

Automação de medições e processamento de dados experimentais



Oswaldo Guilherme Arreche, Antonio Alvaro Ranha Neves
Centro de Ciências Naturais e Humanas, CCNH, Universidade Federal do ABC
Avenida dos Estados, 5001. Bairro Bangu. Santo André, SP – Brasil.
{email-g.arreche@aluno.ufabc.edu.br,antonio.neves@ufabc.edu.br}

RESUMO

Um sistema de controle, processamento e análise de dados para um sistema de pinças ópticas, será desenvolvido utilizando o programa LABVIEW. Pequenos módulos, tais como autofocalização, calibração espacial, remoção de imagem de fundo, calibração da armadilha óptica, entre outros, serão integrados em um programa de controle para um usuário genérico. O desenvolvimento dessa pesquisa permitirá acesso a técnicas modernas de caracterização de células orgânicas e de micromanipulação óptica, reduzindo insumos, mão de obra, consumo de energia e o tempo de execução da atividade.

INTRODUÇÃO

Uma pinça óptica (Figura 1) é definida, em linhas gerais, por um feixe de laser altamente focalizado, que incide em uma lente perpendicularmente. Através da pressão de radiação exercida, uma partícula pode ser presa e manipulada, sem danos à sua estrutura.

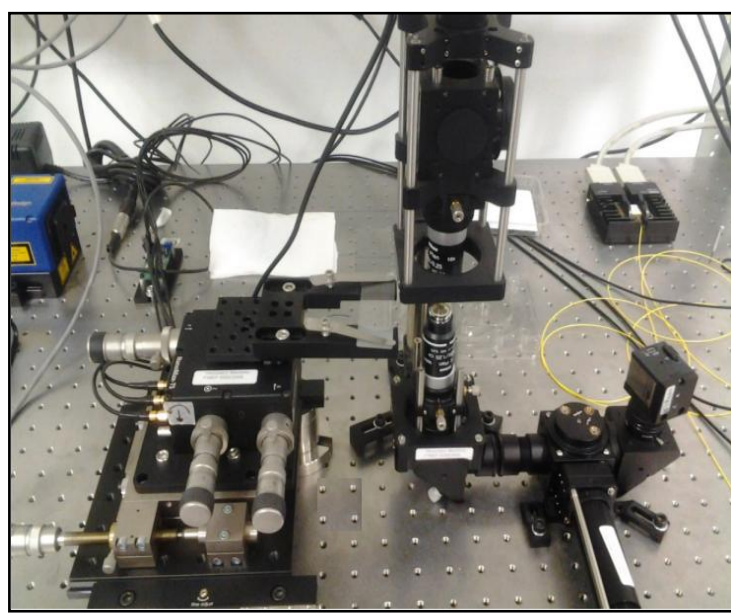


FIGURA1:Pinça óptica.
FONTE: BITTAR, 2014.

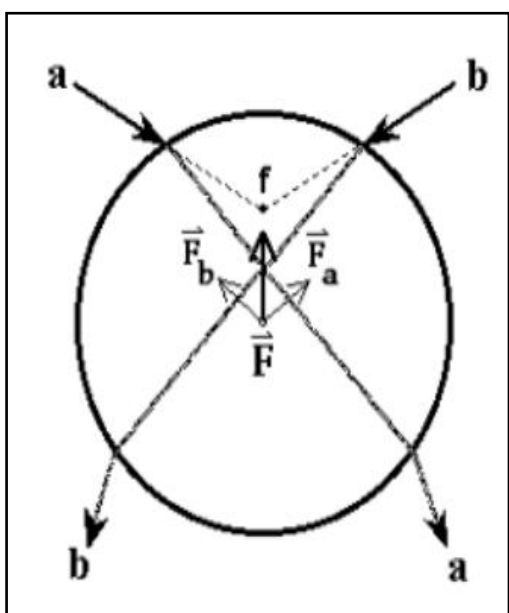


FIGURA 2: Desvio de raios possibilita o posicionamento da esfera no foco do laser.
FONTE: FONTES, 1999.

A armadilha óptica se baseia na transferência de momento do fóton à partícula capturada. Quando a trajetória do fóton é desviada, ele força o objeto (partícula) que desviou sua trajetória a recuar na direção da força **F** (Figura 2). Dessa forma, a esfera é posicionada no foco do laser, e a focalização do feixe possibilita à armadilha manter o centro da partícula no seu foco.

RESULTADOS

Posicionamento: varredura máxima por eixo de 20 micrometros, corresponde a uma variação de tensão entre 0 e 75 volts do estágio motor piezelétrico (NanoMax-TS TPZ001, THORLABS), onde por meio deste é possível inserir valores de entrada para os eixos x, y e z, em Volts onde será a posição do estágio, com resolução é de aproximadamente 2,6 nanômetros.

