

ỨNG DỤNG HỆ THỐNG TẠO ẢNH TOÀN NÉT TRONG TỰ ĐỘNG HÓA THAO TÁC VẬT THỂ VI MÔ

Nguyễn Chánh Nghiệm¹

¹ Bộ môn Tự động hóa, Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 08/01/2013

Ngày chấp nhận: 19/06/2013

Title:

All-In-Focus imaging system and its application to automated microobject handling

Từ khóa:

Toàn nét, tự động, microhand, gấp-thả

Keywords:

All-in-focus, automated, microhand, pick-and-place

ABSTRACT

All-In-Focus imaging system has been used to observe microbiological objects. In addition to the useful feature of observing a thick microobject clearly as the whole object is in focus, the system provides the depth information of the microobject from which the object position in z-direction can be calculated. However, little research that fully utilizes the depth information of the All-In-Focus imaging system can be found. In this research, we propose the methods to find the 3D position of both target microobject and the end-effector when manipulating the object using the depth information obtained from the AIF imaging system. The system is integrated with a two-fingered microhand micromanipulation system and automated pick-and-place task is experimentally demonstrated to show the effectiveness of the AIF imaging system. The success rate is over 70% for microobjects from 20 to 100 μm which is promising for developing automated micromanipulation system that can be widely applied in many biological and life science fields.

TÓM TẮT

Hệ thống tạo ảnh toàn nét (hệ AIF) đã được ứng dụng trong quan sát các vật thể vi mô từ lâu. Ngoài chức năng ưu việt là tạo ảnh của vật thể quan sát như thể toàn bộ vật thể đều được lấy nét, hệ AIF còn cung cấp thông tin chiều sâu của vật thể giúp xác định vị trí của vật thể dọc theo trục z hay trục thấu kính. Tuy nhiên, ít nghiên cứu quan tâm khai thác tính năng này. Nghiên cứu này đề xuất các phương pháp tìm vị trí 3D của vật thể vi mô và của đầu mút cơ cấu chấp hành đầu cuối từ hệ AIF khi cần phải thao tác chúng. Hệ AIF được tích hợp với cơ cấu gấp thả microhand có 2 “ngón tay” và thao tác gấp thả được tự động hóa để trình diễn tính khả dụng của hệ AIF. Tỷ lệ gấp thả thành công đạt trên 70% đối với các vật thể có kích thước từ 20 đến 100 μm . Điều này chứng tỏ hệ AIF có thể được ứng dụng để phát triển các hệ thao tác vật thể vi mô tự động để ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực sinh học và khoa học sự sống.

1 GIỚI THIỆU

Trong các lĩnh vực y sinh và khoa học sự sống, việc quan sát các vật thể vi mô như tế bào, vi sinh vật, được thực hiện rất thường

xuyên. Quan sát viên thường phải điều chỉnh lấy nét bằng tay và đôi khi phải thực hiện nhiều lần cho các đối tượng với kích cỡ khác nhau. Có nhiều nghiên cứu đề xuất các giải thuật lấy nét (Groen *et al.*, 1985; Sun *et al.*,

2004; Mateos-Pérez *et al.*, 2012) và đề xuất các tiêu chuẩn để chọn giải thuật phù hợp trong những trường hợp cụ thể (Sun *et al.*, 2004). Được phát triển từ hệ Micro VR camera (Ohba *et al.*, 2000), hệ thống tạo ảnh toàn nét (All-In-Focus imaging system) được phát triển để quan sát các vật vi mô như thể toàn thể đối tượng cần quan sát được lấy nét. Ngoài chức năng tạo ảnh toàn nét, hệ thống này còn cung cấp thông tin về chiều sâu của đối tượng và đã được sử dụng để gắp thả các hạt microsphere (Ohara *et al.*, 2004). Tuy nhiên, giải thuật để tìm vị trí 3D của đầu cuối cơ cấu chấp hành (end-effector tip) cũng như các đối tượng cụ thể chưa được đề xuất. Hơn nữa, việc giảm nhiễu trong việc xác định tọa độ Z của các vật thể từ hệ AIF chưa được đề cập tới.

Bằng cách tích hợp hệ tạo ảnh toàn nét (hệ AIF) với cơ cấu chấp hành để thao tác các vật vi mô và tìm vị trí đầu mút (tip) của end-effector cũng như vật thể cần thao tác, ta có thể thiết kế một hệ thao tác các vật thể vi mô tự động, giúp ích cho các nghiên cứu y sinh và khoa học sự sống.

Trong nghiên cứu này, cơ cấu chấp hành được sử dụng là một tay gắp-thả microhand có 2 “ngón tay” (microfinger) được tạo thành từ việc kéo giãn các thanh thủy tinh dưới tác động của nhiệt để điếm đầu cuối microfinger có kích thước vào khoảng 1 μm . Cơ cấu microhand này được chọn vì nó có thể thao tác các vật thể vi mô một cách tinh xảo như xoay các tế bào (Inoue *et al.*, 2008) hay dùng để đo độ cứng của tế bào (Kawakami *et al.*, 2010; Inoue *et al.*, 2006).

Để kiểm tra tính khả dụng của giải thuật đề xuất trong nghiên cứu này sau khi tích hợp hệ AIF và hệ microhand để tạo thành một hệ thao tác tự động các vật thể vi mô, thí nghiệm gắp thả các hạt microsphere với kích thước khác nhau được thực hiện một cách tự động.

