



XX COLOQUIO



ENES
JURIQUILLA

LICENCIATURA EN TECNOLOGÍA

Análisis de imágenes de microscopio digital mediante enfoque controlado.

C. Gutiérrez-Gurrola^{1,}, M. A. López-Olvera^{2,*}, J. L. Domínguez-Juárez³*

¹Licenciatura en Tecnología, Escuela Nacional de Estudios Superiores, UNAM, Querétaro, México.

²Departamento de Nanotecnología, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, UNAM, Querétaro, México.

³Cátedras CONACyT, CFATA, Universidad Nacional Autónoma de México, Juriquilla, Querétaro 76230, México.

* cecigurrola@comunidad.unam.mx, * alexander_105@comunidad.unam.mx

Hacia la automatización de un sistema óptico económico, este proyecto se centra en el análisis de imágenes capturadas desde un microscopio digital que cuenta con un enfoque controlado vía motorizada con apoyo de una placa Arduino. Este control motorizado utiliza reductores de velocidad para una mayor sensibilidad en el control del movimiento de un arreglo de lentes en el sistema de enfoque. Se analizaron imágenes obtenidas de dos microscopios, es decir, tanto de un microscopio óptico comparado con el microscopio digital con enfoque motorizado realizado en este proyecto.

Palabras clave: Análisis; Imágenes; Microscopio; Arduino

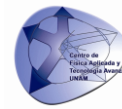
1. Introducción

La microscopía juega un papel muy importante en la ciencia y está muy ligado en el desarrollo de nuevas técnicas para la observación de fenómenos de la naturaleza y materiales. El trabajo relacionado con la observación y análisis de muestras en los microscopios ópticos, son los que aportan muchos de los resultados que repercuten en empujar los límites de la ciencia. La adquisición directa de imágenes a un dispositivo electrónico de forma inmediata, no solo permite recortar tiempos de adquisición de datos e imágenes, sino que abre la puerta a tener alternativas directas en el campo, cuando es difícil llevar un microscopio a zonas apartadas de un laboratorio convencional. Actualmente en el mercado se tienen microscopios digitales que se basan en un sensor para la captura de imágenes acoplada a un arreglo de lentes. Este diseño integrado combina un microscopio óptico

tradicional, multimedia digital y tecnología de procesamiento digital [1,2]. Métodos de procesamiento de imágenes combinados con estos sistemas microscopía digitales, pueden ser una alternativa en la captura y en la muestra de detalles en imágenes [3]. El costo de los microscopios digitales no es muy elevado, mientras que su efectividad en captura de imágenes en algunos casos puede llegar a ser imponente comparada con la de un microscopio óptico en condiciones especiales; lo cual dio origen al planteamiento y objetivo de este proyecto.

Un microcontrolador basado en Arduino hace posible la automatización y control de sistemas electromecánicos que mejoran el rendimiento de respuestas en combinación con sistemas digitales [4].

En este caso, el control de Arduino usado con motores que permite mover la focalización de la imagen para realizar esta tarea. Este control en combinación con una etapa de amplificación para el movimiento de motores resuelve, como en el caso de motores de corriente continua con un



XX COLOQUIO

módulo de amplificación. En este caso se usó además del Arduino uno para control, un puente H que soporta hasta dos motores de corriente continua con demanda de 4.5 a 40 Voltios y con una corriente máxima de 2 Amperes [5]. El objetivo de este proyecto es el de obtener imágenes de un microscopio digital, donde el enfoque del microscopio sea utilizando un sistema motorizado construido en esta primera estancia de investigación. Estas imágenes obtenidas compararán las imágenes capturadas desde un microscopio digital con este enfoque controlado respecto a imágenes capturadas desde un microscopio óptico convencional y que mediante el análisis de imágenes usando Matlab mostrará su efectividad.

