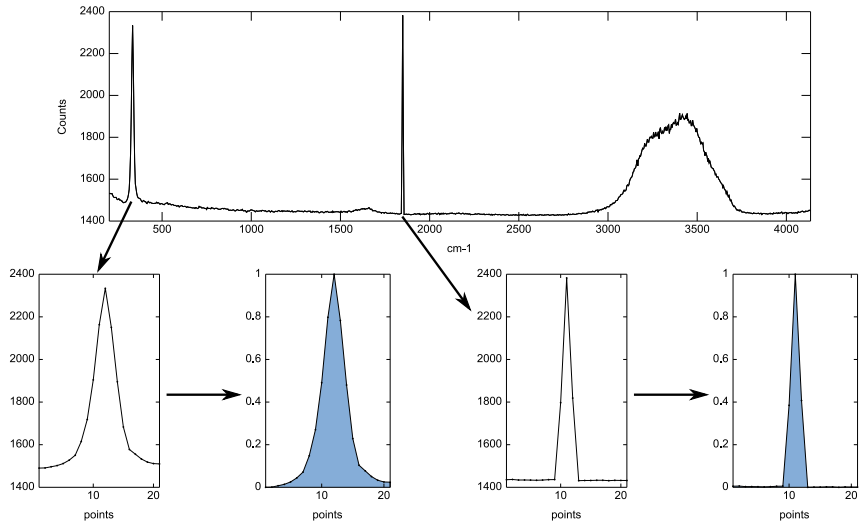


Figura 3.7: Espectro con bandas Raman agudas y ruido impulsivo; picos extraidos y normalizados.

Cada pico es aislado tomando una vecindad de diez elementos obteniendo señales de longitud 21. Se puede notar que las intensidades de los picos pueden

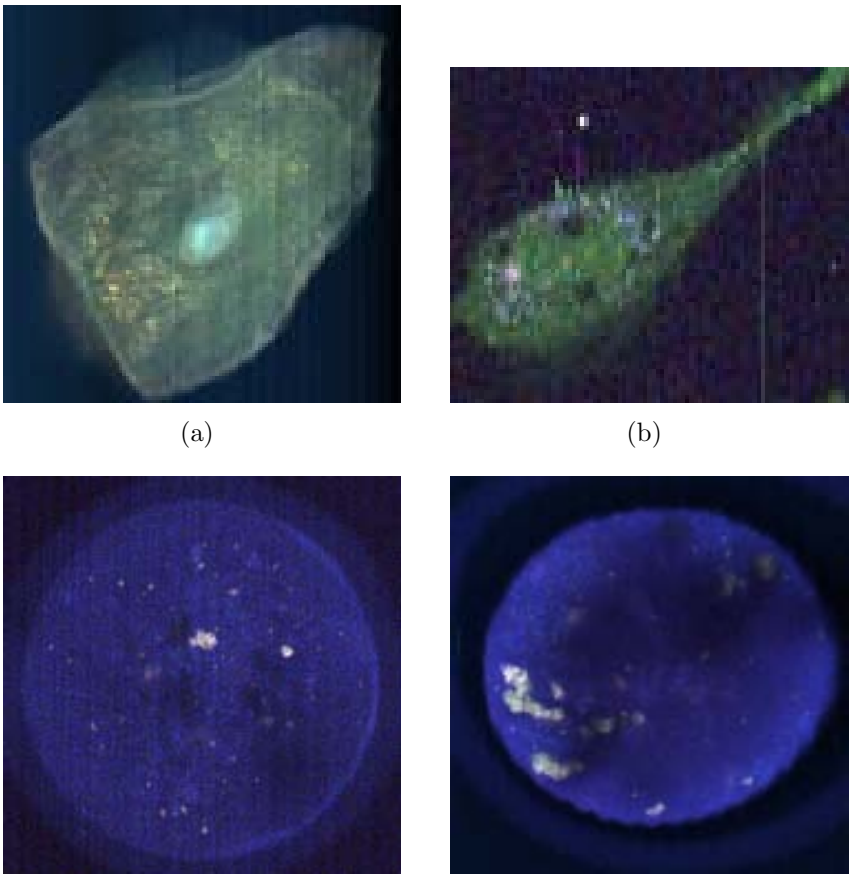
tener valores diferentes entre picos, por esta razón, el pico extraído es normalizado para poder calcular el área bajo la curva del pico independiente de la amplitud. Se muestran algunos ejemplos en la Figura 3.7. El área es calculada usando el método de integración numérica llamado la regla del trapezoide. Finalmente, esta área es dividida por el área del rectángulo que contiene el pico, obteniendo el porcentaje de ocupación del pico en el rectángulo.

Esta área es evaluada en un clasificador que permite decidir si el pico detectado es o no un pico cósmico. Una vez el pico cósmico es identificado, se remueve el pico de la señal y se reemplazan estos puntos con unos nuevos valores que son el resultado de interpolación. Para este caso se utilizó interpolación lineal debido a que los puntos intermedios se pueden describir cómo una línea y es un algoritmo fácil de implementar.

3.2.1.1 Clasificación de Picos Cósmicos

El clasificador de picos cósmicos está basado en la distribución probabilística del área de los picos cósmicos y no-cósmicos. Cuatro imágenes Raman, contaminadas con ruido impulsivo, fueron seleccionados con el propósito de obtener muestras de entrenamiento para el clasificador.

La Figura 3.8 muestra un compuesto de color de los conjuntos usados en esta parte. Estos datos fueron suministrados por el grupo de investigación del profesor Max Diem en Northeastern Univ. Los conjuntos de datos 1 y 2 corresponden a HeLa cells y los datos 3 y 4 a imágenes de óvulos. Las imágenes 1, 3 y 4 fueron adquiridas en el laboratorio del profesor Max Diem y la imagen 2 fue adquirida en un laboratorio en Alemania. Las imágenes de óvulos son parte de un trabajo conjunto con Judith A. Newmark y Carol M. Warner del Departamento de Biología en Northeastern University.



(a) (b)

(c) (d)

Figura 3.8: Imágenes Raman contaminadas con ruido impulsivo, (a) Conjunto de datos 1, Célula HeLa, 120x120 pixeles; (b) Conjunto de datos 2, Célula HeLa, 80x95 pixeles; (c) Conjunto de datos 3, Óvulo, 180x180 pixeles; (d) Conjunto de datos 4, Óvulo, 160x160 pixeles.

La Tabla 3.1 indica en las columnas dos y tres los valores mínimos y máximos en el espectro para cada conjunto de datos. Las imágenes de compuesto de color de la figura anterior, se realizaron asignando los números de onda indicados en la Tabla 3.1 para los colores rojo, verde y azul de una imagen estándar RGB.

El clasificador de área esta basado en la siguiente prueba de hipótesis[23]. Sea z el área medida de un pico. Basado en esta medida se establece la prueba de hipótesis para el clasificador. Sea H_0 la hipótesis nula cuando z es el área un pico cósmico y la hipótesis alternativa H_1 cuando z es el área de un pico no-cósmico. Cada hipótesis puede describirse por medio de funciones de distribución de la variable aleatoria z.

Tabla 3.1: Información espectral de las imágenes y compuesto de color

Conjunto de datos	Número de onda (cm^{-1})				
	Mínimo	Máximo	Rojo	Verde	Azul
1	204	4136	2948	1661	548
2	498	3750	660	2946	586
3	216	2723	1662	1262	1336
4	155	4512	2936	1655	1216

La prueba de hipótesis define un región R donde H_0 es rechazada. Para esto es usada la prueba de Likelihood Ratio Test (LRT por sus siglas en ingles). Sea $f(z|H_0)$ y $f(z|H_1)$ las funciones de distribución de cada clase. El LRT de H_0 versus H_1 esta dada por

$$\lambda(z) = \frac{f(z|H_0)}{f(z|H_1)}, \tag{3.3}$$

con región de rechazo de la forma $\{z : \lambda(z) \leq c\}$, donde $c \in [0, 1]$.

Fueron seleccionados 1450 espectros de las imágenes antes mencionadas para obtener la función de distribución para H_0. En total, fueron obtenidos 1560 picos cósmicos los cuales permiten tener una estimación de $f(z|H_0)$. La Tabla 3.2 muestra para cada imagen su tamaño, el número de muestras a lo largo del espectro, el número total de pixeles, los pixeles contaminados con ruido impulsivo en cada imagen y los rayos cósmicos identificados.

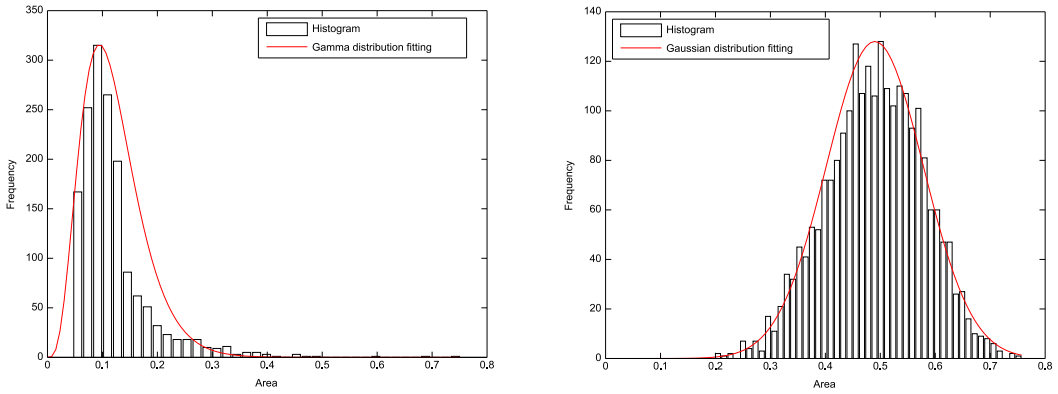
Tabla 3.2: Muestras de entrenamiento de picos cósmicos.

Conjunto de datos	Tamaño imagen	Muestras número de onda	Pixeles imagen	Espectros contaminados	Picos cósmicos
1	120 × 120	1024	14400	690	762
2	80 × 95	858	7600	26	27
3	180 × 180	1024	32400	429	454
4	160 × 160	1024	25600	305	317

La Figura 3.9(a) muestra el histograma de las áreas de los picos cósmicos. Se ajustó para estos datos una distribución Gamma dada por la siguiente ecuación

$$f(z|H_0) = \frac{1}{\beta^{\alpha}\Gamma(\alpha)} z^{\alpha-1} e^{-\frac{z}{\beta}}, \tag{3.4}$$

con parámetros $\alpha = 4.7282$ y $\beta = 0.0254$. En la misma gráfica del histograma se presenta la función de distribución ajustada para los datos.



(a) (b)

Figura 3.9: Área de picos cósmicos y no-cósmicos, (a) Picos cósmicos, Ajuste de distribución Gamma; (b) Picos no-cósmicos, Ajuste de distribución Gaussiana.

La función de distribución de H_1 se calculó usando 2300 muestras obtenidas desde espectros no contaminados. La Figura 3.9(b) muestra el histograma del área de los picos no-cósmicos. Para estos datos se ajusto una función de distribución Gaussiana dada por

$$f(z|H_1) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{(z-\mu)^2}{2\sigma^2}}, \tag{3.5}$$

donde $\mu = 0.4900$ y $\sigma = 0.0884$. Para $c = 1$, la región de rechazo esta dada por $\{z : z \geq 0.2886\}$.

3.2.2 Método Espacial

Las imágenes Raman generalmente son adquiridas píxel por píxel usando arreglos de detectores. Generalmente se usan detectores multicanal CCD de 1024

elementos. Se asume una probabilidad baja de tener un pico cósmico en un espectro. Si un espectro esta contaminado por ruido impulsivo, los picos cósmicos tienen una posición aleatoria a lo largo del número de onda. En efecto, se considera una probabilidad bien baja de tener un pico cósmico afectando un píxel y su vecindad en el mismo número de onda.

La Figura 3.10 muestra un esquema de una imagen Raman contaminada con ruido impulsivo. La dirección vertical en la imagen indica número de onda, las direcciones horizontales indican posición del píxel. Si se observan números de onda consecutivos para todos los pixeles en la imagen, se puede ver que los rayos cósmicos están representados por afloramientos de un solo punto en cada número de onda.

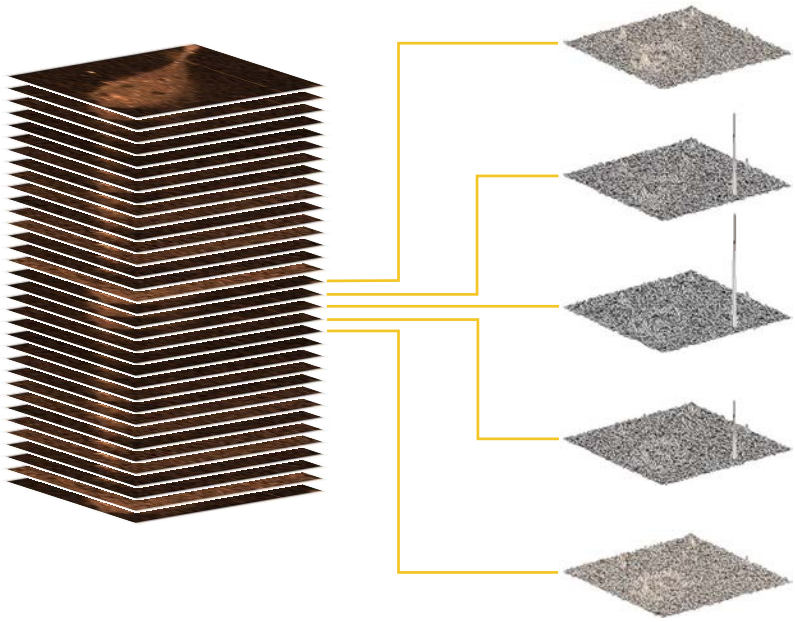


Figura 3.10: Ruido impulsivo espacial.

El método espacial remueve el ruido impulsivo identificando y removiendo los afloramientos de un punto para todos los números de onda. Basados en esta idea, se diseñó un filtro llamado Spectrum Wavenumber Impulsive Noise Filter (SWINF). Este filtro usa una ventana deslizante de 3×3.

Se extrae de cada medida una ventana de 3×3 elementos donde el punto central del arreglo, posición $(2, 2)$, es el punto de prueba. Todas las medias en la imagen son comparadas con las ocho intensidades más cercanas en un mismo número de onda. Si el punto central es similar a su vecindad, este valor es conservado. Si no, este valor se reemplaza por valores relacionados con su vecindad. Este proceso es repetido para todas las medias de intensidad tomadas en la imagen.

La Figura 3.11 ilustra el arreglo de 3×3 llamado $\mathbf{A}$. Las entradas de esta matriz están dadas por a_{rs}, $r, s = 1, 2, 3$. El píxel central esta dado por a_{22}. Dicho arreglo es transformado en un vector al cual se elimina el píxel central. Este vector es ordenado de menor a mayor obteniendo los coeficientes $a_{(k)}$ dado que $a_{(1)} \leq a_{(2)} \leq \ldots \leq a_{(8)}$.

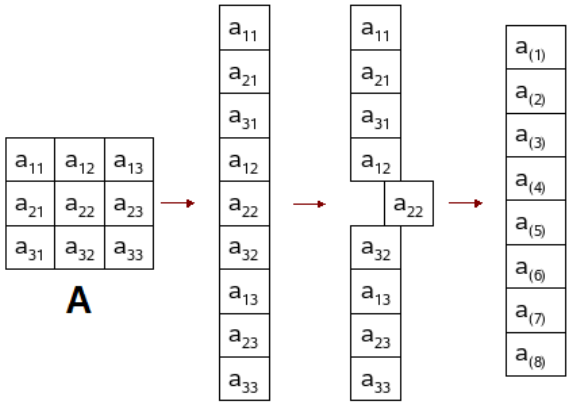


Figura 3.11: Ventana deslizante de 3×3.

La Figura 3.12 muestra un ejemplo numérico que ilustra la comparación del píxel central con su vecindad. A la derecha aparece una gráfica de los coeficientes $a_{(k)}$. Para poder hacer las comparaciones, no es conveniente usar todos los k coeficientes ya que es posible que uno de ellos sea parte de las intensidades de un rayo cósmico. La intención de ordenar loe elementos de $\mathbf{A}$ es la de eliminar el número mayor $a_{(8)}$ para evitar comparar el píxel central con un posible píxel vecino afectado por ruido impulsivo. También se elimina el valor mínimo $a_{(1)}$ de este arreglo ya que puede venir

de un píxel afectado por un pico negativo, este tipo de defectos en los espectros no son comunes, pero pueden ser eliminados con este procedimiento.

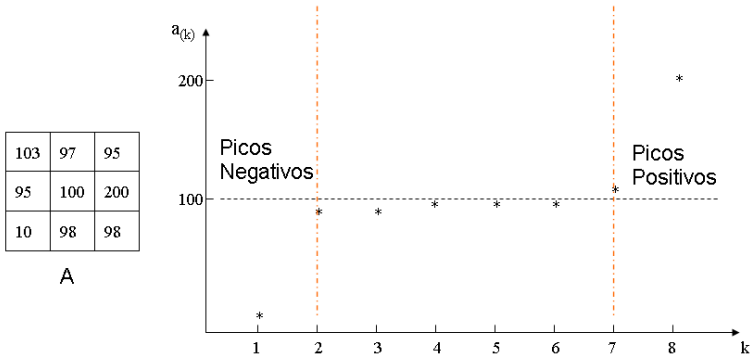


Figura 3.12: Ejemplo numérico de ventana deslizante 3×3.

Por lo general, la primera aproximación que se tiene para comparar el píxel central con los pixeles vecinos es calculando la media (μ) de estos y su desviación estándar (σ). Para este caso, si el píxel central a_{22} está por fuera de los límites $\mu \pm K\sigma$, $K = 1, 2, \ldots$, este es considerado un afloramiento. Esta idea asume que la distribución de los coeficientes $a_{(k)}$, $k = 1, 3, \ldots, 7$ es Gaussiana.

