



**POLYTECHNIQUE
MONTRÉAL**

UNIVERSITÉ
D'INGÉNIERIE

PHS3910 – TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES ET INSTRUMENTATION

Équipe : Lundi 03

Suivi de particules

Fiche technique

Présenté à
Jean Provost
Lucien Weiss

Par :
Émile **Guertin-Picard** (2208363)
Philippine **Beaubois** (2211153)
Marie-Lou **Dessureault** (2211129)
Maxime **Rouillon** (2213291)

6 décembre 2024
Département de Génie Physique
Polytechnique Montréal

Table des matières

1	Description générale et spécifications	1
2	Rapports de tests	2
2.1	Suivi de particules	2
2.2	Paramètres utilisés	2
2.3	Magnification réelle	3
2.4	Caractérisation de la taille de particules	4
2.5	Étude statistique	6
2.6	Résolution de l'instrument	7
2.7	Limitations de l'appareil	7
2.8	Étude des coûts	7

1 Description générale et spécifications

Cette fiche technique, à la demande du Gouvernement du Québec, présente les caractéristiques d'un dispositif de mesure de taille de microparticules contaminants l'environnement près de l'usine Polyfab. Les composantes principales sont un laser 405 nm (CPS405) pour illuminer les fluorophores dans les échantillons, un objectif de microscope (grossissement $M = 20$, ouverture $NA = 0.4$) pour le grossissement, puis une lentille tube de 150 mm de focale (LA1433-A-ML) pour converger les rayons sortants de l'objectif sur le capteur d'une caméra CMOS (CS165MU) pour l'analyse [1]. Ce système présente une résolution théorique de $1.012 \mu\text{m}$ [2]. Afin d'analyser des particules d'environ cette taille, un traitement numérique est fait pour extraire la taille des particules du mouvement brownien filmé, avec une résolution sous-pixellaire. Avec ce procédé, le microscope peut détecter des tailles de particules dans la plage $1\text{-}10 \mu\text{m}$. Suite à la caractérisation de particules de $1 \mu\text{m}$, la valeur identifiée est de $XX \pm XX \mu\text{m}$. Pour la caractérisation de particules de $10 \mu\text{m}$, elle est de $XX \pm XX \mu\text{m}$. Le système, monté sur table optique et utilisable dans le noir seulement, a des dimensions de $600 \times 90 \times 200 \text{ mm}$, tel que présenté à la figure 1. La résolution de l'appareil post traitement est de $XX \pm XX \mu\text{m}$, et son grossissement réel est de 17.14 ± 0.02 . Sans compter la table optique, le dispositif a pour coût total 1789.39 \$, prix qui peut être réduit par l'usage d'impression 3D. Les spécifications de microscope sont rassemblées dans le tableau 1 ci-dessous.

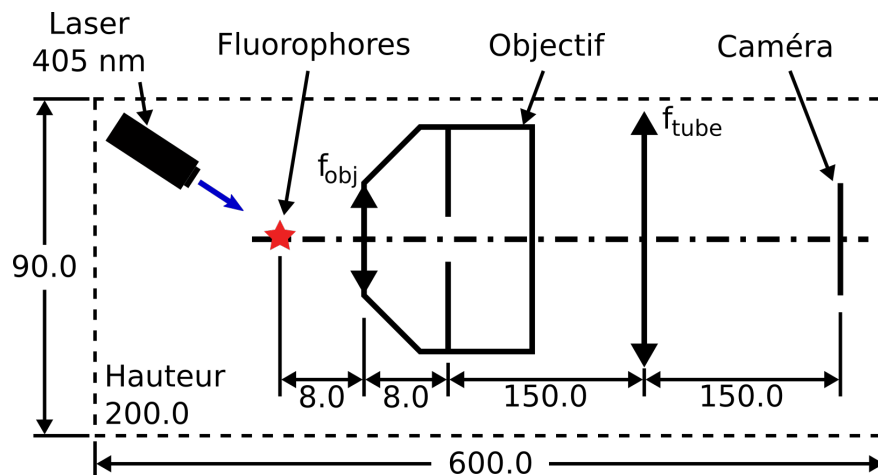


Figure 1 : Schéma du microscope avec les dimensions critiques. Toutes les dimensions sont en millimètres avec une tolérance de $\pm 1 \text{ mm}$.