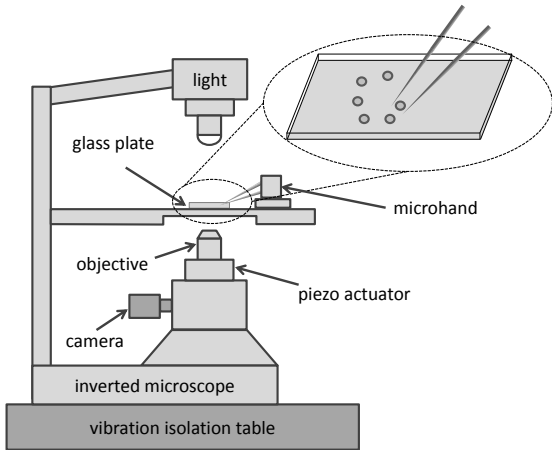
2 TỔNG QUAN VỀ HỆ THỐNG

2.1 Hệ thống tạo ảnh toàn nét (All-In-Focus imaging system)

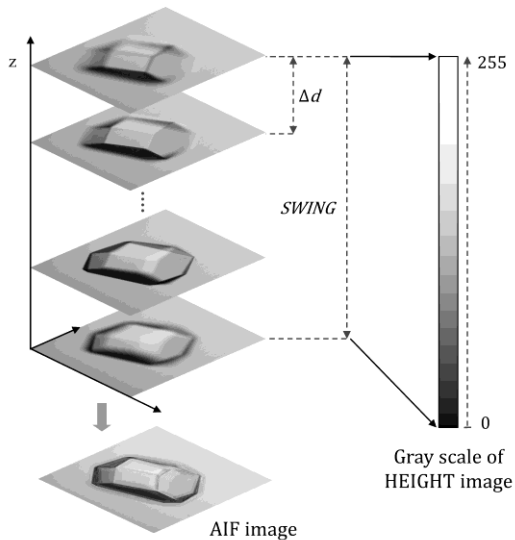
Hệ thống tạo ảnh toàn nét AIF imaging

system (gọi tắt là hệ AIF) được phát triển từ hệ Micro VR camera (Ohba *et al.*, 2000), bao gồm một cơ cấu chấp hành bằng gốm PZT (piezo actuator) và thiết bị điều khiển của piezo actuator, một camera tốc độ cao (Photron Focuscope FV-100C) được gắn ở camera port của kính hiển vi và một bộ xử lý để tạo ảnh toàn nét AIF image và ảnh cao độ HEIGHT image (Hình 1). Cơ cấu chấp hành dùng để thay đổi vị trí của vật kính (objective lens) trong khoảng 100 μm dọc theo trục thấu kính (optical axis). Bằng cách thay đổi vị trí vật kính, mặt phẳng tiêu điểm (focal plane) sẽ thay đổi hay nói cách khác vật thể quan sát được lấy nét ở những vị trí khác nhau dọc theo trục thấu kính. Như vậy, camera tốc độ cao có thể chụp ảnh của vật thể với tốc độ 1000 ảnh/giây tại những vị trí lấy nét khác nhau dọc theo trục thấu kính khi hệ AIF hoạt động.

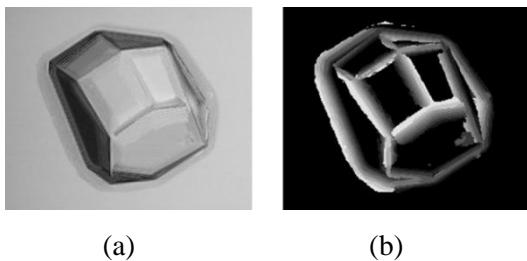
Hình 2 mô tả giải thuật tạo ảnh toàn nét (gọi tắt là ảnh AIF). Khi vật kính được dịch chuyển một đoạn *SWING*, một loạt ảnh được chụp tại những vị trí lấy nét liên tiếp của vật thể cần quan sát. Vị trí lấy nét tốt nhất cho từng điểm ảnh được xác định bởi tần số cục bộ của cường độ sáng tại vị trí của điểm ảnh đó trong tất cả các ảnh chụp được khi vật kính dịch chuyển một đoạn *SWING* (Ohba *et al.*, 2003). Để tạo được ảnh AIF trong đó toàn bộ vật quan sát đều rõ nét, độ sáng hay giá trị của từng điểm ảnh (pixel intensity) của ảnh AIF được lấy từ ảnh có vị trí lấy nét tốt nhất đối với điểm ảnh đó trong loạt ảnh được chụp. Vị trí lấy nét tốt nhất cho các điểm ảnh trong ảnh AIF trong khoảng $[0, SWING]$ được quy chuẩn về thang độ sáng điểm ảnh $[0, 255]$ và được lưu tại vị trí của điểm ảnh đó trong ảnh cao độ HEIGHT image. Như vậy, ảnh AIF cho phép nhìn rõ vật thể cần quan sát và ảnh HEIGHT lưu giữ thông tin về vị trí của vật thể theo trục thấu kính (Hình 3). Tuy nhiên, đối với các vật thể trong suốt (nhiều loại tế bào, tinh thể protein,...), thông tin về cao độ do hệ AIF mang lại chỉ có giá trị dọc theo đường biên của các vật thể (Hình 3b).



