VILNIAUS GEDIMINO TECHNIKOS UNIVERSITETAS
MECHANIKOS FAKULTETAS
MECHATRONIKOS, ROBOTIKOS IR SKAITMENINĖS GAMYBOS KATEDRA

Mantas Maurius

MIKROGRIEBTUVO KŪRIMAS IR TYRIMAS

DEVELOPMENT AND RESEARCH OF MICROGRIPPER

Baigiamasis magistro darbas

Mechatroninių sistemų studijų programa, valstybinis kodas 6211EX053
Gamybos inžinerijos studijų kryptis

Vilnius, 2024

VILNIAUS GEDIMINO TECHNIKOS UNIVERSITETAS
MECHANIKOS FAKULTETAS
MECHATRONIKOS, ROBOTIKOS IR SKAITMENINĖS GAMYBOS KATEDRA

TVIRTINU
Katedros vedėjas

_____
(Parašas)

_____
(Vardas, pavardė)

_____
(Data)

Mantas Maurius

MIKROGRIEBTUVO KŪRIMAS IR TYRIMAS

DEVELOPMENT AND RESEARCH OF MICROGRIPPER

Baigiamasis magistro darbas

Mechatroninių sistemų studijų programa, valstybinis kodas 6211EX053
Gamybos inžinerijos studijų kryptis

Vadovas: _____ _____ _____
(Pedag. vardas, vardas, pavardė) (Parašas) (Data)

Lietuvių kalbos konsultantė: _____ _____ _____
(Pedag. vardas, vardas, pavardė) (Parašas) (Data)

Vilnius, 2024

VILNIAUS GEDIMINO TECHNIKOS UNIVERSITETAS
MECHANIKOS FAKULTETAS
MECHATRONIKOS, ROBOTIKOS IR SKAITMENINĖS GAMYBOS KATEDRA

Studijų kryptis: Gamybos inžinerija
Studijų programa: Mechatroninės sistemos , valstybinis kodas 6211EX053
Specializacija: Mechatroninės sistemos

TVIRTINU
Katedros vedėjas
Vytautas Bučinskas
2024-05-21

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO UŽDUOTIS

Nr. MSfm-22–8284

Vilnius

Studentas (-ė): Mantas Maurius

Baigiamojo darbo tema: Mikrogriebtuvo kūrimas ir tyrimas

Baigiamojo darbo užbaigimo terminas pagal numatytą studijų kalendorinį grafiką.

BAIGIAMOJO DARBO UŽDUOTIS:

Duomenys: Objekto dydis: 5...10 mikrometrų, ląstelių paėmimo įrenginys - siurbtuvas, naudojama programinė įranga - LabView, valdomasis įrenginys - universali pozicionieriaus platforma

Aiškinamasis raštas:
1. Baigiamojo darbo tema atlikti mokslinės literatūros apžvalgą bei analizę.
2. Atlikti mikropozicionieriaus techninių savybių analizę.
3. Sudaryti mielių tirpalo paruošimo ir perkėlimo metodiką bei atlikti perkėlimo bandymą.
4. Sudaryti mielių tirpalo perkėlimo valdymo programą.
5. Pateikti atliktų bandymų rezultatų analizę, išvadas ir rekomendacijas.

Konsultantas: Andrius Dzedzickis

Vadovas profesorius Vytautas Bučinskas

VILNIAUS GEDIMINO TECHNIKOS UNIVERSITETAS

	Mantas Maurius, 20173696	
	(Studento vardas ir pavardė, studento pažymėjimo Nr.)	
	Mechanikos fakultetas	
	(Fakultetas)	
	Mechatroninės sistemos, MSfm-22	
	(Studijų programa, akademinė grupė)	

BAIGIAMOJO DARBO (PROJEKTO)

SĄŽININGUMO DEKLARACIJA

2024 m. gegužės 20 d.

Patvirtinu, kad mano baigiamasis darbas tema „Mikrogriebtuvo kūrimas ir tyrimas“ yra savarankiškai parašytas. Šiame darbe pateikta medžiaga nėra plagijuota. Tiesiogiai ar netiesiogiai panaudotos kitų šaltinių citatos pažymėtos literatūros nuorodose.

Parenkant ir įvertinant medžiagą bei rengiant baigiamąjį darbą, mane konsultavo mokslininkai ir specialistai: profesorius daktaras Vytautas Bučinskas. Mano darbo vadovas profesorius daktaras Vytautas Bučinskas.