Autofocalização: Definida uma região de interesse, uma sequência de imagens digitalizadas para diferentes posições ao longo do eixo z são convertidas em matrizes, $i(x,y)$, para em seguida determinar a posição do foco ideal através de um dos algoritmos da Figura 3.

$$F_{normed_variance} = \frac{1}{H \cdot W \cdot \mu} \sum_{Height} \sum_{Width} \left(i(x,y) - \mu \right)^2 \quad F_{Brenner} = \sum_{Height} \sum_{Width} \left(i(x+2,y) - i(x,y) \right)^2$$

FIGURA 3: Algoritmo de variância normalizada e de Brenner
FONTE: SUN,Y.;DUTHALER,S.;NELSON,B.J., 2004.

Eliminação de imagem de fundo: Digitalização de aproximadamente 100 fotos (Webcam HD-C270, Logitech), após mover o estágio aleatoriamente nos eixos x e y (ou em z) enquanto obtém frames e os soma com o anterior, após Com as imagens em tons de cinza, (16bits, 1280 x 720 pixels) a média é utilizada para subtrair dos vídeos subsequentes eliminando assim grande parte do ruído.

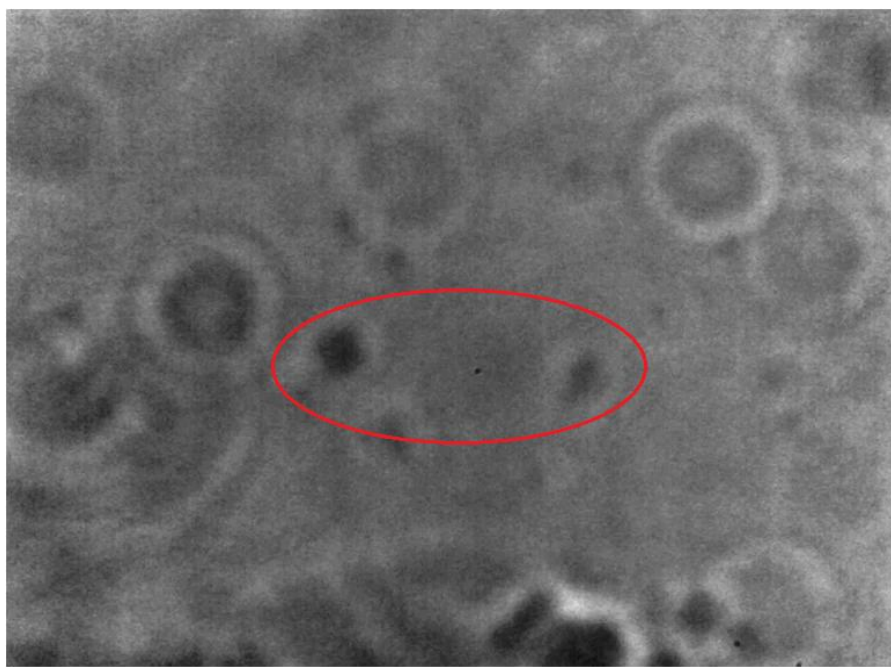


FIGURA 4:
Mitocôndrias

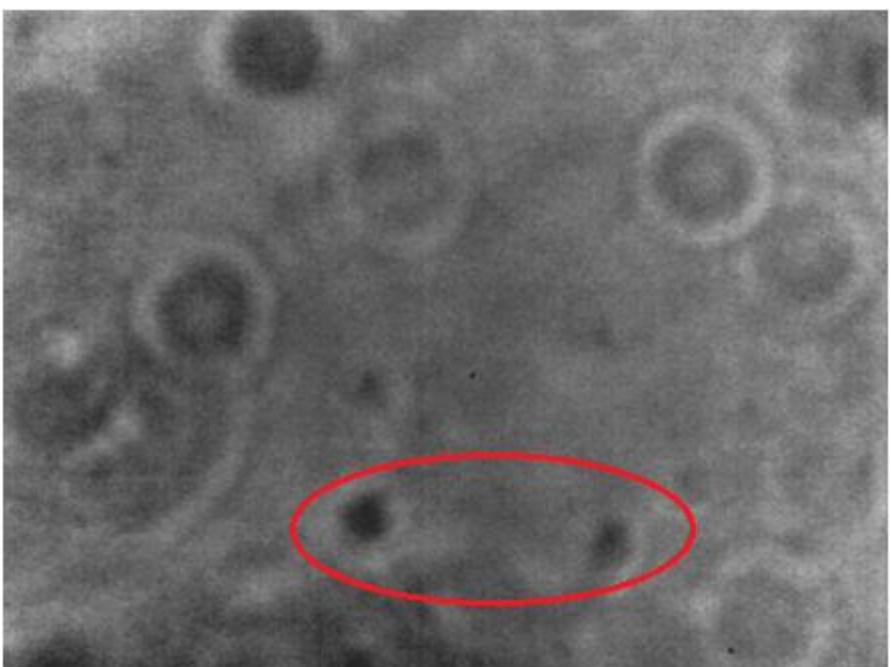


FIGURA 5:
Deslocamento do estágio
com relação a Figura 4.

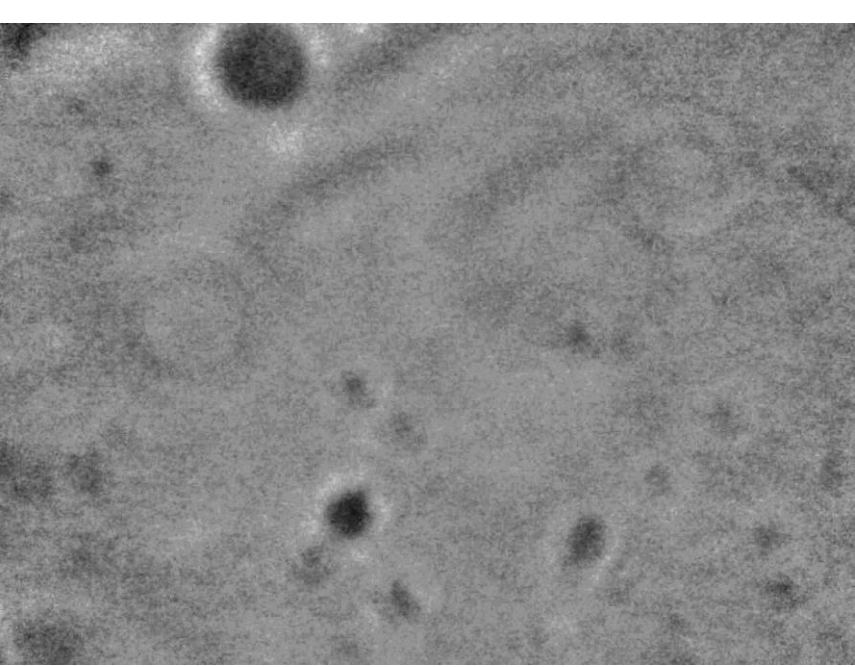


FIGURA 6:
Figura 5 com a
subtração do fundo.