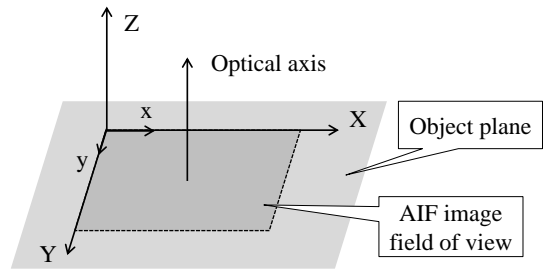
Hình 1: Tổng quan về hệ thống tích hợp



Hình 2: Mô tả giải thuật tạo ảnh toàn nét



Hình 3: (a) Ảnh toàn nét (AIF image). (b) Ảnh cao độ (HEIGHT image) của tinh thể protein trong suốt



Hình 4: Định nghĩa các hệ trục tọa độ

Để xác định vị trí của vật thể trong không gian 3D, các hệ tọa độ được định nghĩa như Hình 4. Vật thể được nhận dạng trong ảnh AIF và vị trí 2D của vật thể được xác định bởi tọa độ (x, y) của điểm ảnh. Với kích thước mỗi điểm ảnh AIF là $0.49 \mu\text{m}$, tọa độ thực (X, Y) của vật được quy đổi từ tọa độ điểm ảnh (x, y) như sau:

$$X = x * 0.49 (\mu\text{m}) \quad (1)$$

$$Y = y * 0.49 (\mu\text{m}) \quad (2)$$

Cho $SWING = \{20, 40, 60, 80, 100\}$ là khoảng dịch chuyển của vật kính. Khoảng dịch chuyển này được quy chuẩn về thang độ sáng điểm ảnh $[0, 255]$ và vị trí của vật thể quan sát trên trục z (trục thấu kính) được tính từ giá trị của điểm ảnh trong ảnh cao độ H như sau:

$$z = \frac{H(x, y) * SWING (\mu\text{m})}{256} \quad (3)$$

Số khung hình trên giây (frame rate) của hệ AIF có thể được thay đổi bởi thông số $FRAME = \{1, 2, 4, 6\}$ như sau:

$$frame_rate = \frac{30}{FRAME} \quad (4)$$

Thông số $FRAME$ cũng ảnh hưởng đến độ phân giải hay khoảng cách giữa hai vị trí lấy nét liên kế Δd dọc theo trục thấu kính như sau:

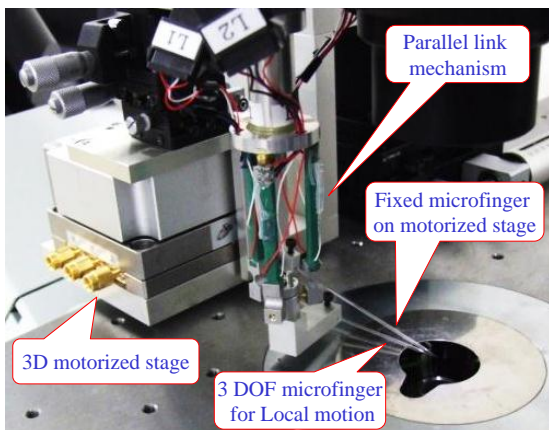
$$\Delta d = \frac{SWING}{30 * FRAME} (\mu\text{m}) \quad (5)$$

Số khung hình trên giấy cao nhất và thấp nhất của hệ tương ứng là 30 và 5 hình/giây. Tốc độ tạo ảnh AIF càng cao, rung động do piezo actuator tạo ra khi vật kính được dịch chuyển theo chu kỳ lên và xuống dọc theo trục thấu kính càng nhiều khi hệ AIF hoạt động.

2.2 Hệ tay gấp vi mô microhand

Trong các ứng dụng sinh y, các khâu/điểm tác động cuối (end-effector) làm bằng vật liệu thủy tinh thường được sử dụng vì có tính tương hợp sinh học (biocompatible). Trong nghiên cứu này, một hệ tay gấp vi mô 2 ngón tay (two-fingered microhand) được sử dụng để thao tác các vật thể vi mô cần quan sát (Avci *et al.*, 2009). Hệ microhand này được đặt trên bàn soi của kính hiển vi (microscope stage) (Hình 1, 5). Khâu tác động cuối của hệ là hai “ngón tay” được tạo ra khi kéo dài các thanh thủy tinh cùng với tác động của nhiệt độ điểm cuối của thanh thủy tinh có đường kính vào khoảng 1 μm .

Một trong hai “ngón tay” hay microfingert của microhand được điều khiển bởi cơ cấu liên kết song song 3 bậc tự do (3-DOF parallel link mechanism) (Hình 5). Cơ cấu này cùng với microfingert còn lại được gắn với motorized stage 3 bậc tự do. Với kết cấu này, microhand có thể thao tác trong không gian làm việc lớn hơn nhờ motorized stage và thao tác một cách tinh xảo nhờ vào microfingert được điều khiển bằng parallel link mechanism.



Hình 5: Microhand

3 ĐỊNH VỊ VẬT THỂ VÀ MICROHAND TRONG KHÔNG GIAN 3D

3.1 Xác định vị trí vật thể cần thao tác

Trong các ứng dụng y sinh, vật thể cần thao tác là các đơn tế bào. Do hầu hết các vật thể này có dạng khối cầu, các hạt microsphere được sử dụng trong nghiên cứu này vì chúng có hình dạng giống nhau. Vị trí 3D của microsphere được xác định bởi tâm của khối cầu. Vì vậy, microsphere được nhận dạng bởi giải thuật nhận dạng đường tròn Hough gradient (O’Gorman and Clowes, 1973) và vị trí 2D của microsphere chính là tâm điểm của đường tròn được nhận dạng.

Gọi C là đường biên của hạt microsphere được nhận dạng. Đường biên này nằm trên mặt phẳng vuông góc với trục thấu kính và đi qua tâm của hạt microsphere. Tọa độ z của hạt microsphere được xác định như sau:

$$z = \frac{1}{n_C} \sum_{(x,y) \in C} \frac{H(x,y)}{256} * SWING (\mu\text{m}) \quad (6)$$

Với n_C là số điểm ảnh trên đường biên C . Giải thuật này được gọi là *Contour-Depth Averaging* vì vị trí z được tính bằng trung bình giá trị điểm ảnh của ảnh HEIGHT có tọa độ nằm trên C .

