



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA ELÉCTRICA – INSTRUMENTACIÓN

DISEÑO Y AUTOMATIZACIÓN DE UN TOMÓGRAFO FOTOACÚSTICO PARA EL
ESTUDIO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA
MARCO POLO COLÍN GARCÍA

TUTORES PRINCIPALES
DRA. ROSALBA CASTAÑEDA GUZMÁN, ICAT
DRA. ARGELIA PÉREZ PACHECO, HGMDEL

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., JUNIO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: Dra. Sánchez Pérez Celia Angelina
Secretario: Dr. Ramírez Chavarría Roberto Giovanni
1er. Vocal: Dra. Castañeda Guzmán Rosalba
2do. Vocal: Dra. Pérez Pacheco Argelia
3er. Vocal: Dr. Gutiérrez Juárez Gerardo

Lugar o lugares donde se
realizó la tesis:

Unidad de Investigación y Desarrollo Tecnológico,
Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga",
Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología

TUTORES DE TESIS:

DRA. ROSALBA CASTAÑEDA GUZMÁN

DRA. ARGELIA PÉREZ PACHECO

FIRMA

FIRMA

Agradecimientos

Agradezco al Programa de Posgrado en Ingeniería y al ICAT de la UNAM por darme la oportunidad de estudiar la Maestría en Ingeniería Eléctrica.

Agradezco de la manera más atenta a mis dos tutoras la Dra. Argelia Pérez Pacheco y la Dra. Rosalba Castañeda Guzmán por todo el tiempo que se tomaron para guiarme, enseñarme y corregirme durante todo el desarrollo de este proyecto.

Agradezco al Dr. Gerardo Gutiérrez Juárez, al Dr. Luis Polo-Parada y al Mtro. Guadalupe Misael Ruiz Veloz por sus consejos para llevar a cabo la construcción del sistema experimental y por compartirme sus conocimientos para obtener mis resultados.

Agradezco al Dr. Roberto Giovanni Ramírez Chavarría por apoyarme en los momentos clave para llevar a cabo el funcionamiento del sistema de manera automatizada.

Agradezco a la Dra. Rosa María Quispe Siccha, al Dr. Roberto Márquez Islas y a la Dra. Claudia Bravo Flores por brindarme el equipo, las herramientas y las muestras para la implementación del sistema.

Agradezco al programa del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con número de CVU: 1085013, por el apoyo que me fue otorgado durante el periodo de la maestría.

Agradezco a mis sinodales por tomarse su tiempo para leer mi trabajo escrito y por contribuir con sus comentarios e ideas para mejorar este proyecto.

Resumen

¿Qué se hizo? En este proyecto se diseñó y se construyó un sistema experimental para generar imágenes bidimensionales (2D) a través de la modalidad de Tomografía Fotoacústica (PAT). Posteriormente, este sistema se automatizó e implementó para el estudio de piezas de material polimérico (PLA) y muestras de tejido duro dental (muelas humanas extraídas). Debido al interés en el estudio de muestras biológicas, este trabajo se desarrolló en la Unidad de Investigación y Desarrollo Tecnológico (UIDT) del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga” (HGM) en conjunto con el Laboratorio de Fotofísica y Películas Delgadas del Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología (ICAT-UNAM).

¿Cómo se hizo? En el sistema de tomografía se utilizó un láser pulsado de Nd:YAG, usando el segundo armónico (532 nm), el cual iluminó a la muestra inmersa en agua para generar ondas de sonido debidas a la absorción óptica del material. Estas ondas se detectaron en modo *forward* con un transductor de ultrasonido centrado en 4.92 MHz. Las señales se adquirieron manteniendo fija la trayectoria del pulso láser y la posición del transductor, y rotando a la muestra usando un motor de pasos. Se aplicó un paso de 1.8° hasta completar una vuelta sobre el mismo plano de exploración. Finalmente, el conjunto de señales adquiridas se procesó con el toolbox *k-Wave* de MATLAB para reconstruir una imagen 2D a través del algoritmo de inversión de tiempo.

¿Qué resultados se obtuvieron? Se obtuvieron imágenes PAT 2D que corresponden a una sección transversal de las muestras estudiadas *in vitro*. Estas imágenes se compararon con las respectivas imágenes de Rayos X, y con las micrografías ópticas de los cortes transversales. Los resultados complementan y aportan información sobre la macroestructura anatómica interna de las muestras, lo que contribuiría a la identificación de caries, fisuras, lesiones y defectos en el interior de los dientes. De esta manera, se propone una técnica alternativa, no ionizante y para la caracterización de tejido dental, que permite efectuar un diagnóstico complementario a las radiografías, y que puede extenderse al estudio de diferentes muestras biológicas.

Abstract

What was done? In this project, an experimental system was designed and built to generate two-dimensional (2D) images through the Photoacoustic Tomography (PAT) modality. Subsequently, this system was automated and implemented for the study of pieces of polymeric material (PLA) and dental hard tissue samples (extracted human molars). Due to the interest in the study of biological samples, this work was developed in the Research and Technological Development Unit (UIDT) of the General Hospital of Mexico “Dr. Eduardo Liceaga” (HGM) in collaboration with the Laboratory of Photophysics and Thin Films of the Institute of Applied Sciences and Technology (ICAT-UNAM).

How it was made? The tomography system used a pulsed Nd:YAG laser, using the second harmonic (532 nm), which illuminated the sample immersed in water to generate sound waves due to the optical absorption of the material. These waves were detected in *forward* mode with an ultrasound transducer centered at 4.92 MHz. Signals were acquired by keeping the laser pulse path and transducer position fixed, and rotating the sample using a stepper motor. A step of 1.8° was applied until completing one revolution about the same scan plane. Finally, the set of acquired signals was processed with MATLAB's *k-Wave* toolbox to reconstruct a 2D image through the time reversal algorithm.

What results were obtained? 2D PAT images corresponding to a cross section of the samples studied *in vitro* were obtained. These images were compared with the respective X-ray images, and with the optical micrographs of the cross-sections. The results complement and provide information on the internal anatomical macrostructure of the samples, which would contribute to the identification of caries, fissures, lesions and defects inside the teeth. In this way, an alternative, non-ionizing technique is proposed for the characterization of dental tissue, which allows a diagnosis that complements radiographs, and can be extended to the study of different biological samples.

Índice general

Agradecimientos	3
Resumen.....	4
Abstract	5
Índice general	6
Lista de acrónimos.....	9
Introducción	10
1. Fundamentos de la Tomografía Fotoacústica	12
1.1. Tomografía Fotoacústica (PAT)	12
1.1.1. Efecto fotoacústico.....	12
1.1.2. Generación de señales PA	13
1.1.3. Aumento de presión inicial.....	15
1.1.4. Propagación de ondas PA.....	17
1.1.5. Modos de detección: <i>backward</i> y <i>forward</i>	18
1.2. Tejido biológico	19
1.2.1. Tejido duro dental	19
1.2.1.1. Composición del esmalte y la dentina	20
1.2.2. Absorción óptica.....	21
1.2.2.1. Propiedades ópticas del esmalte y la dentina.....	22
1.2.3. Velocidad de propagación del sonido	24
1.2.3.1. Propiedades acústicas del esmalte y la dentina	24
1.3. Aplicaciones de la PAT en tejido duro dental.....	25
1.4. Ventajas de la PAT.....	28
2. Reconstrucción de imágenes fotoacústicas con el toolbox <i>k-Wave</i>	29
2.1. Toolbox <i>k-Wave</i>	29
2.2. Estructuras para la reconstrucción.....	30
2.2.1. Cuadrícula computacional (<i>kgrid</i>).....	31
2.2.2. Medio de propagación (<i>medium</i>).....	32
2.2.3. Fuente acústica (<i>source</i>).....	32
2.2.4. Arreglo de sensores (<i>sensor</i>)	33

2.3.	Ejecución de la simulación	33
2.4.	Reconstrucción de inversión de tiempo.....	34
2.4.1.	Interpolación de datos de sensor.....	34
2.5.	Aplicaciones del toolbox <i>k-Wave</i>	36
3.	Metodología	38
3.1.	Diseño del tomógrafo fotoacústico.....	38
3.1.1.	Láser pulsado Nd:YAG	39
3.1.2.	Osciloscopio digital.....	40
3.1.3.	Transductor de ultrasonido	40
3.1.4.	Fotodetector.....	42
3.1.5.	Motor de pasos Nema 17	42
3.1.6.	Controlador A4988	43
3.1.7.	Tarjeta Arduino UNO	43
3.1.8.	Módulo FT232RL.....	44
3.1.9.	Contenedor para agua	44
3.2.	Automatización del sistema experimental.....	46
3.2.1.	Comunicación: computadora-láser pulsado.....	47
3.2.2.	Comunicación: computadora-osciloscopio digital	49
3.2.3.	Comunicación: computadora-motor de pasos.....	51
3.3.	Adquisición de señales fotoacústicas.....	53
3.3.1.	Código para adquisición de señales fotoacústicas	56
3.4.	Reconstrucción de imagen 2D con inversión de tiempo.....	58
3.4.1.	Código para reconstrucción de imagen 2D con inversión de tiempo	59
4.	Resultados	61
4.1.	Imágenes de pruebas preliminares: pieza de PLA.....	61
4.1.1.	Barco.....	61
4.2.	Imágenes de tejido duro: muelas humanas	65
4.2.1.	Criterios de inclusión y exclusión	65
4.2.2.	Muela 4.....	66
4.2.2.1.	Medición sin recubrimiento	67
4.2.2.2.	Medición con recubrimiento.....	70
4.2.2.3.	Comparación de medición sin / con recubrimiento	73
4.2.3.	Muela 11.....	74

4.2.3.1.	Muela fresca.....	74
4.2.3.2.	Muela no fresca.....	77
4.2.3.3.	Comparación de medición fresca / no fresca	80
4.2.4.	Muela 5.....	81
4.3.	Discusión de resultados.....	84
4.3.1.	Descripción de micrografía óptica.....	84
4.3.2.	Descripción de imágenes PAT.....	84
4.3.3.	Velocidad de propagación del sonido	87
4.3.4.	Anisotropía del tejido duro dental	87
4.3.5.	Absorción óptica del tejido duro dental.....	88
4.3.6.	Muestra sin/con recubrimiento	88
4.3.7.	Daño generado por láser	89
4.3.8.	Reproducibilidad de las mediciones.....	90
4.3.9.	Muestras no frescas	91
4.3.10.	Ventajas como técnica complementaria de imagen	92
Conclusiones.....		93
Anexo.....		95
A.	Imágenes de tejido duro: Muela 1 y Muela 3	95
a.	Muela 1.....	95
b.	Muela 3.....	96
Referencias.....		97

Lista de acrónimos

HGM:	Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”
ICAT:	Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología
PA:	Fotoacústico / Fotoacústica
PAT:	Tomografía Fotoacústica
PLA:	Polímero termoplástico utilizado en la impresión 3D
Rx:	Radiografía / Rayos X
UED:	Unión esmalte-dentina
UDP:	Unión dentina-pulpa
UIDT:	Unidad de Investigación y Desarrollo Tecnológico
US:	Ultrasonido

Introducción

El origen de las imágenes obtenidas a través de la modalidad de Tomografía Fotoacústica (PAT) se remonta a la observación de Alexander Graham Bell en el año 1880, cuando notó accidentalmente que la luz solar modulada que incidía sobre un material producía un sonido audible [1]. Este fenómeno se denominó *efecto fotoacústico* y se describe como la generación de ondas acústicas debidas a la absorción de la radiación electromagnética en un material. Las ondas acústicas se producen mediante tres conversiones de energía: la *energía electromagnética* incidente en una muestra se convierte en *energía térmica* a través de una rápida absorción por parte de los cromóforos, después esta energía térmica se convierte en *energía mecánica* a través del efecto termoelástico, creando una onda de presión que se propaga en todas las direcciones alejándose de los cromóforos. Para la conversión eficiente de la energía óptica incidente en una onda acústica, la longitud del pulso láser debe ser más corta que dos constantes de tiempo importantes para satisfacer el confinamiento térmico y de estrés (también conocido como tiempos de relajación térmica y acústica). Estas constantes de tiempo cuantifican el tiempo requerido para que el calor y el estrés se propaguen a través de la estructura absorbente, respectivamente. Fuera de estas escalas de tiempo, el calor y el estrés comienzan a propagarse antes de que se pueda absorber el pulso, lo que da como resultado una onda PA con una amplitud más baja que la óptimamente posible [1].

La PAT es una modalidad de imagen no invasiva que combina el alto contraste óptico con la alta resolución espacial del ultrasonido en tejido turbio. A partir de los diferentes parámetros de imagen, la PAT puede proporcionar de manera eficaz la información bioquímica, las propiedades biomecánicas, las características microestructurales, la velocidad de la sangre, o la distribución de la temperatura. En general, los altos contrastes y la bioseguridad hacen que la PAT tenga las ventajas naturales en el mapeo de la estructura fisiológica del tejido biológico, tal como la detección del cáncer de mama, la obtención de imágenes cerebrales, la monitorización de enfermedades vasculares, o la obtención de imágenes de articulaciones [2].

El objetivo general de este trabajo fue diseñar, construir y automatizar un sistema experimental para generar imágenes PAT bidimensionales de muestras de tejido duro dental (muelas humanas). Esto con la finalidad de evaluar el potencial de la PAT en tejido biológico, ya que en México no existe la tecnología para prevenir las lesiones de los tejidos dentales como las caries, los dientes fracturados y las anomalías superficiales, las cuales son enfermedades muy frecuentes en personas de todos los rangos de edad. Estas lesiones disminuyen la calidad de vida de los pacientes a lo largo de su vida, y aún es difícil detectarlas de forma no invasiva en sus primeras etapas [2]. La caries dental es el resultado de la pérdida del balance en la actividad del proceso dinámico entre la desmineralización y la remineralización, por lo cual efectuar un diagnóstico y una detección de lesiones de caries de manera precisa resulta indispensable, ya que

la caries como enfermedad infecciosa puede ser tratada en una forma más efectiva y menos invasiva entre más temprana sea su detección [3]. Además, la fuerza particular de la fotoacústica en relación con las aplicaciones de imágenes surge del hecho de que la energía que se detecta no es luz, sino ultrasonido, el cual generalmente sufre menos esparcimiento y atenuación en el tejido en comparación con la luz [4].

En el primer capítulo se describen las bases de la Tomografía Fotoacústica (PAT), así como diferentes aspectos que deben ser considerados para la generación de imágenes a través de esta modalidad. A su vez, se presentan algunas aplicaciones de la PAT en muestras biológicas y en particular en estudios con tejido duro dental.

En el segundo capítulo se presenta el toolbox *k-Wave* para MATLAB [5], esta herramienta es un software de código abierto que permite la simulación y la reconstrucción de campos de ondas fotoacústicas, y se utilizó para la reconstrucción de las imágenes 2D de las muestras de tejido duro dental, las cuales se generaron a partir de las señales fotoacústicas adquiridas con las mediciones experimentales.

En el tercer capítulo se describe el diseño del tomógrafo fotoacústico. Este sistema se montó en el laboratorio de la UIDT del HGM y consistió en un láser pulsado de Nd:YAG, un osciloscopio digital, un transductor de ultrasonido, un motor de pasos, una tarjeta Arduino UNO y un contenedor para agua. Para el funcionamiento del tomógrafo, inicialmente se estableció comunicación entre cada uno de los dispositivos anteriores, luego se realizó la adquisición de las señales de manera automatizada, y posteriormente se llevó a cabo un procedimiento para la reconstrucción de la imagen 2D a partir de las señales adquiridas. Al final de este capítulo se presentan los códigos de MATLAB para la adquisición de las señales fotoacústicas y para la reconstrucción de imágenes 2D con el algoritmo de inversión de tiempo.

Finalmente, en el cuarto capítulo se presentan las imágenes 2D reconstruidas con el toolbox *k-Wave*, las cuales corresponden a una sección transversal de una pieza de polímero (PLA) y muestras biológicas de tejido duro dental (muelas humanas), mismas que fueron extraídas de pacientes del Servicio de Estomatología del HGM por parte de la Dra. Claudia Bravo Flores.

1. Fundamentos de la Tomografía Fotoacústica

En este capítulo se describen los conceptos fundamentales de la modalidad de Tomografía¹ Fotoacústica (PAT), partiendo de la definición del efecto fotoacústico, la generación de señales fotoacústicas, el aumento de presión inicial, la propagación de las ondas acústicas y los modos de detección. También se muestran algunas aplicaciones de la PAT principalmente en estudios con tejido duro dental, por lo cual se muestran sus propiedades ópticas y acústicas más destacadas. Por último, se presentan algunas de las ventajas de la PAT sobre otras modalidades de imágenes biomédicas.

1.1. Tomografía Fotoacústica (PAT)

La PAT ha surgido como una modalidad prometedora al superar una limitación fundamental de las imágenes ópticas, la difusión de la luz. La PAT aprovecha el *efecto fotoacústico*, en el cual se convierte la energía óptica absorbida en energía acústica, y debido a que las ondas acústicas se esparcen menos que las ondas ópticas en el tejido, la PAT puede generar imágenes de alta resolución tanto en los regímenes ópticamente balísticos y difusivos. Además, como las señales se originan a partir de la absorción óptica, ver **Figura 1**, la PAT aprovecha fácilmente los altos contrastes ópticos endógenos y exógenos [6]. A diferencia de las técnicas como el ultrasonido tradicional, el cual opera bajo el principio de “sonido adentro, sonido afuera”, en la PAT este concepto se cambia a “luz adentro, sonido afuera” [7].

1.1.1. Efecto fotoacústico

La PAT tiene como fundamento físico al efecto PA, el cual se refiere a la generación de ondas acústicas debidas a la absorción de la radiación electromagnética en un material. Una condición para que se de este efecto, es que la fuente de iluminación debe ser modulada o pulsada. Además, cualquier tipo de radiación electromagnética puede generar el efecto PA.

Las ondas acústicas se producen a través del efecto PA mediante tres conversiones de energía: la *energía electromagnética* incidente en la muestra se convierte en *energía térmica* a través de una rápida absorción por parte de los cromóforos, posteriormente esta energía térmica se convierte en *energía mecánica* a través del efecto termoelástico, creando una onda de presión

¹ Una *tomografía* es una técnica exploratoria para obtener imágenes de un plano o sección transversal de un objeto.

que se propaga lejos de los cromóforos [1]. Algunos mecanismos para la generación del efecto fotoacústico con diversas eficiencias de generación incluyen procesos de absorción como la electrostricción, la expansión térmica, la formación de plasma, y la cavitación. Las técnicas que involucran el efecto fotoacústico se pueden usar para la caracterización de materiales, la detección de trazas, o la obtención de imágenes de la superficie o el interior de una muestra [8].

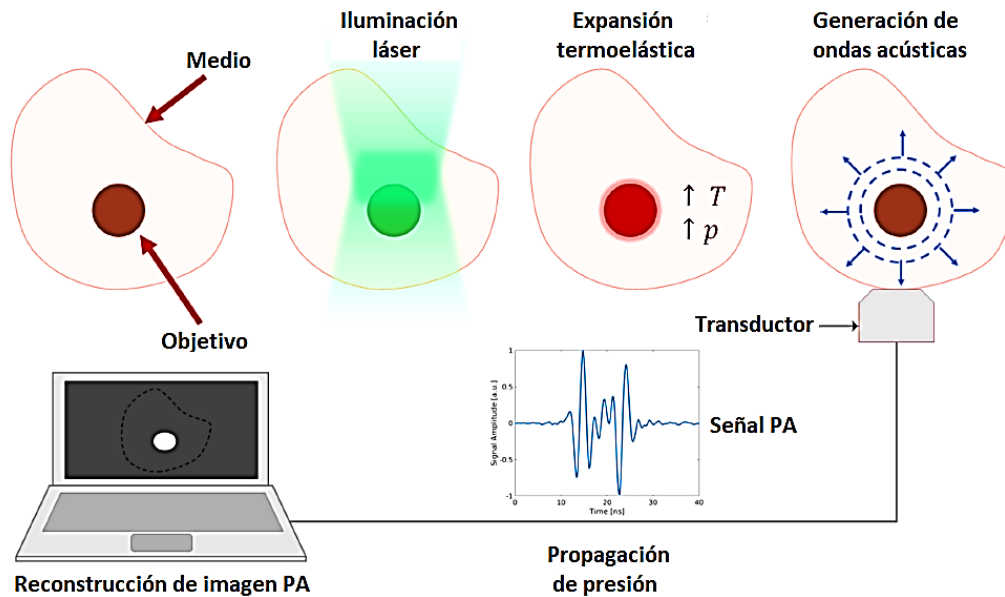


Figura 1. Esquema que muestra la generación de una imagen fotoacústica. Los cromóforos (objetivo) en el tejido (medio) absorben la energía del láser y experimentan una expansión termoelástica, lo que genera ondas de presión (acústicas) que se propagan en todas las direcciones. Un transductor de ultrasonido detecta estas ondas y las señales eléctricas se utilizan para reconstruir una imagen. La “T” y la “p” denotan la temperatura y la presión, respectivamente [1].

1.1.2. Generación de señales PA

Las señales en la PAT se originan como una consecuencia del efecto fotoacústico, es decir, son el resultado de los efectos causados por el incremento de temperatura que se origina de la absorción de fotones en un material, ver **Figura 1**.

El mecanismo para la generación de una señal PA debido a una expansión térmica local también se conoce como la generación de una señal PA termoelástica. Este proceso se representa en el diagrama de la **Figura 2** [9], y se describe con los siguientes puntos:

1. **Pulsos de radiación láser.** La excitación pulsada se obtiene usando un láser pulsado (comúnmente de pulsos cortos con duración del orden de nanosegundos), con una determinada longitud de onda y potencia óptica (energía/pulso), y cuya frecuencia de

repetición del pulso es de unos pocos ciclos por segundo (Hz), lo cual resulta en periodos muy cortos de iluminación intensa por cada pulso, seguido de periodos largos de oscuridad.

2. **Absorción local.** El material es iluminado localmente en un tiempo muy corto, y dependiendo de las propiedades ópticas del mismo (coeficiente de absorción óptica), es capaz de absorber una parte de la energía electromagnética del pulso láser.
3. **Aumento de temperatura local.** La energía que absorbe el material se convierte en calor y se produce un aumento de temperatura local, el cual es generado por decaimientos no radiativos. Este aumento de temperatura de la región iluminada también ocurre en un tiempo muy corto, de tal manera que no se permite que la temperatura del sistema se incremente más allá de la zona iluminada.
4. **Expansión adiabática.** El incremento de la temperatura local ocasiona que la zona iluminada se expanda. Esto es debido a que el calentamiento local provoca un aumento de volumen, lo cual depende de las propiedades térmicas del material (capacidad calorífica específica y coeficiente de expansión volumétrica). De esta manera, se da lugar a una expansión termoelástica, en donde la zona iluminada se expande y se contrae recuperando su estado de equilibrio periódicamente.
5. **Generación de ondas de presión.** La expansión termoelástica produce un estrés, es decir, un cambio de presión localizado, el cual se propaga por todo el sistema que conforma el material y los alrededores. Por lo tanto, la generación de ondas de presión (emisión de ondas acústicas) se debe precisamente a estos cambios de presión cuando el material es calentado.
6. **Detección ultrasónica.** Las ondas de presión (que generalmente se encuentran en el rango del ultrasonido), son detectadas por un transductor de ultrasonido (micrófono), y de ser necesario estas señales eléctricas se pueden amplificar.
7. **Señal fotoacústica.** Las señales eléctricas correspondiente a las ondas de presión, y las cuales son representadas por el instrumento de medición (osciloscopio), se denominan señales fotoacústicas.

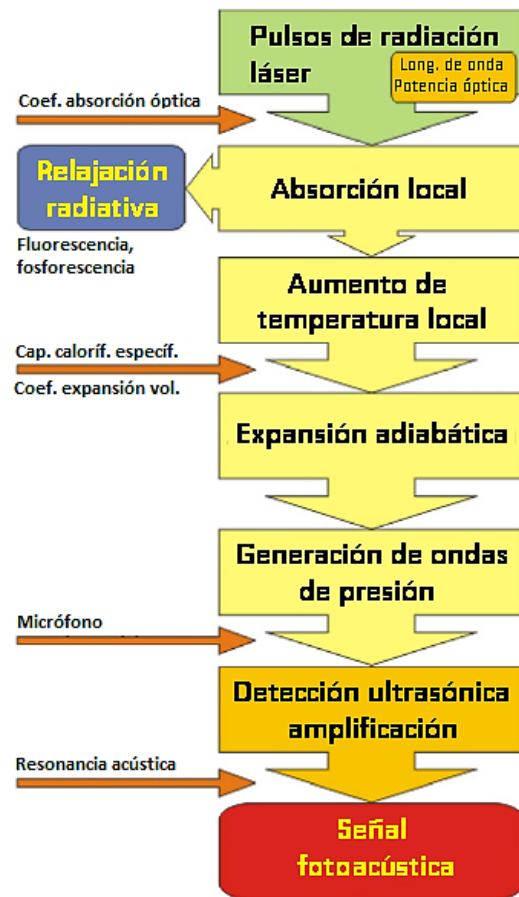


Figura 2. Diagrama que representa el proceso fundamental para la generación de una señal fotoacústica [9].

El mecanismo de expansión térmica es interesante para aplicaciones de diagnóstico médico porque no es destructivo ni invasivo, es decir, no se modifica a la muestra. Y dado que el tejido tiene varias características semejantes a las del agua, la generación de señales PA en soluciones acuosas es de gran importancia para el desarrollo de imágenes PAT de tejidos. Sin embargo, la generación de señales PA en líquidos difiere de la de los sólidos o gases en dos aspectos: 1) los sólidos soportan la propagación de ondas de corte, superficiales y laminares, y 2) las geometrías de las fuentes suelen ser muy diferentes [8].

1.1.3. Aumento de presión inicial

En la PAT se usa una fuente de luz láser de pulsos cortos para irradiar el tejido, lo cual da como resultado ondas PA de banda ancha con un contenido de frecuencia que se extiende a varias decenas o cientos de MHz para su detección acústica. Después de la absorción de la luz, un aumento de temperatura inicial induce un aumento de presión que se propaga como una onda PA, y finalmente se detecta con un transductor de ultrasonido de un solo elemento o una matriz de transductores [10].

Existen dos escalas de tiempo importantes en la generación de ondas PA: 1) el tiempo de relajación térmica τ_{th} [s], y 2) el tiempo de relajación de estrés τ_s [s]. El tiempo de relajación térmica (difusión térmica) está dado por:

$\tau_{th} = \frac{d_c^2}{\alpha_{th}}$	Ecuación 1
---	---------------

Donde d_c [m] es el espesor de la región iluminada y α_{th} [m²/s] es la difusividad térmica². Por otro lado, el tiempo de relajación de estrés está dado por:

$\tau_s = \frac{d_c}{v_s}$	Ecuación 2
----------------------------	---------------

Donde v_s es la velocidad del sonido [m/s] en el material. Después de la excitación láser, la expansión de volumen fraccional de la región calentada dV/V se puede expresar como:

$\frac{dV}{V} = -\kappa p + \beta T$	Ecuación 3
--------------------------------------	---------------

² La difusividad térmica ($\alpha_{th} = K/\rho C_p$) de un material es directamente proporcional a su conductividad térmica K, e inversamente proporcional a su densidad ρ y su capacidad calorífica específica a presión constante C_p . Esta expresa la velocidad de transferencia de calor dentro de un material cuando se calienta con una fuente de energía.

Donde κ [Pa^{-1}] es la compresibilidad isotérmica, p [Pa] es el cambio de presión, β [K^{-1}] es el coeficiente térmico de expansión volumétrica, y T [K] es el cambio de temperatura. Si la duración del pulso láser es más corta que τ_{th} y τ_s , la excitación satisface el confinamiento térmico³ y el confinamiento de estrés⁴ [11]. Por lo tanto, el cambio de volumen fraccional es insignificante. Entonces, de la **Ecuación 3** se deriva que el aumento de presión inicial p_0 es:

$$p_0 = \frac{\beta T}{\kappa}$$

Ecuación 4

Además, el aumento de temperatura local se puede expresar como:

$$T = \frac{\eta_{th} A_e}{\rho C_V}$$

Ecuación 5

Donde η_{th} es el porcentaje de luz absorbida que es convertida en calor, A_e [J/m^3] es la deposición de energía óptica específica, ρ [kg/m^3] es la densidad de masa, y C_V [$\text{J}/\text{K} \cdot \text{kg}$] es la capacidad calorífica específica a volumen constante. Sustituyendo la **Ecuación 5** en la **Ecuación 4** se tiene:

$$p_0 = \frac{\beta}{\kappa \rho C_V} \eta_{th} A_e = \Gamma \eta_{th} A_e$$

Ecuación 6

Donde por definición, el parámetro de Grueneisen Γ [adimensional] se expresa como:

$$\Gamma = \frac{\beta}{\kappa \rho C_V} = \frac{\beta v_s^2}{C_P}$$

Ecuación 7

Donde C_P [$\text{J}/\text{K} \cdot \text{kg}$] es la capacidad calorífica específica a presión constante. Para la absorción óptica de un solo fotón, A_e es proporcional a la fluencia óptica local F [J/cm^2], por lo que la **Ecuación 6** se convierte en la **Ecuación 8**.

³ El *confinamiento térmico* se satisface cuando la duración del pulso láser es menor que el tiempo de relajación térmica τ_{th} fuera de la zona iluminada. Así, el calor viajará una distancia menor a la distancia característica de difusión, y la energía se concentrará en la región iluminada, asegurando que la onda de presión que se genera proviene de la misma región.

⁴ El *confinamiento de estrés* se satisface cuando la duración del pulso láser es menor que el tiempo de relajación de estrés τ_s , es decir, menor que el tiempo en el cual la expansión viaja a través de la región iluminada. Así, cuando el siguiente pulso incida sobre el material absorbente, éste ya habrá regresado a su estado de equilibrio.

$$p_0 = \Gamma \eta_{th} \mu_a F$$

**Ecuación
8**

Donde μ_a [cm^{-1}] es el coeficiente de absorción óptica. De acuerdo con la **Ecuación 8**, para pulsos de láser cortos el aumento de presión inicial es linealmente proporcional a μ_a y F [8]. Los valores de Γ y η_{th} generalmente se consideran constantes, pero se ha reportado que dependen del tipo de tejido. Por lo tanto, si se mide p_0 y se conoce F , entonces μ_a se puede recuperar. Después de la generación de la presión inicial p_0 , una onda acústica comienza a propagarse a la velocidad del sonido en el material [10].

1.1.4. Propagación de ondas PA

La propagación y generación de la presión acústica $p(\vec{r}, t)$ en la posición \vec{r} y tiempo t son regidas por la siguiente ecuación de onda **Ecuación 9** [10].

$$\left(\nabla^2 - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \right) p(\vec{r}, t) = - \frac{\beta}{\kappa v_s^2} \frac{\partial^2 T(\vec{r}, t)}{\partial t^2}$$

**Ecuación
9**

Donde $T(\vec{r}, t)$ representa el aumento de temperatura por encima de su valor inicial. Si se considera la condición de confinamiento térmico, donde la conducción de calor es insignificante, la ecuación de difusión de calor se convierte en la **Ecuación 10**.

$$\rho C_v \frac{\partial T(\vec{r}, t)}{\partial t} = H(\vec{r}, t)$$

**Ecuación
10**

Donde $H(\vec{r}, t)$ es la función de calor, definida como la energía térmica depositada por unidad de volumen y por unidad de tiempo. Así mismo, $H(\vec{r}, t)$ está relacionada con la deposición de energía óptica específica A_e mediante la **Ecuación 11**.

$$H(\vec{r}, t) = \eta_{th} \frac{\partial A_e(\vec{r}, t)}{\partial t}$$

**Ecuación
11**

Sustituyendo la **Ecuación 10** en la **Ecuación 9** se obtiene la siguiente **Ecuación 12**.

$$\left(\nabla^2 - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2}\right) p(r, t) = -\frac{\beta}{C_p} \frac{\partial H(\vec{r}, t)}{\partial t}$$

Ecuación 12

Finalmente, sustituyendo Γ de la **Ecuación 7** en la **Ecuación 12**, y reorganizando algunos términos se obtiene la **Ecuación 13**, la cual es conocida como la ecuación de onda fotoacústica.

$$\left(\frac{\partial^2}{\partial t^2} - v_s^2 \nabla^2\right) p(\vec{r}, t) = \Gamma \frac{\partial H(\vec{r}, t)}{\partial t}$$

Ecuación 13

1.1.5. Modos de detección: *backward* y *forward*

El modo en que se detectan las señales fotoacústicas, es decir, la recolección de los datos se puede realizar a través de dos formas: modo *backward* y modo *forward*. Las diferencias básicas entre ambos modos se presentan en la **Tabla 1**.

Backward	Forward
El láser y el transductor de ultrasonido se encuentran en el mismo lado , a un lado de la muestra y sobre el eje de la trayectoria láser.	El láser y el transductor de ultrasonido se encuentran en lados opuestos de la muestra sobre el eje de la trayectoria láser.
Se detecta el sonido que se propaga hacia atrás desde la fuente de presión inicial.	Se detecta el sonido que se propaga hacia adelante desde la fuente de presión inicial.
El sonido solo se propaga en el medio.	El sonido se propaga en la muestra y en el medio.