Tableau 1 – Tableau des spécifications

Magnification réelle	Résolution (μm)	Dimensions (mm)	Coût \$CAD	Composantes	
17.14 ± 0.02	0.2	L $600 \times$ W $90 \times$ H 200	\$1789.39	▷ KM100S ▷ CS165MU ▷ 420FDL12 ▷ LA1433-A-ML ▷ CPS405 ▷ LMR1 ▷ TR3-P5	▷ PH4 ▷ PH3 ▷ BA1 ▷ BA1S ▷ BA2 ▷ VC1

2 Rapports de tests

Cette section explique en détail le processus et les résultats pour les tests de caractérisation effectués sur le dispositif de suivi de particules.

2.1 Suivi de particules

Pour obtenir la taille d'une particule avec la plus grande précision possible, l'analyse de son mouvement brownien est utilisée. La position de la particule doit être déterminée sur au moins une cinquantaine d'instants successifs, avant de pouvoir procéder à l'estimation de son coefficient de diffusion et de sa taille. Des images sont prises pour chaque instant.

Pour positionner la particule avec la plus faible incertitude possible, un fit gaussien est effectué sur l'image pixelisée de la particule pour un moment précis. Pour que le fit s'effectue adéquatement, il faut restreindre la zone de fit à la particule. Pour se faire, le suivi de la particule commence autour de la position précédente de la particule, par la recherche de maxima d'intensité surpassant un seuil. Les dimensions de la zone rectangulaire en question et le seuil utilisé sont des valeurs déterminées par essai erreur et sont respectivement d'environ 100 pixels de côté et une intensité de 50 sur un maximum de 200. Une fois le nombre de maxima obtenu, soit le nombre de particules potentielles, la zone de fit est recentrée sur la particule la plus similaire à celle du départ.

Pour reconnaître la particule, un système de comparaison des particules potentielles en fonction de leur taille et leur luminosité est utilisé lorsque plus d'une particule sont dans la même zone. La taille, soit le nombre de pixels au dessus d'un seuil fixé, y a un rôle prépondérant, mais la luminosité, soit la moyenne d'intensité des pixels en question, a également un impact. Ces informations sont obtenues en centrant l'image sur la particule d'intérêt et en appliquant la fonction DBSCAN pour regrouper les maxima en des entités qui correspondent aux particules. La luminosité et la taille obtenues sont alors comparées à la luminosité et la taille de la première observation qui sert de référence. La première observation est obtenue comme les suivantes, avec comme seule différence que sa détection est faite par l'humain utilisant le système, qui clique initialement sur la particule que le système aura à suivre.

Une fois que la particule peut être suivie d'un instant au suivant, la localisation de la particule est obtenue à l'aide du fit gaussien, et l'incertitude sur la position correspond alors à l'écart-type de la gaussienne obtenue, qui est généralement plus faible que la taille d'un pixel. Des vérifications sont faites pour s'assurer que la nouvelle position est plausible et elle est alors enregistrée avant de servir de référence pour le traitement du frame suivant.

Si la particule choisie sort de l'écran avant la fin des instants observés, le système s'arrête tout simplement à sa dernière position identifiable, soit environ 100 pixels avant le bord.

2.2 Paramètres utilisés

Certains paramètres du microscope ont eu besoin d'être choisis pour optimiser sa performance. Entre autres, l'objectif du microscope choisi possède une magnification théorique de 20, et une ouverture numérique de 0.4. Après quelques essais, il a été conclu qu'une magnification de 20 offrait une plage de fonctionnement optimale, en considérant que pour des magnifications plus élevées, les plus grosses particules (de l'ordre de 10 microns) se déplaçaient souvent hors de la région observée. Le temps d'exposition a été établi à 150 ms. La figure ?? ci-dessous présente les images capturées pour trois différents temps d'exposition.

réafficher images Ici, l'image ?? est sous-exposée et l'image ?? est surexposée. Pour le cas sous-exposé, le

contraste entre le bruit et les particules est réduit, ce qui peut affecter la justesse des *fits* gaussiens effectués pour suivre le déplacement des particules. Pour le cas surexposé, l'intensité des pixels de certaines particules est saturée, ce qu'on peut observer en haut à droite de l'image ???. Par conséquent, un temps d'exposition de 100 ms, correspondant à l'image ??, a été choisi.

