

Universidad Autónoma de Baja California

Instituto de Ingeniería

Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería



**Caracterización de nanopartículas mediante
técnicas de visión artificial**

*Tesis para Obtener el Grado de:
Doctor en Ciencias*

Presenta:

Luis Armando Jara Lugo

Director de Tesis:

Dr. Jesús Caro Gutiérrez

Codirector de Tesis:

Dr. Félix Fernando González Navarro

Mexicali, B. C.

Noviembre, 2025

Dedicaciones

A Dios por darme la oportunidad de existir, a mi familia por apoyarme en cada momento, a mi pareja por ayudarme a ser mejor persona, a mis maestros por compartir sus conocimientos.

Agradecimientos

A mi director de tesis el Dr. Jesús Caro Gutiérrez y a mi codirector el Dr. Félix Fernando González Navarro por su guía y apoyo en todo momento durante mi formación.

Al Instituto de Ingeniería que abrió sus puertas y prestó sus instalaciones para que pudiera realizar este trabajo de investigación.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SE-CIHTI) y a la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) por el apoyo brindado para realizar mis estudios de posgrado.

Resumen

La presente investigación aborda el desarrollo de una metodología para la caracterización automática de nanopartículas mediante técnicas de visión por computadora. Se implementaron y evaluaron métodos de segmentación tradicionales, como KMC y AT, así como modelos avanzados de segmentación y detección, incluyendo U-Net, YOLO y Mask R-CNN. Las imágenes utilizadas provienen de microscopía electrónica y fueron procesadas para extraer métricas morfológicas, particularmente el diámetro de las nanopartículas. El desempeño de cada método se evaluó mediante métricas de exactitud en la segmentación y mediante el RMSE, identificando que tres modelos alcanzaron un RMSE inferior a 3.16 nanómetros, lo que los posiciona como alternativas viables para sustituir el método manual de medición. Como resultado final, se desarrolló una herramienta informática capaz de procesar imágenes de manera automatizada para inferir el diámetro promedio, reduciendo la intervención humana y mejorando la reproducibilidad del análisis.

Contenido

1	Introducción	1
1.1	Planteamiento del problema	4
1.2	Justificación	4
1.3	Objetivo general	6
1.3.1	Objetivos específicos	6
2	Estado del arte	8
3	Marco teórico	12
3.1	Nanomateriales	12
3.2	Nanopartículas	13
3.2.1	Propiedades y aplicaciones	13
3.3	Microscopía electrónica	14
3.3.1	Microscopio Electrónico de Barrido	15
3.3.2	Microscopio Electrónico de Transmisión	16
3.4	Segmentación de imágenes	17
3.4.1	Técnicas de segmentación	17
3.4.2	Aplicaciones en la caracterización de nanopartículas	18
3.5	Visión por computadora	19
3.5.1	Visión por computadora tradicional	21
3.5.2	Visión por computadora avanzada	23
3.6	Caracterización de nanopartículas	28
3.6.1	Importancia de la caracterización en aplicaciones	32
3.7	Evaluación y métricas utilizadas	32
3.7.1	Matriz de confusión y métricas derivadas	33
3.7.2	Error Cuadrático Medio	35
3.7.3	Rango intercuartílico como criterio de filtrado	36
3.7.4	Consideraciones adicionales	37
4	Materiales y Métodos	38
4.1	Software y hardware	38
4.2	Metodologías	39
4.3	Metodología de segmentación y caracterización avanzada	40

4.3.1	Adquisición de Imágenes	40
4.3.2	Preprocesamiento de imágenes	41
4.3.3	Etiquetado de imágenes	42
4.3.4	Entrenamiento de los Modelos	44
4.3.5	Segmentación	45
4.3.6	Postprocesamiento	45
4.3.7	Caracterización	46
4.3.8	Validación	47
4.4	Metodología de segmentación y caracterización tradicional	48
4.4.1	Adquisición y preprocesamiento	48
4.4.2	Segmentación	48
4.4.3	Postprocesamiento	48
4.4.4	Caracterización	48
5	Resultados	50
5.1	Resultados	50
5.1.1	Segmentación con método AT	51
5.1.2	Segmentación con método KMC	56
5.1.3	Segmentación con método U-Net	61
5.1.4	Segmentación de U-Net con aumentación de datos (U-Net DA)	66
5.1.5	Segmentación con el método Mask R-CNN	71
5.1.6	Estimación de diámetros con el método YOLO	75
5.1.7	Estimación de diámetros de YOLO con aumentación de datos (YOLO DA)	77
5.2	Análisis según la dificultad de segmentación	80
5.3	Comparativa del RMSE	82
5.4	Herramienta para caracterización	84
5.5	Análisis detallado del método U-Net DA	87
5.6	Discusión	89
6	Conclusiones	91
6.1	Conclusiones	91
6.2	Trabajos futuros	92
7	Anexos A	94
7.0.1	Métodos tradicionales	94
7.0.2	Métodos avanzados	99
	Referencias	115

Figuras

1.1	Ejemplos de imágenes de nanopartículas capturadas con TEM (imagen de la izquierda) y SEM (imagen de la derecha).	3
1.2	Caracterización de nanopartículas mediante rutinas semiautomáticas (imagen obtenida por un SEM).	5
3.1	Clasificación de nanomateriales según el tamaño de sus dimensiones.	13
3.2	Microscopio electrónico de barrido y sus componentes.	16
3.3	Microscopio electrónico de transmisión y sus componentes.	17
3.4	Ejemplo de imágenes SEM/TEM segmentadas.	20
3.5	Arquitectura U-Net utilizada para segmentación semántica.	26
3.6	Arquitectura YOLO para la segmentación mediante cuadros delimitadores de imágenes de nanopartículas.	27
3.7	Arquitectura de Mask R-CNN para la generación de máscaras binarias y detección de cuadros delimitadores en imágenes de nanopartículas.	28
3.8	Métodos de visión por computadora para la detección, clasificación y segmentación de nanopartículas.	28
3.9	Clasificación de píxeles para evaluación de segmentación.	34
4.1	Metodología utilizada para la segmentación de los métodos avanzados.	39
4.2	Metodología utilizada para la segmentación de los métodos tradicionales.	40
4.3	Clasificación de imágenes según nivel de dificultad para la segmentación.	41
4.4	Etiquetado de imágenes mediante herramienta de píxeles en MATLAB.	43
4.5	Etiquetado con herramienta de polígonos en MATLAB.	43
4.6	Etiquetado con herramienta de rectángulo en MATLAB.	44
4.7	Salidas de segmentación: máscara binaria (izquierda) y cuadros delimitadores (derecha).	46
5.1	Dataset de prueba clasificado según la dificultad de segmentación. .	51
5.2	Segmentaciones de las imágenes (s) y (u) con el método AT.	53
5.3	Resultado de la segmentación de la imagen (u) con KMC.	58

5.4	Segmentación de las imágenes (d), (g) y (k) con KMC (imágenes con RMSE muy elevado).	60
5.5	Resultados de la segmentación de las imágenes (i), (k), (l) y (p) con U-Net.	65
5.6	Resultados de la segmentación de las imágenes (p) y (q) con RMSE elevados.	70
5.7	Cuadros delimitadores generados por la segmentación de Mask R-CNN en la imagen "l".	74
5.8	Segmentación de Mask R-CNN con imágenes fáciles.	75
5.9	Cuadros delimitadores generados con YOLO DA en las imágenes (c) y (k) del dataset de prueba (imágenes con RMSE elevados).	79
5.10	Resultados de las segmentaciones de todos los métodos con imágenes fáciles.	80
5.11	Resultados de las segmentaciones de todos los métodos con imágenes intermedias.	80
5.12	Resultados de las segmentaciones de todos los métodos con imágenes difíciles.	81
5.13	Aplicación para la caracterización automática de nanopartículas (pantalla de inicio).	85
5.14	Aplicación para la caracterización automática de nanopartículas (pantalla con imagen cargada y diámetros calculados).	86
5.15	Distribuciones de los diámetros reales y estimados en las imágenes (s) y (t).	88

Tablas

4.1	Opciones de entrenamiento utilizadas para cada modelo	45
5.1	Segmentación cuantitativa utilizando el método AT	52
5.2	Estimación de diámetros utilizando el método AT.	55
5.3	Resultados de las segmentaciones utilizando el método KMC.	57
5.4	Estimación de diámetros utilizando el método KMC.	59
5.5	Segmentación utilizando el método U-Net.	62
5.6	Estimación de diámetros utilizando el método U-Net.	63
5.7	Segmentación con el método U-Net DA.	67
5.8	Estimación de diámetros utilizando el método U-Net DA.	69
5.9	Segmentación utilizando el método Mask R-CNN.	72
5.10	Estimación de diámetros utilizando el método Mask R-CNN.	73
5.11	Estimación de diámetros utilizando el método YOLO.	76
5.12	Estimación de diámetros utilizando el método YOLO DA.	78
5.13	Comparación del RMSE por método, expresado en nanómetros. . .	84

1. Introducción

La utilización de materiales a escala nanométrica (nanomateriales) ha revolucionado múltiples sectores debido a sus propiedades físicas, químicas y mecánicas únicas, que emergen cuando los materiales son manipulados a escalas nanométricas.

Por ejemplo, en el ámbito de la medicina, los nanomateriales se utilizan en sistemas de liberación controlada de fármacos, generando tratamientos más precisos y efectivos con menores efectos secundarios [1]. En el sector de la energía, han permitido el desarrollo de baterías de mayor duración y paneles solares más eficientes, contribuyendo a la sostenibilidad energética [2]. Además, en la industria de los materiales, se emplean en la creación de recubrimientos ultrarresistentes, que mejoran el rendimiento de productos en sectores como la automoción y la construcción [3]. Existen muchos otros sectores que se benefician del uso de nanomateriales para la innovación, estos avances destacan el rol crucial de los nanomateriales en la innovación tecnológica y su potencial para abordar desafíos globales.

Entre los diversos tipos de nanomateriales, las nanopartículas se destacan como una de las categorías más importantes debido a su amplia aplicabilidad y sus propiedades únicas, que resultan de su alta relación superficie-volumen y tamaño reducido [4]. Las nanopartículas se emplean en una variedad de industrias y apli-

caciones que van desde la biomedicina hasta la electrónica, gracias a su capacidad para interactuar a nivel molecular de manera controlada y precisa. En el campo biomédico, por ejemplo, permiten el diseño de terapias dirigidas, diagnósticos avanzados y materiales de ingeniería de tejidos, que mejoran los resultados en la medicina regenerativa y la detección de enfermedades [5]. Además, en el sector ambiental, las nanopartículas se utilizan para desarrollar tecnologías de remediación que ayudan a reducir la contaminación y a purificar el agua [6]. Su versatilidad y sus propiedades excepcionales han consolidado a las nanopartículas como herramientas cruciales para el avance tecnológico y científico en múltiples áreas.

Por otra parte, las funciones de los nanomateriales y en específico las nanopartículas dependen de sus propiedades, estas deben cumplir con ciertas características para obtener dichas propiedades. Es por eso que la caracterización de nanopartículas juega un papel importante en la nanotecnología.

La microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) y la microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) son técnicas ampliamente utilizadas para la caracterización de nanomateriales debido a su capacidad para visualizar detalles estructurales y morfológicos a escalas extremadamente pequeñas. TEM permite la obtención de imágenes con alta resolución que revelan la estructura interna de las nanopartículas, gracias al paso de un haz de electrones a través de una muestra ultrafina, lo que ofrece información detallada sobre la cristalografía y la composición interna de los materiales [7]. Por otro lado, SEM emplea un haz de electrones que interactúa con la superficie de la muestra, proporcionando imágenes topográficas de alta resolución y datos sobre la distribución de tamaños y formas de las partículas en tres dimensiones [8]. Estas técnicas son esenciales para la investigación de nanomateriales, ya que permiten una carac-

terización precisa de sus propiedades físicas y estructurales, fundamentales para su posterior análisis y aplicación en diversos campos de la ciencia y tecnología. En la Figura 1.1 se pueden observar ejemplos de imágenes obtenidas por ambos microscopios.

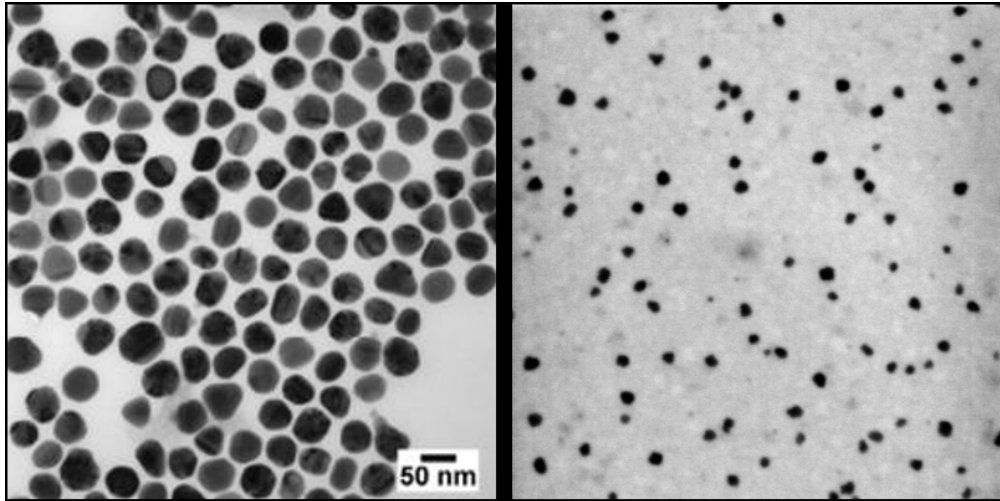


Figura 1.1: Ejemplos de imágenes de nanopartículas capturadas con TEM (imagen de la izquierda) y SEM (imagen de la derecha).

La caracterización de nanopartículas mediante técnicas de microscopía electrónica tradicionalmente requiere análisis manual, que se ha optimizado con la introducción de software de análisis semiautomático. Estas herramientas permiten medir parámetros claves de las nanopartículas, como tamaño, forma y distribución, directamente sobre las imágenes obtenidas de TEM o SEM, facilitando una evaluación más eficiente. En lo que respecta a este trabajo de investigación se realiza una caracterización automática mediante análisis de imagen y técnicas de segmentación de imágenes para inferir el diámetro promedio de las nanopartículas en la imagen.

1.1 Planteamiento del problema

La caracterización de nanopartículas es realizada de manera tradicional mediante rutinas semiautomáticas con ayuda de programas de análisis. Sin embargo, aunque estos programas automatizan ciertas etapas del proceso, el análisis de imágenes de nanopartículas sigue siendo tedioso y consume una cantidad considerable de tiempo y recursos humanos, como lo podemos observar en la Figura 1.2. Esto se debe a que el operador debe ajustar constantemente los parámetros de procesamiento y verificar los resultados, especialmente cuando existen variaciones en la morfología de las partículas o la calidad de las imágenes [9]. Además, ya que la caracterización de imágenes es llevada a cabo por observadores humanos, el proceso está expuesto a subjetividad y podría presentar variabilidad en las mediciones si se realiza por diferentes personas o incluso por el mismo especialista [10]. Finalmente, y en adición a lo anterior, el uso prolongado del SEM o TEM puede dañar las muestras y generar nuevos costos.

1.2 Justificación

Estas limitaciones resaltan la necesidad de desarrollar métodos más avanzados, como los basados en visión por computadora y aprendizaje automático, que puedan facilitar una caracterización rápida y precisa sin la intervención intensiva del operador.

Los métodos de visión por computadora y los algoritmos de aprendizaje automático han surgido como alternativas avanzadas para optimizar la caracterización de nanopartículas, abordando las limitaciones de los enfoques semiau-

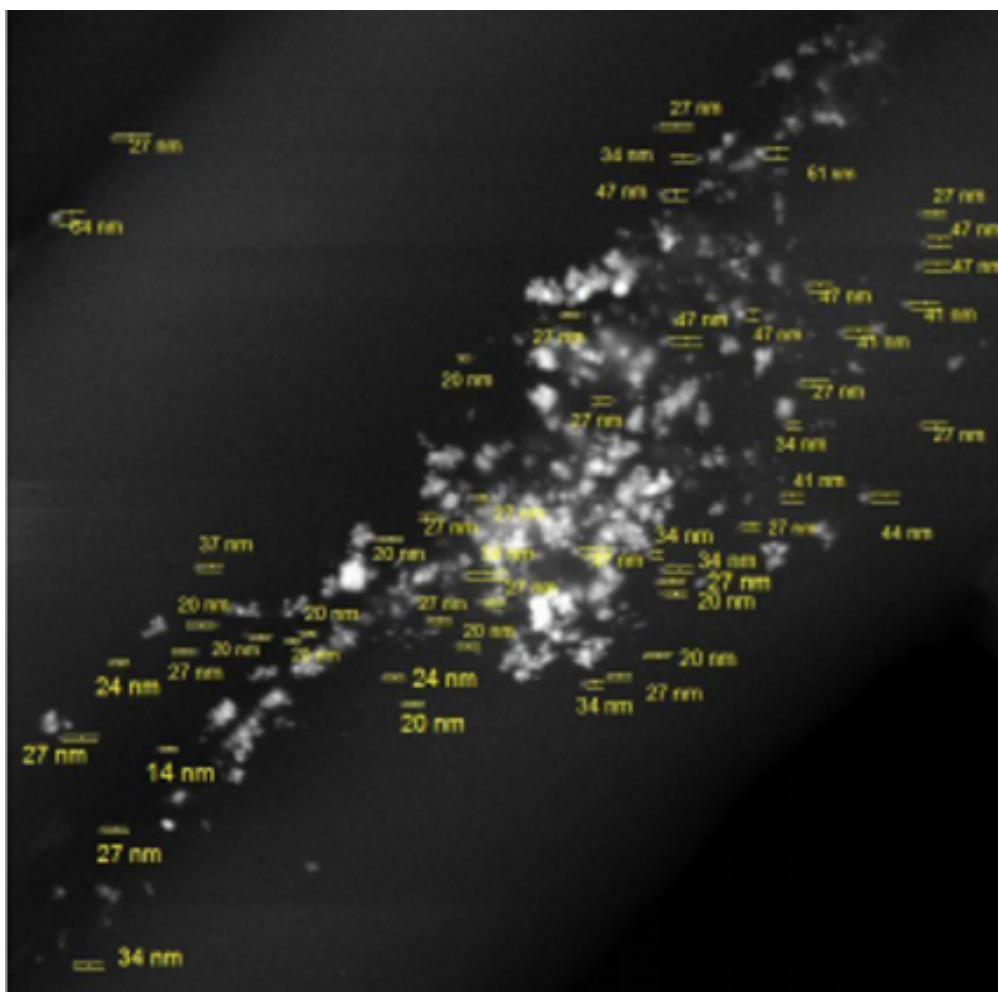


Figura 1.2: Caracterización de nanopartículas mediante rutinas semiautomáticas (imagen obtenida por un SEM).

tomáticos. La visión por computadora permite la segmentación y clasificación precisa de las partículas en las imágenes de microscopía mediante técnicas avanzadas de procesamiento digital, lo que posibilita la extracción automatizada de características como tamaño, forma y textura [11]. Además, los algoritmos de aprendizaje automático, en especial aquellos basados en redes neuronales profundas, han demostrado un rendimiento sobresaliente en la identificación de patrones complejos y en la reducción de la intervención manual. Estos algoritmos pueden

entrenarse para reconocer automáticamente nanopartículas y medir sus atributos con alta precisión y velocidad, incluso en grandes volúmenes de datos.

Este enfoque no solo reduce el tiempo y los recursos necesarios para el análisis, sino que también mejora la reproducibilidad y precisión de los resultados, permitiendo una caracterización más robusta y confiable de las nanopartículas.

1.3 Objetivo general

Caracterizar nanopartículas a través de técnicas de visión por computadora y algoritmos de aprendizaje profundo en imágenes SEM/TEM.

1.3.1 Objetivos específicos

1. Adquirir imágenes de nanopartículas para crear un conjunto de datos propio (*dataset*).
2. Realizar el preprocesamiento de las imágenes del *dataset* para que todas tengan el mismo tamaño y número de canales.
3. Clasificar las imágenes según su dificultad para ser segmentadas, en tres niveles: fáciles, intermedias y difíciles.
4. Etiquetar los dataset de entrenamiento y prueba.
5. Aplicar técnicas de segmentación, tanto tradicionales (basadas en análisis de imágenes) como avanzadas (basadas en aprendizaje profundo).
6. Extraer el diámetro de las nanopartículas segmentadas.

7. Realizar la validación de los resultados obtenidos en comparación con el método manual.
8. Implementar los métodos de segmentación óptimos en una aplicación destinada a la caracterización automática de nanopartículas.

2. Estado del arte

La caracterización de nanopartículas a menudo implica el uso de técnicas avanzadas de imagen, como la microscopía electrónica de barrido y la microscopía electrónica de transmisión. Estas técnicas permiten una visualización de alta resolución y una medición precisa de muestras de nanopartículas. Al dirigir un haz de electrones sobre la muestra, SEM y TEM generan imágenes detalladas que capturan sus características morfológicas con precisión nanométrica. Estas imágenes son posteriormente analizadas por expertos, a menudo con el apoyo de software semi-automatizado, para medir y caracterizar partículas individuales. No obstante, este proceso resulta laborioso, lento y propenso a subjetividades, especialmente al trabajar con grandes conjuntos de datos. La automatización de esta etapa permitiría reducir significativamente el error humano, mejorar la reproducibilidad y escalar el análisis de nanopartículas en contextos tanto de investigación como industriales [12].

La detección automática de nanopartículas presenta diversos desafíos, principalmente debido a su complejidad a escala nanométrica [13–15], la baja calidad de las imágenes, la variabilidad en tamaño y forma, y la frecuente superposición de

partículas. Ante esta problemática, se vuelve indispensable desarrollar métodos automáticos de procesamiento de imágenes que optimicen la detección y caracterización, ofreciendo resultados precisos y reproducibles sobre las características físicas de las nanopartículas.

Para abordar estas limitaciones, la segmentación efectiva se establece como una etapa fundamental. En años recientes, las redes neuronales convolucionales (CNN, por sus siglas en inglés) [16] han recibido especial atención debido a su éxito en tareas de segmentación de estructuras visuales complejas similares a las nanopartículas.

Por ejemplo, en [17], se introdujo un enfoque basado en CNN multiescala y particionado de grafos para detectar citoplasmas y núcleos cervicales; en [18], se utilizó el método de Hough-voting para la localización de núcleos; en [19], una CNN fue combinada con fusión iterativa de regiones para representar la forma de núcleos; y en [20], una red CNN fue integrada a un modelo de deformación para segmentar células individuales en conglomerados solapados en pruebas de Papanicolaou.

Aunque estos enfoques utilizan técnicas clásicas de visión por computadora, han servido de base para métodos más sofisticados. En la actualidad, los modelos de aprendizaje profundo han cobrado protagonismo en la segmentación de nanopartículas, especialmente a través de técnicas como la segmentación semántica y por instancia. Modelos como Mask Region-based Convolutional Neural Network (Mask R-CNN) [21], MO-CNN [22] y U-Net [23] han sido aplicados exitosamente, permitiendo un procesamiento eficiente y preciso de imágenes de alta resolución. Esta segmentación automática es útil en tareas como la selección y reconocimiento de partículas, así como en el análisis de heterogeneidad, facilitando la extracción

de información morfológica en imágenes SEM/TEM [22].

