

Investigación de microfluidos con cámaras de alta velocidad

Nicholas Long, Director de OEM, Vision Research

La investigación de microfluidos es un área en creciente desarrollo que implica la manipulación y el estudio de pequeñas cantidades de líquido, encerrado a menudo en canales (o vasos vivos) de apenas unas decenas de micras de anchura. Aunque el estudio de los microfluidos es un área de investigación científica relativamente nueva, sus aplicaciones conocen una rápida expansión.

Por ejemplo, los microfluidos son la tecnología clave para poder usar dispositivos lab-on-a-chip (el laboratorio en un chip) para el diagnóstico en el punto de cuidado y para la investigación biológica, y permiten también el desarrollo de nuevos diseños de células de combustible. Los avances en el estudio de los microfluidos también posibilitarán la sustitución de los grandes instrumentos de laboratorio o los reactores por dispositivos pequeños que requieren pequeñas cantidades de productos químicos y que realizan los análisis o procesos con más rapidez.

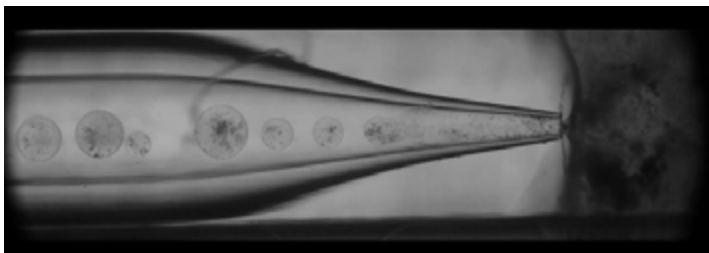
Cuando se trabaja con fluidos a escalas tan pequeñas, los efectos de las fuerzas capilares, la aspereza de las superficies y las interacciones químicas entre el líquido y el dispositivo desempeñan una función importante. El plazo de ejecución de los eventos también disminuye y su gran velocidad impide analizarlos con las cámaras convencionales. Por consiguiente, las cámaras de alta velocidad ayudan a los científicos y a los ingenieros a comprender las complejidades de la dinámica de fluidos a escala microscópica.

Normalmente, los procesos o experimentos con microfluidos requieren cámaras con velocidades de 3.000 a 25.000 fotogramas por segundo (fps), pero para algunos es mejor disponer de cámaras con velocidades de más de 200.000 fps. Los flujos a menudo muestran una dirección o movimiento específica, especialmente en los canales o vasos, por lo que en muchas situaciones estos podrían capturarse en una imagen con relación de aspecto alargada. Esta relación de aspecto permite disponer de bajas resoluciones y mayores velocidades de cámara, con los sensores CMOS que se utilizan en las cámaras de vídeo de alta velocidad.

Dada la continua expansión de las aplicaciones para microfluidos, el análisis preciso de la dinámica de los fluidos a escala microscópica, y sus rápidos cambios, adquiere cada vez más importancia.

Investigación avanzada de microfluidos utilizando cámaras de alta velocidad

Figura 1: Experimento con microfluidos capturado a 10.000 fps



La figura 1 muestra un ejemplo de un estudio de microfluidos, en el cual se mezclaron dos fluidos diferentes y se estudiaron las gotas que se formaron. La imagen proviene de una secuencia capturada a 10.000 fps con una exposición de 20 microsegundos, utilizando una cámara monocromática de alta velocidad Phantom Miro LC310 y un microscopio Leica.

LAS IMÁGENES DE CALIDAD PERMITEN OBTENER DATOS DE CALIDAD.

La mayoría de los investigadores no se contenta con el simple registro de imágenes de dinámica de fluidos y desea extraer de sus imágenes valiosos datos cuantitativos. Además de utilizar la configuración óptica y las condiciones de iluminación adecuadas, la elección de la cámara correcta es un factor clave para obtener imágenes de calidad y obtener de ellas los consiguientes datos de calidad.