La fréquence d'images f_{image} est dépendante au temps d'exposition choisi. Effectivement, celle-ci doit respecter la contrainte ci-dessous :

$$f_{image} \leq \frac{1}{\Delta t},$$

où Δt correspond au temps d'exposition. Pour un temps d'exposition de 0.100 s, on a : $f_{image} \leq 1/0.100 = 10$ images/s. Normalement, la fréquence d'images peut être gardée à sa valeur maximale, mais après quelques essais, il a pu être observé que de nombreuses images ne se sauvegardaient pas. Sachant que la position dans le temps de chaque capture d'image est importante pour le calcul de la MSD, la fréquence d'images a été réduite à deux images par secondes pour essayer limiter le nombre d'images perdues.

Afin d'obtenir un calcul des premiers points de la MSD ayant des poids statistiques significatifs, le nombre d'images capturées a été posé à 75. Ce choix a été fait pour que le nombre d'images enregistrées soit de 50 ou plus, en ajoutant une marge de 25 images pour prendre en compte les images qui seront potentiellement perdues.

2.3 Magnification réelle

La magnification réelle du système a été déterminée à l'aide d'une cible ayant des dimensions connues. L'image de la cible, capturée par la caméra et suite au microscope, est présentée dans la figure 2. La distance réelle entre le centre de deux carrés blancs voisins dans le quadrillage est de 0.01 mm.

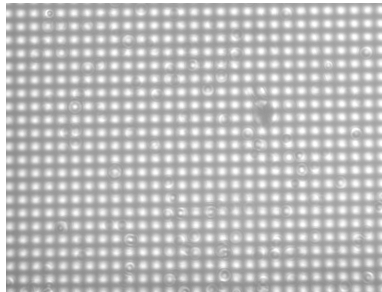


Figure 2 : Image de la cible au plan du capteur.

Afin de déterminer la distance entre les centres pour l'image de la cible, deux *fits* gaussiens ont été effectués sur une région recadrée de l'image, comprenant l'équivalent de deux carrés blancs. L'image recadrée est illustrée dans la figure 3 ci-dessous.



Figure 3 : Image recadrée de la cible.

Les deux *fits* gaussiens 2D ont été effectués avec la fonction Python `curve_fit` sur la moitié droite et sur la moitié gauche de l'image 3, ce qui a permis de trouver le centre de chaque carré blanc. La gaussienne

2D est décrite par :

$$f(x, y) = A \cdot \exp\left(-\left(\frac{(x - x_0)^2}{2\sigma_x^2} + \frac{(y - y_0)^2}{2\sigma_y^2}\right)\right) + B, \quad (1)$$

où A est l'amplitude, B est le décalage, x_0 et y_0 sont les moyennes et σ_x et σ_y sont les écarts-types. En ayant obtenu les coordonnées des centres des deux gaussiennes, on peut trouver la distance d_{im} entre les deux centres :

$$d_{im} = (x_{0_2} - x_{0_1}) \cdot d_{pixel} \approx 0.1714 \text{ mm}, \quad (2)$$

où $d_{pixel} = 3.45 \times 10^{-6} \text{ m}$ est la dimension d'un pixel **source caméra**. Ici, on approxime la distance en utilisant la distance en x parce que la composante $|y_{0_2} - y_{0_1}| \approx 0.6 \text{ pixel}$ est négligeable. Finalement, on retrouve la magnification réelle de l'objectif :

$$m = \frac{d_{im}}{d_{vraie}} \approx \frac{0.1714}{0.01} = 17.14. \quad (3)$$

L'incertitude sur m provient des incertitudes sur les paramètres du *fit* gaussien. On retrouve :

$$\sigma_m = \frac{\sqrt{(d_{pixel} * \sigma_{x_{0_2}})^2 + (d_{pixel} * \sigma_{x_{0_1}})^2}}{d_{vraie}} \approx 0.0169. \quad (4)$$