Para mejorar los modelos generados por estas técnicas, la generación de datos sintéticos ha sido una herramienta clave para superar la falta de conjuntos de datos etiquetados. En [24], se utilizaron simulaciones para entrenar un modelo U-Net capaz de segmentar y seguir dinámicamente nanopartículas en imágenes de microscopía electrónica ambiental (ETEM, por sus siglas en inglés). De forma similar, en [25] se emplearon imágenes sintéticas junto a CNNs para segmentar y reconstruir nanopartículas en 3D, mientras que en [26] se utilizaron herramientas de renderizado como Blender para generar imágenes fotorrealistas con etiquetas automáticas, alcanzando rendimientos comparables al uso de datos reales. Sin embargo, el uso de datos sintéticos conlleva limitaciones como la falta de realismo completo, el riesgo de sobreajuste a patrones artificiales y la necesidad de validación experimental rigurosa. Por estas razones, esta investigación opta por trabajar con datos reales, asegurando la aplicabilidad directa de los resultados, aunque también se hará uso de aumentación de datos para comparar los rendimientos de los diferentes modelos y elegir los óptimos.

Si bien modelos como U-Net++ y U-Net 3+ han demostrado ofrecer mayor precisión en comparación con U-Net, gracias a mejoras arquitectónicas como la fusión multiescala y las conexiones densas [27], en muchos casos prácticos estas mejoras no justifican el aumento en complejidad. Por ello, U-Net sigue siendo preferido debido a su eficiencia computacional y facilidad de implementación, lo cual lo convierte en una opción adecuada para entornos con capacidades limitadas.

Finalmente, el enfoque NP-SAM propuesto en [28], ha mostrado ser altamente eficaz en casos complejos, como la superposición parcial y la variabilidad en tamaño. Sin embargo, su implementación requiere recursos computacionales

considerables y ajustes específicos en comparación de modelos como U-Net, Mask R-CNN, algoritmo de agrupamiento medio (KMC, por sus siglas en inglés), y umbralización adaptativa (AT, por sus siglas en inglés), los cuales también han sido probados en la segmentación de nanopartículas [27], además ofrecen una solución más simple y eficiente, especialmente adecuada para laboratorios o entornos industriales con restricciones de hardware.

3. Marco teórico

3.1 Nanomateriales

En la actualidad, la síntesis de nanomateriales es una de las ramas más activas dentro de la nanociencia [29]. La definición de nanomaterial engloba a los materiales que tienen al menos una de sus dimensiones en el rango de la nanoescala, es decir, inferior a 100 nanómetros. La cualidad más importante y sorprendente de esta familia de materiales es el desarrollo de importantes propiedades dependientes del tamaño, debido principalmente a los siguientes factores:

- Los nanomateriales tienen una mayor área superficial cuando los comparamos con el mismo material a escala macroscópica. Esto hace que el material sea más reactivo.
- Los efectos cuánticos pueden llegar a dominar el comportamiento de la materia en la nanoescala, afectando sus propiedades ópticas, eléctricas y magnéticas.

El incremento del área superficial y de los efectos cuánticos puede producir

cambios significativos en sus propiedades en comparación con su análogo en volumen, por lo que se considera que al disminuir la dimensionalidad se obtiene un nuevo material [30].

3.2 Nanopartículas

Las nanopartículas, consideradas uno de los tipos de nanomateriales más destacados, son estructuras con dimensiones entre 1 y 100 nanómetros y se clasifican como nanomateriales de 0 dimensiones (0D), ya que ninguna de sus dimensiones sobrepasa los 100 nanómetros, tal y como podemos observar en la Figura 3.1.

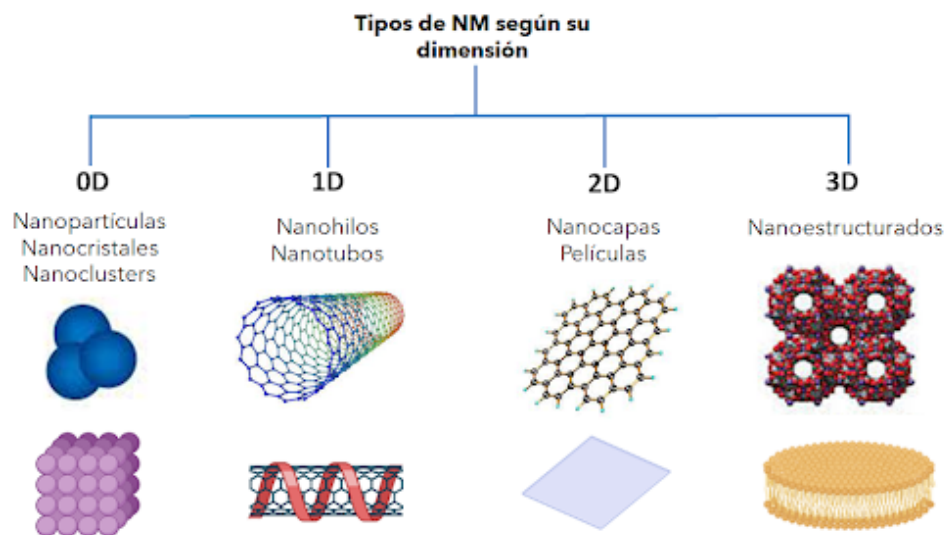


Figura 3.1: Clasificación de nanomateriales según el tamaño de sus dimensiones.

3.2.1 Propiedades y aplicaciones

Las nanopartículas presentan propiedades físicas, químicas y biológicas que varían significativamente de los materiales a escala macroscópica. Estas propiedades es-

pecíficas de las nanopartículas, como su alta relación superficie-volumen y su reactividad mejorada, amplían sus aplicaciones, pero también imponen desafíos en su caracterización precisa. La pequeña escala de las nanopartículas exige técnicas avanzadas para determinar su tamaño, forma, composición y estructura superficial, características que son fundamentales para predecir y controlar su comportamiento en aplicaciones específicas [31].

Como se mencionó anteriormente, gracias a sus propiedades únicas, las nanopartículas han demostrado un impacto significativo en áreas como la biomedicina, la electrónica y la energía [32]. En biomedicina, por ejemplo, se utilizan para diseñar sistemas de liberación controlada de fármacos, donde su alta relación superficie-volumen permite una mayor eficacia en la absorción y liberación de compuestos activos [33].

En la electrónica, las nanopartículas metálicas se emplean en el desarrollo de dispositivos de alta precisión y bajo consumo energético, mientras que en el sector energético, contribuyen a mejorar la eficiencia de los sistemas de almacenamiento y conversión de energía, como las baterías y las celdas solares [34].

Estos son solo algunos ejemplos de aplicaciones de nanopartículas en diferentes áreas, destacando cómo las propiedades de las nanopartículas impulsan su aplicación en tecnologías avanzadas y confirman la necesidad de caracterizarlas de manera precisa para optimizar su rendimiento en cada contexto.

3.3 Microscopía electrónica

La microscopía electrónica es una técnica avanzada que permite la observación de detalles estructurales a nivel nanométrico mediante el uso de electrones en lugar

de luz visible, logrando resoluciones imposibles de alcanzar con los microscopios ópticos convencionales. Este tipo de microscopía es fundamental en campos como la ciencia de materiales, la biología y la nanotecnología, ya que permite estudiar la morfología, la composición y las propiedades de las estructuras a escalas extremadamente pequeñas [35].

Los tipos principales de microscopía electrónica son SEM y TEM. A continuación, se exploran sus características y aplicaciones en el análisis de nanopartículas.

3.3.1 Microscopio Electrónico de Barrido

El SEM (Figura 3.2) utiliza un haz de electrones que se desplaza sobre la superficie de la muestra para producir una imagen bidimensional detallada de su topografía. Esta técnica es útil para obtener información sobre la morfología superficial y la estructura de nanopartículas. Los electrones interactúan con los átomos de la superficie, generando señales secundarias que son recolectadas y transformadas en imágenes de alta resolución [36].

Aplicaciones del SEM para la caracterización de nanopartículas:

- **Topografía y morfología:** Permite observar la forma y el tamaño de las nanopartículas, lo cual es crucial para la caracterización física.
- **Análisis de composición:** Con técnicas como la Espectroscopía de Rayos X de Dispersión de Energía (EDS), el SEM también facilita la identificación de elementos presentes en la muestra.

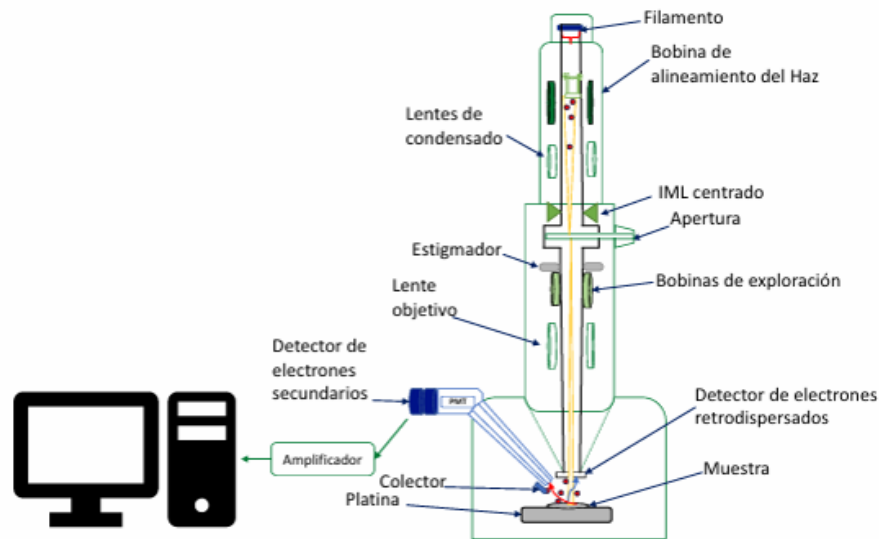


Figura 3.2: Microscopio electrónico de barrido y sus componentes.

3.3.2 Microscopio Electrónico de Transmisión

El TEM (Figura 3.3), a diferencia del SEM, permite la visualización de la estructura interna de una muestra a nivel atómico, ya que los electrones atraviesan la muestra, proporcionando imágenes de alta resolución que permiten observar la disposición de átomos individuales. Esto lo convierte en una herramienta esencial para la caracterización estructural de nanopartículas, así como para el estudio de sus propiedades cristalinas [37].

Aplicaciones del TEM para la caracterización de nanopartículas:

- **Resolución de estructura interna:** Ideal para analizar el arreglo atómico y las características internas de las nanopartículas.
- **Cristalografía:** Permite la identificación de patrones de difracción que ayudan a entender la estructura cristalina.

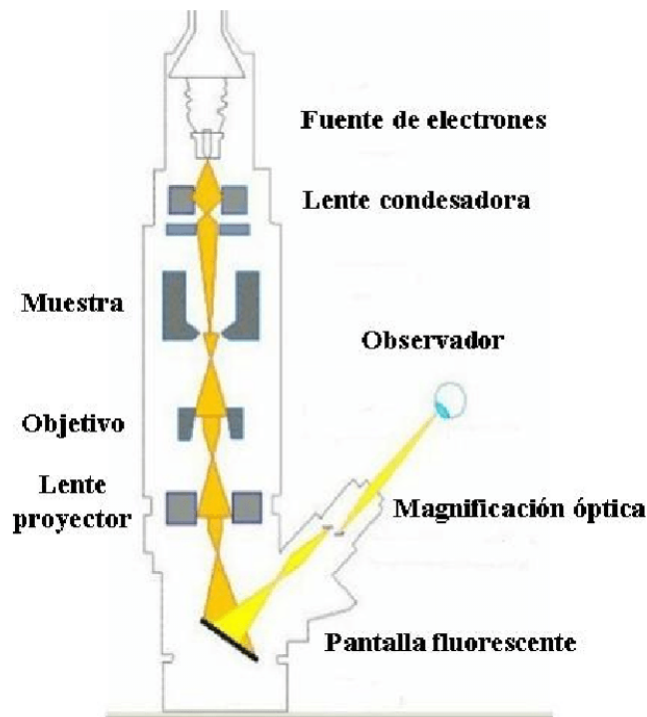


Figura 3.3: Microscopio electrónico de transmisión y sus componentes.

3.4 Segmentación de imágenes

En el ámbito de la caracterización de nanopartículas, la segmentación de imágenes, facilita el análisis automatizado mediante el uso de algoritmos.

3.4.1 Técnicas de segmentación

Existen diversas técnicas de segmentación, las cuales pueden clasificarse en tres categorías principales:

- **Métodos basados en umbral:** Estos métodos separan las regiones de la imagen en función de niveles de intensidad específicos, identificando las partículas de interés como aquellas áreas que cumplen con ciertos valores de

umbral. Aunque simples y efectivos en algunas aplicaciones, los métodos de umbral pueden verse afectados por problemas de iluminación o ruido en las imágenes [38].

- **Segmentación basada en contornos:** Este enfoque detecta los bordes de los objetos en la imagen mediante técnicas de detección de bordes. La segmentación basada en contornos es útil para identificar los límites de las nanopartículas, aunque su precisión depende de la calidad de la imagen y de la claridad de los bordes entre las partículas y el fondo [39].
- **Segmentación basada en aprendizaje profundo:** Los métodos modernos de segmentación, como las CNN y las redes totalmente convolucionales (FCN, por sus siglas en inglés), utilizan algoritmos de aprendizaje profundo para segmentar imágenes de forma automática y precisa. Estas redes aprenden a segmentar imágenes a partir de grandes volúmenes de datos de entrenamiento, logrando una precisión muy alta en la identificación de nanopartículas [40].

3.4.2 Aplicaciones en la caracterización de nanopartículas

La segmentación de imágenes es fundamental para la caracterización de nanopartículas, ya que permite:

- **Identificación y aislamiento de partículas:** Aislar cada nanopartícula para realizar mediciones individuales de tamaño y forma.
- **Análisis de morfología:** Evaluar parámetros morfológicos claves, como el área, diámetro y perímetro.

- **Cuantificación de la distribución de tamaños:** Medir el tamaño de un gran número de partículas y determinar su distribución en la muestra.

3.5 Visión por computadora

La visión por computadora es un campo de la inteligencia artificial (IA) y la informática que permite que las máquinas comprendan y extraigan información significativa de imágenes y videos. A diferencia de los sistemas de percepción humana, los algoritmos de visión por computadora pueden analizar grandes volúmenes de imágenes de manera rápida y precisa, permitiendo la automatización de tareas complejas como la segmentación, clasificación y detección de objetos [41].

En el contexto de la caracterización de nanopartículas, la visión por computadora permite automatizar el análisis de imágenes obtenidas por microscopía electrónica (imágenes SEM/TEM), facilitando la identificación, el conteo y la medición de las partículas en una muestra. Esto es especialmente útil en estudios de materiales donde el análisis manual sería arduo y propenso a errores.

Las imágenes SEM/TEM son regularmente analizadas para obtener las características de las nanopartículas. Hoy en día, existen métodos de segmentación de imágenes que pueden acelerar ese proceso. La segmentación de imágenes es un proceso fundamental en el campo de la visión por computadora. Consiste en dividir una imagen en múltiples segmentos o regiones, que representan diferentes objetos o partes de interés dentro de la imagen. Esta técnica es crucial para la extracción de características, clasificación y análisis cuantitativo de los elementos presentes en una imagen, facilitando el estudio detallado de estructuras a nivel microscópico [42].

La segmentación permite identificar, aislar y analizar las partículas en imágenes SEM/TEM como se puede ver en la Figura 3.4. Este proceso es esencial para lograr mediciones precisas del tamaño, forma y distribución de las nanopartículas.

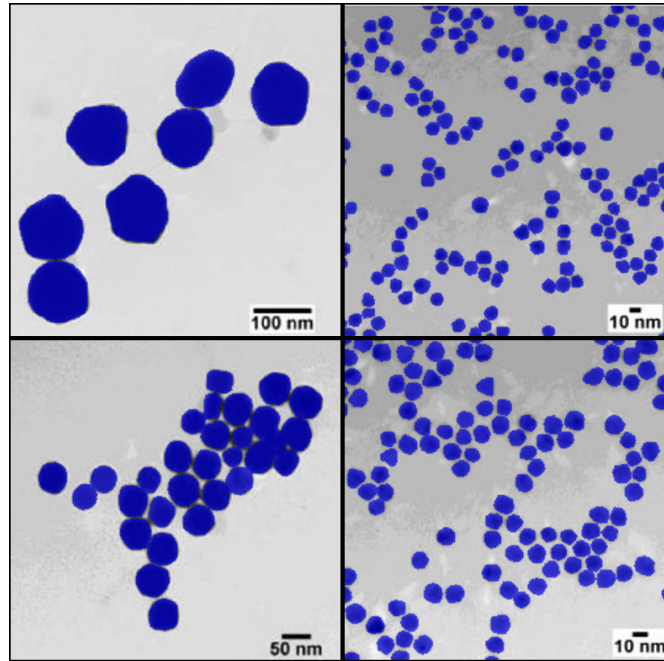


Figura 3.4: Ejemplo de imágenes SEM/TEM segmentadas.

La visión por computadora tiene como objetivo permitir que las computadoras analicen, interpreten y comprendan información visual del mundo real. Esta tecnología ha encontrado aplicaciones exitosas en una gran variedad de ámbitos, incluyendo la medicina, la robótica, la seguridad, la agricultura de precisión, y en el caso particular de esta investigación, en la caracterización de nanopartículas a partir de imágenes SEM/TEM.

Desde un punto de vista histórico y funcional, la visión por computadora puede dividirse en dos enfoques principales: la visión por computadora tradicional y la visión por computadora avanzada basada en aprendizaje profundo. A contin-

uación, se describen ambos enfoques con énfasis en los métodos utilizados en esta tesis.

3.5.1 Visión por computadora tradicional

La visión por computadora tradicional se basa en técnicas algorítmicas tradicionales que utilizan principios matemáticos y estadísticos para el análisis de imágenes. Estas técnicas no requieren entrenamiento previo y suelen ser computacionalmente eficientes. Se fundamentan en operaciones como el filtrado espacial, la transformada de Fourier, detección de bordes, umbralización y agrupamiento de intensidades.

A continuación, se presentan algunos de los métodos propuestos en la literatura para la segmentación de nanopartículas:

- **AT:** Los métodos basados en umbral separan las regiones de la imagen en función de niveles de intensidad específicos, identificando las partículas de interés como aquellas áreas que cumplen con ciertos valores de umbral. Aunque simples y efectivos en algunas aplicaciones, los métodos de umbral pueden verse afectados por problemas de iluminación o ruido en las imágenes [38].

La umbralización adaptativa es una técnica que asigna distintos valores de umbral a diferentes regiones de una imagen. A diferencia de la umbralización global, esta técnica mejora el rendimiento en imágenes con iluminación no uniforme. Consiste en dividir la imagen en ventanas y calcular para cada una un valor de umbral local (como la media o mediana) como podemos observar en el siguiente algoritmo.

Algorithm 1 AT

Entrada: Imagen en escala de grises $I \in \mathbb{R}^{H \times W}$; tamaño de ventana s ; parámetro

$$t \in [0, 1].$$

Salida : Máscara binaria $B \in \{0, 1\}^{H \times W}$.

```

1 Construir  $S$  tal que  $S(x, y) = \sum_{i \leq x, j \leq y} I(i, j)$  para todo  $(x, y)$ .

2 for  $x \leftarrow 1$  to  $H$  do
3   for  $y \leftarrow 1$  to  $W$  do
4      $x_1 \leftarrow \max(1, x - \lfloor s/2 \rfloor)$ ,  $y_1 \leftarrow \max(1, y - \lfloor s/2 \rfloor)$ ,  $x_2 \leftarrow \min(H, x +$ 
       $\lfloor s/2 \rfloor)$ ,  $y_2 \leftarrow \min(W, y + \lfloor s/2 \rfloor)$ .  $A \leftarrow (x_2 - x_1 + 1) \cdot (y_2 - y_1 + 1)$ 
5      $\Sigma \leftarrow S(x_2, y_2) - S(x_1 - 1, y_2) - S(x_2, y_1 - 1) + S(x_1 - 1, y_1 - 1)$   $\mu \leftarrow \frac{\Sigma}{A}$ 
6     if  $I(x, y) \leq (1 - t) \cdot \mu$  then
7        $B(x, y) \leftarrow 0$ 
8     else
9        $B(x, y) \leftarrow 1$ 

```

- **KMC:** El algoritmo KMC es un método de agrupamiento no supervisado que busca particionar los datos en “k” grupos, minimizando la varianza intra-cluster. En el contexto de segmentación de imágenes, se utiliza para clasificar los píxeles de la imagen en diferentes grupos con base en su intensidad o color.

Pasos básicos del algoritmo:

Algorithm 2 KMC para Segmentación

Entrada: Imagen en escala de grises $I \in \mathbb{R}^{H \times W}$; número de clústeres k .

Salida : Mapa de etiquetas $L \in \{1, \dots, k\}^{H \times W}$; centroides $\{c_1, \dots, c_k\}$.

```

1 Inicialización: Seleccionar  $k$  centroides iniciales  $\{c_1, \dots, c_k\}$  (al azar). repeat
2   foreach píxel  $p$  con intensidad  $I(p)$  do
3      $L(p) \leftarrow \arg \min_{j \in \{1, \dots, k\}} |I(p) - c_j|$ 
4   for  $j \leftarrow 1$  to  $k$  do
5      $C_j \leftarrow \{p \mid L(p) = j\}$  if  $C_j \neq \emptyset$  then
6        $c_j \leftarrow \frac{1}{|C_j|} \sum_{p \in C_j} I(p)$ 
7 until los centroides no cambien o se alcance el máximo de iteraciones

```

Este método es efectivo en imágenes con regiones homogéneas, pero es sensible a la inicialización y puede fallar cuando hay solapamiento de partículas o ruido significativo.

Ambos métodos tradicionales fueron aplicados como línea base en esta investigación, comparándose sus resultados con modelos basados en aprendizaje profundo.

3.5.2 Visión por computadora avanzada

Las CNN son una clase de redes neuronales diseñadas específicamente para el procesamiento de datos en forma de cuadrícula, como imágenes. En lugar de procesar cada píxel individualmente, las CNN aprovechan la estructura espacial de las imágenes para extraer características locales, lo que las hace ideales para

tareas de reconocimiento de patrones visuales, como la segmentación de imágenes [43].

Una CNN típica consta de varias capas de convolución, capas de pooling (o muestreo) y capas totalmente conectadas. Las capas de convolución aplican filtros que aprenden a detectar patrones específicos, como bordes o texturas, a diferentes niveles de profundidad. A medida que se avanza en la red, las capas superiores capturan patrones cada vez más complejos y abstractos, lo que permite a la CNN realizar tareas avanzadas como la segmentación de objetos en imágenes SEM/TEM.

Los métodos modernos de segmentación, como las CNN y las FCN, utilizan algoritmos de aprendizaje profundo para segmentar imágenes de forma automática y precisa. Estas redes aprenden a segmentar imágenes a partir de grandes volúmenes de datos de entrenamiento, logrando una precisión muy alta en la identificación de nanopartículas [40].

El aprendizaje profundo es un subconjunto del aprendizaje automático que utiliza redes neuronales con múltiples capas para modelar representaciones complejas de datos. A través del aprendizaje profundo, es posible desarrollar modelos que automáticamente “aprenden” características útiles directamente de los datos, eliminando en gran medida la necesidad de realizar ingeniería manual de características [44].

En la caracterización de nanopartículas, los algoritmos de aprendizaje profundo pueden identificar partículas, distinguirlas del fondo y analizar su morfología, todo ello mediante la exposición a grandes volúmenes de imágenes de entrenamiento.

Las CNN y las FCN son de las arquitecturas más utilizadas en aplicaciones de segmentación. Estas redes se han adaptado para segmentación mediante la

introducción de técnicas específicas, como U-Net, que ha demostrado gran precisión en segmentación de imágenes de nanopartículas [45], biomédicas y materiales [46].