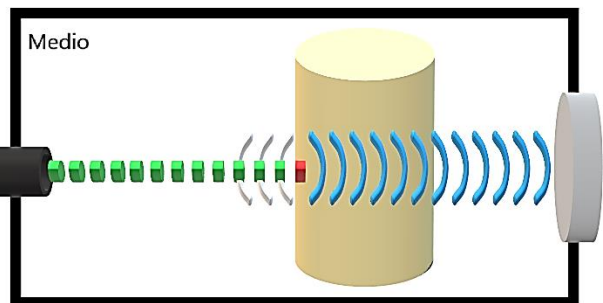
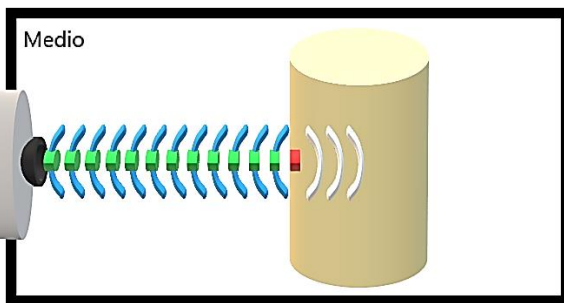


Tabla 1. Modos de detección de datos: *backward* y *forward*. El objeto amarillo representa la muestra estudiada, el objeto negro representa la fuente de luz láser pulsada, y el objeto gris representa el transductor de ultrasonido (micrófono). El punto rojo representa la zona iluminada (fuente de presión inicial). Las líneas verdes representan los pulsos de luz láser, y las líneas azules y blancas representan las ondas de presión (ultrasonido) que se propagan hacia adelante y atrás desde la fuente de presión inicial.

1.2. Tejido biológico

El tejido es un material biológico constituido por un conjunto complejo y organizado de células, de uno o varios tipos. Los tejidos biológicos se caracterizan por presentar un alto nivel de inhomogeneidad, lo cual es una consecuencia de la estructura celular. En general, se pueden clasificar en:

- 1) **Tejido duro.** Es aquel que se encuentra endurecido por los procesos de osificación o calcificación, como los huesos y los dientes.
- 2) **Tejido blando.** Es aquel que conecta, rodea o sostiene los órganos internos y los huesos, como los músculos, los tendones, los ligamentos, la piel, etc.

1.2.1. Tejido duro dental

Los dientes son considerados como la unidad anatómica de la dentadura, y son órganos con una estructura más dura que los huesos [12].

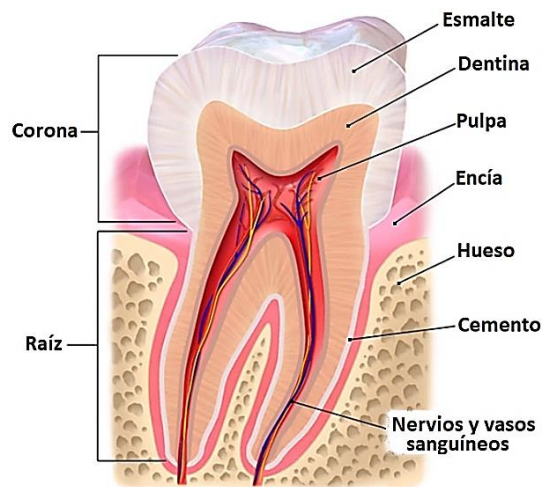


Figura 3. Sección transversal que muestra la anatomía de un diente humano.

En la **Figura 3** se muestra una sección transversal esquemática de la anatomía de un diente humano, la cual está conformada por tres capas principales de tejido:

- 1) El *esmalte* es la capa externa del diente, es un tejido duro de color blanco translúcido que cubre a la corona, y es el más duro del cuerpo humano.

- 2) La *dentina* es la capa que se encuentra debajo del esmalte y que protege a la pulpa dental, es un tejido duro de color amarillento (responsable del color dental), y constituye la mayor parte del interior del diente.
- 3) La *pulpa* es la capa más interna del diente, es un tejido blando en el que se encuentran los nervios, que otorgan la sensibilidad al diente, y los vasos sanguíneos, que conducen la sangre hacia el diente.

En condiciones saludables, la *corona* es la parte visible del diente que sobresale de la encía (tejido gingival), y la *raíz* es la parte del diente que se encuentra debajo de la encía [13].

1.2.1.1. Composición del esmalte y la dentina

En esta sección nos centramos en la composición del esmalte y la dentina. Los dos tejidos son muy diferentes en su estructura, pero al mismo tiempo tienen componentes similares. En la **Tabla 2** se presenta la composición aproximada del esmalte y la dentina como porcentaje de volumen de cada uno de los componentes involucrados. El material biológico del que se componen principalmente nuestros dientes es la *hidroxiapatita carbonatada* [14], seguido del agua, las proteínas y los lípidos [15].

Componente	Esmalte [Porcentaje aproximado por volumen]	Dentina [Porcentaje aproximado por volumen]
Hidroxiapatita carbonatada	85	47
Agua	12	20
Proteínas y lípidos	3	33

Tabla 2. Composición del esmalte y la dentina. Adaptado de [15].

La hidroxiapatita carbonatada también es conocida como *apatita biológica*, la cual es formada por organismos vivos, y es el principal componente del esmalte dental, la dentina, el cemento y los huesos humanos. Además, la apatita biológica es diversa y difiere de un tejido a otro, y desde una perspectiva más amplia, de un animal a otro [16].

1.2.2. Absorción óptica

En este trabajo, la absorción óptica es un punto importante a tratar, esto se debe a que la generación eficiente de ultrasonido depende de las características de absorción del material en la longitud de onda óptica del láser pulsado [17].

Cuando la luz pasa de un medio a otro, por ejemplo, del aire a un medio sólido, puede suceder que parte de la radiación se transmita a través del segundo medio, parte se absorba, y otra parte se refleje en la interfase entre los dos medios. La intensidad del haz incidente I_0 sobre la superficie del medio sólido debe ser igual a la suma de la intensidad del haz transmitido I_T , absorbido I_A y reflejado I_R [18].

$$I_0 = I_T + I_A + I_R$$

**Ecuación
14**

La intensidad de la radiación (fluencia) expresada en W/m^2 (J/cm^2) corresponde a la magnitud utilizada para describir la potencia incidente (energía por unidad de tiempo) a través de una unidad de superficie perpendicular a la dirección de propagación. La **Ecuación 15** es una forma alternativa de la **Ecuación 14**.

$$T + A + R = 1$$

**Ecuación
15**

Donde T es la transmisividad (I_T/I_0), A es la absorptividad (I_A/I_0), y R es la reflectividad (I_R/I_0), las cuales representan las fracciones de luz incidente que son transmitidas, absorbidas y reflejadas por un material, respectivamente. La suma debe ser igual a 1 porque toda la luz incidente se transmite, absorbe o refleja.

Es importante mencionar que los *materiales transparentes* son capaces de transmitir luz con poca absorción y poca reflexión (se puede ver a través de ellos); los *materiales traslúcidos* son aquellos a través de los cuales la luz se trasmite de manera difusa, es decir, la luz se esparce en el interior (no se puede ver claramente a través de ellos); y los *materiales opacos* son los que no permiten la transmisión de la luz visible [18].

Por otro lado, la intensidad de la radiación neta absorbida depende del medio y de la longitud del trayecto interior. La intensidad de la radiación transmitida o no absorbida I_T disminuye en función de la distancia x que recorre la luz [18].

$$I_T = I'_0 e^{-\mu_a x}$$

Donde I'_0 es la intensidad del haz incidente no reflejado, y μ_a es el coeficiente de absorción⁵, el cual es característico del material y depende de la longitud de onda de la radiación incidente. Un material con un valor de μ_a alto se considera altamente absorbente.

1.2.2.1. Propiedades ópticas del esmalte y la dentina

Los cromóforos tisulares endógenos típicos (absorbentes ópticos) incluyen a la hemoglobina, la melanina y el agua. Sin embargo, la hidroxiapatita también es un absorbedor importante. En la **Figura 4** [19], se presentan los espectros de absorción óptica de algunos materiales biológicos, incluida la hidroxiapatita. Se observa que los coeficientes de absorción óptica son propios de la longitud de onda.

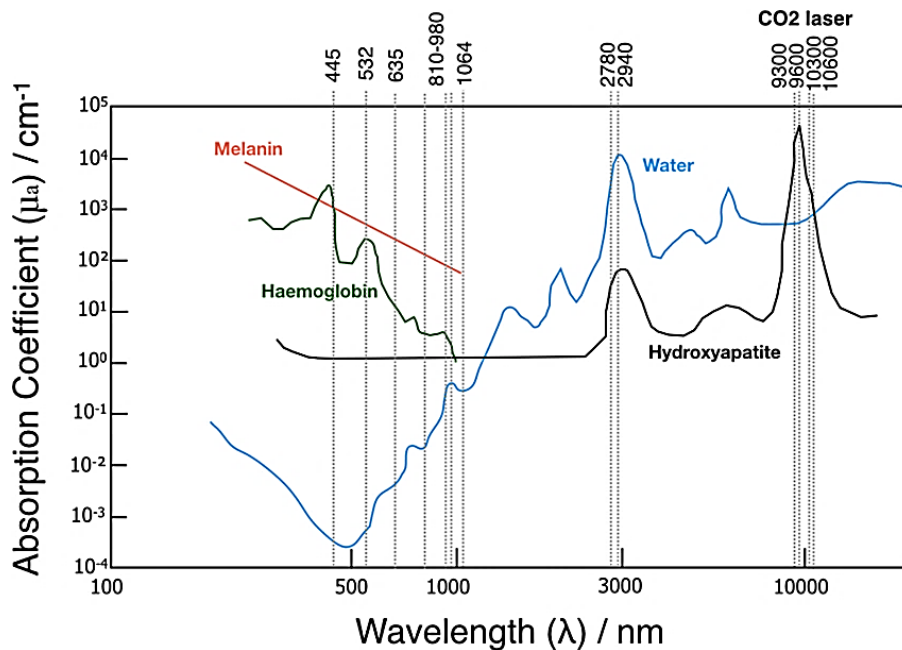


Figura 4. Espectros de absorción óptica de algunos materiales biológicos (escala logarítmica) y longitudes de onda láser [19].

⁵ El coeficiente de absorción óptica es una medida del nivel de absorción que ocurre en un tejido específico para una longitud de onda específica de luz láser. Se define como la probabilidad de que un fotón sea absorbido en un medio por unidad de longitud de camino recorrido.

En la **Tabla 3** se presentan los coeficientes de absorción relevantes para la interacción del láser con los tejidos duros. Se observa que los valores para luz visible en la región verde indican que el esmalte y la dentina transmiten fácilmente la luz visible. Además, la dentina absorbe mejor que el esmalte en esa misma región. Por otro lado, los coeficientes de absorción son muy altos para longitudes de onda en la región del infrarrojo medio (IR medio) [15].

Longitud de onda	Coeficiente de absorción μ_a [cm^{-1}]		Profundidad de penetración óptica ($1/\mu_e$) [μm]		Coeficiente de esparcimiento μ_s [cm^{-1}]	
	esmalte	dentina	esmalte	dentina	esmalte	dentina
Luz visible						
543 nm	< 1	3 – 4	–	–	105	280
632 nm	< 1	3 – 4	–	–	60	280
IR cercano						
1053 nm	< 1	3 – 4	–	–	15	260
IR medio						
2.79 μm	480	–	25	–	~0	~0
9.3 μm	5500	–	2	–	~0	~0
10.6 μm	825	–	12	–	~0	~0

Tabla 3. Valores del coeficiente de absorción, profundidad de penetración óptica y coeficiente de esparcimiento, correspondientes al esmalte y la dentina. Adaptado de [15].

La profundidad de penetración óptica l , es decir, la distancia que puede alcanzar la luz propagándose en un medio dominado por absorción y esparcimiento, depende únicamente de su coeficiente de extinción⁶ μ_e para una determinada longitud de onda. Este parámetro l se define como el recíproco del coeficiente de extinción, ver **Ecuación 17**.

$l = \frac{1}{\mu_e}$	Ecuación 17
-----------------------	--------------------

En el estudio de un tejido biológico la **Ecuación 17** es importante, porque dependiendo de la composición del tejido, entonces la longitud de onda utilizada en la fuente de iluminación alcanzará distintos niveles de profundidad de penetración.

⁶ El coeficiente de extinción μ_e está relacionado con la absorción óptica de la luz a través de la siguiente expresión: $\mu_e = \mu_a + \mu_s$ donde μ_a es el coeficiente de absorción, y μ_s es el coeficiente de esparcimiento.

1.2.3. Velocidad de propagación del sonido

La velocidad del sonido v_s se refiere a la velocidad a la que las ondas de sonido viajan a través de un material transmisivo. Esta velocidad depende del material, del modo de propagación de la onda, y en menor medida de la temperatura.

Las ondas sonoras a diferencia de las ondas electromagnéticas necesitan materia para transmitirse. Mientras en el aire a 20 °C el sonido se propaga a una velocidad de 343 m/s, en el agua lo hace casi cinco veces más rápido, y en el hueso casi diez veces más rápido.

Estas ondas pueden viajar en los sólidos de varias maneras, generalmente llamados modos de propagación. Los dos modos más comunes son las ondas longitudinales y las ondas de corte (shear). Los modos de onda de superficie (Rayleigh) y ondas de placa (Lamb) también son importantes en algunas técnicas de detección de fallas. Los líquidos y gases transmiten solo ondas longitudinales [20].

1.2.3.1. Propiedades acústicas del esmalte y la dentina

En la **Tabla 4** se presentan algunas propiedades acústicas típicas de materiales dentales relevantes, en la cual se incluyen los valores de la velocidad del sonido longitudinal V_L , la velocidad del sonido de corte V_S , la densidad ρ , y la impedancia acústica ($Z = \rho \cdot V_L$) [21]. En la referencia [17], se describe el sistema experimental con el que fueron calculadas estas velocidades en el esmalte, la dentina, y la pulpa del diente.

Material	V_L [m/s]	V_S [m/s]	ρ [kg/m ³]	Z [10 ⁶ kg/m ² s]
Esmalte	5700 – 6250	3100	2100 – 3000	~18.8
Dentina	3800	1900	2000	~8.0
Cemento	3200	–	–	~6.5
Pulpa	1540 – 1570	800	1000 – 1060	~1.6
Ligamento periodontal	1580	–	–	~1.7
Encía	1540	–	–	~1.63
Amalgama	4350	2260	7750	~33.7
Agua	1480	–	1000	~1.5
Aire	330	–	1.2	~0.0004

Tabla 4. Propiedades acústicas típicas de materiales dentales relevantes. Adaptado de [21], [22]. [V_L : velocidad del sonido longitudinal, V_S : velocidad del sonido de corte, ρ : densidad, Z : impedancia acústica].

Es importante tener en cuenta que los dientes son anisotrópicos y que las mediciones de la velocidad varían según la posición y la dirección [21]. De igual manera, la velocidad del sonido en el esmalte varía debido a la naturaleza anisotrópica de las propiedades elásticas [17].

1.3. Aplicaciones de la PAT en tejido duro dental

Una de las motivaciones centrales de este trabajo es encontrar una técnica que permita ser empleada para el diagnóstico médico mediante el uso de una fuente de radiación no ionizante. En general, uno de los principales retos clínicos es tener un diagnóstico temprano y preciso a fin de tratar oportunamente enfermedades y disminuir riesgos en los pacientes.

La PAT es una modalidad de imagen no invasiva, la cual combina el alto contraste óptico con la alta resolución espacial del ultrasonido en tejido turbio. A partir de los diferentes parámetros de imagen, la PAT puede proporcionar de manera eficaz la información bioquímica, las propiedades biomecánicas, las características microestructurales, la velocidad de la sangre, o la distribución de la temperatura [2]. En general, los altos contrastes y la bioseguridad hacen que la PAT tenga las ventajas naturales en el mapeo de la estructura fisiológica del tejido biológico, tal como la detección del cáncer de mama, la obtención de imágenes cerebrales, la monitorización de enfermedades vasculares, o la obtención de imágenes de articulaciones [2].

Con el fin de evaluar la PAT en tejido biológico, en este trabajo se estudiaron muestras de tejido dental a través de la técnica fotoacústica pulsada. Las lesiones de los tejidos duros dentales como las cavidades (caries) y los dientes fracturados son enfermedades muy frecuentes en todos los rangos de edad de personas en todo el mundo. Además, estas lesiones disminuyen la calidad de vida de los pacientes a lo largo de su vida, y aún es difícil detectarlas de forma no invasiva en sus primeras etapas [2]. Se sabe, que la caries dental es el resultado de la pérdida del balance en la actividad del proceso dinámico entre la desmineralización y la remineralización. Efectuar un diagnóstico y una detección de lesiones de caries de manera precisa resulta indispensable, ya que la caries como enfermedad infecciosa puede ser tratada en una forma más efectiva y menos invasiva entre más temprana sea su detección [3].

A continuación, se presenta una breve revisión de trabajos publicados en los que se aplica la PAT específicamente en muestras de tejido duro dental:

En la referencia [21] se revisan algunas aplicaciones interesantes para el área de odontología clínica, las cuales emplean como herramienta el ultrasonido de frecuencias en el rango de MHz, incluido el ultrasonido generado por láser. Se informa de estudios relacionados con las mediciones del grosor del esmalte y la profundidad de la bolsa periodontal. Se incluyen

estudios *in vitro* que implican preparación o procedimientos destructivos y no destructivos de los dientes relacionados con mediciones de la velocidad del sonido. Y, se explora sobre la falta de familiaridad que se tiene con las imágenes de ultrasonido en odontología.

En la referencia [17] se estudió un método para evaluar la estructura interna de los dientes utilizando ultrasonido generado por un pulso láser corto, siendo que algunas de las ventajas clave sobre los métodos de transductores de contacto más tradicionales, son que por naturaleza en este método no se presenta contacto (se supera la dificultad relacionada con la eficiencia de acoplamiento), no es destructivo (para pulsos de baja energía resulta en un proceso completamente termoelástico que no produce ningún daño al material), y no se requiere de una preparación especial de la superficie del diente.

En la referencia [22] se realizó un escaneo completo alrededor de la circunferencia de un diente humano extraído utilizando ultrasonido a frecuencias en el rango de 10 MHz. En esta técnica no se emplea un láser para generar una fuente acústica, pero se presenta la detección de ondas acústicas que interaccionan con el tejido duro. La imagen obtenida muestra un contorno bidimensional de la superficie exterior del esmalte y de la unión esmalte-dentina, la cual se compara con una micrografía⁷ óptica del mismo diente para verificar la precisión de la técnica ultrasónica. Por otro lado, el ultrasonido tiene el potencial de complementar la radiografía convencional como técnica de imagen en la odontología clínica. Esto se debe a que el ultrasonido tiene la capacidad de penetrar la mayoría de las estructuras duras, y puede detectar patologías de tejido duro, como lesiones cariosas debajo de las restauraciones, lo cual es una tarea difícil para la radiografía de película convencional.

En la referencia [23] se presenta el uso de imágenes fotoacústicas (PA) y de ultrasonido (US) para monitorear la salud gingival en humanos mediante la cuantificación de la profundidad de la bolsa periodontal (separación entre la encía y el diente) de manera no invasiva. Se emplearon frecuencias de ultrasonido entre 16 – 40 MHz para resolver espacialmente la anatomía periodontal, incluidos los dientes, las encías, el margen y el grosor gingivales de los dientes anteriores. Esta técnica presenta una oportunidad para que los odontólogos se alejen del sondaje manual y se acerquen al diagnóstico guiado por imágenes PA-US.

En la referencia [24] se da un seguimiento al trabajo de la referencia anterior [23], considerando que las imágenes PA han mostrado ventajas sobre el método de sondaje periodontal manual. Se desarrolló un sistema de imágenes PA para obtener imágenes de la bolsa periodontal más posterior a través de un transductor clínico con una forma de ángulo única e integrado con fibras ópticas, lo cual permitió acceder a más dientes superiores y posteriores que los transductores lineales convencionales.

En la referencia [2] se realizaron estudios para detectar lesiones dentales tempranas aplicando una tomografía fotoacústica de doble contraste, ver **Figura 5**, donde un contraste (modo

⁷ Una *micrografía* es la fotografía de un objeto no visible a simple vista, que se obtiene mediante el uso de instrumentos ópticos como lupas y microscopios.

B) está relacionado con la absorción óptica y proporciona una imagen nítida sobre las características morfológicas y macroestructurales de los dientes, mientras que el otro contraste (modo S) está asociado con las propiedades microestructurales y mecánicas del tejido duro [2]. Además, el láser no ionizante que es utilizado en la PAT es más seguro que la radiación ionizante (Rayos X) que se emplea como método radiográfico para los exámenes clínicos dentales. Actualmente, los dos métodos más utilizados para el diagnóstico de enfermedades dentales son:

- 1) El examen visual, el cual es un método subjetivo que tiene una baja reproducibilidad en la detección de lesiones y depende del conocimiento y la experiencia clínica del examinador.
- 2) El examen radiográfico, el cual es muy preciso para las lesiones proximales cavitadas, pero es poco sensible para las lesiones no cavitadas (caries de manchas blancas y grietas) [2].

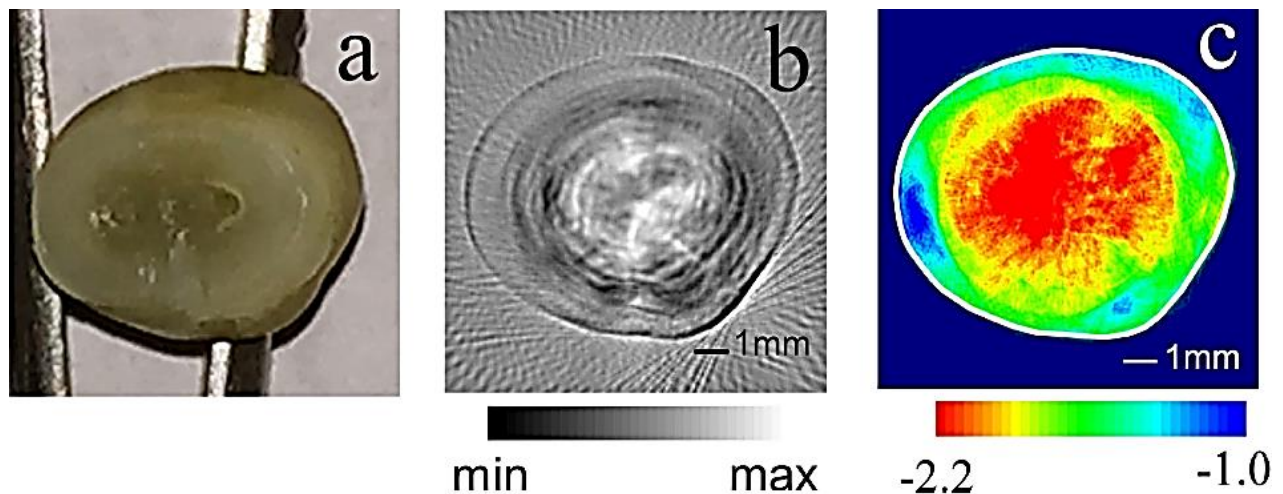


Figura 5. Imágenes PAT del mismo plano de exploración de la corona de un diente sano obtenidas en dos modos. a) Fotografía de un corte transversal del diente, donde la zona exterior con alta transparencia óptica es el esmalte y la zona interior con baja transparencia óptica es la dentina. b) La imagen PAT en modo B, donde se observa una estructura concéntrica en capas. La capa interna tiene un valor de intensidad mayor, lo cual indica una absorción óptica fuerte. La capa externa tiene un valor de intensidad menor, lo cual indica una absorción óptica débil. c) La imagen PAT en modo S, donde se identifican dos capas concéntricas. La pendiente espectral de la capa de la dentina es menor que la de la capa de esmalte [2].

1.4. Ventajas de la PAT

La fuerza particular de la fotoacústica en relación con las aplicaciones de imágenes surge del hecho de que la energía que se detecta no es luz, sino ultrasonido, el cual generalmente sufre menos esparcimiento y atenuación en el tejido biológico en comparación con la luz [4].

En contraste con otras modalidades de imágenes biomédicas convencionales, la PAT tiene un amplio impacto en los estudios preclínicos y la práctica clínica, debido a las virtudes que se presentan a continuación [6]:

1. Puede penetrar más profundo y mantener una alta resolución espacial en todo el campo de visión, en comparación con la tomografía puramente óptica como la Tomografía Óptica Difusa (DOT) y la Tomografía de Fluorescencia (FMT).
2. Tiene altos contrastes ópticos endógenos y exógenos, y está libre de artefactos moteados, en comparación con las imágenes ultrasónicas (US).
3. Utiliza radiación no ionizante (iluminación láser), en comparación con la técnica de Tomografía Computarizada de Rayos X (CT) y la Tomografía por Emisión de Positrones (PET).
4. Es más rápida y menos costosa, en comparación con la modalidad de Imagen por Resonancia Magnética (MRI).
5. No requiere de material radiactivo (marcador) para buscar una patología en el cuerpo, que a gran escala es un problema de contaminación mundial.

2. Reconstrucción de imágenes fotoacústicas con el toolbox *k-Wave*

En este capítulo se presenta el toolbox *k-Wave* para MATLAB que se utilizó para la reconstrucción de las imágenes PAT 2D a partir de la información de las señales fotoacústicas, las cuales fueron obtenidas con mediciones experimentales usando el sistema de tomografía fotoacústica diseñado en esta tesis.

2.1. Toolbox *k-Wave*

El toolbox (caja de herramientas) llamado *k-Wave*, es un software de código abierto para MATLAB y C++ desarrollado por Bradley Treeby y Ben Cox de la University College London, y Jiri Jaros de la Brno University of Technology. Este software está diseñado para hacer simulaciones de la propagación de ondas acústicas y ultrasónicas 1D, 2D o 3D en el dominio del tiempo en medios complejos y con realismo tisular [25]. También permite la simulación y la reconstrucción de campos de ondas fotoacústicas [5]. Las funciones de simulación se basan en el método pseudoespectral del espacio k^8 y son rápidas y fáciles de usar.

El toolbox *k-Wave* tiene una gran variedad de funciones, pero en esencia es un modelo numérico avanzado que puede considerar la propagación de ondas lineales y no lineales, una distribución arbitraria de parámetros de materiales heterogéneos, y la absorción acústica de ley de potencia [26]. Es ampliamente utilizado para simular el comportamiento de ondas ultrasónicas en medios biológicos, por lo cual, una de sus aplicaciones más importantes y utilizadas en este trabajo se basa en emplear un algoritmo de inversión de tiempo para la reconstrucción de una imagen bidimensional, correspondiente a una sección transversal de una muestra de tejido duro.

El modelo numérico se basa en la solución de tres ecuaciones diferenciales parciales de primer orden acopladas [26]:

$\frac{\partial u}{\partial t} = -\frac{1}{\rho_0} \nabla p$	conservación del momento	Ecuación 18
$\frac{\partial \rho}{\partial t} = -\rho_0 \nabla \cdot u$	conservación de la masa	Ecuación 19

⁸ El espacio k se refiere al dominio de frecuencia espacial de una transformada espacial de Fourier.

$$p = c_0^2 \rho$$

relación presión-densidad

Ecuación
20

Donde u es la velocidad de la partícula acústica, p es la presión acústica, ρ es la densidad acústica, ρ_0 es la densidad del ambiente y c_0 es la velocidad del sonido. Las ecuaciones se resuelven usando el método pseudoespectral de espacio k , donde los gradientes espaciales se calculan usando un método de colocación de Fourier, y los gradientes temporales se calculan usando un método de diferencias finitas corregido por espacio k . Sin embargo, las ecuaciones anteriores también se pueden combinar para formar una ecuación de onda de segundo orden con una única variable acústica, la cual normalmente es la presión:

$$\nabla^2 p - \frac{1}{c_0^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = 0$$

Ecuación
21

La información detallada del toolbox *k-Wave*, el archivo de instalación, una lista de publicaciones en revistas, y la documentación del mismo, se encuentran disponibles en la referencia [25].

2.2. Estructuras para la reconstrucción

En esta sección se define cada una de las estructuras que se requieren para realizar la reconstrucción de la imagen mediante el uso del toolbox *k-Wave* para MATLAB, las cuales se encuentran descritas detalladamente en la sección de ejemplos “Reconstrucción de imagen fotoacústica” [27].

Las funciones de simulación en el toolbox *k-Wave* requieren cuatro estructuras de entrada, ver **Figura 6**: 1) propiedades de la cuadrícula computacional (`kgrid`), 2) propiedades del medio en el que se propaga la onda fotoacústica (`medium`), 3) propiedades y ubicación de la fuente acústica (`source`), y 4) propiedades y ubicación del arreglo de los sensores utilizados para registrar la evolución de los campos de presión y velocidad a lo largo del tiempo (`sensor`). Posteriormente, el cálculo se inicia llamando a la función `kspaceFirstOrderND` con las cuatro estructuras definidas anteriormente. Estas funciones se llaman mediante scripts de MATLAB con parámetros de entrada definidos por el usuario [26].

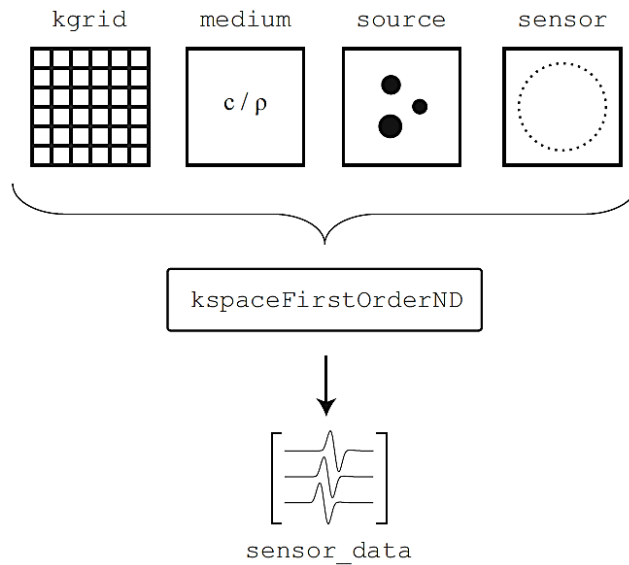


Figura 6. Esquema de la arquitectura de las funciones de simulación del toolbox *k-Wave* que se basan en ecuaciones acústicas de primer orden acopladas para medios heterogéneos [5].

2.2.1. Cuadrícula computacional (**kgrid**)

La simulación de la propagación de ondas acústicas se realiza en una cuadrícula cartesiana regular, es decir, en una malla estructurada que contiene elementos rectangulares idénticos. En dos dimensiones, la cuadrícula se conforma de una fila con un número de puntos N_x separados por una distancia dx en la dirección cartesiana x ; y una columna con un número de puntos N_y separados por una distancia dy en la dirección cartesiana y [26].

Esta discretización del medio se realiza usando la clase `kWaveGrid` definiendo el número total de puntos de la cuadrícula (N_x, N_y) y el espaciado entre los puntos de la cuadrícula (dx, dy) en cada dirección cartesiana. El objeto de la cuadrícula *k-Wave* devuelto por la clase `kWaveGrid` se define de la siguiente manera:

```
kgrid = kWaveGrid(Nx, dx, Ny, dy);
```

El objeto `kgrid` incluye las matrices de los números de onda computacionales (`kgrid.kx`, `kgrid.ky` y `kgrid.k`) y las coordenadas cartesianas de los puntos de la cuadrícula (`kgrid.x` y `kgrid.y`) utilizadas en las funciones de simulación y reconstrucción dentro del toolbox *k-Wave*.

Las técnicas numéricas utilizadas en el toolbox *k-Wave* se basan principalmente en la transformada rápida de Fourier (FFT), por lo cual las simulaciones serán más rápidas cuando el número de puntos de la cuadrícula en cada dirección esté dado por una potencia de dos.

2.2.2. Medio de propagación (**medium**)

Las propiedades físicas del medio en el que se propagan las ondas acústicas se definen para cada punto de la cuadrícula en la estructura `medium`. Para un medio homogéneo, la velocidad del sonido se establece como un valor escalar (`medium.sound_speed`) en unidades de metros sobre segundo.

A medida que una onda acústica se propaga en un medio, generalmente se pierde una parte de su energía acústica debido al movimiento térmico aleatorio, lo cual resulta en una absorción acústica. En el toolbox *k-Wave* se puede tratar al medio como un fluido absorbente de sonido, en el cual la absorción sigue una ley de potencia de frecuencia [26]:

$$\alpha = \alpha_0 \omega^y$$

Ecuación
22

Donde α [$Np \cdot m^{-1}$] es el coeficiente de absorción acústica, α_0 es el prefactor de la ley de potencia [$Np(rad/s)^{-y}m^{-1}$], y y es el exponente de la ley de potencia. Esta absorción acústica de la ley de potencia se puede configurar asignando valores al coeficiente de absorción (`medium.alpha_coeff`) y al exponente de la ley de potencia (`medium.alpha_power`).

El espaciado de la cuadrícula (dx , dy) y la velocidad del sonido gobiernan la frecuencia máxima que la cuadrícula de simulación puede propagar, la cual se puede calcular mediante `f_max_x = medium.sound_speed / (2 * dx)`.

2.2.3. Fuente acústica (**source**)

La distribución de presión inicial se establece como una matriz que contiene los valores de presión inicial para cada punto de la cuadrícula. Esta matriz debe tener el mismo tamaño que la discretización definida para la cuadrícula computacional (N_x , N_y). El toolbox *k-Wave* contiene varias funciones para la creación de formas geométricas simples. La distribución de presión inicial se asigna al campo `p0` de la estructura `source` [26].