Kitų asmenų indėlio į parengtą baigiamąjį darbą nėra. Jokių įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs (-usi).

			Mantas Maurius
	(Parašas)		(Vardas ir pavardė)

Vilniaus Gedimino technikos universitetas
Mechanikos fakultetas
Mechatronikos, robotikos ir skaitmeninės gamybos katedra

ISBN | ISSN
Egz. sk. .....
Data .....-.....-.....

Antrosios pakopos studijų **Mechatroninių sistemų** programos magistro baigiamasis darbas 4

Pavadinimas	**Mikrogriebtuvo kūrimas ir tyrimas**
Autorius	**Mantas Maurius**
Vadovas	**Vytautas Bučinskas**

Kalba: lietuvių

Anotacija

Baigiamajame magistro darbe nagrinėjamos mikropozicionavimo įrenginiu manipuliuojamo vakuuminio mikrogriebtuvo biologinių dalelių sugriebimo galimybės. Darbe atlikta analogiškų įrenginių mokslinės literatūros apžvalga. Išanalizuotos mikropozicionavimo įrenginio techninės savybės bei jų svarba. Sudaryta mielių tirpalo paruošimo metodika ir atliktas tyrimas. Paruošta mielių tirpalo sugriebimo ir perkėlimo metodika bei įvykdyti eksperimentiniai tyrimai. Sukurta eksperimentams atlikti naudojama programinė įranga. Remiantis atlikta literatūros apžvalga ir tyrimais, pateiktos darbo išvados ir rekomandacijos.

Darbą sudaro: įvadas, literatūros apžvalga, eksperimentiniai tyrimai, išvados ir rekomandacijos, literatūros sąrašas.

Darbo apimtis – 59 p. teksto be priedų, 38 iliustracijos, 2 lentelės, 32 bibliografiniai šaltiniai.

Prasminiai žodžiai: mikropozicionavimo įrenginys, vakuuminis mikrogriebtuvas, biologinės dalelės, ląstelių manipuliavimas, robotinė sistema.

Vilnius Gediminas Technical University
Faculty of Mechanics
Department of Mechatronics, Robotics and Digital Manufacturing

ISBN | ISSN
Copies No. .....
Date .....-.....-.....

Master Degree Studies **Mechatronics Systems** study programme Master Graduation Thesis 4

Title	**Development and research of microgripper**
Author	**Mantas Maurius**
Academic supervisor	**Vytautas Bučinskas**

Thesis language: Lithuanian

Annotation

This master's thesis examines the possibilities of capturing biological particles with a vacuum microgripper manipulated by micropositioner. The work includes a review of the scientific literature on similar devices. The technical characteristics of micropositioner and their importance are analized. The methodology for the preparation of the yeast solution was drawn up and the study was carried out. The methodology of capturing and transfering the yeast solution has been prepared and experimental studies have been carried out. The software used to perform the experiments was developed. Based on literature review and research, the conclustions and recommendations of the work are presented.

The work consists of: introduction, literature review, experimental studies, conclustions and recommendations, bibliography.

The volume of work – 59 p. text without appendices, 38 illustrations, 2 tables, 32 bibliographic sources.

Keywords: micropositioner, vacuum microgripper, biological particles, cell manipulation, robotic system.