Métodos de visión por computadora avanzada para segmentación de nanopartículas:

- **Arquitectura U-Net:** Esta arquitectura, desarrollada originalmente para segmentación de imágenes biomédicas, es especialmente eficaz en segmentación de imágenes microscópicas. U-Net utiliza una estructura en forma de “U” que incluye capas de “contracción” (Codificador) para reducir la resolución y extraer características y “expansión” (Decodificador) para preservar detalles finos en el proceso de segmentación, reconstruyendo la segmentación con ayuda de conexiones en tipo de salto [46].

U-Net logra excelente rendimiento con pocos datos y es precisa con los bordes.

La arquitectura de U-Net en forma de “U” consta de dos caminos como lo podemos ver en la Figura 3.5.

- **You Only Look Once (YOLO):** Es un algoritmo de detección de objetos que divide la imagen en una cuadrícula y predice simultáneamente cuadros delimitadores y clases para cada región. Su principal ventaja es la velocidad de inferencia en tiempo real, su arquitectura se puede observar en la Figura 3.6.
- **Mask R-CNN:** Es una arquitectura de aprendizaje profundo propuesta por [47] que extiende el modelo Faster R-CNN para abordar tareas de segmentación por instancia, donde se desea no solo detectar objetos y clasifi-

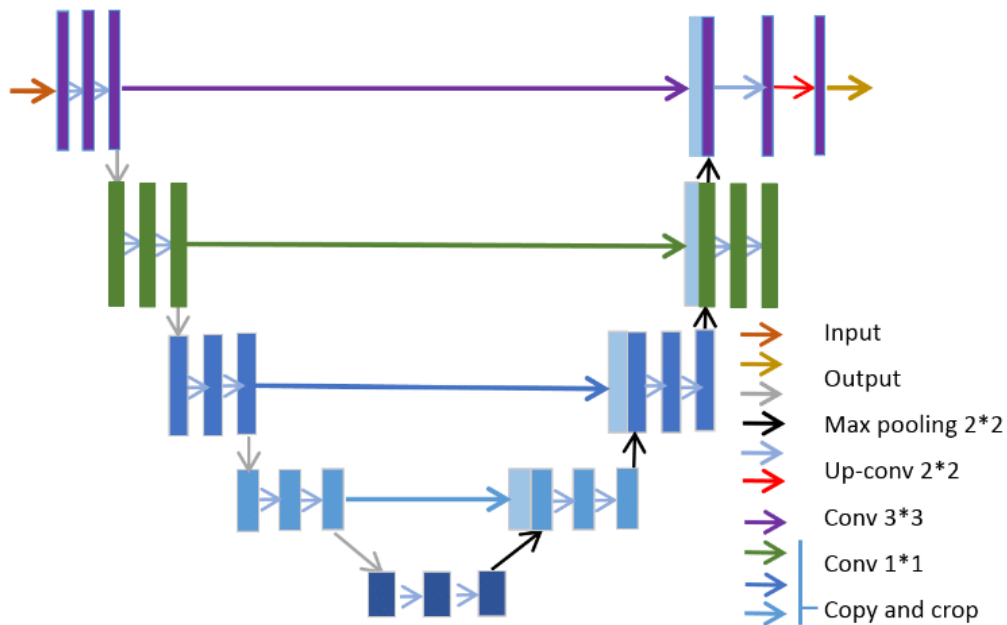


Figura 3.5: Arquitectura U-Net utilizada para segmentación semántica.

carlos, sino también generar una máscara binaria precisa para cada objeto individual. Entonces se puede decir que es un método completo que realiza estas tres tareas detección, segmentación y clasificación, como lo podemos ver en la Figura 3.7.

La arquitectura de Mask R-CNN consta de tres componentes principales:

- Columna (Backbone) ResNet-FPN u otro: Se utiliza una red convolucional profunda como ResNet50 o ResNet101, generalmente con una Pirámide de Características (FPN, por sus siglas en inglés) para mantener la resolución espacial en múltiples escalas.
- Cabeza (Head) para detección:
 - RPN (Por sus siglas en inglés, Region Proposal Network): propone regiones candidatas que probablemente contengan objetos.

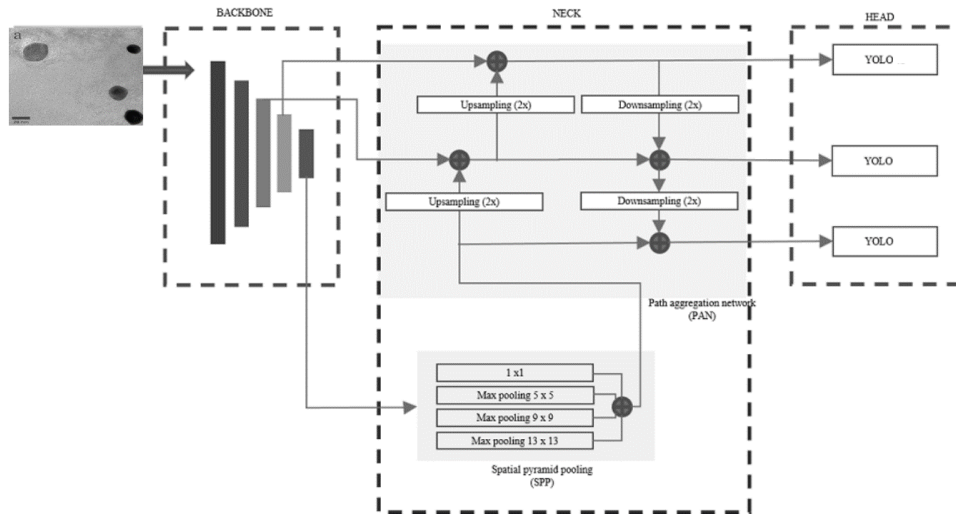


Figura 3.6: Arquitectura YOLO para la segmentación mediante cuadros delimitadores de imágenes de nanopartículas.

RoI Align (alineación de los objetos de interés): técnica que utiliza la interpolación bilineal para mejorar la precisión espacial.

Clasificador + BBox Regressor: determina qué objeto hay y ajusta su caja delimitadora.

- Branch adicional para segmentación Se agrega una FCN que predice una máscara binaria de alta resolución para cada RoI.

En resumen podemos ver las tareas que realiza cada uno de los métodos de visión por computadora avanzada donde la cantidad de aciertos en la imagen indica la cantidad de tareas realizada de cada método (Figura 3.8). Teniendo que U-Net realiza solamente segmentación, YOLO detección y clasificación, mientras que Mask R-CNN realiza las tres tareas de detección, segmentación y clasificación.

La integración de estos modelos en el análisis de nanopartículas representa una evolución significativa respecto a las técnicas tradicionales, permitiendo no sólo

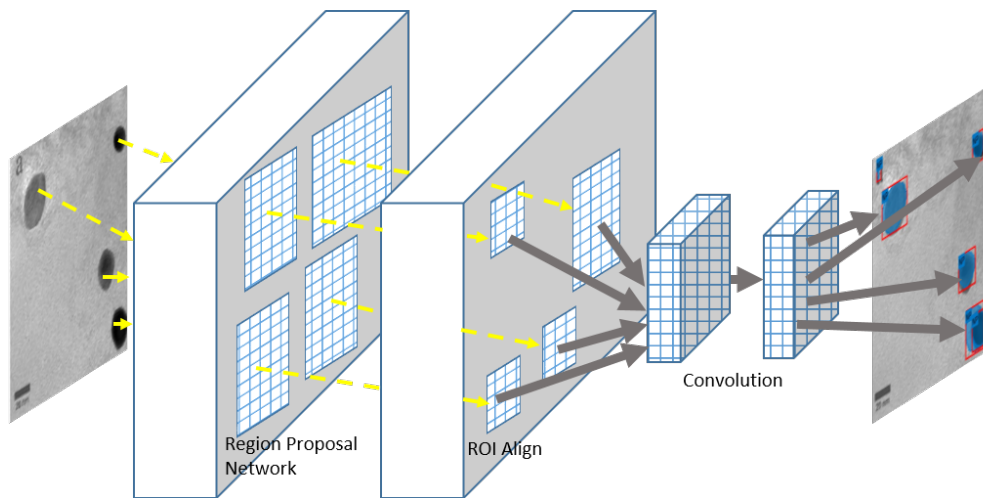


Figura 3.7: Arquitectura de Mask R-CNN para la generación de máscaras binarias y detección de cuadros delimitadores en imágenes de nanopartículas.



Figura 3.8: Métodos de visión por computadora para la detección, clasificación y segmentación de nanopartículas.

automatizar el proceso, sino también mejorar la calidad y reproducibilidad de los resultados.

3.6 Caracterización de nanopartículas

La caracterización de nanopartículas es un proceso crucial para comprender sus propiedades físicas, químicas y estructurales. La caracterización permite analizar parámetros como el tamaño, la morfología, la composición y la estructura cristalina

de las nanopartículas, factores que influyen directamente en su comportamiento y funcionalidad [48].

La extracción de características es un proceso clave en la visión por computadora, ya que permite transformar los datos brutos de una imagen en representaciones más manejables y útiles para la posterior clasificación, segmentación y caracterización. Esta técnica permite identificar propiedades cuantificables de los objetos de interés (en este caso, las nanopartículas) y es fundamental para mejorar la precisión de los modelos de análisis y caracterización.

Dado que las nanopartículas presentan dimensiones en el rango de 1 a 100 nanómetros, se requieren técnicas avanzadas y precisas para su caracterización. Como ya se mencionó anteriormente, los métodos más comunes incluyen la microscopía electrónica de barrido, la microscopía electrónica de transmisión y técnicas basadas en visión por computadora, las cuales proporcionan información detallada sobre las propiedades estructurales y composicionales de las nanopartículas.

Métodos de extracción de características:

- **Métodos basados en visión por computadora tradicional:** Técnicas como el análisis de contornos, los histogramas de orientación de gradientes y el análisis de bordes son útiles para capturar características estructurales y geométricas de las nanopartículas. Estas técnicas han sido ampliamente utilizadas para describir propiedades morfológicas en imágenes de materiales [49].
- **Métodos basados en visión por computadora avanzada:** Las CNN y otros modelos de aprendizaje profundo pueden aprender a extraer características complejas directamente de los datos de imagen. Estas carac-

terísticas son de alto nivel y pueden representar patrones específicos difíciles de identificar manualmente, lo que permite mejorar el rendimiento en tareas de clasificación y segmentación de nanomateriales [50].

La extracción de características precisa y automatizada es crucial para la caracterización eficiente y detallada de nanopartículas. Al combinar técnicas de visión por computadora, es posible construir modelos que realicen análisis rápidos y precisos sobre grandes volúmenes de datos de imágenes, optimizando el proceso de caracterización y facilitando la obtención de información detallada sobre las propiedades de las nanopartículas. Los parámetros de caracterización importantes son los siguientes:

- **Tamaño y distribución de tamaño:** El tamaño de las nanopartículas es uno de los parámetros clave que afecta sus propiedades físicas y químicas. Para determinar el tamaño promedio y la distribución de tamaño de una muestra de nanopartículas, es común utilizar técnicas de análisis de imagen, donde cada partícula se segmenta y mide individualmente en imágenes SEM/TEM. El análisis de la distribución de tamaño es especialmente importante en algunas aplicaciones debido a que el tamaño puede afectar la eficacia y estabilidad de los productos [51].
- **Forma y morfología:** La forma de las nanopartículas (esférica, cúbica, en varilla, etc.) también juega un papel importante en sus propiedades. Involucran medidas relacionadas con la forma y la orientación de las nanopartículas. Estas incluyen parámetros como el diámetro equivalente y la relación de aspecto. Estos valores son fundamentales para describir la morfología de las nanopartículas y se pueden extraer utilizando técnicas de segmentación y

análisis de contornos [52]. Las distintas técnicas de medición empleadas para analizar el tamaño de las partículas pueden generar variaciones en la distribución obtenida. Una de las más utilizadas es la medición mediante el Diámetro de Feret (DF), el cual se define como la distancia entre dos líneas tangentes paralelas que tocan los extremos opuestos de la proyección bidimensional de una partícula. El diámetro de Feret resulta útil para describir la extensión o amplitud de una partícula observada bajo microscopía, especialmente cuando esta se encuentra en su posición más estable. De este modo, la longitud de una partícula puede definirse como la distancia entre las dos tangentes paralelas que delimitan su proyección más extensa, mientras que su anchura se mide de forma perpendicular a dichas tangentes [53].

La morfología puede estudiarse utilizando SEM y TEM, donde se analizan las proyecciones bidimensionales de las partículas. La segmentación de imágenes permite una evaluación precisa de la forma y, mediante el uso de algoritmos de visión por computadora, es posible clasificar las partículas según su morfología.

- **Composición química:** La composición química de las nanopartículas puede determinarse mediante técnicas como la espectroscopía de dispersión de energía de rayos X o la espectroscopía de rayos X fotoelectrónicos. Estas técnicas permiten identificar los elementos presentes en la muestra, así como la distribución de estos en la superficie de las partículas, lo cual es crucial en aplicaciones donde la reactividad o biocompatibilidad depende de la composición de las nanopartículas [54].
- **Estructura cristalina:** La estructura cristalina de las nanopartículas in-

fluye en sus propiedades mecánicas, ópticas y eléctricas. Mediante la técnica de difracción de electrones en TEM o difracción de rayos X, es posible obtener información sobre la disposición atómica y la fase cristalina de las partículas. La caracterización estructural es especialmente relevante para aplicaciones en las que la respuesta de las nanopartículas a estímulos externos, como campos eléctricos o magnéticos, depende de su organización cristalina [55].

3.6.1 Importancia de la caracterización en aplicaciones

La caracterización exhaustiva de nanopartículas permite optimizar su diseño y producción para aplicaciones específicas. En el contexto de esta tesis, la combinación de microscopía electrónica y técnicas de segmentación basadas en visión por computadora y aprendizaje profundo no solo permite automatizar el proceso de caracterización, sino que también contribuye a obtener mediciones más exactas y repetibles. Este enfoque integral es clave para avanzar en el desarrollo de metodologías para la caracterización automatizada de nanopartículas.

3.7 Evaluación y métricas utilizadas

La evaluación objetiva del rendimiento de los algoritmos de segmentación y detección de objetos en imágenes de microscopía electrónica es fundamental para garantizar la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos. Para ello, se emplean diversas métricas que permiten cuantificar la calidad de las predicciones realizadas por los modelos en comparación con las etiquetas verdaderas.

3.7.1 Matriz de confusión y métricas derivadas

La matriz de confusión es una herramienta esencial que resume el desempeño de un modelo de clasificación binaria mediante cuatro componentes y del resultado de comparar los píxeles segmentados con la GT (Figura 3.9):

- **Verdaderos positivos (TP, por sus siglas en inglés):** Píxeles correctamente identificados como nanopartículas.
- **Falsos positivos (FP, por sus siglas en inglés):** Píxeles de fondo clasificados incorrectamente como nanopartículas.
- **Verdaderos negativos (TN, por sus siglas en inglés):** Píxeles de fondo correctamente identificados.
- **Falsos negativos (FN, por sus siglas en inglés):** Píxeles de nanopartículas clasificados como fondo.

. A partir de estos valores, se derivan métricas clave como la exactitud, la precisión, la sensibilidad y la puntuación F1.

- **Exactitud:** Mide la proporción total de predicciones correctas (tanto verdaderos positivos como verdaderos negativos) sobre el total de casos evaluados:

$$\text{Exactitud} = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \quad (3.1)$$

Es una métrica global útil cuando las clases están balanceadas [56].

- **Precisión:** Indica la proporción de verdaderos positivos entre todas las

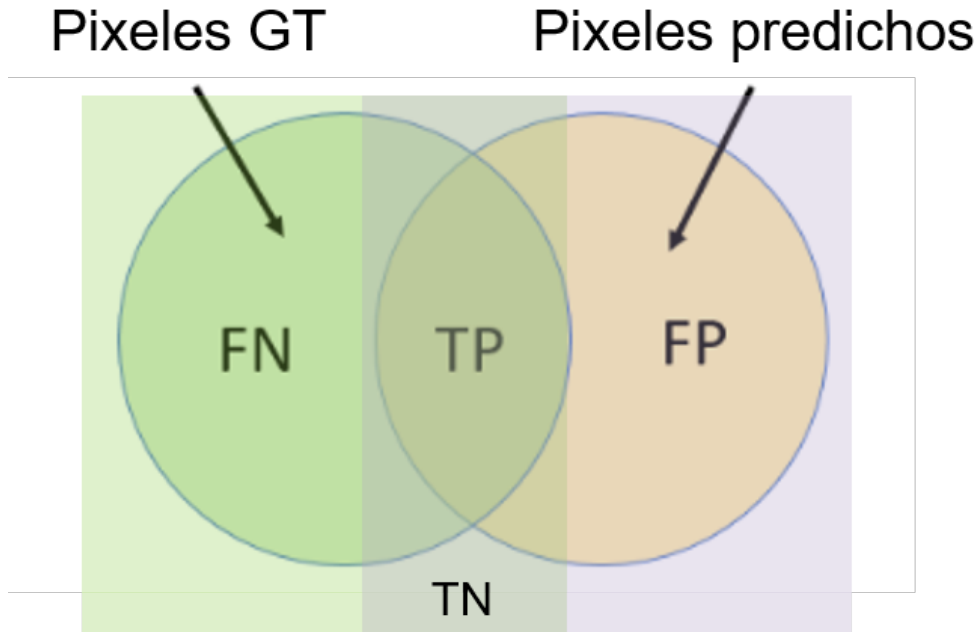


Figura 3.9: Clasificación de píxeles para evaluación de segmentación.

predicciones positivas realizadas por el modelo:

$$\text{Precisión} = \frac{TP}{TP + FP} \quad (3.2)$$

Esta métrica es especialmente útil cuando el costo de los falsos positivos es elevado [56].

- **Sensibilidad (Recall):** Mide la capacidad del modelo para identificar correctamente todas las instancias positivas:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{TP}{TP + FN} \quad (3.3)$$

Es crítica en aplicaciones donde no detectar elementos relevantes representa

un alto riesgo [56].

- **Puntuación F1 (F1-Score):** Representa la media armónica entre la precisión y la sensibilidad:

$$\text{F1-Score} = 2 \times \frac{\text{Precisión} \times \text{Sensibilidad}}{\text{Precisión} + \text{Sensibilidad}} \quad (3.4)$$

Se recomienda especialmente en contextos con datos desbalanceados [57].

3.7.2 Error Cuadrático Medio

El Error Cuadrático Medio (MSE, por sus siglas en inglés) es una métrica ampliamente utilizada para cuantificar la diferencia promedio al cuadrado entre los valores predichos por un modelo y los valores reales:

$$\text{MSE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (3.5)$$

donde y_i representa el valor real, $\hat{y}_i$ el valor predicho, y n el número total de observaciones. Un valor de MSE más bajo indica una mayor precisión del modelo en sus predicciones [58].

En el contexto de la caracterización de nanopartículas, el MSE se emplea para evaluar la exactitud en la estimación de parámetros cuantitativos, como el diámetro de las partículas, comparando las medidas obtenidas automáticamente con las referencias manuales. Esto implica que sus unidades son las del diámetro al cuadrado (por ejemplo, nanómetros²), lo cual puede generar confusión cuando se comparan errores en términos físicos.

El error de la raíz cuadrada media (RMSE, por sus siglas en inglés), en cambio,

es la raíz cuadrada del MSE:

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (3.6)$$

Esto restaura las unidades originales, haciendo que el error sea directamente interpretable como “diferencia promedio en nanómetros (nm) entre el valor real y el estimado”.

3.7.3 Rango intercuartílico como criterio de filtrado

El rango intercuartílico (IQR, por sus siglas en inglés) es una medida estadística que representa la dispersión de los datos, definida como la diferencia entre el tercer cuartil ($Q3$) y el primer cuartil ($Q1$):

$$\text{IQR} = Q3 - Q1 \quad (3.7)$$

Esta métrica es ampliamente utilizada para la detección de valores atípicos en conjuntos de datos, ya que permite identificar observaciones que se encuentran significativamente alejadas del rango central de la distribución. Los valores que se encuentran por debajo de $Q1 - 1.5 \times \text{IQR}$ o por encima de $Q3 + 1.5 \times \text{IQR}$ son considerados atípicos y pueden ser descartados para evitar sesgos en el análisis [59].

En el presente trabajo, el IQR se emplea durante la etapa de postprocesamiento para filtrar nanopartículas con diámetros que se desvían notablemente de la mayoría. De esta forma, se mejora la precisión de la caracterización al centrarse únicamente en el 50% central de los datos, comprendido entre $Q1$ y $Q3$.

3.7.4 Consideraciones adicionales

Es importante destacar que la elección de las métricas de evaluación debe alinearse con los objetivos específicos del estudio y las características del conjunto de datos. Por ejemplo, en situaciones con clases desbalanceadas, métricas como la precisión y la sensibilidad pueden ofrecer una visión más detallada del rendimiento del modelo que la exactitud global.

Además, en aplicaciones donde la detección precisa de objetos es crítica, como en la identificación de nanopartículas, es esencial considerar métricas que penalicen adecuadamente tanto los falsos positivos como los falsos negativos, asegurando así la confiabilidad de los resultados obtenidos.

La comprensión detallada de estas métricas y técnicas de evaluación proporciona las bases necesarias para la implementación metodológica descrita en el siguiente capítulo. Su aplicación rigurosa garantiza no solo la validez de los resultados obtenidos, sino también su reproducibilidad en contextos científicos más amplios.

4. Materiales y Métodos

En este capítulo se describen los procedimientos metodológicos implementados para el desarrollo de esta investigación, cuyo objetivo es encontrar el modelo más adecuado para la caracterización de nanopartículas. Las metodologías aplicadas se dividen en dos enfoques principales: segmentación tradicional y segmentación avanzada . A continuación, se presenta una descripción del software y hardware utilizados, seguida de una explicación detallada de los procesos de segmentación y caracterización.

4.1 Software y hardware

Los experimentos fueron desarrollados utilizando la plataforma **MATLAB R2023a**, empleando las aplicaciones de:

- **Aprendizaje profundo**
- **Procesamiento de imágenes**
- **Visión por computadora**

La ejecución y entrenamiento de los modelos y métodos se realizó en una estación de trabajo con las siguientes características:

- Procesador: Intel Core i5
- Memoria RAM: 16 GB DDR5
- GPU: NVIDIA RTX 3050 (6 GB VRAM)
- Sistema operativo: Windows 11

4.2 Metodologías

Los métodos de segmentación se agrupan de la siguiente manera:

- **Visión por computadora avanzada** (Figura 4.1): basada en técnicas de aprendizaje profundo, utilizando los modelos *U-Net*, *Mask R-CNN* y *YOLO*.

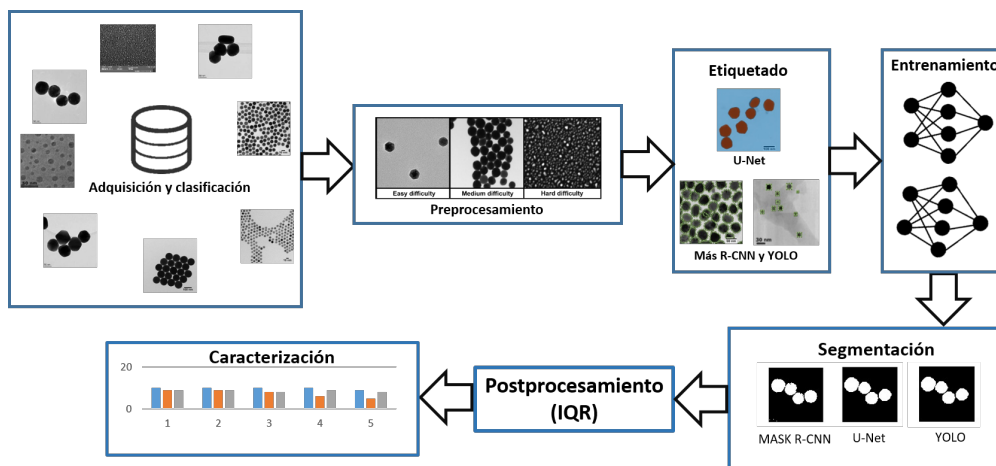


Figura 4.1: Metodología utilizada para la segmentación de los métodos avanzados.