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

- Arduino Starter Kit
- Microscopio digital con enfoque máximo de 1000 aumentos y cámara de 2Mpx.
- Motores dc de 5 a 12 voltios
- Controlador de motores (L298N)
- Joystick
- 2 cajas reductoras de velocidad
- Cables de puente
- Caja de plástico de 12.4cmx7.3 cmx5cm
- Abrazadera
- Base de microscopio óptico con platina
- Fuente de alimentación de 12 voltios
- Soporte de microscopio impresa en 3D.
- Llanta de hule de 6.9cmx2.5cm.

2.2 Metodología

Para el desarrollo de este proyecto se requirió del uso de un microcontrolador Arduino. Como primera etapa de proyecto, se hizo empleo del paquete de aprendizaje, el cual permitió su manejo, a través de una serie de prácticas que abarcaban varias funciones de control y programación. Una vez terminadas las prácticas de Arduino, se comenzaron a realizar investigaciones relacionadas con el uso de microscopios, el funcionamiento de motores dc, los controladores de motores y de joysticks. Las pruebas con motores se realizaron con el empleo de la placa comercial Arduino uno, el controlador de motores L298N, un joystick, cables de puente para conectar el circuito, así como de una computadora para desarrollar el código necesario. El código desarrollado se basó en el control

de dos motores, si embargo, solo se estará usado un motor para enfocar el microscopio, mientras que la otra salida del segundo motor quedó abierta en caso de ser necesario un motor más para regular la intensidad de luz led del microscopio, la cual puede ser manipulada también manualmente. Así mismo, se adaptó para controlar el motor en dos direcciones con el uso de un joystick. En este mismo sistema se añadieron dos cajas reductoras de velocidad a la salida del motor. De esta manera, se logró reducir la velocidad angular y obtener mayor precisión efectiva de enfoque. Parte de este trabajo constituye el análisis de las revoluciones que entrega un motor. Se logró observar que la frecuencia de un motor sin reductores con variaciones de voltaje de 1 a 12 voltios. Este análisis se realizó al mismo motor, pero con dos reductores de velocidad incorporados a su salida (valores cuantitativos expresados en la [Figura 1]).

Ya logrado el ensamblaje del sistema de cajas reductoras al motor se inició con el proceso de adaptación al enfoque del microscopio. Aquí se incorporó el uso de la abrazadera para construir el sistema basado en el motor con las cajas reductoras y una llanta de hule de 6.9 cm de diámetro y 2.5 cm de ancho la cual fue utilizada para estar en contacto con el sistema de enfoque del microscopio digital.

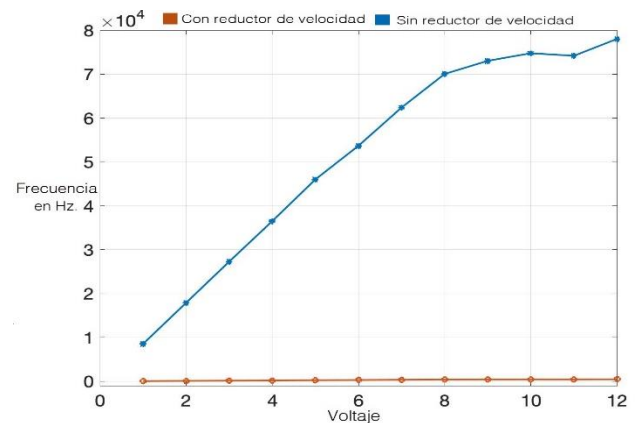
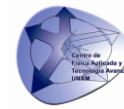


Figura 1. Comparación de frecuencia(F) del motor con y sin un reductor de velocidad, usando un sistema óptico para medición de velocidad angular variando el voltaje y observando el periodo por vuelta del motor en un osciloscopio. El sistema óptico usa un láser y un detector conectado al osciloscopio. Se requirió de aspas adaptadas al motor que bloquean y dejan pasar la luz al detector, para obtener cambios de señal en el osciloscopio y obteniendo un promedio de 1:186.19 revoluciones.



XX COLOQUIO

Tanto el Arduino uno, el controlador L298N, así como el resto de circuito fue protegido con una caja de plástico de 12.4x7.3x5cm para una mayor estabilidad y mejora en las conexiones.

