

Desenvolvimento de Rotinas de Automação em Microscopia Digital

Aluno: Carlos Alexandre Papani Ferreira

Orientador: Sidnei Paciornik

Introdução

A microscopia digital é a integração entre microscópio, aquisição digital de imagens, procedimentos de automação e análise de imagens. Vem se transformando em uma ferramenta fundamental na caracterização de materiais, trazendo maior velocidade ao processo, melhorando a qualidade dos dados obtidos e permitindo realizar medidas impossíveis de se obter com os métodos manuais tradicionais.

Os softwares para microscopia digital já dispõem de uma grande quantidade de funções mas, em muitos casos, há necessidade de se criar rotinas específicas para atender necessidades dos usuários. No presente trabalho serão apresentadas 2 rotinas desenvolvidas para os usuários do Laboratório de Microscopia Digital (LMD) do DCMM PUC-Rio. Este laboratório conta com um microscópio óptico Axioplan 2 da Zeiss com software AxioVision, programável internamente em Visual Basic for Applications (VBA).

Rotinas Desenvolvidas

A primeira rotina desenvolvida foi a LMDCaptura, que permite ao usuário digitalizar uma seqüência de imagens cobrindo uma determinada área da superfície de uma amostra. Para tanto é apresentada uma tela, onde o usuário opta pela utilização da LMDCaptura ou LMDCo-Localizada.

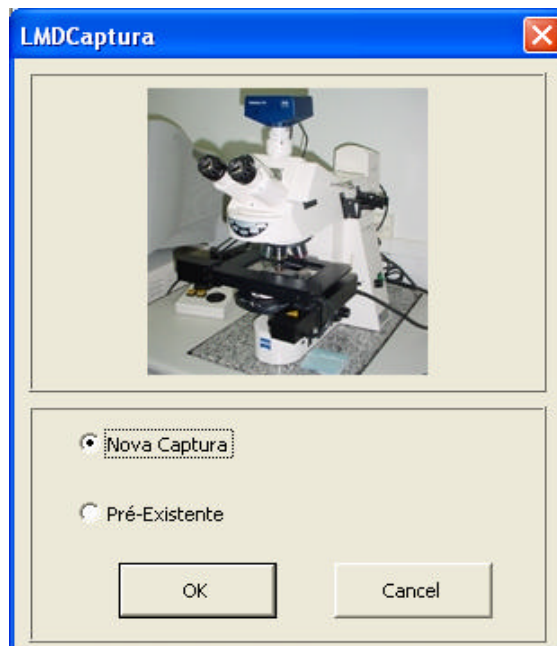


Figura 1 – Tela Inicial

Após a escolha, é apresentada uma janela de diálogo usuário, onde o mesmo opta por escolher as configurações da captura de acordo com a necessidade. Esta janela é dividida nas seguintes partes:

- Lente Objetiva: O sistema reconhece a lente objetiva sendo utilizada e também dá liberdade ao usuário de trocá-la.
- Resolução da câmera digital: Escolha da resolução da câmera. A resolução típica de trabalho é de 1300 x 1030 pixels. As resoluções mais altas somente se aplicam a imagens coloridas (RGB).
- Autofoco: o sistema pode realizar focalização automática de cada imagem capturada. Como este processo é lento, pode ser adequado, em alguns casos, realizar uma focalização apenas em uma imagem de referência e manter foco fixo para todas as outras imagens.
- Gerenciamento de Arquivos: A terceira e última subdivisão é a parte de salvamento das imagens e do experimento, onde o usuário opta por salvar as imagens numa pasta, ou meramente visualizá-las, assim como pode salvar o experimento para reutilizá-lo na rotina LMDCo-Localizada.