Turinys

PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS 8

LENTELIŲ SĄRAŠAS 9

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS 9

ĮVADAS 10

1. LITERATŪROS APŽVALGA 11

1.1. Elektrostatiniai mikrogriebtuvai 11

1.2. Elektroterminiai ir atmeniųjų lydinių mikrogriebtuvai 12

1.3. Elektromagnetiniai mikrogriebtuvai 14

1.4. Pjezoelektriniai mikrogriebtuvai 15

1.5. Vakuuminiai ir pneumatiniai mikrogriebtuvai 17

1.6. Mokslinės literatūros apibendrinimas 21

2. EKSPERIMENTINIAI TYRIMAI 22

2.1. Mikropozicionavimo įrenginio techninių savybių analizė 23

2.2. Atstumo tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo nustatymas 32

2.3. Mielių tirpalo paruošimo metodika ir tyrimas 36

2.4. Mielių tirpalo sugriebimo ir perkėlimo metodika bei bandymas 38

IŠVADOS 56

LITERATŪROS SĄRAŠAS 57

PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS

1.1 pav. Elektrostatiniai mikrogriebtuvai ... 12
1.2 pav. Mikrogriebtuvas su elektrotermine pavara ... 13
1.3 pav. Atmeniųjų lydinių mikrogriebtuvas ... 14
1.4 pav. Elektromagnetinis mikrogriebtuvas ... 14
1.5 pav. Mikrogriebuvas su pjezoelektrine pavara ... 16
1.6 pav. Keturių laisvės laipsnių pjezoelektrinis mikrogriebtuvas ... 16
1.7 pav. Klasikinio vakuuminio mikrogriebtuvo veikimo principas ... 17
1.8 pav. Mikropipetė su pjezoelektrine pavara ... 18
1.9 pav. Bistabilus pneumatinis mikrogriebtuvas ... 19
1.10 pav. Pneumatinis mikrogriebtuvas ... 20
2.1 pav. Mikropozicionavimo įrenginys ... 23
2.2 pav. Mikropozicionavimo įrenginio valdymo sistema ... 25
2.3 pav. Mikrogriebtuvas ... 27
2.4 pav. Mikrogriebtuvo veikimo pozicijos ... 28
2.5 pav. Atstumas tarp švirkšto angos ir stalo paviršiaus ... 29
2.6 pav. Atstumas tarp švirkšto angos ir diržinės pavaros skriemulio laikiklio ... 30
2.7 pav. Įsiurbimo angos skersmuo ... 30
2.8 pav. Mikroskopo mikrometrinė kalibravimo liniuotė ... 32
2.9 pav. Mikroskopo pozicionavimas virš mikrometrinės liniuotės ... 33
2.10 pav. Mikroskopu matomas mikrometrinės liniuotės vaizdas ... 33
2.11 pav. Mikrogriebtuvo adatos pozicionavimas ... 34
2.12 pav. Mikroskopo ir mikrogriebtuvo darbinių laukų schema ... 35
2.13 pav. Pirminio mielių tirpalo vaizdas per mikroskopą ... 37
2.14 pav. Antrinio mielių tirpalo vaizdas per mikroskopą ... 38
2.15 pav. Mielių ląstelių fluorescenciniai dažai ... 40
2.16 pav. Mielių tirpalo ir objektinio stiklelio vilgymo reiškinys ... 41
2.17 pav. Atstumas tarp objektyvo ir paviršiaus galinėje Z ašies padėtyje ... 42
2.18 pav. Matoma mielės ląstelė prieš sugriebimą ... 43
2.19 pav. Matoma mielės ląstelė po sugriebimo ... 45
2.20 pav. Eksperimento programos valdymo langas ... 47
2.21 pav. Komunikacijos tarp įrenginių pradžia ... 48
2.22 pav. „Namų pozicija“ mygtuko valdymo kodas ... 49
2.23 pav. STOP mygtuko veikimas ... 50
2.24 pav. „Stebėti mieles“ mygtuko valdymo kodas ... 51

2.25 pav. „Sugriebti mieles“ mygtuko valdymo kodas 51
2.26 pav. „Išstumti mieles“ mygtuko valdymo kodas 51
2.27 pav. „Stebėti išstumtas mieles“ mygtuko valdymo kodas 52
2.28 pav. Mielių ląstelių sugriebimo ir perkėlimo rezultatų grafikas 53

LENTELIŲ SĄRAŠAS

2.1 lentelė. Tirpalo sugriebimo ir perkėlimo rezultatai 53
2.2 lentelė Eksperimentinio bandymo statistiniai rezultatai 54

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

CAD (angl. *Computer Aided Design*)	–	kompiuterinis projektavimas
CAM (angl. *Computer Aided Manufacturing*)	–	kompiuterinė gamyba
CNC (angl. *Computer Numeric Control*)	–	kompiuterinis įrenginių valdymas
DC (angl. *Direct current*)	–	nuolatinė elektros srovė
IP (angl. *Internet Protocol*)	–	informacijos perdavimo protokolas
KFV	–	kolonijas formuojantys vienetai
MDI (angl. *Manual Data Input*)	–	rankinis informacijos įvedimas
MEMS (angl. *Microelectromechanical systems*)	–	mikroelektromechaninės sistemos
PEA (angl. *Piezoelectric Actuator*)	–	pjezoelektrinė pavara
SMA (angl. *Shape Memory Alloy*)	–	atmeniųjų medžiagų lydinys
TCP (angl. *Transmission Control Protocol*)	–	informacijos perdavimo protokolas