El caso Gaussiano no se cumple para todos los casos. Considere el que la ventana se encuentra sobre la frontera de dos objetos (i.e. la membrana celular que separa el cuerpo celular y el background). Cada objeto se puede diferenciar del resto de la imagen debido a que tienen diferentes niveles de intensidad. En este caso, la distribución de $a_{(k)}$ no corresponde a una distribución Gaussiana. Para tener control de esta situación, se asume que todas las intensidades de $a_{(k)}$ tienen la misma probabilidad de ocurrencia, por lo tanto, la función de distribución de estas intensidades será una distribución uniforme. Este caso no necesariamente se cerca fielmente a la realidad, pero es más conveniente que el caso Gaussiano.

Tomando en consideración lo dicho anteriormente, los valores de intensidad aceptados para el píxel central son $a_{(1)} > a_{22} > a_{(7)}$. Si se detecta un píxel central

por fuera de este rango, se reemplaza su valor por la media de $a_{(k)}$, $k = 1, 3, \ldots, 7$. Si el píxel central se encuentra dentro del rango, este no es modificado.

El siguiente algoritmo muestra un pseudos-código del filtro SWINF.

Algorithm 1 Algoritmo SWINF

for all n **do**
  for all i **do**
    for all j **do**
      $A \leftarrow y_{i-1:i+1,j-1:j+1}[n]$
      $a_{(k)} = sort(a_{11}, a_{21}, a_{31}, a_{12}, a_{32}, a_{13}, a_{23}, a_{33})$
      if $a_{(1)} > a_{22} > a_{(7)}$ **then**
        $y_{i,j}[n] \leftarrow mean(a_{(k)})$, $k = 1, 2, \ldots, 7$
      end if
    end for
  end for
end for

3.3 Filtrado de Ruido Aleatorio

Una vez se tiene el estimado de $x[n]$, se diseñan un conjunto de filtros para estimar $s[n]$ haciendo uso de las propiedades de la señal o aplicando algoritmos de suavizado. En esta etapa, se consideraron dos alternativas al algoritmo de Savitzky-Golay: reduccion de ruido con Wavelets y filtros Kalman. La Figura 3.13 muestra un esquema del sistema de reducción de ruido.

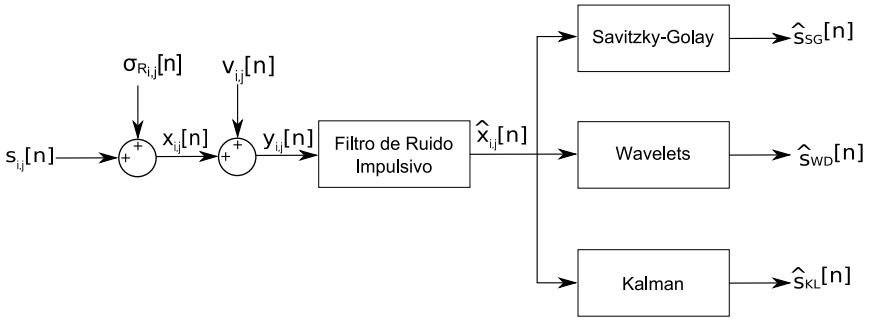


Figura 3.13: Algoritmos de reducción de ruido aleatorio.

Cada medida de intensidad de dispersión Raman para un píxel en particular y número de onda solamente tiene una medida $x_{i,j}[n]$. Recuerde que los indices (i, j) indican la posición de cada píxel y n el número de onda. Cada medida es el resultado de un proceso de conteo que es afectado por ruido aleatorio $\sigma_{R_{i,j}}[n]$. El ruido es una variable aleatoria con función de distribución Binomial, la cuál puede aproximarse a una distribución Poisson o Gaussiana tomando las consideraciones pertinentes. Se asume que el ruido esta no correlacionado con respecto a la posición del pixel y número de onda

$$E\{\sigma_{R_{i,j}}[n_1], \sigma_{R_{k,l}}[n_2]\} = 0 \quad \forall \quad i \neq k \wedge j \neq l \wedge n_1 \neq n_2. \tag{3.6}$$

La señal $s_{i,j}[n]$ esta relacionada espectralmente por medio de las bandas Raman. Por lo tanto, una sola medida tiene relación entre las medidas adyacentes a lo largo del número de onda. De la misma manera, una sola medida tiene una relación espacial debido a la distribución de los objetos en la escena.

Los algoritmos diseñados en este trabajo se basan en relaciones espectrales. En otras palabras, los algoritmos diseñados trabajan con espectros individuales, se hace un procesamiento píxel por píxel de la imagen. Para simplificar la notación, los índices (i, j) no se usaran en esta parte del capítulo y estos índices pueden ser asignados a otras cantidades. De aquí en adelante, la señal con ruido y sin ruido aleatorio son $x[n]$ y $s[n]$, respectivamente.

3.3.1 Reducción de Ruido con Wavelets

La Figura 3.14 muestra un diagrama esquemático de la reducción de ruido con Wavelets. El primer paso es transformar la señal usando la transformada discreta de Wavelets - Discrete Wavelet Transform (DWT). La señal transformada se pasa por un proceso de umbralizado que remueve los coeficientes correspondientes al ruido.

Finalmente, se reconstruye la señal usando la transformada inversa de Wavelets - Inverse Discrete Wavelet Transform (IDWT).

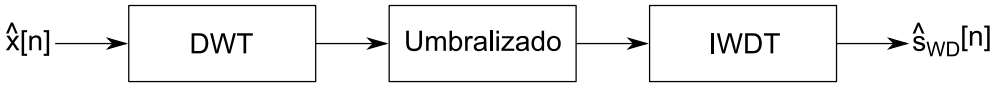


Figura 3.14: Diagrama de umbralizado con Wavelets.

En las siguientes secciones se estudia el concepto de la transformada de Wavelets algunos parámetros de la transformación y el método de umbralzado como una alternativa para le reducción de ruido.

3.3.1.1 Transformada Wavelet

La idea detrás de la transformada Waveletes la representación de señales $x(t) \in \mathbf{L^2}(\Re)$ con una serie Wavelet de la forma[24]

$$x(t) = \sum_l d_l \psi_l(t), \tag{3.7}$$

donde t es el dominio de la función, l es un índice entero de la suma infinita, d_l son los *coeficientes de expansión* o *coeficientes Wavelet* y $\psi_l(t)$ son un conjunto de funciones llamadas conjunto de expansión o familia Wavelet.

$\mathbf{L^2}(\Re)$ es el conjunto de todas las funciones o señales de energía finita

$$\mathbf{L^2}(\Re) = \left\{ x(t) : \int |x(t)|^2 dt < +\infty \right\}.$$

Si la expansión (3.7) es única, el conjunto de funciones $\psi_l(t)$ es llamada base para la función $x(t)$. Si la base es ortogonal, entonces

$$\langle \psi_k(t), \psi_l(t) \rangle = \int \psi_k(t) \psi_l^*(t) dt = 0, \quad k \neq l,$$

donde $< \cdot, \cdot >$ es el producto interno en $\mathbf{L^2}(\Re)$.

Entonces, los coeficientes de expansión se pueden calcular usando el producto interno

$$d_l = \langle x(t), \psi_l(t) \rangle = \int x(t) \psi_l^*(t) dt.$$

Adicionalmente, la familia Wavelet generalmente contiene funciones normalizadas $||\psi_l(t)||_2 = 1$, centradas en $t = 0$ y de promedio cero

$$\int_{-\infty}^{+\infty} \psi(t) dt = 0.$$

La familia de Wavelet $\psi_{\hat{s},u}(t)$, $\hat{s} \in \Re \backslash \{0\}$, $u \in \Re$ se pueden expresar como un conjunto de funciones definidas como translaciones y cambios de escala de una sola función $\psi(t) \in \mathbf{L^2}(\Re)$. La función $\psi(t)$ es llamada *función madre*. Por lo tanto, $\psi(t)$ se dilata con un parámetro de escala $\hat{s}$ y trasladada con u.

$$\psi_{\hat{s},u}(t) = \frac{1}{\sqrt{\hat{s}}} \psi \left(\frac{t-u}{\hat{s}} \right).$$

Finalmente, la transformadas continua de Wavelet - Continuous Wavelet Transform (CWT) de $x(t)$ son los coeficientes de expansión dados por

$$d_{\hat{s},u} = \langle x(t), \psi_{\hat{s},u}(t) \rangle = \int f(t) \frac{1}{\sqrt{\hat{s}}} \psi^* \left(\frac{t-u}{\hat{s}} \right) dt.$$

La Figura 3.15 ilustra un espectro de agua y su transformada de Waveletcontinua. Los coeficientes menos intensos representan valores pequeños de $d_{\hat{s},u}$. Los coeficientes mas intensos representan valores grandes de CWT.

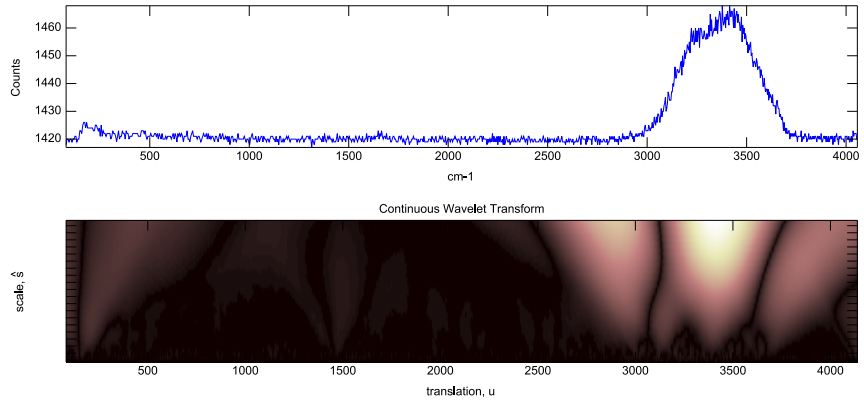


Figura 3.15: Transformada Wavelet Continua (TWC) para un espectro de agua.

3.3.1.2 Transformada Discreta de Wavelet

La transformada de Waveletes una representación bidimensional (escala y posición) de una señal unidimensional. Claramente, la CWT es redundante y se pueden seleccionar valores discretos de u y s para reducir los coeficientes de expansión y mantener la información de la señal. Vidakovic[25] define el muestreo crítico como

$$\hat{s} = 2^{-j},\ u = k2^{-j},\ j,k \in \mathbb{Z}$$

y argumenta que esto produce una desviación mínima. Dicho muestreo produce una base ortogonal

$$\psi_{j,k}(t) = 2^{j/2}\psi(2^j t - k),\ j,k \in \mathbb{Z}. \tag{3.8}$$

Rescribiendo (3.7), $x(t)$ se puede representar como

$$x(t) = \sum_{j\in\mathbb{Z}} \sum_{k\in\mathbb{Z}} d_{j,k}\psi_{j,k}(t) = \sum_{j\in\mathbb{Z}} z_j(t) \tag{3.9}$$

donde $d_{j,k} = \langle x(t), \psi_{j,k}(t)\rangle$ y $z_j(t)$ son las proyecciones de $x(t)$ en el espacio generado por $\psi_{j,k}(t),\ \forall k$.

3.3.1.3 Análisis Multiresolución

Mallat[26] en 1989 presentó la idea de análisis multiresolución (Multiresolution Analysis - MRA) e introdujo el concepto de resolución que esta relacionado con los efectos de cambio de escala relacionados con el parámetro de escala j.

Dado que el conjunto de funciones $\psi_{j,k}(t)$ representa una base, $\mathbf{L^2}(\Re)$ se puede representar como una suma directa de subespacios[27]

$$\mathbf{L^2}(\Re) = \ldots \oplus W_{-1} \oplus W_0 \oplus W_1 \ldots$$

con $W_j = span\{\psi(2^j t - k),\ k \in \mathbb{Z}\},\ j \in \mathbb{Z}$.

Considere un nuevo conjunto de funciones

$$\phi_{j,k}(t) = 2^{j/2}\phi(2^j t - k),\ j,k \in \mathbb{Z}, \tag{3.10}$$

que son base de $\mathbf{L^2}(\Re)$. Estas funciones son llamadas *funciones de escala*. Cada elemento de la base genera los subespacios $V_j = span\{\phi(2^j t - k),\ k \in \mathbb{Z}\},\ j \in \mathbb{Z}$ dado que

$$\ldots \subset V_{j+1} \subset V_j \subset V_{j-1} \ldots$$

La nueva base se define dado que se cumple siguiente relación entre subespacios

$$V_j = V_{j+1} \oplus W_{j+1}. \tag{3.11}$$

La proyección de la señal en el nuevo subespacio esta dado por

$$x_j(t) = \sum_{j\in\mathbb{Z}} c_{j,k}\phi_{j,k}(t),$$

donde $c_{j,k} = \langle x(t), \phi_{j,k}(t)\rangle$ y $x_j(t)$ son la proyección de $x(t)$ en el espacio generado por $\phi_{j,k}(t)$, $\forall k$, en otras palabras $x_j(t) \in V_j$. Las proyecciones $c_{j,k}$ se conocen como *coeficientes de escala*. Note que

$$\lim_{j\to-\infty} = x_j(t) = x(t).$$

De la ecuación (3.11) se deriva la siguiente descomposición de la señal

$$x_j(t) = x_{j+1}(t) + z_{j+1}(t). \tag{3.12}$$

Usando (3.9) y (3.12), el análisis multiresolución esta dado por

$$x(t) = \sum_k c_{j_0,k}\phi_{j_0,k}(t) + \sum_k \sum_{j=j_0}^{\infty} d_{j,k}\psi_{j,k}(t). \tag{3.13}$$

De acuerdo con [24], las funciones de wavelets y escala se pueden expresar en términos de una suma ponderada de la función $\phi(2t)$ desplazada

$$\phi(t) = \sum_k h(k)\sqrt{2}\phi(2t-k), \quad \psi(t) = \sum_k g(k)\sqrt{2}\phi(2t-k), \quad k \in \mathbb{Z}.$$

De estas ecuaciones, los coeficientes de escala $c_{j,k}$ y wavelets $d_{j,k}$ son

$$c_{j,k} = \sum_m h(m-2k)c_{j+1,m}, \quad d_{j,k} = \sum_m g(m-2k)d_{j+1,m}.$$

Estas ecuaciones muestran que la transformada Wavelets se puede calcular usando una familia de filtros discretos h y g.

3.3.1.4 Aproximaciones Wavelets

Considere el conjunto base $\mathbf{B} = \{\mathbf{g_m}\}_{\mathbf{0 \leq m < N}}$ dado que $< g_m, g_p >= \delta[m-p]$ (condición de ortogonalidad). Donde $\delta[m-p] = 1$ para $m = p$ y $\delta[m-p] = 0$ para $m \neq p$. Una aproximación lineal de $x[n]$ en términos de $\mathbf{B}$ es una combinación lineal de las N funciones de base wavelets g_m

$$x[n] = \sum_{m=0}^{N-1} < x, g_m > g_m = \sum_{m=0}^{N-1} x_m[n] g_m$$

donde $x_m[n] =< x, g_m >$ es la proyección de la señal con respecto a cada elemento de la base. Dicha proyección está relacionada con los coeficientes wavelets.

Cada proyección, usando un modelo de la señal dado por (3.1), esta dada por

$$\begin{aligned} x_m[n] &= < x[n], g_m >=< s[n] + \sigma_R[n], g_m > \\ &= < s[n], g_m > + < \sigma_R[n], g_m > \\ &= s_m[n] + \sigma_{R_m}[n] \end{aligned}$$

3.3.1.5 Método de Ubralizado Wavelets

Se calcula un estimado de $s[n]$ usando el umbralizado de los coeficientes Wavelets. Este método es también conocido como Wavelet shrinkage. Un operador diagonal estima independientemente cada $s_m[n]$ de $x_m[n]$ y el estimado es dado por

$$\tilde{s}[n] = Dx[n] = \sum_{m=0}^{N-1} d_m(x_m[n])g_m$$

Generalmente el operador diagonal d_m es una función de umbraliazdo. Las funciones de umbralizado más comunes son umbralizado fuerte y suave, y se muestra en la Tabla 3.3 cada método.

Tabla 3.3: Métodos de umbralizado

Umbralizado fuerte	**Umbralizado suave**
$d_m(x) = \rho_T(x) = \begin{cases} x & \text{if } \lvert x\rvert > T \\ 0 & \text{if } \lvert x\rvert \leq T \end{cases}$	$d_m(x) = \rho_T(x) = \begin{cases} x - T & \text{if } x \geq T \\ x + T & \text{if } x \leq -T \\ 0 & \text{if } \lvert x\rvert \leq T \end{cases}$

La Figura 3.16 ilustra las funciones de umbralizado.

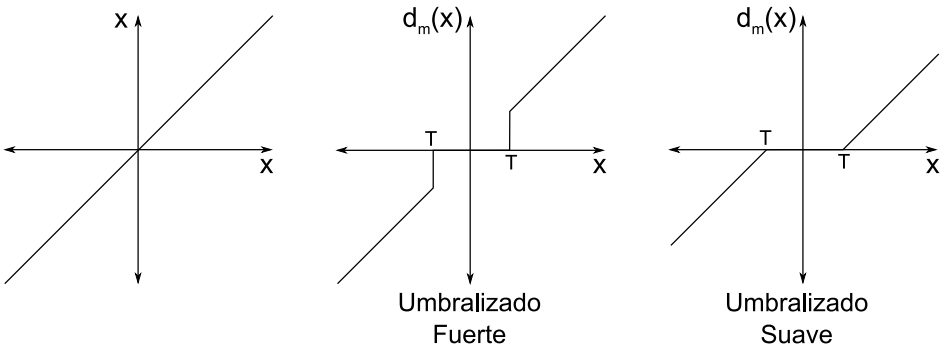


Figura 3.16: Umbralizado fuerte y suave.

Se obtuvieron valores de umbrales usando los métodos más comunes citados en la literatura[28]: Minimax Threshold (MINIMAX), Universal Threshold (UNIVERSAL), Stein's Unbiased Risk Estimate (SURE) and Heuristic SURE (HSURE). Finalmente, se eligieron cuatro familias Wavelets para la descomposición de la señal: Symlets con ocho vanishing moments (SYM8), Coifman Wavelets de orden 5 (COIF5), wavelets Biortogonales (BIOR6.8) y Reverse Biorthogonal Wavelets (RBIOR6.8).