- **Visión por computadora tradicional** (Figura 4.2): basada en análisis clásico de imágenes, utilizando los algoritmos KMC y AT.

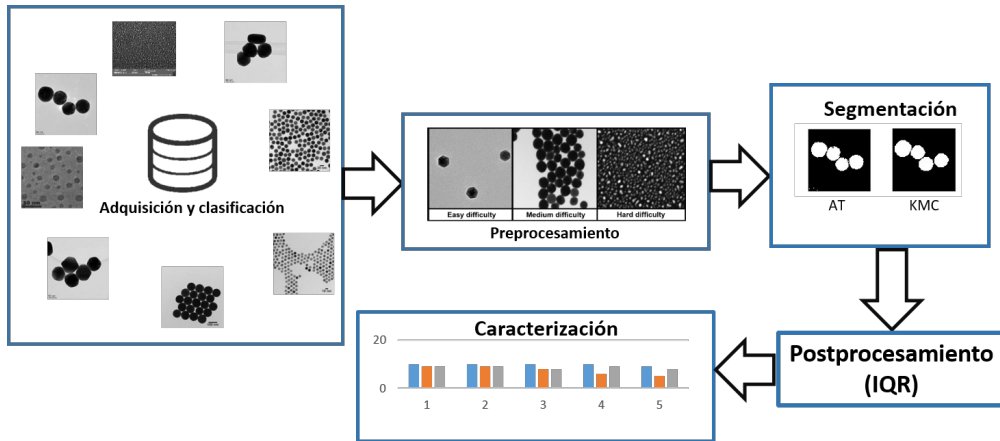


Figura 4.2: Metodología utilizada para la segmentación de los métodos tradicionales.

4.3 Metodología de segmentación y caracterización avanzada

4.3.1 Adquisición de Imágenes

Se recolectaron un total de 102 imágenes JPG de microscopía electrónica (SEM/TEM) con resolución de 768x858 píxeles y con nanopartículas con diámetros que van desde 7 nanómetros hasta 300 nanómetros. Este rango corresponde al conjunto total de partículas observadas en las diferentes imágenes del dataset, no dentro de una sola imagen.

En una misma imagen, las diferencias de tamaño entre partículas son mucho menores, generalmente dentro de un rango estrecho ($\pm 10\text{--}20\text{ nm}$), lo que garantiza la homogeneidad necesaria para la segmentación. Además, los materiales de las nanopartículas son cobre, plata, oro y zinc.

81 imágenes se utilizaron para el entrenamiento y 21 para la etapa de prueba.

Las imágenes se clasificaron en tres niveles de dificultad para su segmentación: fácil, intermedia y difícil. Esta clasificación se basó en criterios como el contraste, la complejidad del fondo y la aglomeración de partículas (Figura 4.3).

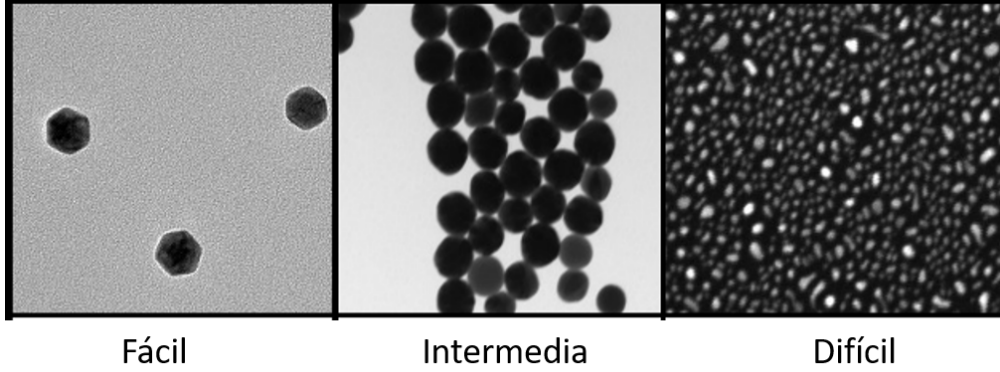


Figura 4.3: Clasificación de imágenes según nivel de dificultad para la segmentación.

4.3.2 Preprocesamiento de imágenes

El preprocesamiento se realizó para adaptar las imágenes al formato requerido por cada modelo. Las operaciones incluyeron:

- **Redimensionamiento:** Todas las imágenes se ajustaron a una resolución de 256×256 píxeles, cumpliendo con los requerimientos de entrada de las redes. Utilizando interpolación bilineal.

La interpolación bilineal realiza una estimación del valor del píxel $f(x, y)$ como una combinación lineal ponderada de los cuatro píxeles vecinos más cercanos. Se expresa como:

$$f(x, y) \approx \sum_{i=0}^1 \sum_{j=0}^1 w_{ij} \cdot f(x_i, y_j) \quad (4.1)$$

donde w_{ij} son los pesos lineales asignados a cada vecino, calculados de forma inversamente proporcional a la distancia entre el punto (x, y) y cada uno de los puntos (x_i, y_j) .

- **Conversión a escala de grises:** Aplicada a todos los métodos, excepto Mask R-CNN, que requiere imágenes a color debido a su arquitectura de detección. La función `rgb2gray` de MATLAB convierte una imagen en color (RGB) a escala de grises utilizando una combinación ponderada de los canales rojo (R), verde (G) y azul (B). Esta conversión no es un promedio simple, sino que considera la sensibilidad del ojo humano a cada color. La fórmula empleada es:

$$I_{\text{gray}} = 0.2989 \cdot R + 0.5870 \cdot G + 0.1140 \cdot B \quad (4.2)$$

Esta fórmula está basada en el estándar ITU-R BT.601, ampliamente utilizado en procesamiento de imágenes y video.

4.3.3 Etiquetado de imágenes

Se generaron las *ground truth* (GT) de las 102 imágenes mediante la herramienta *Image Labeler* de MATLAB. El formato de las etiquetas varió según el modelo:

- **U-Net:** Segmentación semántica binaria. Las etiquetas se generaron como máscaras binarias por píxel (Figura 4.4).

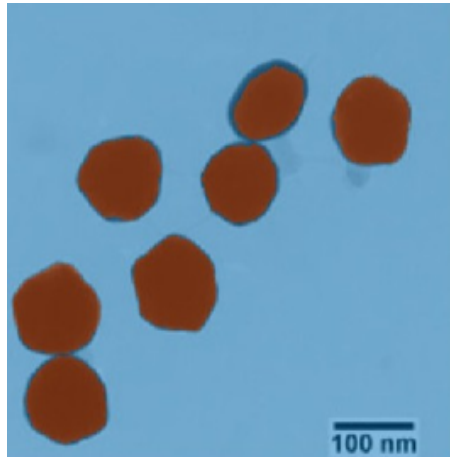


Figura 4.4: Etiquetado de imágenes mediante herramienta de píxeles en MATLAB.

- **Mask R-CNN:** Segmentación por instancia, con máscaras y cuadros delimitadores (Figura 4.5).

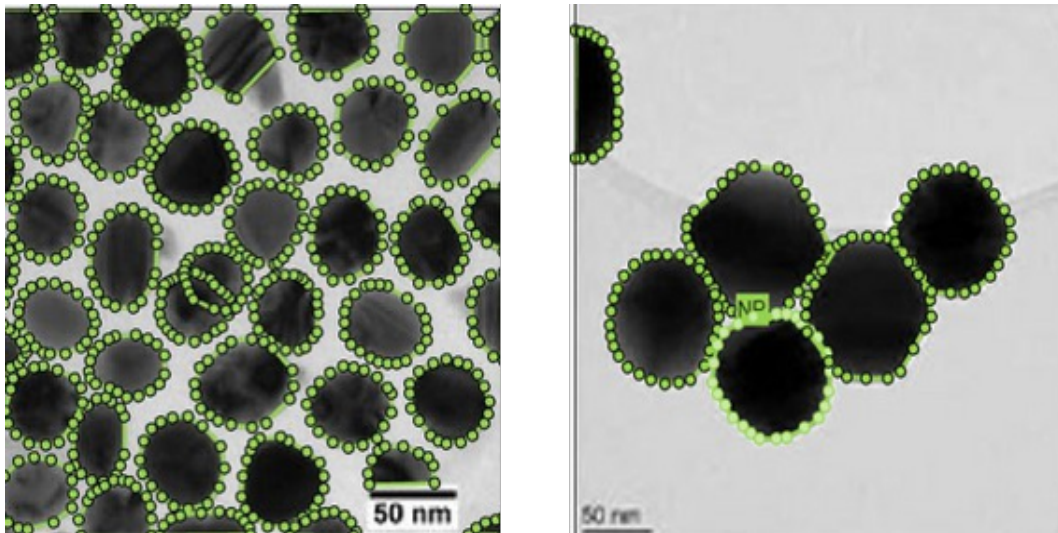


Figura 4.5: Etiquetado con herramienta de polígonos en MATLAB.

- **YOLO:** Anotación por cuadros delimitadores rectangulares (Figura 4.6).

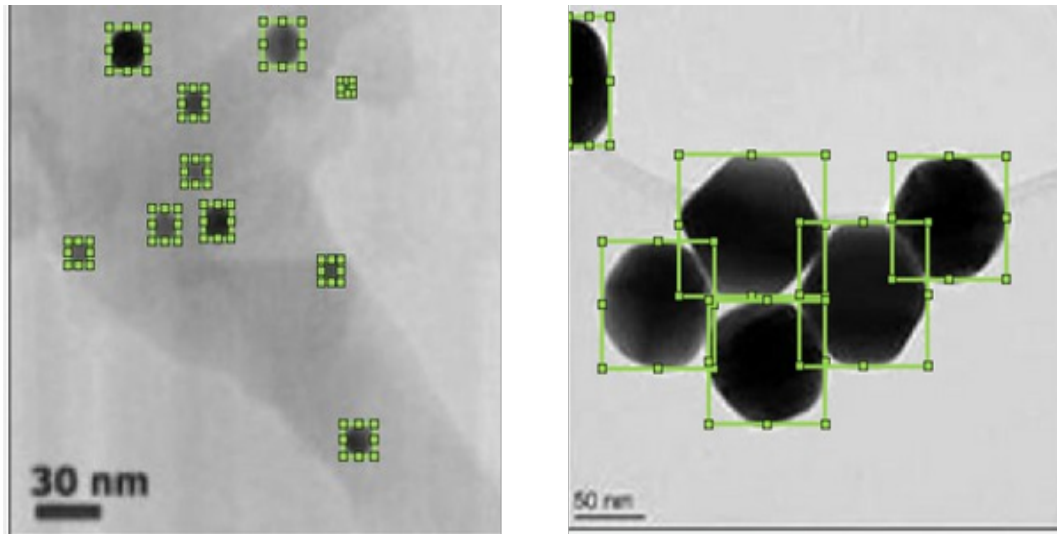


Figura 4.6: Etiquetado con herramienta de rectángulo en MATLAB.

Los datos etiquetados se almacenaron en objetos tipo `datastore`, un `datastore` para entrenamiento que contiene todas las imágenes de entrenamiento junto con sus respectivas etiquetas por imagen, y otro `datastore` con las imágenes de prueba que combina imágenes de prueba y etiquetas para la evaluación de los modelos.

4.3.4 Entrenamiento de los Modelos

Cada red fue entrenada utilizando:

- El `datastore` combinado con imágenes y sus respectivas etiquetas.
- Arquitecturas base específicas para cada modelo.
- Un conjunto de opciones de entrenamiento, incluyendo:

4.3 Metodología de segmentación y caracterización avanzada

Tabla 4.1: Opciones de entrenamiento utilizadas para cada modelo

Parámetro	Mask R-CNN	U-Net	YOLO
Tasa de aprendizaje	0.001	0.001-0.003	0.01
Tamaño de minilote	1-3	1-5	3-16
Épocas de entrenamiento	45	60-120	45-270
Optimizador	SGDM	Adam, SGDM	SGDM

Se documentó la sintaxis en MATLAB con las opciones de entrenamiento óptimas para facilitar la reproducibilidad de los experimentos.

4.3.5 Segmentación

Tras el entrenamiento, los modelos realizaron segmentación sobre las imágenes de prueba. Las salidas varían según el modelo (Figura 4.7):

- **U-Net:** Máscara binaria, la arquitectura utilizada de esta red la podemos ver en la Figura 3.5.
- **Mask R-CNN y YOLO:** Cuadros delimitadores con etiquetas de clase y, en el caso de Mask R-CNN, también máscaras por instancia. Las arquitecturas de red utilizadas para estos métodos las podemos observar en la Figura 3.7 y Figura 3.6.

4.3.6 Postprocesamiento

Para eliminar nanopartículas atípicas, se aplicó un filtro basado en el IQR, conservando solo aquellas partículas cuyo tamaño se encontraba entre el primer cuartil

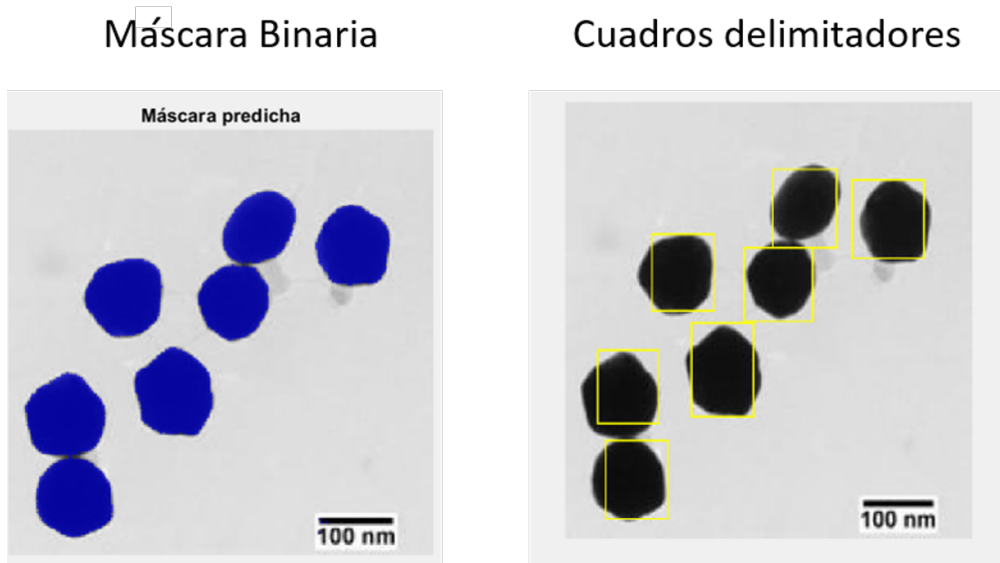


Figura 4.7: Salidas de segmentación: máscara binaria (izquierda) y cuadros delimitadores (derecha).

(Q1) y tercer cuartil (Q3), lo cual representa el 50% central de la distribución.

4.3.7 Caracterización

Se estimó el diámetro de las nanopartículas utilizando los siguientes criterios:

- **YOLO y Mask R-CNN:** A partir del ancho del cuadro delimitador.
- **U-Net:** A partir del área segmentada y asumiendo una forma circular.

Asumiendo que las nanopartículas poseen una forma circular, el diámetro equivalente D puede estimarse a partir del área segmentada A mediante la siguiente fórmula:

$$D = 2 \cdot \sqrt{\frac{A}{\pi}} \quad (4.3)$$

donde A representa el número de píxeles que conforman la región segmentada de la partícula. Esta aproximación permite calcular una métrica morfológica

representativa aún cuando la partícula real no sea perfectamente circular.

4.3.8 Validación

Validación de la segmentación:

Se compararon los píxeles segmentados con el valor real, clasificando los resultados en TP, FP, TN, FN.

Las métricas de evaluación empleada fue exactitud.

Validación de la caracterización:

La **calibración espacial** entre píxeles y unidades físicas (nanómetros por píxel) se realizó utilizando la barra de escala incluida en cada imagen.

El procedimiento consistió en medir el número de píxeles que ocupa la barra de escala mediante herramientas de análisis de imagen (por ejemplo, *ImageJ*), y posteriormente calcular el **factor de conversión** aplicando la siguiente relación:

$$\text{nm/píxel} = \frac{\text{longitud de la barra (nm)}}{\text{longitud medida (px)}} \quad (4.4)$$

Una vez obtenido este valor, todas las mediciones de diámetros de nanopartículas se convirtieron de unidades de píxel a **nanómetros**, garantizando la correspondencia física entre los resultados estimados y los valores reales.

Finalmente se calculó el RMSE comparando los diámetros estimados por cada modelo con los valores reales, sobre las 21 imágenes de prueba.

4.4 Metodología de segmentación y caracterización tradicional

4.4.1 Adquisición y preprocesamiento

Se emplearon las mismas 21 imágenes de prueba utilizadas en la metodología avanzada. El preprocesamiento consistió en:

- Redimensionamiento a 256 x 256 píxeles.
- Conversión a escala de grises.

4.4.2 Segmentación

Se aplicaron los siguientes métodos:

- **KMC**: Segmentación basada en la agrupación de intensidades de píxeles.
- **AT**: Segmentación por umbral adaptativo regional.

Estos métodos no requieren fase de entrenamiento previa.

4.4.3 Postprocesamiento

Se aplicó el mismo filtro IQR que en la metodología avanzada para eliminar nanopartículas atípicas.

4.4.4 Caracterización

La estimación del diámetro se realizó mediante:

4.4 Metodología de segmentación y caracterización tradicional

- Cálculo del **área segmentada**.
- Suposición de **forma circular** para determinar el diámetro de la misma forma que con U-Net.

5. Resultados

5.1 Resultados

En esta sección se presentan los resultados cuantitativos y cualitativos obtenidos a partir de la aplicación de los diferentes métodos de segmentación y caracterización de nanopartículas. Se analizan los resultados de cada técnica en cuanto a exactitud de segmentación, estimación del diámetro, y se discute el desempeño comparativo de los modelos tradicionales y avanzados.

El dataset de prueba se compone de un total de 21 imágenes que contienen un total de 1982 nanopartículas, las cuales se clasificaron en 3 grupos de acuerdo a su dificultad para ser segmentadas, como podemos observar en la Figura 5.1, obteniendo 10 imágenes fáciles, 9 intermedias y 2 difíciles.

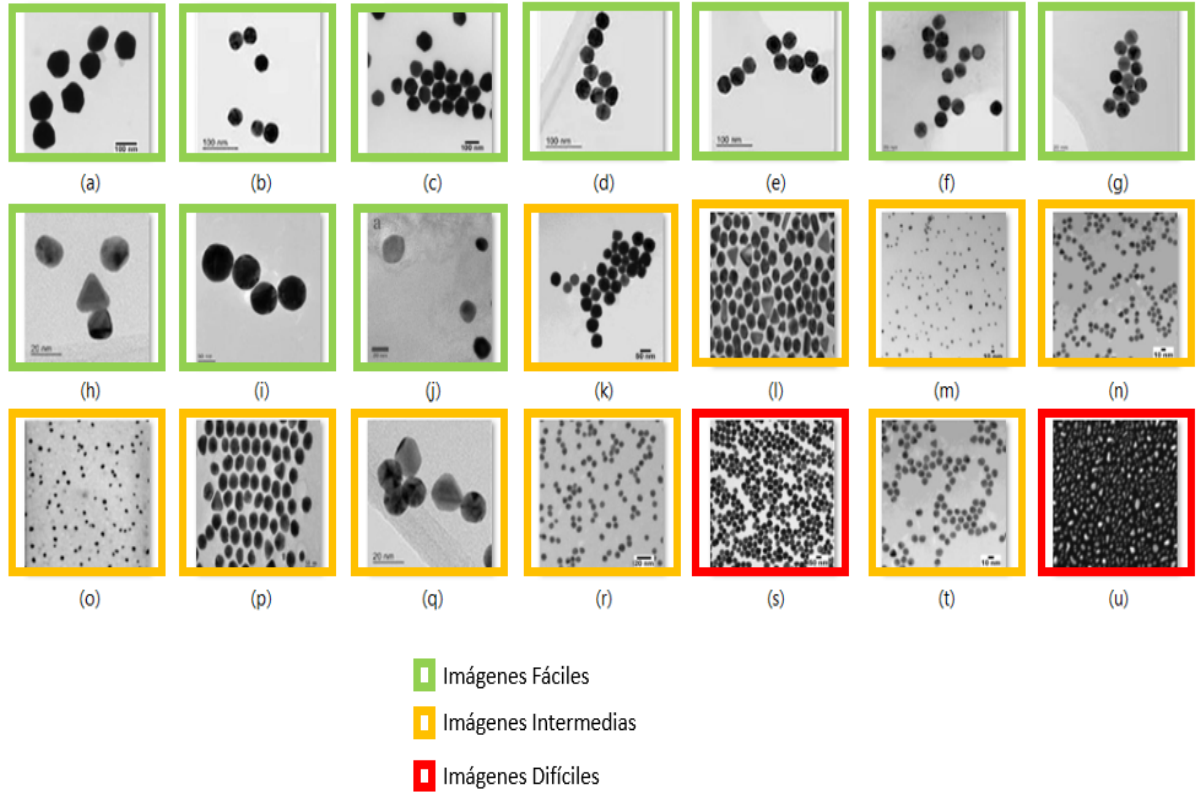


Figura 5.1: Dataset de prueba clasificado según la dificultad de segmentación.

Se realizaron pruebas de segmentación y de estimación de diámetros con cada uno de los métodos que se describen a continuación.

5.1.1 Segmentación con método AT

Los resultados de segmentación con el método AT se muestran en la siguiente Tabla 5.1. Donde se muestra la exactitud, TP, TN, FP y FN de cada una de las imágenes del dataset de prueba mostradas en la Figura 5.1, donde la Imagen (a) de la tabla es la Figura 5.1a, la Imagen (b) es la Figura 5.1b y así sucesivamente, esto es igual en todas las tablas de la sección de resultados.

Imagen	Exactitud	TP	TN	FP	FN
a	0.9865	11575	53078	633	250
b	0.9872	3704	60992	379	461
c	0.9797	12861	51345	624	706
d	0.9798	5688	58524	697	627
e	0.9853	5950	58624	513	449
f	0.9851	7561	57000	359	616
g	0.9746	5120	58754	278	1384
h	0.9541	8427	54101	923	2085
i	0.9844	10565	53946	322	703
j	0.9766	3534	60471	710	821
k	0.9770	10306	53720	644	866
l	0.9342	37560	23667	1701	2608
m	0.9852	3194	61375	582	385
n	0.9656	12071	51208	1287	970
o	0.9898	3373	61495	273	395
p	0.9323	26883	34219	601	3833
q	0.9280	10990	49825	1088	3633
r	0.9676	11181	52233	881	1241
s	0.9183	35276	24905	3222	2133
t	0.9594	14126	48746	1025	1639
u	0.2449	193	15925	28426	20992
Promedio de exactitud: 0.9332					

Tabla 5.1: Segmentación cuantitativa utilizando el método AT

En general, las imágenes fáciles presentaron altos valores de TP y TN, sin em-

bargo, se observa una disminución considerable de exactitud en imágenes difíciles, como podemos observar en la Figura 5.2, estas imágenes cuentan con mayor número de nanopartículas y nanopartículas sobrepuestas, por lo que la exactitud de sus segmentaciones son las peores de la Tabla 5.1.