ĮVADAS

Mikrogriebtuvai yra itin maži ir tikslūs įrenginiai, naudojami atliekant tokias užduotis, kaip mikrodalelių manipuliavimas arba mikrosistemų surinkimas. Jie plačiai naudojami tokiose srityse, kaip mikroelektronika, biotechnologijos, medicinos prietaisų gamyba ir vis dažniau naudojami mikrorobotų ir mikrojutiklių tyrimuose. Mikrogriebtuvų projektavimas ir gamyba yra aktyvi mokslinių tyrimų sritis, kurioje kuriami ir tyriami: elektrostatiniai, elektroterminiai, elektromagnetiniai, pjezoelektriniai, atmeniųjų lydinių, vakuuminiai ir pneumatiniai mikrogriebtuvai bei kiti. Kiekvienas iš šių tipų turi savų privalumų ir trūkumų ir yra naudojami priklausomai nuo manipuliuojamų objektų kilmės, aplinkos bei kitų veiksnių. Šiame darbe apžvelgiama įvairių tipų mikrogriebtuvų mokslinė literatūra, jų privalumai, trūkumai bei galimos pritaikymo sritys. Atliekamas mikrogriebtuvo stendo tyrimas, vykdomi praktiniai bandymai bei kuriama eksperimentų valdymo programinė įranga.

Nagrinėjamos temos mokslinėje literatūroje sklandžiai ir detaliai aprašomi įvairių mikrogriebtuvų tipų privalumai, trūkumai ir pritaikomumas. Nepakankamai dėmesio skiriama mikrogriebtuvų gamybos bei naudojamų medžiagų aprašymams. Siaurai aprašomas mikrodalelių manipuliavimo efektyvumas bei dalelių pažeidžiamumo mažinimo sprendimai.

Tyrimo objektas – robotiniu mikropozicionavimo įrenginiu manipuliuojamas mikrogriebtuvas, naudojamas biologinėms mikrodalelėms manipuliuoti.

Mokslinio darbo tikslas – eksperimentiniu būdu ištirti mielių ląstelių sugriebimo ir perkėlimo galimybes.

Uždaviniai:

- Išanalizuoti mokslinės literatūros šaltinius, kuriuose aprašomi analogiški įrenginiai.
- Atlikti robotinio pozicionavimo įrenginio techninių charakteristikų analizę.
- Aprašyti mielių tirpalo paruošimo bei sugriebimo ir perkėlimo metodiką.
- Atlikti eksperimentinius tirpalo sugriebimo ir perkėlimo tyrimus.
- Sukurti sugriebimą ir perkėlimą valdančią programinę įrangą.
- Suformuluoti išvadas ir rekomendacijas.

Temos naujumas ir aktualumas. Biologinių mikrodalelių manipuliavimas yra senas ir gerai žinomas procesas citologijos mokslo srityje, tačiau šio proceso robotizavimas yra palyginti naujas. Tema yra aktuali sprendžiant žmogiškojo faktoriaus sukeliamus netikslumus biologinių mikrodalelių manipuliavimo procese.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Elektrostatiniai mikrogriebtuvai

Elektrostatiškai valdomi mikrogriebtuvai veikia perduodant aukštą įtampą į griebtuvo laikiklių atidarymo/uždarymo pavarą, kuri traukia arba stumia griebtuvo rankas viena kitos atžvilgiu, naudodamos Kulono jėgas. Naudojamų pavarų savybės turi didelę įtaką bendrai mikrogriebtuvų konstrukcijai ir jų veikimo efektyvumui. Priklausomai nuo elektrostatinės pavaros konstrukcijos tipo, jos gali būti skirstomos į šoninių arba skersinių šukų pavaras. Šios pavaros sukuria linijinį arba sukamąjį judesį. Griebtuvo kinematinė konstrukcijos savybė nusako griebtuvo dizaino kryptį. Sukamojo judesio pavara leidžia išvengti aukštos įtampos naudojimo elektros sistemoje. Pavyzdžiui 100 V įtampa gali sukurti iki 94 µm griebtuvo poslinkį. Tokių griebtuvų pavarų konstrukcija susideda iš dviejų tarpusavyje sujungtų šukų, kurios viena kitą traukia arba stumia dėl veikiančios įtampos, taip atsidarydamos ar uždarydamos griebtuvo laikiklius (Bučinskas et al., 2022).

Elektrostatiniai mikrogriebtuvai pasižymi mažu energijos suvartojimu, didelio greičio veikimu ir labai maža histereze. Pagrindinis šio tipo mikrogriebtuvų naudojimo apribojimas yra didelė darbinė įtampa, kuri tampa pavojinga gyvoms ląstelėms ir techniškai apsunkina veikimą vandeninėje terpėje (Bučinskas et al., 2022).