Para el caso de una reconstrucción de imagen a partir de los datos obtenidos experimentalmente (solución al problema inverso) se debe establecer el valor de la distribución de presión inicial en cero:

$$\text{source.p0} = 0;$$

2.2.4. Arreglo de sensores (**sensor**)

Las propiedades y la ubicación de los puntos de sensor que se utilizan para registrar el campo de presión en cada paso del tiempo durante la simulación se definen en la estructura `sensor`. Las posiciones de los puntos del sensor dentro del dominio computacional se establecen usando la máscara del sensor `sensor.mask`.

En 2D, la función `makeCartCircle` se utiliza para establecer la máscara del sensor en las coordenadas cartesianas de un conjunto de puntos distribuidos uniformemente sobre un círculo o un arco, de la siguiente manera [26]:

```
sensor.mask = makeCartCircle(sensor_radius, num_sensor_points,  
                             center_pos, arc_angle);
```

Donde `sensor_radius` es el radio del círculo [m], `num_sensor_points` es el número de puntos o sensores que conforman el arreglo circular, `center_pos` es la posición del centro del círculo [m] (predeterminado = [0,0]), y `arc_angle` es el ángulo de arco para el círculo incompleto [radianes] (predeterminado = 2π).

2.3. Ejecución de la simulación

Después de que se han definido las cuatro estructuras de entrada anteriores, el cálculo de la simulación se inicia llamando a la función `kspaceFirstOrderND`, donde la sintaxis es idéntica para simulaciones de 1D, 2D o 3D [26]:

```
sensor_data = kspaceFirstOrderND(kgrid, medium, source, sensor);
```

Esta función devuelve un arreglo de tantas filas como sensores y tantas columnas como instantes de tiempo de simulación se hayan definido. El funcionamiento se puede resumir de la siguiente manera: el sistema toma como referencia las propiedades del medio y la ubicación de la fuente para hallar la distribución espacial de las ondas acústicas; luego grafica la solución espacial y guarda la información de los puntos especificados en los sensores para ir construyendo las señales temporales de salida; después aplica el proceso de propagación encontrando la distribución de presiones y velocidades correspondientes al siguiente instante, grafica este

resultado y guarda el registro de los sensores. La función repite el proceso para todos los instantes hasta completar el tiempo especificado [28].

2.4. Reconstrucción de inversión de tiempo

En esta sección se presentan las funciones del toolbox *k-Wave* para la reconstrucción de inversión de tiempo de un campo de onda fotoacústico bidimensional registrado en una matriz circular de elementos sensores. Los datos registrados por los sensores pueden ser simulados u obtenidos experimentalmente. Luego, para la reconstrucción de imágenes fotoacústicas estos datos se invierten en el tiempo usando la función `kspaceFirstOrder2D` [27].

En el caso en que se utilicen datos experimentales, la reconstrucción de la imagen se realiza mediante la asignación de la presión variable en el tiempo registrada sobre la matriz de elementos sensores a `sensor.time_reversal_boundary_data`. Después, esta presión se impone en orden inverso en el tiempo, como una condición límite de Dirichlet variable en el tiempo sobre la máscara del sensor dada (`sensor.mask`). El cálculo comienza llamando a la función `kspaceFirstOrder2D` con las cuatro estructuras de entrada, así:

```
p0_recon = kspaceFirstOrder2D(kgrid, medium, source, sensor);
```

Donde `kgrid`, `medium`, `source` y `sensor` se definen como en las secciones anteriores. El valor de la distribución de presión inicial se debe establecer en cero `source.p0 = 0`. Además, cuando se utilizan las funciones de simulación de inversión de tiempo, la matriz de puntos de tiempo `kgrid.t_array` debe definirse explícitamente.

2.4.1. Interpolación de datos de sensor

En la reconstrucción convencional, como la que se muestra en el ejemplo de la **Figura 8 (a)**, los bordes de la imagen se aprecian borrosos y poco definidos. Esto se debe a las ondas salientes de cada posición discreta del sensor en la superficie de medición que interactúan con otras posiciones en las que también se aplica un valor de presión durante la inversión de tiempo. Sin embargo, esta interacción se puede evitar interpolando los datos registrados en una superficie de medición continua en lugar de una superficie de medición discreta dentro de la cuadrícula del espacio *k* utilizada para la reconstrucción, ver **Figura 8 (b)**, donde la interpolación agudiza

considerablemente los bordes de la reconstrucción y también mejora la magnitud mediante la corrección parcial de la apertura discontinua. Esto se puede lograr utilizando la función `interpCartData` y una máscara de sensor binaria de un arco continuo, ver **Figura 7 (b)**, la cual es espacialmente equivalente a una máscara o superficie de medición cartesiana original con posiciones discretas, ver **Figura 7 (a)**.

La función `interpCartData` se utiliza para interpolar los datos (eliminar los espacios) de una máscara de sensor cartesiana a una máscara binaria, es decir, toma la matriz de datos de series de tiempo registrados sobre un conjunto de puntos de sensores cartesianos dados por `makeCartCircle` y calcula la serie de tiempo equivalente en cada posición del sensor en la máscara del sensor binario `binary_sensor_mask` usando interpolación (algoritmo del vecino más cercano). Las propiedades de `binary_sensor_mask` están definidas por el objeto de la cuadrícula `kgrid`.

Es importante mencionar que, para generar la reconstrucción de la imagen a través de interpolación usando una máscara del sensor de un círculo continuo, primero se tiene que realizar la reconstrucción de la imagen convencional usando una máscara del sensor con posiciones discretas.

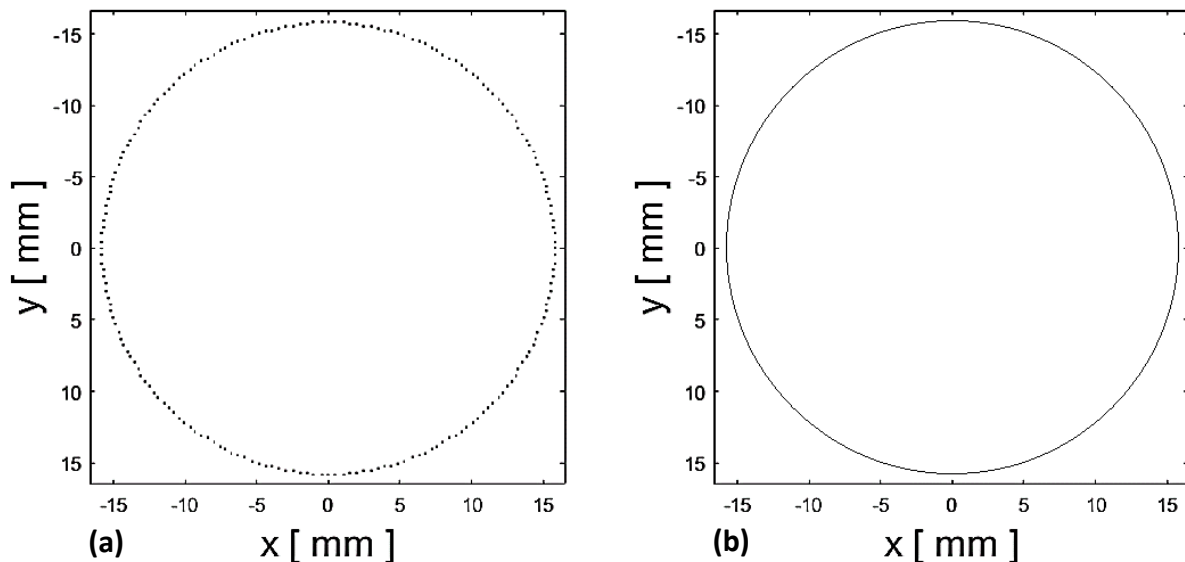


Figura 7. (a) Máscara del sensor con posiciones discretas. **(b)** Máscara del sensor de un círculo continuo a través de interpolación.

Para el trabajo presente, el conjunto de las funciones del toolbox *k-Wave* necesarias para realizar la reconstrucción de inversión de tiempo de la imagen PAT 2D a partir de las mediciones experimentales se presenta en el capítulo 3 en la sección “Código para reconstrucción de imagen 2D con inversión de tiempo”.

2.5. Aplicaciones del toolbox *k-Wave*

La aplicación de algunas de las funciones dentro del toolbox *k-Wave* se presenta a través de ejemplos de simulación y reconstrucción en las siguientes referencias:

En la referencia [28] se propone el uso del toolbox *k-Wave* como un modo de obtener simulaciones útiles para la enseñanza de acústica física. Con el fin de simplificar las simulaciones se incorpora una función que permite definir la estructura de lo que se desea simular a partir de construir una imagen. Se muestran ejemplos relacionados con fenómenos como reflexiones, interferencia, difracción y difusión.

En la referencia [5] se presenta un ejemplo de reconstrucción de imagen fotoacústica bidimensional con el algoritmo de inversión de tiempo que utiliza una imagen representativa de la vasculatura para simular la distribución de la presión inicial. En la **Figura 8 (a)** se presenta la reconstrucción convencional de la imagen utilizando una máscara del sensor con posiciones discretas. En la **Figura 8 (b)** se presenta la reconstrucción de la imagen empleando una máscara del sensor de un círculo continuo obtenida a través de la interpolación.

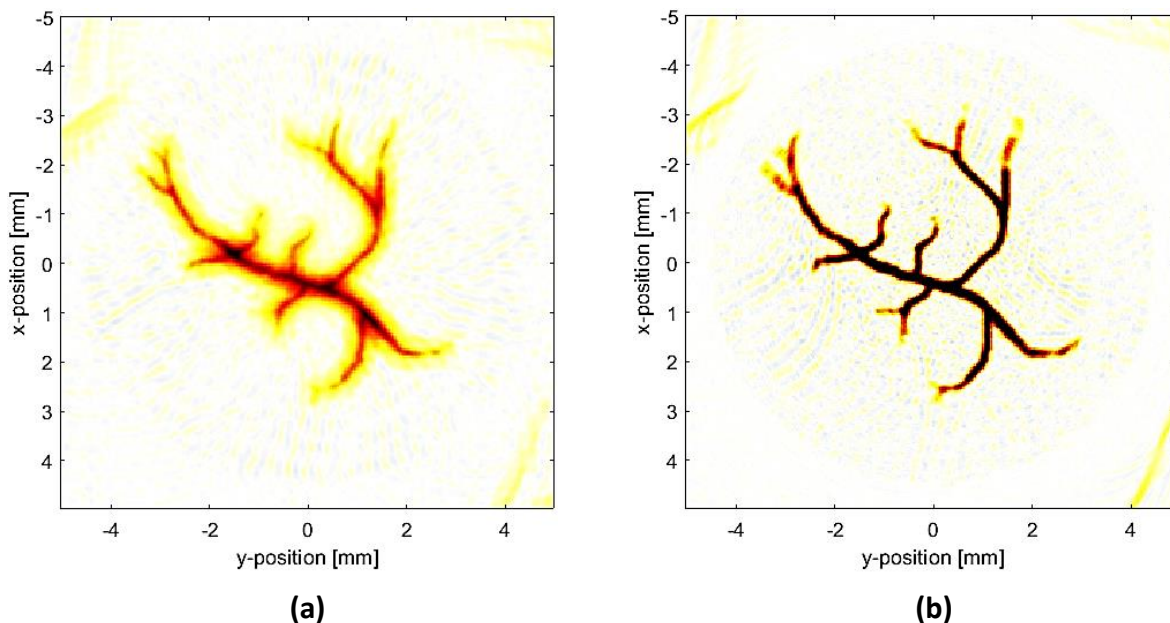
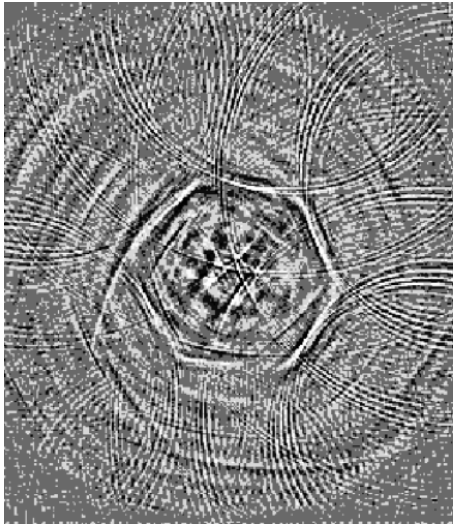
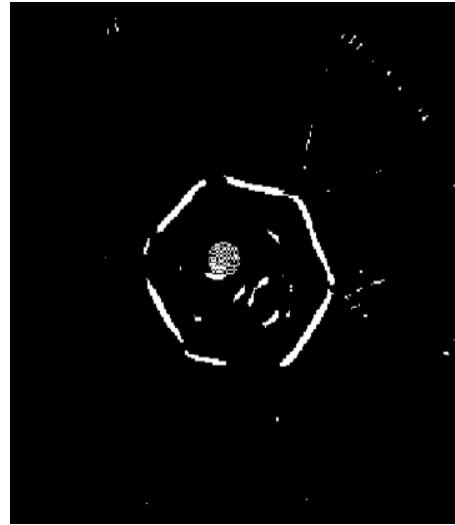


Figura 8. Ejemplo de reconstrucción de inversión de tiempo que utiliza una imagen representativa de la vasculatura para simular la distribución de la presión inicial. Adaptado de [5]. **(a)** Reconstrucción convencional de la imagen usando una máscara del sensor con posiciones discretas. **(b)** Reconstrucción de la imagen con inversión de tiempo usando una máscara del sensor de un círculo continuo después de interpolar los datos de medición.

En la referencia [29] se estudian las bases físicas de la reconstrucción de imágenes mediante PAT y se implementa un dispositivo que permite hacer un escaneo tomográfico mediante el efecto PA. En la **Figura 9** se muestra un ejemplo de una imagen PA bidimensional correspondiente a una sección transversal de un prisma hexagonal de acero.



(a)



(b)

Figura 9. Reconstrucción de una imagen fotoacústica bidimensional correspondiente a una sección transversal de un prisma hexagonal de acero [29]. **(a)** Imagen ecualizada. **(b)** Imagen binarizada.

3. Metodología

En este capítulo se describe: 1) el equipo necesario para el diseño del tomógrafo fotoacústico, 2) el desarrollo para establecer la comunicación entre cada uno de los elementos que componen el sistema para llevar a cabo su automatización, 3) el funcionamiento del tomógrafo para la adquisición de las señales fotoacústicas, y 4) las funciones para la reconstrucción de imágenes PAT 2D con el algoritmo de inversión de tiempo.

3.1. Diseño del tomógrafo fotoacústico

En la **Figura 10** se presenta el sistema experimental que fue diseñado para la adquisición de las señales fotoacústicas. La recolección de datos se realizó a través del modo de detección *forward*, ver **Tabla 1**.

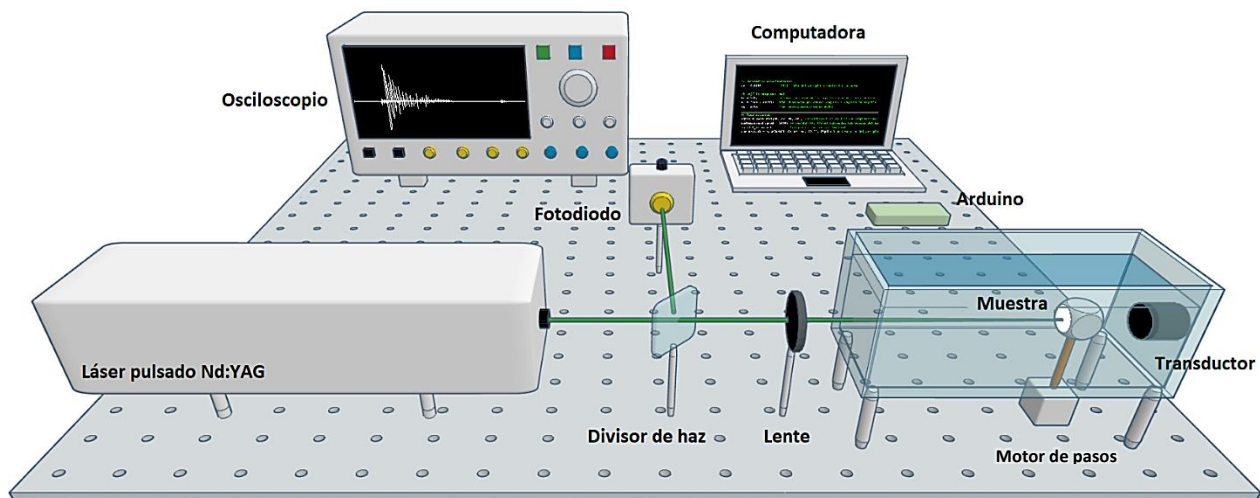


Figura 10. Esquema del sistema experimental utilizando el modo de detección *forward*. El láser irradia horizontalmente la superficie de la muestra. Las señales fotoacústicas son detectadas por un transductor de ultrasonido y son registradas en la computadora. Utilizando un motor la muestra rota en 200 pasos simulando un arreglo circular de transductores alrededor de la muestra. El sistema es controlado por un código de MATLAB. [Diseño de la imagen realizado en www.tinkercad.com].

El equipo necesario para el diseño del tomógrafo fotoacústico, ver **Figura 10**, consistió en: 1) un láser pulsado de Nd:YAG, 2) un osciloscopio digital, 3) un transductor de ultrasonido, 4) un fotodetector, 5) un motor de pasos Nema 17, 6) un controlador A4988, 7) una tarjeta *Arduino UNO*, 8) un módulo FT232RL, y 9) un contenedor para agua en el cual se sumerge la muestra. A continuación, se describen las características de cada uno de los componentes.

3.1.1. Láser pulsado Nd:YAG

El láser (acrónimo del inglés *light amplification by stimulated emission of radiation*) es un dispositivo que produce y amplifica un haz de luz intenso, aproximadamente monocromático, altamente coherente (tanto espacial como temporalmente), y altamente direccional. Un láser es capaz de aprovechar tres procesos fundamentales que ocurren cuando una onda electromagnética interactúa con un material: 1) la absorción óptica, 2) la emisión espontánea, y 3) la emisión estimulada. Además, un láser se compone de al menos tres elementos: 1) un medio activo (sólido, líquido o gaseoso) que puede amplificar la luz mediante el proceso de emisión estimulada, 2) una fuente de bombeo (lámpara, corriente eléctrica u otro láser) que crea una inversión de población en el medio activo, y 3) una cavidad óptica resonante compuesta por espejos que atrapan a la luz para que circule de un lado a otro. El haz láser es la fracción de la luz atrapada en la cavidad que escapa de uno de los espejos [30].

Los láseres se pueden clasificar en dos grupos dependiendo de su modo de operación: 1) los *láseres de onda continua* (CW) que emiten luz de manera continua, es decir, presentan un flujo constante de energía y la potencia del haz de salida sufre poco o ningún cambio con el tiempo, y 2) los *láseres pulsados* que emiten luz por periodos temporales de muy corta duración, la potencia del haz de salida cambia con el tiempo para producir un pulso óptico corto, normalmente con un patrón de repetición determinado y con una duración de pulso que oscila entre nanosegundos ($1 \text{ ns} = 10^{-9}$) y femtosegundos ($1 \text{ fs} = 10^{-15}$) [30]. El láser de Nd:YAG es un ejemplo típico de un láser pulsado de estado sólido (**N**eodymium: **Y**ttrium – **A**luminium – **G**arnet) cuyo medio activo es un cristal YAG dopado con neodimio trivalente. Este láser emite en el infrarrojo cercano, y de acuerdo con su sistema de bombeo, opera de manera pulsada cuando es excitado con lámparas de xenón.

En el sistema experimental empleado en este trabajo, se utilizó un láser de Nd:YAG *Quantel Brilliant b* (Q-Switched⁹) como fuente de iluminación, cuya longitud de onda de emisión característica es de 1064 nm, pero mediante el uso de módulos intercambiables puede generar longitudes de onda de 532, 355, 266 y 213 nm. La frecuencia de repetición del pulso es de 10 Hz y la duración del pulso es de 5 ns [31]. Además, este láser puede ser controlado directamente

⁹ El método *Q-Switching* permite obtener pulsos láser cortos (pero no ultracortos) de alta energía, cuya duración del pulso se encuentra en el rango de los nanosegundos.

desde una computadora a través del puerto serie RS 232 [32], ver **Figura 11**, lo cual nos permitió programar desde un código de MATLAB: la energía de los pulsos láser, y el encendido y apagado tanto de la lámpara como del Q-Switch del láser *Quantel Brilliant b*.

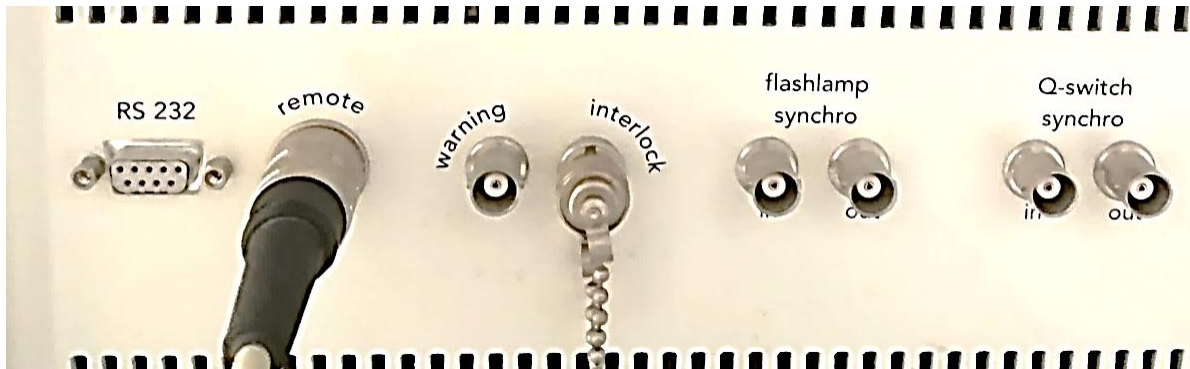


Figura 11. Panel frontal del gabinete del láser “Quantel Brilliant b” en el que se muestra el puerto serie RS 232.

3.1.2. Osciloscopio digital

El osciloscopio digital es un instrumento electrónico que muestra señales eléctricas de manera gráfica, las cuales son generadas en respuesta a determinados estímulos físicos como: sonido, tensión mecánica, presión, luz o calor.

En este trabajo se utilizó un *Tektronix DPO5204B Digital Phosphor Oscilloscope* [33], con un ancho de banda de 2 GHz y una velocidad de muestreo de 10 GS/s. Este osciloscopio tiene la capacidad de comunicarse con una computadora para facilitar la transmisión de datos. Además, dispone de cuatro canales analógicos para la adquisición de la información, de los cuales se utilizó uno para la conexión del fotodetector y otro para el transductor de ultrasonido.

3.1.3. Transductor de ultrasonido

El transductor es un dispositivo capaz de convertir una forma de energía en otra. En el caso de los transductores ultrasónicos, la energía mecánica (sonora) se convierte en energía eléctrica, y viceversa [20]. Los transductores de inmersión están diseñados para actuar como emisores y receptores de ultrasonidos en aplicaciones cuyos objetos de estudio están sumergidos en el agua de forma parcial o completa, de tal modo que estos transductores tienen carcasas selladas que les permiten sumergirse completamente. Además, su cara de detección tiene una impedancia adaptada al agua, por lo cual esta técnica de inmersión proporciona un medio de

acoplamiento acústico uniforme. Algunas de las aplicaciones de este tipo de transductores son: escaneos automatizados, medición del espesor en líneas de producción, detección de defectos o fallas a alta velocidad en tuberías, barras, tubos, placas, etc., procesamiento de imágenes basadas en el tiempo de vuelo y amplitud, análisis de transmisión directa, y análisis de materiales y mediciones de velocidad [34].

En este proyecto se utilizó un *Olympus Immersion Transducer A326S-SU* [35], el cual tiene una frecuencia central de 4.92 MHz y un ancho de banda de 2.57 MHz (en porcentaje¹⁰ 52.24%), ver **Figura 12 (b)**. Tiene un diámetro de 10 mm, una carcasa (estructura) estándar de acero inoxidable resistente a la corrosión y con un conector recto UHF, y cuenta con un blindaje electromagnético para mejorar las características de la relación señal-ruido [35]. Este transductor permitió la detección de las ondas acústicas que se propagaron a través de una muestra sumergida en el agua dentro de un contenedor.

En la **Figura 12 (a)** se presenta la señal de respuesta temporal del transductor cuando es iluminado directamente con un láser pulsado usando una longitud de onda de 532 nm y una energía de 0.5 mJ/pulso. En la **Figura 12 (b)** se presenta su respectiva respuesta de frecuencia, la cual se obtiene a través de la Transformada rápida de Fourier (FFT).

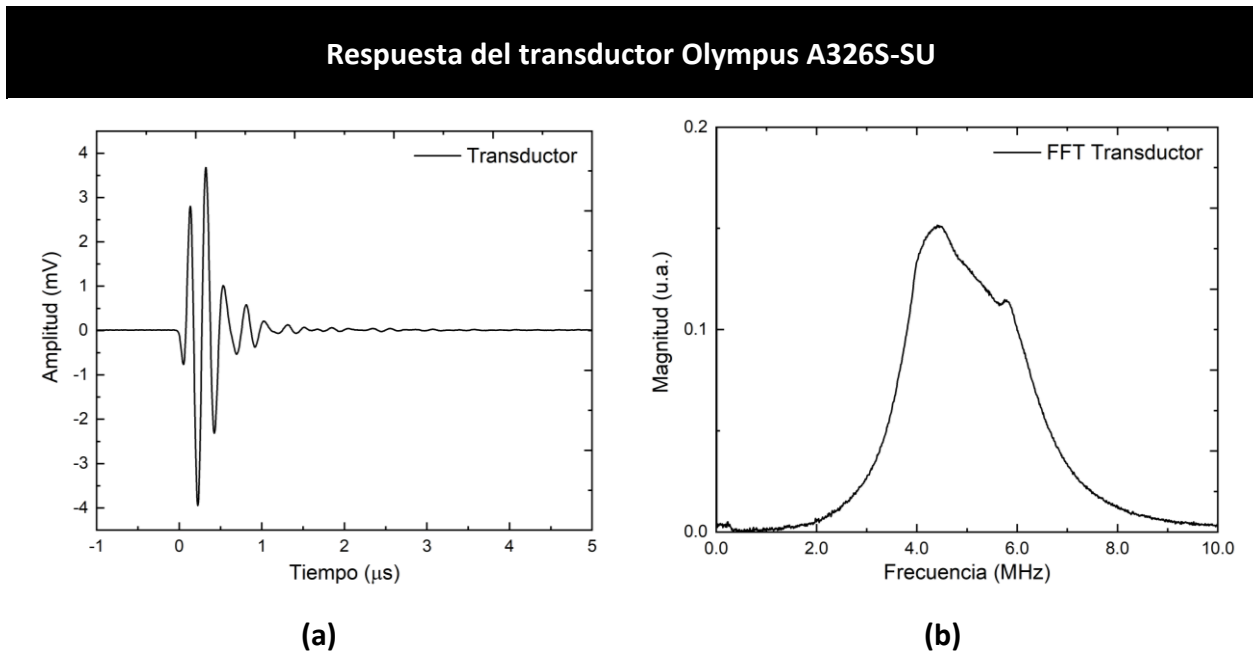


Figura 12. Respuesta del transductor cuando es iluminado directamente con un láser pulsado. **(a)** Señal de respuesta temporal promediada. **(b)** Respuesta de frecuencia usando la Transformada rápida de Fourier (FFT).

¹⁰ El valor del *ancho de banda en porcentaje* se calcula considerando el valor de *ancho de banda* = $f_s - f_i = 2.57$ MHz, donde la frecuencia superior es $f_s = 6.20$ MHz, la frecuencia inferior es $f_i = 3.63$ MHz, y la *frecuencia central* es $f_c = \frac{f_s + f_i}{2} = 4.92$ MHz, entonces: *ancho de banda en porcentaje* = $\frac{f_s - f_i}{f_c} \times 100\% = \frac{2.57 \text{ MHz}}{4.92 \text{ MHz}} \times 100\% = 52.24\%$.

3.1.4. Fotodetector

Un fotodetector es un dispositivo electrónico que puede utilizarse como detector de luz, y es capaz de generar una corriente eléctrica proporcional a la cantidad de iluminación que recibe. Su sensibilidad, a determinadas longitudes de onda, depende del material semiconductor (unión PN o estructura PIN) empleado en la composición del fotodiodo [36].

En este sistema experimental se utilizó un *Thorlabs PDA10A Silicon Amplified Detector* [37], el cual sirvió como mecanismo de disparo del osciloscopio (trigger óptico externo) para sincronizar en tiempo una señal de un pulso láser (detectada por el fotodetector) y una señal fotoacústica (detectada por el transductor de ultrasonido). Esto permitió observar señales PA promediadas de manera estable. El fotodetector incluye un fotodiodo PIN de material de silicio (Si) con polarización inversa, acoplado a un amplificador de transimpedancia de ganancia fija y empaquetado en una carcasa resistente. Tiene un tiempo de respuesta alto, un ancho de banda de señal pequeña de 150 MHz, una potencia equivalente de ruido (NEP) de $3.5 \times 10^{-11} \text{W}/\sqrt{\text{Hz}}$, una corriente de salida máxima de 100 mA, una corriente oscura de $\pm 10 \text{ mV}$, y un área activa de 0.8 mm^2 [37]. Además, está diseñado para detectar fuentes de luz pulsada y CW con una longitud de onda en el rango de 200 – 1100 nm, lo cual incluye a la fuente de luz láser pulsada de 532 nm empleada en este trabajo.

3.1.5. Motor de pasos Nema 17

El motor de pasos (stepper motor) es un dispositivo electromecánico que convierte una serie de impulsos eléctricos en desplazamientos angulares discretos, es decir, está diseñado para que su eje pueda girar una cantidad de grados realizando movimientos (pasos) muy pequeños, del mismo tamaño, y de gran precisión.

En este proyecto se empleó un motor de pasos modelo *Nema 17* [38]. Algunas de sus características técnicas son: es de tipo bipolar de 2 fases (cuenta con 4 cables de salida para controlar al motor), tiene un ángulo de paso de 1.8° (es decir, requiere de 200 pasos para completar una vuelta), es robusto, es compatible con las tarjetas Arduino, es muy preciso, y es uno de los motores más usados en las impresoras 3D. Tiene un peso de 350 gramos, un tamaño de $42 \text{ mm} \times 42 \text{ mm}$, un diámetro del eje de 5 mm, una corriente de bobinado de 1.2 A, un torque de 23 – 53 N · cm, y requiere de una alimentación de 12 V. Este motor de pasos se controló desde una tarjeta *Arduino UNO* usando un controlador *A4988*, y tuvo la función de rotar a la muestra de estudio en una vuelta completa con un paso de 1.8° a través de un eje de transmisión para barco, el cual se adaptó al motor usando un cople flexible. De esta manera, se detectó una señal PA por cada paso del motor como una solución para evitar un arreglo de varios sensores alrededor de la muestra.

3.1.6. Controlador A4988

Un controlador (driver) es capaz de simplificar el manejo de un motor de pasos bipolar desde una tarjeta Arduino, pues permite manejar el alto voltaje e intensidad de corriente que requiere el motor, limita la corriente que circula por el motor, y proporciona protección contra sobreintensidad, cortocircuito, sobretensión, y sobrecalentamiento para que no se dañe la electrónica. Para su control solo requiere de dos salidas digitales: 1) para indicar el sentido de giro, y 2) para indicar que el motor avance un paso. Además, el controlador permite realizar la técnica *microstepping* con la cual se consiguen pasos más pequeños dividiendo el paso normal del motor. El controlador puede alcanzar altas temperaturas durante su funcionamiento, por lo cual es necesario un disipador de calor de aluminio para que el dispositivo no se dañe. Se puede trabajar con una intensidad máxima de 2 A y una tensión máxima de 35 V.

En este trabajo se empleó un *Driver A4988* [39], con el propósito de controlar un motor de pasos Nema 17 a través de una tarjeta *Arduino UNO*, y cuyas instrucciones del programa para ejecutar el movimiento del motor se controlaron desde un código de MATLAB.

3.1.7. Tarjeta Arduino UNO

El proyecto Arduino nació en el año 2003, en el Interaction Design Institute de Ivrea en Italia, como una herramienta para la creación rápida de prototipos, y dirigida a estudiantes sin experiencia en electrónica y programación. Arduino es una plataforma electrónica de código abierto (cualquier persona lo puede copiar o modificar libremente) basada en hardware y software fáciles de usar, y se utiliza especialmente para construir dispositivos de bajo costo que interactúen con su entorno para controlar objetos mediante el uso de sensores y actuadores [40]. Una tarjeta Arduino consiste en una placa electrónica con pequeños componentes, tales como microcontroladores, memorias y terminales (pines) llamados puertos de entrada y salida, los cuales permiten enviar y recibir datos. La tarjeta puede leer entradas (luz sobre un sensor o un dedo en un botón) y convertirlo en una salida (activar un motor o encender un LED). Para realizar las diversas funciones, se envía un conjunto de instrucciones al microcontrolador de la tarjeta, y para esto se emplea su propio lenguaje de programación Arduino y su propio software Arduino (IDE). Además, el software Arduino es multiplataforma, por lo que es compatible con varios sistemas operativos (Mac OS, Windows y Linux), y su entorno de programación es simple y claro. Los diseños de las tarjetas Arduino usan diversos microcontroladores y microprocesadores, y se programan mediante una computadora usando comunicación serial.

En este proyecto se utilizó una tarjeta *Arduino UNO*, a la cual se le cargó un programa para controlar los movimientos de un motor de pasos *Nema 17* desde una computadora, por lo que también se requirió de un controlador *A4988*.