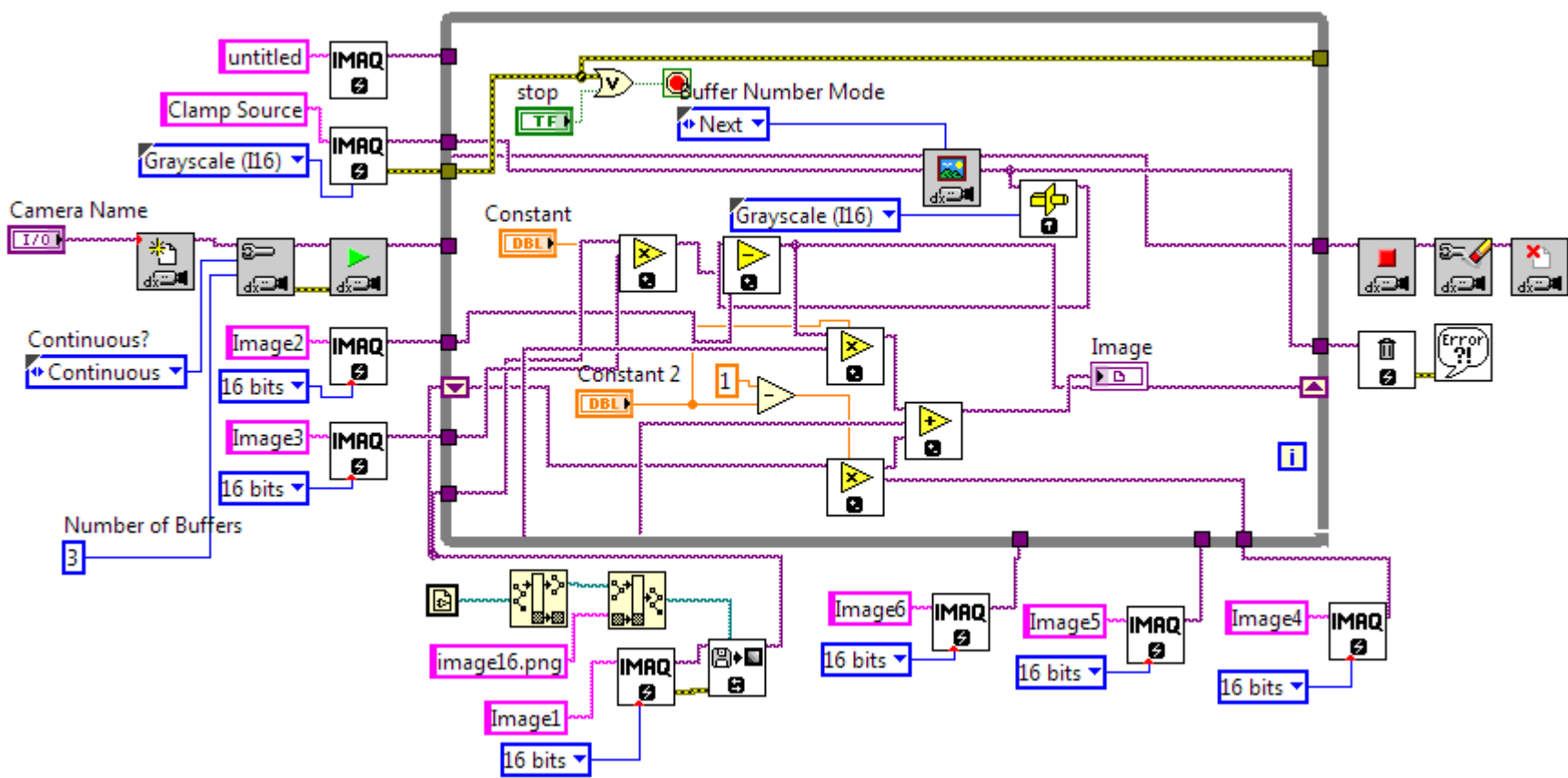


FIGURA 7: Programa para subtração de fundo

Geração de onda triangular: Deslocamento linearmente proporcional ao tempo, implica velocidade constante, ao contrário de outros tipos de onda, como as senoidais, permitindo a calibração da pinça óptica através do deslocamento de stokes [BITTAR, 2014].

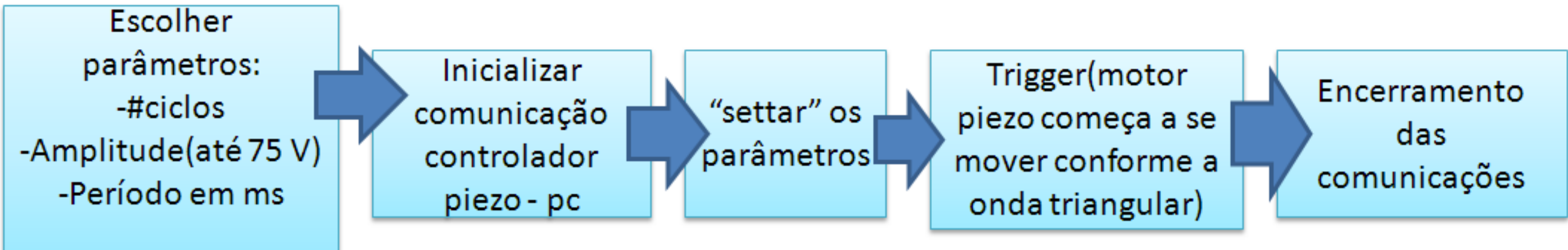


FIGURA 8: Fluxograma onda triangular

Calibração espacial: Ajustando a função seno (Figura 9) pelo método dos mínimos quadrados, de uma imagem de uma grade de difração de período conhecido podemos obter a relação pixel/micron.