Se prosiguió con las adaptaciones necesarias del microscopio digital y ajustarlo a una platina en la base de una estructura de microscopio reutilizado. Parte del diseño fue considerando el espacio necesario libre para el botón de encendido y el engrane regulador de luz del microscopio digital. Para la adaptación del microscopio fue necesaria una caja impresa con anterioridad en una impresora 3D Robo C2¹, así como el uso de un taladro-esmeril para perforar y dar un mejor acabado a las piezas.

El microscopio digital logró ser adaptado en la estructura reutilizada para utilizar el enfoque motorizado. Se usó una sola fuente de alimentación de 12 V para alimentar a los motores, la tarjeta Arduino uno, el controlador L298N y el manipulador esencial "Joystick".

Se añadió una fuente de iluminación externa extra al microscopio que va directa arriba a las muestras. Esta iluminación extra está en dirección contraria a la del microscopio digital. Esto quiere decir que además de la luz LED del microscopio con la iluminación externa se puede tener un mayor contraste en las imágenes capturadas y que se demuestra en los resultados.

El microscopio digital quedó listo para capturar imágenes de muestras directamente conectado a un dispositivo celular android mediante una aplicación del propio dispositivo. Así que se realizaron capturas de 6 muestras biológicas y se compararon con imágenes obtenidas de las mismas muestras en el microscopio óptico. Para hacer una comparación de imágenes, estas fueron capturadas desde un teléfono celular² con ayuda de un soporte de celular para microscopio óptico, los resultados de dicha comparación serán explicados a detalle.

3. Resultados

El análisis de imágenes con uso del microscopio digital adaptado arrojó resultados satisfactorios, en un análisis comparativo con un microscopio óptico. El objeto de estudio fueron una serie de muestras biológicas y una rejilla de control de 40 micras. Para comparar las imágenes se requirió la ayuda del programa Matlab³, en el cual realizamos una comparación de contraste en la calidad de imagen, graficando tanto la agudeza de los contornos y de la luminosidad de las imágenes. La primera comparación se realizó a una muestra de control de tamaño fijo. Esta muestra metálica fue una rejilla de 40 micras. La imagen de la rejilla se muestra en la [Fig. 2] tomada por el microscopio óptico y la [Fig. 3] muestra la imagen tomada por el microscopio digital ambas imágenes convertidas al mismo tamaño en píxeles para su comparación (1920x1080).



Figura 2 Imagen de una rejilla de 40 micras tomada con microscopio óptico.

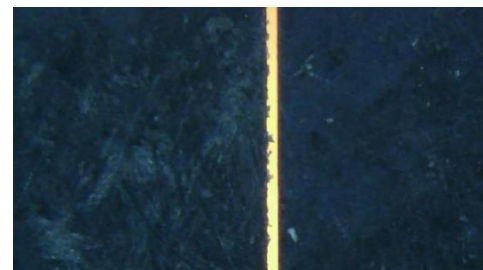


Figura 3 Imagen de una rejilla de 40 micras tomada con un microscopio digital.

¹ Robo C2 es una impresora en 3D de la marca robo que imprime más de 20 tipos de materiales, cuenta con una conectividad flexible y es compatible con cualquier dispositivo.

² El teléfono celular utilizado para la captura de imágenes desde el microscopio óptico fue un Redmi Note 4 de la marca Xiaomi, que cuenta con una cámara CMOS de 13 Megapíxeles.



XX COLOQUIO

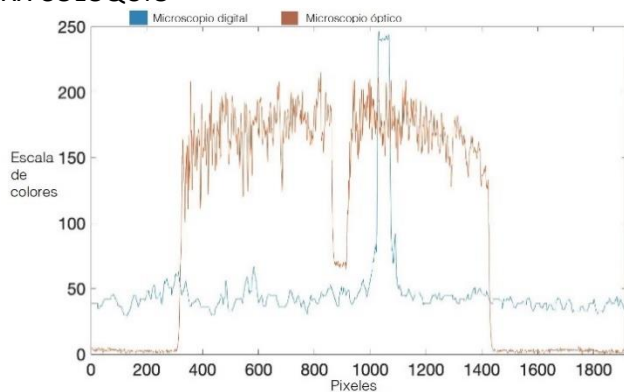


Figura 3 Gráfica comparativa de escala de grises entre microscopio óptico y microscopio digital, del análisis de una rejilla de 40 micras.