On obtient donc que la magnification réelle est de : 17.14 ± 0.02 . **à quoi ça sert**

2.4 Caractérisation de la taille de particules

Lors de l'acquisition des images, il a été conclu que le temps d'exposition devait être assez long, soit d'environ 150 ms. Par conséquent, il a fallu réduire la fréquence d'image à 1 image par seconde (voir section 2.2) **contradiction**. Malgré ces ajustements, la caméra ne parvient tout de même pas à enregistrer chaque image. Afin de remédier ce problème, l'acquisition d'images remplace les images qui ne sont pas enregistrées par une image noire. Pour traiter les images et *tracker* les particules correctement, toutes les images noires sont premièrement ignorées pour produire une liste de positions. Les images de départ sont évaluées une par une, et à chaque fois qu'une image noire apparaît, un vecteur $[NaN, NaN]$ est ajouté à la liste contenant toutes les positions. Cette procédure nous permet de savoir avec exactitude les emplacements des images qui n'ont pas pu être enregistrées. Une fois la liste de positions complétée, il est possible d'effectuer le calcul de la MSD avec la formule suivante :

$$MSD = \frac{1}{N_{\Delta t}} \sum_{i=0}^{N_{\Delta t}-1} (\mathbf{r}(i + \Delta t) - \mathbf{r}(i))^2, \quad (5)$$

$$\mathbf{r}(i) = x(i)\hat{x} + y(i)\hat{y} \quad (6)$$

où $N_{\Delta t}$ est le nombre de paires i disponibles pour un intervalle Δt et Δt qui varie de 1 jusqu'au nombre de positions (nombre d'images) moins une. L'incertitude sur ces valeurs est donnée par la formule suivante :

$$\alpha = A + B \quad (7)$$

$$A = \sqrt{(2(x(i + \Delta t) - x(i)) \cdot \Delta x(i + \Delta t))^2 + (2(x(i + \Delta t) - x(i)) \cdot \Delta x(i))^2}$$

$$B = \sqrt{(2(y(i + \Delta t) - y(i)) \cdot \Delta y(i + \Delta t))^2 + (2(y(i + \Delta t) - y(i)) \cdot \Delta y(i))^2}.$$

SOURCE : travail prep

On remarque que c'est ici que le traitement de toutes les images est important, même celles qui ont été perdues, car sinon le Δt n'aurait pas été cohérent avec la procédure de la MDS. La façon de traiter ce calcul avec les vecteurs $[NaN, NaN]$ tout en perdant le moins d'information possible a été de définir que dès que l'élément NaN est détecté dans un calcul, $(\mathbf{r}(i + \Delta t) - \mathbf{r}(i)) = 0$. De cette façon, les images non-enregistrées ne peuvent pas interférer dans le calcul de la MDS. Dans la même idée, les incertitudes sur les positions sont calculées à l'aide de l'écart-type du *fit* gaussien, et dans le cas d'un vecteur identifié par $[NaN, NaN]$, on pose $\Delta x = 0$ et $\Delta y = 0$. Les images noires ne sont donc pas prises en compte non plus dans les calculs d'incertitude.

sans perte d'images, meilleure incertitude. maybe suggérer autre cam ?

Une fois toutes les valeurs trouvées, un graphique des résultats de MSD en fonction du Δt est produit. Le calcul de la MSD est évalué en fonction de l'intervalle de temps qui sépare deux points. En considérant que plus l'intervalle est important, moins il existe de paires de positions, seuls les cinq premiers points de la MSD ont été choisis. Effectivement, ces points correspondent à un intervalle de temps $\Delta t = 1, 2, 3, 4, 5$, pour lesquels le poids statistique est beaucoup plus élevé que pour des intervalles proches du nombre de positions évaluées ($\Delta t = 50$ dans le cas ci-présent). Afin de bien caractériser le mouvement de la particule qui correspond au mouvement brownien, un *fit* quadratique sur les points de la MSD est déterminé. En utilisant un *fit* quadratique et non un *fit* linéaire, il est possible de prendre en compte le facteur de dérive du mouvement de la particule et de l'éliminer. Effectivement, on sait que la MSD est décrite par :