3.1.8. Módulo FT232RL

El módulo *FT232RL* es un adaptador que permite establecer la comunicación de una computadora con la UART¹¹ de innumerables dispositivos (los cuales utilizan el puerto serie para comunicarse: microcontroladores, tarjetas Arduino, módulos WiFi) a través del puerto USB. Este adaptador tiene la función de convertir una señal de USB a UART (USB-TTL), es decir, proporciona conectividad USB a dispositivos con interfaz UART. Además, cuenta con seis pines macho para llevar a cabo la comunicación, y una de sus ventajas es que es compatible con sistemas electrónicos que funcionan con 3.3 o 5 V, ya que se puede seleccionar el voltaje de las señales del módulo mediante un jumper.

En este trabajo se utilizó un adaptador *USB Mini a TTL FT232RL* [41], como interfaz para establecer la comunicación entre una computadora con conector USB Tipo A y un láser pulsado de Nd:YAG con conector RS232 (DE-9F), para lo cual también se utilizó un convertidor Max3232.

3.1.9. Contenedor para agua

El contenedor para agua se construyó con la finalidad de obtener un buen acoplamiento acústico entre la muestra y el área de detección del transductor de ultrasonido cuando se sumergen en agua, ver **Figura 13**. Para esto se usó una pecera de acrílico cuyas dimensiones son 23 cm × 11 cm × 13 cm, y se utilizó un mototool con brocas punta diamante para realizarle dos perforaciones:

- 1) En la base de la pecera (1 cm de diámetro): para fijar la parte externa de un eje de transmisión para barco, el cual permite rotar a la muestra dentro de la pecera a través de su eje interno.
- 2) En la cara frontal (1.5 cm de diámetro): para fijar el transductor, procurando que el área de detección se mantenga en contacto con el medio dentro de la pecera (agua), y así disminuir la diferencia de impedancia acústica¹² entre la muestra y el sensor.

¹¹ La *UART* (Universal Asynchronous Receiver-Transmitter) se define como un protocolo de comunicación que permite la transmisión de datos en serie entre dos dispositivos. El sistema UART emplea dos líneas de datos para la comunicación: 1) una para transmitir (pin digital Tx), y 2) una para recibir (pin digital Rx).

¹² Para evitar que las ondas sonoras sufran atenuación se utiliza un medio que ayude a disminuir la diferencia de *impedancia acústica* entre la muestra a estudiar y el cabezal del transductor de ultrasonido. Esta es la función del agua que se deposita en la pecera, lo cual permite que las ondas acústicas se propaguen con la energía necesaria para visualizar una señal (sin emplear un amplificador). De otra manera, la transferencia de energía acústica solo por el aire produciría que un alto porcentaje de las ondas no fueran detectadas por el sensor.

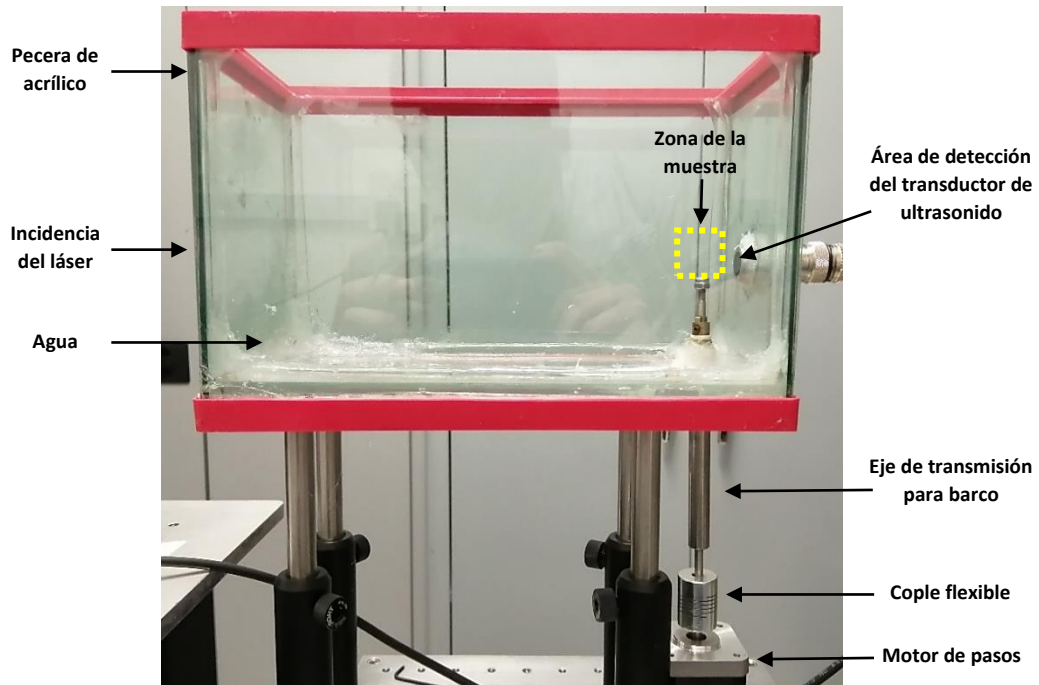


Figura 13. Contenedor para agua con una perforación en la base (para fijar la parte externa del eje de transmisión para barco) y una perforación en la cara frontal derecha (para fijar el transductor de ultrasonido).

La separación entre la perforación en la base y la cara frontal de la pecera es de 2 cm aproximadamente. Por otro lado, para fijar el transductor y el eje de transmisión, y evitar fugas de agua a través de las dos perforaciones, se utilizó el sellador *Sista F109 Uso General 100% silicón acético* formulado para sellar y reparar superficies lisas y peceras. Finalmente, la pecera fue pintada en la parte exterior con pintura en aerosol *Aero Comex Negro Mate* para reducir las reflexiones de la luz láser que salen del contenedor durante las mediciones.

3.2. Automatización del sistema experimental

En esta sección se presenta de manera desglosada la comunicación de los instrumentos principales del sistema experimental mostrado en la **Figura 10**, lo cual permite la automatización para la adquisición de las señales fotoacústicas.

En el esquema de la **Figura 14**, se representa el sistema de control encabezado por una computadora con un código de MATLAB, lo que permite controlar de manera independiente y conjunta a los instrumentos principales a través de los elementos secundarios respectivos, los cuales son necesarios para establecer la comunicación entre: 1) la computadora y el láser pulsado, 2) la computadora y el osciloscopio digital, y 3) la computadora y el motor de pasos. Este sistema de comunicación permite controlar la emisión y energía de los pulsos del láser pulsado, las características de visualización y adquisición de las señales mostradas en el osciloscopio, y los movimientos del motor de pasos.

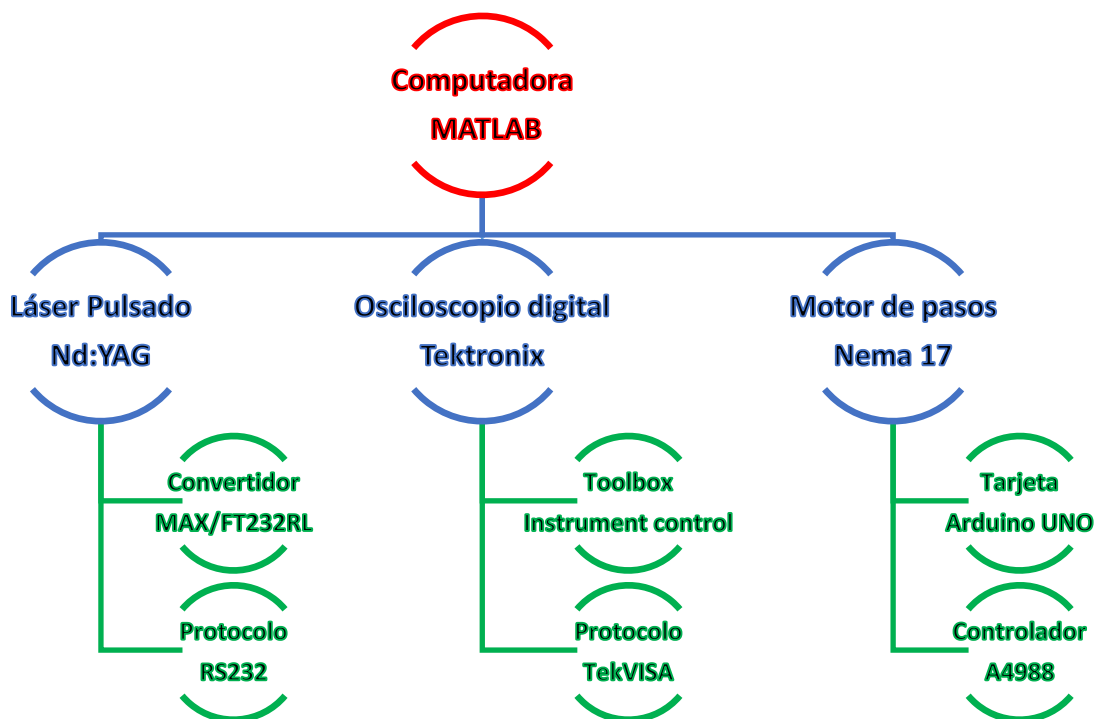


Figura 14. Esquema que representa el sistema de control del tomógrafo fotoacústico con los elementos necesarios para establecer la comunicación entre la computadora con el láser pulsado, el osciloscopio digital y el motor de pasos.

3.2.1. Comunicación: computadora-láser pulsado

La comunicación entre la computadora y el láser pulsado de Nd:YAG se llevó a cabo mediante el protocolo RS232, lo que permitió controlar el láser a través de instrucciones específicas establecidas en el manual de usuario del láser *Quantel Brilliant b* en la sección “III.3.F. The RS232 Protocol” [32].

Para la conexión entre la computadora portátil y el láser pulsado se utilizó un cable con conectores DE-9M – DE-9F¹³. De acuerdo con la **Figura 15**, el conector DE-9M se conectó al puerto serie RS 232 del gabinete del láser, ver **Figura 11**, y el conector DE-9F se conectó a un convertidor *Max3232* (DE-9M a TTL). Posteriormente, se realizó la conexión de los pines del convertidor *Max3232* (Tx, Rx, Vcc, Gnd) a los pines del módulo *FT232RL* (Rx, Tx, Vcc, Gnd), considerando que Tx del convertidor *Max3232* se conecta a Rx del módulo *FT232RL*, y Rx del convertidor *Max3232* se conecta a Tx del módulo *FT232RL*. Finalmente, se usó un cable con conectores USB Mini – USB Tipo A. El conector USB Mini se conectó al módulo *FT232RL* y el conector USB Tipo A se conectó a un puerto USB de la computadora.

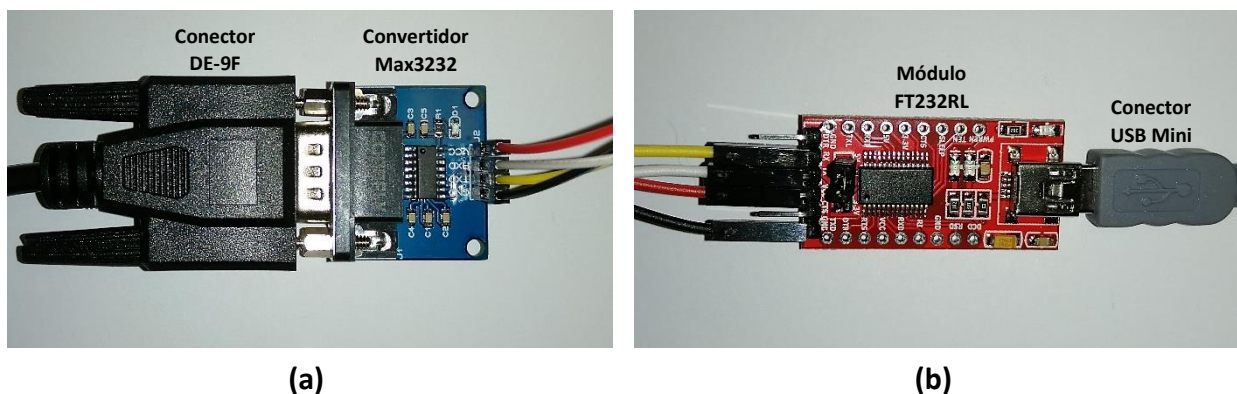


Figura 15. (a) Convertidor Max3232 y (b) Módulo FT232RL.

Además, para establecer la comunicación entre la computadora y el láser pulsado a través del protocolo RS232 también se tuvieron que satisfacer los siguientes parámetros indicados por el manual de usuario del láser [32]: una velocidad de comunicación serial de 9600 bps, con 8 bits de datos, con 1 bit de parada, y sin un bit de paridad.

¹³ El “sistema de identificación” de los conectores utilizado por la compañía Cannon, hace uso del prefijo “D” para todas las series, seguido por la letra que indica el tamaño de la carcasa (A, B, C, D, E), seguido por el número de contactos (pines u orificios) que tiene el conector (9, 15, 25, 37, 50), y seguido por la letra que indica el sexo del conector (M = male o F = female).

En la **Tabla 5** se presentan los comandos, la descripción, y los mensajes de respuesta requeridos para controlar y configurar los parámetros del láser pulsado desde un código de MATLAB. Las respuestas de los comandos también se pueden verificar a través del Monitor Serie de Arduino IDE.

Comando	Descripción	Respuesta
X	Verifica la comunicación entre la computadora y el software del láser.	BRILLIANT_2.40
A	Inicia los disparos de la lámpara con la frecuencia predeterminada en el modo interno.	“fire_auto”
S	Detiene los disparos de la lámpara en el modo interno o externo.	“standby”
W480	Establece el retardo del Q-Switch o la energía de los pulsos láser.	“delay__480_us”
CC	Inicia la emisión láser Q-Switch en el modo de lámpara interno y Q-Switch interno.	“fire_auto__qs”
CS	Detiene la emisión láser Q-Switch en el modo de lámpara interno y Q-Switch interno.	“fire_auto”
OP	Inicia la emisión láser Q-Switch de un solo pulso en el modo de lámpara interno y Q-Switch interno.	“fire_auto__qs”

Tabla 5. Descripción y respuesta de los comandos para programar los parámetros de la lámpara y el Q-Switch del láser “Brilliant b” a través del puerto serie.

3.2.2. Comunicación: computadora-osciloscopio digital

La comunicación entre la computadora y el osciloscopio digital *Tektronix* se estableció a través del protocolo de comunicación *Tektronix VISA Resource Manager v4.0.4.2* (TekVISA¹⁴) [42], y del conjunto de funciones específicas que se encuentran en la guía de usuario del toolbox *Instrument Control* de MATLAB en la sección “14-26 Quick-Control Oscilloscope Functions” [43].

El osciloscopio digital *Tektronix DPO5204B* es un instrumento compatible para trabajar con el toolbox *Instrument Control* de MATLAB. Esta caja de herramientas se conecta al instrumento a través de controladores como IVI y VXIplug&play, o a través de comandos sobre protocolos de comunicación de uso común como GPIB, VISA, TCP/IP y UDP, lo cual permite controlar, leer, y adquirir datos del equipo de prueba para su análisis y visualización [43].

Para la conexión entre la computadora y el osciloscopio digital solo se utilizó un cable Ethernet. La comunicación entre ambos dispositivos se habilita una vez que la computadora reconoce al osciloscopio mediante su identificador `'TCPIP::10.1.14.98::INSTR'` en la ventana *OpenChoice Instrument Manager* de *VISA Resource Manager*, cuyo icono amarillo se localiza en la barra de tareas de Windows en la esquina inferior derecha de la pantalla [44]. Posteriormente, se consigue ejecutar una serie de instrucciones a través del código principal de MATLAB para establecer la comunicación entre los dos equipos, modificar la configuración básica del osciloscopio, y adquirir los datos de la señal que se muestra en el osciloscopio para presentarla inmediatamente en el entorno de MATLAB.

Las funciones básicas del toolbox *Instrument Control* que se utilizaron desde el código principal para el funcionamiento del tomógrafo se presentan en la **Tabla 6** [43].

Función	Descripción
connect	Conecta el objeto del dispositivo (osciloscopio) al instrumento.
oscilloscope	Crea el objeto del osciloscopio.
readWaveform	Devuelve las señales que se muestran en la pantalla del osciloscopio, correspondientes a los canales habilitados.

¹⁴ TekVISA es la implementación de Tektronix de VISA (Virtual Instrument Standard Architecture), un protocolo de comunicación estándar de la industria.

resources	Recupera una lista de recursos (identificadores) de instrumentos disponibles para las interfaces de control.
disableChannel	Deshabilita los canales del osciloscopio.
enableChannel	Habilita los canales del osciloscopio desde los cuales se recuperarán las señales.
AcquisitionTime	Establece el valor del tiempo de adquisición, es decir, el tiempo total mostrado en la pantalla del osciloscopio.
disconnect	Desconecta el objeto del dispositivo (osciloscopio) del instrumento. Cierra la conexión.

Tabla 6. Funciones del toolbox *Instrument Control* de MATLAB [43], para establecer la comunicación entre los dispositivos, configurar los parámetros del osciloscopio, y adquirir los datos de la señal que se muestra en el osciloscopio digital.

Algunos parámetros del osciloscopio fueron establecidos manualmente, tales como: la escala de voltaje, la escala de tiempo, la posición horizontal, el nivel de disparo (trigger level), el número de promedios, y la frecuencia de muestreo. Además, a partir de las funciones de la **Tabla 6** y otras instrucciones complementarias, fue posible generar y guardar en la computadora un archivo de datos de una señal cualquiera visualizada en el osciloscopio digital.

3.2.3. Comunicación: computadora-motor de pasos

La comunicación entre la computadora y el motor de pasos *Nema 17* se consiguió utilizando una tarjeta *Arduino UNO* a la cual se le cargó un programa desde el entorno de desarrollo integrado de *Arduino* (*Arduino IDE* [45]). Posteriormente, el movimiento del motor se ejecutó llamando el programa de la tarjeta *Arduino* desde el programa principal de *MATLAB* para el funcionamiento del tomógrafo.

Para un control óptimo del torque del motor de pasos se requirió del controlador *A4988*, el cual permitió manejar el alto voltaje e intensidad de corriente que requiere el motor, ver **Figura 16**. La parte izquierda del módulo con controlador *A4988* corresponde a pines de control, mientras que la parte derecha corresponde a pines para la alimentación y la conexión del motor. Además, se colocó un disipador de aluminio sobre el controlador para evitar posibles daños por calentamiento.

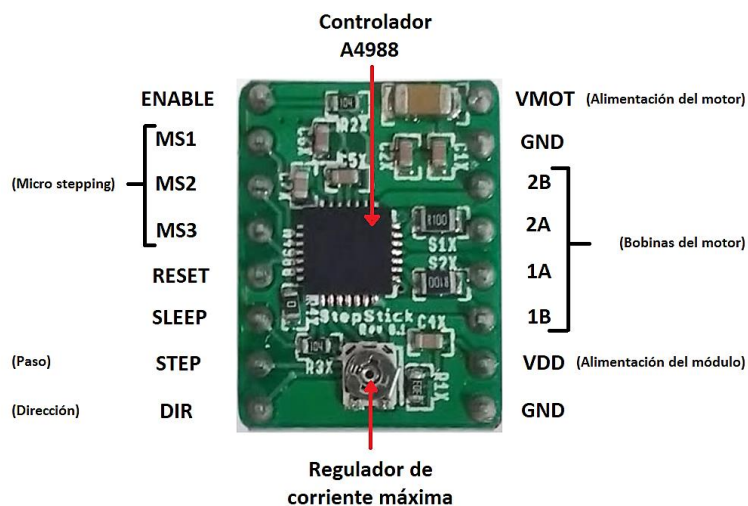


Figura 16. Módulo con controlador *A4988*.

El circuito electrónico de conexión para el funcionamiento del motor de pasos *Nema 17* usando la tarjeta *Arduino UNO* se desarrolló en una placa protoboard, el cual se presenta en la **Figura 17**. Es importante mencionar que para alimentar a la tarjeta *Arduino* desde la computadora se utilizó un cable con conectores *USB Tipo A – USB Tipo B*, mientras que para alimentar el módulo con controlador *A4988* se utilizó una fuente de alimentación externa de *12 V a 2 A* con el propósito de tener un adecuado suministro de corriente para energizar las bobinas del motor de pasos. Sin embargo, la corriente consumida por el motor de pasos se limitó mediante el regulador de corriente máxima del módulo con controlador *A4988* a *1.5 A*.

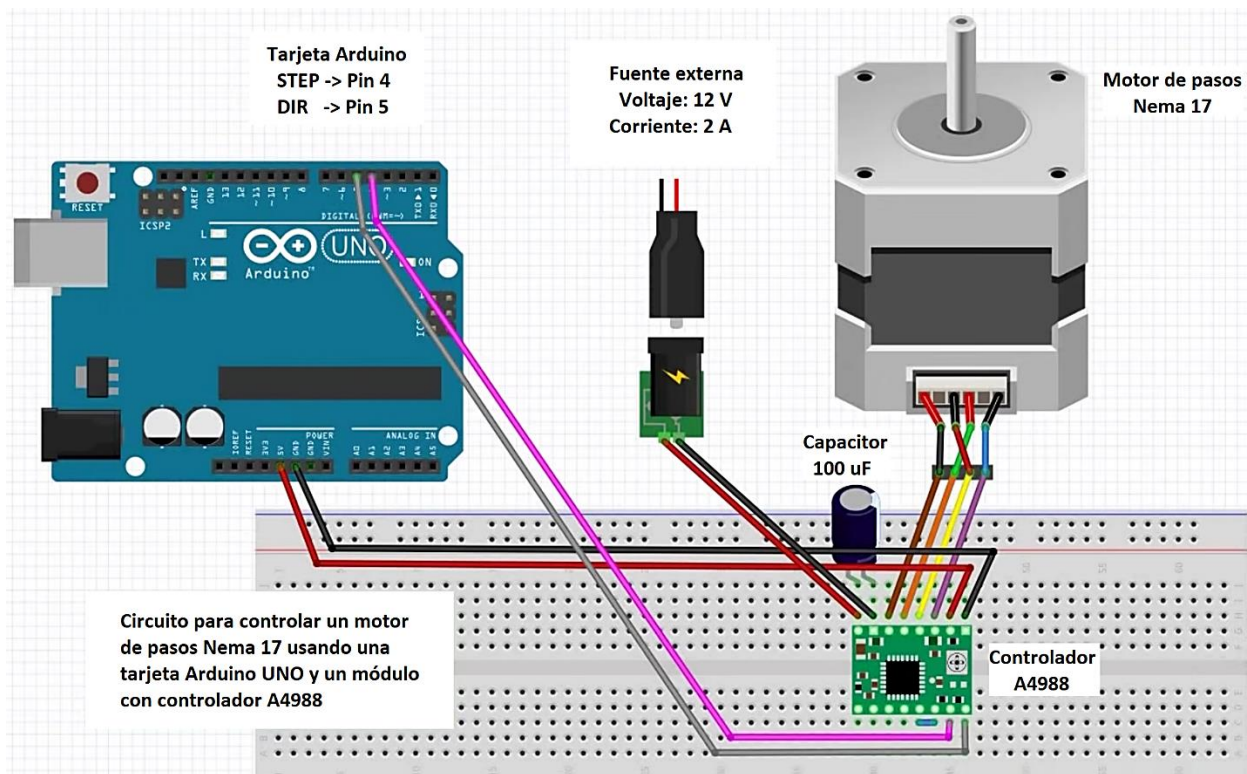


Figura 17. Circuito electrónico para controlar el motor de pasos Nema 17 utilizando una tarjeta Arduino UNO y un controlador A4988.

Las conexiones entre el módulo con controlador A4988, la tarjeta *Arduino UNO* y el motor de pasos Nema 17 fueron las siguientes:

- 1) Los pines GND y VMOT del módulo (para alimentar al motor) se conectan a una fuente de alimentación externa de 12 V. Además, un capacitor electrolítico de 100 μ F se conecta en paralelo con la misma fuente de alimentación.
- 2) Los pines 2B, 2A, 1A, 1B del módulo se conectan a las conexiones de las dos bobinas del motor de pasos bipolar.
- 3) Los pines GND y VDD del módulo (para alimentar al módulo) se conectan a GND y 5 V de la tarjeta Arduino, respectivamente.
- 4) El pin STEP del módulo (para realizar el paso del motor) se conecta al pin digital 4 de la tarjeta Arduino.
- 5) El pin DIR del módulo (para establecer el sentido de giro del eje del motor) se conecta al pin digital 5 de la tarjeta Arduino.
- 6) Los pines RESET y SLEEP del módulo se conectan mediante un mismo cable (un puente) para inhabilitar sus funciones.
- 7) El pin ENABLE (para habilitar al controlador) y los pines MS1, MS2 y MS3 (para realizar micro stepping) se encuentran desconectados.

El código utilizado para modular el movimiento del motor de pasos que se cargó en la tarjeta *Arduino UNO* se presenta a continuación.

```
// CÓDIGO DE ARDUINO PARA MODULAR EL MOVIMIENTO DEL MOTOR DE PASOS

const int dirPin = 5;           //Pin 5 para DIR
const int stepPin = 4;         //Pin 4 para STEP
const int steps = 1;
int stepDelay;

void setup() {
  Serial.begin(115200);
  pinMode(dirPin, OUTPUT);     //Pin 5 como salida
  pinMode(stepPin, OUTPUT);    //Pin 4 como salida
  digitalWrite(dirPin, HIGH);  //Sentido de giro del motor
  stepDelay = 1000;           //Tiempo de pausa en ms
}

void loop() {
  if(Serial.available() > 0) { //Verifica la comunicación
    char c = Serial.read();    //Guarda el dato en 'c'
    switch(c) {
      case 'O':
        Serial.println("Enciende Motor");
        for (int x = 0; x < steps; x++) { //Paso de 1.8°, 200 pasos = 360°
          digitalWrite(stepPin, HIGH);    //Ejecución un paso (nivel alto)
          delay(stepDelay);               //Pausa de 1000 ms
          digitalWrite(stepPin, LOW);     //Ejecución un paso (nivel bajo)
          delay(stepDelay);               //Pausa de 1000 ms
        }
        break;
      case 'F':
        Serial.println("Apaga Motor");
        digitalWrite(stepPin, LOW);      //Deshabilita el motor
        break;
      default:
        break;
    }
  }
}
```

3.3. Adquisición de señales fotoacústicas

En las secciones anteriores de este capítulo se describe el equipo y las conexiones necesarias para establecer la comunicación entre los instrumentos principales del sistema

experimental, el cual se muestra en la **Figura 10**. Esto permite que se lleve a cabo la adquisición de las señales PA de forma automatizada a través del modo de detección *forward*.

La adquisición de las señales PA se inició ejecutando el código de MATLAB de la siguiente sección “**Código para adquisición de señales fotoacústicas**”, pero previamente a la medición se realizaron los siguientes pasos:

- 1) El osciloscopio se configuró para que las señales se visualizaran con una amplitud de 1 mV/div, una escala de tiempo de 10 μ s/div (de 10 divisiones mostradas en pantalla), y se capturaron 20,000 S, dando como resultado una frecuencia de muestreo de 200 MS/s.
- 2) El osciloscopio se configuró para que las señales se visualizaron con un número de 40 promedios, con la finalidad de reducir el ruido en cada una de las posiciones.
- 3) La muestra se pegó sobre el extremo superior del eje de transmisión dentro del contenedor usando una pistola de silicón caliente, ver **Figura 18**.
- 4) El contenedor se llenó con agua hasta cierta altura para que la muestra se encontrara totalmente inmersa.
- 5) La energía/pulso del láser pulsado con una longitud de onda de 532 nm se estableció con un valor que depende de cada una de las muestras estudiadas.
- 6) La trayectoria del láser, el eje de rotación y la posición del transductor de ultrasonido se alinearon sobre el mismo eje de la incidencia láser.

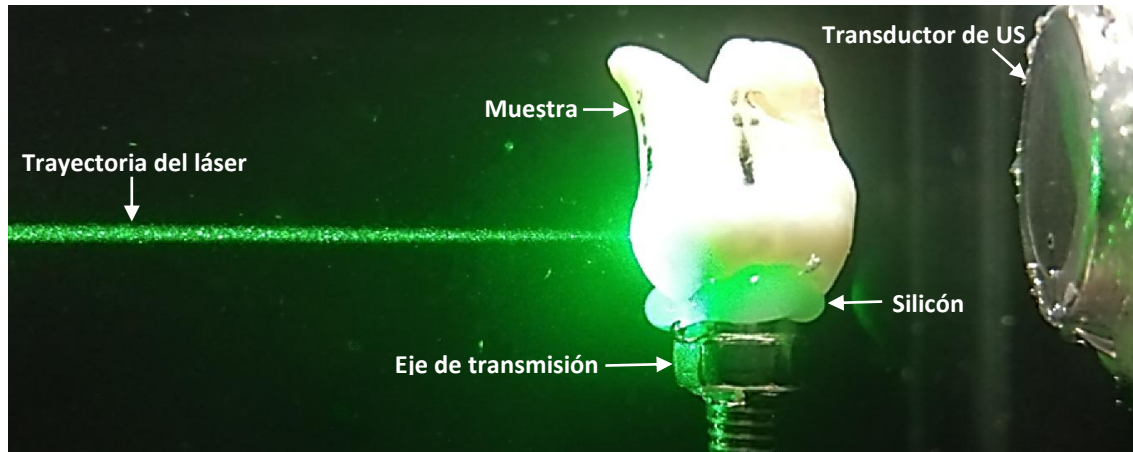


Figura 18. La muestra se encuentra sumergida en agua. La trayectoria del láser y el transductor de ultrasonido se mantuvieron fijos cuando la muestra rota. [Fotografía tomada con un smartphone].

Durante la ejecución del código de MATLAB se hace incidir un conjunto de pulsos láser sobre la muestra, ver **Figura 18**. La energía absorbida por el material conduce a una variación de presión en la zona iluminada, generando así una fuente acústica. Inmediatamente, el sonido que viaja hacia adelante se propaga a través de la muestra, y al salir de ella se propaga por el medio (agua) hasta llegar al transductor de ultrasonido. La señal promediada se puede visualizar en el osciloscopio digital y los datos son transferidos a la computadora para digitalizar las señales y

generar un archivo de datos. Luego, se hace girar a la muestra con un paso de 1.8° a través del eje del motor de pasos, y de esta manera se termina el primer ciclo. El proceso anterior se repite hasta que el motor hace girar a la muestra 360° , es decir, después de completar 200 ciclos.

El propósito de hacer girar a la muestra sobre el mismo plano de medición y detectar las señales utilizando un único sensor para conseguir un escaneo completo, se realizó para simular un arreglo circular de n sensores físicos localizados alrededor de la muestra. Al finalizar la ejecución del código de MATLAB, se almacenaron 200 documentos de texto (.txt) en la computadora, los cuales corresponden a cada una de las señales PA promediadas y obtenidas en cada paso del motor de pasos.

Es importante mencionar que la incidencia del pulso láser y la detección de la señal PA se sincronizaron usando un fotodetector (trigger óptico externo), es decir, el fotodetector detecta el pulso láser inmediatamente después de que el láser se dispara hacia la muestra, y manda una señal al osciloscopio (canal 1) para comenzar a medir el tiempo hasta que se detecta la señal PA (canal 2). Además, el haz láser se puede incidir sobre la muestra directamente, se puede enfocar o se puede guiar con una fibra óptica. Sin embargo, para el desarrollo de este estudio se decidió enfocar el láser con una lente plano – convexa de 40 cm de distancia focal. Además, también se utilizó un diafragma para procurar que el spot del láser fuera lo más pequeño y limpio posible.

El ciclo de funcionamiento básico del tomógrafo en conjunto con la automatización y la adquisición de las señales PA se representa en el esquema de la **Figura 19**.



Figura 19. Esquema que representa el ciclo básico para la adquisición de las 200 señales fotoacústicas.