Con el programa Matlab, se extrajo la matriz de datos de la imagen y esta se convirtió de RGB a escala de grises para no manipular los datos RGB. A continuación, se eligió de la matriz de píxeles de 1920x1080 un corte por el centro de la imagen para obtener una secuencia de píxeles que muestren los cambios en intensidad en el centro de la imagen. Este rango para compararse se muestra en la gráfica de la [Fig. 4].

En la gráfica 4 se aprecia el recorrido de intensidad de la imagen en escala de grises de 0 a 255. Del vector de datos de la imagen obtenida del microscopio óptico, así como del vector de la imagen obtenida del microscopio digital, la interpretación de la escala de grises corresponde con cero análogo a negro y 255 a blanco. Esto lo observamos en la [Figura 3] la rejilla de 40 micras es la parte más oscura de la imagen, mientras que en la [Figura 4] es la más luminosa: notamos que esto no afecta, ya que como se mencionó, estamos en escala de grises, por lo tanto solo vamos a ver el contraste producido. Así observamos que el microscopio digital tiene una alta definición basada en luminosidad y poco ruido. Midiendo el ancho en la distancia de los picos en las gráficas, encontramos las medidas aproximadas de las 40 micras en píxeles, siendo así 46 píxeles en el microscopio digital, por otra parte resultaron 58 píxeles usando el objetivo de microscopio 20x en el microscopio óptico.

Dentro de estas muestras analizamos también la hoja de una planta de algodón, la cual aprovechamos su alto contenido de contrastes producidos por su peculiar figura, de la misma manera analizamos la imagen del microscopio óptico como la del microscopio digital. Para la comparación de las imágenes de la [figuras 5] y [Figura 6], se ocupó de la misma forma un vector de la matriz de píxeles. La forma irregular que se tiene

muestra datos relevantes para el objetivo de este análisis, mostrado en la [figura 7].



Figura 4 Imagen de una hoja de planta de algodón tomada con microscopio óptico.

Figura 6 Imagen de una hoja de planta de algodón tomada con microscopio digital.

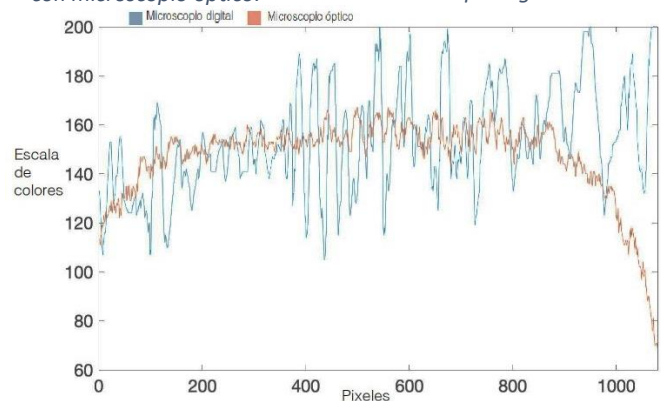


Figura 7 Gráfica comparativa entre microscopio óptico y microscopio digital, del análisis de una hoja de planta de algodón.

En la gráfica 7 se muestra la variación en la escala de intensidad, donde la secuencia azul tiene altos contrastes para su definición y luminosidad, mostrando la buena lectura de imagen que se tiene. Dentro de las muestras también se analizó el tallo de una planta de calabaza [Figura 8] y [Figura 9] en ambos microscopios y se realizó su gráfica correspondiente [Figura 10].



Figura 8 Imagen de una muestra de un tallo de una planta de calabaza, a través de microscopio óptico.