$$MSD(t) = \langle (\Delta x)^2 \rangle. \quad (8)$$

En considérant le facteur de dérive et le facteur du déplacement Brownien, on peut écrire :

$$\Delta x(t) = vt + \Delta x_{Brownien}(t), \quad (9)$$

où v est la vitesse des particules due à la dérive. On insère l'équation (9) dans l'équation (8) :

$$\begin{aligned} MSD(t) &= \langle (vt + \Delta x_{Brownien}(t))^2 \rangle \\ &= \langle (vt)^2 \rangle + \langle (\Delta x_{Brownien}(t))^2 \rangle + \langle 2vt \cdot \Delta x_{Brownien}(t) \rangle, \end{aligned}$$

où vt est indépendant de $\Delta x_{Brownien}(t)$, et $\langle \Delta x_{Brownien}(t) \rangle = 0$,

$$MSD(t) = v^2 t^2 + 2nDt + 2n\sigma^2, \quad (10)$$

où n est le nombre de dimensions pour lesquelles le mouvement est analysé, D est le coefficient de diffusion et σ est l'écart type de l'erreur de localisation **source procédurier**. L'équation (10) correspond à une quadratique avec les coefficients $a = v^2$, $b = 2nD$ et $c = 2n\sigma^2$. Les incertitudes sur ces trois valeurs sont données par la racine carrée de la diagonalisation de la matrice de covariance donnée par la fonction *curve_fit*. C'est le coefficient b du *fit* qui sera utilisé pour trouver le coefficient de diffusion (D) et la taille de la particule (r). Les formules suivantes sont utilisées :

$$D = \frac{b}{2n} = \frac{b}{4} \quad r = \frac{k_B T}{6\pi\eta D}$$

L'incertitude sur chacune de ces valeurs est donnée par l'incertitude sur le coefficient b , car on considère que les autres paramètres sont des constantes et ne comportent donc pas d'incertitudes.

2.5 Étude statistique

Pour un échantillon inconnu, 9 particules ont été suivies pour déterminer, par une analyse statistique, leurs rayons ainsi que leurs coefficients de diffusion. Les résultats suivants ont été obtenus :

Tableau 2 – Tableau des valeurs du coefficient de diffusion et du rayon des particules.

Particule	$D (\times 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s})$	$r (\times 10^{-6} \text{ m})$
1	1.6 ± 0.3	1.4 ± 0.2
2	3.6 ± 0.5	0.61 ± 0.08
3	2.2 ± 0.5	1.0 ± 0.3
4	4.0 ± 0.4	0.55 ± 0.05
5	1.4 ± 0.6	1.5 ± 0.7
6	7.4 ± 0.2	0.298 ± 0.007
7	2.8 ± 0.5	0.8 ± 0.2
8	2.72 ± 0.09	0.8 ± 0.3
9	4.1 ± 0.7	0.54 ± 0.09
Moyenne	3.3 ± 0.5	0.8 ± 0.2

On remarque donc que les valeurs finales ont été obtenues en faisant la moyenne de chaque valeur. l'incertitude liée à cette moyenne est donnée par l'équation suivante :

$$\Delta x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N \delta x_i^2}{N^2}}$$

Où dans notre cas, x peut être remplacé par r ou D. On remarque ici qu'il s'agit d'une propagation de l'incertitude de chaque point de point sur la moyenne. Il aurait pu être considéré de prendre l'écart type des valeurs dues a la théorie du théorème central-limite, mais il a été jugé ici que le nombre de points analysables de l'échantillon était insuffisant pour appliqué cette théorie. Finalement, il est possible de conclure que pour un échantillon inconnu et en analysant 9 particules différentes présentes dans cet échantillon, le traitement de données élaboré nous donne les résultats suivants : Coefficient de dérive : $(3.3 \pm 0.5) \times 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$ rayon de la particule : $(0.8 \pm 0.2) \times 10^{-6} \text{ m}$ Bien que nous ne connaissions pas la taille et le coefficient de dérive théorique de l'échantillon, il est connu que la taille doit se trouver entre 1 et 10 micromètres. De plus, en comparant la figure ci-dessous aux images a la section 2.3 qui représente des particules de 10 micromètres, il est correct de penser que l'échantillon analysé contient des particules se rapprochant plus d'une valeur de 1 micromètre. Donc au vu des résultats obtenus et de leurs incertitudes, il est correct d'affirmer que l'analyse de l'échantillon donne des valeurs tout à fait cohérentes et logiques avec les observations de l'échantillon.