Dado que las imágenes de microfluidos normalmente se capturan con un microscopio, a menudo se prefiere una cámara pequeña y ligera. Dicha cámara debe ser también rápida y sensible a la luz, y debe producir imágenes de alta calidad con poco ruido. La zona de interés es de tamaño muy reducido por lo que para iluminar el objeto de estudio es habitual añadir iluminación únicamente desde la parte inferior del microscopio. El uso de una cámara de gran sensibilidad es importante para capturar incluso los detalles más oscuros, y es importante contar con un rango dinámico alto para distinguir adecuadamente dichos detalles. La mayoría de las cámaras de alta velocidad indica los valores de ISO para identificar la sensibilidad a la luz; sin embargo, a veces resulta difícil comparar los valores ISO de una y otra cámara. Aunque es posible utilizar diferentes

ajustes de cámara para aumentar la sensibilidad, el usuario debe saber que una mayor sensibilidad puede traer como desventaja un menor rango dinámico, una menor calidad de imagen y mayor cantidad de ruido visible. Si es posible, los usuarios deben probar los resultados de la cámara en su aplicación. Una vez que se captura un evento, muchas cámaras de alta velocidad tienen capacidades de posprocesamiento (utilizando software) que permiten a los usuarios optimizar la imagen.

Si se desea extraer datos precisos también es esencial disponer de imágenes con muy poco ruido, que se podrán utilizar para calcular la velocidad o la dirección, o para ver patrones generales.

Otro elemento crucial es la velocidad de la cámara, ya que las dinámicas de flujo y los elementos transitorios, como los vórtices, evolucionan mucho más rápido a escala microscópica que a mayor escala. La captura de estos elementos que cambian tan rápido requiere un enfoque con resolución de tiempo que adquiera las imágenes cada milisegundo o cada pocos microsegundos. Para observar patrones de cambio rápido o velocidades de partícula variables es necesario detectar ligeros cambios de un fotograma a otro.

Como consecuencia, la adquisición de imágenes de microfluidos a alta velocidad genera cantidades masivas de datos (gigabytes o terabytes) en un tiempo muy breve. Esto confiere extrema importancia al flujo de imágenes, a la sincronización con dispositivos y software adicionales y a la integración global del sistema. Una cámara que funciona sin dificultades con los dispositivos de sincronización y adquisición, así como con el software de análisis de imágenes, permitirá al usuario gestionar fácilmente la secuencia de captura de imágenes y de datos. Cuando colaboran las empresas de producción de cámaras y las de software pueden combinar de manera eficiente las últimas tecnologías de cámaras, electrónica y procesamiento de imágenes, para que los científicos no tengan que pasar meses analizando la cantidad masiva de datos obtenidos.

La velocidad de la gestión de datos en todo el sistema de procesamiento de imágenes (microscopio o lente, iluminación, cámara, software, transmisión de datos y ordenador de almacenamiento y procesamiento de datos) es importante para el análisis. La memoria flash y el almacenamiento ultrarrápido, como la capacidad CFast, son soluciones de

Estudio de gotas en microfluidos

El ámbito del estudio de microfluidos incluye también el estudio de gotas individuales en lugar de un flujo de líquido continuo. Normalmente las microgotas se generan y se mueven a través de microcanales, en los cuales se pueden mezclar y ordenar para conducir reacciones químicas y ensayos biológicos a escala microscópica. Las microgotas se pueden usar también para la ingeniería biomédica y la producción de alimentos.

Cuando se estudian las microgotas, cada una se puede tratar como una partícula desde la perspectiva de un procesamiento de imágenes, lo cual permite el análisis de su formación y movimiento utilizando la Velocimetría de rastreo de partículas (PTV) o la Velocimetría de imágenes de partículas (PIV). En el caso de algunas aplicaciones, es más importante la naturaleza de la propia gota (por ejemplo su tamaño

y forma). En este tipo de análisis, se utilizan métodos y procesamientos de imágenes clásicos con el fin de determinar los límites y contornos de la gota y observar los cambios de estos con el paso del tiempo.