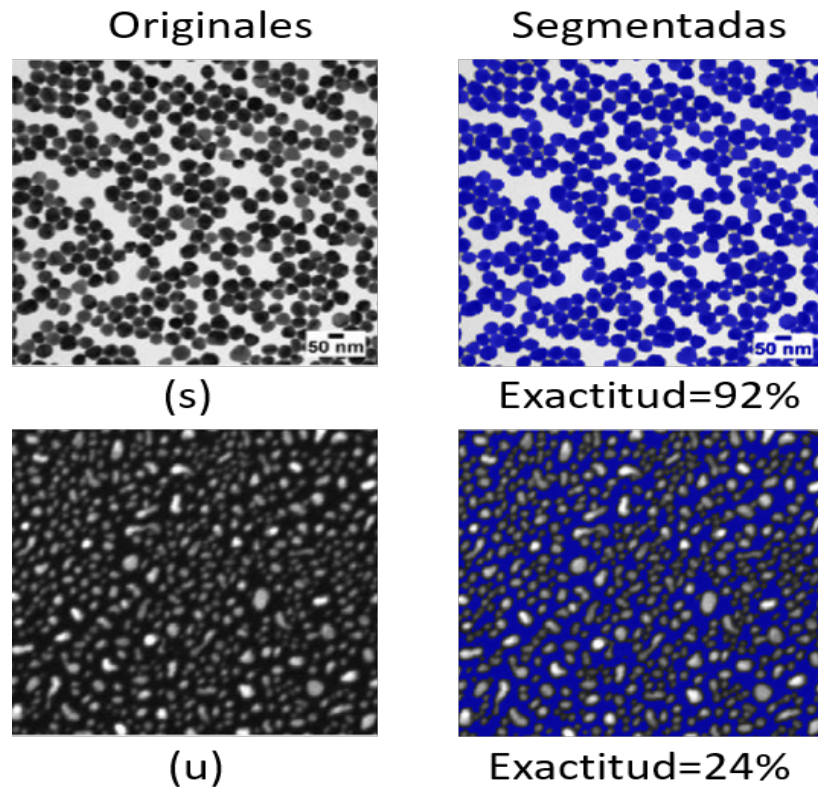


Figura 5.2: Segmentaciones de las imágenes (s) y (u) con el método AT.

En general, el método AT se comporta de manera normal ya que obtiene buenos resultados de segmentación con imágenes fáciles pero resultados no muy buenos con imágenes difíciles. En la siguiente sección veremos si estas segmentaciones son suficientes para lograr una válida estimación del diámetro.

Estimación de diámetros con método AT

El método AT, como técnica de segmentación tradicional basada en umbrales locales, fue evaluado también en su capacidad para estimar el diámetro de nanopartículas, comparando sus resultados con los valores reales. La evaluación se aplicó a las 21 imágenes del dataset de prueba y sus diferentes niveles de complejidad.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.2, demostrando que AT logró una estimación moderadamente precisa en las imágenes fáciles con buena calidad de contraste y partículas bien definidas. En estos casos, el diámetro estimado se aproxima al valor real, con errores mínimos como se observa en las imágenes (a), (b), (f), (m), (n), (o), (r), (s) y (t) donde el RMSE es inferior a 2, lo cual es considerado bueno, ya que según la literatura un MSE válido para la estimación de diámetros en nanopartículas debe de ser menor de 10 nanómetros cuadrados lo que equivale a un RMSE de 3.1622 nanómetros.

Imagen	Diámetro AT (nm)	Diámetro real (nm)	RMSE (nm)
a	104.8781	103.8961	0.9820
b	38.2191	39.7260	1.5070
c	95.0396	90.8546	4.1850
d	38.7323	41.0959	2.3640
e	39.6668	41.8569	2.1910
f	20.2815	21.2267	0.9450
g	18.9562	21.6667	2.7120
h	11.6325	19.2857	7.6510
i	80.1561	83.3333	3.1770
j	13.5381	17.2941	3.7550
k	56.9086	49.0909	7.8200
l	44.5875	39.6610	4.9260
m	12.5775	9.6014	2.9770
n	11.9070	11.6531	0.2540
o	12.2063	11.8429	0.3630
p	52.2658	45.5873	6.6800
q	11.2398	15.5804	4.3410
r	7.9571	7.9229	0.0350
s	8.4130	7.4306	0.9830
t	11.4592	12.2273	0.7680
u	10.5387	12.5708	2.0320
RMSE Promedio: 3.69 nm			

Tabla 5.2: Estimación de diámetros utilizando el método AT.

Sin embargo, el método evidencia limitaciones importantes cuando se enfrenta a imágenes más complejas. En particular, las imágenes (h), (j), (k), (l), (p) y (q) presentan un incremento notable en el RMSE, alcanzando hasta 7.82 nm en la imagen (k) y 6.68 nm en la imagen (p). Esto sugiere que AT tiene dificultades para segmentar correctamente partículas en presencia de ruido, aglomeraciones (Figura 5.1 (k)) o falta de contraste (Figura 5.1 (p)), lo cual repercute directamente en la

calidad de la caracterización.

El RMSE promedio obtenido fue de 3.69 nm, indicando un desempeño limitado para aplicaciones donde se requiere una medición exacta del diámetro de las nanopartículas. En general, si bien AT puede ser útil como aproximación inicial o en contextos con imágenes fáciles, su desempeño con imágenes intermedias y difíciles es deficiente.

5.1.2 Segmentación con método KMC

Los resultados de segmentación con el método KMC los podemos ver en la siguiente Tabla 5.3. Los valores de TP y TN fueron consistentemente altos en la mayoría de las imágenes. Aun así, en imágenes con variabilidad de intensidad, se observó una tendencia a clasificar erróneamente pixeles de nanopartículas como fondo es por eso la gran cantidad de FN en la tabla.

Imagen	Exactitud	TP	TN	FP	FN
a	0.9891	11632	53188	523	193
b	0.9905	3973	60940	431	192
c	0.9829	13424	50993	976	143
d	0.9879	6155	58585	636	160
e	0.9678	6254	58480	657	145
f	0.9880	7840	56909	450	337
g	0.9894	6273	58570	462	231
h	0.9835	9879	54574	450	633
i	0.9929	10967	54102	166	301
j	0.9855	4019	60566	615	336
k	0.9804	10997	53256	1108	175
l	0.9051	36927	24358	1010	3241
m	0.9814	2825	61490	467	754
n	0.9597	11441	51457	1038	1600
o	0.9826	3138	61259	509	630
p	0.9505	27895	34399	421	2821
q	0.9821	13769	50596	317	854
r	0.9663	10742	52583	531	1680
s	0.9098	35711	24567	3560	1698
t	0.9560	14380	48271	1500	1385
u	0.8045	11318	42764	1587	9867
Exactitud promedio: 0.9636					

Tabla 5.3: Resultados de las segmentaciones utilizando el método KMC.

Este método alcanzó una exactitud promedio de 96.4%, superando a AT, sobre todo mejorando por mucho la segmentación de la imagen (u) (una de las imágenes difíciles) con una exactitud del 80% (Figura 5.3) a diferencia del 24% de AT (Figura 5.2).

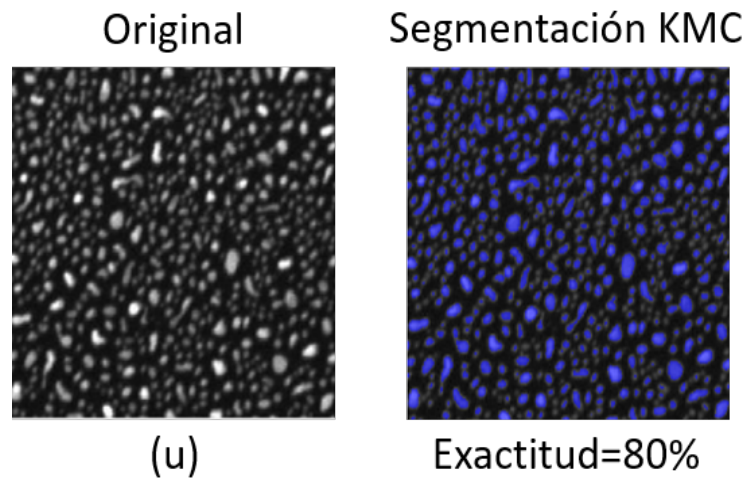


Figura 5.3: Resultado de la segmentación de la imagen (u) con KMC.

Estimación de diámetros con el método KMC

Los resultados de las estimaciones de diámetro con KMC los podemos ver en la Tabla 5.4.

Imagen	Diámetro KMC (nm)	Diámetro real (nm)	RMSE (nm)
a	122.9584	103.8961	19.0620
b	39.6681	39.7260	0.0580
c	83.9211	90.8546	6.9330
d	5.8411	41.0959	35.2480
e	49.8258	41.8569	7.9690
f	21.5204	21.2267	0.2940
g	48.2831	21.6667	26.6260
h	20.2343	19.2857	0.9490
i	78.6898	83.3333	4.6440
j	16.2561	17.2941	1.0380
k	23.0821	49.0909	26.0100
l	41.5685	39.6610	1.9090
m	8.9231	9.6014	0.6780
n	11.0157	11.6531	0.6370
o	12.5923	11.8429	0.7500
p	52.5977	45.5873	7.0100
q	21.6373	15.5804	6.0560
r	7.5855	7.9229	0.3370
s	6.6833	7.4306	0.7480
t	11.8043	12.2273	0.4230
u	12.1839	12.5708	0.3870
RMSE Promedio: 12.38 nm			

Tabla 5.4: Estimación de diámetros utilizando el método KMC.

En cuanto a su capacidad para estimar el diámetro de nanopartículas a partir de las áreas segmentadas, KMC ofrece una alta variabilidad en la estimación de diámetros, lo que se refleja en un RMSE promedio de 12.38 nm, el peor de todos los métodos evaluados. Esta alta dispersión en los errores se debe principalmente a la naturaleza del algoritmo, que tiende a sobresegmentar o subsegmentar regiones dependiendo de la distribución de intensidades de píxeles.

Se observan errores críticos en varias imágenes, particularmente en la imagen

(d), donde el diámetro estimado fue de apenas 5.84 contra un valor real de 41.10, resultando en un RMSE de 35.24 nm. Casos similares se presentan en las imágenes (g) (RMSE de 26.62 nm) y (k) (RMSE de 26.01 nm), lo cual indica que KMC es muy sensible a la variabilidad del fondo, la presencia de ruido y la intensidad no uniforme (Figura 5.4).

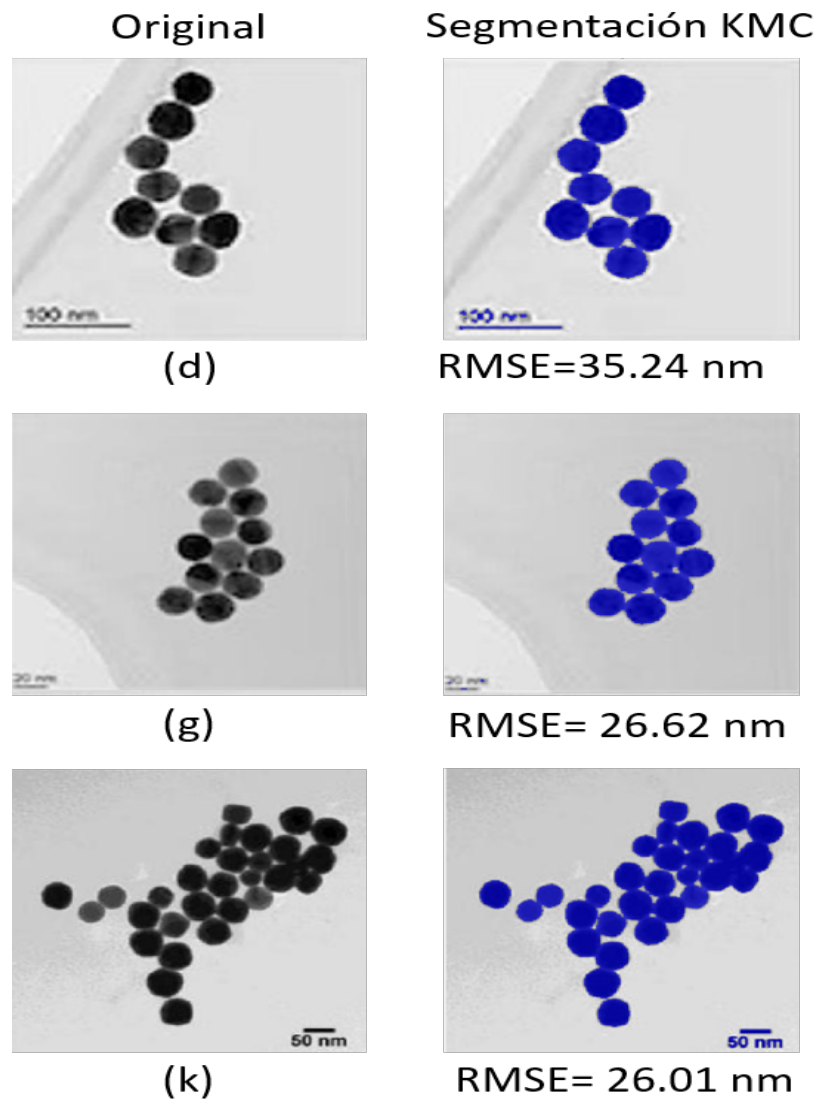


Figura 5.4: Segmentación de las imágenes (d), (g) y (k) con KMC (imágenes con RMSE muy elevado).

No obstante, en imágenes con partículas bien separadas y contrastadas, como las imágenes (b), (f), (h), (m) y (n), el método produce estimaciones más cercanas al valor real, con un RMSE por debajo de 1 en algunos casos (lo podemos observar en la Tabla 5.4). Esto sugiere que KMC puede ofrecer un desempeño aceptable en imágenes fáciles y algunas intermedias, pero carece de la robustez necesaria para manejar imágenes difíciles de manera consistente.

En resumen, aunque KMC puede ser útil en escenarios fáciles, su comportamiento errático frente a imágenes intermedias y difíciles lo convierte en una opción poco fiable para la estimación del tamaño de nanopartículas en entornos reales.

5.1.3 Segmentación con método U-Net

El modelo óptimo entrenado con U-Net obtuvo una exactitud promedio de 96.2%, que, aunque es un poco menor (0.2%) que KMC (96.4%), el método de U-Net demuestra tener un rendimiento mucho más consistente, ya que su exactitud fue mejor que KMC en 19 de 21 imágenes lo cual lo podemos observar en la Tabla 5.5. Se destaca un rendimiento superior en imágenes fáciles e intermedias, y una disminución considerable en una de las imágenes difíciles (Figura 5.1 (u)).

Imagen	Exactitud	TP	TN	FP	FN
a	0.9933	11726	53373	338	99
b	0.9913	4094	60875	496	71
c	0.9878	13440	51296	673	127
d	0.9877	6258	58474	747	57
e	0.9875	6366	58353	784	33
f	0.9884	8116	56658	701	61
g	0.9905	6302	58612	420	202
h	0.9902	10315	54578	446	197
i	0.9957	11157	54098	170	111
j	0.9928	4195	60866	315	160
k	0.9826	10900	53493	871	272
l	0.9421	38654	23088	2280	1514
m	0.9846	2764	61765	192	815
n	0.9599	10676	52229	266	2365
o	0.9842	3333	61167	601	435
p	0.9694	29822	33709	1111	894
q	0.9867	14216	50448	465	407
r	0.9699	10736	52827	287	1686
s	0.9046	33265	26020	2107	4144
t	0.9644	13859	49342	429	1906
u	0.6453	10101	32188	12163	11084
Exactitud promedio: 0.9619					

Tabla 5.5: Segmentación utilizando el método U-Net.

Estimación de diámetros con el método U-Net

El modelo U-Net, basado en una arquitectura de redes convolucionales profundas para segmentación semántica, al igual que los métodos anteriores, también fue evaluado por su capacidad para estimar el diámetro de nanopartículas a partir de las máscaras generadas (Tabla 5.6).

Imagen	Diámetro U-Net(nm)	Diámetro real (nm)	RMSE (nm)
a	104.5511	103.8961	0.6550
b	40.2979	39.7260	0.5720
c	89.8858	90.8546	0.9690
d	40.5221	41.0959	0.5730
e	41.7744	41.8569	0.0820
f	21.4620	21.2267	0.2350
g	21.3080	21.6667	0.3590
h	20.8258	19.2857	1.5400
i	94.0181	83.3333	10.6850
j	17.9970	17.2941	0.7030
k	79.8215	49.0909	30.7320
l	46.3929	39.6610	6.7320
m	10.1947	9.6014	0.5930
n	11.0560	11.6531	0.5970
o	12.3019	11.8429	0.4590
p	55.2855	45.5873	9.7000
q	14.0745	15.5804	1.5060
r	7.4717	7.9229	0.4510
s	7.4440	7.4306	0.0140
t	11.5154	12.2273	0.7120
u	10.6229	12.5708	1.9480
RMSE Promedio: 7.59 nm			

Tabla 5.6: Estimación de diámetros utilizando el método U-Net.

En comparación con los métodos tradicionales, U-Net ofrece una mejora de

rendimiento considerable y consistencia en las estimaciones, evidenciado por un RMSE promedio de 7.59 nm, significativamente menor que el de KMC (12.38 nm) y más controlado que AT, que, aunque su RMSE promedio es menor (3.69 nm), este solamente tiene 7 imágenes con RMSE menor a 1, a diferencia de U-Net que duplica esa cantidad de imágenes con RMSE menor a 1 con 14.

Este comportamiento refleja su capacidad para capturar de manera eficaz los bordes y formas de las nanopartículas, incluso cuando estas presentan cierta variación morfológica.

No obstante, el modelo muestra algunas limitaciones. En particular, las imágenes (i), (k), (l) y (p) que obtuvieron un RMSE demasiado elevados que afectan de gran manera el promedio del método. Si analizamos estas imágenes cualitativamente en la Figura 5.5, podemos darnos cuenta que el modelo puede sobrestimar el área en contextos de alta densidad de partículas o con formas irregulares. De igual forma, la imagen (i) presenta una ligera sobre estimación con un RMSE de 10.68 nm, lo que sugiere que en algunos casos cuando las nanopartículas que se encuentran dentro de la imagen suelen ser muy grandes, U-Net tiende a incluir regiones adyacentes al borde de las nanopartículas en la máscara segmentada.

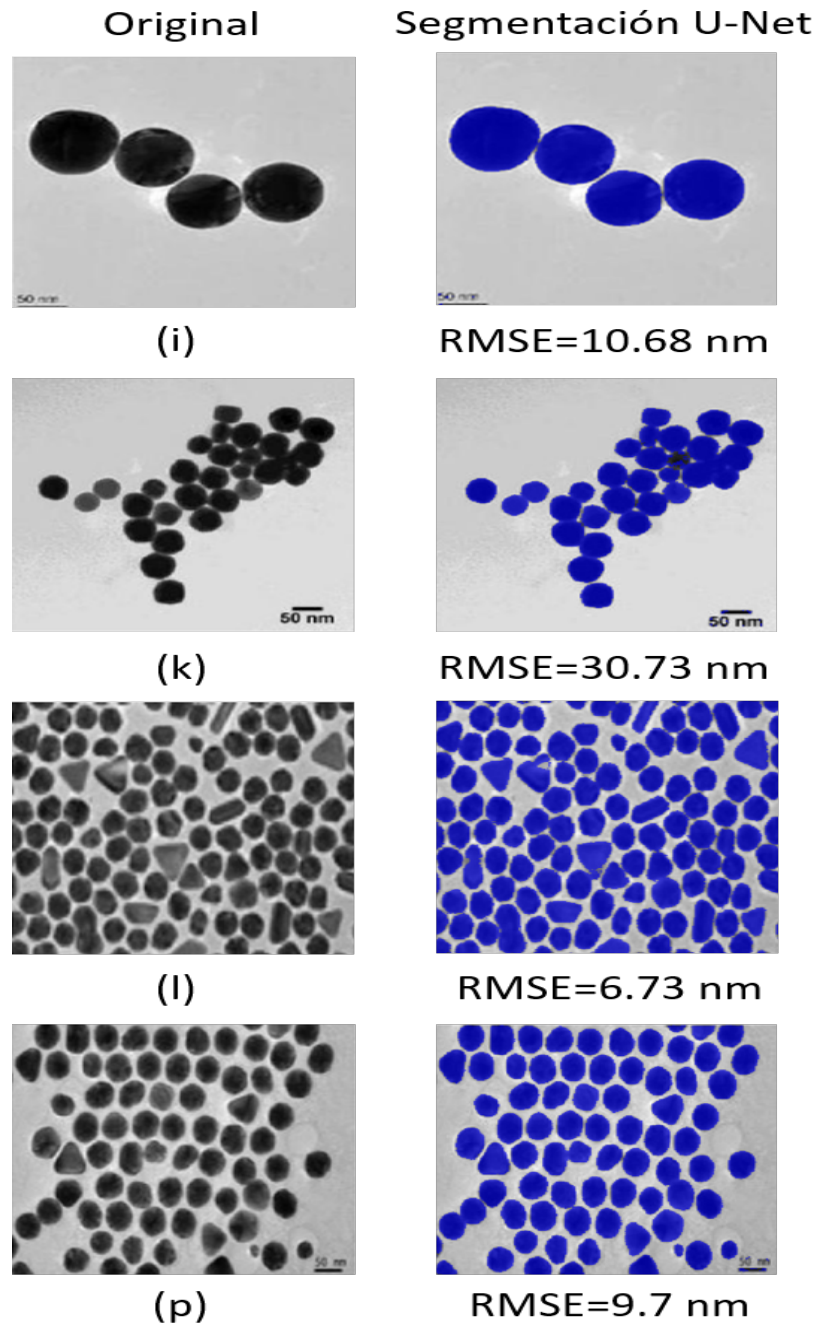


Figura 5.5: Resultados de la segmentación de las imágenes (i), (k), (l) y (p) con U-Net.

A pesar de estos casos atípicos, en la mayoría de las imágenes se mantiene

una diferencia muy reducida entre los diámetros estimados y los reales como lo podemos observar en la Tabla 5.6, siendo que si quitamos los valores estimados de esas 4 imágenes el RMSE promedio del método sería de 0.86 nm, lo que confirma que U-Net es un modelo robusto y confiable para la caracterización de diámetros de nanopartículas.

En conclusión, U-Net representa una mejora significativa respecto a los métodos tradicionales, al ofrecer estimaciones más precisas y con menor dispersión. Aunque su eficacia puede complementarse aún más con estrategias como la aumentación de datos, lo cual se analiza a continuación.

5.1.4 Segmentación de U-Net con aumentación de datos (U-Net DA)

Con la aumentación de datos, U-Net mejoró ligeramente su desempeño, alcanzando una exactitud promedio de 96.6%, con una menor tasa de FN como podemos ver en la Tabla 5.7.

Estos resultados, superan a los métodos anteriores sobre todo a KMC (96.4%), que, si bien hemos mencionado, que era superado por U-Net al comparar la exactitud imagen por imagen, pero no así en el promedio total. Esta vez U-Net DA lo supera en todos los aspectos, mostrando una exactitud mayor al 95% en 18 imágenes de 21.

Imagen	Exactitud	TP	TN	FP	FN
a	0.9943	11625	53536	175	200
b	0.9917	4009	60986	385	156
c	0.9861	13091	51531	438	476
d	0.9872	6098	58597	624	217
e	0.9892	6239	58591	546	160
f	0.9847	7705	56829	530	472
g	0.9806	5563	58703	329	941
h	0.9841	9910	54585	439	602
i	0.9948	11036	54157	111	232
j	0.9890	3912	60901	280	443
k	0.9739	10043	53783	581	1129
l	0.9361	37753	23592	1776	2415
m	0.9860	2884	61737	220	695
n	0.9637	11169	51989	506	1872
o	0.9856	3205	61386	382	563
p	0.9659	29091	34213	607	1625
q	0.9542	12162	50375	538	2461
r	0.9681	10633	52811	303	1789
s	0.8926	32206	26290	1837	5203
t	0.9626	13855	49227	544	1910
u	0.8181	11769	41843	2508	9416
Exactitud promedio: 0.9661					

Tabla 5.7: Segmentación con el método U-Net DA.