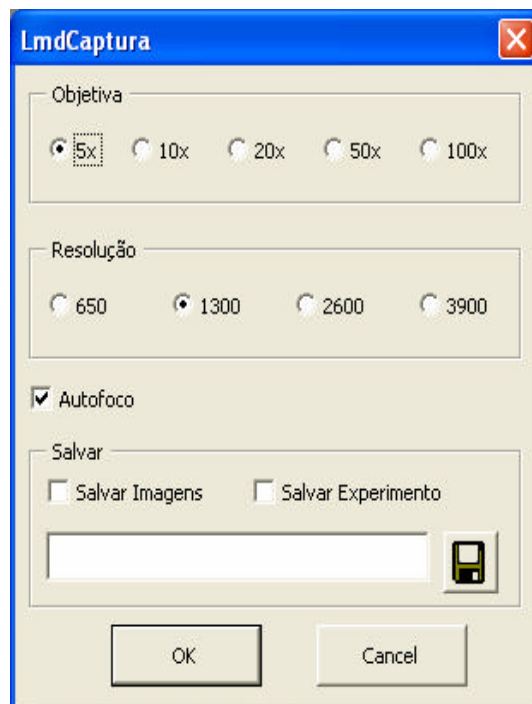


Figura 2 – Tela da rotina LMDCaptura

Depois de passar todos os parâmetros à rotina, o usuário deve escolher o ponto inicial e final da região de interesse na amostra, determinando assim a área delimitada para a varredura. Após isto, a rotina calcula automaticamente o número máximo de campos em x, y de acordo com o tamanho da área especificada e permite ao usuário alterá-los para um valor menor, caso necessário, capturando menos campos, mais espaçados, dentro da mesma região (Figura 3). Finalmente, a rotina captura as imagens e as armazena automaticamente.

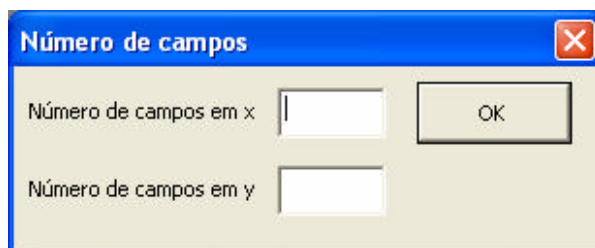


Figura 3 – Tela Número de Campos

A LMDCo-localizada têm por objetivo realizar novas capturas sob condições de uma captura anteriormente realizada. Sendo assim ela pode ser considerada uma sub-rotina da LMDCaptura. Tendo o arquivo salvo pelo usuário do experimento, basta abri-lo para que todas as informações da antiga captura apareçam e é solicitado a pessoa que forneça a pasta onde as novas imagens serão armazenadas. Não é permitida alteração nas informações da captura, visto que a rotina irá executá-las novamente no intuito de capturar a mesma área, nas mesmas condições, possibilitando uma futura comparação dos dados das duas seqüências de capturas..

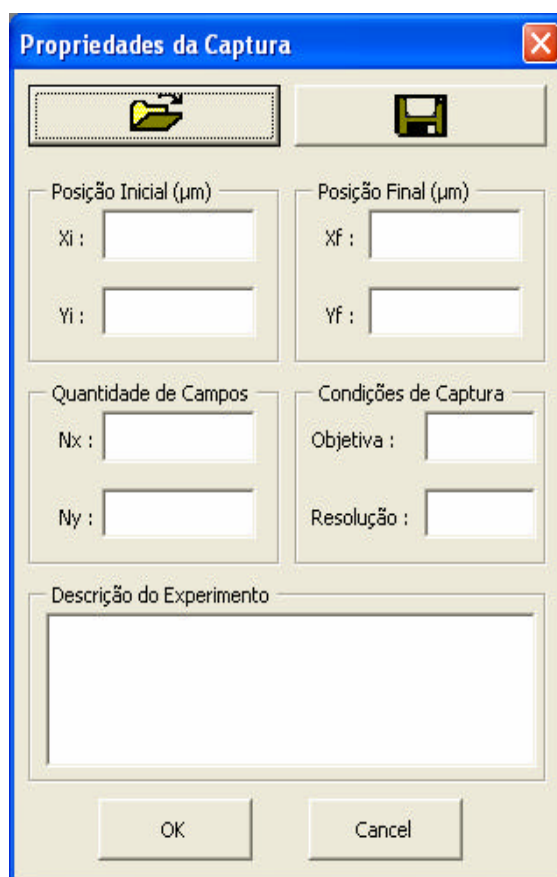


Figura 4 – Tela da LMDCo-Localizada

A segunda rotina desenvolvida se constitui num acessório no processo de captura de imagens. Normalmente, toda imagem capturada deve apresentar uma barra de escala, para indicar a magnificação ou resolução da imagem. Apesar do software AxioVision dispor de uma ferramenta para isto, ela não é adequada porque exige uma interferência manual do operador para gerar a barra de escala. A rotina desenvolvida, LMDescala, detecta automaticamente a lente objetiva utilizada e, baseada em calibrações pré-armazenadas, desenha uma barra padrão, com aspecto e posição pré-definidos, sem interferência do usuário. Além de campos individuais a rotina pode ser utilizada em mosaicos, ou seja, imagens seqüências concatenadas, onde o processo para o operador inserir uma barra de escala seria mais complicado.