3.3.1. Código para adquisición de señales fotoacústicas

El código de MATLAB utilizado para la adquisición de las señales fotoacústicas correspondientes a los 200 pasos del motor de pasos, se presenta a continuación.

```
%% CÓDIGO DE MATLAB PARA LA ADQUISICIÓN DE LAS SEÑALES FOTOACÚSTICAS

clear, close, clc

%% COMUNICACIÓN COMPUTADORA-LASER PULSADO
laser = serial('COM5'); %Crea objeto del LASER
set(laser, 'BaudRate', 9600); %Establece velocidad comunicación serial
fopen(laser); %Abre comunicación MATLAB-LASER
%Parámetros del láser pulsado
fprintf(laser, 'A'); %Inicia disparos de flashlamp
pause(12); %Tiempo para dar 80 disparos de la lámpara
fprintf(laser, 'W360'); %Establece energía del pulso láser

%% COMUNICACIÓN COMPUTADORA-MOTOR DE PASOS
motor = serial('COM7'); %Crea objeto del MOTOR
set(motor, 'BaudRate', 115200); %Establece velocidad comunicación serial
fopen(motor); %Abre comunicación MATLAB-ARDUINO

%% COMUNICACIÓN COMPUTADORA-OSCILOSCOPIO DIGITAL
myScope = oscilloscope(); %Crea objeto del OSCILOSCOPIO
availableResources = resources(myScope); %Lista instrumentos
set(myScope, 'Resource', 'TCPIP::10.1.14.98::INSTR'); %Identificador
connect(myScope); %Abre comunicación MATLAB-OSCILOSCOPIO
%Parámetros del osciloscopio digital
disableChannel(myScope, 'CH1'); %Deshabilita canal 1
enableChannel(myScope, 'CH2'); %Habilita canal 2
ts = 0.0001; %Tiempo de adquisición
myScope.AcquisitionTime = ts; %Establece el tiempo de adquisición

%% INICIO DE MEDICIONES
NumeroArchivos = 200; %Número de mediciones en una vuelta

for i = 1:NumeroArchivos
    fprintf(laser, 'CC'); %Inicia disparos de Q-Switch
    pause(6); %Tiempo para promediar señal
    waveformArray = readWaveform(myScope, 'acquisition', false); %Lee señal
    pause(1); %Tiempo de espera [s]
    N=length(waveformArray); %Longitud del vector
    t1= ts/N; %Tiempo de muestreo
    t = 0:t1:(N-1)*t1; %Vector de tiempo
    D = [t' waveformArray']; %Matriz de datos almacenados
    archivos = sprintf('Muestra(n)_fecha_%d.txt', i); %Archivos numerados
    datos = array2table(D, 'VariableNames', {'Tiempo', 'Voltaje'}); %Encabezado
    writetable(datos, archivos); %Tabla en archivo numerado
    plot(t, waveformArray); xlabel('Tiempo'); ylabel('Voltaje'); %Gráfica
```

```

    pause(1);
    fprintf(laser, 'CS');
    pause(1);
    fprintf(motor, 'O');
    pause(1);
    i
end

%% CIERRE DE COMUNICACIONES
fprintf(laser, 'S');
fclose(laser);
disconnect(myScope);
clear myScope;
fclose(motor);

%Tiempo de espera [s]
%Detiene disparos de Q-Switch
%Tiempo de espera [s]
%Activa movimiento del MOTOR
%Tiempo de espera [s]
%Contador de mediciones

%Detiene disparos de flashlamp
%Cierra comunicación MATLAB-LASER
%Cierra comunicación MATLAB-OSCILOSCOPIO
%Borra objeto del OSCILOSCOPIO
%Cierra comunicación MATLAB-ARDUINO

```

3.4. Reconstrucción de imagen 2D con inversión de tiempo

En este trabajo, la reconstrucción de la imagen PAT 2D se obtuvo utilizando los 200 archivos de datos experimentales (obtenidos con el “**Código para adquisición de señales fotoacústicas**”) correspondientes a cada uno de los giros del eje del motor de pasos.

La reconstrucción de la imagen PAT se generó a través de un *problema inverso*, específicamente con un algoritmo de inversión de tiempo. El problema directo consiste en obtener un conjunto de señales fotoacústicas a partir de la incidencia de un haz láser en un material absorbente, mientras que el problema inverso consiste en encontrar el origen (fuentes de presión inicial) de tales señales fotoacústicas.

En la siguiente sección se presenta el “**Código para reconstrucción de imagen 2D con inversión de tiempo**”, en el cual se ejecutan las funciones del toolbox *k-Wave* de MATLAB para realizar la reconstrucción de la imagen a través del algoritmo de inversión de tiempo del campo de ondas fotoacústicas bidimensional, para lo cual se considera que las 200 señales fueron registradas sobre una matriz circular de elementos sensores. Finalmente, se obtiene como resultado la reconstrucción de la imagen correspondiente a la sección transversal de la muestra estudiada usando una máscara del sensor con posiciones discretas y empleando una máscara del sensor de un círculo continuo obtenida a través de interpolación.

Las imágenes reconstruidas fueron nombradas con los parámetros utilizados en el código de MATLAB para la reconstrucción de la imagen con inversión de tiempo. Ejemplo: BarcoPLA_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0001_rf6000_vs1060. Donde BarcoPLA es la muestra estudiada, 5e-9 es el tiempo de muestreo, Nx1024 es la resolución de cuadrícula, 0.0158 es el radio del arreglo de sensores, ri0001 es el recorte inicial, rf6000 es el recorte final, y vs1060 es la velocidad del sonido.

3.4.1. Código para reconstrucción de imagen 2D con inversión de tiempo

El código de MATLAB utilizado para la reconstrucción de la imagen PAT 2D a partir de los datos registrados por el transductor de ultrasonido con las mediciones experimentales, se presenta a continuación.

```
%% CÓDIGO DE MATLAB PARA LA RECONSTRUCCIÓN DE IMÁGEN PAT 2D

clearvars, close all, clc

%% LECTURA DE LOS ARCHIVOS DE DATOS
nm = 200; %Número de mediciones durante la tomografía
r = 1; %Renglón donde comienza la lectura de datos
c = 1; %Columna donde comienza la lectura de datos
ri = 1; %Recorte inicial de los datos
rf = 5500; %Recorte final de los datos
Di = LeerCSV(nm, r, c, ri, rf); %Matriz de datos experimentales
Nt = numel(Di(1,:)); %Número de elementos en el vector temporal
dt = 5e-9; %Tiempo de muestreo [s] (dt = 1/f)
t = 0: dt: (Nt-1)*dt; %Vector temporal
PML_size = 2; %Tamaño de la capa perfectamente adaptada

%% ARREGLO DE SENSORES (sensor)
sensor_radius = 0.0158; %Radio del arreglo circular de sensores [m]
sensor_angle = 2*pi; %Ángulo del arreglo circular de sensores [rad]
sensor_pos = [0, 0]; %Posición del arreglo circular de sensores [m]
num_sensor_points = 200; %Número de sensores del arreglo circular
cart_sensor_mask = makeCartCircle(sensor_radius, num_sensor_points,
...sensor_pos, sensor_angle);
sensor.mask = cart_sensor_mask; %Objeto del arreglo circular de sensores

%% CUADRÍCULA COMPUTACIONAL (kgrid)
Nx = 1024 - 2*PML_size; %Número de puntos de cuadrícula en dirección x
x = 2*sensor_radius + sensor_radius/10; %Longitud de cuadrícula en dir x [m]
dx = x/Nx; %Separación entre puntos en dirección x [m]
kgrid = kWaveGrid(Nx, dx, Nx, dx); %Objeto de la cuadrícula computacional
kgrid.t_array = t; %Matriz de puntos de tiempo

%% MEDIO DE PROPAGACIÓN (medium)
medium.sound_speed = 1320; %Vel sonido en el medio de propagación [m/s]

%% FUENTE ACÚSTICA (source)
source.p0 = 0; %Distribución de presión inicial igual a cero

%% EJECUCIÓN DE LA RECONSTRUCCIÓN
%Suavizado de la matriz de distribución de presión inicial
Di = smooth(Di, true);
%Asignación de los datos de inversión de tiempo
```

```

sensor.time_reversal_boundary_data = Di;
%Opciones de entrada
input_args = {'Smooth', true, 'PMLInside', false, 'PlotPML', true};
%Ejecución de la reconstrucción de la imagen con inversión de tiempo
p0_recon = kspaceFirstOrder2D(kgrid, medium, source, sensor, input_args{:});

%% INTERPOLACIÓN
%Máscara de sensor binario de un círculo continuo
sensor_radius_grid_points = round(sensor_radius / kgrid.dx);
binary_sensor_mask = makeCircle(kgrid.Nx, kgrid.Ny, kgrid.Nx/2 + 1, kgrid.Ny/2
...+ 1, sensor_radius_grid_points, sensor_angle);
sensor.mask = binary_sensor_mask; %Asignación de la estructura del sensor
%Interpolación de datos para eliminar espacios
sensor.time_reversal_boundary_data = interpCartData(kgrid, Di,
...cart_sensor_mask, binary_sensor_mask);
source.p0 = 0; %Distribución de presión inicial = a cero
%Ejecución de la reconstrucción de la imagen con inversión de tiempo
p0_recon_interp = kspaceFirstOrder2D(kgrid, medium, source, sensor,
...input_args{:});

%% GRÁFICA DE LA PRIMERA SEÑAL FOTOACÚSTICA
figure; %Figura 1
plot(t*1000000, Di(1,:)*1000,'k','linewidth',0.5)
set(gca,'FontSize',10)
xlabel('Tiempo [ \mus ]','FontSize',15)
ylabel('Amplitud [ mV ]','FontSize',15)

%% GRÁFICA DE TODAS LAS SEÑALES FOTOACÚSTICAS
figure; %Figura 2
plot(t*1000000, Di*1000,'linewidth',0.6)
set(gca,'FontSize',10)
xlabel('Tiempo [ \mus ]','FontSize',15)
ylabel('Amplitud [ mV ]','FontSize',15)

%% VISUALIZACIÓN DE LA RECONSTRUCCIÓN CONVENCIONAL
figure; %Figura 3
imagesc(kgrid.y_vec*1e3, kgrid.x_vec*1e3, p0_recon);
set(gca,'FontSize',15)
colormap(getColorMap);
ylabel('y [ mm ]','FontSize',20);
xlabel('x [ mm ]','FontSize',20);
axis image;
colormap('gray'); %Mapa de color

%% VISUALIZACIÓN DE LA RECONSTRUCCIÓN INTERPOLADA
figure; %Figura 4
imagesc(kgrid.y_vec*1e3, kgrid.x_vec*1e3, p0_recon_interp);
set(gca,'FontSize',15)
colormap(getColorMap);
ylabel('y [ mm ]','FontSize',20);
xlabel('x [ mm ]','FontSize',20);
axis image;
colormap('gray'); %Mapa de color

```

4. Resultados

En esta sección se presentan los resultados del procesamiento de las señales fotoacústicas usando el toolbox *k-Wave* para la reconstrucción de imágenes PAT 2D de una pieza de polímero (PLA¹⁵) y muestras biológicas de tejido duro dental (muelas humanas). Las imágenes reconstruidas a través del algoritmo de inversión de tiempo correspondieron a una sección transversal de las muestras, y se obtuvieron a partir del conjunto de las señales fotoacústicas adquiridas con el sistema de tomografía automatizado, para lo cual se usaron los dos códigos presentados en el capítulo 3 “Metodología”.

4.1. Imágenes de pruebas preliminares: pieza de PLA

Para los experimentos iniciales de este proyecto se trabajó con muestras no biológicas. Estas muestras fueron piezas de polímero (PLA) que se diseñaron con diferentes tamaños, densidades y geometrías, con la finalidad de obtener las primeras imágenes PAT con el sistema experimental, e identificar la energía/fluencia de láser pulsado que no dañara a la superficie de las muestras de estudio. Todas las piezas de polímero (PLA) se diseñaron y se imprimieron en una impresora 3D con una densidad de relleno del 100% y cuyo diámetro de la boquilla del extrusor correspondió a 0.4 mm. A continuación, se presentan los resultados de una de las pruebas preliminares antes de trabajar con muestras biológicas de tejido dental.

4.1.1. Barco

Este diseño con forma de barco, ver **Figura 20**, se realizó para verificar que el toolbox *k-Wave* es capaz de reconstruir una imagen de una muestra sólida, en la cual se puedan identificar los bordes de una figura a distancias diferentes de su centro de simetría. Por esta razón, se diseñó una figura con una base hexagonal cuya primera mitad tenía un radio de 2 cm y la segunda mitad tenía un radio de 1 cm con respecto a su eje de simetría, y con un espesor de 2 cm. Tal como se presentó en la **Figura 18** la muestra se colocó dentro del contenedor, y el láser incidió sobre el mismo plano de medición mientras el motor hacía girar a la muestra sobre su eje de rotación.

¹⁵ El PLA (ácido poliláctico) es un polímero termoplástico que se utiliza ampliamente en la impresión 3D en el proceso de *modelado por deposición fundida*, el cual es empleado para prototipos y producción a pequeña escala.

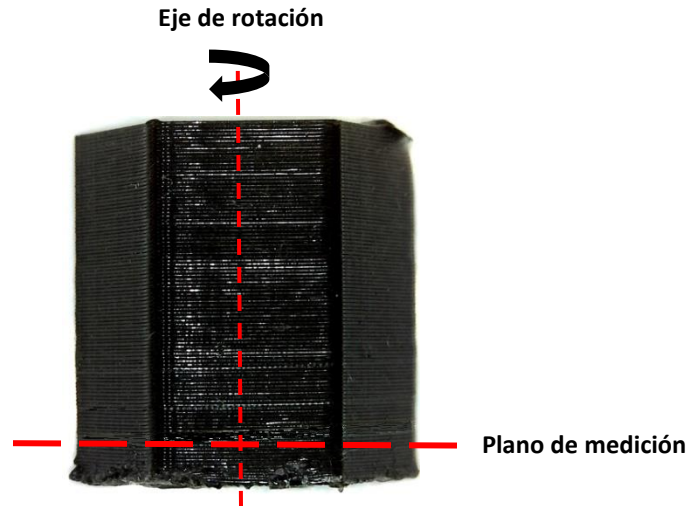


Figura 20. Pieza de polímero (PLA) con forma de barco (hexágono con dos radios diferentes). Vista frontal.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la adquisición de las señales fotoacústicas se presentan en la **Tabla 7**.

Parámetros para la adquisición de señales PA	
Núm. de pasos	200 pasos/vuelta
Energía	1.8 mJ/pulso (425 μ s) ¹⁶
Radio del spot del láser	0.05 cm
Fluencia	229.2 mJ/cm ²

Tabla 7. Pieza de polímero (PLA) con forma de barco.

En la **Figura 21** se presenta la gráfica de las señales fotoacústicas promediadas obtenidas en cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

¹⁶ Este valor corresponde al *FL-QS Dly* del láser pulsado, el cual indica el tiempo de retardo (μ s) entre la señal de disparo de la lámpara de flash y la señal del Q-Switch. Además, equivale a la energía de los pulsos láser y se puede ajustar manualmente desde el control remoto o desde un código a través del puerto serie RS 232.

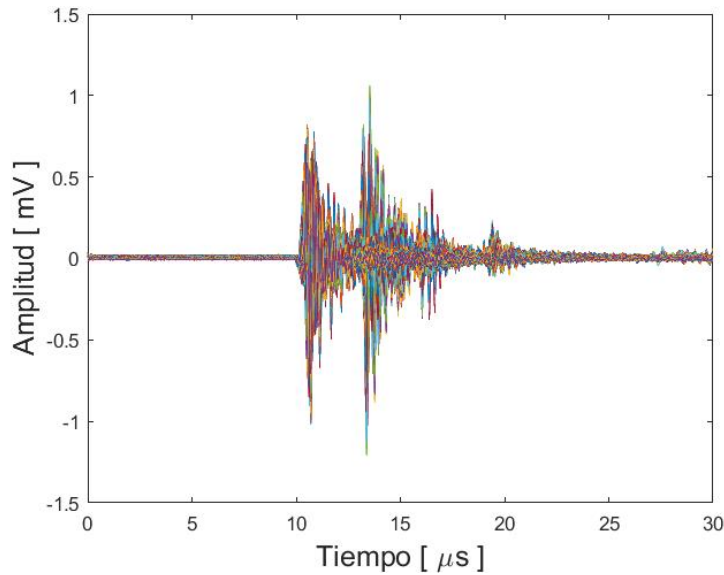


Figura 21. Pieza de polímero (PLA) con forma de barco. Señales fotoacústicas promediadas correspondientes a cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la reconstrucción de la imagen usando el toolbox *k-Wave* se presentan en la **Tabla 8**.

Parámetros para la reconstrucción de la imagen	
Núm. de mediciones	200
Recorte inicial	0001
Recorte final	6000
Radio del arreglo de sensores	0.0158 m
Frecuencia de muestreo	200 MS/s
Resolución de cuadrícula	1024 puntos
Velocidad del sonido	1060 m/s

Tabla 8. Pieza de polímero (PLA) con forma de barco.

A continuación, se muestra la reconstrucción de inversión de tiempo de la imagen correspondiente a una sección transversal de la pieza de polímero (PLA) con forma de barco. En la **Figura 22 (a)** se presenta la reconstrucción convencional empleando una máscara del sensor con posiciones discretas, y en la **Figura 22 (b)** se presenta la reconstrucción utilizando una máscara del sensor de un círculo continuo obtenida a través de la interpolación.

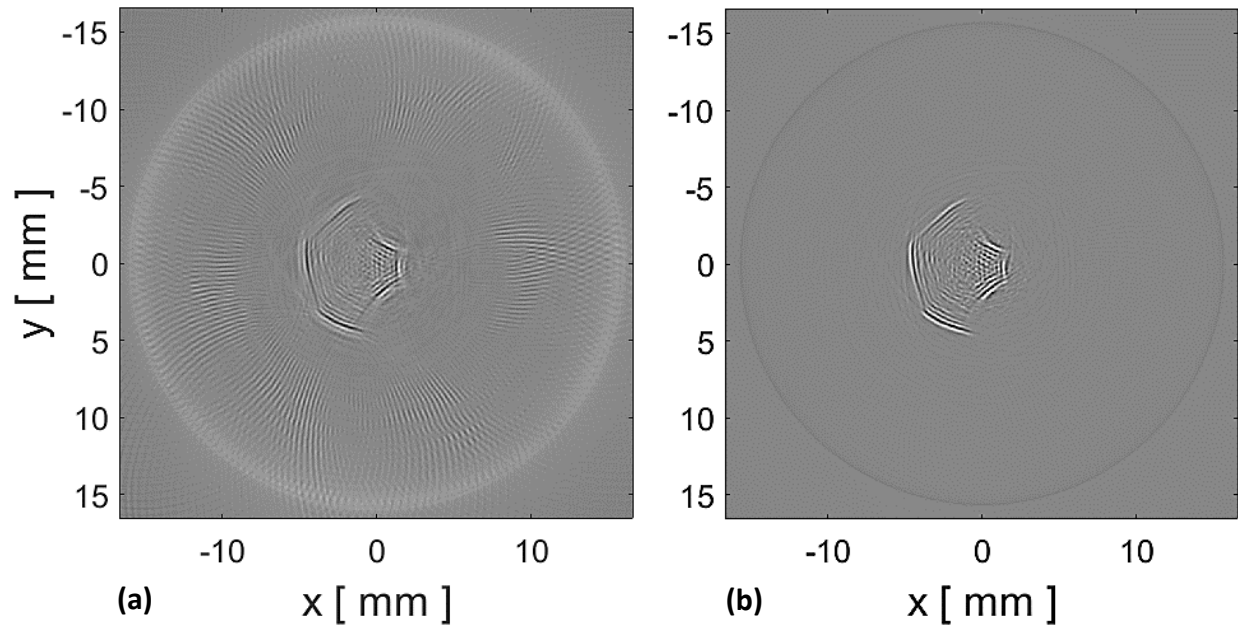


Figura 22. Reconstrucción de la imagen de una sección transversal de una pieza de polímero (PLA) con forma de barco usando el toolbox k-Wave. **(a)** Reconstrucción convencional usando una máscara del sensor discreta. **(b)** Reconstrucción usando una máscara del sensor interpolada. [Parámetros para la reconstrucción: BarcoPLA_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0001_rf6000_vs1060].

En la **Figura 23 (b)** se realizó una amplificación de la **Figura 22 (b)** para apreciarla mejor, y en la **Figura 23 (c)** se presenta la imagen PAT binarizada para compararla con la micrografía óptica de la sección transversal de la pieza real.

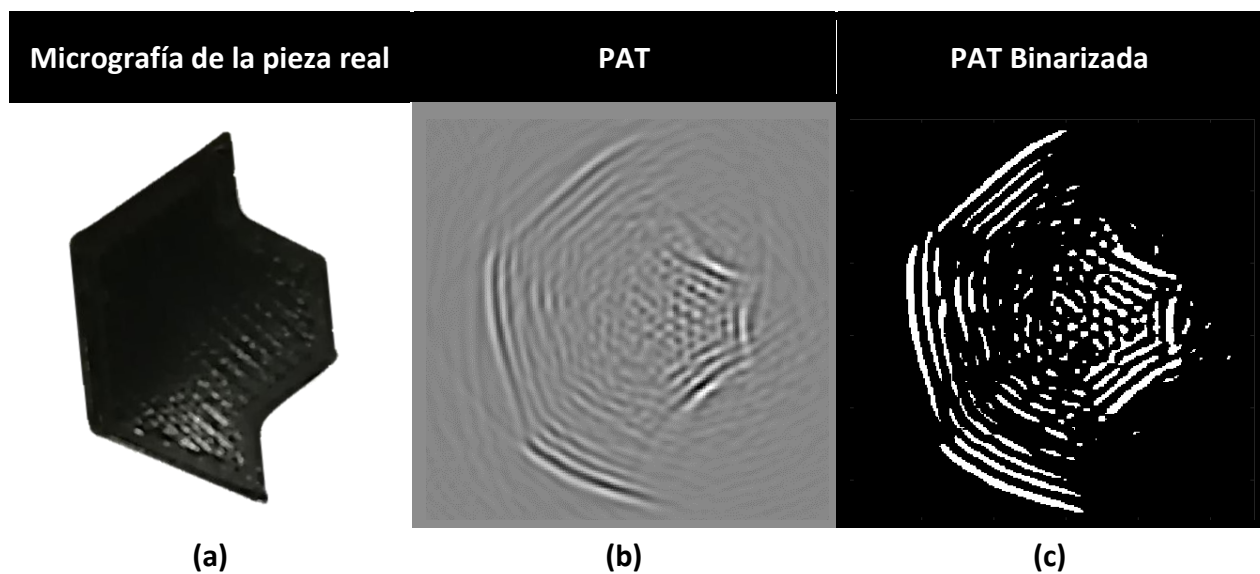


Figura 23. Pieza de polímero (PLA) con forma de barco. **(a)** Micrografía óptica de la pieza real (vista superior). **(b)** Imagen PAT reconstruida con una máscara del sensor interpolada. **(c)** Imagen PAT Binarizada.

4.2. Imágenes de tejido duro: muelas humanas

La mayor parte de los estudios actuales de la PAT se centran en la reconstrucción de imágenes de tejido blando, por lo que en este trabajo aplicamos por primera vez el toolbox *k-Wave* en la reconstrucción de imágenes 2D de tejido duro, específicamente se obtuvieron imágenes de la sección transversal de la corona de muelas humanas.

En este estudio se trabajó con un total de 11 muestras para obtener su imagen PAT 2D. Las muestras correspondieron a sujetos diferentes y se les identificó con el ID: Muela (n). De acuerdo con sus características, en esta sección solo se seleccionaron aquellas muestras más representativas y con mejor nitidez: Muela 4, Muela 5 y Muela 11.

Para todas las muestras se obtuvo una micrografía, es decir, fueron fotografiadas con un *Microscopio Digital eFlex (75x/300x)* sobre un papel milimétrico: 1) antes de ser medidas para conocer su estado inicial y sus dimensiones, y 2) después de ser medidas para observar un posible daño provocado por la iluminación láser.

Las mediciones se realizaron considerando que la ubicación de la incidencia del haz láser sobre la superficie de las muelas se localizara en un plano horizontal, aproximadamente a media altura de la corona, ver **Figura 3**, de esta manera se aseguró que la onda acústica detectada viajara a través del esmalte y la dentina. Después de terminar las mediciones, las muelas se cortaron transversalmente con un disco de diamante a lo largo de la dirección de la incidencia del haz láser, es decir, se realizaron cortes coronarios. Posteriormente, los cortes de las muestras también fueron fotografiados con el microscopio digital, esto con la finalidad de comparar las micrografías con las imágenes PAT 2D obtenidas sobre el mismo plano de medición. Además, las micrografías revelaron las dimensiones y los contornos reales de las capas internas de las muelas.

4.2.1. Criterios de inclusión y exclusión

Las mediciones que se realizaron con muestras de tejido duro corresponden a muelas de pacientes del HGM, las cuales fueron extraídas de pacientes con problemas de salud bucal. Estas muestras fueron proporcionadas por el Servicio de Estomatología del HGM y se clasificaron de acuerdo con el tiempo después de su extracción. Se les llamó “frescas” a las que se midieron antes de las primeras 2 horas después de su extracción, y “no frescas” a las que se midieron después de 24 horas después de su extracción. Los criterios de inclusión y exclusión que se consideraron para elegir a las muestras de estudio se presentan en la **Tabla 9**.

Variable	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Muestras	molares: primer molar, segundo molar, tercer molar	premolares, caninos, incisivos
Características	naturales, “sanas”, completas, grandes, con cavidades pequeñas, con pocas resinas, frescas, no frescas	artificiales, pequeñas, metálicas, partidas, sin amalgama en zona de estudio
Edad (paciente)	adultos, adultos mayores	niños
Sexo (paciente)	indistinto	ninguno

Tabla 9. Criterios de inclusión y exclusión de las muestras estudiadas.

De acuerdo con la **Tabla 9**, uno de los criterios de exclusión es que la muestra no posea una amalgama¹⁷ en la zona en la que se ilumina con el láser de 532 nm, ya que este material tiene un coeficiente de absorción muy superior con respecto a los componentes naturales de la muela (esmalte y dentina). Al tener diferentes coeficientes de absorción en una misma muestra, las señales PA presentaron amplitudes tan variables (con mucho mayor amplitud en la zona de mejor absorción) que la imagen reconstruida se distorsionó totalmente.

Las muestras dentales “no frescas” se almacenaron en refrigeración a 4 °C en solución salina (suero al 0.9% de NaCl) para ayudar a preservar las propiedades mecánicas del tejido dental y evitar grietas por deshidratación.

4.2.2. Muela 4

En este caso, se realizó una medición iluminando a la Muela 4 de manera directa sin usar ningún tipo de recubrimiento, y posteriormente se realizó otra medición de la misma muestra bajo las mismas condiciones del sistema experimental usando un recubrimiento de pintura en aerosol *Aero Comex Negro Mate* sobre toda su superficie.

¹⁷ La *amalgama* es un material utilizado en odontología para restaurar las cavidades que aparecen como consecuencia de las caries, y el cual resulta de la aleación de plata con metales como mercurio, cobre, zinc, plata, estaño u oro.

4.2.2.1. Medición sin recubrimiento

La Muela 4 no presentó ninguna alteración visible en la zona de iluminación. Una micrografía óptica se presenta en la **Figura 24**. La muestra correspondió a un tercer molar superior, cuyo diámetro de la corona fue de 1.29 cm.

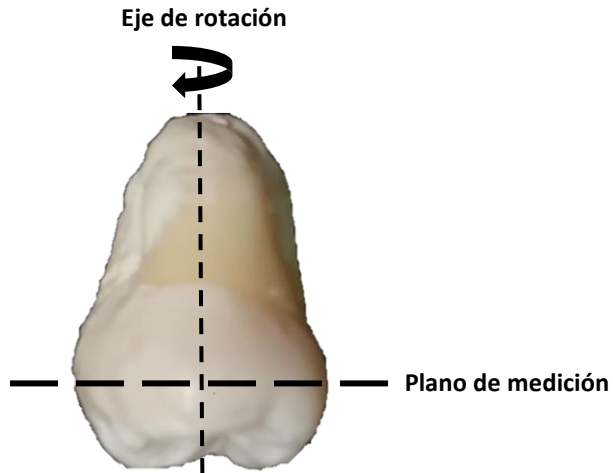


Figura 24. Muela 4 "sin recubrimiento". Vista frontal.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la adquisición de las señales fotoacústicas se presentan en la **Tabla 10**.

Parámetros para la adquisición de señales PA	
Núm. de pasos	200 pasos/vuelta
Energía	17.6 mJ/pulso (360 μ s)
Radio del spot del láser	0.05 cm
Fluencia	2240.9 mJ/cm ²

Tabla 10. Muela 4 "sin recubrimiento".

En la **Figura 25** se presenta la gráfica de las señales fotoacústicas promediadas obtenidas en cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

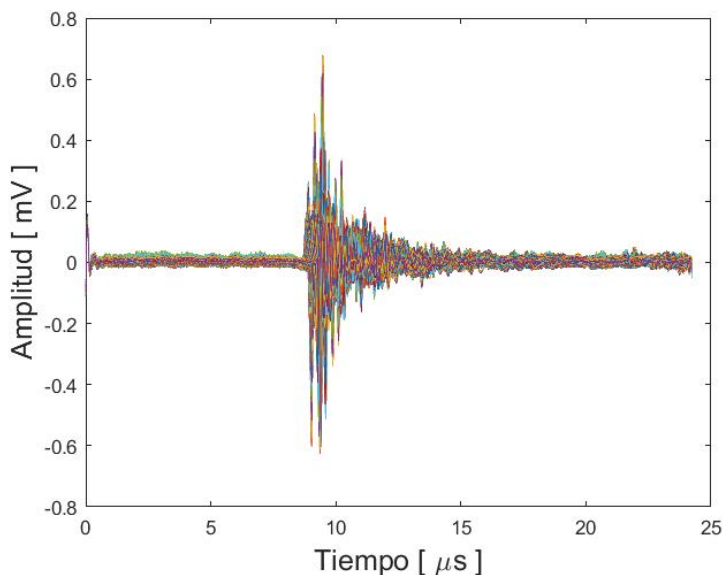


Figura 25. Muela 4 "sin recubrimiento". Señales fotoacústicas promediadas correspondientes a cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la reconstrucción de la imagen usando el toolbox *k-Wave* se presentan en la **Tabla 11**.

Parámetros para la reconstrucción de la imagen	
Núm. de mediciones	200
Recorte inicial	0055
Recorte final	4900
Radio del arreglo de sensores	0.0158 m
Frecuencia de muestreo	200 MS/s
Resolución de cuadrícula	1024 puntos
Velocidad del sonido	1320 m/s

Tabla 11. Muela 4 "sin recubrimiento".

A continuación, se muestra la reconstrucción de inversión de tiempo de la imagen correspondiente a una sección transversal de la Muela 4 sin recubrimiento. En la **Figura 26 (a)** se presenta la reconstrucción convencional empleando una máscara del sensor con posiciones discretas, y en la **Figura 26 (b)** se presenta la reconstrucción utilizando una máscara del sensor de un círculo continuo obtenida a través de la interpolación.

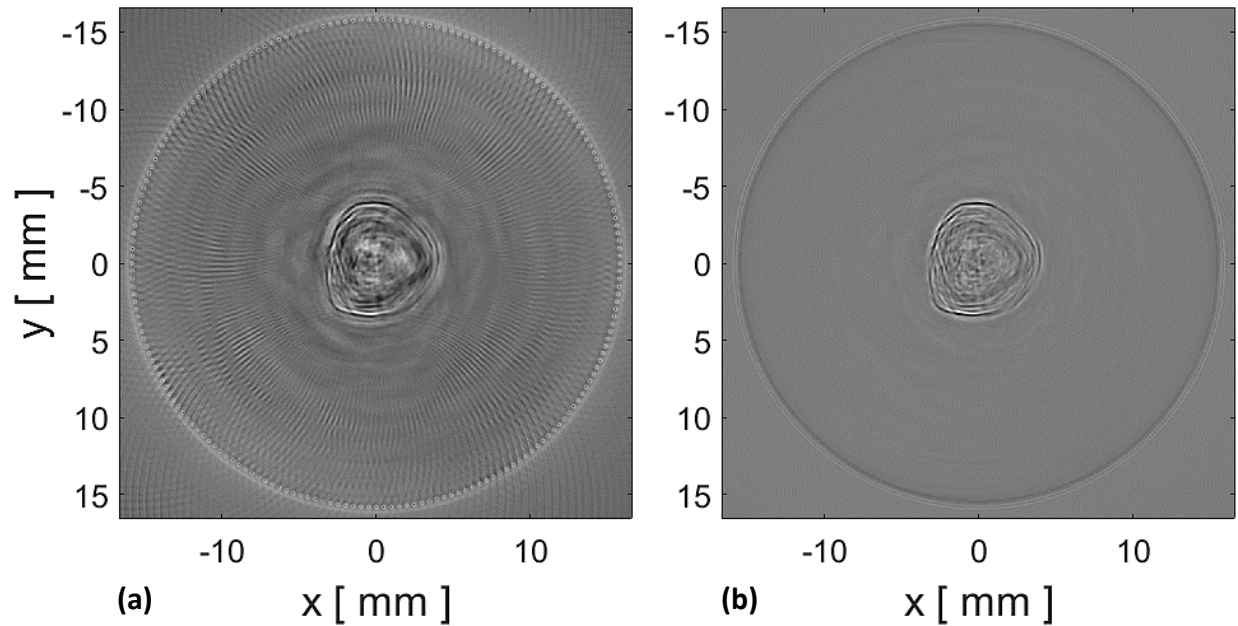


Figura 26. Reconstrucción de la imagen de una sección transversal de la Muela 4 “sin recubrimiento” usando el toolbox *k-Wave*. **(a)** Reconstrucción convencional usando una máscara del sensor discreta. **(b)** Reconstrucción usando una máscara del sensor interpolada. [Parámetros para la reconstrucción: *CMuela4_natural_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0055_rf4900_vs1320*].

En la **Figura 27 (b)** se realizó una amplificación de la **Figura 26 (b)** para apreciarla mejor. En la **Figura 27 (a)** se presenta la micrografía óptica del corte transversal de la muestra real sobre el mismo plano de medición, y en la **Figura 27 (c)** se presenta la imagen de Rayos X del mismo corte de la muestra. La finalidad es comparar estas imágenes con la reconstrucción de la imagen PAT.