Estimación de diámetros de U-Net DA

En lo que respecta a la estimación de diámetros, el modelo entrenado de U-Net DA demostró ser el modelo con mejor rendimiento en la estimación de diámetros de nanopartículas, alcanzando un RMSE promedio de tan solo 2.58 nm, el valor más bajo entre todos los métodos evaluados, y como mencionamos anteriormente, si el RMSE es menor que 3.16 nm, el método logra resultados aceptables. Este resultado confirma que la aumentación de datos fortalece la capacidad del modelo para generalizar a nuevas condiciones, mejorando su rendimiento en tareas de segmentación y caracterización.

En la mayoría de las 21 imágenes analizadas, el modelo produjo estimaciones de diámetro casi idénticas a los valores reales, como se observa en la Tabla 5.8, donde podemos ver que 15 de las 21 imágenes tienen un RMSE menor a 1, es decir prácticamente nulo, destacando las imágenes (i) y (k) que habían tenido muy malos resultados con U-Net en la sección anterior (Figura 5.5). En estos casos, el modelo no solo segmentó correctamente las nanopartículas, sino que también logró conservar su proporción y geometría, lo cual es esencial para una caracterización precisa.

Imagen	Diámetro U-Net DA (nm)	Diámetro real nm	RMSE (nm)
a	103.7526	103.8961	0.1435
b	39.7109	39.7260	0.0141
c	93.0791	90.8546	2.2244
d	40.1090	41.0959	0.9870
e	40.8940	41.8569	0.9629
f	20.6674	21.2267	0.5593
g	19.9693	21.6667	1.6974
h	17.3589	19.2857	1.9279
i	82.3626	83.3333	0.9707
j	17.2632	17.2941	0.0316
k	48.7303	49.0909	0.3605
l	45.7499	39.6610	6.0864
m	10.0365	9.6014	0.4350
n	10.7831	11.6531	0.8701
o	12.0912	11.8429	0.2484
p	53.5799	45.5873	7.9926
q	10.8895	15.5804	4.6919
r	8.3966	7.9229	0.4738
s	7.2764	7.4306	0.1542
t	11.5456	12.2273	0.6817
u	12.4794	12.5708	0.0917
RMSE Promedio: 2.58 nm			

Tabla 5.8: Estimación de diámetros utilizando el método U-Net DA.

Aunque el desempeño global fue bueno, se identificaron algunos casos con errores moderados. En la Figura 5.6 se muestran las imágenes con RMSE atípicos. En la imagen (p) (RMSE 7.99 nm) y la imagen (q) (RMSE 4.69 nm). Estos valores se deben a la presencia de partículas superpuestas, deformadas o con bordes poco definidos, lo que dificulta la delimitación exacta incluso para modelos avanzados. Sin embargo, estos errores son aislados y no afectan significativamente el promedio global del método.

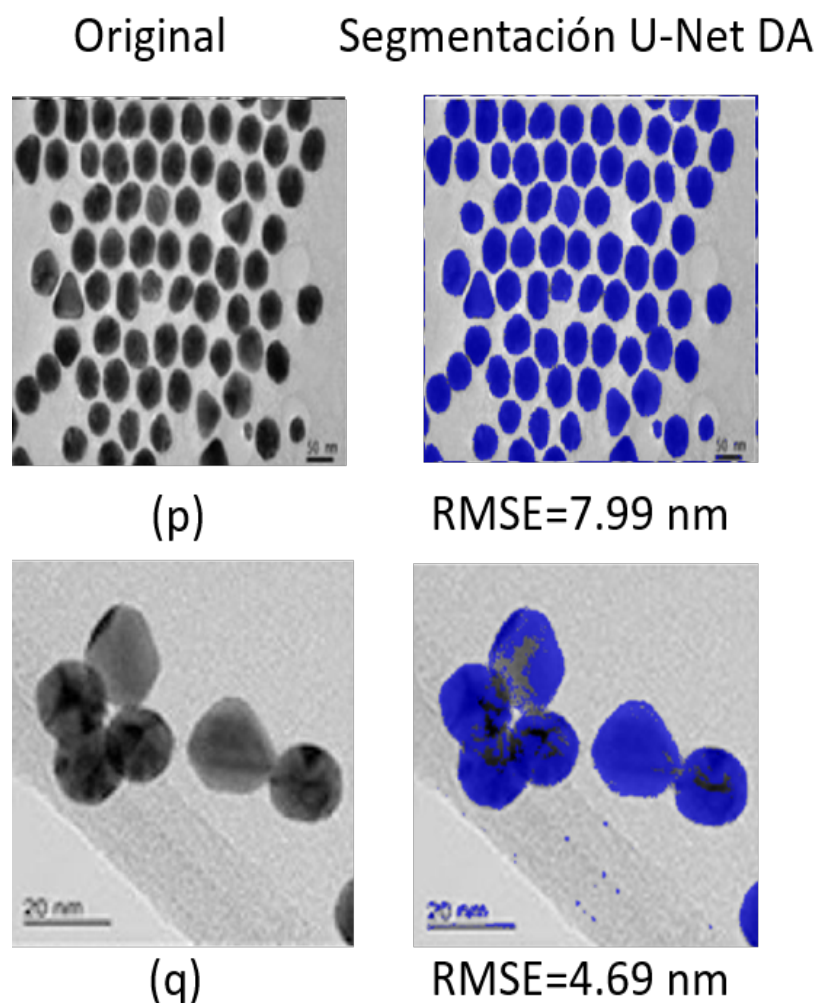


Figura 5.6: Resultados de la segmentación de las imágenes (p) y (q) con RMSE elevados.

Este modelo también mostró menor sensibilidad a las condiciones del fondo en comparación con U-Net sin aumentación de datos, manteniendo una mejor segmentación en imágenes de dificultad intermedia o difícil. Esto sugiere que la diversidad generada en los datos de entrenamiento permite al modelo adaptarse mejor a variaciones en la forma, tamaño y distribución de las partículas.

En resumen, U-Net DA no solo supera ampliamente a los métodos tradicionales,

sino que también mejora de manera clara el desempeño del modelo base de U-Net. Además, su RMSE es menor a 3.16 por lo cual es un método válido para la caracterización del diámetro en imágenes de nanopartículas.

Aunque U-Net DA logro obtener una validez para la caracterización del diámetro en nanopartículas, en nuestra investigación probamos algunos otros métodos de aprendizaje profundo de los cuales veremos sus resultados en las siguientes secciones.

5.1.5 Segmentación con el método Mask R-CNN

Mask R-CNN, una arquitectura avanzada para segmentación por instancias que combina detección de objetos y segmentación pixel a pixel, fue evaluada en su capacidad para estimar el diámetro de nanopartículas a partir de los cuadros delimitadores generados en la segmentación. El método de Mask R-CNN es un método muy completo ya que logra segmentar las imágenes de nanopartículas como pixeles de fondo y pixeles de nanopartícula. Pero además presenta su cuadro delimitador el cual facilita la caracterización del diámetro.

Si observamos la Tabla 5.9, este método presentó un rendimiento inferior respecto a U-Net y KMC, con una exactitud promedio de 83.2%. El desempeño disminuyó notablemente en imágenes de alta complejidad, reflejando una mayor tasa de FP.

Imagen	Exactitud	TP	TN	FP	FN
a	0.8421	11262	43928	9783	563
b	0.9191	4056	56178	5193	109
c	0.9086	12859	46689	5280	708
d	0.8823	6251	51569	7652	64
e	0.9127	6247	53567	5570	152
f	0.9296	7646	53273	4086	531
g	0.8786	6294	51287	7745	210
h	0.8918	10248	48195	6829	264
i	0.9096	11192	48420	5848	76
j	0.9235	3925	56595	4586	430
k	0.9231	10411	50084	4280	761
l	0.5970	17456	21668	3700	22712
m	0.9368	546	60851	1106	3033
n	0.8184	2796	50837	1658	10245
o	0.9326	449	60672	1096	3319
p	0.7402	18269	30242	4578	12447
q	0.7387	14126	34284	16629	497
r	0.8420	3785	51399	1715	8637
s	0.4779	4632	26685	1442	32777
t	0.8077	5073	47862	1909	10692
u	0.6644	874	42670	1681	20311
Exactitud promedio: 0.8322					

Tabla 5.9: Segmentación utilizando el método Mask R-CNN.

Estimación de diámetros con el método Mask R-CNN

Los resultados de la estimación del diámetro con Mask R-CNN (Tabla 5.10) indican un desempeño intermedio, con un RMSE promedio de 5.70 nm, lo cual lo posiciona por debajo del rendimiento de los modelos U-Net DA, pero claramente por encima de los métodos tradicionales como KMC. Esto sugiere que si bien Mask R-CNN tiene potencial, su arquitectura orientada principalmente a objetos macroscópicos puede no ser óptima para la morfología específica de nanopartículas.

Imagen	Diámetro Mask R-CNN	Diámetro real (nm)	RMSE (nm)
a	113.3117	103.8961	9.4160
b	41.0959	39.7260	1.3700
c	96.2233	90.8546	5.3710
d	45.9665	41.0959	4.8710
e	45.4338	41.8569	3.5770
f	21.7000	21.2267	0.4730
g	22.3333	21.6667	0.6670
h	18.8889	19.2857	0.3970
i	85.4167	83.3333	2.0830
j	20.8824	17.2941	3.5880
k	56.7045	49.0909	7.6160
l	54.5455	39.6610	14.8840
m	13.0000	9.6014	3.3990
n	11.3063	11.6531	0.3470
o	10.4167	11.8429	1.4260
p	59.6750	45.5873	14.0900
q	18.7946	15.5804	3.2140
r	7.9310	7.9229	0.0100
s	9.2189	7.4306	1.7880
t	11.1688	12.2273	1.0580
u	14.3182	12.5708	1.7470
RMSE Promedio: 5.70 nm			

Tabla 5.10: Estimación de diámetros utilizando el método Mask R-CNN.

Un punto relevante es que Mask R-CNN tiende a fragmentar partículas o perder precisión en su contorno en imágenes con alta densidad o ruido de fondo, lo que afecta directamente la medición del diámetro, ya que se basa en el ancho del cuadro delimitador (Figura 5.7) más que en la forma real de la partícula.

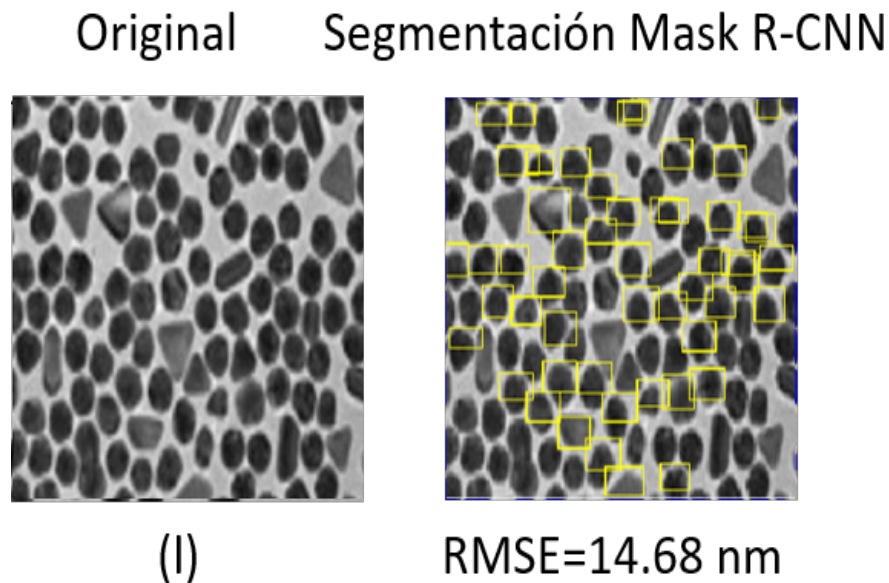


Figura 5.7: Cuadros delimitadores generados por la segmentación de Mask R-CNN en la imagen "I".

En resumen, aunque Mask R-CNN, no logró superar a U-Net DA, puede ofrecer buenos resultados en imágenes fáciles de segmentar donde logra una buena segmentación tanto con cuadros delimitadores como con sus máscaras binarias (Figura 5.8). Su enfoque basado en cajas limita la precisión en la estimación del tamaño de nanopartículas con geometrías irregulares o contornos difusos. Se recomienda considerar este modelo como una opción complementaria, más que principal, cuando se requiere alta precisión en la caracterización.

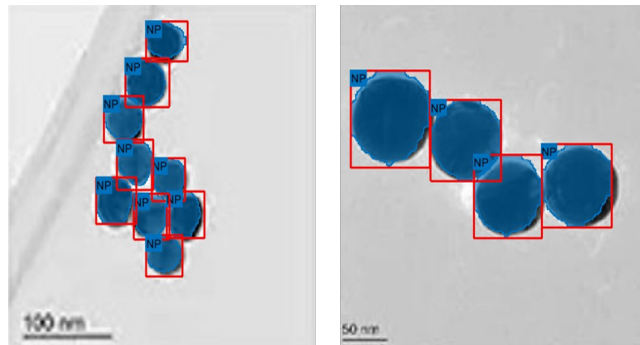


Figura 5.8: Segmentación de Mask R-CNN con imágenes fáciles.

5.1.6 Estimación de diámetros con el método YOLO

YOLO, un modelo de detección de objetos en tiempo real basado en cuadros delimitadores, a diferencia de los métodos anteriores este no realiza una segmentación de píxeles en las imágenes. Por lo tanto, no se tiene una sección de segmentación y solamente fue evaluado por su capacidad para estimar el diámetro de nanopartículas mediante el ancho de los cuadros delimitadores.

En la tabla 5.11 vemos que el modelo logró un RMSE promedio de 4.49 nm, mejorando el rendimiento de KMC, Mask R-CNN y U-Net pero todavía por debajo de AT y U-Net DA.

Imagen	Diámetro YOLO	Diámetro real(nm)	RMSE (nm)
a	94.3128	103.8961	9.585
b	42.7298	39.7260	3.004
c	92.9409	90.8546	2.086
d	40.8873	41.0959	0.208
e	42.3400	41.8569	0.483
f	21.6194	21.2267	0.393
g	21.9579	21.6667	0.291
h	20.9920	19.2857	1.707
i	85.3401	83.3333	2.007
j	22.6605	17.2941	5.367
k	42.7632	49.0909	6.327
l	28.9950	39.6610	10.669
m	9.3021	9.6014	0.299
n	10.9185	11.6531	0.735
o	9.3021	11.8429	2.541
p	34.7585	45.5873	10.826
q	17.1821	15.5804	1.602
r	7.3520	7.9229	0.571
s	6.8552	7.4306	0.575
t	11.2056	12.2273	1.022
u	12.9625	12.5708	0.392
RMSE Promedio: 4.49 nm			

Tabla 5.11: Estimación de diámetros utilizando el método YOLO.

Si analizamos la Tabla 5.11, YOLO tiene resultados muy parecidos de estimaciones a los de U-Net en el que habíamos comentado que de no ser por 4 imágenes el RMSE promedio de U-Net disminuiría considerablemente. En el caso de YOLO son 5 las imágenes con valores de RMSE elevados (a), (j), (k), (l) y (p).

Estos errores indican que el uso exclusivo de cuadros delimitadores, sin segmentación a nivel de píxel, limita la precisión cuando las nanopartículas no son

perfectamente circulares o están parcialmente superpuestas. A pesar de ello, su rendimiento global es aceptable, especialmente por su velocidad de inferencia, lo que lo hace útil en escenarios donde se prioriza eficiencia sobre precisión extrema.

5.1.7 Estimación de diámetros de YOLO con aumentación de datos (YOLO DA)

Al igual que sucedió con U-Net, YOLO DA mejoro la versión de YOLO sin aumentación de datos. La inclusión de aumentación de datos durante el entrenamiento permitió a YOLO mejorar notablemente su capacidad de generalización, reduciendo el RMSE promedio a 2.84 nm (Tabla 5.12), lo que representa una mejora sustancial respecto a su versión base. Logrando superar en rendimiento a los métodos anteriores con excepción de U-Net DA (RMSE promedio de 2.58 nm) aunque con una diferencia mínima de 0.26 nm.

Imagen	Diámetro YOLO DA	Diámetro real(nm)	RMSE (nm)
a	101.9792	103.8961	1.917
b	40.0219	39.7260	0.296
c	98.6060	90.8546	7.749
d	39.7570	41.0959	1.339
e	39.4102	41.8569	2.446
f	20.8961	21.2267	0.331
g	21.3813	21.6667	0.286
h	19.6824	19.2857	0.397
i	85.5398	83.3333	2.206
j	18.4577	17.2941	1.164
k	41.4539	49.0909	7.638
l	37.6302	39.6610	2.031
m	8.9216	9.6014	0.680
n	11.2134	11.6531	0.440
o	13.5513	11.8429	1.708
p	48.2018	45.5873	2.615
q	19.4802	15.5804	3.902
r	7.3367	7.9229	0.586
s	7.1723	7.4306	0.258
t	10.9700	12.2273	1.257
u	13.5047	12.5708	0.934
RMSE Promedio: 2.84 nm			

Tabla 5.12: Estimación de diámetros utilizando el método YOLO DA.

Las estimaciones se mantuvieron muy cercanas al valor real en 19 de 21 imágenes. La aumentación de datos mejoró la robustez del modelo ante rotaciones, escalas y variaciones de contraste, ayudando a reducir errores.

No obstante, el modelo aún mostró limitaciones en las imágenes (c) y (k), donde sus RMSE superaron los 7 nanómetros, estas limitaciones las podemos observar de mejor manera en la Figura 5.9. También podemos observar la similitud que existe entre estas imágenes, dando a pensar que en imágenes similares a estas YOLO

DA puede hacer una mala estimación. Aun así, YOLO DA supera la barrera del RMSE menor a 3.16 nm y al igual que U-Net DA es considerado un método válido para la caracterización de diámetro en nanopartículas.

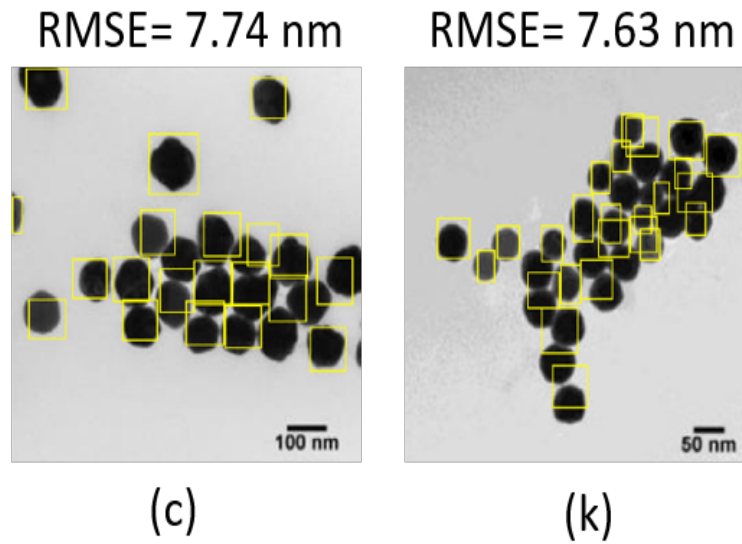


Figura 5.9: Cuadros delimitadores generados con YOLO DA en las imágenes (c) y (k) del dataset de prueba (imágenes con RMSE elevados).

5.2 Análisis según la dificultad de segmentación

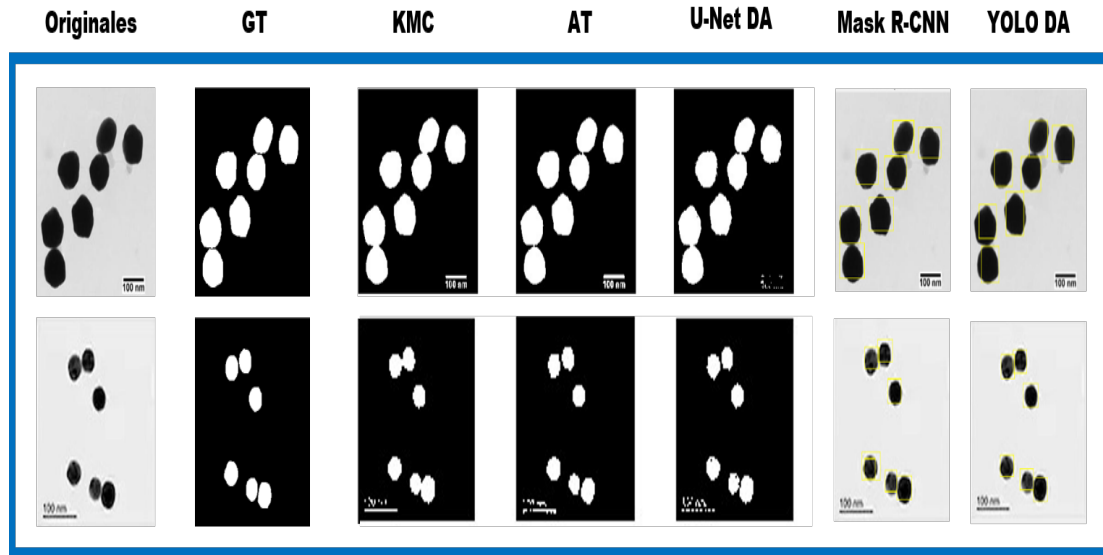


Figura 5.10: Resultados de las segmentaciones de todos los métodos con imágenes fáciles.

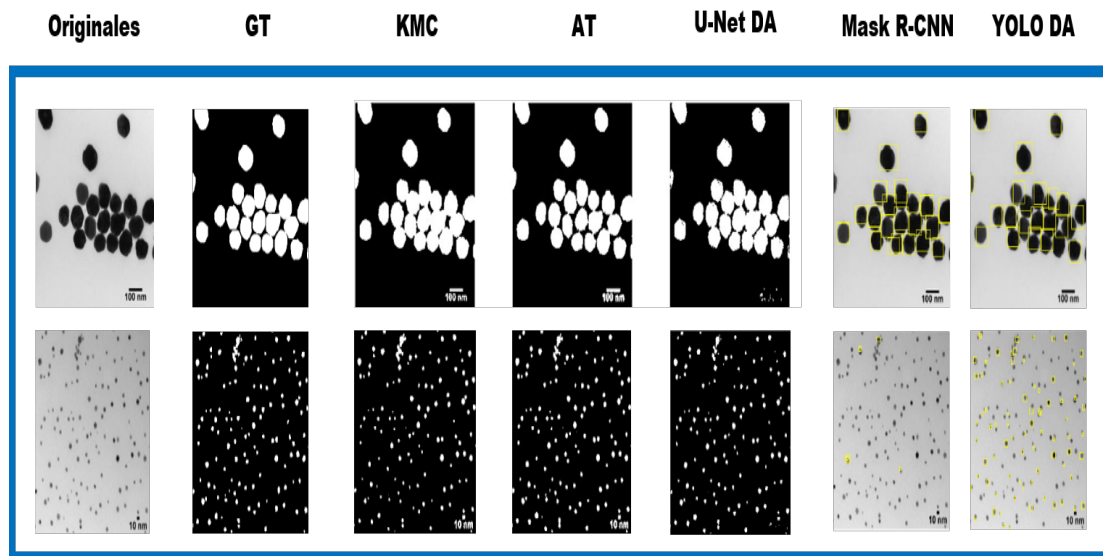


Figura 5.11: Resultados de las segmentaciones de todos los métodos con imágenes intermedias.