3.3.2 Filtros Kalman

Los filtros Kalman son filtros óptimos y se caracterizan por que su solución se calcula recursivamente. Este tipo de formulación se puede aplicar a sistemas donde el modelo de la señal se puede describir como un espacio de estados lineal y el ruido se puede modelar como aditivo y blanco. Los filtros Kalman se basan en un modelo de sistema dinámico dado por su *ecuación de estado*, también llamada *ecuación de proceso*[29]

$$s[n] = F[n, n-1]s[n-1] + v_1[n],$$

donde $s[n]$ es el *vector de estado*, en este caso, la dispersión Raman. $F[n, n-1]$ es conocida como la *matriz de transición de estados* que relaciona los estados entre los número de onda en n y $n-1$. El vector $v_1[n]$ representa el *ruido del proceso*. Este vector es modelado como de media cero y un proceso de ruido blanco. Para esta aplicación, este vector es igual a cero ya que se asume que las transiciones entre intensidades de dispersión Raman estan libres de ruido.

El *modelo de medida* se describe por el *vector observación* dado por

$$x[n] = C[n]s[n] + v_2[n],$$

donde $C[n]$ es conocida como la *matriz de medida* y $v_2[n]$ es llamado *ruido de medición* (ruido aleatorio). Este ruido se modela como un proceso de media cero y blanco. La matriz de autocorrelación del ruido esta dada por

$$E\left[v_2[n]v_2^T[k]\right] = \begin{cases} Q_2[n], & n = k \\ 0, & n \neq k \end{cases}.$$

Usando el modelo descrito anteriormente, el algoritmo de Kalman usa los datos observados $x[n]$ para encontrar para cada n el mínimo error cuadrático medio para los componentes del estado $s[n]$. Sea $\hat{s}^-[n]$ y $\hat{s}[n]$ los estados estimados *a priori* y *a posteriori*, respectivamente. Los errores de estimación se pueden escribir como[30]

$$e^-[n] = s[n] - \hat{s}^-[n], \quad e[n] = s[n] - \hat{s}[n].$$

De la misma manera, el estimado de la covarianza del error *a priori* y *a posteriori* sera

$$P^-[n] = E[e^-[n]e^{-^T}[n]], \quad P[n] = E[e[n]e^T[n]],$$

donde el superíndice T denota la transpuesta del vector o matriz.

La regla de actualización de la estimación del estado en filtros Kalman esta dada por

$$\hat{s}[n] = \hat{s}^-[n] + K[n]\left(x[n] + C[n]\hat{s}^-[n]\right),$$

donde $K[n]$ es llamada *ganancia de Kalman* y minimiza la covarianza del error *a posteriori*. La diferencia $(x[n] + C[n]\hat{s}^-[n])$ es llamado *proceso de innovación*.

La ganancia de Kalman se pueden calcular usando la siguiente ecuación

$$K[n] = P^-[n]C^T[n]\left(C[n]P^-[n]C^T[n] + Q_2[n]\right)^{-1}.$$

La Tabla 3.4 muestra las ecuaciones del filtro Kalman. Estas se pueden dividir en dos grupos: ecuaciones de *actualización de tiempo* (predictor) y las ecuaciones de *actualización de la medida* (corrector). Las ecuaciones de actualización de tiempo

siguen el estado actual y los estimados de la covarianza del error para poder obtener los estimados *a priori* para el siguiente paso. Las actualizaciones en la medida son las encargadas de la realimentación, obteniendo una mejora en el estimado *a posteriori*.

Tabla 3.4: Ecuaciónes del filtro Kalman

Ecuaciones de actualización de tiempo
(1) Proyecta el estado hacia adelante $\hat{s}^{-}[n] = F[n, n-1]\hat{s}[n-1]$ **(2)** Proyecta hacia adelante la covarianza del error $P^{-}[n] = F[n, n-1]P[n-1]F^{T}[n, n-1]$

ecuaciones de actualización de la medida
(1) Calcula ganancia Kalman $K[n] = P^{-}[n]C^{T}[n]\left(C[n]P^{-}[n]C^{T}[n] + Q_2[n]\right)^{-1}$ **(2)** Actualiza estimado con $x[n]$ $\hat{s}[n] = \hat{s}^{-}[n] + K[n]\left(x[n] + C[n]\hat{s}^{-}[n]\right)$ **(3)** Actualiza la covarianza del error $P[n] = (I - K[n]C[n])P^{-}[n]$

Las actualizaciones de medida y tiempo se calculan hasta estimar todos los estados $s[n]$. Una vez se establecen las ecuaciones de Kalman, es necesario tener un modelo de la señal para poder calcular las matrices espacio de estados y del modelo de observación.

El modelo asumido para estos datos es un proceso Gauss-Markov[31]. Este modelo es ampliamente usado debido a que es simple y presenta un buen rendimiento en sistemas donde no se tiene conocimiento del proceso en consideración. El sistema fue modelado como un sistema autorregresivo de segundo orden y la matriz de correlación del ruido fue calculada usando el modelo del ruido presentado en la Sección 2.7.1.

CAPÍTULO 4
RESULTADOS DE EXPERIMENTOS

Por lo general, cuando se ponen a prueba los algoritmos diseñados en procesamiento de señal, estos son probados primero con datos sintéticos y posteriormente con datos reales. En primera instancia, es preferible trabajar con datos sintéticos ya que se conoce bien los valores de la señal sin ruido.

Por otra parte, tener un modelo exacto de muestra-espectroscopio, para simular los espectros Raman, es un proceso muy complicado ya que están envueltas muchas variables. La forma de las señales en espectroscopia Raman dependen de factores como la intensidad del Laser, tipo de muestra y concentración, tiempo de integración, respuesta del espectrógrafo y microscopio, detector CCD, entre otros. Algunas variables pueden ser determinadas, pero no en su totalidad.

Todos los métodos de reducción de ruido mencionados en este trabajo, relacionados con ruido aleatorio, están basados en minimización del error en la estimación. Para poder calcular errores, es necesario tener espectros con y sin ruido. Cuando un espectro Raman es adquirido, solamente una medida es tomada de la señal por cada elemento del CCD y no se tiene una señal de referencia de dicha medida.

Este capítulo muestra como fueron usados datos reales para diseñar y probar los algoritmos diseñados para remover ruido aleatorio. Los datos reales usados fueron adquiridos a partir de un experimento diseñado con el grupo de investigación del profesor Diem en Boston. La idea detrás de experimento es la de obtener señales de referencia para poder calcular errores de estimación de los algoritmos de reducción

de ruido aleatorio. Para el experimento, se usaron dos materiales con diferentes respuestas espectrales, adquiriendo su espectro a diferentes niveles de ruido. Estos datos fueron usados también para hacer un estudio de la estadística del ruido y para crear un marco de referencia para construir los datos sintéticos.

4.1 Metodología

Los algoritmos descritos en la Sección 3 fueron probados con datos sintéticos y reales. Las siguientes secciones describen como fueron adquiridos y analizados los datos reales, y como fueron generados los datos sintéticos. Este capítulo también muestra algunos resultados importantes acerca de la estadística de ruido aleatorio y respuesta de los detectores CCD. Finalmente, se definen las medidas de rendimiento con las que se van a comparar los métodos tratados en este trabajo. Todos los algoritmos fueron programados y probados usando Matlab® R2006a.

4.1.1 Datos Reales

Asumiendo que cada elemento de un CCD es afectado solamente por ruido aleatorio, se puede obtener un estimado de la dispersión Raman usando un conjunto de muestras del mismo elemento. Si estas medidas siguen una estadística Poisson o Gaussiana, como se mostró en la Sección 2.7.1, el mejor estimador de la dispersión Raman $s[n]$ será el promedio de las muestras de $x[n]$.

Se escogieron dos materiales con respuestas espectrales diferentes, el primero de los materiales fue un polímero el cual presenta varias bandas Raman agudas (variación grande en la intensidad). La otra muestra seleccionada fue agua ya que tiene bandas Raman anchas (variación lenta en la intensidad).

Para cada material se midieron los espectros Raman de los materiales a tres niveles de ruido diferentes, controlados por el tiempo de integración. Los tiempos usados fueron $200ms$, $400ms$ y $800ms$, estos tiempos fueron elegidos de acuerdo a los

tiempos de integración comunes para este tipo de muestas. Para cada combinación de material-nivel de ruido, se adquirieron cien espectros en las mismas condiciones con la intención de obtener un buen estimado de la señal $s[n]$.

Las Figuras 4.1 a la 4.6 muestran en la parte superior izquierda el espectro ruidoso del material específico, a un tiempo de integración dado. La parte superior derecha de las figuras muestra el espectro de referencia $s[n]$ calculado a partir del promedio de las cien muestras. En la parte inferior izquierda aparece la gráfica de la señal de ruido calculada a partir de la diferencia entre $x[n]$ y $s[n]$. Finalmente, en la parte inferior derecha aparece la función de autocorrelación[32] $R_{\sigma_R,\sigma_R}(k)$ del ruido, donde el coeficiente k representa el retraso en la función de autocorrelación.

Se aplicó la prueba de Ljung-Box[33] a la señal estimada de ruido, para saber si esta señal tiene propiedades de ruido blanco. El test resultó satisfactorio para todos los datos adquiridos en el experimento. Este resultado está de acuerdo con la función de autocorrelación calculada para cada nivel de ruido, se puede ver una alta autocorrelación para $k = 0$.

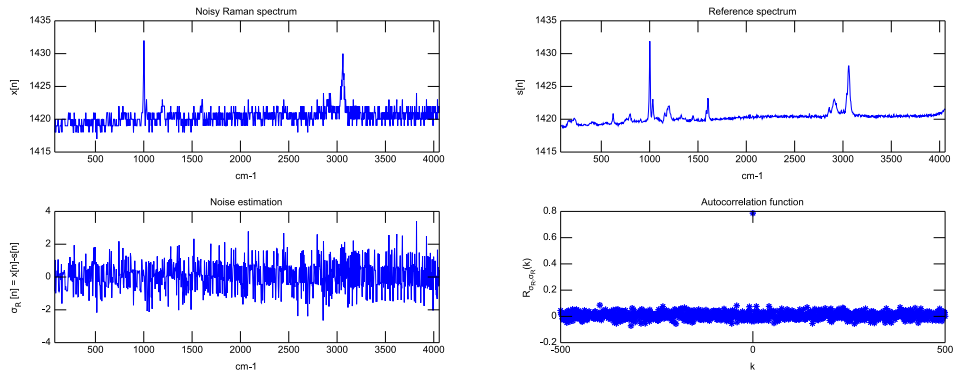


Figura 4.1: Espectro del polímero, tiempo de integración de 200ms; Espectro ruidoso, espectro de referencia, ruido estimado y su función de autocorrelación

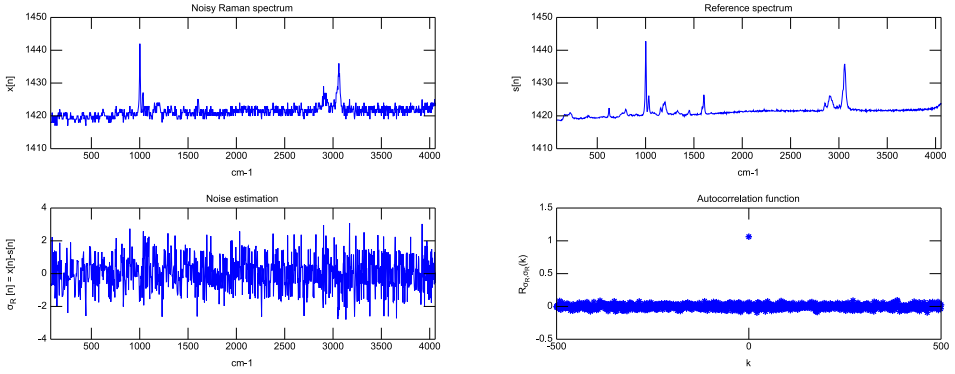


Figura 4.2: Espectro del polímero, tiempo de integración de 400ms; Espectro ruidoso, espectro de referencia, ruido estimado y su función de autocorrelación

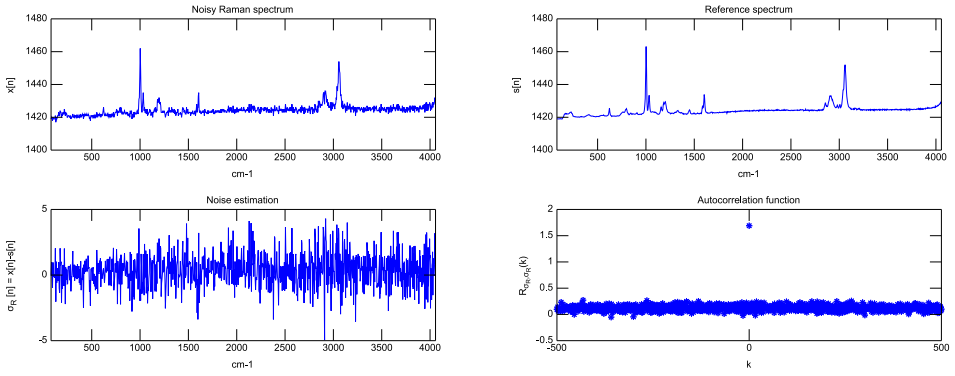


Figura 4.3: Espectro del polímero, tiempo de integración de 800ms; Espectro ruidoso, espectro de referencia, ruido estimado y su función de autocorrelación

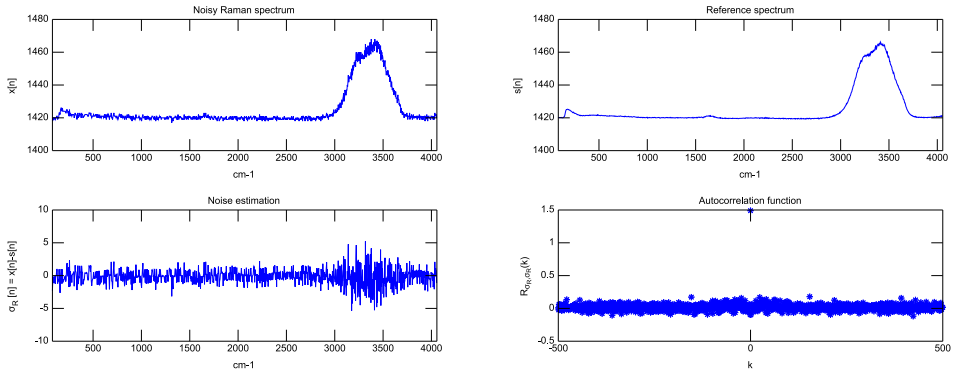


Figura 4.4: Espectro de agua, tiempo de integración de 200ms; Espectro ruidoso, espectro de referencia, ruido estimado y su función de autocorrelación

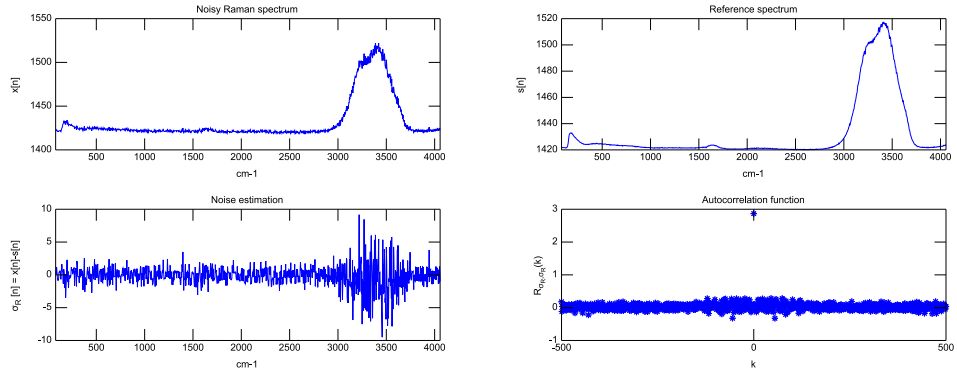


Figura 4.5: Espectro de agua, tiempo de integración de 400ms; Espectro ruidoso, espectro de referencia, ruido estimado y su función de autocorrelación

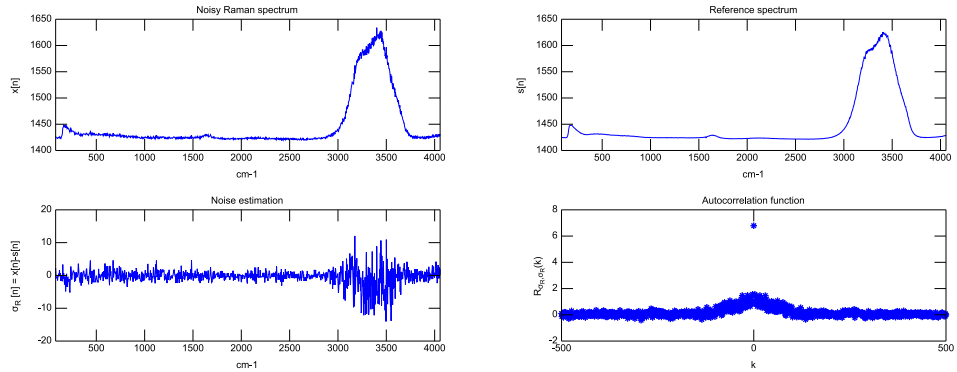
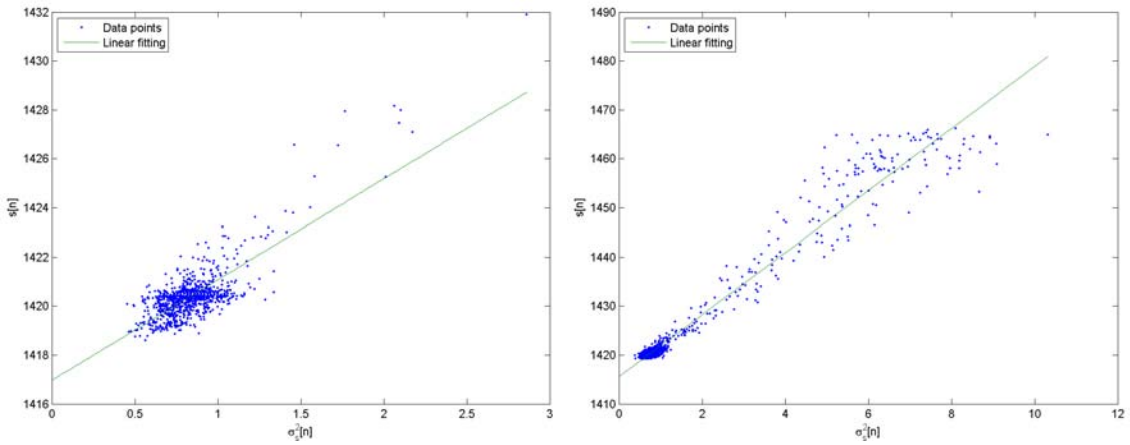