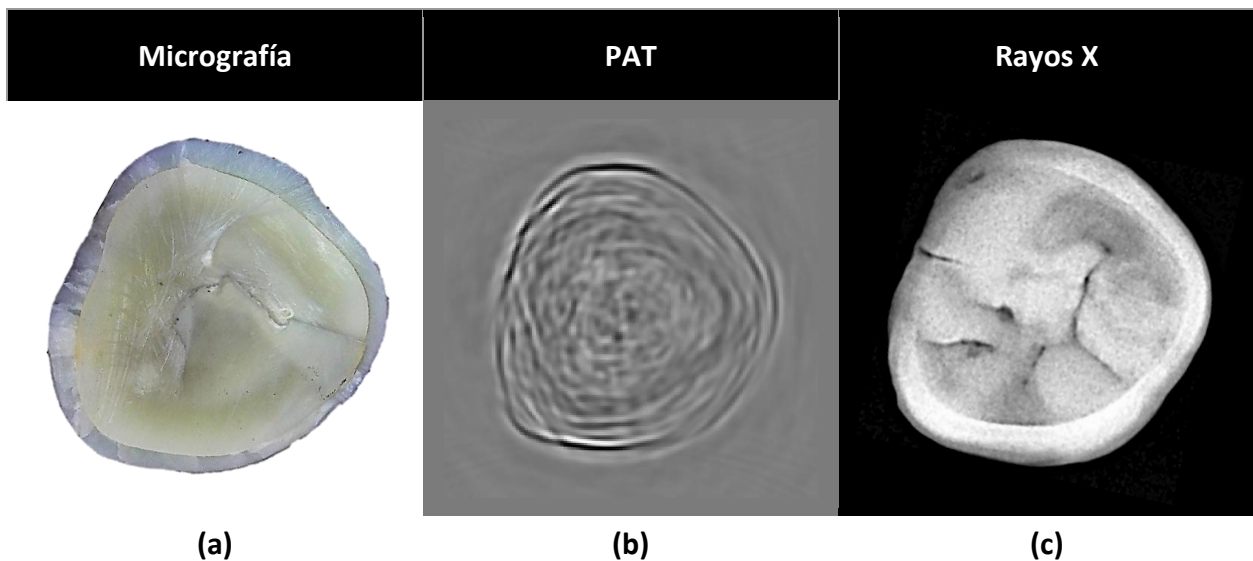


Figura 27. Sección transversal de la corona de la Muela 4 “sin recubrimiento”. **(a)** Micrografía óptica de un corte transversal de la muestra real (vista superior). Las grietas aparecen como resultado del corte con el disco de diamante. **(b)** Imagen PAT reconstruida con una máscara del sensor interpolada. **(c)** Imagen de Rayos X.

4.2.2.2. Medición con recubrimiento

La Muela 4 que se midió con recubrimiento de pintura en aerosol *Aero Comex Negro Mate* se presenta en la **Figura 28**. La muestra correspondió a un tercer molar superior, cuyo diámetro de la corona fue de 1.29 cm.

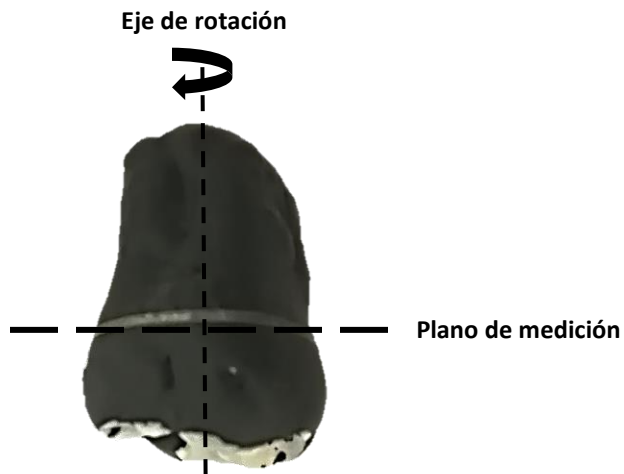


Figura 28. Muela 4 "con recubrimiento" de pintura en aerosol negro mate. Vista frontal.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la adquisición de las señales fotoacústicas se presentan en la **Tabla 12**.

Parámetros para la adquisición de señales PA	
Núm. de pasos	200 pasos/vuelta
Energía	3.8 mJ/pulso (410 μ s)
Radio del spot del láser	0.05 cm
Fluencia	483.8 mJ/cm ²

Tabla 12. Muela 4 "con recubrimiento".

En la **Figura 29** se presenta la gráfica de las señales fotoacústicas promediadas obtenidas en cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

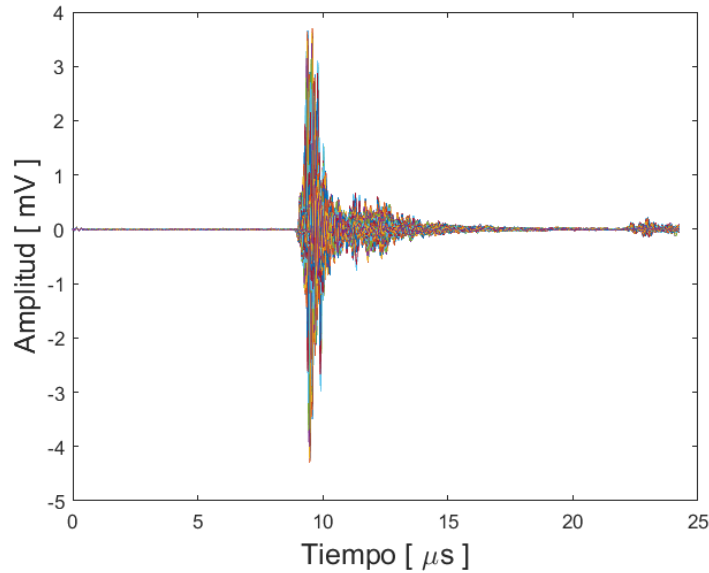


Figura 29. Muela 4 “con recubrimiento”. Señales fotoacústicas promediadas correspondientes a cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la reconstrucción de la imagen usando el toolbox *k-Wave* se presentan en la **Tabla 13**.

Parámetros para la reconstrucción de la imagen	
Núm. de mediciones	200
Recorte inicial	0001
Recorte final	4850
Radio del arreglo de sensores	0.0158 m
Frecuencia de muestreo	200 MS/s
Resolución de cuadrícula	1024 puntos
Velocidad del sonido	1320 m/s

Tabla 13. Muela 4 “con recubrimiento”.

A continuación, se muestra la reconstrucción de inversión de tiempo de la imagen correspondiente a una sección transversal de la Muela 4 con recubrimiento. En la **Figura 30 (a)** se presenta la reconstrucción convencional empleando una máscara del sensor con posiciones discretas, y en la **Figura 30 (b)** se presenta la reconstrucción utilizando una máscara del sensor de un círculo continuo obtenida a través de la interpolación.

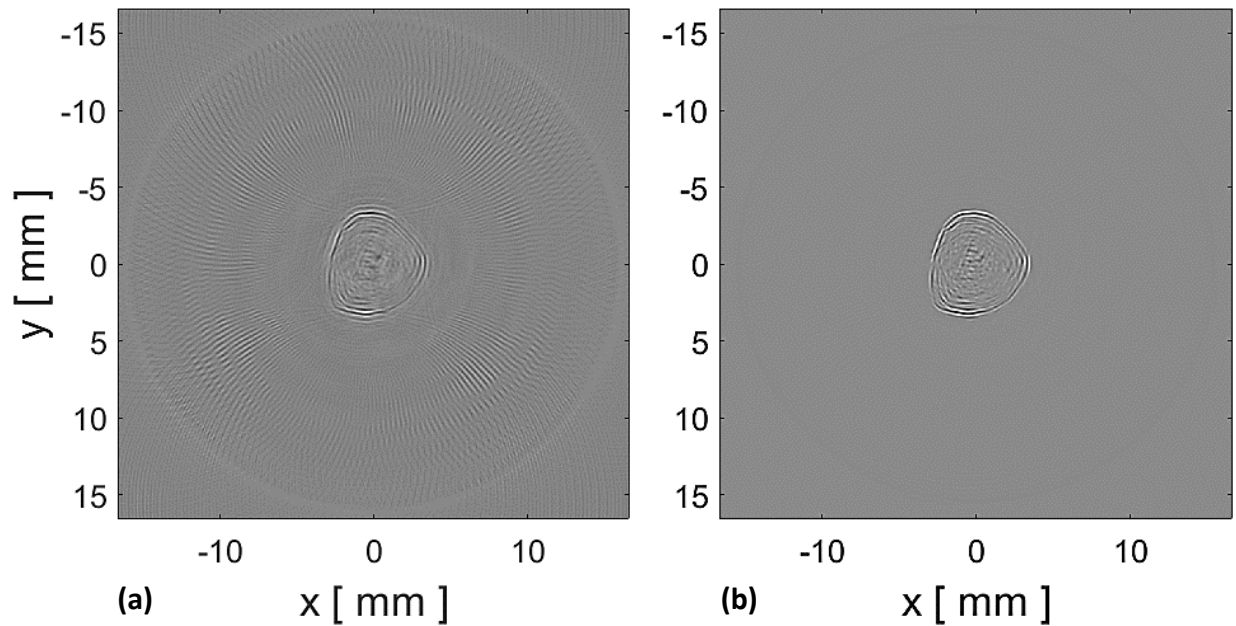


Figura 30. Reconstrucción de la imagen de una sección transversal de la Muela 4 “con recubrimiento” usando el toolbox k-Wave. **(a)** Reconstrucción convencional usando una máscara del sensor discreta. **(b)** Reconstrucción usando una máscara del sensor interpolada. [Parámetros para la reconstrucción: CMuela4_conANeg_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0001_rf4850_vs1320].

En la **Figura 31 (b)** se realizó una amplificación de la **Figura 30 (b)** para apreciarla mejor. En la **Figura 31 (a)** se presenta la micrografía óptica del corte transversal de la muestra real sobre el mismo plano de medición, y en la **Figura 31 (c)** se presenta la imagen de Rayos X del mismo corte de la muestra. La finalidad es comparar estas imágenes con la reconstrucción de la imagen PAT.

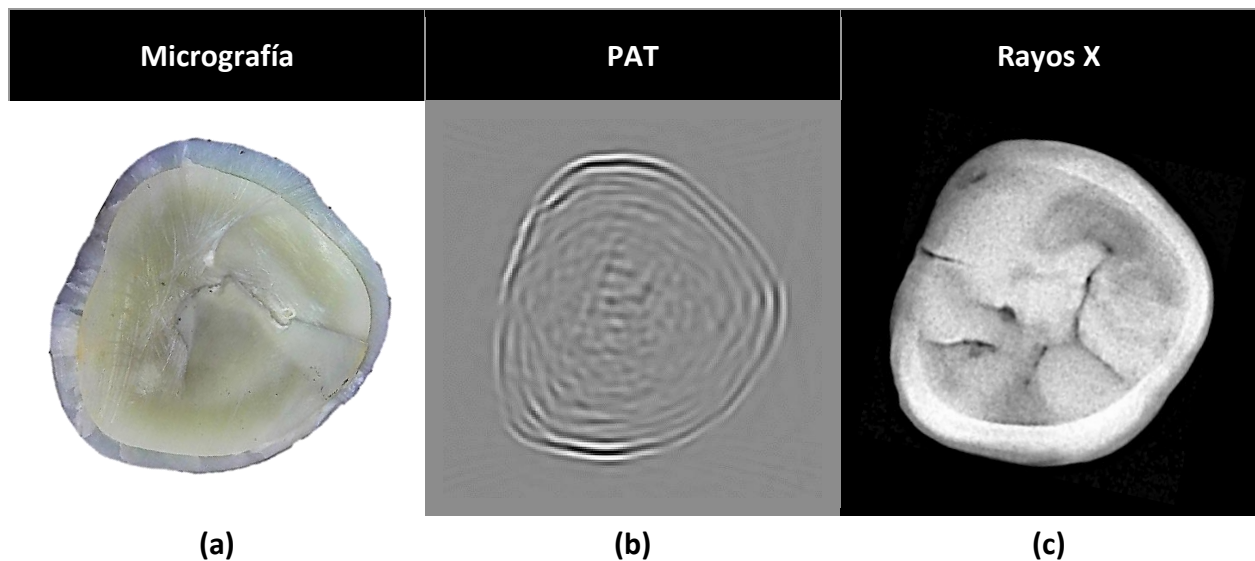


Figura 31. Sección transversal de la corona de la Muela 4 “con recubrimiento”. **(a)** Micrografía óptica de un corte transversal de la muestra real (vista superior). Las grietas aparecen como resultado del corte con el disco de diamante. **(b)** Imagen PAT reconstruida con una máscara del sensor interpolada. **(c)** Imagen de Rayos X.

4.2.2.3. Comparación de medición sin / con recubrimiento

En la **Figura 32** se presenta una comparación de las imágenes PAT reconstruidas con el toolbox *k-Wave* de la Muela 4. En la **Figura 32 (a)** se presenta la imagen de la muestra medida sin recubrimiento, y en la **Figura 32 (b)** se presenta la imagen de la muestra medida con recubrimiento. El recubrimiento se realizó usando pintura en aerosol negro mate.

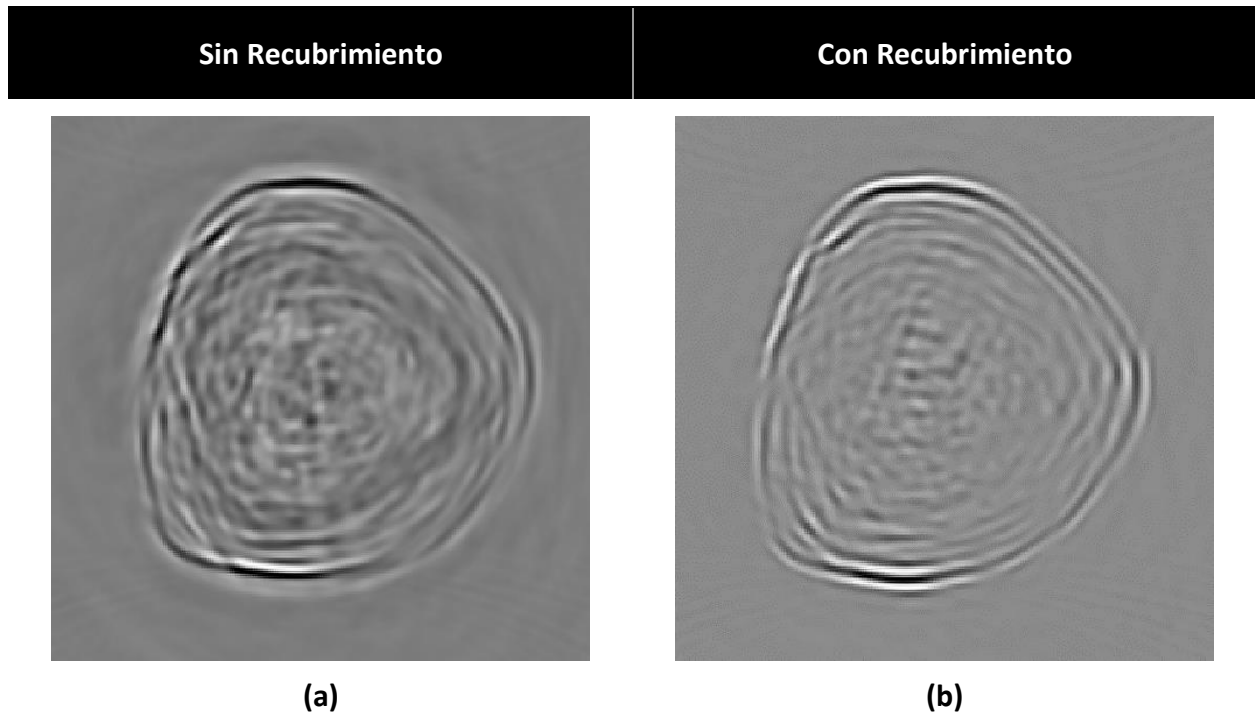


Figura 32. Comparación de las imágenes PAT reconstruidas con el toolbox *k-Wave* de la Muela 4. **(a)** Medición de la muestra “sin recubrimiento”. **(b)** Medición de la muestra “con recubrimiento”.

4.2.3. Muela 11

En este caso, se realizó una medición de la Muela 11 poco tiempo después de ser extraída (muela fresca), y una semana después se realizó otra medición de la misma muestra bajo las mismas condiciones del sistema experimental (muela no fresca).

4.2.3.1. Muela fresca

La Muela 11 “fresca” no presentó ninguna alteración visible en la zona de iluminación. Una micrografía óptica se presenta en la **Figura 33**. La muestra correspondió a un tercer molar inferior, cuyo diámetro de la corona fue de 1.32 cm.

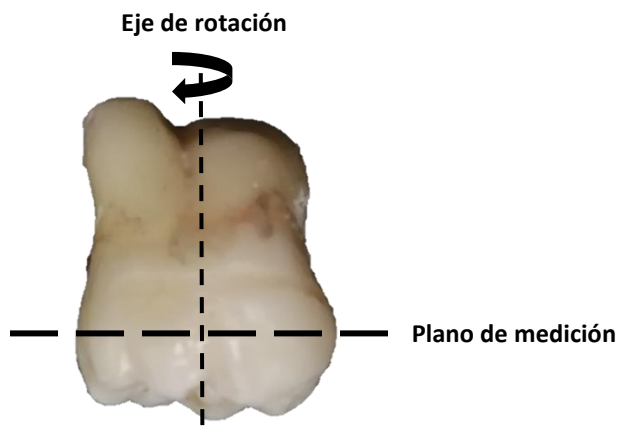


Figura 33. Muela 11 “fresca”. Vista frontal.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la adquisición de las señales fotoacústicas se presentan en la **Tabla 14**.

Parámetros para la adquisición de señales PA	
Núm. de pasos	200 pasos/vuelta
Energía	17.6 mJ/pulso (360 μ s)
Radio del spot del láser	0.05 cm
Fluencia	2240.9 mJ/cm ²

Tabla 14. Muela 11 “fresca”.

En la **Figura 34** se presenta la gráfica de las señales fotoacústicas promediadas obtenidas en cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

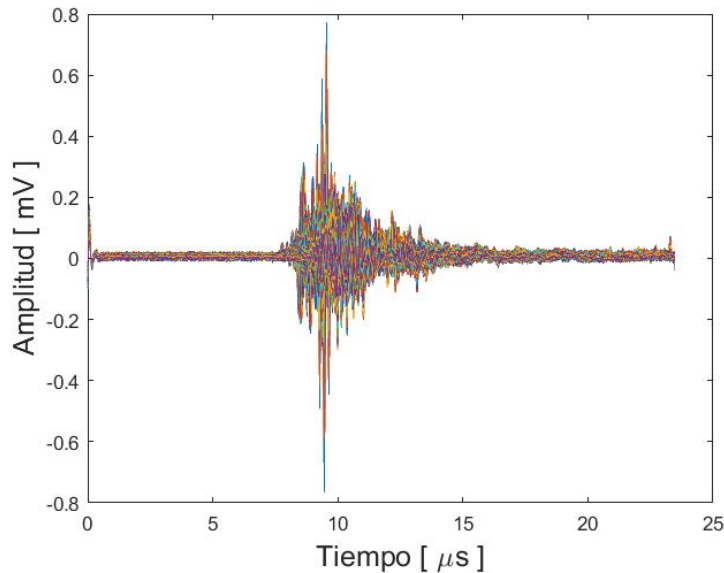


Figura 34. Muela 11 “fresca”. Señales fotoacústicas promediadas correspondientes a cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la reconstrucción de la imagen usando el toolbox *k-Wave* se presentan en la **Tabla 15**.

Parámetros para la reconstrucción de la imagen	
Núm. de mediciones	200
Recorte inicial	0055
Recorte final	4750
Radio del arreglo de sensores	0.0158 m
Frecuencia de muestreo	200 MS/s
Resolución de cuadrícula	1024 puntos
Velocidad del sonido	1350 m/s

Tabla 15. Muela 11 “fresca”.

A continuación, se muestra la reconstrucción de inversión de tiempo de la imagen correspondiente a una sección transversal de la Muela 11 “fresca”. En la **Figura 35 (a)** se presenta la reconstrucción convencional empleando una máscara del sensor con posiciones discretas, y en la **Figura 35 (b)** se presenta la reconstrucción utilizando una máscara del sensor de un círculo continuo obtenida a través de la interpolación.

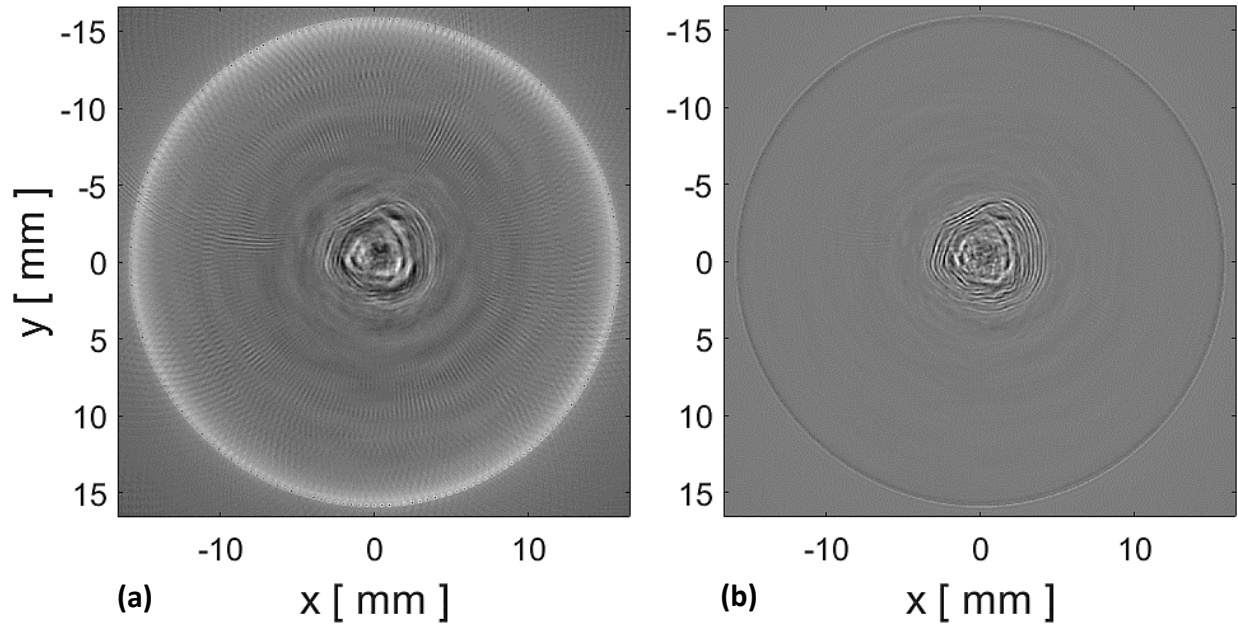


Figura 35. Reconstrucción de la imagen de una sección transversal de la Muela 11 “fresca” usando el toolbox k-Wave. **(a)** Reconstrucción convencional usando una máscara del sensor discreta. **(b)** Reconstrucción usando una máscara del sensor interpolada. [Parámetros para la reconstrucción: CMuela11_natural_fresca_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0055_rf4750_vs1350].

En la **Figura 36 (b)** se realizó una amplificación de la **Figura 35 (b)** para apreciarla mejor. En la **Figura 36 (a)** se presenta la micrografía óptica del corte transversal de la muestra real sobre el mismo plano de medición, y en la **Figura 36 (c)** se presenta la imagen de Rayos X del mismo corte de la muestra. La finalidad es comparar estas imágenes con la reconstrucción de la imagen PAT.

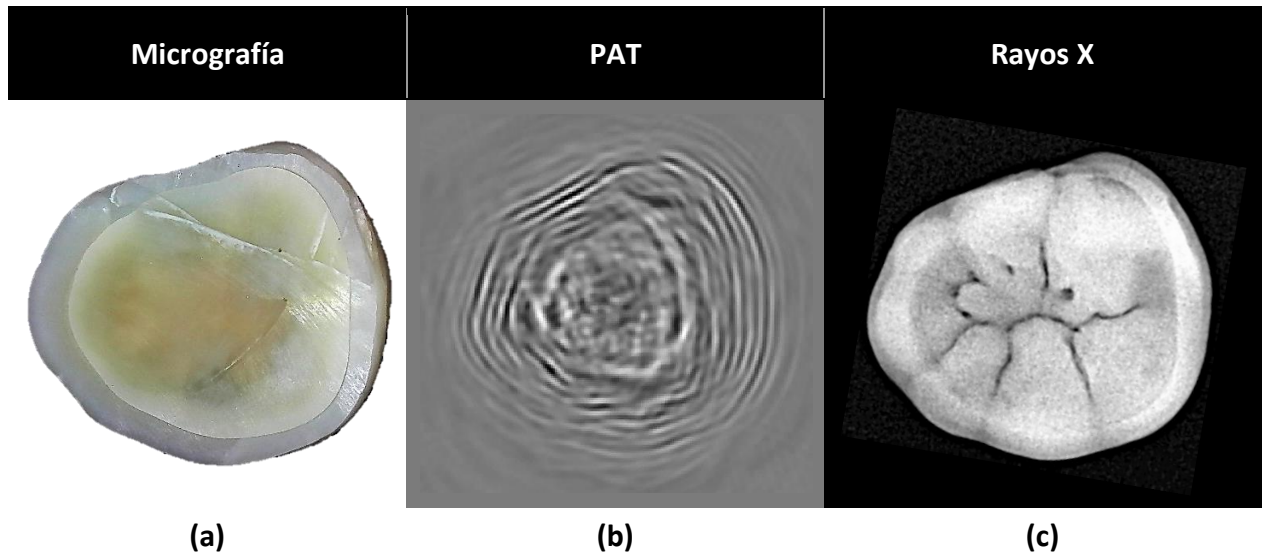


Figura 36. Sección transversal de la corona de la Muela 11 “fresca”. **(a)** Micrografía óptica de un corte transversal de la muestra real (vista superior). Las grietas aparecen como resultado del corte con el disco de diamante. **(b)** Imagen PAT reconstruida con una máscara del sensor interpolada. **(c)** Imagen de Rayos X.

4.2.3.2. Muela no fresca

La Muela 11 “no fresca” no presentó ninguna alteración visible o daño por láser en la zona de iluminación después de haber sido medida una semana antes, ver **Figura 37**. La muestra correspondió a un tercer molar inferior, cuyo diámetro de la corona fue de 1.32 cm.

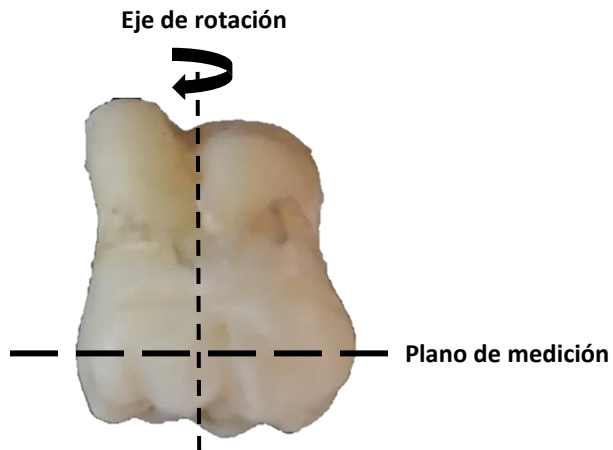


Figura 37. Muela 11 “no fresca”. Vista frontal.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la adquisición de las señales fotoacústicas se presentan en la **Tabla 16**.

Parámetros para la adquisición de señales PA	
Núm. de pasos	200 pasos/vuelta
Energía	17.6 mJ/pulso (360 μ s)
Radio del spot del láser	0.05 cm
Fluencia	2240.9 mJ/cm ²

Tabla 16. Muela 11 “no fresca”.

En la **Figura 38** se presenta la gráfica de las señales fotoacústicas promediadas obtenidas en cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

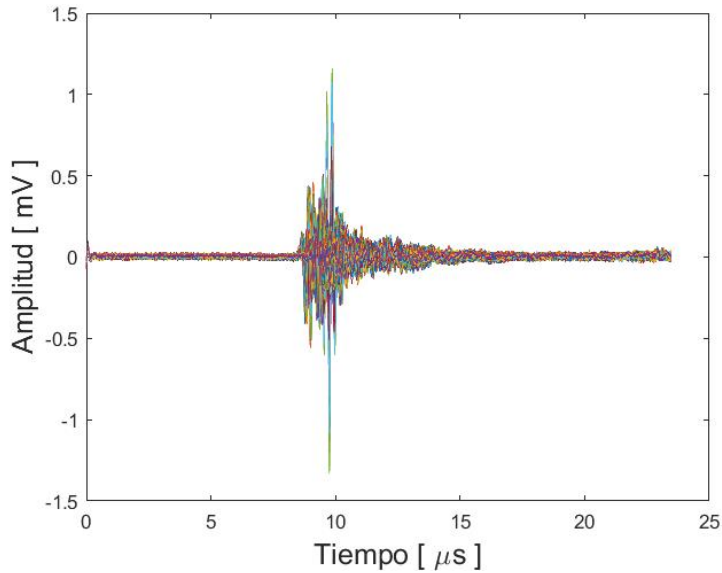


Figura 38. Muela 11 “no fresca”. Señales fotoacústicas promediadas correspondientes a cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la reconstrucción de la imagen usando el toolbox *k-Wave* se presentan en la **Tabla 17**.

Parámetros para la reconstrucción de la imagen	
Núm. de mediciones	200
Recorte inicial	0055
Recorte final	4750
Radio del arreglo de sensores	0.0158 m
Frecuencia de muestreo	200 MS/s
Resolución de cuadrícula	1024 puntos
Velocidad del sonido	1350 m/s

Tabla 17. Muela 11 “no fresca”.

A continuación, se muestra la reconstrucción de inversión de tiempo de la imagen correspondiente a una sección transversal de la Muela 11 “no fresca”. En la **Figura 39 (a)** se presenta la reconstrucción convencional empleando una máscara del sensor con posiciones discretas, y en la **Figura 39 (b)** se presenta la reconstrucción utilizando una máscara del sensor de un círculo continuo obtenida a través de la interpolación.

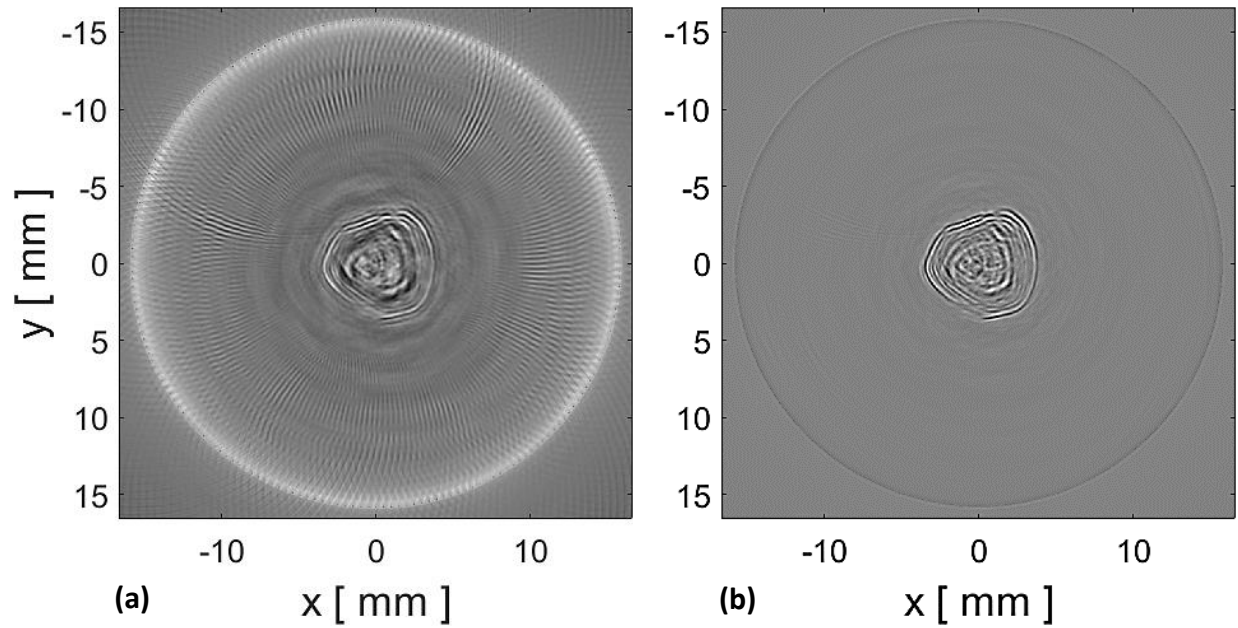


Figura 39. Reconstrucción de la imagen de una sección transversal de la Muela 11 “no fresca” usando el toolbox k-Wave. **(a)** Reconstrucción convencional usando una máscara del sensor discreta. **(b)** Reconstrucción usando una máscara del sensor interpolada. [Parámetros para la reconstrucción: CMuela11_natural_nofresca_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0055_rf4750_vs1350].

En la **Figura 40 (b)** se realizó una amplificación de la **Figura 39 (b)** para apreciarla mejor. En la **Figura 40 (a)** se presenta la micrografía óptica del corte transversal de la muestra real sobre el mismo plano de medición, y en la **Figura 40 (c)** se presenta la imagen de Rayos X del mismo corte de la muestra. La finalidad es comparar estas imágenes con la reconstrucción de la imagen PAT.