Nepaisant minėtų problemų, šis technologinis sprendimas seniai egzistuoja, tačiau jį ribojo tikslaus apdirbimo technologijos. Šiuolaikinių gamybos ir jos valdymo technologijų augimas lėmė daugybės elektrostatinių prietaisų sukūrimą. Komerciškai prieinamas mikrogriebtuvas FT-G 100 (žr. 1.1 pav.) tinka plataus naudojimo sritims – nuo didelio tikslumo, objekto paėmimo ir padėjimo operacijų, iki pavienių ląstelių rūšiavimo. Šis griebtuvas užtikrina 30 µm, 60 µm ir 100 µm (gali būti pritaikomas iki 400 µm) griebtuvo laikiklių atidarymo atstumus su nanometrinės skiriamosios gebos valdymu. Šis griebtuvas pradinėje padėtyje yra atviras, todėl visiškas laikiklių uždarymas įvyksta esant maksimaliai veikimo įtampai. Matuojamas jėgos grįžtamasis ryšys padidina automatizuotų mikrovaldiklių sistemų ir surinkimo procesų efektyvumą ir patikimumą. Kartu su FT-G 100 mikrogriebtuvo baze siūlomas netiesinio elektrostatinio įrenginio modelis su integruotu jėgos jutikliu, lengvesniam mikrodalelių manipuliavimo valdymui. Siekiant patikimai valdyti sugriebimo jėgą, mikrogriebtuve naudojamas grįžtamojo ryšio valdiklis, pagrįstas Kalmano filtru. Kalmano filtru įvertinama duomenų triukšmo būsena, bandant įveikti apribojimus, atsirandančius dėl žemo signalo ir triukšmo santykio. Kalmano filtravimas leidžia padidinti sugriebimo jėgos skiriamąją gebą, kurią ribojo triukšmo lygis (Boudaoud et al., 2010).



1.1 pav. Elektrostatiniai mikrogriebtuvai: a) FT-G 100 mikrogriebtuvas, b) griebtuvas su savaime užsifiksuojančiu mechanizmu (Bučinskas et al., 2022)

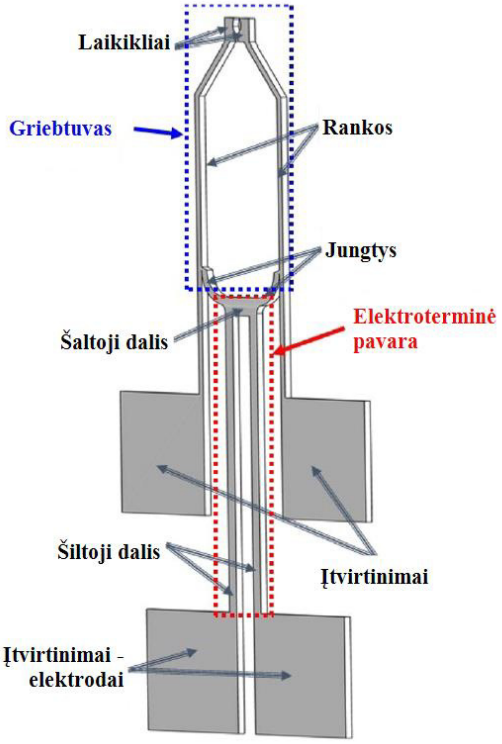
Elektrostatiniai mikrogriebtuvai turi daug privalumų, tokių kaip didelė padėties valdymo skiriamoji geba, greitas atsakas, mažas energijos suvartojimas ir geras suderinamumas su silicio mikroprocesoriais. Šiuo mikrogriebtuvu galima manipuliuoti biologinėmis ląstelėmis, kadangi jo laikikliai neįkaista veikimo metu ir, tinkamai sukonfiguruoti, neperduoda objektui elektrinio potencialo. Dėl šių savybių elektrostatiniai mikrogriebtuvai ypač tinka dirbti su gyvomis ląstelėmis. Elektrostatinių mikrogriebtuvų trūkumai yra: ilgos griebtuvo rankos, maža sugriebimo jėga, žemas energijos vartojimo efektyvumas, ribotas laikiklių judėjimo diapazonas. Svarbu žinoti, kad elektrostatinių mikrogriebtuvų jutikliai ir pavaros dažniausiai negali veikti vandeniniuose tirpaluose, todėl griebtuvo rankos turi būti pakankamai ilgos, kad būtų galima jas panardinti į tirpalą, o mikropavara ir jėgos jutikliai liktų nepanardinti. Vis dėlto ilgos griebtuvo rankos sumažina sugriebimo jėgą ir sukuria pašalinius virpesius (Bučinskas et al., 2022).