Recientemente un equipo de investigadores ha descrito cómo pasan de goteo a chorro las gotas de fluidos no newtonianos bajo diversas condiciones de flujo en un microsistema multifásico newtoniano/

pseudoplástico¹. Su objetivo era entender mejor las condiciones que conducían a la formación de gotas satélite en fluidos no newtonianos, entre los que se incluyen lociones, cremas, champús y pasta dental. Utilizaron para este estudio una cámara

Vision Research Phantom v9.1 de alta velocidad, conectada a un microscopio invertido para capturar imágenes del flujo de gotas a través de un capilar. Las imágenes capturaron los efectos de regímenes de flujo de goteo, intermedios y de chorro y otros parámetros experimentales para identificar y medir la formación, el tamaño y la forma de las gotas iniciales y las gotas satélite. Compararon los resultados medidos con simulaciones empíricas. Sus resultados podrían ayudar a inspirar nuevos enfoques para el control del tamaño y la forma de las gotas funcionales en aplicaciones que requieren el uso de fluidos no newtonianos.

Referencia

¹ Ren Y, Liu Z, Shum HC. 2015. Breakup dynamics and dripping-to-jetting transition in a Newtonian/shear-thinning multiphasemicrosystem. *Lab Chip*. 15(1):121-34.

Investigación avanzada de microfluidos utilizando cámaras de alta velocidad

almacenamiento internas de la cámara que guardan los datos rápidamente y los protegen. La compatibilidad con el estándar 10G Ethernet puede tener también un efecto importante para mejorar la velocidad de transferencia de los datos.

ANÁLISIS DE FLUIDOS A PEQUEÑA ESCALA

Si el objetivo es examinar los movimientos de una aplicación en la que haya vórtices o movimientos complejos dentro de un líquido o mezcla, si es necesario pueden introducirse pequeñas partículas del líquido o mezcla para visualizar el flujo fácilmente (siembra) además de utilizar una iluminación específica y una captura de imágenes de alta velocidad. Si se utiliza esta técnica, hay que tener en cuenta el peso y la flotabilidad de las partículas para evitar que afecten al propio flujo. Esta técnica de análisis, denominada velocimetría por imágenes de partículas (PIV), examina cómo evoluciona el patrón creado por múltiples partículas en el líquido, y crea un mapa de las velocidades y direcciones del flujo en las distintas ubicaciones. La ventaja de esta técnica es que crea el mapa mediante la captura de imágenes en lugar de utilizar mediciones intrusivas que podrían afectar al experimento.

Es corriente que los flujos extremadamente rápidos que se analizan con este sistema necesiten la sincronización exacta de la iluminación adicional (luz pulsada y enfocada LED o láser) con la adquisición de imágenes de alta velocidad. En la figura 2, a continuación, se muestra una técnica de obtención de imágenes de alta velocidad muy útil. Consiste en desactivar el obturador electrónico de la cámara mientras se ajusta el tiempo de exposición al valor máximo, lo cual reduce el tiempo entre fotografías o "tiempo entre tramas" a unos pocos cientos de nanosegundos. El láser dispara un breve pulso al final de la exposición del fotograma inicial y otro al comienzo de la exposición del segundo fotograma y es así como mide el desplazamiento de las partículas.

Para facilitar esta sincronización, algunas cámaras vienen equipadas con funciones de sincronización especializadas adecuadas para este tipo de técnicas. Los integradores para PIV también aportan capacidad de sincronización, así como avanzados algoritmos de rastreo y medición.