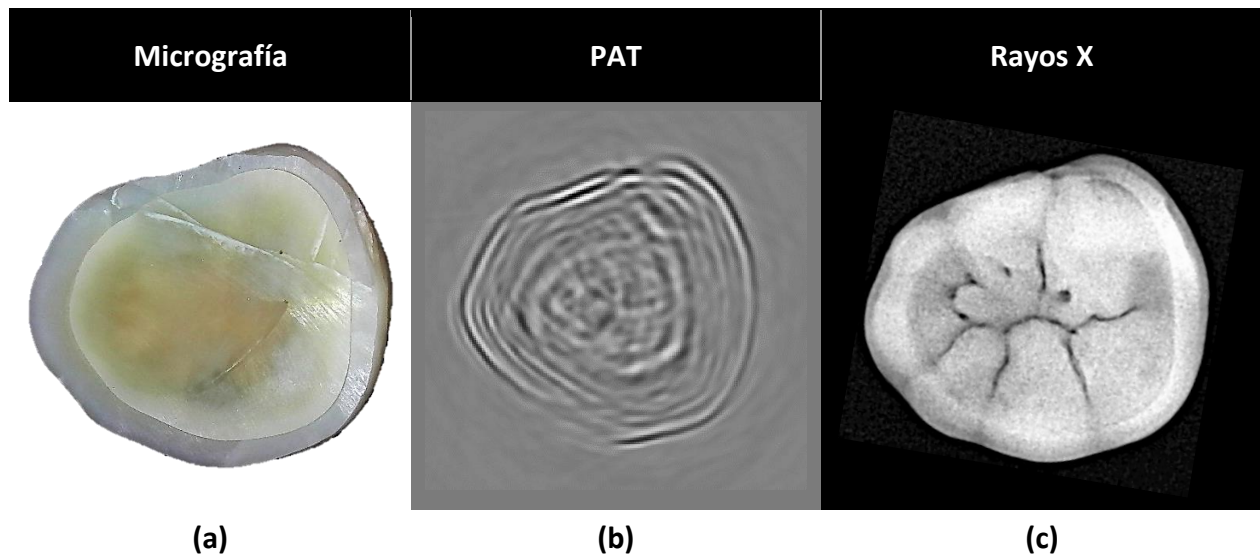


Figura 40. Sección transversal de la corona de la Muela 11 “no fresca”. **(a)** Micrografía óptica de un corte transversal de la muestra real (vista superior). Las grietas aparecen como resultado del corte con el disco de diamante. **(b)** Imagen PAT reconstruida con una máscara del sensor interpolada. **(c)** Imagen de Rayos X.

4.2.3.3. Comparación de medición fresca / no fresca

En la **Figura 41** se presenta una comparación de las imágenes PAT reconstruidas con el toolbox *k-Wave* de la Muela 11. En la **Figura 41 (a)** se presenta la imagen de la muestra “fresca”, y en la **Figura 41 (b)** se presenta la imagen de la muestra “no fresca”.

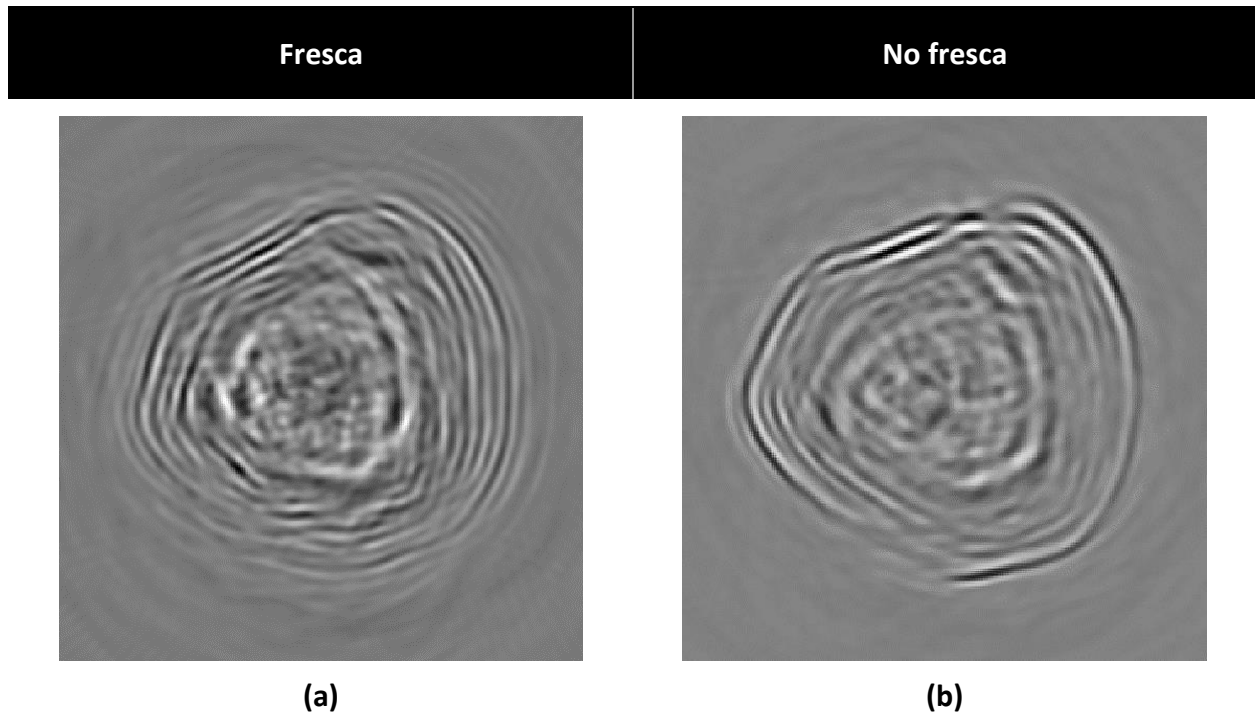


Figura 41. Comparación de las imágenes reconstruidas con el toolbox *k-Wave* de la Muela 11. **(a)** Medición de la muestra “fresca”. **(b)** Medición de la muestra “no fresca”.

4.2.4. Muela 5

En este caso, se realizó una medición de una muestra recién extraída que presentó una lesión debido a una caries lateral en la zona de la corona, ver **Figura 42**. Esto con la intención de reconstruir una imagen 2D que proporcionara información sobre la profundidad de la cavidad. La muestra correspondió a un segundo molar superior, cuyo diámetro de la corona fue de 1.16 cm.

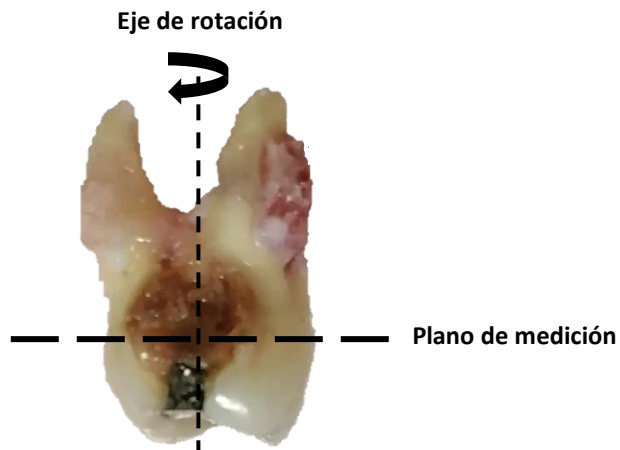


Figura 42. Muela 5 con una caries lateral. Vista frontal.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la adquisición de las señales fotoacústicas se presentan en la **Tabla 18**.

Parámetros para la adquisición de señales PA	
Núm. de pasos	200 pasos/vuelta
Energía	16.7 mJ/pulso (370 μ s)
Radio del spot del láser	0.05 cm
Fluencia	2126.3 mJ/cm ²

Tabla 18. Muela 5 con una caries lateral.

En la **Figura 43** se presenta la gráfica de las señales fotoacústicas promediadas obtenidas en cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

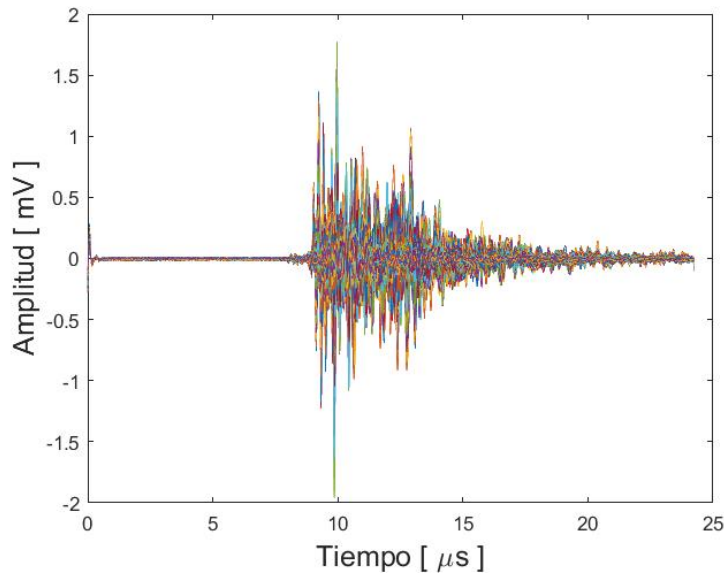


Figura 43. Muela 5 con una caries lateral. Señales fotoacústicas promediadas correspondientes a cada uno de los 200 pasos del motor de pasos.

Los parámetros que se utilizaron en el código para la reconstrucción de la imagen usando el toolbox *k-Wave* se presentan en la **Tabla 19**.

Parámetros para la reconstrucción de la imagen	
Núm. de mediciones	200
Recorte inicial	0055
Recorte final	4900
Radio del arreglo de sensores	0.0158 m
Frecuencia de muestreo	200 MS/s
Resolución de cuadrícula	1024 puntos
Velocidad del sonido	1320 m/s

Tabla 19. Muela 5 con una caries lateral.

A continuación, se muestra la reconstrucción de inversión de tiempo de la imagen correspondiente a una sección transversal de la Muela 5 con una caries lateral. En la **Figura 44 (a)** se presenta la reconstrucción convencional empleando una máscara del sensor con posiciones discretas, y en la **Figura 44 (b)** se presenta la reconstrucción utilizando una máscara del sensor de un círculo continuo obtenida a través de la interpolación.

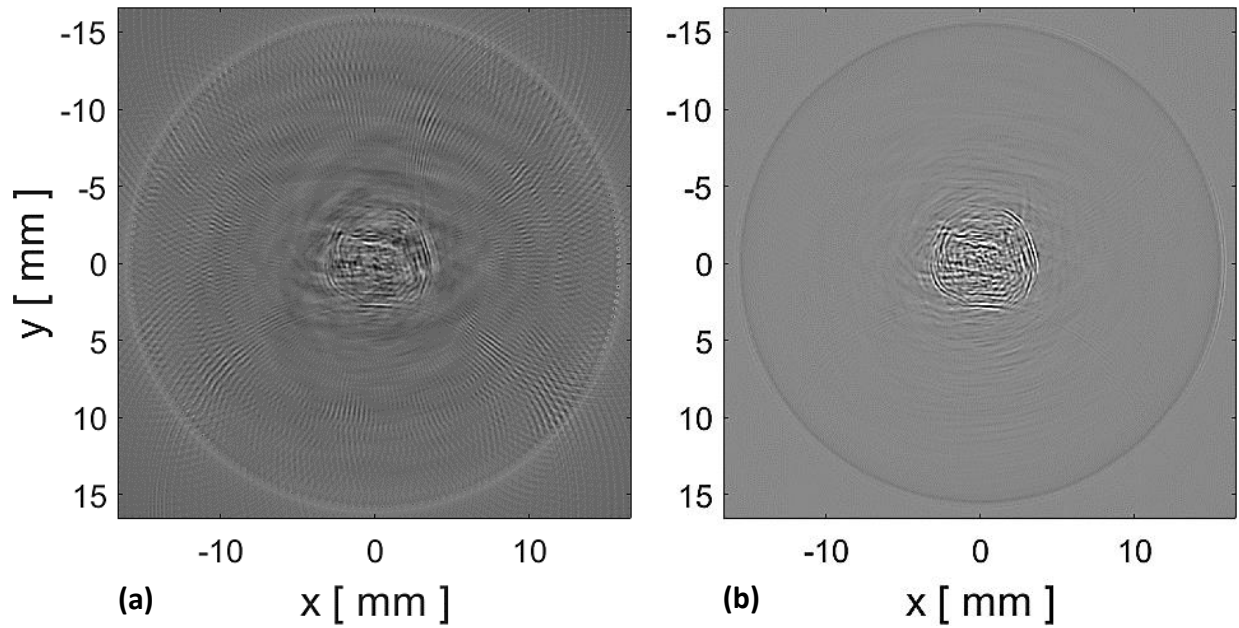


Figura 44. Reconstrucción de la imagen de una sección transversal de la Muela 5 con una caries lateral usando el toolbox *k-Wave*. **(a)** Reconstrucción convencional usando una máscara del sensor discreta. **(b)** Reconstrucción usando una máscara del sensor interpolada. [Parámetros para la reconstrucción: *CMuela5_Caries_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0055_rf4900_vs1320*].

En la **Figura 45 (b)** se realizó una amplificación de la **Figura 44 (b)** para apreciarla mejor. En la **Figura 45 (a)** se presenta la micrografía óptica del corte transversal de la muestra real sobre el mismo plano de medición, y en la **Figura 45 (c)** se presenta la imagen de Rayos X del mismo corte de la muestra. La finalidad es comparar estas imágenes con la reconstrucción de la imagen PAT.

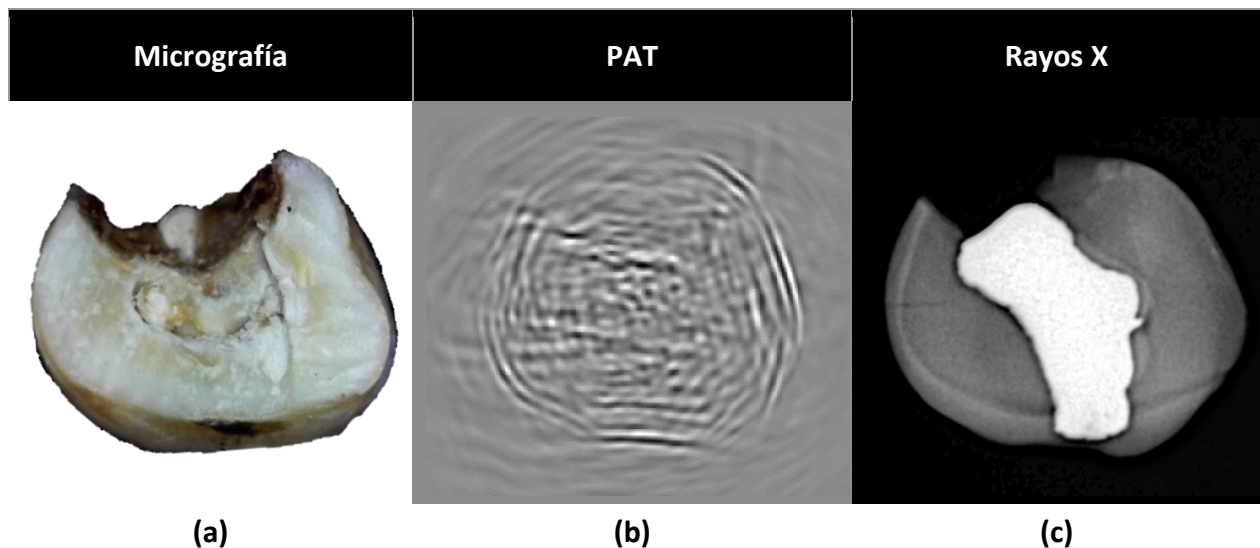


Figura 45. Sección transversal de la corona de la Muela 5 con una caries lateral. **(a)** Micrografía óptica de un corte transversal de la muestra real (vista superior). Las grietas aparecen como resultado del corte con el disco de diamante. **(b)** Imagen PAT reconstruida con una máscara del sensor interpolada. **(c)** Imagen de Rayos X.

4.3. Discusión de resultados

A continuación, se presenta una discusión sobre los resultados de las mediciones de ultrasonido generado por láser y las imágenes reconstruidas con el toolbox *k-Wave*, los cuales fueron obtenidos para una pieza de polímero (PLA) y muelas humanas extraídas de pacientes del Servicio de Estomatología del HGM.

4.3.1. Descripción de micrografía óptica

En la micrografía óptica del corte transversal de la muestra real, ver **Figura 46 (a1), (a2), (a3) y (a4)** se observan las dos zonas principales de la corona del diente con diferentes tonalidades: 1) el esmalte que corresponde a la zona exterior tiene mayor transparencia óptica, y 2) la dentina que corresponde a la zona interior tiene menor transparencia óptica. En estas muestras no se aprecia el tejido pulpar debido a que la micrografía de las muestras se tomaron mucho tiempo después de su extracción; sin embargo, el corte transversal permite identificar una zona oscura en el centro de la corona que tiene diferente tonalidad al esmalte y a la dentina, la cual corresponde a la parte superior de la cámara pulpar llena por calcificación [22].

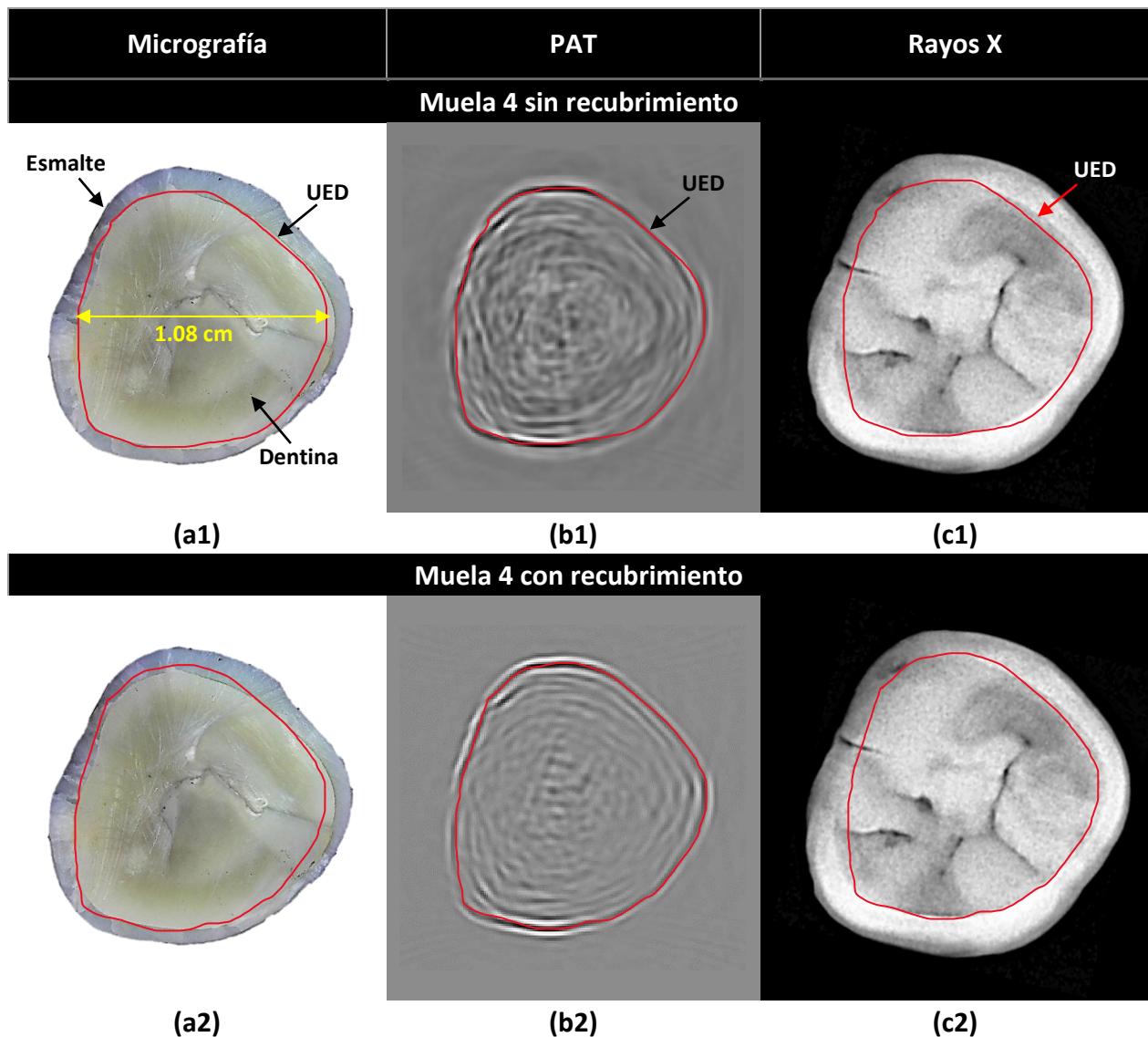
4.3.2. Descripción de imágenes PAT

La imagen PAT de la pieza de polímero (PLA), ver **Figura 23**, demuestra que el toolbox *k-Wave* es capaz de reconstruir una imagen correspondiente a una muestra sólida y con una forma geométrica particular, ya que permite diferenciar entre los bordes de una misma figura con diferentes distancias respecto a su centro de simetría. La comparación de la micrografía óptica con la imagen PAT confirma que a través de este sistema experimental se puede obtener una reconstrucción de la imagen con una forma y un tamaño proporcional al de la muestra real.

La imagen PAT de las muestras dentales, ver **Figura 46 (b1), (b2), (b3), (b4) y (b5)**, muestra claramente el contorno de la unión esmalte-dentina (UED) con una línea oscura y cuyo mismo contorno se ha remarcado con una línea roja. Este contorno rojo de la imagen PAT se copió en la columna izquierda y derecha manteniendo las mismas dimensiones, con el fin de ajustar la UED de la micrografía óptica y la UED de la imagen de Rayos X con la UED de la imagen PAT de la misma muestra. En la **Figura 46 (a1), (a2), (a3), (a4) y (a5)** se observa que el contorno rojo delimita las dos capas concéntricas del diente y se ajusta bastante bien a la UED de la micrografía óptica. En la **Figura 46 (c1), (c2), (c3), (c4) y (c5)** también se observa que el contorno rojo se ajusta bastante bien

a la UED de las imágenes de Rayos X, lo cual ayuda a confirmar el hecho de que el contorno rojo en la imagen PAT corresponde a la UED. Además, es importante mencionar que en la imagen de Rayos X no solo se está viendo el plano que se observa en la micrografía óptica, sino que se está viendo una superposición de todos los planos que se encuentran por debajo del plano más superficial, lo cual es un problema si se quieren identificar lesiones en planos específicos.

El tamaño de las imágenes PAT es proporcional al tamaño de las muestras reales, lo cual depende del parámetro de la velocidad del sonido y del radio del arreglo de sensores. En la **Figura 46 (a1)** el diámetro de la dentina de la muestra real es 1.08 cm, mientras que en la **Figura 46 (b1)** este valor de la imagen PAT es 0.70 cm, lo cual arroja una proporción de $0.70/1.08 \sim 0.65$. En la **Figura 46 (a3)** el diámetro de la dentina de la muestra real es 1.06 cm, mientras que en la **Figura 46 (b3)** este valor de la imagen PAT es 0.72 cm, lo cual arroja una proporción de $0.72/1.06 \sim 0.68$.



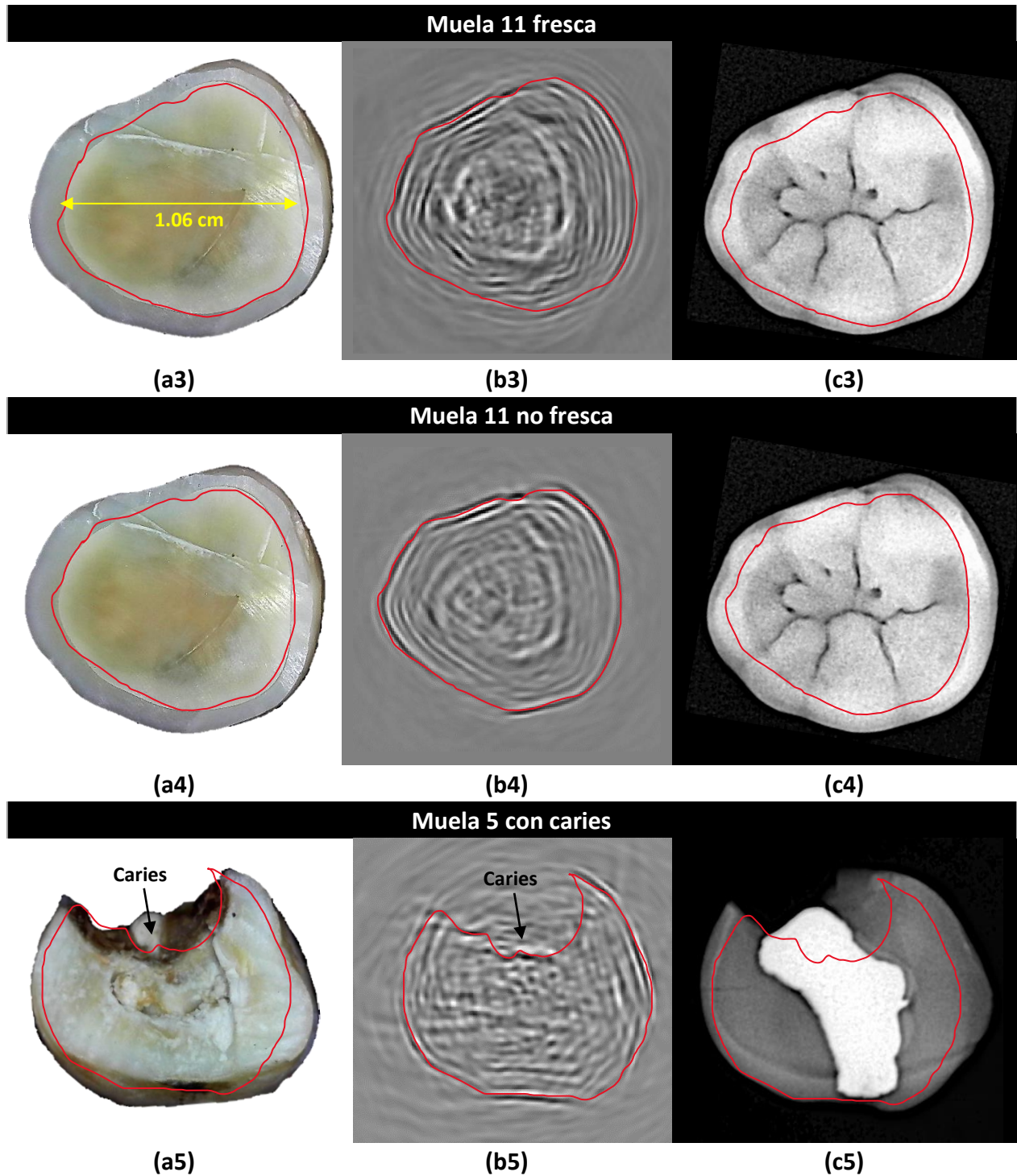


Figura 46. Imágenes de la Muela 4, Muela 11 y Muela 5. **(a)** Micrografía óptica de un corte transversal de la muestra real (vista superior). **(b)** Imagen PAT reconstruida con una máscara del sensor interpolada. **(c)** Imagen de Rayos X. El contorno rojo se mantuvo fijo y del mismo tamaño para cada fila. La línea amarilla en las micrografías corresponde al diámetro de la dentina. [UED: unión esmalte-dentina].

En algunas zonas la imagen PAT parece ligeramente distorsionada al compararse con la micrografía óptica, y esta inconsistencia entre las dos imágenes se debe a dos factores: 1) las irregularidades en la superficie del diente, ya que cuando el haz láser ilumina las superficies afiladas u onduladas se distorsiona la transmisión y la reflexión de la luz, lo cual genera un mayor esparcimiento y consecuentemente alteraciones en la señal fotoacústica, y 2) la suposición de que la velocidad del sonido es constante en un medio que es heterogéneo, el cual está conformado por esmalte-dentina-esmalte-agua, ya que el sonido se propaga a distintas velocidades en cada una de las capas.

4.3.3. Velocidad de propagación del sonido

La velocidad del sonido puede variar mucho entre diferentes tejidos, y una selección imprecisa en la reconstrucción de la imagen PAT puede reducir gravemente la calidad de la imagen [46]. La velocidad del sonido varía en el interior del diente dependiendo de la dirección, la profundidad y la densidad de la muestra, y también es bien sabido que el grosor del esmalte y la dentina varían significativamente alrededor del diente [22]. Además, dado que la velocidad del sonido en cada una de las capas no es constante, entonces tampoco se puede obtener una medida de su espesor uniforme, ya que los materiales de cada una de las capas del tejido duro dental son anisotrópicos.

Los parámetros de la velocidad del sonido que se utilizaron para la reconstrucción de las imágenes PAT que se presentan en la **Figura 46** fueron: 1320 m/s y 1350 m/s. De acuerdo con la literatura, el valor real de la velocidad del sonido en la corona del diente puede ser bastante diferente, ya que las velocidades en el esmalte (5700 – 6250 m/s), la dentina (3800 m/s) y la pulpa (1540 – 1570 m/s), ver **Tabla 4**, son mayores a los valores que se consideraron para la generación de imágenes PAT. Sin embargo, aún se sigue buscando una explicación del porque estos valores de velocidad tan bajos arrojan resultados favorables (relacionados con la forma de la muestra) pues de otro modo, es posible que no se esté interpretando correctamente la propagación de las ondas acústicas en las diferentes capas del tejido duro dental.

4.3.4. Anisotropía del tejido duro dental

Se debe de tener en cuenta que las propiedades físicas del material de estudio, en este caso piezas de polímero (PLA) y muestras biológicas de tejido duro dental, afectarán la propagación del sonido. De hecho, en la referencia [17], se menciona que la velocidad de la onda acústica varía en el esmalte y en la dentina debido a la naturaleza anisotrópica de las propiedades elásticas. Esta anisotropía se presenta debido a que las ondas ultrasónicas se propagan de forma

paralela y perpendicular a las estructuras alargadas del esmalte (prismas) y a los túbulos de la dentina.

4.3.5. Absorción óptica del tejido duro dental

De acuerdo con el espectro de absorción óptica de la **Figura 4** y los valores del coeficiente de absorción de la **Tabla 3**, el esmalte y la dentina tienen una fuerte absorción en la región de 3,000 – 10,000 nm (3 – 10 μm) debido a la hidroxiapatita carbonatada. Sin embargo, aunque en la región cercana a los 532 nm la absorción resulta ser mucho más pequeña, en este trabajo no se tuvo ningún inconveniente para generar y detectar las ondas acústicas generadas por la absorción óptica usando esta longitud de onda.

En las imágenes PAT de la **Figura 46**, el contorno de la superficie del esmalte no está definido. Esto se debe principalmente a que el haz láser con una longitud de onda de 532 nm logra penetrar la capa del esmalte donde la absorción óptica es débil ($\mu_a < 1 \text{ cm}^{-1}$), y la luz alcanza la capa de la dentina donde la absorción óptica es más fuerte ($\mu_a = [3 - 4] \text{ cm}^{-1}$). De forma similar a los resultados de la referencia [2], ver **Figura 5**, en la imagen PAT de las muestras dentales, el valor de intensidad es proporcional al coeficiente de absorción óptica.

En conclusión, en nuestros resultados se presentan zonas que tiene un valor de intensidad alto (puntos oscuros) que corresponden a una absorción óptica fuerte (menor transparencia óptica), es decir, la absorción óptica del esmalte es más débil que la absorción óptica de la dentina, por lo que la reconstrucción de la imagen PAT a través del toolbox *k-Wave* corresponde solo a la UED del diente. Sin embargo, la información relacionada con la interfase entre los medios agua-esmalte también se encuentra dentro del conjunto de señales fotoacústicas adquiridas experimentalmente, por lo cual esperaríamos recuperarla con otro tipo de procesamiento de señales en un trabajo futuro.

4.3.6. Muestra sin/con recubrimiento

En el caso de la Muela 4, se realizó una medición de tal manera que el haz láser incidió directamente sobre el esmalte de la corona, lo cual permitió que la luz penetrara hacia las capas internas del diente (la dentina y la pulpa dental). De acuerdo con las condiciones del sistema experimental, en esta “medición sin recubrimiento” se requirió mucha energía/fluencia del láser (2240.9 mJ/cm^2) para obtener señales PA con una relación señal-ruido grande. Posteriormente, también se realizó una “medición con recubrimiento” en la cual se aplicó pintura en aerosol negro mate sobre toda la superficie de la misma muestra. Dado que la pintura tiene una mejor absorción óptica en 532 nm, entonces se usó una menor cantidad de energía/fluencia del láser

(483.8 mJ/cm²) para obtener señales PA con una relación señal-ruido grande. La diferencia entre la medición con/sin recubrimiento radica en que la fuente de presión inicial se encuentra en su mayor parte en la superficie de la muestra, en la zona donde absorbe fuertemente la pintura negra. Por lo tanto, usando un recubrimiento en la muestra se pueden obtener imágenes PAT con buena nitidez empleando una menor cantidad de energía/fluencia del láser.

4.3.7. Daño generado por láser

En este trabajo, la fluencia incidente sobre la superficie de la pieza de polímero (PLA) fue: 229.2 mJ/cm². Las fluencias incidentes sobre las superficies de las muestras de tejido dental fueron: 2240.9 mJ/cm² para la Muela 4 medida “sin recubrimiento”; 483.8 mJ/cm² para la Muela 4 medida “con recubrimiento”; 2240.9 mJ/cm² para la Muela 11 “fresca / no fresca”; y 2126.3 mJ/cm² para la Muela 5 “con una caries lateral”. Todas las fluencias empleadas en este trabajo fueron mayores a 20 mJ/cm², lo cual se encontró por encima del límite de seguridad para las muestras dentales [2], [47].

Para verificar un posible daño por láser se realizó un experimento que consistió en irradiar directamente el esmalte de una muestra dentro del contenedor sin agua (en aire) y otra muestra sumergida en agua, para lo cual se capturó una micrografía óptica de la misma zona de los dientes antes y después de la incidencia del haz láser enfocado. Las dos muestras fueron irradiadas utilizando cinco fluencias diferentes (F1 = 1209.6, F2 = 2253.63, F3 = 2342.76, F4 = 2126.31 y F5 = 2240.9) mJ/cm². En la **Figura 47 (a) y (b)** se presenta una muestra en aire que fue irradiada con láser utilizando las cinco fluencias mencionadas. En cada uno de los cinco círculos marcados en color rojo es posible identificar una lesión pequeña de color blanca, de las cuales la más pronunciada es donde se utilizó una fluencia más alta (F5 = 2240.9 mJ/cm²). En la **Figura 47 (c) y (d)** se presenta una muestra que fue sumergida en agua e irradiada con láser utilizando las mismas fluencias de la muestra anterior. En ninguno de los cinco casos se identificó una lesión. De esta manera, se demostró que empleando rangos de energía/fluencia idénticos a los utilizados en este trabajo para la adquisición de señales PA, no se produjo ningún daño visual generado por el láser cuando las mediciones se realizaron con la muestra sumergida en agua dentro del contenedor.