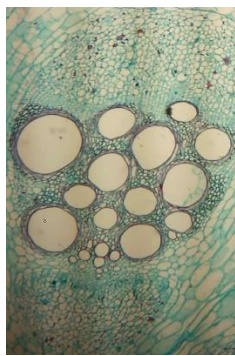


Figura 9 Imagen de una muestra de un tallo de una planta de calabaza, a través de microscopio digital.

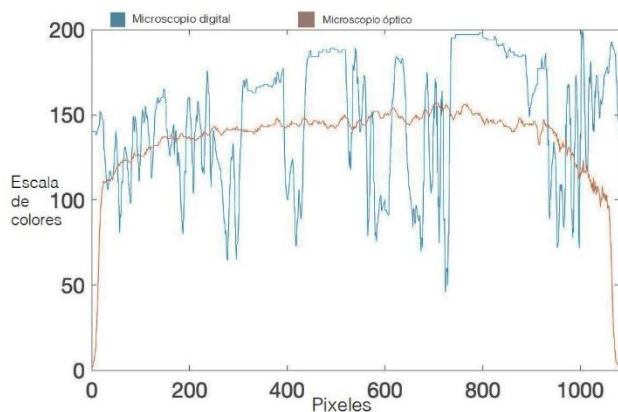


Figura 10 Gráfica comparativa de escala de grises entre microscopio óptico y microscopio digital del análisis de un tallo de calabaza.

Los altos contrastes de las imágenes muestran nuevamente en la gráfica 10 la variación de la definición de la imagen.

4. Discusión

Con el análisis de cada una de las imágenes realizados en MATLAB³, mostradas en las anteriores figuras y gráficas, es evidente que el microscopio digital realizó una captura de imágenes con mayor iluminación, mayor contraste y menos ruido que las imágenes capturadas que con las tomadas desde el microscopio óptico con el teléfono celular. Es necesario aclarar que en el dispositivo construido en esta primera estancia se utilizó un sistema de doble fuente de iluminación,

el cuál fue descrito en el apartado de metodología, logrando de este modo una mayor definición de la imagen, además del contraste e iluminación esperados.

Tomando en cuenta que las cámaras encargadas de capturar las imágenes tenían una alta variación en calidad a ofrecer (2 Mpx en el sensor del microscopio digital y 13 Mpx la cámara del teléfono celular) y que sin embargo se adaptó para tener el mismo número de píxeles para su comparación. Se puede observar que a pesar de su baja calidad en el sensor del microscopio digital, se obtuvo una alta calidad en captura de imágenes con ayuda de la iluminación, por lo que es indiscutible la efectividad del dispositivo.

5. Conclusiones

En conclusiones generales, el proyecto demostró resultados satisfactorios debido a la calidad de imágenes capturadas desde el dispositivo generado. Además, el costo implementado en el proyecto, en comparación con el costo de microscopios digitales con características similares, marca un panorama efectivo en la realización de futuros proyectos.

Agradecimientos

Agradecemos a las instituciones financiadoras CONACYT o PAPIIT, así como a la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarnos los recursos y atenciones para lograr desarrollar los resultados mostrados en este proyecto. Por otro lado, agradecemos al doctor Jorge Luis Domínguez Juárez por habernos guiado en nuestra estancia de investigación, así como por el interés mostrado en el desarrollo de este proyecto.

Referencias

- [1] Gualtieri P, Coltelli P. (1989). A digital microscope for real time detection of moving microorganisms. Micron and Microscopica Acta, 99–105.
- [2] Tucker, S., Cathey, W., Dowski, E. (1999) Extended depth of field and aberration control for inexpensive digital microscope systems. Optics Express, 467–474.
- [3] Xiao dong, C., Zheng, B., Liu, H., (2011) Optical and digital microscopic imaging techniques and applications in pathology. Anal Cell Pathol (Amst), 10-12.
- [4] Scott Fitzgerald, Michael Shiloh. (2013). ARDUINO PROJECTS BOOK. Torino, Italia: Creative Commons.
- [5] Scott W. Teare. (2017). Optics Using MATLAB. Canada: Society of Photo Optico.