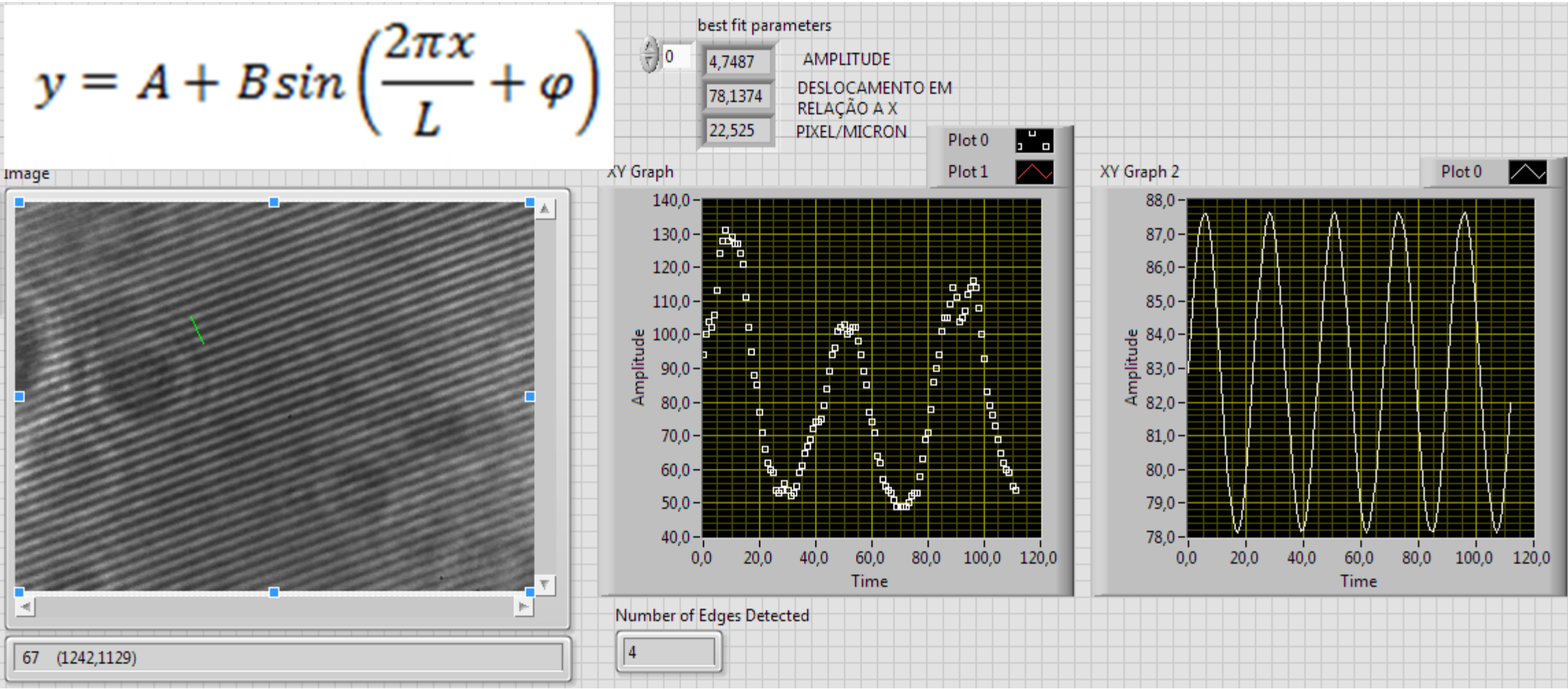


FIGURA 9: Programa para obtenção da relação pixel/micron

Varredura da pinça: Para capturar com o laser, aleatoriamente micro objetos, através de uma varredura tipo "raster-scan", em uma determinada região de interesse através do controlador piezelétrico. O objetivo é capturar várias mitocôndrias e agrupá-las para estudo posterior.

PERSPECTIVAS

Rastreamento da região de interesse: Determinando o objeto de interesse e acompanhando-o com um algoritmo pelo espaço é possível obter o deslocamento real do objeto, por exemplo.

Controle dos espelhos galvanométricos (GVS002, THORLABS): Por via USB interligando o gerador de funções (AFG 3021B, Tektronix) será possível posicionar a armadilha óptica em qualquer lugar dentro do alcance do laser.

Autofocalização: É necessário melhorar a precisão dos resultados obtidos, uma vez que no gráfico obtido se observa falsos máximos, dificultando a obtenção do pico correspondente ao da imagem melhor focalizada.

Otimização dos programas: Como obter melhor processamento em vídeos (Até o momento 15 (fps).

Interface para fácil utilização do usuário: Em que se terá acesso a todos esses módulos construídos de uma forma intuitiva para facilitar futuros trabalhos com a pinça óptica.

REFERÊNCIAS

•HERNÁNDEZ CANDIA, C.N.; TAFOYA MARTÍNEZ, S.; GUTIÉRREZ-MEDINA, B. *A Minimal Optical Trapping and Imaging Microscopy System*. PLoS ONE, 8, 1-10 (2013).
•SUN, Y.; DUTHALER, S.; NELSON, B.J. *Autofocusing in Computer Microscopy: Selecting the Optimal Focus Algorithm*. Microscopy Research and Technique, 65, 139-149 (2004).
•BITTAR, A. M. C. A. F.; NEVES, A.A.R.; *Calibração de pinça óptica e aplicações biofotônicas*. Trabalho de Iniciação UFABC (2014).