Figura 4.6: Espectro de agua, tiempo de integración de 800ms; Espectro ruidoso, espectro de referencia, ruido estimado y su función de autocorrelación

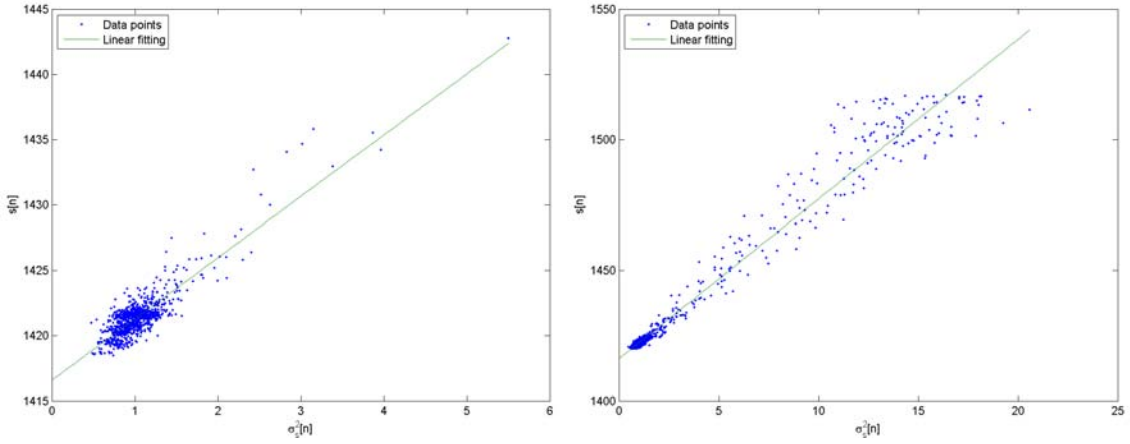
4.1.1.1 Estadística del Ruido de los Datos Experimentales

Las Figuras 4.7(a) y 4.7(b) muestran la grafica de dispersión de la señal de referencia versus la varianza del ruido adquirido a $200ms$ para el polímero y el agua, respectivamente. La gráfica de dispersión muestra una correlación positiva y una relación aproximadamente lineal. La línea recta que aparece en las gráficas corresponde al ajuste lineal de los puntos usando Mínimos Cuadrados.



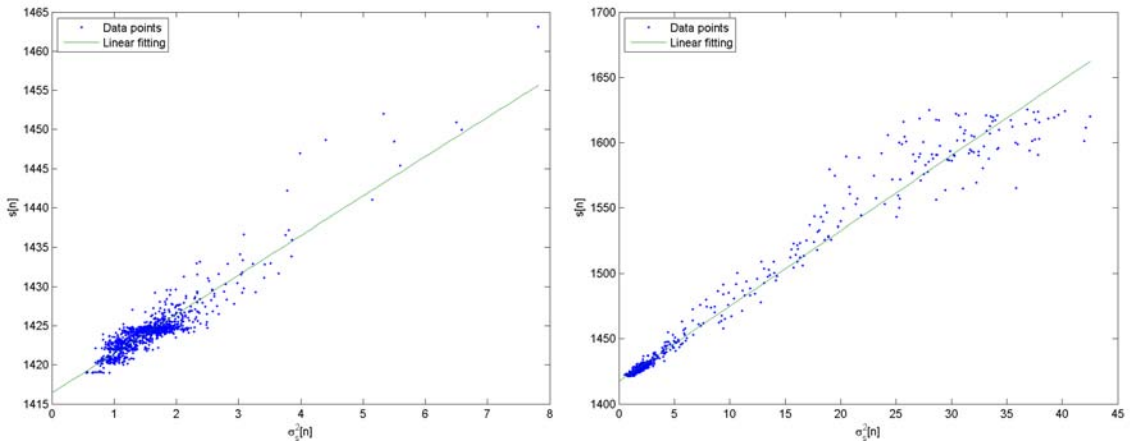
(a) (b)

Figura 4.7: Estadísticas de datos reales para tiempo de integración de 200ms, (a) Espectro del polímero; (b) Espectro de agua.



(a) (b)

Figura 4.8: Estadísticas de datos reales para tiempo de integración de 400ms, (a) Espectro del polímero; (b) Espectro de agua.



(a) (b)

Figura 4.9: Estadísticas de datos reales para tiempo de integración de 800ms, (a) Espectro del polímero; (b) Espectro de agua.

Las Figuras 4.8 y 4.9 aparecen las gráficas de dispersión del polímero y agua para los tiempos de integración de $400ms$ y $800ms$, respectivamente.

Se aplicó una regresión lineal a los datos para poder obtener una relación la amplitud del espectro de referencia y la varianza del ruido aleatorio

$$s[n] = \alpha \cdot var(\sigma_R^2[n]) + s_{bias}, \tag{4.1}$$

donde α es un factor de varianza y s_{bias} es el bias del CCD; en este caso, se asume un valor constante para todo n.

La Tabla 4.1 muestra los resultados del ajuste lineal para los diferentes materiales a diferentes niveles de ruido. Se puede observar que todos los casos presentan el mismo comportamiento ya que los valores de α y s_{bias} se mantienen. El promedio en la pendiente es $\bar{\alpha} = 5.3349$ y el promedio en el bias del sensor es $\bar{s}_{bias} = 1416.5$.

Tabla 4.1: Regresión lineal de $s[n]$ versus $\sigma_R[n]$.

Material	**Tiempo de Int. (ms)**	α	$\mathbf{s_{bias}}$
Polímero	200	4.1114	1417.0
Polímero	400	4.6849	1416.6
Polímero	800	5.0173	1416.4
Agua	200	6.3274	1415.5
Agua	400	6.1095	1416.2
Agua	800	5.7590	1417.4

De esta manera, se encontró una expresión que relaciona la varianza del ruido aleatorio y la intensidad de la dispersión Raman. El valor esperado de (2.2) esta dado por

$$\begin{aligned} E\left[x'[n]\right] &= E\left[x[n]\right] + E\left[\sigma_{dark}[n]\right] + E\left[s_{bias}[n]\right] \\ s'[n] &= s[n] + s_{bias}[n]. \end{aligned} \tag{4.2}$$

Incluyendo (4.2) en (4.1), se encuentra la siguiente expresión

$$var\left(\sigma_R[n]\right) = \frac{s'[n] - s_{bias}}{\alpha} = \frac{s[n]}{\alpha} \tag{4.3}$$

Esta expresión muestra que la varianza del ruido es menor que la intensidad de la dispersión Raman, a diferencia de como se obtuvo en la ecuación 2.6. Este comportamiento es descrito por Reich[34] como un proceso con estadística sub-Poisson donde la varianza del ruido es menor que la amplitud de la señal. Este efecto es presentado en arreglos CCD electrónicamente inyectados y backilluminated.

4.1.1.2 Relación Señal a Ruido

La Tabla 4.2 presenta los valores de SNR obtenidos para los datos del experimento. Estos valores corresponden a los valores de SNR máximos para cada nivel de ruido. Los valores de SNR medidos se obtuvieron usando (2.7), donde $\bar{S}$ es obtenida a partir de la banda Raman de mayor intensidad. La varianza del ruido se obtiene

utilizando las muestras localizadas en el numero de onda donde fue sacado $\bar{S}$. Por otra parte, se calcularon valores de SNR teóricos de acuerdo con (2.9) y usando la señal de referencia.

Tabla 4.2: Valores de SNR para los espectros de polímero y agua.

Material	**Tiempo de Int. (ms)**	**SNR medido**	**SNR teórico**
Polímero	200	9.11	3.92
Polímero	400	11.19	5.12
Polímero	800	16.68	6.83
Agua	200	21.12	7.05
Agua	400	29.27	10.03
Agua	800	39.40	14.44

Note que los valores de SNR medidos son mejores que los valores teóricos, esto es una consecuencia directa del proceso sub-Poisson nombrado anteriormente. Por lo tanto, se obtiene una nueva expresión para el SNR reemplazando (4.3) en (2.7)

$$SNR = \frac{\bar{S}}{\sigma_R} = \sqrt{\alpha \cdot s[n]} \tag{4.4}$$

4.1.2 Datos Sintéticos

A pesar que el estimado de al señal de referencia es calculado a partir de cien muestras, estos espectros siguen siendo variables aleatorias pero con una varianza del ruido menor. Para evitar tener incertidumbre en las mediciones de rendimiento de los algoritmos, se diseñaron unas señales sintéticas basadas en la forma común de los espectros Raman. El ruido aleatorio sumado a las señales sintéticas fue calculado a partir de las propiedades estadísticas encontradas en la sección anterior.

Se diseñaron cuatro señales basadas en características comunes de los espectros Raman. La Figura 4.10 ilustra las señales generadas: picos Gaussianos, picos Lorentzianos, señal suave y señal mixta.

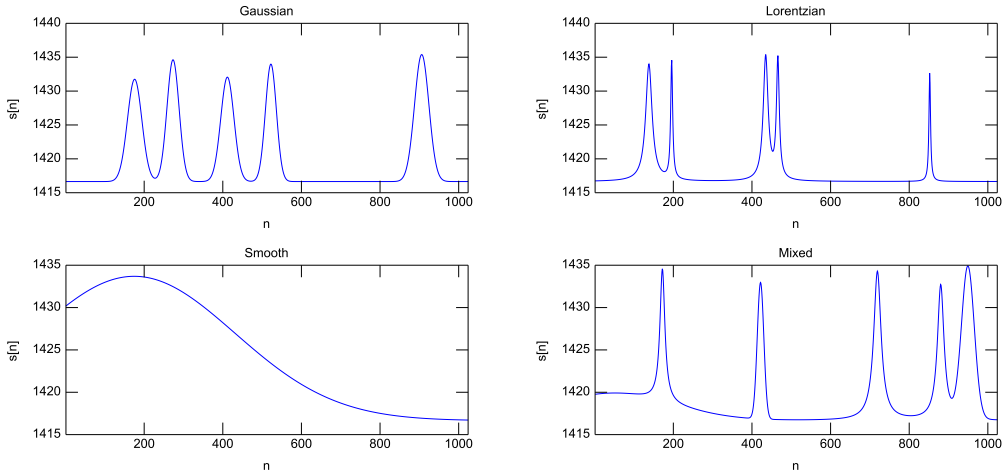


Figura 4.10: Datos sintéticos.

Las intensidades de las señales fueron limitadas por el valor de SNR deseado. Fueron elegidos tres niveles de ruido en el rango de los valores de SNR medidos que fueron reportados en la Tabla 4.2. Los valores seleccionados fueron $SNR = \{10, 20, 40\}$. Estos valores de SNR están relacionados con el máximo valor de intensidad de $s[n]$. De acuerdo con (4.4), la máxima amplitud de $s[n]$ esta dada por

$$s_{max} = \frac{SNR^2}{\alpha}.$$

4.1.2.1 Picos Gaussianos y Lorentzianos

Se seleccionaron picos Gaussianos para representar bandas Raman ya que se pueden crear picos simétricos y con rápidos cambios de intensidad controlando los valores de varianza. La siguiente expresión muestra como fueron generados los picos Gaussianos

$$s[n] = ce^{\frac{(n-n_0)^2}{\sigma^2}},$$

donde n_0 es la localización del pico, σ controla el ancho del pico y c es la altura del pico.

También, se seleccionaron picos Lorentzianos debido a que es la función que más frecuente se usa para modelar bandas Raman[20]. Estos picos también son simétricos y su ancho puede ser fácilmente controlable. A continuación se presenta la ecuación para generar intensidades de este tipo

$$x_n = \frac{c}{1 + \left(\frac{n-n_0}{\Gamma}\right)^2},$$

donde n_0 es la posición del pico, Γ es llamado Half Width at Half Maximum (HWMH) y c es la altura del pico.

Tanto los picos Gaussianos como los Lotentzianos fueron generados con el mismo procedimiento. Se crearon vectores de intensidad de longitud $N = 1024$ con cinco picos cada uno. Las posiciones de los picos n_0 fueron calculadas aleatoriamente, limitados por el 5% y 95% de N. Los anchos de los picos fueron controlados con σ y Γ para cada pico, y estos valores fueron generados aleatoriamente entre uno y cinco veces el 0.5% de N. Finalmente, las alturas de los picos se generaron aleatoriamente y limitados por el 80% y 100% de s_{max}.

4.1.2.2 Señal Suave y Mixta

La señal suave fue generada usando solamente un pico Gaussiano con varianza de 15% de N. La amplitud máxima del pico fue seleccionada aletoriamente entre el 80% y 100% de s_{max}. La posición del pico también fue generada aleatoriamente.

La señal mixta es el resultado de la superposición de una señal suave, dos picos Gaussianos y tres picos Lorentzianos. La localización de los picos, ancho e intensidad fueron generados aleatoriamente, así como se describió anteriormente.

4.1.2.3 Background, Bias y Ruido Aleatorio

Se tiene en cuenta en la señal sintética un nivel de background, con la intención de tener un nivel de ruido diferente de cero en la línea de base de la señal. Una vez se genera el espectro sintético, se suma a la señal un valor constante de 1% de s_{max} . Finalmente, se suma ruido aleatorio a la señal y un nivel de bias correspondiente al CCD

$$x'[n] = s[n] + \sigma_R[n] + \bar{s}_{bias},$$

donde $\sigma_R[n] \sim N(0, s[n]/\bar{\alpha})$. La idea con este procedimiento es la de obtener un espectro sintético similar al espectro obtenido para el polímero y el agua. La Figura 4.11 muestra ejemplos de los espectros generados con ruido.

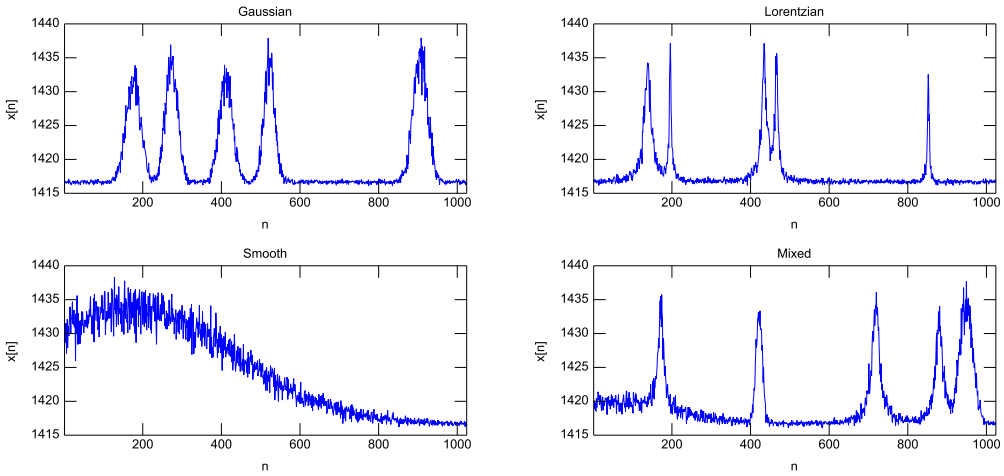


Figura 4.11: Datos sintéticos con ruido, $SNR = 10$.

Se crearon cien espectros diferentes de cada tipo de señal y SNR. Todos estos datos, junto con los datos reales del experimento con el polímero y agua, son usados para evaluar el rendimiento de los algoritmos. La siguiente sección muestra las medidas de rendimiento usadas en este proyecto.

4.1.3 Medidas de Rendimiento

Para comparar los algoritmos, fueron escogidas dos medidas de rendimiento (performance measurements en inglés). Considere que la señal con ruido está dada por $x[n]$. A partir de esta señal, los algoritmos de reducción de ruido calculan un estimado $\tilde{s}[n]$, minimizando el error con respecto a la señal de dispersión Raman $s[n]$. Basado en esto, a continuación se presentan las medias de rendimiento seleccionadas.

4.1.3.1 Error Cuadrático Medio

El Error Cuadrático Medio es comúnmente conocido como MSE, por sus siglas en ingles (Mean Squared Error). La medida de MSE indica el promedio del cuadrado de las desviaciones entre el estimado y la señal de referencia. La ecuación de MSE esta dada por

$$MSE = \frac{1}{N}\sum_{n=1}^{N}(s[n] - \tilde{s}[n])^2.$$

4.1.3.2 Norma Infinita o Norma Máxima

La Norma Infinita L_∞ indica la máxima desviación entre el estimado y la señal de referencia. Este parámetro es útil para medir desviaciones en bandas Raman agudas. Su ecuación esta dada por

$$L_\infty = \max\left(|s[n] - \tilde{s}[n]|\right).$$

4.2 Resultados del Filtro de Ruido Impulsivo

Estos algoritmos fueron probados usando los conjuntos de datos 1 y 2 que aparecen en la Figura 3.8. Recuerde que el filtro basado en características espectrales es llamado Spectrum Impulsive Noise Filter (SSINF) y el filtro basado en características espaciales es llamado Single Wavenumber Impulsive Noise Filter (SWINF).

La Figura 4.12(a) muestra la forma de la célula del conjunto de datos 1. La Figura 4.12(b) muestra todos los espectros de la imagen en la misma gráfica, note que estos espectros tienen mucho ruido impulsivo y es el resultado de tiempos de integración grandes. En la parte inferior de la Figura 4.12 se muestran los resultados de los dos filtros. Para estos datos, el filtro SWINF tiene mejores resultados que el SSINF. En ambos casos, los rayos cósmios con apariencia similar a la de la Figura 2.9, fueron eliminados satisfactoriamente.