EJEMPLO UTILIZANDO OMBROSCOPIA

La ombroscopia es una técnica que se puede utilizar para obtener imágenes de la

Vídeo 3a y 3b

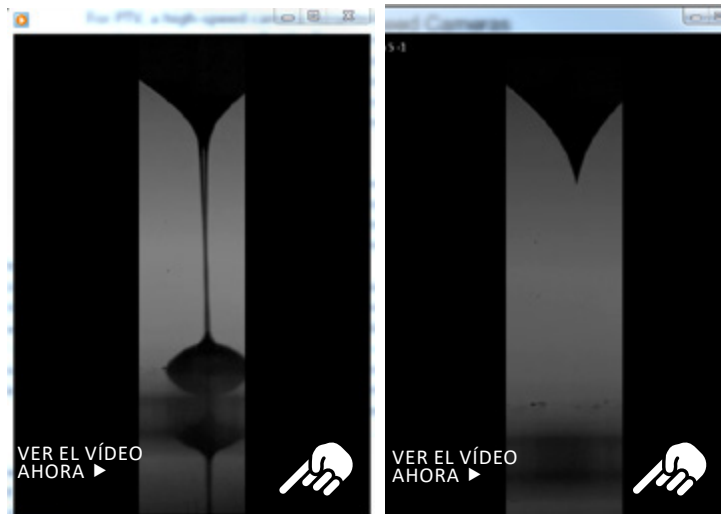
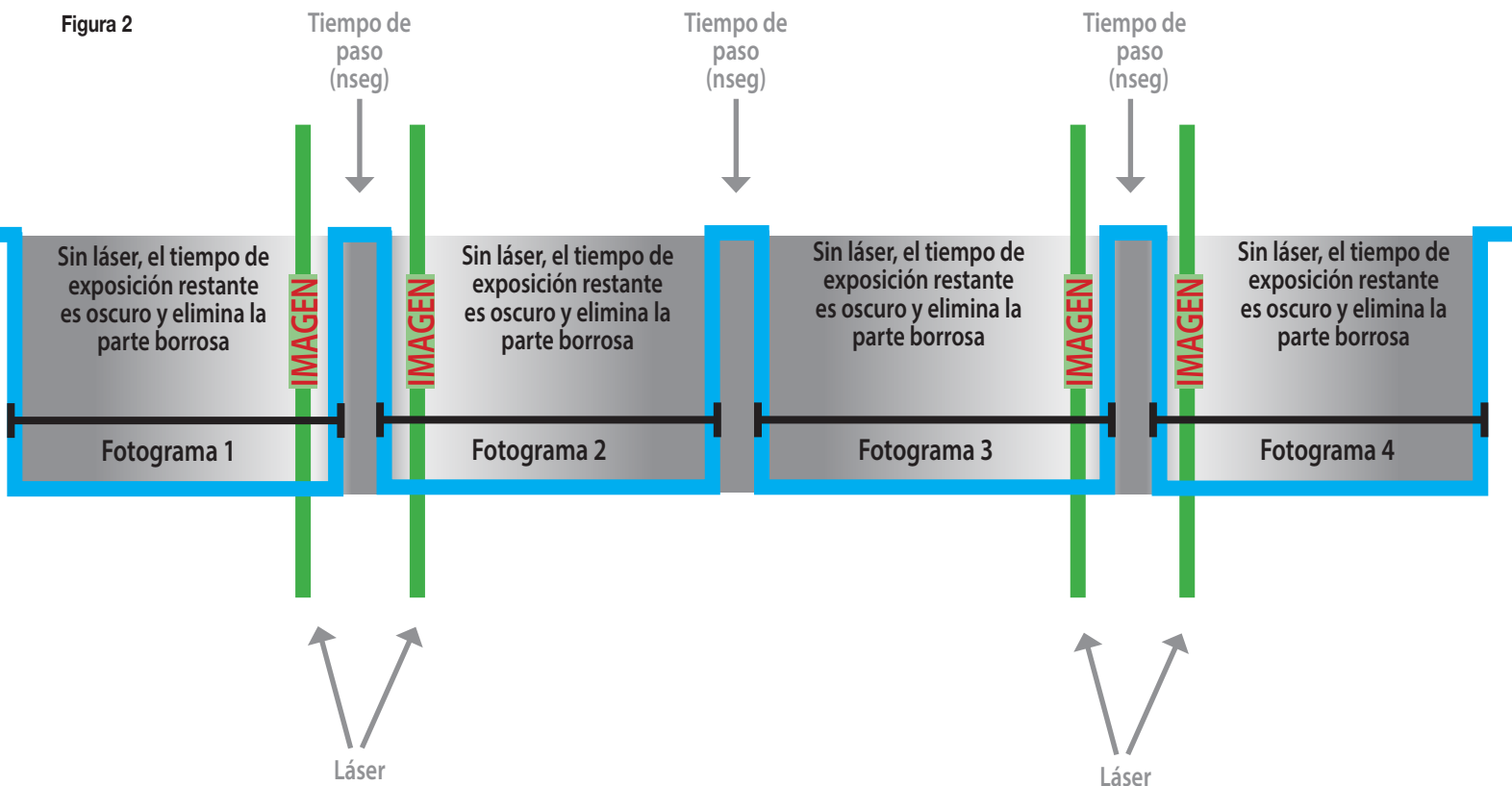