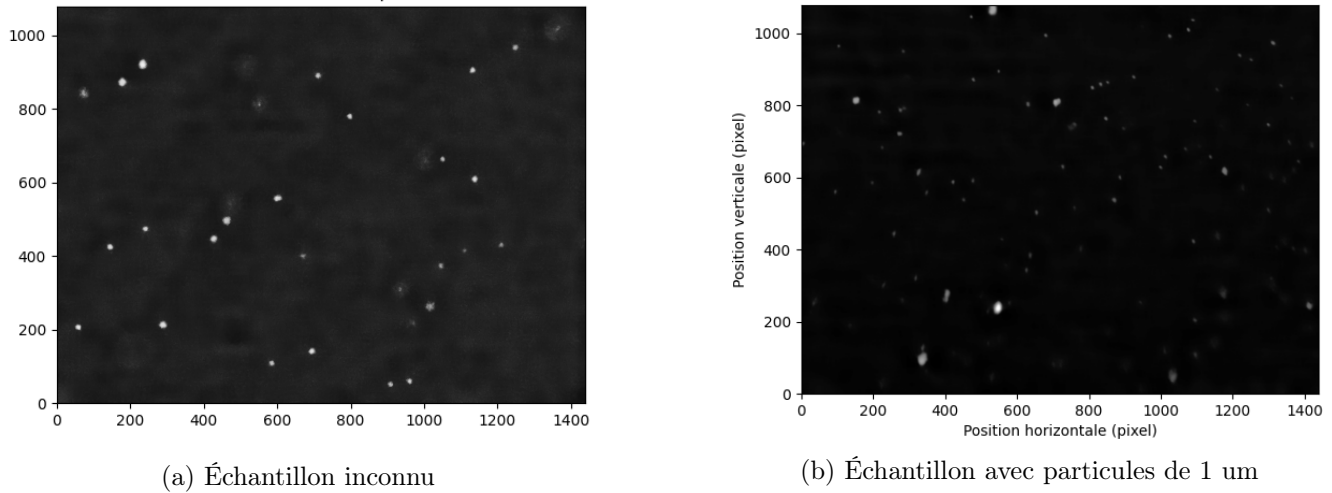


Figure 4 : Images d'échantillons testés pour comparaison qualitative

2.6 Résolution de l'instrument

La résolution de l'instrument concernant la taille des particules observables est définie comme la plus petite différence qu'il est capable de discerner. Selon les tests effectués, cette plus petite différence est obtenue lors de l'identification des particules de 1 μm de diamètre. Elle correspond à l'incertitude obtenue sur la valeur estimée, ce qui se traduit par une résolution de 0,2 μm .

2.7 Limitations de l'appareil

L'appareil peut distinguer et suivre des particules dans la gamme de 1 à 10 μm avec et sans dérive. Toutefois, pour estimer la taille des particules, une dérive trop forte peut affecter négativement les performances de l'appareil. C'est pour cette raison que les tailles obtenues pour les particules de 10 μm sont sous-estimées. Le seuil critique survient lorsque la dérive est plus importante que la diffusion associée au mouvement brownien de quelques ordre de grandeur. Dans ce régime, malgré une compensation de la plus grande partie de la dérive, l'incertitude qu'elle vient ajouter, bien que faible relativement au mouvement de dérive, est grande relativement à la diffusion. Celle-ci n'est alors plus adéquatement estimée par le modèle utilisé.