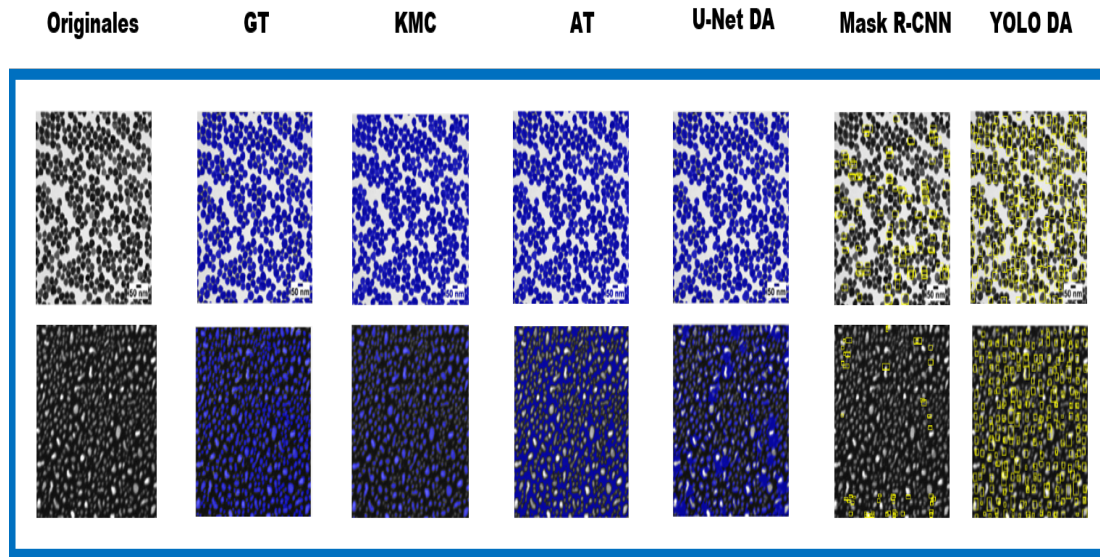


Figura 5.12: Resultados de las segmentaciones de todos los métodos con imágenes difíciles.

Las Figuras 5.10, 5.11 y 5.12 presentan una comparación visual de los resultados de segmentación obtenidos por todos los métodos utilizados y clasificados según el nivel de dificultad de las imágenes de nanopartículas fáciles (Figura 5.10), intermedias (Figura 5.11) y difíciles (Figura 5.12).

A partir de estas figuras, se pueden realizar las siguientes observaciones relevantes:

1. **Segmentación de la barra de escala:** El modelo U-Net DA, logra distinguir correctamente los píxeles correspondientes a la barra de escala, clasificándolos como fondo. Este comportamiento contrasta con los métodos tradicionales como KMC y AT, que en algunos casos tienden a confundir estos elementos con nanopartículas, afectando la precisión de la segmentación.
2. **Desempeño decreciente con el aumento de dificultad:** Todos los métodos evaluados muestran una disminución progresiva en su desempeño

a medida que se incrementa el nivel de dificultad de las imágenes. En las imágenes fáciles, los modelos logran segmentaciones casi perfectas, muy cercanas a la GT. Sin embargo, en las imágenes intermedias y, especialmente, en las difíciles, se observa una clara degradación en la calidad de las segmentaciones, con errores evidentes como sobresegmentación, subsegmentación o confusión entre partículas adyacentes.

3. **Aporte de los métodos con detección basada en cuadros delimitadores:** En las imágenes más difíciles, tanto YOLO, YOLO DA como Mask R-CNN, a pesar de detectar un número reducido de nanopartículas, logran identificar correctamente algunas de ellas con delimitaciones coherentes y proporcionales. Estas detecciones, aunque parciales, permiten obtener estimaciones útiles del diámetro promedio de las partículas, lo que resulta valioso en aplicaciones donde este parámetro es crítico, incluso si no se logra una segmentación completa.

5.3 Comparativa del RMSE

El análisis de los distintos métodos de segmentación y caracterización empleados para la estimación del diámetro de nanopartículas revela diferencias sustanciales en cuanto a precisión, robustez y comportamiento frente a imágenes de distintas complejidades.

Los métodos tradicionales, específicamente KMC y AT, demostraron ser significativamente más limitados. KMC presentó el peor desempeño global, con un RMSE promedio de 12.38 nm, reflejando una alta inestabilidad ante variaciones en contraste, ruido de fondo y morfología de las partículas. Por su parte, AT

obtuvo un RMSE de 3.69 nm, con resultados aceptables en imágenes fáciles pero una fuerte caída de precisión en imágenes difíciles.

Entre los métodos de visión por computadora avanzados, se observó un claro liderazgo en términos de precisión y consistencia:

- U-Net DA logró el mejor rendimiento de todos los modelos, con un RMSE promedio de 2.58 nm, demostrando una notable capacidad para generalizar y adaptarse a diferentes condiciones visuales.
- El modelo base U-Net también superó ampliamente a los métodos tradicionales, aunque presentó algunos errores en imágenes complejas, alcanzando un RMSE de 7.59 nm, un RMSE que se vio afectado en gran manera por 4 imágenes que como se comentó anteriormente, sin estas imágenes en el dataset de prueba U-Net tendría un RMSE= 0.86 nm.
- Mask R-CNN mostró un desempeño intermedio (RMSE = 5.70 nm), afectado por su enfoque basado en cuadros delimitadores que tiende a sobreestimar en presencia de partículas aglomeradas o de formas irregulares.

Por otro lado, los modelos YOLO y sus variantes ofrecieron un buen balance entre precisión y eficiencia computacional. La versión básica de YOLO alcanzó un RMSE de 4.49 nm, y su rendimiento mejoró significativamente al aplicar aumentación de datos a un RMSE de 2.83 nm.

En conjunto, los resultados permiten concluir que los métodos basados en aprendizaje profundo, especialmente aquellos que incorporan aumentación de datos, son claramente superiores a los tradicionales para la estimación precisa de diámetros en imágenes de microscopía electrónica. Estas técnicas no solo mejoran la segmentación, sino que permiten una caracterización más exacta y reproducible.

Método	RMSE Promedio (nm)
AT	3.69
KMC	12.38
U-Net	7.59
U-Net DA	2.58
Mask R-CNN	5.70
YOLO	4.49
YOLO DA	2.84

Tabla 5.13: Comparación del RMSE por método, expresado en nanómetros.

Al analizar los valores promedio del RMSE en la Tabla 5.13 para la estimación del diámetro de nanopartículas, se observa que dos de los modelos evaluados, U-Net DA y YOLO DA lograron obtener un RMSE promedio menor a 3.16 nm. Este umbral se considera adecuado en aplicaciones de caracterización, ya que indica una desviación cuadrática baja respecto a las medidas de referencia, lo cual se traduce en una estimación precisa del tamaño de las nanopartículas. Dichos resultados sugieren que estos modelos tienen el potencial de sustituir de manera confiable el procedimiento manual de medición, aportando además ventajas en términos de velocidad y objetividad.

5.4 Herramienta para caracterización

Para concluir esta investigación, se llevó a cabo la implementación de estos modelos entrenados en una herramienta. Para eso se desarrolló una aplicación en MATLAB para la caracterización automática de nanopartículas. Esta aplicación consta con

5.4 Herramienta para caracterización

una interfaz gráfica de 4 paneles como lo podemos ver en la Figura 5.13.

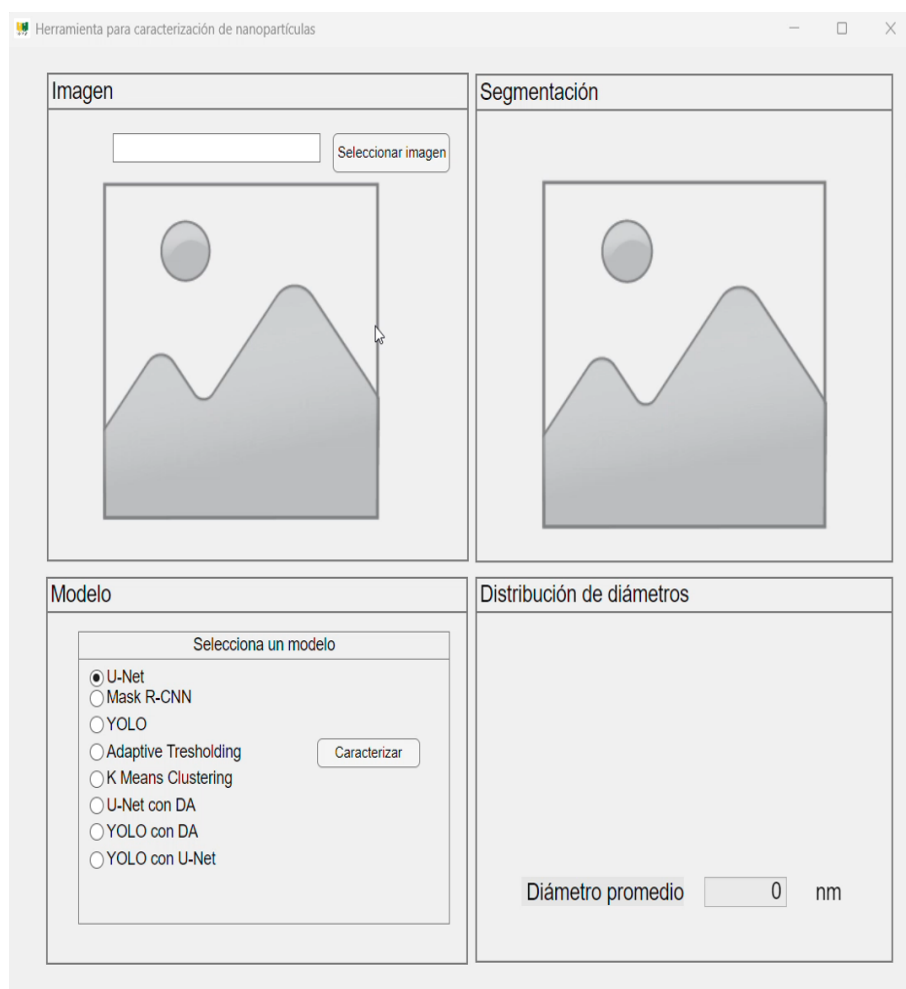


Figura 5.13: Aplicación para la caracterización automática de nanopartículas (pantalla de inicio).

En el panel de arriba a la izquierda se selecciona la imagen que se quiere caracterizar, al seleccionar la imagen se abre una ventana emergente con la imagen seleccionada solicitando al usuario seleccionar la barra de escala, esto para determinar el factor de conversión de pixeles a nanómetros. Por último, en el panel de abajo a la izquierda el usuario debe seleccionar el método por el cual desea caracterizar la imagen. Una vez seleccionado el método se realiza la segmentación y aparece la

5.4 Herramienta para caracterización

imagen segmentada en el panel de arriba a la derecha, así como la distribución de diámetros y el diámetro promedio en el panel de abajo a la derecha como podemos ver en la Figura 5.14.

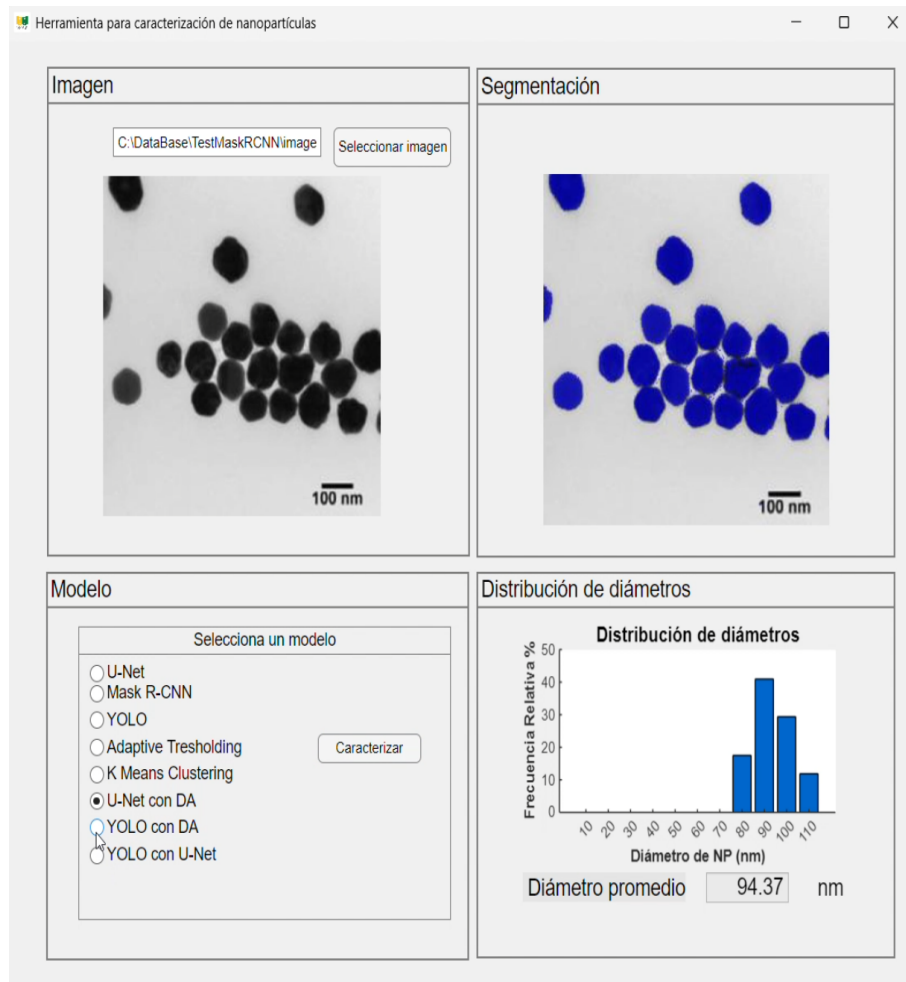


Figura 5.14: Aplicación para la caracterización automática de nanopartículas (pantalla con imagen cargada y diámetros calculados).

5.5 Análisis detallado del método U-Net DA

El modelo U-Net DA demostró ser el método con mejor desempeño dentro del conjunto de técnicas evaluadas en esta investigación, alcanzando un RMSE promedio menor a 3.16 nm, lo que indica una alta precisión en la estimación del diámetro de las nanopartículas. Su efectividad se atribuye principalmente al proceso de aumentación de datos aplicado durante el entrenamiento, el cual incrementó la capacidad del modelo para adaptarse a imágenes con diferente variabilidad morfológica.

En la Figura 5.15 se muestran las distribuciones de los diámetros reales y los diámetros estimados por el modelo U-Net DA para las imágenes (s) y (t). Se observa que las distribuciones predichas conservan una alta similitud con las reales, sobre todo en la concentración de frecuencias en torno al diámetro promedio.

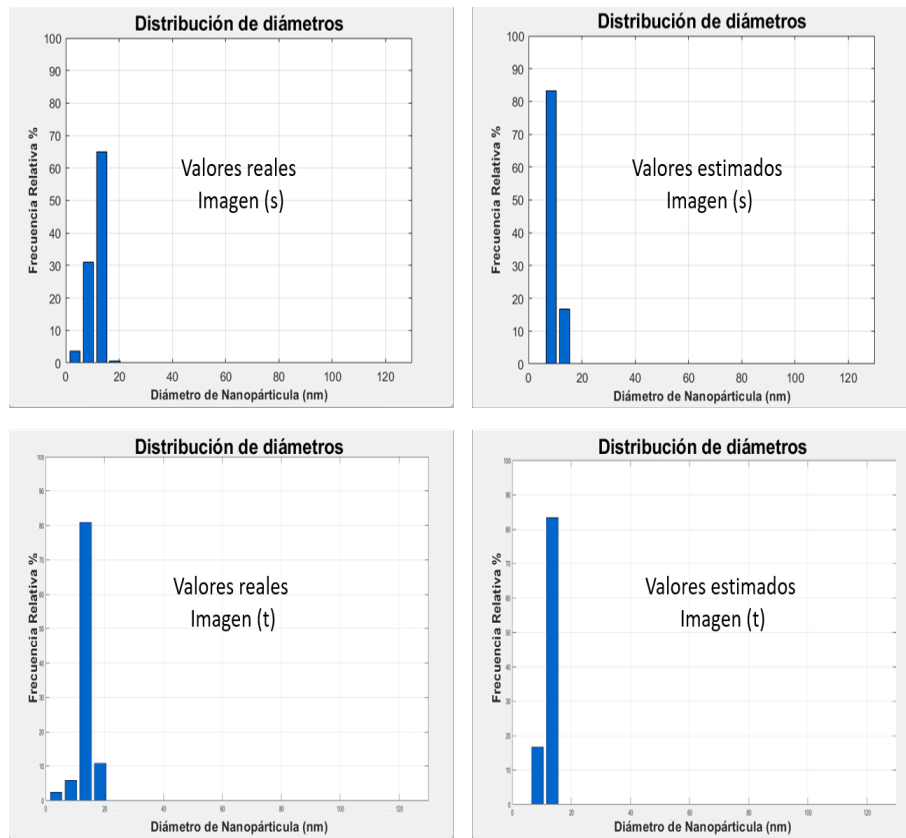


Figura 5.15: Distribuciones de los diámetros reales y estimados en las imágenes (s) y (t).

Las ligeras desviaciones en los extremos se atribuyen a que a las predicciones se le aplicó un postprocesamiento con el IQR. Este tipo de análisis estadístico complementa las métricas de error y proporciona una validación adicional de la estabilidad del modelo.

UNet en recientes investigaciones ya había conseguido buenos resultados en la segmentación de nanopartículas, sin embargo, a diferencia del trabajo de [27], donde los modelos fueron evaluados principalmente con métricas de segmentación, en esta tesis se incorporó un análisis adicional enfocado en la caracterización morfológica de las partículas, empleando el diámetro estimado como variable cuanti-

tativa principal. Este enfoque permitió evaluar la precisión del modelo en unidades físicas (nanómetros), estableciendo un vínculo directo entre la segmentación automática y la caracterización estructural de las nanopartículas.

5.6 Discusión

Los resultados obtenidos en esta investigación permiten evaluar de manera crítica el desempeño de distintos modelos de segmentación y estimación de diámetros aplicados al análisis de nanopartículas. La herramienta desarrollada integra estas metodologías en un entorno automatizado, demostrando su potencial como alternativa viable a los métodos tradicionales manuales, que suelen ser subjetivos, lentos y poco reproducibles.

En cuanto a la segmentación de las imágenes, los modelos avanzados basados en aprendizaje profundo superaron consistentemente a los métodos tradicionales. U-Net, particularmente cuando se combinó con técnicas de aumentación de datos, obtuvo precisiones promedio superiores al 96%, mostrando una notable capacidad para generalizar a diferentes tipos de imágenes de nanopartículas. Esto concuerda con lo reportado por [40], quienes demostraron la efectividad de U-Net en tareas biomédicas con conjuntos de datos limitados.

El análisis de exactitud reveló que Mask R-CNN, si bien ofreció un buen rendimiento en detección, fue más susceptible a errores de segmentación en muestras con alta densidad de partículas, lo cual afectó negativamente su desempeño global. Por otro lado, el método KMC presentó un menor desempeño debido a su naturaleza no supervisada y su sensibilidad a la variabilidad en la intensidad de píxeles, confirmando su utilidad limitada en contextos donde se requiere alta

especificidad morfológica.

Respecto a la estimación del diámetro, los modelos de detección directa como YOLO arrojaron resultados satisfactorios, especialmente cuando se utilizó con aumentación de datos. Esta estrategia permitió mejorar el enfoque de detección al reducir el ruido de fondo y centrarse en las regiones relevantes de las partículas.

El uso del RMSE como métrica cuantitativa evidenció un menor error promedio en la estimación de diámetros con modelos segmentados, lo cual valida el enfoque propuesto.

El uso del IQR como técnica de postprocesamiento contribuyó significativamente a mejorar la consistencia de las estimaciones, al permitir la exclusión automática de valores atípicos. Esta estrategia, inspirada en prácticas estadísticas robustas, resultó útil.

Un aspecto importante a tomar en cuenta es que tanto U-Net DA como YOLO DA tuvieron solamente dos imágenes con valores de RMSE elevados y esas imágenes fueron diferentes en ambos métodos como lo podemos ver en las Figuras 5.6 y 5.9. Esto quiere decir que, si uno de los métodos no calcula bien los diámetros de nanopartículas en cierto tipo de imágenes, puede ser que el otro si las calcule. Es por eso que la herramienta debe tener ambos modelos y deja un hincapié a futuras investigaciones.

En resumen, los resultados demuestran que es posible cumplir con el objetivo general de esta investigación: es posible desarrollar una metodología automatizada y precisa para la caracterización de nanopartículas utilizando métodos de inteligencia artificial, con aplicaciones potenciales tanto en investigación como en procesos industriales.

6. Conclusiones

6.1 Conclusiones

La presente tesis ha logrado desarrollar una metodología computacional robusta para la caracterización automatizada de nanopartículas, integrando modelos de segmentación y estimación de diámetros basados en visión por computadora tradicional y avanzada. Esta herramienta fue implementada en una aplicación funcional, validada con imágenes de microscopía electrónica, y permite realizar análisis automáticos de forma precisa, reproducible y eficiente.

A lo largo del estudio se evaluaron diferentes métodos de segmentación, incluyendo KMC, U-Net, U-Net DA y Mask R-CNN, así como variantes de YOLO para la estimación de diámetros. Los resultados demostraron que los modelos de visión por computadora avanzada, especialmente U-Net DA, ofrecieron un equilibrio superior entre exactitud y generalización. Asimismo, el empleo del IQR como criterio estadístico permitió la exclusión de valores atípicos, mejorando la consistencia de las mediciones.

La aplicación desarrollada representa una contribución tecnológica relevante,

al permitir una caracterización integral de nanopartículas mediante flujos automatizados que combinan segmentación, medición y análisis estadístico. Esta herramienta es adaptable a distintos tipos de imágenes y puede ser utilizada tanto en contextos de investigación como en entornos industriales.

6.2 Trabajos futuros

Como trabajo futuro, se plantea ampliar la cantidad y diversidad de imágenes que conforman el conjunto de datos, con el objetivo de mejorar la capacidad de generalización de los modelos y permitir que la herramienta desarrollada sea capaz de procesar una gama más amplia de tipos de imágenes de nanopartículas, incluyendo aquellas con variaciones significativas en forma, tamaño, contraste y nivel de ruido.

Asimismo, una línea de investigación prometedora consiste en analizar el desempeño de los distintos modelos en función de las características específicas de las imágenes, con el fin de identificar patrones de comportamiento que permitan asociar ciertas condiciones de entrada con el modelo más adecuado. Esta información podría integrarse en la herramienta como un sistema de recomendación automática, que al momento de cargar una imagen sugiera el modelo óptimo para realizar la segmentación, maximizando así la precisión del análisis. Esta funcionalidad representa un avance significativo que se proyecta desarrollar en el futuro próximo.

Además, se considera, desarrollar una metodología extendida que incorpore nuevas estrategias de preprocesamiento y limpieza de imágenes antes de aplicar el método de U-Net DA. La calidad del resultado de segmentación depende en gran medida de las condiciones iniciales de la imagen, por lo que la inclusión de

técnicas más avanzadas, como filtros adaptativos, realce de bordes, eliminación de ruido mediante transformadas de onda o normalización basada en histogramas, podría mejorar significativamente la detección de contornos y la delimitación de nanopartículas.

Otra línea de investigación futura, consiste en comparar el método con mejor desempeño en esta investigación (U-Net DA), con arquitecturas más recientes basadas en Transformers, las cuales han demostrado resultados sobresalientes en tareas de segmentación y detección de objetos, que incorporan mecanismos de atención que permiten capturar dependencias globales dentro de la imagen, superando las limitaciones de las CNN tradicionales en la representación de contextos espaciales amplios. Evaluar el desempeño comparativo entre U-Net DA y estas arquitecturas emergentes permitiría determinar si la integración de mecanismos de atención mejora la precisión y robustez en la segmentación de nanopartículas, particularmente en imágenes con alto nivel de ruido o con partículas parcialmente superpuestas.