Figura 2



Investigación avanzada de microfluidos utilizando cámaras de alta velocidad

formación de gotas y del comportamiento de los fluidos, y se puede aplicar también a muchas de las situaciones de investigación analizadas en este artículo. En los ejemplos que se muestran en los vídeos 3a y 3b, la luz se colimó en la región de interés (p. ej., una gota en reposo), con la cámara enfocada en el objeto. Esta técnica de ombroscoopia produjo imágenes de fondo gris con gotas negras, y destacó la gran perturbación del campo de densidad de fluido que rodea la gota. La configuración de ombroscoopia utilizada en este ejemplo se muestra en la figura 4.¹

Aquí la fuente de luz es una serie de lámparas LED Superlum que genera una incidencia luminosa de 10^4 lux a 40 cm después de la colimación. Una gota de muestra de $0,5 \mu\text{l}$ se deposita en una "plancha de silicona" para optimizar la tensión superficial. Se acopla un objetivo macro (Canon macro MP-E 65mm f/2.8) a la cámara de alta velocidad (Phantom V1610), con un aumento máximo de 5x que se obtiene a una distancia de trabajo de 41 mm. La velocidad de adquisición es de 210.000 fps, con una resolución de 512×112 píxeles. El alto flujo luminoso permite obtener estas velocidades de fotograma porque el tiempo de exposición es solo de $1 \mu\text{s}$. Además, este corto tiempo de exposición congela de manera precisa la imagen de las partículas que se desplazan en la región de interés ($2,867 \times 0,627$ mm).

VELOCIMETRÍA DE SEGUIMIENTO DE PARTÍCULAS

Para el análisis del flujo y las características de los fluidos en los canales de microfluidos, son muchos los científicos que están adaptando también los métodos que se han utilizado tradicionalmente a mayor escala. Uno de estos métodos, llamado velocimetría de seguimiento de partículas (PTV), implica el seguimiento individual del movimiento de algunas partículas (a diferencia de la velocimetría por imágenes de partículas) en un flujo. Estas podrían ser partículas sólidas reales, gotas, burbujas o pequeñas células que están presentes en el flujo de manera natural, o podrían introducirse a propósito ("siembra").

Para la PTV, se utiliza normalmente una cámara de alta velocidad acoplada a un microscopio para obtener la imagen de un flujo de microfluidos que contiene partículas. A diferencia de los procesos de velocimetría por imágenes de partículas (PIV), que requieren un software de seguimiento especializado, la PTV a menudo se beneficia de los algoritmos de