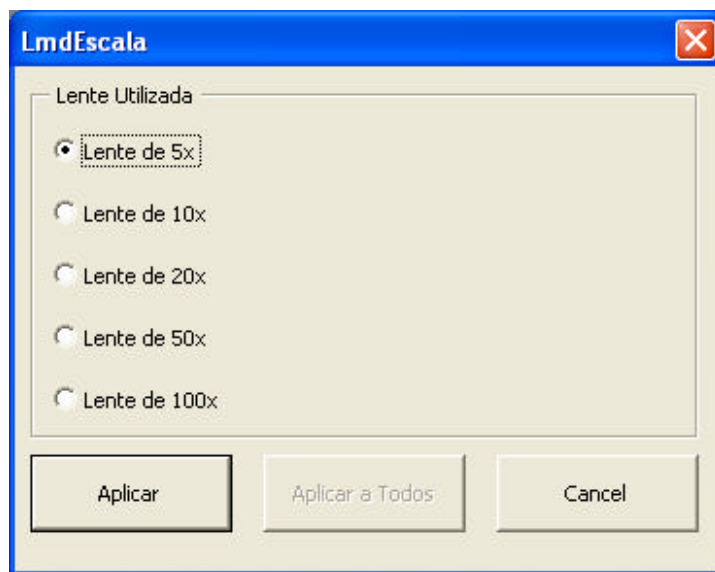


Figura 5 – Tela da LMDescala

Resultados e Discussão

O desenvolvimento das rotinas exigiu o aprendizado da operação do microscópio motorizado, da câmera de captura digital, e do software de controle. Além disso, foi necessário estudar a biblioteca de funções disponíveis para programação no ambiente VBA.

A rotina desenvolvida para captura, LMDCaptura, se tornou uma ferramenta indispensável para os usuários, pois com ela, é possível capturar imagens seqüenciais de uma determinada área com uma determinada lente e se assim desejarem capturarem imagens da mesma área, por exemplo após um ataque químico, podendo então compará-las numa análise qualquer. Como mostrado nas figuras abaixo:

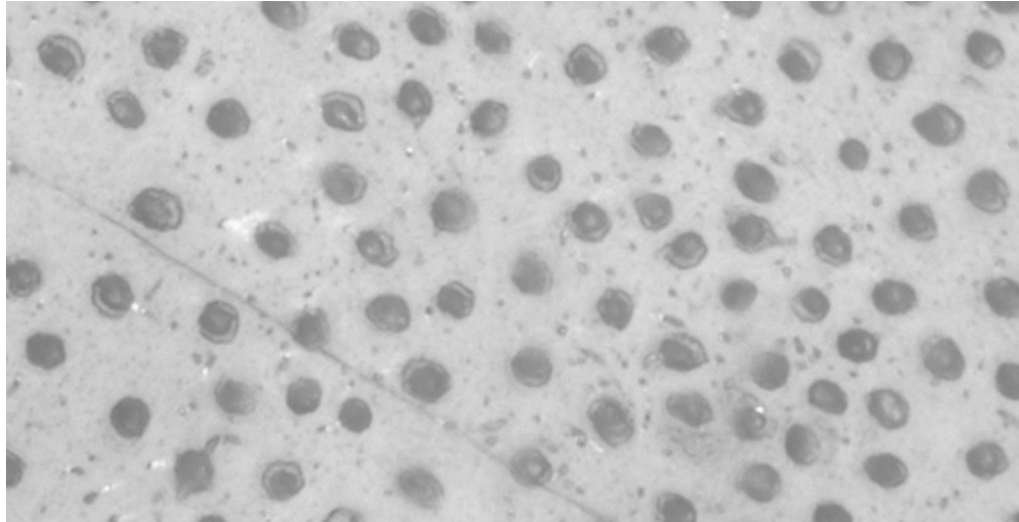


Figura 6 - Imagem de uma região de dentina

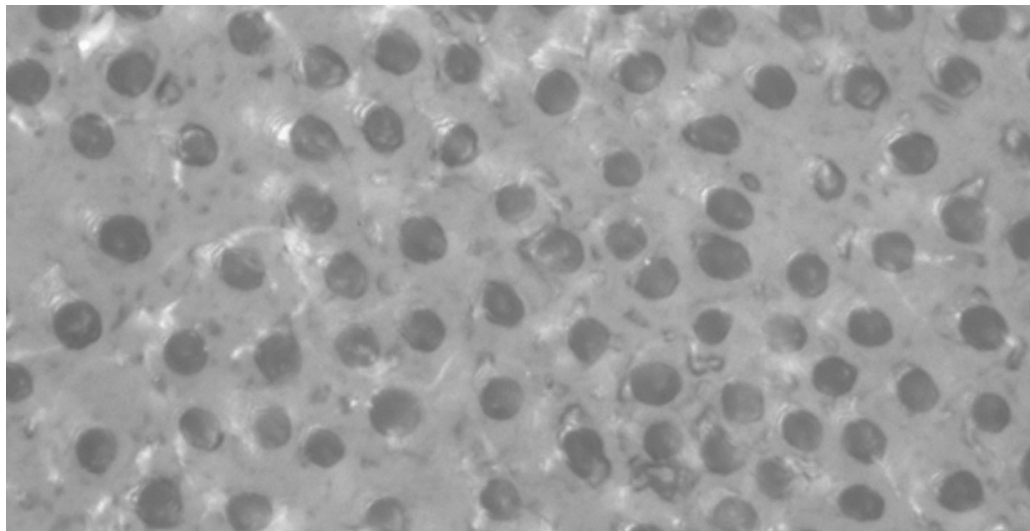


Figura 7 - Imagem da mesma região após um ataque químico

A LMDEscala, rotina que desenha uma barra de escala automática nas imagens capturadas, é amplamente utilizada, pois não precisa da interferência do usuário, agilizando o processo que antes era totalmente manual por parte do usuário e adapta-se a imagens individuais e mosaicos.