7. Anexos A

Implementación de metodología

7.0.1 Métodos tradicionales

Listing 7.1: Segmentación KMC y cálculo de métricas en MATLAB

```
1 I = imread('Test/image021.jpg');
2 Gray=im2gray(I);
3 %GT
4 A=logical(imagen(:,:,21));
5
6 AccuracyArreglo=zeros(4,4);
7 LabelsContador=1;
8 for K = 1:4
9     for L = 1:K
10         [Labels,~]= imsegkmeans(Gray,K);
11         BinaryKMC = (Labels==L);
```

```

12     B = BinaryKMC;
13
14     if(isa(A,'logical'))
15         X = A;
16     else
17         X = imbinarize(A);
18     end
19     if(isa(B,'logical'))
20         Y = B;
21     else
22         Y = imbinarize(B);
23     end
24
25     % Evaluate TP, TN, FP, FN
26     sumindex = X + Y;
27     TP = length(find(sumindex == 2));
28     TN = length(find(sumindex == 0));
29     subtractindex = X - Y;
30     FP = length(find(subtractindex == -1));
31     FN = length(find(subtractindex == 1));
32     Accuracy = (TP+TN)/(FN+FP+TP+TN);
33     AccuracyArreglo(K,L)= Accuracy;
34 end
35 end
36
37 [Accuracy,K] = max(AccuracyArreglo);

```

```

38 [Accuracy,M] = max(Accuracy);
39 [Labels,~] = imsegkmeans(Gray,K(M));
40 BinaryKMC = (Labels==M);
41
42 B = BinaryKMC;
43
44 if(isa(A,'logical'))
45     X = A;
46 else
47     X = imbinarize(A);
48 end
49 if(isa(B,'logical'))
50     Y = B;
51 else
52     Y = imbinarize(B);
53 end
54
55 % Evaluate TP, TN, FP, FN
56 sumindex = X + Y;
57 TP = length(find(sumindex == 2));
58 TN = length(find(sumindex == 0));
59 subtractindex = X - Y;
60 FP = length(find(subtractindex == -1));
61 FN = length(find(subtractindex == 1));
62
63 AccuracyNew = (TP+TN)/(FN+FP+TP+TN);

```

```

64 SensitivityKMC = TP/(TP+FN);
65 PrecisionKMC = TP/(TP+FP);
66 IOU = TP/(TP+FP+FN);
67 Recall = TP/(TP+FN);
68 DICE = 2*TP/(2*TP+FP+FN);
69 F1Score = 2*PrecisionKMC*Recall/(PrecisionKMC+Recall);
70
71 disp(AccuracyNew);
72 disp(TP);
73 disp(TN);
74 disp(FP);
75 disp(FN);
76 imshow(A);

```

Listing 7.2: AT y cálculo de métricas en MATLAB

```

1 I = imread('Test/image013.jpg');
2 Gray = im2gray(I);
3 %GT
4 A = logical(imagen(:,:,13));
5 K = 1;
6 AccuracyArregloAT = zeros(100,1);
7 for v = 0.01:+0.01:1.0
8     Tresh = adaptthresh(Gray,v);
9     BinaryAT = not(imbinarize(Gray,Tresh));
10    B = BinaryAT;
11

```

```

12  % Evaluate TP, TN, FP, FN
13  sumindex = A + B;
14  TP = length(find(sumindex == 2));
15  TN = length(find(sumindex == 0));
16  subtractindex = A - B;
17  FP = length(find(subtractindex == -1));
18  FN = length(find(subtractindex == 1));
19  AccuracyAT = (TP+TN)/(FN+FP+TP+TN);
20  AccuracyArregloAT(K) = AccuracyAT;
21
22  K = K + 1;
23  end
24
25  [AccuracyATNew,L] = max(AccuracyArregloAT);
26  L = L/100;
27  Tresh = adaptthresh(Gray,L);
28  BinaryAT = not(imbinarize(Gray,Tresh));
29  B = BinaryAT;
30
31  % Evaluate TP, TN, FP, FN
32  sumindex = A + B;
33  TP = length(find(sumindex == 2));
34  TN = length(find(sumindex == 0));
35  subtractindex = A - B;
36  FP = length(find(subtractindex == -1));
37  FN = length(find(subtractindex == 1));

```

```

38 AccuracyAT = (TP+TN)/(FN+FP+TP+TN);
39
40 disp(AccuracyAT);
41 disp(TP);
42 disp(TN);
43 disp(FP);
44 disp(FN);
45
46 imshow(B);
47 figure;
48 subplot(1,3,1);
49 imshow(Gray);
50 title('Imagen original');
51
52 subplot(1,3,2);
53 imshow(labeloverlay(Gray, A, 'Colormap', 'jet', 'Transparency', 0.4));
54 title('Mask verdadera ');
55
56 subplot(1,3,3);
57 imshow(labeloverlay(Gray, B, 'Colormap', 'jet', 'Transparency', 0.4));
58 title('Mask predicha');

```

7.0.2 Métodos avanzados

Listing 7.3: Segmentación con U-Net y cálculo de métricas en MATLAB

```

1 I = imread('Test/image001.jpg');

```

```

2
3 Gray = im2gray(I);
4 testSeg19 = semanticseg(Gray, trainedNetwork_2);
5
6 t2 = double(testSeg19);
7 t2(t2 < 2) = 1;
8 t2(t2 > 1) = 0;
9 t2 = imbinarize(t2);
10 B = t2;
11
12 % GT
13 A = logical(imagen(:,:,1));
14
15 sumindex = A + B;
16 TP = length(find(sumindex == 2));
17 TN = length(find(sumindex == 0));
18 subtractindex = A - B;
19 FP = length(find(subtractindex == -1)); % Fondo clasificado como NP
20 FN = length(find(subtractindex == 1)); % NP clasificada como fondo
21
22 AccuracySemantic = (TP + TN) / (FN + FP + TP + TN);
23
24 disp(AccuracySemantic);
25 disp(TP);
26 disp(TN);
27 disp(FP);

```

```

28 disp(FN);
29
30 imshow(A);
31 figure;
32 subplot(1,3,1);
33 imshow(Gray);
34 title('Imagen original');
35
36 subplot(1,3,2);
37 imshow(labeloverlay(Gray, A, 'Colormap', 'jet', 'Transparency', 0.4));
38 title('Mask verdadera ');
39
40 subplot(1,3,3);
41 imshow(labeloverlay(Gray, B, 'Colormap', 'jet', 'Transparency', 0.4));
42 title('Mask predicha');

```

Listing 7.4: Segmentación con Mask R-CNN y cálculo de métricas en MATLAB

```

1 I = imread('Test/image013.jpg');
2
3 % GT
4 A = logical(imagen(:,:,13));
5 radioMASK = 0.001;
6 K = 1;
7
8 % --- MASK R-CNN ---
9 AccuracyArregloAT = zeros(10,1);

```

```

10 for v = 1:10
11     [masks,labels,scores,boxes] = segmentObjects(TT, I, Threshold = v *
        radioMASK);
12     MASCARA = zeros(256,256);
13     numpol = size(masks,3);
14     for i = 1:numpol
15         MASCARA(:, :) = MASCARA(:, :) + masks(:, :, i);
16     end
17
18     F1 = logical(MASCARA(:, :));
19     B = F1;
20
21     if(isa(A, 'logical'))
22         X = A;
23     else
24         X = imbinarize(A);
25     end
26     if(isa(B, 'logical'))
27         Y = B;
28     else
29         Y = imbinarize(B);
30     end
31
32     % Evaluate TP, TN, FP, FN
33     sumindex = X + Y;
34     TP = length(find(sumindex == 2));

```

```

35     TN = length(find(sumindex == 0));
36     subtractindex = X - Y;
37     FP = length(find(subtractindex == -1));
38     FN = length(find(subtractindex == 1));
39     AccuracyAT = (TP + TN) / (FN + FP + TP + TN);
40     AccuracyArregloAT(v) = AccuracyAT;
41
42     K = K + 1;
43 end
44
45 [AccuracyAT, L] = max(AccuracyArregloAT);
46 [masks, labels, scores, boxes] = segmentObjects(TT, I, Threshold = L *
    radioMASK);
47 MASCARA = zeros(256,256);
48 numpol = size(masks,3);
49 for i = 1:numpol
50     MASCARA(:, :) = MASCARA(:, :) + masks(:, :, i);
51 end
52
53 F1 = logical(MASCARA(:, :));
54 B = F1;
55
56 if(isa(A, 'logical'))
57     X = A;
58 else
59     X = imbinarize(A);

```

```

60 end
61 if(isa(B,'logical'))
62     Y = B;
63 else
64     Y = imbinarize(B);
65 end
66
67 % Evaluate TP, TN, FP, FN
68 sumindex = X + Y;
69 TP = length(find(sumindex == 2));
70 TN = length(find(sumindex == 0));
71 subtractindex = X - Y;
72 FP = length(find(subtractindex == -1));
73 FN = length(find(subtractindex == 1));
74 AccuracyATNew = (TP + TN) / (FN + FP + TP + TN);
75
76 disp(AccuracyATNew);
77 disp(TP);
78 disp(TN);
79 disp(FP);
80 disp(FN);
81
82 imshow(B);
83 figure;
84 subplot(1,3,1);
85 imshow(I);

```

```

86 title('Imagen original');
87
88 subplot(1,3,2);
89 imshow(labeloverlay(I, A, 'Colormap', 'jet', 'Transparency', 0.4));
90 title('Mask verdadera ');
91
92 subplot(1,3,3);
93 imshow(labeloverlay(I, B, 'Colormap', 'jet', 'Transparency', 0.4));
94 title('Mask predicha');

```

Listing 7.5: Detección de nanopartículas y cálculo de diámetros con YOLO

```

1  img1 = imread('C:\DataBase/TestMaskRCNN/image019.jpg');
2  data2 = load('GT_TEST_DELIMITADORES_New.mat');
3
4  Gray = im2gray(img1);
5
6  [bbox, score, label] = detect(TrainedDetector, img1, Threshold = 0.05);
7
8  val = find(score > 0.9);
9  [numRows, numCols] = size(val);
10
11  bboxNew = zeros(numRows, 4);
12  for i = 1:size(val)
13      bboxNew(i,:) = bbox(val(i),:);
14      scoreNew(i) = score(val(i));
15  end

```

```

16
17 diametro = (mean(bboxNew(:,3)) + median(bboxNew(:,3))) / 2;
18 % --- Ground Truth ---
19 gTruth2 = data2.gTruth;
20 trainingData2 = gTruth2.LabelData;
21 blds2 = boxLabelDatastore(trainingData2);
22 dataOut2 = readall(blds2);
23
24 A = dataOut2;
25 bboxes = A{19,1};
26
27 diametro2 = (mean(bboxes(:,3)) + median(bboxes(:,3))) / 2;
28
29 diametro = (bboxNew(ceil(numRows/2),3) + ...
30             bboxNew(ceil(numRows/2) + 1,3) + ...
31             bboxNew(ceil(numRows/2) - 1,3)) / 3;
32
33 detectedImg = insertObjectAnnotation(img1, 'rectangle', bboxNew, "", ...
34                                     TextBoxOpacity = 0.2);
35
36 figure
37 imshow(detectedImg);

```

Referencias

- [1] J. R. P. N. Pájaro Castro, J. Olivero Verbel, “Nanotecnología aplicada a la medicina,” *Revista Guillermo de Ockham*, vol. 11, pp. 125–133, 2013. [1](#)
- [2] Y. W. G. Cao, “Nanostructures nanomaterials: Synthesis, properties, and applications,” *World Scientific Series in Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 2, 2011. [1](#)
- [3] N. Kumar and S. Kumbhat, *Essentials in Nanoscience and Nanotechnology*, 04 2016. [1](#)
- [4] M. J. M. K. W. Li, Q. Guo, “A new method for segmenting individual trees from the lidar point cloud,” *Photogrammetric Engineering Remote Sensing*, vol. 78, pp. 75–84, 2012. [1](#)
- [5] S. S. Md Masudur Rahman, “S k saha et al. 2013,” vol. 2, pp. 625–632, 03 2013. [2](#)
- [6] T. R. R. M. G. K. H. R. I. E. S. A. Kotia, A Yadav, “Carbon nanoparticles

- as sources for a cost-effective water purification method: A comprehensive review,” *Fluids*, vol. 5, p. 230, 2020. [2](#)
- [7] D. Williams and C. Carter, *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science*, 06 2009, vol. III. [2](#)
- [8] J. Goldstein, D. Newbury, J. Michael, N. Ritchie, J. Scott, and D. Joy, *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, 01 2018. [2](#)
- [9] D. Dumitrica and M. Felt, “Mediated grassroots collective action: negotiating barriers of digital activism,” *Information, Communication Society*, vol. 23, pp. 1–17, 05 2019. [4](#)
- [10] Niemisto, “Quantitative image analysis methods for applications in biomedical microscopy,” *In Tampere University of Technology*, vol. 14, pp. 17–25, 2006. [4](#)
- [11] C. Sommer and D. Gerlich, “Machine learning in cell biology - teaching computers to recognize phenotypes,” *Journal of cell science*, vol. 126, 11 2013. [5](#)
- [12] E. B. N. S. T. K. D. B. D. G. C. F. H. Bosse, “Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy in transmission mode,” *Measurement Science and Technology*, vol. 20, p. 084025, 2009. [8](#)
- [13] M. R. F. Trejo, “Structural characterization of asphaltenes obtained from hydroprocessed crude oils by sem and tem,” *Energy Fuels*, vol. 23, pp. 439–439, 2009. [8](#)

- [14] D. W. B. Yuan, “Formation damage during improved oil recovery, fundamentals and applications,” *Gulf Professional Publishing*, vol. 444, 2018.
- [15] F. Civan, “Reservoir formation damage, fundamentals, modeling, assessment, and mitigation,” *Gulf Publishing Company*, 2007. [8](#)
- [16] R. F. M.D. Zeiler, “Visualizing and understanding convolutional networks,” *Springer International Publishing*, vol. Computer Vision – ECCV 2014, p. 818–833, 2014. [9](#)
- [17] Y. L. Z. S. C. D. N. B. L. T. Wang, “Accurate segmentation of cervical cytoplasm and nuclei based on multiscale convolutional network and graph partitioning,” *IEEE Trans*, vol. 62, p. 2421–2433, 2015. [9](#)
- [18] Y. X. X. K. F. X. F. L. H. S. L. Yang, “Deep voting: A robust approach toward nucleus localization in microscopy images, in: Medical image computing and computer-assisted intervention,” *Springer International Publishing*, vol. MICCAI 2015, 2015. [9](#)
- [19] F. X. Y. X. L. Yang, “An automatic learning-based framework for robust nucleus segmentation,” *IEEE Trans*, vol. Med. Imaging 35, p. 550–566, 2016. [9](#)
- [20] B. L. T. W. Y. Song; E.L. Tan; X. Jiang; J.Z. Cheng; D. Ni; S. Chen, “Accurate cervical cell segmentation from overlapping clumps in pap smear images,” *IEEE Trans*, vol. Med. Imaging 36, p. 288–300, 2017. [9](#)
- [21] F. Zhang, “Spherical nanoparticle parameter measurement method based on mask r-cnn segmentation and edge fitting,” *Proceedings of the 2019 8th In-*

- ternational Conference on Computing and Pattern Recognition*, p. 205–212, 2019. [9](#)
- [22] A. B. A. Gurses, “Automatic detection, localization and segmentation of nano-particles with deep learning in microscopy images,” *Micron*, vol. 120, p. 113–119, 2019. [9](#), [10](#)
- [23] S. Zafari, “Automated segmentation of nanoparticles in bf tem images by u-net binarization and branch and bound, in: International conference on computer analysis of images and patterns,” *Springer*, p. 113–125, 2019. [9](#)
- [24] K. F. T. G. C. Ducottet, “Deep learning detection of nanoparticles and multiple object tracking of their dynamic evolution during in situ etem studies,” *Scientific Reports*, vol. 12, 2022. [10](#)
- [25] A. M. R. C. H. G. J. C. V. Maojo, “A deep learning approach using synthetic images for segmenting and estimating 3d orientation of nanoparticles in em images,” *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 202, p. 105958, 2021. [10](#)
- [26] L. M. D. W. N. G. P. P. L. K. F. V. A. I. C. J. Y. H. O. D. C. J. A. I. N. T. W. A. M. Christiansen, “Synthetic image rendering solves annotation problem in deep learning nanoparticle segmentation,” *Small Methods*, vol. 5, 2021. [10](#)
- [27] K. S. S. A. M. N. S. Islam, “In search of best automated model: Explaining nanoparticle tem image segmentation,” *Ultramicroscopy*, vol. 233, p. 113437, 2022. [10](#), [11](#), [88](#)
- [28] R. L. T. V. J. M. K. J. E. Boejesen, “Np-sam: Implementing the segment

- anything model for easy nanoparticle segmentation in electron microscopy images,” *Materials Science*, 2023. 10
- [29] M. Pagliaro, “Nanochemistry: A chemical approach to nanomaterials. by geoff ozin and andré arsenault,” *The Chemical Educator*, vol. 11, 01 2005. 12
- [30] E. Roduner, “Size matters: why nanomaterials are different,” *Chemical Society reviews*, vol. 35, p. 583–592, 2006. 13
- [31] M. Kumar, K. Bansal, V. S. Gondil, S. Sharma, D. Jain, S. Chhibber, R. K. Sharma, and N. Wangoo, “Synthesis, characterization, mechanistic studies and antimicrobial efficacy of biomolecule capped and ph modulated silver nanoparticles,” *Journal of Molecular Liquids*, vol. 249, pp. 1145–1150, 2018. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732217337601> 14
- [32] B. Bhushan, *Springer Handbook of Nanotechnology*, 01 2017. 14
- [33] A. Singh, P. K. Gautam, A. Verma, V. Singh, P. M. Shivapriya, S. Shivalkar, A. K. Sahoo, and S. K. Samanta, “Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review,” *Biotechnology Reports*, vol. 25, p. e00427, 2020. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X19305934> 14
- [34] S. Zhang, X. Xu, T. Lin, and P. He, “Recent advances in nano-materials for packaging of electronic devices,” *Journal of Materials Science Materials in Electronics*, 08 2019. 14

- [35] H. Kohl and L. Reimer, *Transmission Electron Microscopy*, 01 2008, vol. 36. 15
- [36] L. Giannuzzi, “Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis 4th edition, joseph i. goldstein, dale e. newbury, joseph r. michael, nicholas w.m. ritchie, john henry j. scott, david c. joy, springer, 2018, 550 pp. isbn:978-1-4939-6674-5.” *Microscopy and Microanalysis*, vol. 24, p. 1, 10 2018. 15
- [37] C. B. C. David B. Williams, *Transmission Electron Microscopy*, 07 2009, vol. 2. 16
- [38] N. Otsu, “A threshold selection method from gray level histograms,” *IEEE Transactions on Systems Man Cybernet*, 1979. 18, 21
- [39] J. Canny, “A computational approach to edge detection,” *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. PAMI-8, no. 6, pp. 679–698, 1986. 18
- [40] O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox, “U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation,” in *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015*, N. Navab, J. Hornegger, W. M. Wells, and A. F. Frangi, Eds. Cham: Springer International Publishing, 2015, pp. 234–241. 18, 24, 89
- [41] R. Szeliski, *Computer Vision: Algorithms and Applications*, ser. Texts in Computer Science. Springer London, 2010. [Online]. Available: <https://books.google.com.mx/books?id=bXzAlkODwa8C> 19

- [42] R. Gonzalez and R. Woods, *Digital Image Processing*. Pearson, 2018. [Online]. Available: <https://books.google.com.mx/books?id=0F05vgAACAAJ> 19
- [43] I. Goodfellow, Y. Bengio, and A. Courville, *Deep Learning*. MIT Press, 2016, <http://www.deeplearningbook.org>. 24
- [44] Y. LeCun, Y. Bengio, and G. Hinton, “Deep learning,” *Nature*, vol. 521, pp. 436–44, 05 2015. 24
- [45] L. A. Jara-Lugo, J. Caro-Gutierrez, F. F. Gonzalez-Navarro, M. A. Curiel-Alvarez, A. Armenta-Garcia, and O. M. Perez-Landeros, “Semantic and instance segmentation deep learning methods for nanoparticles detection,” *Materials Today Communications*, vol. 45, p. 112074, 2025. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352492825005860> 25
- [46] O. Ronneberger, P. Fischer, and T. Brox, “U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation,” *CoRR*, vol. abs/1505.04597, 2015. [Online]. Available: <http://arxiv.org/abs/1505.04597> 25
- [47] K. He, G. Gkioxari, P. Dollár, and R. Girshick, “Mask r-cnn,” in *Proceedings of the IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV)*. IEEE, 2017, pp. 2961–2969. 25
- [48] M. Baalousha and J. Lead, “Characterization of natural and manufactured nanoparticles by atomic force microscopy: Effect of analysis mode, environment and sample preparation,” *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 419, p. 238–247, 02 2013. 29

- [49] N. Dalal and B. Triggs, “Histograms of oriented gradients for human detection,” in *2005 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR’05)*, vol. 1, 2005, pp. 886–893 vol. 1. 29
- [50] Y. LeCun, Y. Bengio, and G. Hinton, “Deep learning,” *Nature*, vol. 521, pp. 436–44, 05 2015. 30
- [51] M. I. Hidayat, M. Adlim, I. Maulana, S. Suhartono, Z. Hayati, and N. H. H. A. Bakar, “Green synthesis of chitosan-stabilized silver-colloidal nanoparticles immobilized on white-silica-gel beads and the antibacterial activities in a simulated-air-filter,” *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 15, no. 2, p. 103596, 2022. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535221006110> 30
- [52] N. R. Pal and S. K. Pal, “A review on image segmentation techniques,” *Pattern Recognition*, vol. 26, no. 9, pp. 1277–1294, 1993. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003132039390135J> 31
- [53] J. Lopez Martinez, J. Martínez, G. Alvarado-Macías, E. Serrano, D. Gómez, and G. Rosales-Marín, “Análisis de imagen y modelaje matemático para la determinación de distribuciones de partículas,” *EPISTEMUS*, vol. 18, 11 2023. 31
- [54] S. Rao, M. Huntley, N. Durand, E. Stamenova, I. Bochkov, J. Robinson, A. Sanborn, I. Machol, A. Omer, E. Lander, and E. Aiden, “A 3d map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping,” *Cell*, vol. 159, no. 7, pp. 1665–1680, 2014. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867414014974> 31

- [55] E. A. Patterson and M. P. Whelan, “Tracking nanoparticles in an optical microscope using caustics,” *Nanotechnology*, vol. 19, no. 10, p. 105502, Mar. 2008. [32](#)
- [56] D. M. Powers, “Evaluation: from precision, recall and f-measure to roc, informedness, markedness and correlation,” *Journal of Machine Learning Technologies*, vol. 2, no. 1, pp. 37–63, 2011. [33](#), [34](#), [35](#)
- [57] Y. Sasaki, “The truth of the f-measure,” in *Teach Tutor Mater*, vol. 1, no. 5, 2007, pp. 1–5. [35](#)
- [58] D. Chicco and G. Jurman, “The advantages of the matthews correlation coefficient (mcc) over f1 score and accuracy in binary classification evaluation,” *BMC Genomics*, vol. 21, no. 1, p. 6, 2021. [35](#)
- [59] M. Kozak, “The use of the interquartile range to detect outliers in experimental data,” *Communications in Biometry and Crop Science*, vol. 4, no. 3, pp. 118–122, 2009. [36](#)