3.2 Xác định vị trí microhand

Vì microfingert được tạo bởi kéo dài thanh thủy tinh dưới tác dụng của nhiệt, microfingert có thể được nhận dạng bởi các đoạn thẳng nằm dọc theo microfingert trong ảnh AIF từ đó tính ra vị trí (x, y) của microfingert. Vị trí z của đầu microfingert (microfingert tip) được xác định từ giá trị điểm ảnh trong ảnh HEIGHT có tọa độ trên các đoạn thẳng được nhận dạng trong ảnh AIF. Quá trình xác định vị trí microhand gồm các bước sau:

3.2.1 Nhận dạng đoạn thẳng

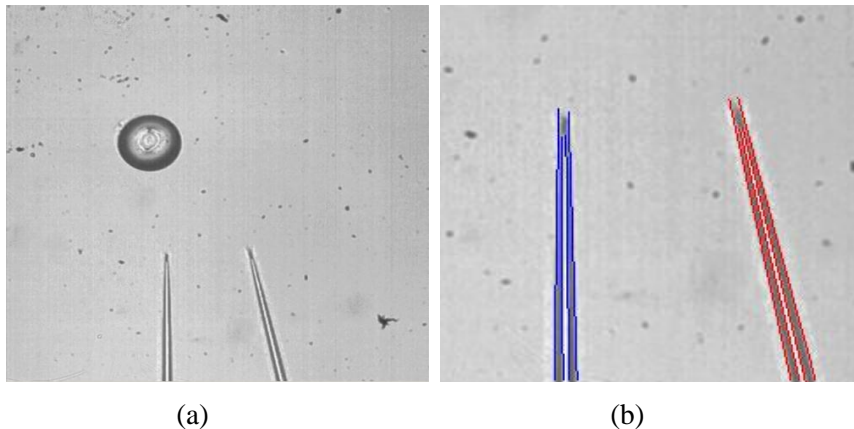
Microhand được đặt theo phương thẳng đứng (phương y của ảnh AIF) và hai microfingert hướng vào nhau (Hình 6). Vì ảnh của kính hiển vi có độ sâu trường ảnh (depth

of field) nhỏ nên chỉ một phần của vật thể có kích thước dày được quan sát rõ nét. Microfinger được đặt hướng từ trên xuống theo trục thấu kính nên chỉ một phần của microfinger có thể được nhìn rõ nét tại vị trí lấy nét nhất định. Khi microfinger được lấy nét tại một vùng dọc trên microfinger, vùng được lấy nét sẽ sáng hơn vì hình dạng đặc trưng của microfinger khiến mặt phẳng cắt microfinger và song song với trục thấu kính tác động như thấu kính hội tụ ánh sáng. Vì vậy, có 3 vùng với cường độ sáng khác nhau được tạo ra trong ảnh AIF dọc theo microfinger trong đó vùng ở giữa có cường độ sáng lớn nhất (Hình 6a).

Do ảnh AIF tổng hợp tất cả điểm ảnh nét nhất của vật quan sát, các vùng sáng dọc theo microfinger tại từng vị trí lấy nét dọc theo trục thấu kính tạo thành 3 vùng có cường độ sáng khác nhau dọc theo microfinger và cường độ

sáng của vùng giữa lớn nhất. Vì vậy, có thể nhận dạng được 4 đoạn thẳng dọc theo microfinger trong trường hợp lý tưởng. Trong 4 đoạn thẳng được nhận dạng đúng, 2 đoạn thẳng nằm ở biên của microfinger được gọi tắt là đoạn thẳng biên (border lines). Hai đoạn thẳng còn lại nằm ở giữa và được nhận dạng do sự tồn tại của vùng sáng trung tâm dọc theo trục của microfinger. Chúng được gọi là đoạn thẳng bên trong microfinger (inner lines).

Do hạn chế về tốc độ xử lý của thiết bị phần cứng của hệ AIF, bóng (ghost) của vật thể có thể được quan sát trong ảnh AIF và trở nên rõ hơn khi vật thể chuyển động nhanh. Để loại bỏ những đoạn thẳng được nhận dạng do ảnh hưởng của bóng của microfinger, ngưỡng về chiều dài của đoạn thẳng được nhận dạng đúng được đặt ra.

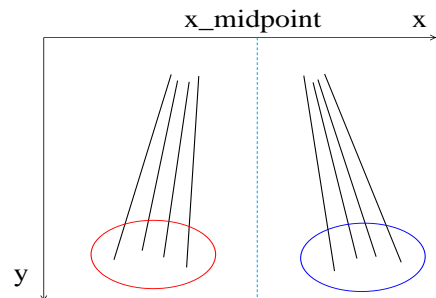


Hình 6: (a) Microhand và hạt microsphere. (b) Các đoạn thẳng được nhận dạng dọc theo microfinger

3.2.2 Phân nhóm các đoạn thẳng

Vì có hai microfinger trong ảnh AIF, các đoạn thẳng nhận dạng được dọc theo microfinger cần phải được xác định thuộc microfinger nào. Việc phân nhóm này được thực hiện dựa vào việc xác định tọa độ x của các điểm cuối có tọa độ y lớn hơn trong 2 điểm cuối của một đoạn thẳng và giá trị trung bình $x_{midpoint}$ của các tọa độ này. Đoạn thẳng có điểm cuối với tọa độ y lớn hơn trong 2 điểm cuối của một đoạn thẳng đó sẽ thuộc nhóm microfinger bên trái nếu tọa độ x của điểm đó nhỏ hơn $x_{midpoint}$. Ngược lại, đoạn

thẳng đó sẽ thuộc microfinger bên phải (Hình 7).