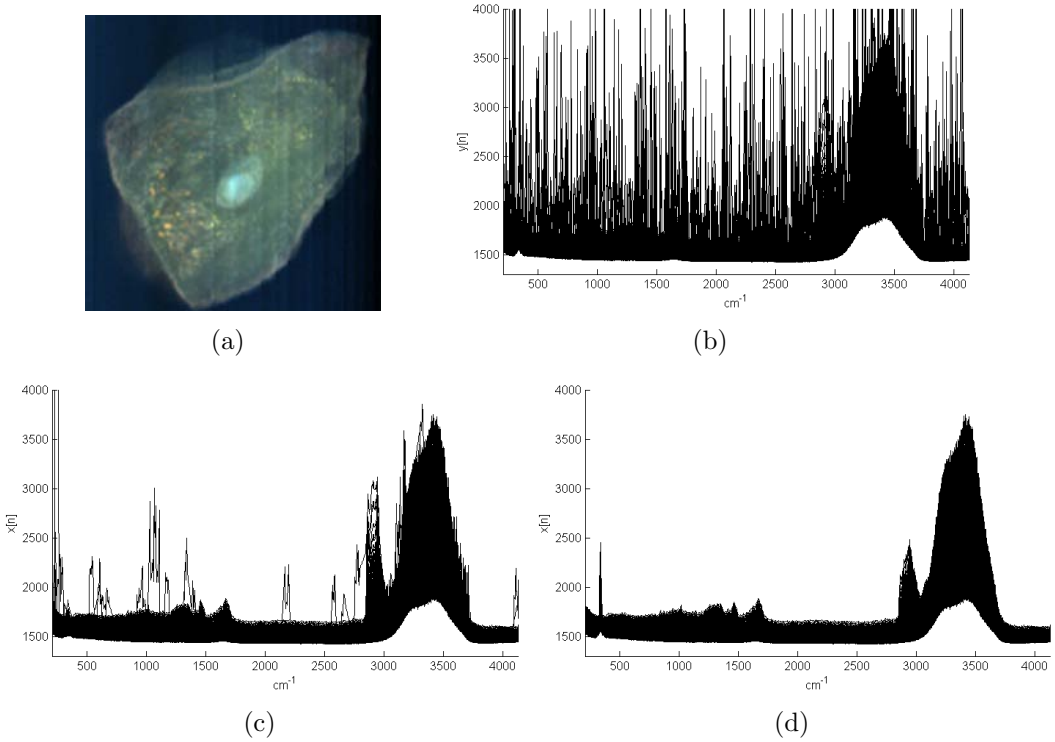


Figura 4.12: Resultados del filtro impulsivo, Conjunto de datos 1, (a) Célula; (b) Espectros originales; (c) Espectros filtrados usando SSINF; (d) Espectros filtrados usando SWINF.

La Figura 4.12(c) revela extraños artefactos producidos en la adquisición de los espectros Raman. La Figura 4.13 muestra un píxel afectado por ruido impulsivo y por un artefacto antes menciondado. Los picos cósmicos se pueden diferenciar fácilemtene en la Figura 4.13(b), un pico de baja amplitud cerca a los $1700cm^{-1}$ y otro de mayor amplitud en la parte superior de la banda Raman alrededor de los $2900cm^{-1}$. Alrededor de los $1000cm^{-1}$ aparece el artefacto y esta compuesto por varios puntos en el espectro; la forma puede cambiar entre espectros.

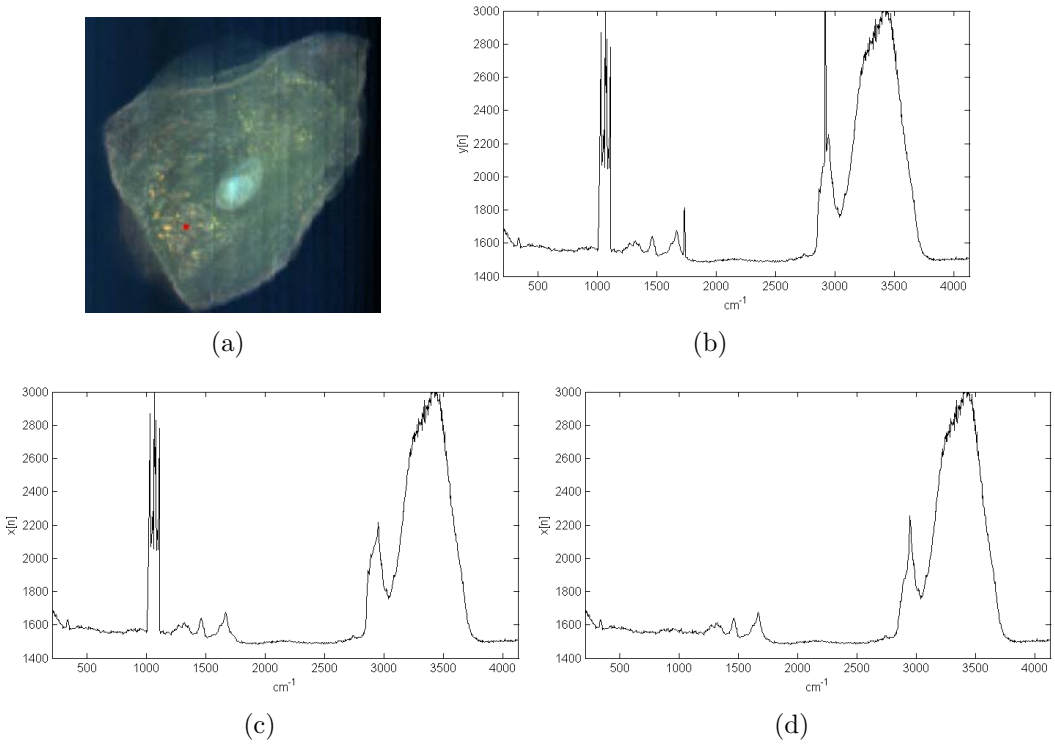


Figura 4.13: Distorción del filtro impulsivo, Conjunto de datos 1, (a) Posición del pixel; (b) Espectro original; (c) Espectro filtrado usando SSINF; (d) Espectro filtrado usando SWINF.

Observe que ambos filtros remueven el ruido impulsivo de la señal, pero el SSINF no logra remover el artefacto. De acuerdo a lo manifestado por el grupo de investigación del profesor Max Diem, no se sabe cual es la causa exacta de estos artefactos y no es muy común encontrarlos en las imágenes. De acuerdo con los resultados, los artefactos son efectos aislados y no tiene relación con los pixeles vecinos.

En este caso, SWINF obtiene mejores resultados que SSINF, pero se obtiene una pequeña distorsión en las bandas Raman cercanas a los $3000cm^{-1}$. Esta distorsión puede ser crucial ya que esta región puede tener información química importante. Este tipo de consecuencias son argumentadas con los resultados del conjunto de datos 2.

La Figura 4.14 muestra la forma de la célula del conjunto de datos 2, todos sus espectros en la misma gráfica y los espectros obtenidos con SSINF y SWINF. Este conjunto de datos tiene menos ruido impulsivo ya que se usaron tiempos de integración más cortos para la adquisición. El ruido impulsivo en esta imagen es más parecido al descrito en el Capítulo 2. Note que el ruido impulsivo se removió satisfactoriamente en ambos casos.

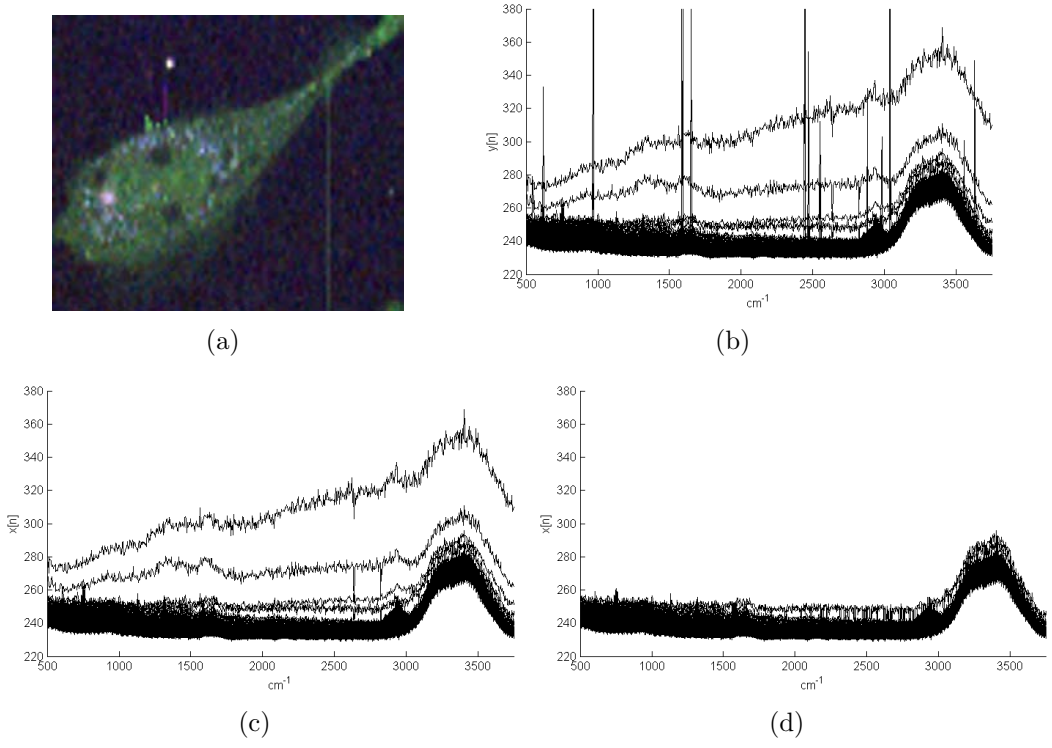


Figura 4.14: Resultados del filtro impulsivo, Conjunto de datos 2, (a) Célula; (b) Espectros originales; (c) Espectros filtrados usando SSINF; (d) Espectros filtrados usando SWINF.

En este ejemplo se ilustra un efecto no deseado del filtro SWINF. Observe el pequeño objeto en la parte superior de la célula en la Figura 4.14(a). Los pixeles que representan ese objeto tienen una respuesta espectral diferente al resto de la imagen, y se encuentran por encima del resto de espectros de la Figura 4.14(c). Este objeto esta compuesto de solamente tres o cuatro pixeles, los cuales son eliminados por el filtro SWINF.

Desafortunadamente, el filtro SWINF tiende a eliminar objetos pequeños en la imagen. Por lo tanto, este filtro requiere cierta homogeneidad en la imagen u objetos representados por varios pixeles. Muchas veces estas condiciones no son fáciles de cumplir en todos los casos en biología celular. Algunos casos en los que están envueltas nanopartículas o que se tenga un aumento bajo en el microscopio pueden ser cruciales.

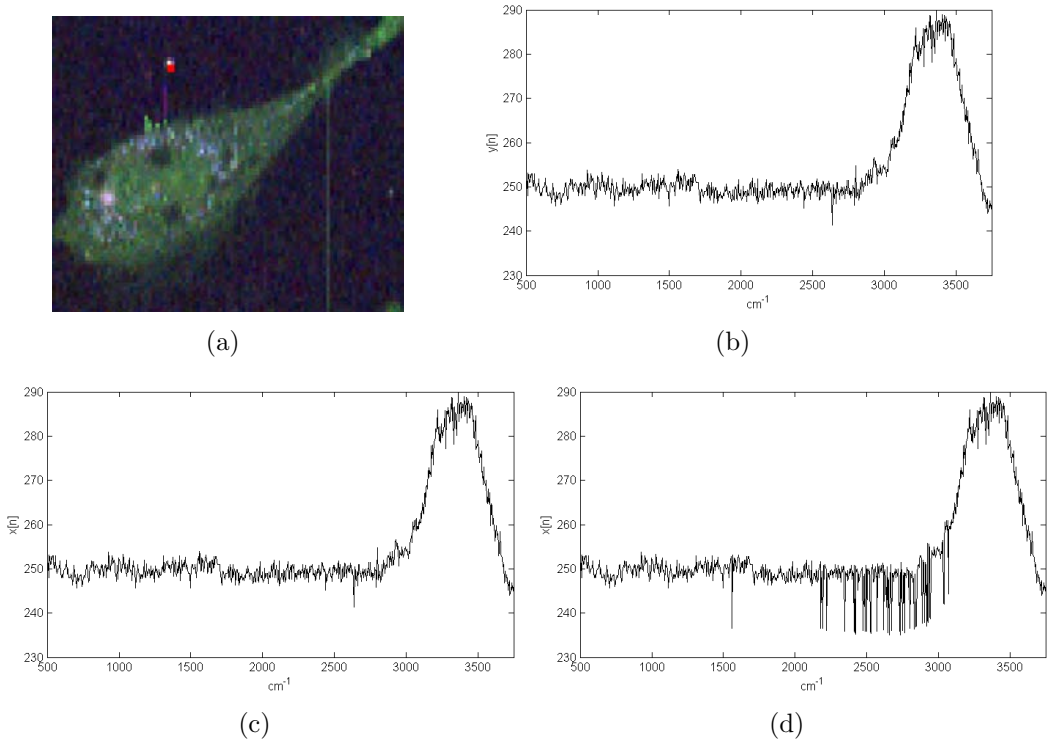


Figura 4.15: Distorción del filtro impulsivo, Conjunto de datos 2, (a) Posición del pixel; (b) Espectro original; (c) Espectro filtrado usando SSINF; (d) Espectro filtrado usando SWINF.

La Figura 4.15 muestra un efecto de distorsión adicional del filtro SWINF. En este caso el píxel indicado en la Figura 4.15(b) es distorsionado como se muestra en la Figura 4.15(d). Algunos puntos en el espectro fueron reemplazados por el filtro y otros no. El espectro procesado con SSINF no fue modificado.

4.3 Resultados de los Filtros de Ruido Aleatorio

Antes de probar los algoritmos de reducción de ruido aleatorio, se definió un procedimiento para seleccionar el tamaño de ventana y orden del polinomio del filtro de Savitzky-Golay. Al final de este capítulo se presentan los resultados de rendimiento obtenidos para los algoritmos.

4.3.1 Parámetros del Filtro de Savitzky-Golay

Por lo general en espectroscopia se selecciona el tamaño de ventana y orden del polinomio de forma empírica. Estos valores se determinan observando el espectro Raman suavizado y decidiendo cuando tiene una apariencia deseada. En esta sección se muestra cómo se seleccionaron estos parámetros basados en MSE usando los datos reales adquiridos para el experimento.

La Sección 2.9 muestra que los parámetros del filtro de Savitzky-Golay se pueden seleccionar libremente. Recuerde que el orden del polinomio esta dado por M, el tamaño de la ventana por $k_L + k_R + 1$ y se debe satisfacer la siguiente condición $k_L + k_R + 1 > M$.

La Figura 4.16 muestra valores de MSE para diferentes combinaciones en los parámetros del filtro. La superficie de MSE para el polímero para un tiempo de integración de $200ms$ muestra un mejor rendimiento para polinomios de orden bajo. Para valores de SNR más grandes, tiempo de integración de $800ms$, las bandas Raman presentan una mayor velocidad de cambio en la intensidad lo cual afecta la aproximación de la señal con polinomios de bajo orden. Hay en este caso una

inconsistencia en la elección de los parámetros, ya que no hay una combinación de parámetros que sean los mejores para cualquier tipo de señal.

Para el agua se presenta casi el mismo comportamiento en las superficies de MSE a diferentes niveles de ruido. Esto es debido a que las señales presentan cambios suaves en la variación de la intensidad de las bandas Raman.

Para poder comparar el filtro Savitzky-Golay con otros métodos, se seleccionaron dos parámetros basados en las superficies de MSE de la Figura 4.16. El tamaño de ventana elegido fue de quince y un polinomio de orden dos.

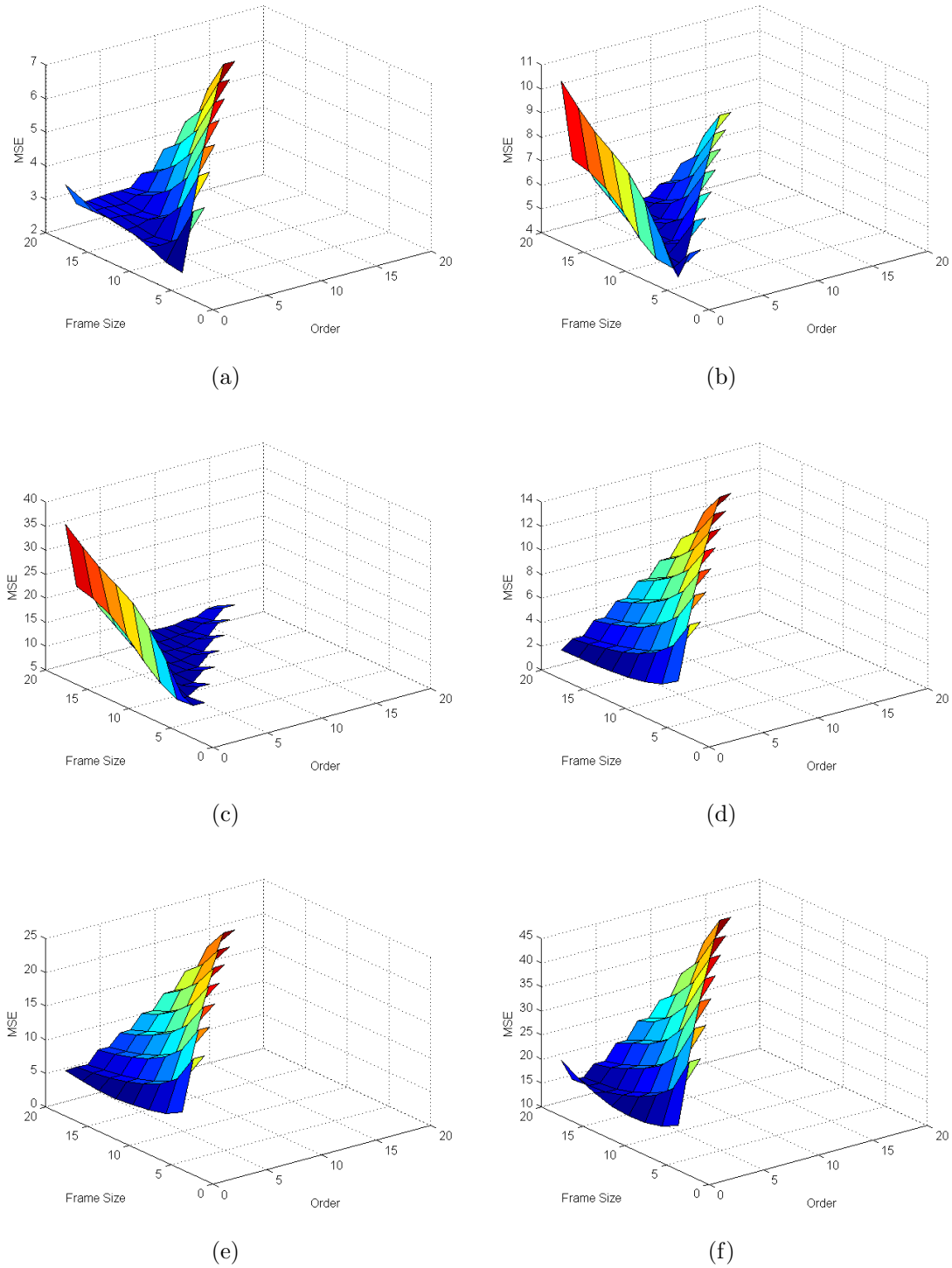


Figura 4.16: Filtro de Savitzky-Golay- Superficie MSE, tamaño de ventana versus orden, (a) Polímero 200ms; (b) Polímero 400ms; (c) Polímero 800ms; (d) Agua 200ms; (e) Agua 400ms; (f) Agua 800ms.