De acuerdo con la referencia [17], en las energías bajas del pulso laser, se da un proceso completamente termoelástico que resulta en ningún daño al material bajo estudio. Sin embargo, el daño generado por láser en la muestra dental mostrado en la **Figura 47 (a) y (b)** se debe a que la energía térmica y acústica se quedaron confinadas dentro de la muestra, es decir, la enorme diferencia de impedancia térmica y acústica entre el esmalte y el aire produjo que el calor no lograra escapar de la superficie (el aire es un excelente aislante térmico). En el caso particular de las impedancias acústicas estas son 18.8×10^6 kg/m²s para el esmalte y 0.0004×10^6 kg/m²s para el aire, ver **Tabla 4**.

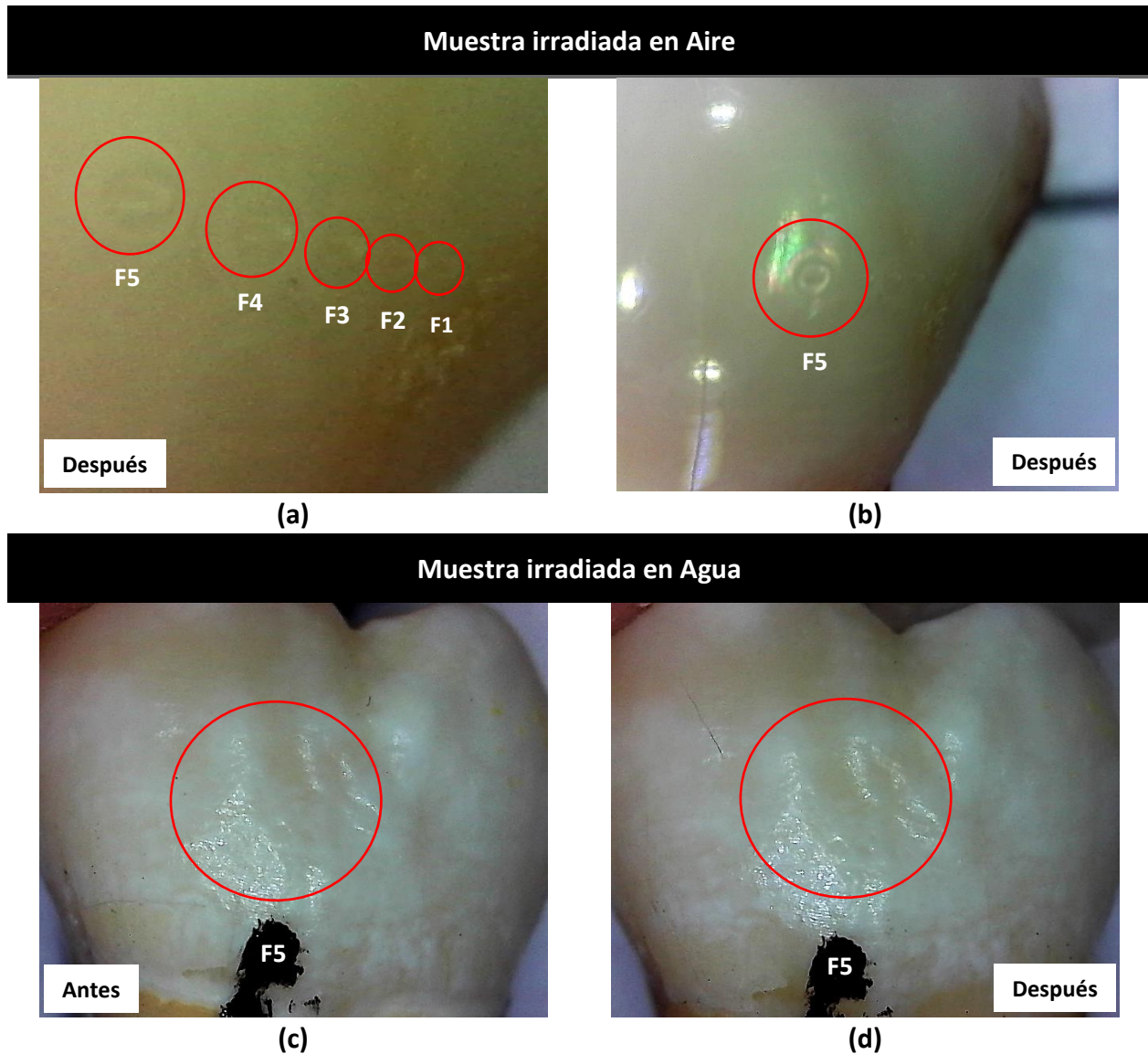


Figura 47. (a) Muestra con daño al ser irradiada con láser en aire usando cinco fluencias diferentes (F1, F2, F3, F4 y F5). (b) Muestra de (a) con daño al ser irradiada con láser en aire usando la fluencia mayor (F5). (c) Muestra antes de ser irradiada con láser en agua. (d) Muestra sin daño después de ser irradiada con láser en agua usando la fluencia mayor (F5). [F1 = 1209.6 mJ/cm², F2 = 2253.63 mJ/cm², F3 = 2342.76 mJ/cm², F4 = 2126.31 mJ/cm² y F5 = 2240.9 mJ/cm²].

4.3.8. Reproducibilidad de las mediciones

Para verificar que las imágenes PAT 2D reconstruidas con el toolbox *k-Wave* contienen información fidedigna de la muestra estudiada, se realizaron dos mediciones consecutivas de la Muela 9 (sin recubrimiento) sobre el mismo plano de exploración, ver **Figura 48**. En ambas mediciones se utilizó la misma energía/fluencia del láser (2126.3 mJ/cm²) y el mismo número de pasos, y para la reconstrucción de las imágenes se empleó el mismo parámetro de la velocidad

del sonido (1320 m/s). Las imágenes obtenidas presentan el mismo tamaño, el mismo contorno de la UED y los mismos indicios en su interior, es decir, no se observan diferencias significativas, lo cual indica que el método para la reconstrucción de las imágenes obtenidas a partir de las señales fotoacústicas adquiridas con el sistema de tomografía automatizado, es reproducible.

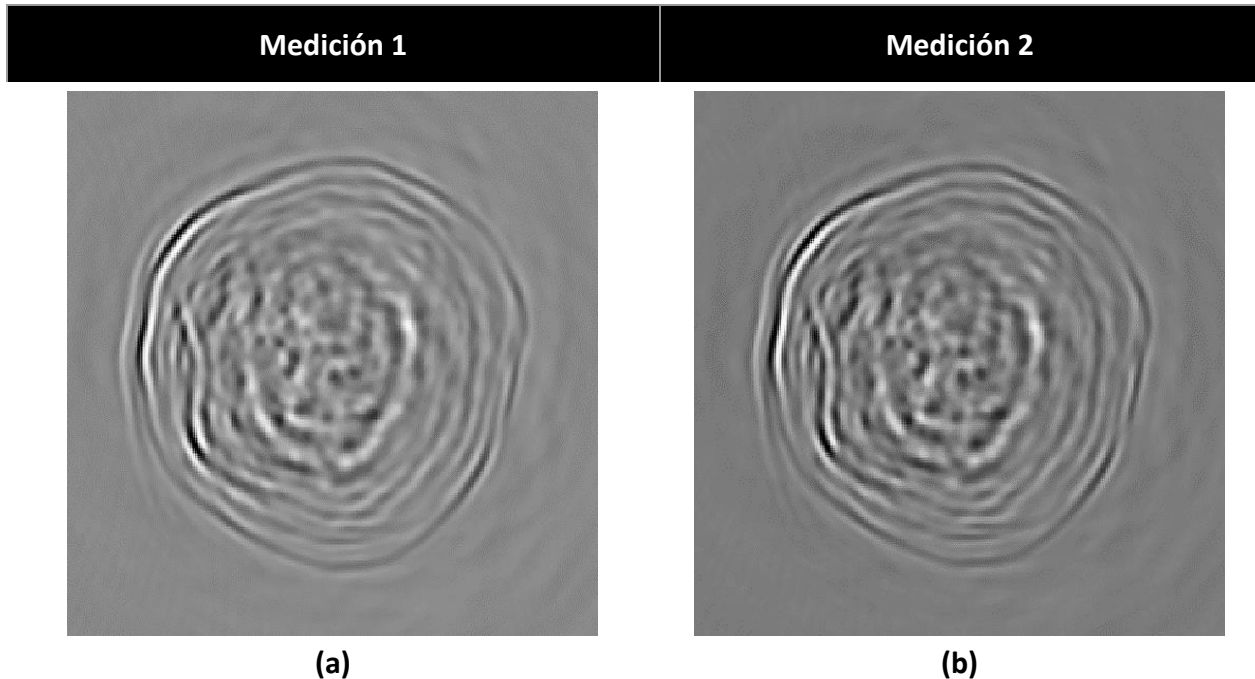


Figura 48. Reproducibilidad de las mediciones sobre el mismo plano de exploración para la reconstrucción de las imágenes PAT 2D de la Muela 9. **(a)** Medición 1. **(b)** Medición 2. [Parámetros para la reconstrucción: CMuela9_sinA_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0055_rf4850_vs1320].

4.3.9. Muestras no frescas

Uno de los aspectos importantes a considerar que se menciona en la referencia [17], es que en las mediciones de muelas “no frescas” las propiedades mecánicas del tejido dental (velocidad del sonido y densidad) cambian debido a la muerte de células (odontoblastos), lo cual resulta en túbulos de dentina que contienen escombros y espacios. Este cambio debido a la degradación en las propiedades mecánicas del tejido contribuye a la llegada de la onda acústica. De hecho, las zonas donde hay presencia de muerte celular se presentan como puntos oscuros cuando los dientes están seccionados. De acuerdo con los argumentos anteriores, se puede justificar el hecho de que el parámetro de la velocidad del sonido utilizado para la reconstrucción de la imagen fotoacústica varíe para cada una de las muelas estudiadas.

4.3.10. Ventajas como técnica complementaria de imagen

Debido a su longitud de onda corta en el tejido duro, el ultrasonido generado por láser tiene el potencial de complementar la radiografía convencional como técnica de imagen en la odontología clínica, ya que el ultrasonido tiene la capacidad de penetrar la mayoría de las estructuras duras, y es muy eficaz para detectar patologías de tejido duro dental como lesiones cariosas, y discontinuidades físicas como fracturas o grietas, las cuales representan un desafío para la radiografía de película convencional. Un beneficio adicional del ultrasonido que se propaga dentro de la muestra es que también es no ionizante, por lo cual también se evitan los riesgos para la salud asociados con las radiografías dentales [22].

A partir del ultrasonido generado por láser se puede obtener más información de la muestra dental en vez de solo usar una fuente de ultrasonido, pues el contraste de la imagen PAT, el cual proviene de la diversidad de la absorción óptica en el tejido dental, permite visualizar la anatomía del interior de la corona del diente. Este contraste permite estimar la macroestructura anatómica de la sección transversal en el plano de medición, es decir, la presencia de las capas internas y sus dimensiones. Sin embargo, aún se sigue trabajando en mejorar la imagen y tener la resolución suficiente para identificar lesiones de manera precisa.

Conclusiones

En este trabajo se construyó con éxito un sistema experimental para generar imágenes bidimensionales (2D) a través de la modalidad de Tomografía Fotoacústica (PAT). Este sistema fue la herramienta que permitió la medición de una pieza de material polimérico (PLA) y muestras de tejido duro dental (muelas humanas extraídas) *in vitro*.

La automatización del sistema de tomografía se llevó a cabo estableciendo la comunicación para la transmisión de datos entre una computadora portátil, un láser pulsado de Nd:YAG, un osciloscopio digital y un motor de pasos. Luego, empleando un código de MATLAB se consiguió ejecutar las instrucciones necesarias para controlar de manera sincronizada cada uno de los instrumentos antes mencionados. La adquisición de las señales fotoacústicas se realizó con el modo de detección *forward*. Finalmente, la reconstrucción de la imagen se llevó a cabo empleando el conjunto de señales fotoacústicas adquiridas experimentalmente, las cuales fueron procesadas a través del toolbox *k-Wave* para generar una imagen 2D correspondiente a una sección transversal de la muestra real.

Las imágenes PAT 2D obtenidas con este sistema de tomografía, correspondientes a la unión esmalte-dentina (UED) de las muestras de tejido dental, se compararon con las respectivas imágenes de Rayos X y micrografías ópticas de los cortes transversales que fueron tomadas sobre el mismo plano de medición. La comparación de las imágenes comprobó que el sistema reproduce la imagen del corte transversal y permite identificar la UED. El tamaño de las imágenes PAT de las muestras de tejido dental tienen una proporción cercana al 0.65 con respecto al tamaño de las muestras reales, lo cual depende del parámetro de la velocidad del sonido y del radio del arreglo de sensores. Además, la reproducibilidad de las mediciones se verificó realizando dos mediciones consecutivas de una misma muestra, para lo cual, las imágenes reconstruidas no presentaron diferencias entre ellas.

La reconstrucción de las imágenes a través del toolbox *k-Wave* dependen en gran medida del parámetro de la velocidad del sonido, para el cual se tiene la dificultad de encontrar su valor real debido a las variaciones en las propiedades mecánicas, la anisotropía de los tejidos duros dentales, y el tiempo transcurrido después de la extracción de la muestra, lo cual conlleva a que la medición de las dimensiones de las capas internas del diente, como la dentina, no sea precisa. Cabe señalar que, para la reconstrucción de las imágenes de las muestras de tejido dental inmersas en agua, los valores de la velocidad del sonido que se utilizaron fueron 1320 m/s y 1350 m/s, los cuales se encuentran por debajo de los valores esperados.

La aplicación de ultrasonido generado por láser en el estudio de muestras dentales permitió identificar parte de la estructura anatómica del diente. Las imágenes PAT obtenidas con el toolbox *k-Wave* son el resultado de la reconstrucción de la distribución de la presión inicial.

Además, es posible identificar diferentes valores de intensidad, los cuales son proporcionales a los coeficientes de absorción óptica de las capas de tejido que componen la corona del diente. Por lo tanto, la detección de las ondas acústicas con nuestro sistema experimental proporciona una técnica complementaria para el estudio de muestras de tejido duro dental *in vitro*.

Algunas de las ventajas de nuestro sistema de tomografía sobre otros sistemas de medición son: se trata de una técnica de no contacto, pues no se requiere el contacto directo del transductor con la superficie de la muestra; no es una técnica destructiva, ya que se emplea un láser de pulso corto para generar ondas acústicas de alta frecuencia, de tal forma que con la energía/fluencia utilizada en este trabajo no se produce ningún daño al material estudiado mientras este se encuentre sumergido en agua; y no es necesaria la preparación especial de la superficie de la muestra para generar ultrasonido por láser de pulso corto. Por otro lado, al enfocar el haz láser en la superficie de la muestra, se puede lograr un área de interacción muy pequeña (fuente de ultrasonido).

Se espera que los resultados de este trabajo puedan contribuir en un futuro en la localización de características en el interior del diente, y que sean beneficiosos para complementar y mejorar la seguridad del diagnóstico clínico de lesiones dentales, ya que en la actualidad los exámenes visuales y radiográficos son los métodos más utilizados. Además, el tomógrafo fotoacústico construido en este trabajo no se limita al estudio de muestras dentales, también puede ser aplicado a una gran variedad de materiales y muestras biológicas que son de potencial interés en la medicina traslacional.

Anexo

A. Imágenes de tejido duro: Muela 1 y Muela 3

A continuación, se presentan las imágenes PAT 2D de la Muela 1 (Figura 49) y la Muela 3 (Figura 50), las cuales fueron obtenidas con el mismo procedimiento descrito para las imágenes de tejido duro del capítulo 4 “Resultados”.

a. Muela 1

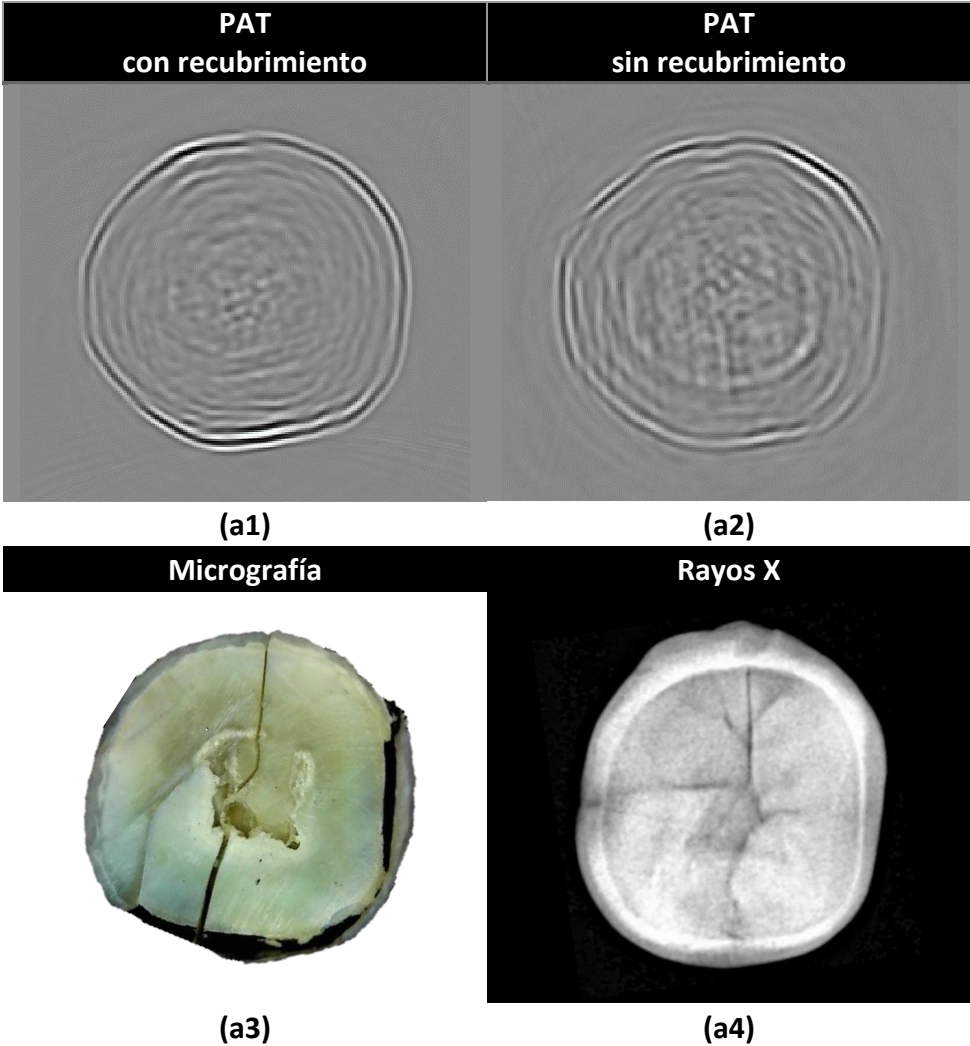


Figura 49. Muela 1. [Parámetros para la reconstrucción: CMuela1_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0055_rf4850_vs1320].

b. Muela 3

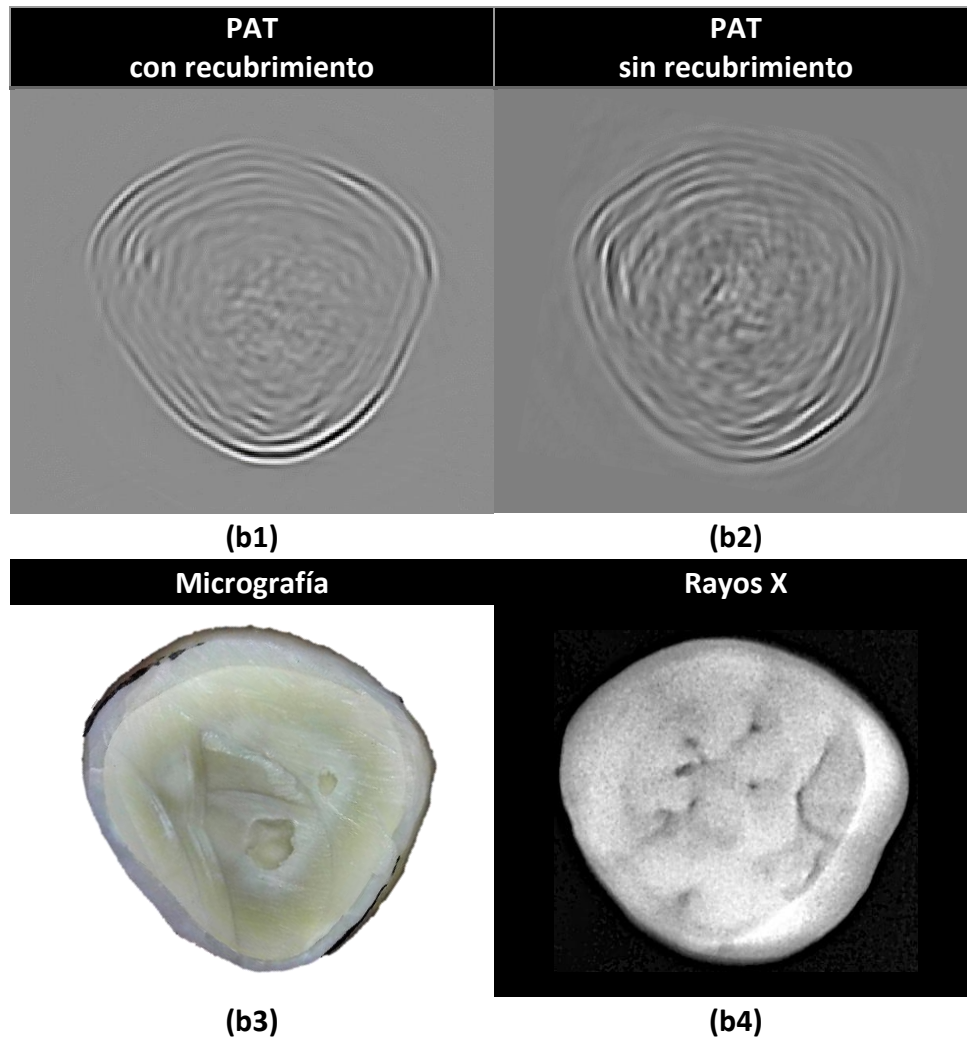


Figura 50. Muela 3. [Parámetros para la reconstrucción: CMuela3_5e-9_Nx1024_0.0158_ri0055_rf4850_vs1320].

Las fluencias incidentes sobre las superficies de las muestras de tejido dental fueron: 413.8 mJ/cm² para la Muela 1 medida “con recubrimiento” de pintura en aerosol negro mate; 2126.3 mJ/cm² para la Muela 1 medida “sin recubrimiento”; 2240.9 mJ/cm² para la Muela 3 medida “con recubrimiento” de pintura en aerosol aluminio; y la misma fluencia de 2240.9 mJ/cm² para la Muela 3 medida “sin recubrimiento”.

Referencias

- [1] E. Hysi, M. J. Moore, E. M. Strohm, and M. C. Kolios, "A tutorial in photoacoustic microscopy and tomography signal processing methods," *J. Appl. Phys.*, vol. 129, no. 14, p. 22, 2021, doi: 10.1063/5.0040783.
- [2] R. Cheng, J. Shao, X. Gao, C. Tao, J. Ge, and X. Liu, "Noninvasive Assessment of Early Dental Lesion Using a Dual-Contrast Photoacoustic Tomography," *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 21798, p. 9, 2016, doi: 10.1038/srep21798.
- [3] C. Carrillo Sánchez, "Current resources in caries diagnosis," *Rev. ADM*, vol. 75, no. 6, pp. 334–339, 2018.
- [4] S. Manohar and R. Daniel, "Photoacoustics: a historical review," *Adv. Opt. Photonics*, vol. 8, no. 4, pp. 586–617, 2016, doi: 10.1364/AOP.8.000586.
- [5] B. E. Treeby and B. T. Cox, "k-Wave: MATLAB toolbox for the simulation and reconstruction of photoacoustic wave fields," *J. Biomed. Opt.*, vol. 15, no. 2, pp. 02131401–02131412, 2010, doi: 10.1117/1.3360308.
- [6] J. Xia, J. Yao, and L. V. Wang, "Photoacoustic tomography: principles and advances," *Prog. Electromagn. Res.*, vol. 147, pp. 1–22, 2014, doi: 10.2528/PIER14032303.
- [7] S. Zackrisson, S. M. W. Y. Van De Ven, and S. S. Gambhir, "Light In and Sound Out: Emerging Translational Strategies for Photoacoustic Imaging," *Cancer Res.*, vol. 74, no. 4, pp. 979–1004, 2014, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2387.
- [8] C. G. A. Hoelen and F. F. M. de Mul, "A new theoretical approach to photoacoustic signal generation," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 106, no. 2, pp. 695–706, 1999.
- [9] C. Haisch, "Photoacoustic spectroscopy for analytical measurements," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 23, no. 1, p. 17, 2012, doi: 10.1088/0957-0233/23/1/012001.
- [10] Y. Zhou, J. Yao, and L. V. Wang, "Tutorial on photoacoustic tomography," *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, no. 6, p. 061007, 2016, doi: 10.1117/1.jbo.21.6.061007.
- [11] R. Pérez Solano, G. Gutiérrez Juárez, and L. Polo-Parada, "Modelo esféricamente simétrico de la señal fotoacústica en el dominio temporal producida por objetos micrométricos: el caso de células de melanoma in vitro," *Superf. y Vacío*, vol. 25, no. 2, pp. 75–81, 2012.
- [12] M. T. Riojas Garza, *Anatomía Dental*, 2a edición. México D.F.: El Manual Moderno, 2009.
- [13] K. J. Anusavice, C. Shen, and H. R. Rawls, *Phillips' Science of Dental Materials*, 12th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2013.
- [14] "Carbonate-hydroxylapatite Mineral Data." <http://webmineral.com/data/Carbonate-hydroxylapatite.shtml#.YkUWkijMJPY> (accessed Mar. 30, 2022).
- [15] J. D. B. Featherstone and D. Fried, "Fundamental interactions of lasers with dental hard tissues," *Med. Laser Appl.*, vol. 16, no. 3, pp. 181–194, 2001, doi: 10.1078/1615-1615-00022.

- [16] T. Kono, T. Sakae, H. Nakada, T. Kaneda, and H. Okada, "Confusion between Carbonate Apatite and Biological Apatite (Carbonated Hydroxyapatite) in Bone and Teeth," *Minerals*, vol. 12, no. 170, p. 11, 2022, doi: 10.3390/min12020170.
- [17] D. W. Blodgett, "Ultrasonic Assessment of Tooth Structure," *Laser Tissue Interact. XIII Photochem. Photothermal, Photomech.*, vol. 4617, pp. 284–288, 2002.
- [18] W. D. Callister Jr and D. G. Rethwisch, *Materials Science and Engineering: An Introduction*, 10th ed. Wiley, 2018.
- [19] K. Luk, I. S. Zhao, N. Gutknecht, and C. H. Chu, "Use of carbon dioxide lasers in dentistry," *Lasers Dent. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–9, 2019, doi: 10.1007/s41547-018-0047-y.
- [20] Olympus, K. A. Fowler, F. H. Hotchkiss, T. V Yamartino, and T. Nelligan, "Important characteristics of sound fields of ultrasonic transducers," 2012. <https://www.olympus-ims.com/es/resources/white-papers/important-characteristics-of-sound-fields-of-ultrasonic-transducers-pdf/> (accessed Jan. 09, 2022).
- [21] S. R. Ghorayeb, C. A. Bertocini, and M. K. Hinders, "Ultrasonography in dentistry," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 55, no. 6, pp. 1256–1266, 2008, doi: 10.1109/TUFFC.2008.788.
- [22] M. Culjat, R. S. Singh, D. C. Yoon, and E. R. Brown, "Imaging of human tooth enamel using ultrasound," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 22, no. 4, pp. 526–529, 2003, doi: 10.1109/TMI.2003.809141.
- [23] C. Moore *et al.*, "Photoacoustic imaging for monitoring periodontal health: A first human study," *Photoacoustics*, vol. 12, pp. 67–74, 2018, doi: 10.1016/j.pacs.2018.10.005.
- [24] L. Fu *et al.*, "Photoacoustic imaging of posterior periodontal pocket using a commercial hockey-stick transducer," vol. 27, no. May, pp. 1–11, 2022, doi: 10.1117/1.JBO.27.5.056005.
- [25] B. Treeby, B. Cox, and J. Jaros, "k-Wave, A MATLAB toolbox for the time-domain simulation of acoustic wave fields," 2010. <http://www.k-wave.org/> (accessed Apr. 11, 2022).
- [26] B. Treeby, B. Cox, and J. Jaros, "k-Wave: A MATLAB toolbox for the time domain simulation of acoustic wave fields [User Manual]," 2016. http://www.k-wave.org/manual/k-wave_user_manual_1.1.1.pdf (accessed Mar. 24, 2022).
- [27] k-Wave, "Examples: Photoacoustic Image Reconstruction." http://www.k-wave.org/documentation/k-wave_photoacoustic_image_reconstruction.php (accessed Nov. 01, 2021).
- [28] J. Petrosino, L. Landini, G. Lizaso, I. Kuri, and I. Canalis, "Teaching of Physical Acoustics with Simulations in k-wave," *elektron*, vol. 3, no. 1, pp. 46–51, 2019, doi: 10.37537/rev.elektron.3.1.74.2019.
- [29] G. M. Ruiz Veloz, "Tomógrafo fotoacústico para imágenes de objetos mili y micrométricos: teoría y experimento," Universidad de Guanajuato, 2019.
- [30] F. Trager, *Handbook of Lasers and Optics*. New York: Springer, 2007.
- [31] Quantel, "Brilliant b, High power compact Q-Switched Nd:YAG oscillator with super gaussian resonator [Datasheet]," 2008. <https://www.velocity.net/laser catalogues/quantel/Brilliant B>

- Qswitched NdYAG oscillator.pdf (accessed Jul. 12, 2021).
- [32] Quantel, “Brilliant & Brilliant b [User Manual],” no. 6.1, p. 157, 2010.
- [33] Tektronix, “Mixed Signal Oscilloscopes: MSO5000B, DPO5000B Series [Datasheet],” 2016. <https://www.tek.com/datasheet/mixed-signal-oscilloscopes> (accessed Jul. 12, 2021).
- [34] Olympus, “Ultrasonic Transducer Catalog,” 2019. [https://www.olympus-ims.com/es/downloads/detail/?0\[downloads\]\[id\]=276824175](https://www.olympus-ims.com/es/downloads/detail/?0[downloads][id]=276824175) (accessed Jan. 07, 2022).
- [35] Olympus, “Sondas de inmersión.” <https://www.olympus-ims.com/es/ultrasonic-transducers/immersion/> (accessed Jan. 23, 2022).
- [36] E. Hering and G. Schonfelder, *Sensors in Science and Technology: Functionality and Application Areas*. Germany: Springer, 2022.
- [37] Thorlabs, “PDA10A(-EC), Si Amplified Fixed Gain Detector [User Guide],” 2017. <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=PDA10A&pn=PDA10A> (accessed Jul. 12, 2021).
- [38] Schneider Electric, “Stepper Motors: NEMA 17 [Datasheet].” https://www.novantaims.com/downloads/datasheets/Nema17_motors.pdf (accessed Feb. 07, 2022).
- [39] Allegro MicroSystems, “A4988 DMOS Microstepping Driver with Translator And Overcurrent Protection [Datasheet],” 2014. https://www.pololu.com/file/0J450/a4988_DMOS_microstepping_driver_with_translator.pdf (accessed Jan. 26, 2022).
- [40] Arduino, “Arduino.” <https://www.arduino.cc/> (accessed Dec. 13, 2021).
- [41] FTDI Chip, “FT232R USB UART IC [Datasheet],” *Future Technology Devices International Limited*, 2008. https://ftdichip.com/wp-content/uploads/2020/08/DS_FT232R.pdf (accessed Jan. 26, 2022).
- [42] Tektronix, “TekVISA Connectivity Software, V4.0.4 [Driver].” <https://www.tek.com/en/support/software/driver/tekvisa-connectivity-software-v404> (accessed Mar. 06, 2022).
- [43] MathWorks, “Instrument Control Toolbox R2021a [User’s Guide],” *MATLAB & SIMULINK*, pp. 355–363, 2021.
- [44] Tektronix, “MSO5000/DPO5000 Series Version 1.1 [Lab Exercise Book],” pp. 206–210, 2012, [Online]. Available: www.tek.com/software.
- [45] Arduino, “Arduino Software (IDE).” <https://www.arduino.cc/en/software> (accessed Dec. 13, 2021).
- [46] Y. Zhang and L. Wang, “Adaptive dual-speed ultrasound and photoacoustic computed tomography,” *Photoacoustics*, vol. 27, p. 100380, 2022, doi: 10.1016/j.pacs.2022.100380.
- [47] Laser Institute of America [LIA], “ANSI Z136.1-2014 American National Standard For Safe Use Of Lasers,” *Ansi webstore*. <https://webstore.ansi.org/Standards/LIA/ANSIZ1362014> (accessed Apr. 05, 2022).