Hình 7: Phân nhóm các đường thẳng được nhận dạng dựa vào tọa độ trục x trung bình

3.2.3 Giải thuật Line-Type Pattern Matching để xác định vị trí 2D của fingertip

Hệ AIF cần ít nhất 30 ảnh chụp ở các vị trí lấy nét khác nhau dọc theo trục thấu kính để tạo ảnh AIF với tốc độ lớn nhất là 30 khung hình/giây. Hệ AIF giúp người quan sát có cái nhìn rõ nét các vi vật thể ngay cả khi vật thể di chuyển. Tuy nhiên, khi microfinger di chuyển nhanh thì việc nhận dạng các đoạn thẳng gặp khó khăn do vị trí microfinger thay đổi trong loạt ảnh thu thập được trong khoảng SWING dọc theo trục thấu kính để tạo ảnh AIF. Các đoạn thẳng biên và ở trong microfinger có thể bị đứt gãy và việc tìm ra 4 đoạn thẳng đặc trưng cho mỗi microfinger không thực hiện được.

Vì microfinger được đặt theo phương y và vùng ảnh ở giữa microfinger có cường độ sáng lớn nhất, 2 vùng sáng còn lại có cường độ sáng nhỏ hơn cường độ sáng của vùng nền ảnh nên các đoạn thẳng nhận dạng được có thể được phân loại như sau. Đoạn thẳng loại “0” nếu vùng ảnh bên trái của nó có cường độ sáng lớn hơn vùng ảnh bên phải. Ngược lại, đoạn thẳng được phân loại “1”.

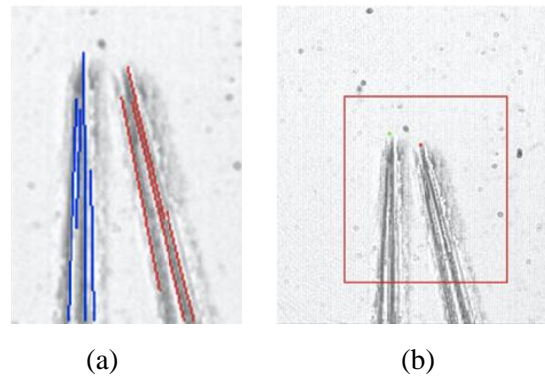
Gọi L_1, L_2, L_3, L_4 là 4 đoạn thẳng đặc trưng cho một microfinger lần lượt từ trái sang phải. Đoạn L_1, L_4 là đoạn thẳng biên. Đoạn L_2, L_3 là đoạn thẳng bên trong microfinger. Các đoạn thẳng này được phân loại như Bảng 1. Nếu một đoạn thẳng L_i nào đó không thể nhận dạng được do bị đứt gãy hay do bóng của microfinger (Hình 8a) khi microfinger di chuyển nhanh, đoạn thẳng L_i có thể được xác định dựa vào loại của 3 đoạn thẳng còn lại trong Bảng 2 từ đó xác định vị trí của microfinger (Hình 8b). Giải thuật này vì vậy được gọi là Line-Type Pattern Matching.

Bảng 1: Phân loại 4 đoạn thẳng đặc trưng cho một microfinger

Đoạn thẳng	L_1	L_2	L_3	L_4
Loại đoạn thẳng	0	1	0	1

Bảng 2: Phân loại 3 đoạn thẳng đặc trưng cho một microfinger khi thiếu một đoạn thẳng đặc trưng

Đoạn thẳng bị thiếu	Đoạn thẳng		
	L_1	L_2	L_3
L_1	1	0	1
L_2	0	0	1
L_3	0	1	1
L_4	0	1	0



Hình 8: (a) Các đoạn thẳng được nhận dạng. (b) Vị trí fingertip của microfinger đang dịch chuyển với tốc độ 100 μm/s

Khi các đoạn thẳng thỏa điều kiện phân loại bằng giải thuật Line-Type Pattern Matching, tọa độ y của fingertip của một microfinger được xác định bởi tọa độ y của điểm trên cùng của các đoạn thẳng đặc trưng cho microfinger đó. Tọa độ x của fingertip được bằng cách thế tọa độ y vừa tìm được vào phương trình đoạn thẳng L_2 hoặc L_3 .

3.2.4 Xác định tọa độ z của fingertip

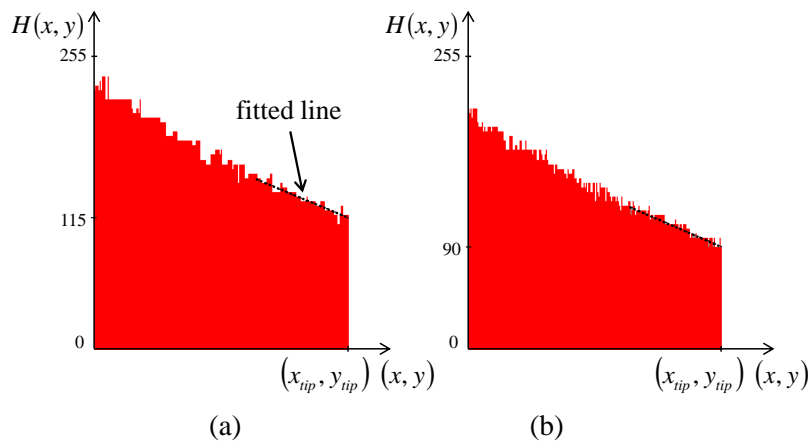
Khi tìm được tọa độ (x_{tip}, y_{tip}) của fingertip, tọa độ z có thể tìm theo công thức (3). Vì ảnh HEIGHT rất nhiễu nên việc xác định tọa độ z chính xác hơn được thực hiện nhờ vào góc nghiêng của microfinger.