4.3.2 Medidas de Rendimiento

Esta sección muestra los resultados de rendimiento para los algoritmos de Savitzky-Golay, Kalman y Wavelets.

MSE para el polímero: Las Tablas 4.3 a la 4.6 muestran los valores de MSE calculados para los espectros del polímero.

Tabla 4.3: MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Polímero

Filter	Integration time (ms)		
	200	400	800
Saviztky-Golay	2.8213	6.4335	19.4286
Kalman Smoothing	2.8358	6.4831	19.6313

Tabla 4.4: MSE para Wavelets, polímero con tiempo de integración de 200ms

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	1.6013	1.8840	1.6775	2.1997
COIF5	1.6109	1.9859	1.7114	2.3064
RBIO6.8	1.6234	1.9605	1.7171	2.2798
BIOR3.9	1.7210	2.0119	1.7237	2.2764

Tabla 4.5: MSE para Wavelets, polímero con tiempo de integración de 400ms

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	2.4565	2.9051	2.9067	4.1760
COIF5	2.5398	3.1027	3.0433	4.3090
RBIO6.8	2.4282	2.6855	2.9561	4.3411
BIOR3.9	2.7644	3.1307	2.9038	4.0061

Tabla 4.6: MSE para Wavelets, polímero con tiempo de integración de 800ms

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	4.9866	4.9448	6.7176	10.0506
COIF5	5.3271	5.3959	7.3714	11.0064
RBIO6.8	4.8738	5.3643	6.5979	10.0156
BIOR3.9	5.4967	6.3502	6.4446	9.5085

MSE para el agua: Las Tablas 4.7 a la 4.10 muestran los valores de MSE calculados para los espectros del agua.

Tabla 4.7: MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Agua

Filter	Integration time (ms)		
	200	400	800
Saviztky-Golay	2.9472	6.3725	15.9170
Kalman Smoothing	3.0671	6.9464	18.6126

Tabla 4.8: MSE para Wavelets, agua con tiempo de integración de 200ms

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	5.1634	2.2082	3.0742	1.9874
COIF5	5.1266	2.2437	3.0397	2.0304
RBIO6.8	5.0587	2.2312	3.0994	2.0265
BIOR3.9	5.9002	2.4865	3.4190	2.2862

Tabla 4.9: MSE para Wavelets, agua con tiempo de integración de 400ms

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	12.5070	8.0713	8.1598	5.7047
COIF5	12.5373	8.6957	7.8726	5.4618
RBIO6.8	12.7893	8.3261	8.2088	5.7469
BIOR3.9	13.7362	9.9588	8.7390	6.1314

Tabla 4.10: MSE para Wavelets, agua con tiempo de integración de 800ms

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	30.4322	29.2479	21.0279	16.1834
COIF5	30.0344	28.8974	20.4571	15.4214
RBIO6.8	30.2854	29.3100	21.0913	16.1930
BIOR3.9	32.2264	29.7787	22.3799	17.3566

MSE para señales con picos Lorentzianos: Las Tablas 4.11 a la 4.14 muestran los valores de MSE calculados para espectros sintéticos simulados con picos Lorentzianos.

Tabla 4.11: MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Picos Lorentzianos

Filter	Signal to Noise Ratio		
	10	20	40
Saviztky-Golay	1.9238	10.4739	312.0723
Kalman Smoothing	2.1354	13.8731	364.1297

Tabla 4.12: MSE para Wavelets, picos Lorentzianos con $SNR = 10$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	1.5947	1.0293	1.6360	2.2242
COIF5	1.5353	0.9731	1.4263	1.8663
RBIO6.8	1.5795	1.0400	1.4730	1.9043
BIOR3.9	1.5814	1.0031	1.6243	2.3233

Tabla 4.13: MSE para Wavelets, picos Lorentzianos con $SNR = 20$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	7.0487	4.9828	8.3920	13.3119
COIF5	6.9453	4.7302	7.7454	11.9042
RBIO6.8	6.9343	4.2073	7.3419	10.8708
BIOR3.9	7.4350	6.4797	9.4661	16.3548

Tabla 4.14: MSE para Wavelets, picos Lorentzianos con $SNR = 40$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	22.4560	17.5479	34.0287	59.3516
COIF5	22.8427	17.7356	32.3933	54.5629
RBIO6.8	22.0131	17.2033	30.7692	52.0227
BIOR3.9	23.1079	19.0684	32.3726	57.8260

MSE para señales con picos Gaussianos: Las Tablas 4.15 a la 4.18 muestran los valores de MSE calculados para espectros sintéticos simulados con picos Gaussianos.

Tabla 4.15: MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Picos Gaussianos

Filter	Signal to Noise Ratio		
	10	20	40
Saviztky-Golay	1.0216	3.3463	19.7095
Kalman Smoothing	1.2338	7.1612	85.6056

Tabla 4.16: MSE para Wavelets, picos Gaussianos con $SNR = 10$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	3.8306	1.3654	1.6493	0.8566
COIF5	3.8372	1.4568	1.6620	0.8450
RBIO6.8	3.8466	1.4314	1.6936	0.9122
BIOR3.9	3.8966	1.4708	1.8185	0.9690

Tabla 4.17: MSE para Wavelets, picos Gaussianos con $SNR = 20$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	12.7954	6.6142	7.4193	6.2878
COIF5	12.7752	5.8487	7.0671	5.4422
RBIO6.8	12.8737	6.7312	7.6123	6.4758
BIOR3.9	13.0905	7.4581	8.2195	7.0129

Tabla 4.18: MSE para Wavelets, picos Gaussianos con $SNR = 40$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	51.8832	32.0967	36.7759	39.7867
COIF5	52.0735	33.7891	35.6833	36.2308
RBIO6.8	52.5882	34.0213	38.6971	42.6468
BIOR3.9	53.8188	34.6445	42.0951	47.7032

MSE para señales suaves: Las Tablas 4.19 a la 4.22 muestran los valores de MSE calculados para espectros sintéticos simulados como una señal suave.

Tabla 4.19: MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Señal suave

Filter	Signal to Noise Ratio		
	10	20	40
Saviztky-Golay	2.4451	11.2133	38.7256
Kalman Smoothing	2.4411	11.2247	38.9428

Tabla 4.20: MSE para Wavelets, señal suave con $SNR = 10$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	1.4734	1.0187	1.1064	1.0151
COIF5	1.5497	1.0618	1.1609	1.0568
RBIO6.8	1.5125	1.0199	1.1228	1.0137
BIOR3.9	1.6454	1.0652	1.1897	1.0561

Tabla 4.21: MSE para Wavelets, señal suave con $SNR = 20$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	4.9409	4.7542	4.7750	4.7534
COIF5	4.9522	4.7423	4.7732	4.7407
RBIO6.8	4.9561	4.7656	4.7896	4.7655
BIOR3.9	5.0098	4.7462	4.7925	4.7434

Tabla 4.22: MSE para Wavelets, señal suave con $SNR = 40$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	24.7416	16.3125	17.9150	16.2204
COIF5	25.1652	16.9351	18.5726	16.7624
RBIO6.8	24.2640	16.3382	17.9251	16.2655
BIOR3.9	27.3963	16.8779	19.1596	16.6640

MSE para señales mixtas: Las Tablas 4.23 a la 4.26 muestran los valores de MSE calculados para espectros sintéticos simulados como una señal mixta.

Tabla 4.23: MSE de los filtros de Savitzky-Golayy Kalman - Señal mixta

Filter	Signal to Noise Ratio		
	10	20	40
Saviztky-Golay	0.9760	6.9195	26.3294
Kalman Smoothing	1.1807	7.7384	62.5328

Tabla 4.24: MSE para Wavelets, señal mixta con $SNR = 10$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	1.6274	1.1407	1.8760	2.7395
COIF5	1.6497	1.4566	1.8748	2.6303
RBIO6.8	1.6287	1.1323	1.9557	2.9650
BIOR3.9	1.7990	1.9742	1.9578	2.5543

Tabla 4.25: MSE para Wavelets, señal mixta con $SNR = 20$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	4.7261	5.6779	5.2407	7.0161
COIF5	5.0157	5.6365	5.2219	6.1270
RBIO6.8	4.7855	5.4742	5.5986	7.6267
BIOR3.9	6.2853	7.2522	6.8718	7.4678

Tabla 4.26: MSE para Wavelets, señal mixta con $SNR = 40$

Wavelet basis	Thresholding method			
	RSURE	HSURE	MINIMAX	UNIVERSAL
SYM8	30.7725	35.8300	64.0537	124.4184
COIF5	28.3559	28.2267	47.5554	86.6609
RBIO6.8	29.4283	30.6489	54.4290	100.2185
BIOR3.9	35.2049	49.2432	60.3181	118.2045

Las tablas y figuras que se presentan a continuación, son un resumen de los resultados de MSE y L_∞ obtenidos para diferentes niveles de ruido. Los valores de MSE fueron sacados de las tablas nobradas anteriormente.

La Tabla 4.27 muestra los mejores tres filtros de Wavelets para el polímero. También aparecen los resultados de rendimiento para Savitzky-Golay y Kalman. La Figura 4.17 muestra de forma gráfica los valores de MSE y L_∞ con respecto al nivel de ruido.

Note que las medidas de rendimiento son menores para los algoritmos de reducción de ruido con Wavelets y tienden a mantenerse estables a pesar de que SNR aumenta; este es un efecto directo de la no linealidad de este tipo de filtros. Para los filtros de Savitzky-Golay y Kalman sucede lo contrario, los errores para el polímero son mas grandes a medida que se tiene un SNR mayor. Este error aumenta debido a que se obtienen bandas Raman más agudas a medida de que aumenta el tiempo de integración.

La Tabla 4.28 y Figura 4.18 muestra los resultados para el agua. Para este material se obtuvieron casi los mismos resultados para todos los filtros. Este comportamiento es lo esperado, ya que estos espectros tienen bandas Raman suaves, independientemente del nivel de ruido de la señal. Para este caso el valor de L_∞ no tiene sentido estudiarlo ya que no se tienen bandas Raman agudas.

Se obtuvieron resultados similares para las señales sintéticas con picos Gaussianos y Lorentzianos. Se observa un comportamiento similar al obtenido para el polímero. La Tabla 4.30 y Figura 4.20 tienen los valores de rendimiento para los picos Lorentzianos. Se pueden ver incrementos en MSE y L_∞ a medida de que aumenta el nivel de ruido. Este es un efecto directo del suavizado de los filtros de Savitzky-Golay y Kalman. El filtro hecho con Wavelets obtiene mejores estimados para las señales con picos agudos.

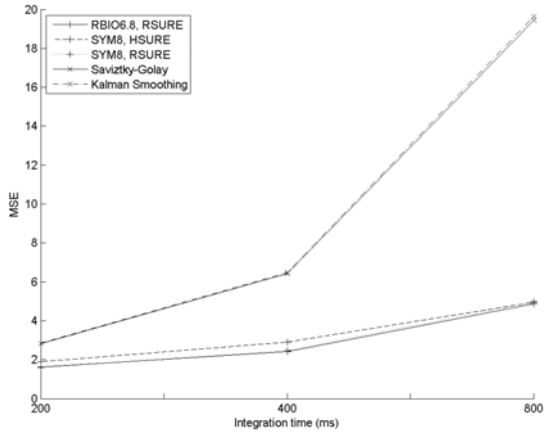
La Tabla 4.29 y la Figura 4.19 muestran los resultados para los picos Gaussianos. Se observa un cambio menos abrupto en las medidas de rendimiento debido a que los picos Gaussianos tienen un comportamiento más suave comparado con los picos Lorentzianos.

Los resultados con la señal suave y mixta son muy parecidos, donde L_∞ tiene la misma tendencia para todos los filtros. Se obtuvieron resultados similares para el agua. La única diferencia es la curva de MSE del filtro Kalman; los valores de MSE tienden a aumentar más rápido comparado con los otros métodos.

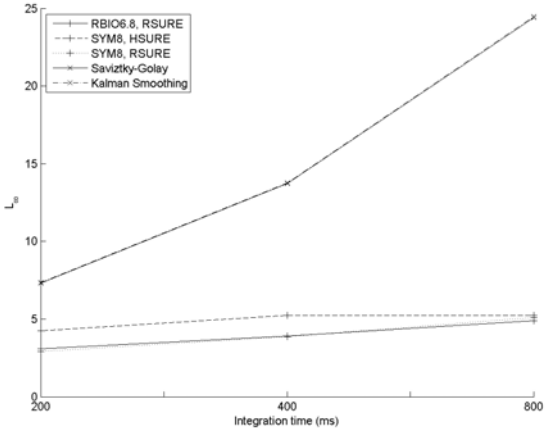
En general, los filtros de Wavelets presentan el mismo comportamiento para diferentes combinaciones de familias de Wavelets y métodos de umbralizado. Se obtuvieron mejores resultados con la familia Symlet para los métodos de umbralizado Stein's Unbiased Risk Estimate y Heuristic SURE.

Tabla 4.27: MSE y L_∞ para los mejores métodos, polímero.

Filter	MSE			L_∞		
	Integration time (ms)			Integration time (ms)		
	200	400	800	200	400	800
RBIO6.8, RSURE	1.6234	2.4282	4.8738	3.0876	3.8902	4.8896
SYM8, HSURE	1.8840	2.9051	4.9448	4.2423	5.2509	5.2453
SYM8, RSURE	1.6013	2.4565	4.9866	2.8992	3.8597	5.1012
Saviztky-Golay	2.8213	6.4335	19.4286	7.3236	13.7321	24.4052
Kalman Smoothing	2.8358	6.4831	19.6313	7.3452	13.7597	24.4631



(a)

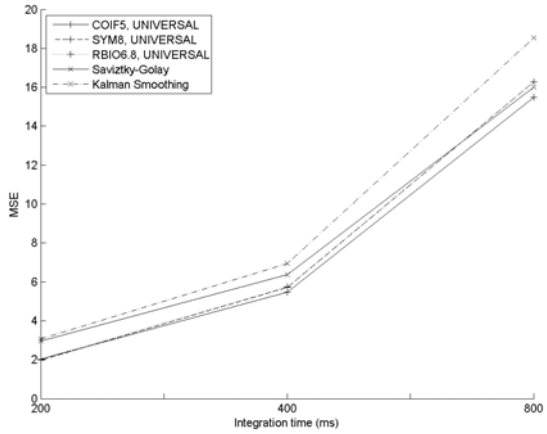


(b)

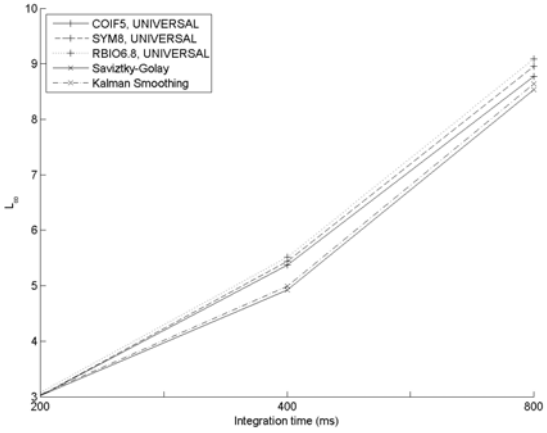
Figura 4.17: Medidas de rendimiento para el polímero, (a) Error Cuadrático Medio - MSE; (b) Norma Infinita - L_∞.

Tabla 4.28: MSE y L_∞ para los mejores métodos, agua.

Filter	MSE			L_∞		
	Integration time (ms)			Integration time (ms)		
	200	400	800	200	400	800
COIF5, UNIVERSAL	2.0304	5.4618	15.4214	3.0190	5.3699	8.8062
SYM8, UNIVERSAL	1.9874	5.7047	16.1834	3.0216	5.4391	8.9584
RBIO6.8, UNIVERSAL	2.0265	5.7469	16.1930	3.0766	5.5200	9.0918
Saviztky-Golay	2.9472	6.3725	15.9170	3.0178	4.9261	8.5309
Kalman Smoothing	3.0671	6.9464	18.6126	3.0394	4.9940	8.6311



(a)

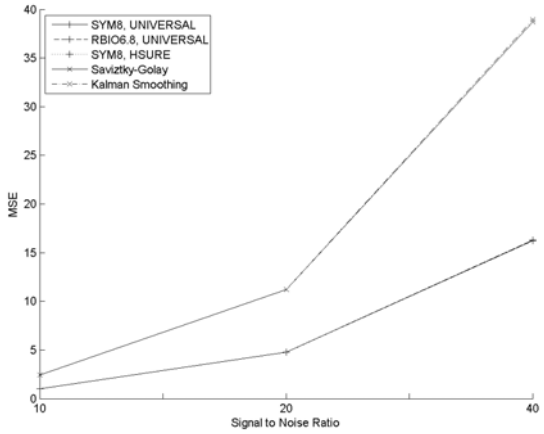


(b)

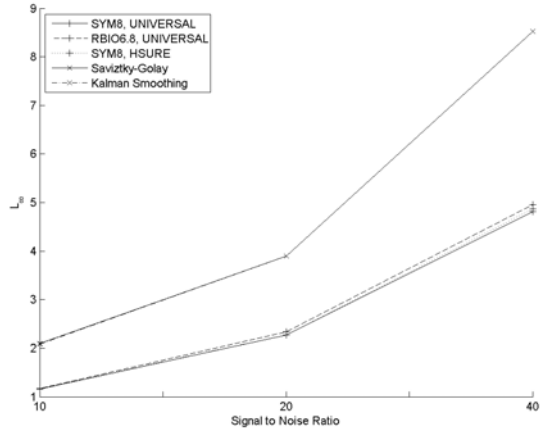
Figura 4.18: Medidas de rendimiento para el agua, (a) Error Cuadrático Medio - MSE; (b) Norma Infinita - L_∞.