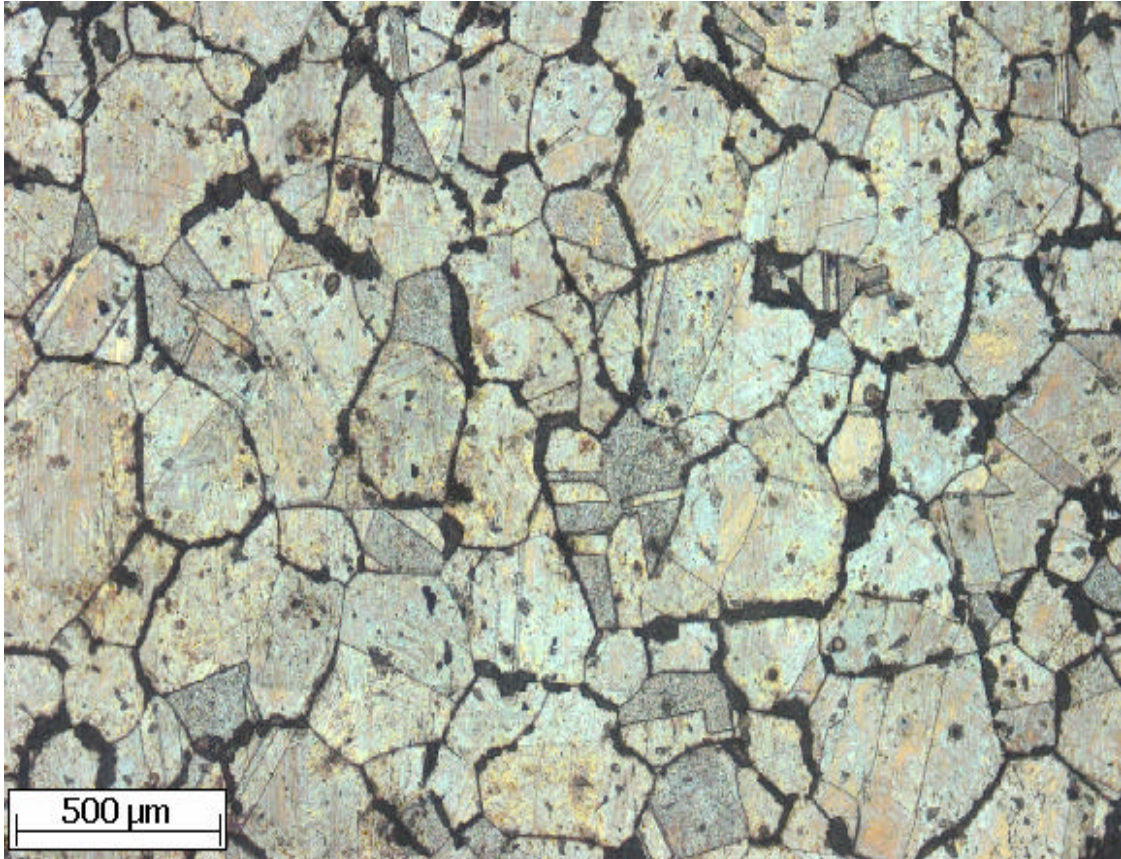


Figura 8 - Barra de escala default para lente de 5x

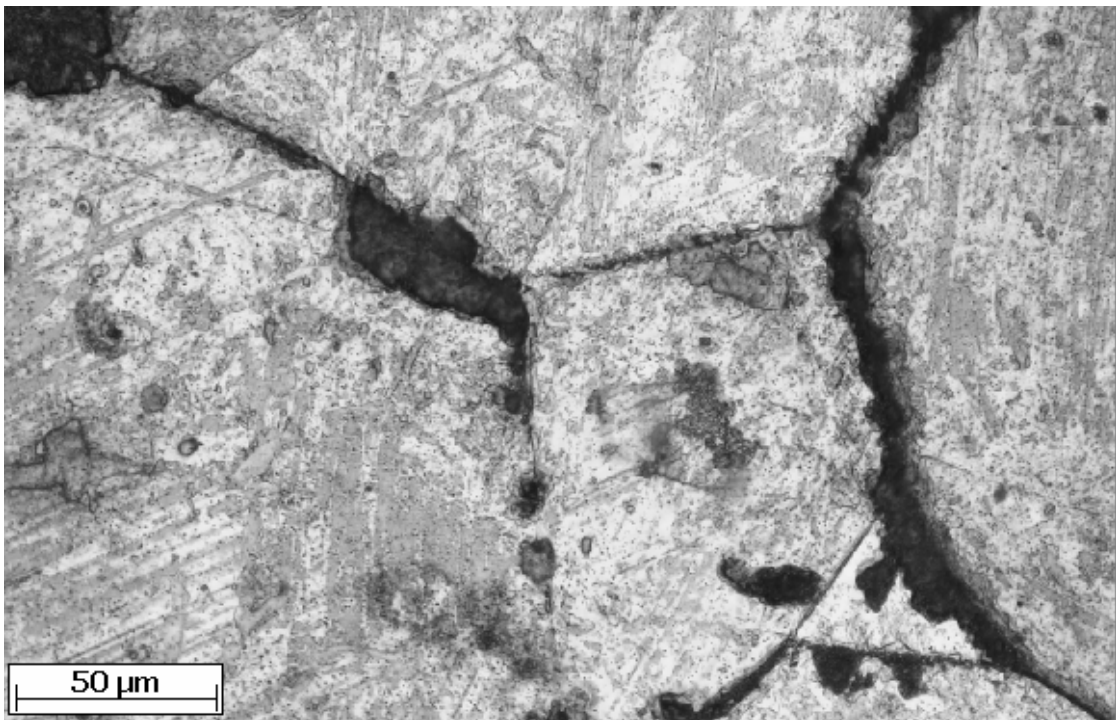


Figura 9 - Barra de escala default para lente de 50x



Figura 10 – Barra de escala no Mosaico

Conclusões

As rotinas desenvolvidas vêm sendo usadas de maneira regular por diversos usuários do LMD. Seu uso contribuiu para agilizar e metodizar diversos procedimentos de captura de imagens em microscopia digital.

Referências :

- 1 - PACIORNIK, S.; MAURÍCIO, M. H. P. Digital Imaging. Digital Imaging. In: VOORT, George Vander (Org.). ASM Handbook, Volume 9, Metallography and Microstructures. Materials Park, 2004, v. 9, p. 368-402.
- 2 - AxioVision v 4.5, Carl Zeiss Vision, Halbergmoss, Germany, 2006.