Tọa độ z của fingertip có thể xác định từ đoạn thẳng biên L_1 hoặc L_4 nhưng để giảm nhiễu do hiện tượng bóng mờ trong ảnh AIF, tọa độ z của fingertip được tìm từ đoạn thẳng

L_2 hoặc L_3 nhận dạng được trong ảnh AIF. Tọa độ của 80 điểm ảnh trên một trong hai đoạn thẳng này ở vùng fingertip được thu thập. Với kích thước mỗi điểm ảnh là $0.49 \mu\text{m}$ và do microfingert tạo với trục y một góc nhỏ (Hình 6), số lượng điểm ảnh này tương đương với khoảng cách ít nhất là $40 \mu\text{m}$ trên mặt phẳng (x, y) . Vì mỗi microfingert hợp với mặt phẳng (x, y) một góc ít nhất là 15° , số lượng điểm ảnh này đủ lớn và tương đương với một vùng fingertip đủ dài để tính vị trí của đầu mút microfingert. Giá trị của 80 điểm ảnh này trong ảnh HEIGHT được sử dụng để tìm đường hồi

quy (Hình 9). Đường hồi quy này cho thấy góc nghiêng của microfingert hợp với mặt phẳng (x, y) , mang thông tin tọa độ z của fingertip tại tọa độ thấp nhất của nó nhờ đó giảm được sai số do nhiễu trong ảnh HEIGHT.

Do micropipette (ống hút vi thể) có thể được chế tạo giống như microfingert và cùng hình dạng cũng như vật liệu, phương pháp *Line-Type Pattern Matching* được đề xuất trong nghiên cứu này cũng có thể được ứng dụng để tìm vị trí đầu hút (tip) của micropipette.



Hình 9: Giá trị điểm ảnh của ảnh HEIGHT dọc theo đoạn thẳng bên trong microfingert bên trái (a) và bên phải (b) khi setup thí nghiệm. Đường hồi quy (fitted line) được tính từ giá trị của 80 điểm ảnh

4 GẮP THẢ TỰ ĐỘNG CÁC HẠT MICROSPHERE ĐA KÍCH THƯỚC

Hệ AIF được tích hợp với kính hiển vi Olympus IX81 sử dụng chế độ quan sát bright field với vật kính Olympus LUCPlan-FLN 20X/0.45na Ph1 để có thể quan sát vật thể được tốt trong khoảng từ 10 đến $100 \mu\text{m}$. Vì phải đặt trước các thông số cho hệ thống trước mỗi thí nghiệm, thông số của hệ AIF được đặt là $SWING=80 \mu\text{m}$ $FRAME=2$ để đạt được độ phân giải thích hợp $\Delta d=1.3 \mu\text{m}$ đối với các vật thể có kích thước mong muốn từ 10 đến $100 \mu\text{m}$.

Để trình diễn khả năng tìm được vị trí 3D của microhand và các đối tượng vi mô ứng dụng trong lĩnh vực sinh y khi cần thao tác tự động các đối tượng này, thí nghiệm gắp thả tự

động các hạt microsphere có kích thước khác nhau được thực hiện. Trong thí nghiệm này, microhand được đặt cách hạt microsphere ở khoảng cách $100 \mu\text{m}$. Do thí nghiệm gắp thả được thực hiện để khảo sát tính khả thi của giải thuật nên hạt microsphere được thả ngay trong trường quan sát. Vì vậy trong trường quan sát này, chỉ có một vài hạt microsphere được giữ lại. Thí nghiệm được thực hiện trên một hạt microsphere phù hợp với khoảng cách từ đối tượng đến microhand đã định trước (Hình 10a).

Vị trí 3D của hai microfingert và microsphere được tìm bằng giải thuật đã mô tả ở trên. Tuy nhiên, việc thiết lập thí nghiệm với điều kiện đầu là hai microfingert có cùng tọa độ z rất khó nên quá trình căn chỉnh vị trí z của microfingert được thực hiện tự động. Sau đó,

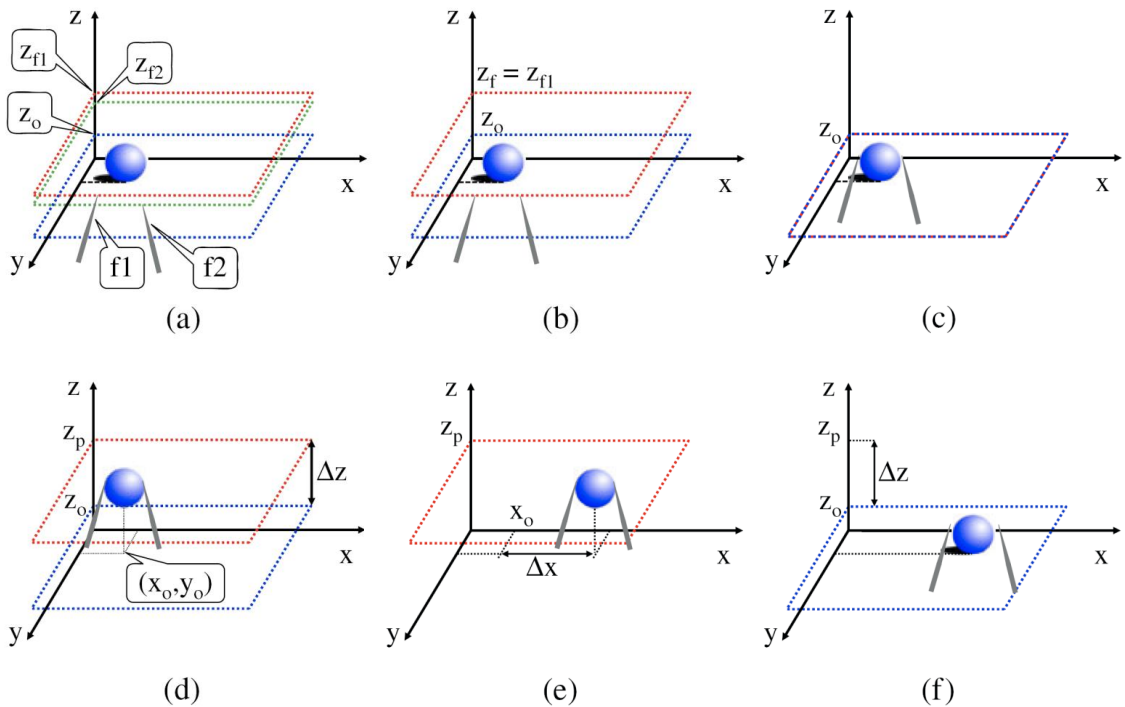
chu kỳ gấp thả một hạt microsphere diễn ra như sau:

- Bước 1: Mở rộng hai microfingert để khoảng cách của chúng lớn hơn đường kính của hạt microsphere khoảng $5 \mu\text{m}$. Điều khiển microhand tiếp cận hạt microsphere. Sau khi thực hiện xong bước 1, hạt microsphere sẽ ở giữa hai microfingert chuẩn bị cho thao tác tiếp theo. (Hình 10c).
- Bước 2: Hạt microsphere được kẹp giữa hai microfingert bằng cách điều khiển microfingert bên phải một khoảng

cách $\Delta x = -10 \mu\text{m}$ để microsphere được giữ chặt giữa hai microfingert. Hạt microsphere sau đó được gấp lên khoảng cách Δz gần bằng kích thước hạt microsphere. (Hình 10d).

- Step 3: Hạt microsphere được vận chuyển một khoảng $\Delta x = 100 \mu\text{m}$ tính từ vị trí ban đầu (Hình 10e).

- Step 4: Hạt microsphere được đặt xuống vị trí mong muốn và microfingert bên phải được dịch sang phải để thả hạt microsphere (Hình 10f).



Hình 10: (a) Setup thí nghiệm. (b) Cân chỉnh vị trí z của hai microfingert. Chu kỳ gấp-thả vật thể: (c) Tiếp cận (d) gấp, (e) vận chuyển, (f) đặt vật thể tại vị trí mong muốn

Bảng 3: Kết quả gấp-thả tự động các hạt microsphere với các kích cỡ khác nhau

Loại microsphere	$\phi 96 \mu\text{m}$	$\phi 55 \mu\text{m}$	$\phi 20 \mu\text{m}$
Tỉ lệ thành công	90%	80%	74%

Kết quả gấp-thả các hạt microsphere với nhiều kích thước khác nhau với 20 phép thử được liệt kê ở Bảng 3. Tỉ lệ thành công giảm đối với các microsphere có kích thước nhỏ hơn. Điều này cho thấy độ phân giải của hệ

AIF có thể không phù hợp đối với hạt microsphere kích thước nhỏ. Thí nghiệm được thực hiện với độ phân giải cố định khi ấn định thông số $SWING=80 \mu\text{m}$ ngay từ đầu để đạt được độ phân giải phù hợp đối với các loại vật thể có kích thước khác nhau trong khoảng từ $10 \mu\text{m}$ đến $100 \mu\text{m}$. Tuy nhiên, độ phân giải của hệ thống cần được cải tiến qua việc điều chỉnh thông số $SWING$ để tăng độ chính xác

khi định vị các vật thể có kích thước nhỏ hơn. Ngoài ra, rung động do piezo actuator gây ra khi dịch chuyển vật kính một khoảng dài ($SWING=80\ \mu\text{m}$) lớn nên có thể có ảnh hưởng lớn hơn đối với các hạt microsphere có kích thước nhỏ hơn. Việc thả hạt microsphere có kích thước nhỏ cách thụ động đôi khi khó thực hiện do hạt microsphere dễ dàng bị dính vào đầu của microfingher. Điều này cũng làm giảm khả năng gắp thả thành công hạt microsphere có kích thước nhỏ hơn.

Thời gian trung bình cần thiết để xác định vị trí của đối tượng và microhand lần lượt là 28 ms và 340 ms. Tuy hệ thống chưa đáp ứng được thời gian thực nhưng việc xác định vị trí của đối tượng và microhand chỉ thực hiện một lần và đủ nhanh trước khi bắt đầu một chu kỳ gắp thả. Do microhand dịch chuyển với tốc độ $100\ \mu\text{m/s}$ và được đặt cách đối tượng cần thao tác khoảng $100\ \mu\text{m}$, thời gian cần thiết để gắp đối tượng chỉ mất khoảng 1.5 s, nhanh gần gấp đôi so với việc sử dụng micropipette (Lu *et al.*, 2010).

Cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào tương tự về việc định vị cả đối tượng và cơ cấu chấp hành để gắp thả trực tiếp các đối tượng tế bào riêng lẻ đa kích thước một cách tự động. Việc gắp thả các tế bào thông thường được thực hiện bằng micropipette với đường kính đầu hút phù hợp để hút hay giữ các vật thể có kích thước mong muốn xác định. Vì vậy, vị trí các tế bào có thể ước lượng được một cách tương đối và việc định vị micropipette chỉ cần thực hiện một lần (Wang *et al.*, 2007). Tuy nhiên, việc sử dụng micropipette gặp khó khăn trong các ứng dụng đòi hỏi phải thao tác nhiều đối tượng là tế bào có kích thước khác nhau.