Tabla 4.29: MSE y L_∞ para los mejores métodos, picos Gaussianos.

Filter	MSE			L_∞		
	Signal to Noise Ratio			Signal to Noise Ratio		
	10	20	40	10	20	40
SYM8, UNIVERSAL	1.0151	4.7534	16.2204	1.1578	2.2685	4.8167
RBIO6.8, UNIVERSAL	1.0137	4.7655	16.2655	1.1648	2.3403	4.9581
SYM8, HSURE	1.0187	4.7542	16.3125	1.1719	2.2708	4.8646
Saviztky-Golay	2.4451	11.2133	38.7256	2.0920	3.9020	8.5215
Kalman Smoothing	2.4411	11.2247	38.9428	2.0874	3.9026	8.5300



(a)

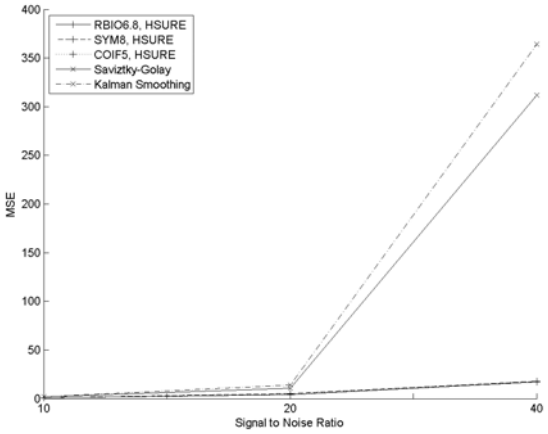


(b)

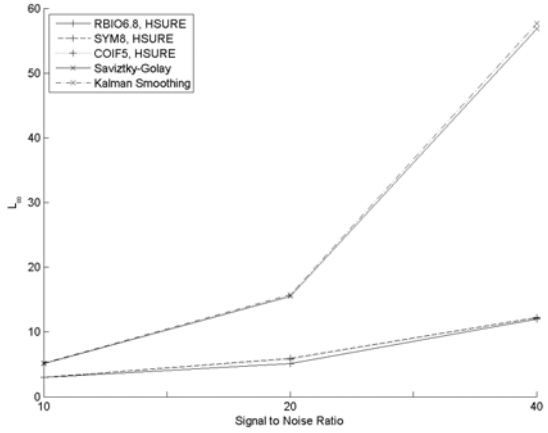
Figura 4.19: Medidas de rendimiento para los picos Gaussianos, (a) Error Cuadrático Medio - MSE; (b) Norma Infinita - L_∞.

Tabla 4.30: MSE y L_∞ para los mejores métodos, picos Lorentzianos.

Filter	MSE			L_∞		
	Signal to Noise Ratio			Signal to Noise Ratio		
	10	20	40	10	20	40
RBIO6.8, HSURE	1.0400	4.2073	17.2033	2.9979	5.0825	11.9688
SYM8, HSURE	1.0293	4.9828	17.5479	2.9536	5.8997	12.2764
COIF5, HSURE	0.9731	4.7302	17.7356	2.9478	5.7826	12.1720
Saviztky-Golay	1.9238	10.4739	312.0723	5.1210	15.5310	56.8355
Kalman Smoothing	2.1354	13.8731	364.1297	5.1661	15.7232	57.6540



(a)

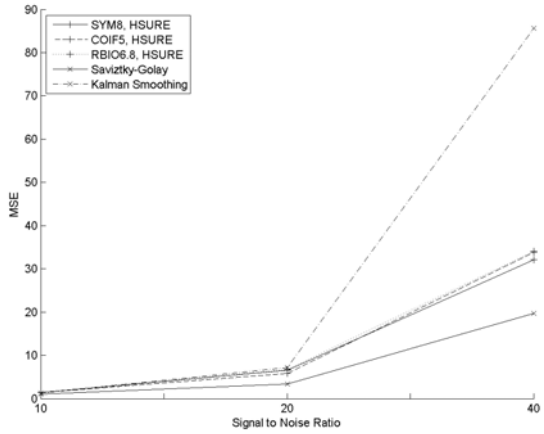


(b)

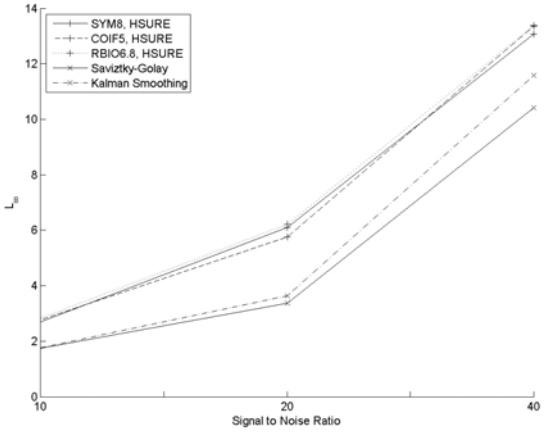
Figura 4.20: Medidas de rendimiento para los picos Lorentzianos, (a) Error Cuadrático Medio - MSE; (b) Norma Infinita - L_∞.

Tabla 4.31: MSE y L_∞ para los mejores métodos, señal suave.

Filter	MSE			L_∞		
	Signal to Noise Ratio			Signal to Noise Ratio		
	10	20	40	10	20	40
SYM8, HSURE	1.3654	6.6142	32.0967	2.6913	6.1042	13.0805
COIF5, HSURE	1.4568	5.8487	33.7891	2.7809	5.7669	13.3611
RBIO6.8, HSURE	1.4314	6.7312	34.0213	2.8276	6.2203	13.3707
Saviztky-Golay	1.0216	3.3463	19.7095	1.7412	3.3750	10.4131
Kalman Smoothing	1.2338	7.1612	85.6056	1.7717	3.6360	11.5898



(a)

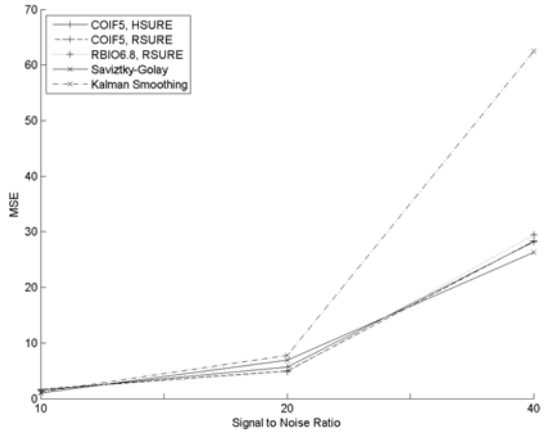


(b)

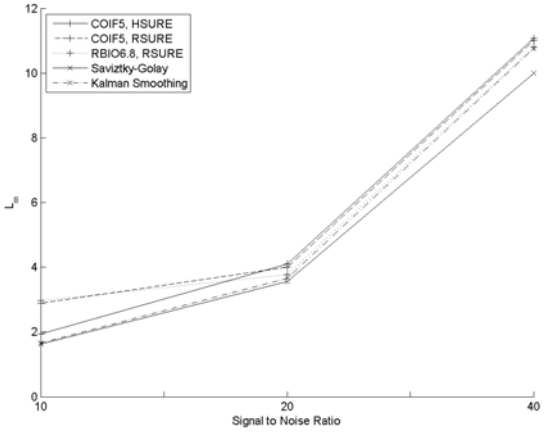
Figura 4.21: Medidas de rendimiento para la señal suave, (a) Error Cuadrático Medio - MSE; (b) Norma Infinita - L_∞.

Tabla 4.32: MSE y L_∞ para los mejores métodos, señal mixta.

Filter	MSE			L_∞		
	Signal to Noise Ratio			Signal to Noise Ratio		
	10	20	40	10	20	40
COIF5, HSURE	1.4566	5.6365	28.2267	1.9362	4.0991	11.0746
COIF5, RSURE	1.6497	5.0157	28.3559	2.8843	4.0086	11.0039
RBIO6.8, RSURE	1.6287	4.7855	29.4283	2.9742	3.7779	10.7981
Saviztky-Golay	0.9760	6.9195	26.3294	1.6233	3.5575	9.9937
Kalman Smoothing	1.1807	7.7384	62.5328	1.6658	3.6575	10.7601



(a)

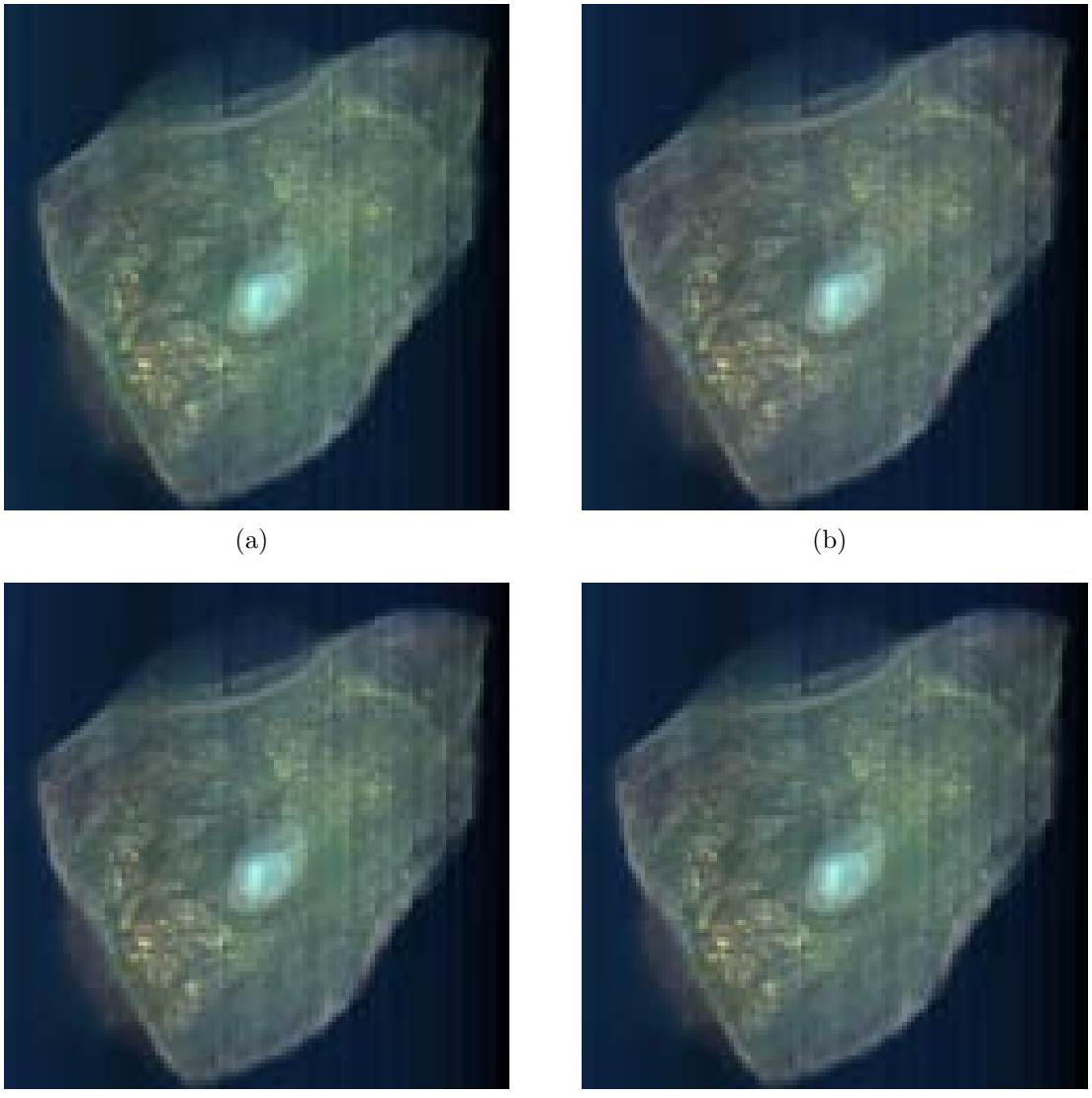


(b)

Figura 4.22: Medidas de rendimiento para la señal mixta, (a) Error Cuadrático Medio - MSE; (b) Norma Infinita - L_∞.

4.3.3 Resultados de Compuestos de Color

Las Figuras 4.23 a la 4.26, muestran los compuestos de color para los cuatro conjuntos de datos usados para obtener las muestras de entrenamiento para el clasificador de picos cósmicos.

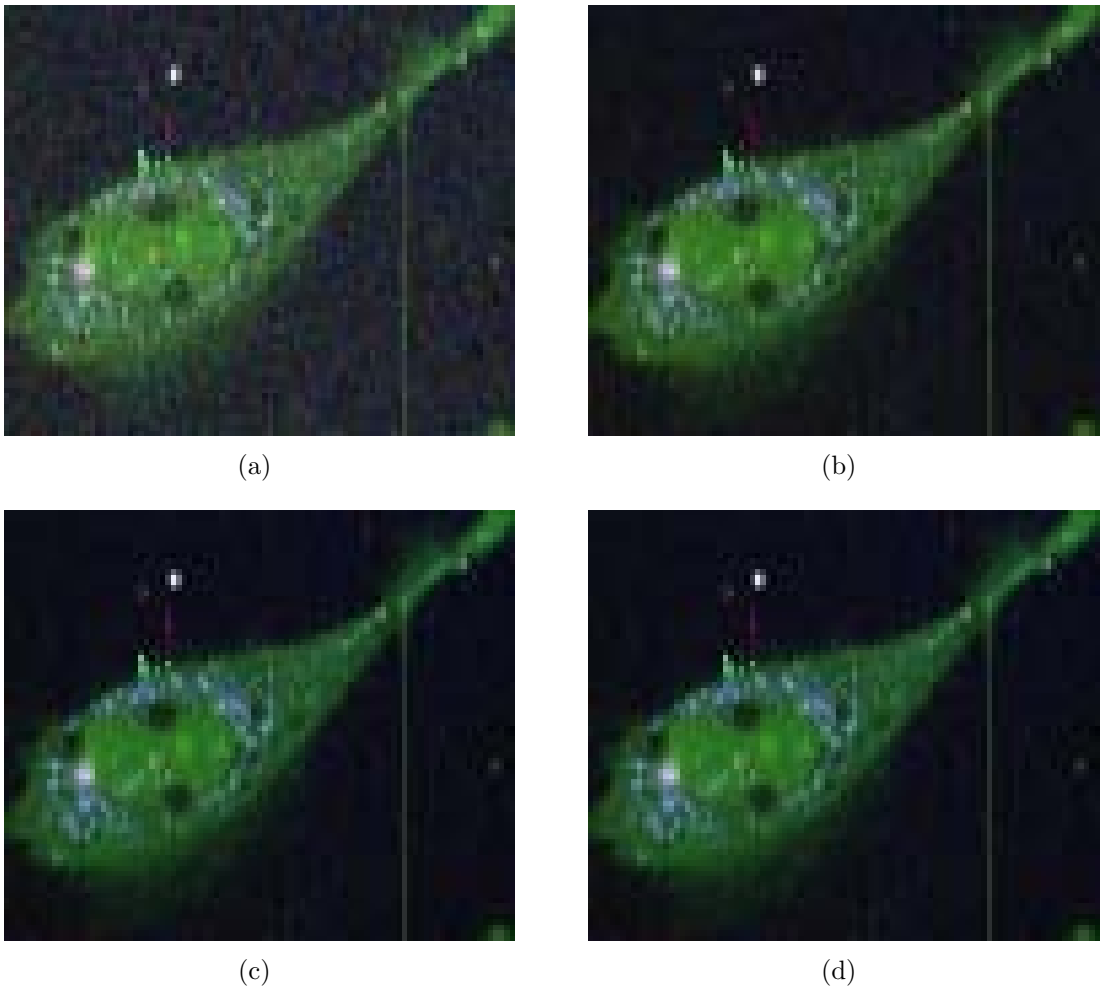


(a) (b)

(c) (d)

Figura 4.23: Compuesto de color para conjunto de datos 1, (a) Imágen original; (b) Filtrada con Savitzky-Golay; (c) Filtrada con Kalman; (d) Filtrada con Wavelets.

La imagen en la parte superior izquierda de las figuras, corresponde al compuesto de color a partir de la imagen con ruido aleatorio. Las siguientes tres imágenes corresponden al compuesto de color creado a partir de las imágenes procesadas con los algoritmos de Savitzky-Golay, Kalman y Wavelets.