2.8 Étude des coûts

Une étude des coûts a été faite pour le microscope construit afin de voir s'il y a possibilité de construire un appareil aux performances similaires, mais à moindre coût. Le tableau 3 présente la liste exhaustive des pièces avec leur prix en dollars canadien avant taxes.

Quelques éléments sont à souligner. Premièrement, étant donné que l'objectif de microscope a été fourni par le gouvernement du Québec, le coût qui y est associé a été estimé selon leurs informations. Ces objectifs sont de seconde main, et ils ont été achetés en ensemble. Cela mène au faible coût d'environ 10\$, qui pourrait être difficile à retrouver pour la construction d'un seul microscope. Toutefois, pour la construction d'un ensemble d'appareils spécialisés pour différentes tailles de particules, donc ayant besoin de différents objectifs à différents grossissements, le prix d'ensemble est idéal. Deuxièmement, un coût important a été omis dans le tableau de calcul, soit celui de la table optique elle-même. Cette dernière est très dispendieuse, mais elle a été omise car elle est déjà présente dans plusieurs laboratoires d'optique,

Tableau 3 – Liste des pièces et coûts totaux pour le microscope sur table optique **Source Thorlabs et platine.**

ID pièce	Description	Qté	\$ CAD	Total ind.
KM100S	Montage ajustable pour échantillon	1	\$130.45	\$130.45
M-TSX-1S	Platine de translation	1	\$305.80	\$305.80
CS165MU	Caméra CMOS monochrome	1	\$667.01	\$667.01
-	Objectif de microscope	1	\$10.00	\$10.00
420FDL12	Filtre passe-long	1	\$36.29	\$36.29
LA1433-A-ML	Lentille tube f = 150.0 mm	1	\$71.42	\$71.42
CPS405	Laser bleu 405 nm	1	\$312.07	\$312.07
LMR1	Trou taraudé pour lentilles	2	\$22.89	\$45.79
TR3-P5	5 tiges 3 po pour optiques	1	\$38.50	\$38.50
PH4	Base pour tiges d'optique 4 po	4	\$14.83	\$59.33
PH3	Base pour tiges d'optique 3 po	1	\$13.37	\$13.37
BA1	Pied de montage optique	1	\$8.42	\$8.42
BA1S	Pied de montage optique	2	\$7.83	\$15.65
BA2	Pied de montage optique	1	\$11.26	\$11.26
VC1	Pince en V	1	\$64.04	\$64.04
			Total :	\$1789.39

ou si non, elle peut être achetée à plus faible coût si les dimensions de la table achetée se limitent aux dimensions de l'appareil. Par exemple, chez Thorlabs, la plus petite table optique pour tenir ce microscope est la B1824F, avec des dimensions de 18" × 24" [1]. Avec un coût de 1319.08 \$ CAD, presque l'entièreté du coût du reste de l'appareil, le total monte à 3108.47 \$. Troisièmement, selon le tableau 3, les pièces ayant les coûts les plus considérables sont celles directement liées à l'optique et à l'alignement. Le reste des pièces sont pour des éléments de construction du montage, et leur total s'élève à 1039.11 \$.

Il est donc possible de recommander fortement l'utilisation de l'impression 3D pour une production à plus grand volume de ce microscope. Cela permettrait de sauver l'argent sur les pièces de construction et sur la table optique elle-même, aiderait à l'alignement des éléments optiques, permettrait plus de flexibilité sur les composantes à ajuster tel que le montage de l'échantillon pour s'occuper du focus, et enfin pourrait rendre l'appareil plus portatif pour des essais sur le terrain. Comme les éléments optiques seraient tous réutilisables dans un design d'impression 3D, les performances du dispositif resteraient identiques. Il est aussi possible de recommander l'usage d'un différent laser de 405 nm, car ils sont fréquemment vendus seconde main pour beaucoup moins cher.

Références

- [1] Thorlabs - Photonics Products & Solutions, 2024. URL <https://www.thorlabs.com>.
- [2] Maxime Rouillon, Émile Guertin-Picard, Marie-Lou Dessureault, and Philippine Beaubois. Travail préparatoire - Microscope, 2024.