5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Bài viết này giới thiệu hệ thống AIF được sử dụng hiệu quả trong việc quan sát các vật thể vi mô theo cách thức toàn thể vật quan sát đều được rõ nét. Giải thuật AIF cũng cung cấp thông tin chiều sâu của vật thể qua đó việc tích hợp hệ AIF với cơ cấu chấp hành vi mô có thể giúp tự động hóa khâu thao tác tự động các vi vật thể như các đơn bào, vi sinh vật.

Bài viết đã đề xuất giải thuật tìm vị trí 3D của vật thể cần thao tác và điểm đầu cuối của cơ cấu chấp hành (end-effector). Vật thể cần thao tác là hạt microsphere vì hạt microsphere trong suốt và hình dạng của chúng giống các đơn bào. End-effector là hai microfingher của một cơ cấu gắp thả microhand.

Thí nghiệm gắp thả bằng microhand với các hạt microsphere có kích thước khác nhau đã được thực hiện để chứng minh tính khả thi của giải thuật đề xuất. Tỷ lệ gắp thả thành công các hạt microsphere nhỏ hơn với các hạt microsphere nhỏ. Việc hồi tiếp kích thước của hạt microsphere được nhận dạng để tinh chỉnh thông số $SWING$ của hệ AIF sẽ cải thiện được độ phân giải của hệ AIF từ đó cải thiện độ chính xác khi định vị các vật thể nhỏ hơn và tăng tỷ lệ thao tác thành công vì hệ AIF hiện tại chưa có chức năng này. Hơn nữa, việc điều chỉnh này cũng giúp làm giảm thiểu rung động của hệ vì vật kính chỉ được dịch chuyển một khoảng nhỏ hơn khi đối tượng thao tác có kích thước nhỏ hơn.

Giải thuật Contour Depth Averaging có thể được áp dụng cho nhiều loại tế bào hay vi sinh vật có hình dạng khối cầu. Giải thuật *Line-Type Pattern Matching* cũng có thể ứng dụng cho micropipette vì chúng có hình dạng và cách chế tạo giống microfingher. Với việc tích hợp hệ AIF và áp dụng các giải thuật vừa đề xuất, vị trí 3D của đối tượng cần thao tác và của end-effector có thể được tính toán cho việc tự động hóa các khâu điều khiển, thao tác các vi vật thể như các đơn bào, vi sinh vật trong khi quan sát chúng được rõ nét, góp phần cho sự phát triển của nghiên cứu y sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Avci E, Ohara K, Takubo T, Mae Y, Arai T (2009) A new multi-scale micromanipulation system with dexterous motion, In: *Int symp micro-nanomechatronics human science*, pp. 444–449.
2. Groen FC, Young IT, Ligthart G (1985) A Comparison of Different Focus Functions for Use in Autofocus Algorithms, *Cytometry*, vol. 6, no. 2, pp. 81–91, 1985.

3. Inoue K, Nishi D, Takubo T, Arai T (2006) Measurement of mechanical properties of living cells using micro fingers and AFM cantilever, In: *Int symp micro-nanomechatronics human science*, pp. 1–6.
4. Inoue K, Tanikawa T, Arai T (2008) Micro-manipulation system with a two-fingered micro-hand and its potential application in bioscience, *J Biotechnol*, vol. 133, no. 2, pp. 219–224.
5. Kawakami D, Ohara K, Takubo T, Mae Y, Ichikawa A, Tanikawa T, Arai T (2010) Cell stiffness measurement using two-fingered microhand, *ROBIO*, pp. 1019–1024.
6. Wang WH, Liu XY, and Sun Y (2007) Contact Detection in Microrobotic Manipulation, *The International Journal of Robotics Research*, vol. 26, pp. 821-828.
7. Lu Z, Moraes C, Zhao Y, You LD, Simmons CA, and Sun Y (2010) A micromanipulation system for single cell deposition, *ICRA*, pp. 494-499.
8. Mateos-Pérez JM, Redondo R, Nava R, Valdiviezo JC, Cristóbal G, Escalante-Ramírez B, Ruiz-Serrano MJ, Pascau J, and Desco M (2012) Comparative Evaluation of Autofocus Algorithms for a Real-Time System for Automatic Detection of Mycobacterium Tuberculosis, *Cytometry*, vol. 81A, no. 3, pp. 213–221.
9. Ohba K, Ortega C, Tanie K, Rin G, Dangi R, Takei Y, Kaneko T, and Kawahara N (2000) Real-Time Micro Observation Technique for Tele-Micro-Operation, in *IROS*, vol. 1, pp. 647–652.
10. Ohba K, Ortega JCP, Tanie K, Tsuji M, Yamada S (2003) Microscopic vision system with All-In-Focus and depth images, *Mach Vis Appl*, vol. 15, no. 2, pp. 55–62.
11. Ohara K, Ohba K, Tanikawa T, Hiraki M, Wakatsuki S, and Mizukawa M (2004) Hands Free Micro Operation for Protein Crystal Analysis, in *IROS*, vol. 2, pp. 1728–1733.
12. O’Gorman F, Clowes MB (1973) Finding picture edges through collinearity of feature points, In: *Proc 3rd int joint conf artif intell*, pp 543–555.
13. Sun Y, Duthaler S, Nelson BJ (2004) Autofocusing in Computer microscopy: Selecting the Optimal Focus Algorithm, *Microscopy Research and Technique*, vol. 65, no. 3, pp. 139–149.