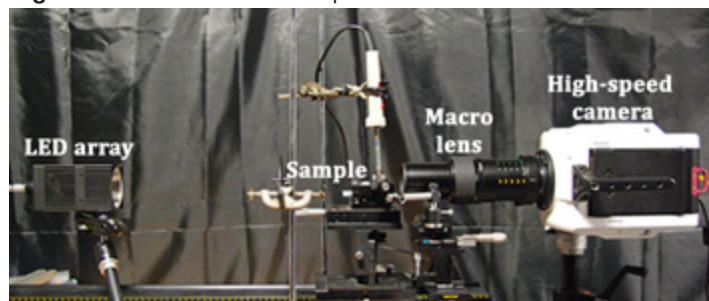
seguimiento y medición automáticos que se encuentran en los software de control estándar que vienen con las cámaras de alta velocidad. Las mediciones comunes que se aplican a las imágenes incluyen la distancia, el ángulo y la velocidad y aceleración lineal y angular.

Si es necesario, los integradores pueden ofrecer algoritmos más sofisticados para desarrollar representaciones de trayectorias en 2-D y 3-D que muestren la dirección y velocidad de cada partícula, así como su evolución durante la grabación.

CONCLUSIÓN

Con la expansión diaria de las aplicaciones del estudio de los microfluidos a la vida real y la aparición de los dispositivos para microfluidos en nuestra vida cotidiana, el análisis preciso de las dinámicas de fluidos a escala microscópica, y sus rápidos cambios, se está convirtiendo en un desafío estratégico para la I+D en distintos campos. Los métodos de medición que se mencionan en este artículo utilizan como fuente principal datos de imagen. La adquisición de dichos datos requiere una cámara de alta velocidad que produzca imágenes con poco ruido y que se integre fácilmente con el software de análisis de imágenes. Con resultados de alta calidad, los científicos podrán comprender mejor la dinámica de los fluidos a escala microscópica y usar ese conocimiento para desarrollar nuevas y mejores tecnologías. •

Figura 4: instalación de ombroscoopia directa de alta velocidad



Referencia

1. O. Gennari, L. Battista, B. Silva, S. Grilli, L. Miccio, V. Vespini, S. Coppola, P. Orlando, L. Aprin, P. Slangen y P. Ferraro, *Investigation on cone jetting regimes of liquid droplets subjected to pyroelectric fields induced by laser blasts*, *Appl. Phys. Lett.* 106, 054103, 2015; <http://dx.doi.org/10.1063/1.4907005>.

ACERCA DE VISION RESEARCH

Vision Research diseña y fabrica cámaras digitales de alta velocidad que ofrecen la combinación de sensibilidad a la luz, resolución de imagen, velocidad de la adquisición y calidad de imagen necesaria para analizar la dinámica de los fluidos y sus rápidos cambios, a escala microscópica. Vision Research es una unidad de negocio de la División de análisis de materiales de AMETEK, Inc.

Vision Research ofrece la más amplia gama de cámaras para satisfacer las necesidades de la industria. Dicha gama incluye la versátil familia Phantom Miro, la serie v y la serie de cámaras ultrarrápidas de gran potencia. La línea Phantom Miro son cámaras pequeñas y robustas de alta velocidad con sensores CMOS de 1, 2 o 4 megapíxeles que se pueden montar fácilmente en microscopios para analizar microfluidos. La serie Phantom Miro Lab está diseñada específicamente para aplicaciones de laboratorio donde los archivos de imágenes de alta velocidad se guardan de forma inmediata en un ordenador para su visualización y análisis. La serie Phantom UHS ofrece hasta 25 Gpx/segundo y una sensibilidad extraordinaria; es ideal para aplicaciones que requieren el máximo rendimiento.

Todas las cámaras Phantom incluyen software y hardware compatible con equipos de integradores externos, lo que facilita la fusión de varios tipos de fuentes y señales, entre las que se incluyen las señales de sondas, microcorrientes y corrientes de excitación. Estos sistemas pueden correlacionar los estímulos entre corrientes electromagnéticas con los resultados y proporcionar imágenes con indicación de hora y valores analógicos típicos.

VISION
RESEARCH

AMETEK®
MATERIALS ANALYSIS DIVISION