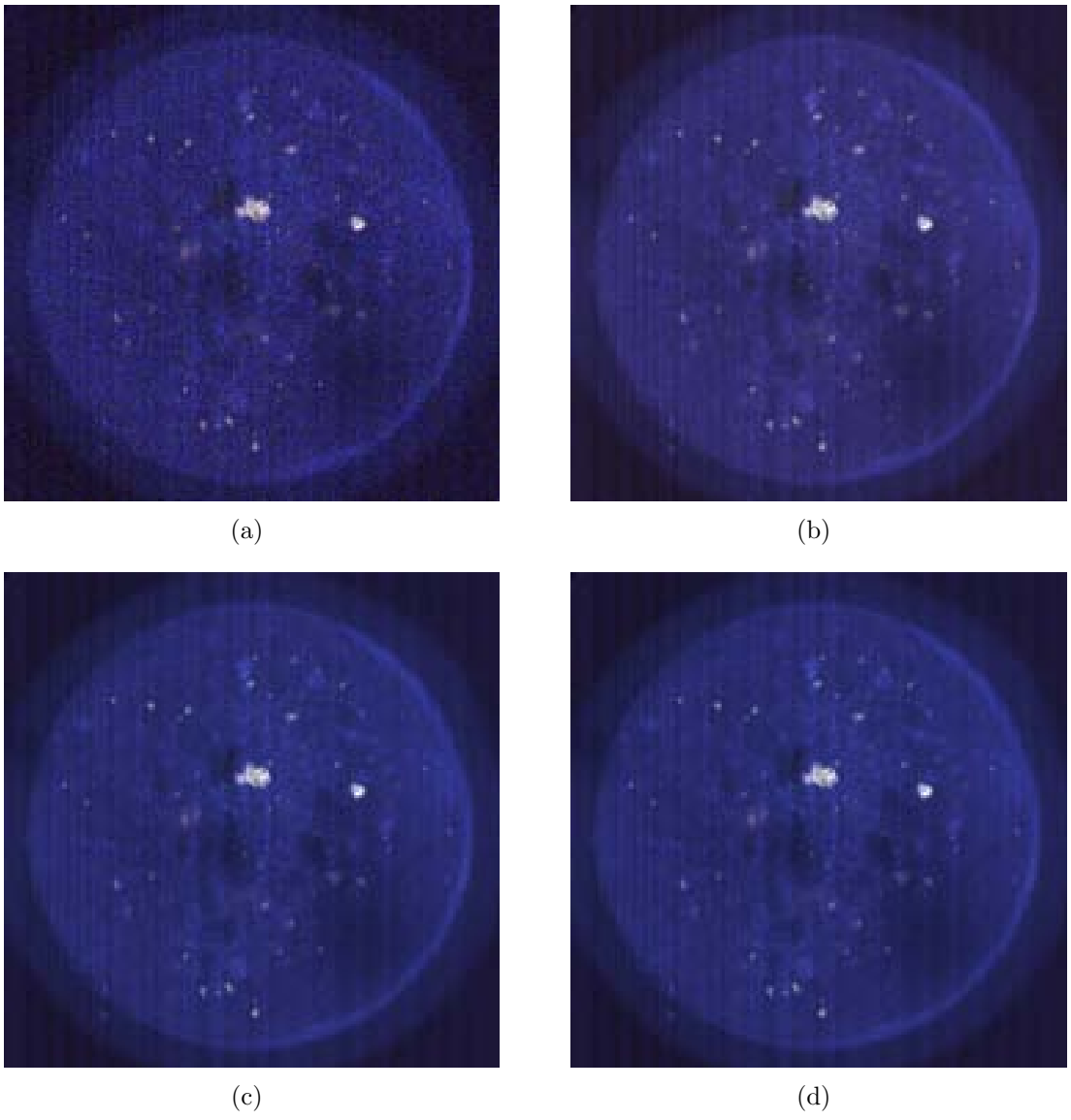


(a) (b)

(c) (d)

Figura 4.24: Compuesto de color para conjunto de datos 2, (a) Imágen original; (b) Filtrada con Savitzky-Golay; (c) Filtrada con Kalman; (d) Filtrada con Wavelets.

Se puede observar que para el conjunto de datos uno y cuatro (Figuras 4.23 y 4.26, respectivamente) no se nota una mejora en el compuesto de color después de aplicar los algoritmos de reducción de ruido. A diferencia de los restantes conjuntos de datos, Figuras 4.24 y 4.25, donde se aprecian imágenes más definidas para las imágenes filtradas.

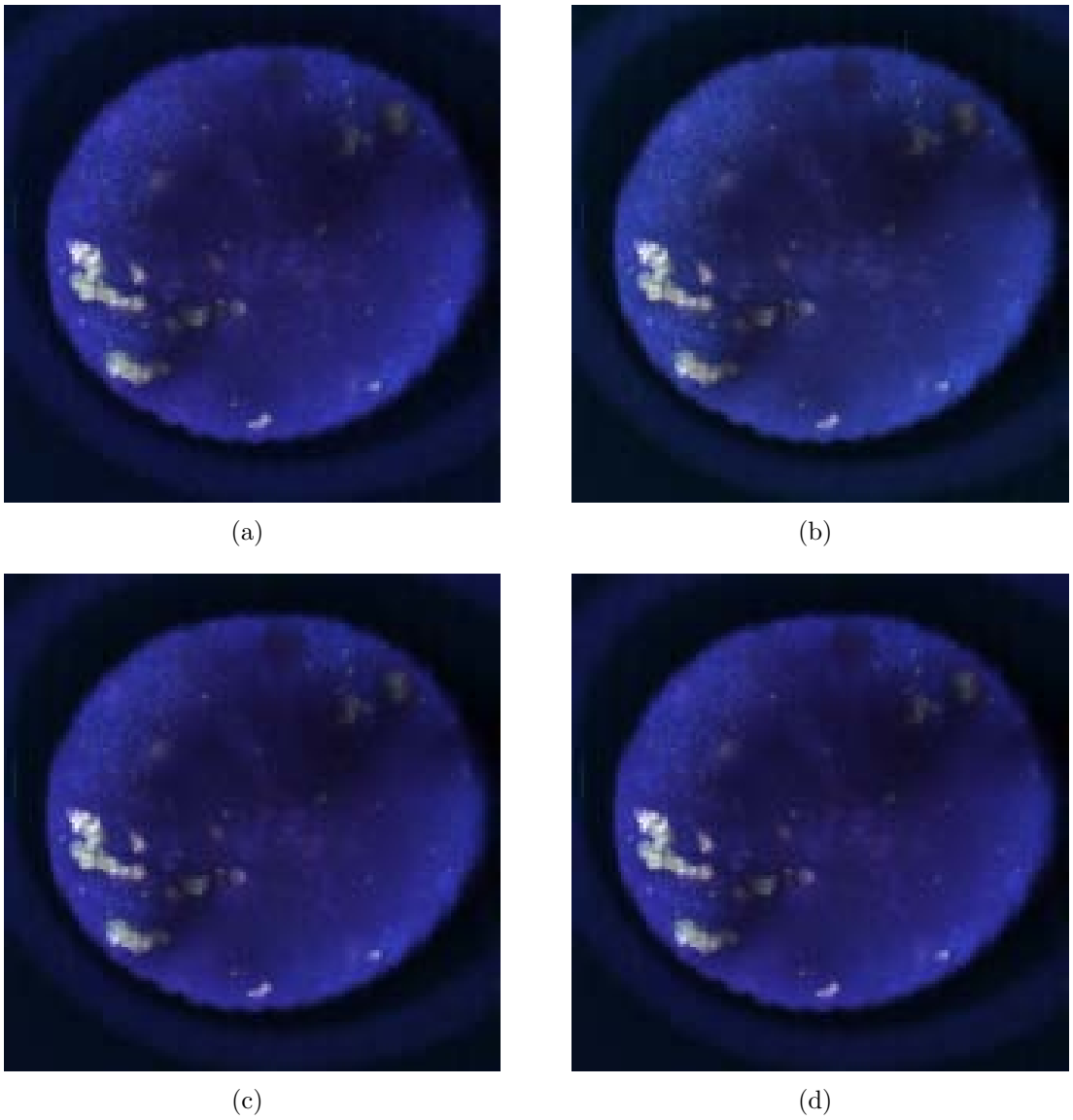


(a) (b)

(c) (d)

Figura 4.25: Compuesto de color para conjunto de datos 3, (a) Imágen original; (b) Filtrada con Savitzky-Golay; (c) Filtrada con Kalman; (d) Filtrada con Wavelets.

Esto evidencia que los algoritmos de reducción de ruido pueden mejorar los resultados de algoritmos de procesamiento de las imágenes. A partir de los compuestos de color no se pueden comparar los algoritmos de reducción de ruido entre si ya que las imágenes obtenidas son muy similares.



(a) (b)

(c) (d)

Figura 4.26: Compuesto de color para conjunto de datos 4, (a) Imágen original; (b) Filtrada con Savitzky-Golay; (c) Filtrada con Kalman; (d) Filtrada con Wavelets.

CAPÍTULO 5
CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

5.1 Conclusiones

Los resultados experimentales muestran que el ruido aleatorio en los espectros Raman adquiridos para este trabajo está gobernado por una estadística sub-Poisson. Se obtuvieron valores de CCD bias y factor de varianza para el detector usado por el grupo de investigación del profesor Max Diem. La intensidad de la señal con respecto a la varianza del ruido mostró una tendencia lineal, a pesar de que se observó bastante dispersión en la gráfica. Esta dispersión es debida al proceso de deep depletion en el detector[34].

Se desarrollaron dos métodos recursivos para la reducción de ruido impulsivo en espectros Raman. Cada tiene limitantes en cuanto al tipo de imagen donde va a ser aplicado o las señales a procesar. Se intentó tener una fusión entre los dos métodos aprovechando sus ventajas frente al otro, pero no se obtuvieron resultados satisfactorios.

El filtro SSINF utiliza las ventajas de no linealidad del filtro de mediana. Este filtro presentó un buen comportamiento en la detección de afloramientos. Se tomaron algunas suposiciones acerca de la morfología acerca de los picos cósmicos. Algunos artefactos que aparecen en los espectros no es posible removerlos satisfactoriamente con este tipo de filtro. En algunos casos, algunas bandas Raman agudas pueden ser removidas porque existe un solapamiento entre las distribuciones del area bajo

la curva de los picos. Este tipo de filtro puede ser usado en imágenes Raman o en espectros individuales.

El filtro SWING demuestra se un método simple y potente en el momento de remover ruido impulsivo en imágenes Raman. Se encontró una característica adicional aplicando este filtro, algunos artefactos no deseados en los espectros pueden ser removidos completamente. Se comprueba que existe una baja probabilidad de tener un pico cósmico afectando un píxeles vecinos y en el mismo valor de número de onda. Los resultados hallados para el conjunto de datos 1, Figura 4.12, muestran evidencia suficiente para la afirmación dicha previamente ya que estos datos tienen muchos picos cósmicos en la imagen. Se presentan algunas limitaciones cuando este filtro se aplica a imágenes con objetos pequeños en la escena, generalmente compuestos por dos o tres pixeles. Otra de las limitaciones de este método es que solamente puede ser aplicado a imágenes hyperespectrales, no se puede remover picos cosmicos de espectros individuales.

Se presenta en este trabajo los métodos de Wavelets y Kalman como alternativa al filtro de Savitzky-Golay. Generalmente, el método de Wavelets muestra un mejor rendimiento tanto en datos reales y sintéticos. La principal ventaja de estos filtros es la conservación de la intensidad de bandas Raman agudas. Las medidas rendimiento también indican que la reducción de ruido con Wavelets es más estable en términos de MSE y L_∞.

Hasta este momento, no es importante para el grupo del profesor Diem la preservación de la intensidad de bandas Raman agudas. El interés actual, relacionado con la reducción de ruido en espectros Raman, radica en que las bandas Raman no desaparezcan después del filtrado y que su localización no se modifique con respecto al número de onda. Estas características permiten hallar mapas de clasificación usando métodos multivariable. En el futuro, las medidas de intensidad pueden ser

importantes en los métodos multivariable basados en información sub-pixel. Pueden obtenerse mapas de abundancia desde métodos basados en Linear Mixing Models, revelando de esta manera concentraciones (relacionado con la intensidad de la señal) de substancias en las muestras de estudio.

5.2 Trabajo Futuro

Muchas veces en espectroscopia se trabaja con derivadas de la señal. En el caso de espectroscopia Raman, las derivadas eliminan cambios suaves en la intensidad de la señal, este tipo de cambios representan fluorescencia y es un efecto no deseado en la señal. Los espectroscopistas pueden identificar de forma más fácil las posiciones de las bandas Raman ya que la línea de base de la señal es horizontal. Leung et al.[35] muestran que dichas derivadas pueden calcularse usando la transformada Wavelets. Usando los mismos coeficientes para reducción de ruido, pueden calcularse las derivadas de la señal.

REFERENCIAS

[1] E. Smith and G. Dent. *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*. John Wiley & Sons, first edition, February 2005.

[2] Richard L. McCreery. *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*, volume 157. Wiley-Interscience, first edition, June 2000.

[3] Christian Matthaus, Tatyana Chernenko, Judith A. Newmark, Carol M. Warner, and Max Diem. Label-free detection of mitochondrial distribution in cells by nonresonant raman microspectroscopy. *Biophysical Journal*, 93(2):668–673, April 2007.

[4] Stephen E. Bialkowski. Data analysis in the shot noise limit. 1. single parameter estimation with poisson and normal probability density functions. *Analytical Chemistry*, 61(22):2479–2483, November 1989.

[5] A. Savitzky and M. J. E. Golay. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*, 36(8):1627–1639, July 1964.

[6] Y. Katsumoto and Y. Ozaki. Practical algorithm for reducing convex spike noises on a spectrum. *Applied Spectroscopy*, 57(3):317–322, 2003.

[7] W. Hill and D. Rogalla. Spike-correction of weak signals from charge-coupled devices and its application to raman spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 64(21):2575–2579, November 1992.

[8] K. J. Hillig and M. D. Morris. A digital impulse noise removal filter. *Applied Spectroscopy*, 36(6):700–701, 1982.

[9] G. R. Phillips and J. M. Harris. Polynomial filters for data sets with outlying or missing observations: Application to charge-coupled-device-detected raman spectra contaminated by cosmic rays. *Analytical Chemistry*, 62(21):2351–2357, November 1990.

[10] J. Baraga, M. Feld, and R. Rava. Rapid near-infrared raman spectroscopy of human tissue with a spectrograph and ccd detector. *Applied Spectroscopy*, 46(2):187–190, 1992.

[11] H. Takeuchi, S. Hashimoto, and I. Harada. Simple and efficient method to eliminate spike noise from spectra recorded on charge-coupled device detectors. *Applied Spectroscopy*, 47(1):129–131, 1993.

[12] D. Zhang, K. N. Jallad, and D. Ben-amotz. Stripping of cosmic spike spectral artifacts using a new upper-bound spectrum algorithm. *Applied Spectroscopy*, 55(11):1523–1531, 2001.

[13] D. Zhang, J. D. Hanna , and D. Ben-amotz. Single scan cosmic spike removal using the upper bound spectrum method. *Applied Spectroscopy*, 57(10):1303–1305, 2003.

[14] C. J. Behrend, C. P. Tarnowski, and M. D. Morris. Identification of outliers in hyperspectral raman image data by nearest neighbor comparison. *Applied Spectroscopy*, 56(11):1458–1461, 2002.

[15] F. Ehrentreich and L. Summchen. Spike removal and denoising of raman spectra by wavelet transform methods. *Analytical Chemistry*, 73(17):4364–4373, 2001.

[16] V. J. Barclay, R. F. Bonner, and I. P. Hamilton. Application of wavelet transforms to experimental spectra: Smoothing, denoising, and data set compression. *Analytical Chemistry*, 69(1):78–90, January 1997.

[17] H. Betiermann and W. Rauch. Quantitative determination of resonant raman signals using signal accumulation, adapted fourier filtering, and band-shape analysis. *Applied Spectroscopy*, 44(9):1534–1537, 1990.

[18] P. D. Wentzell and C. D. Brown. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Signal Processing in Analytical Chemistry*. John Wiley and Sons, 2000.

[19] L. Shane Greek, H. Georg Schulze, Michael W. Blades, Alan V. Bree, Boris B. Gorzalka, and Robin F. B. Turner. Snr enhancement and deconvolution of raman spectra using a two-point entropy regularization method. *Applied Spectroscopy*, 49(4):425–431, April 1995.

[20] C. Craggs, K. P. Galloway, and D. J. Gardiner. Maximum entropy methods applied to simulated and observed raman spectra. *Applied Spectroscopy*, 50(1):43–47, January 1996.

[21] William Press, Saul Teukolsky, William Vetterling, and Brian Flannery. *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, second edition, 1992.

[22] K. R. Betty and Gary Horlick. Frequency response plots for savitzky-golay filter functions. *Analytical Chemistry*, 49(2):351–352, 1977.

[23] George Casella and Roger Berger. *Statistical Inference*. Duxbury Resource Center, second edition, 2001.

[24] C. Sidney Burrus, Ramesh A. Gopinath, and Haitao Guo. *Introduction to Wavelets and Wavelet Transforms a Primer*. Prentice Hall, 1998.

[25] Brani Vidakovic. *Statistical Modeling by Wavelets*. Wiley-Interscience, first edition, May 1999.

[26] S.G. Mallat. A theory for multiresolution signal decomposition: the wavelet representation. *Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 11(7):674–693, 1989.

[27] Alfred Mertins. *Signal Analysis. Wavelets, Filter Banks, Time-Frequency Transforms and Applications*. John Wiley & Sons, 1996.

[28] Stephane Mallat. *A Wavelet Tour of Signal Processing*. Academic Press, second edition, September 1999.

[29] Simon Haykin. *Adaptive Filter Theory*. Prentice Hall, third edition, 1996.

[30] Greg Welch and Gary Bishop. An introduction to the kalman filter. Department of Computer Science, University of North Carolina at Chapel Hill, July 2006.

[31] Robert Grover Brown and Patrick Y. C. Hwang. *Introduction to Random Signals and Applied Kalman Filtering*. John Wiley & Sons, second edition, 1992.

[32] Lonnie C. Ludeman. *Random Processes: Filtering, Estimation, and Detection*. Wiley-Interscience, 2003.

[33] G. M. Ljung and G. E. P. Box. On a measure of lack of fit in time series models. *Biometrika*, 65(2):297–303, 1978.

[34] R.K. Reich. Sub-poisson statistics observed in an electronically shuttered and back-illuminated ccd pixel. *Electron Devices, IEEE Transactions on*, 44(1):69–73, 1997.

[35] Alexander Kai-man Leung, Foo-tim Chau, and Jun-bin Gao. Wavelet transform: A method for derivative calculation in analytical chemistry. *Analytical Chemistry*, 70(24):5222–5229, 1998.