1.2. Elektroterminiai ir atmenųjų lydinių mikrogriebtuvai

Mikrogriebtuvai su integruotomis elektroterminėmis pavaromis, kurių pagrindas yra medžiagų šiluminis plėtimasis esant mažai žadinimo įtampai, gali sukurti reikšmingo dydžio poslinkius. Minėtieji poslinkiai yra maži, o aukšta darbinė temperatūra riboja šių mikrogriebtuvų naudojimą su jautresniais objektais. Tolimesnę plėtrą šioje srityje lėmė didžiulę, elektroterminiu valdymu pagrįstų griebtuvų konstrukcijų įvairovę, kuri tinka biologiniams objektams manipuliuoti (Bučinskas et al., 2022).

Akbari et al. (2022) pristatė elektroterminį mikrogriebtuvą (žr. 1.2 pav.), kuris yra tinkamas biologinėms ląstelėms manipuliuoti. Skirtingai nuo įprasto dizaino elektroterminių mikrogriebtuvų, kuriuose dažniausiai naudojama viena elektroterminės pavaros šiltoji ir viena šaltoji dalis, šiame mikrogriebtuve naudojamos dvi ilgos šiltosios (kaitinamosios) dalys ir viena trumpa šaltoji dalis. Dvi

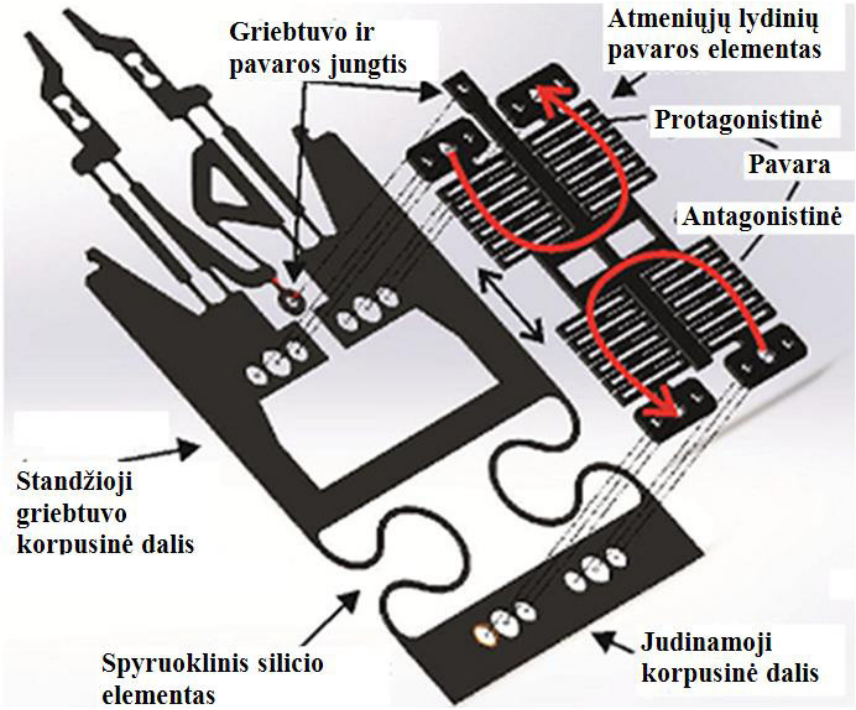
griebtuvo rankos per atskirus sujungimus yra pritvirtinamos prie šaltosios elektroterminės pavaros dalies. Taip pat šis dizainas yra išskirtinis tuo, kad rankų įtvirtinimai yra atskirti nuo elektroterminės pavaros įtvirtinimų (Akbari et al., 2022).



1.2 pav. Mikrogriebtuvas su elektrotermine pavara (Akbari et al., 2022)

Aprašomo elektroterminio mikrogriebtuvo dizaino funkcijos leidžia maksimaliai sumažinti šilumos perdavimą į griebtuvo laikiklius iki + 1 ºC lyginant su aplinkos temperatūra, tai užtikrina, kad manipuliuojama biologinė ląstelė nebus pažeista. Šio dizaino elektroterminės pavaros darbinė įtampa siekia vos 2 V, tai užtikrina ypač mažą elektrinį poveikį ląstelei (Akbari et al., 2022).

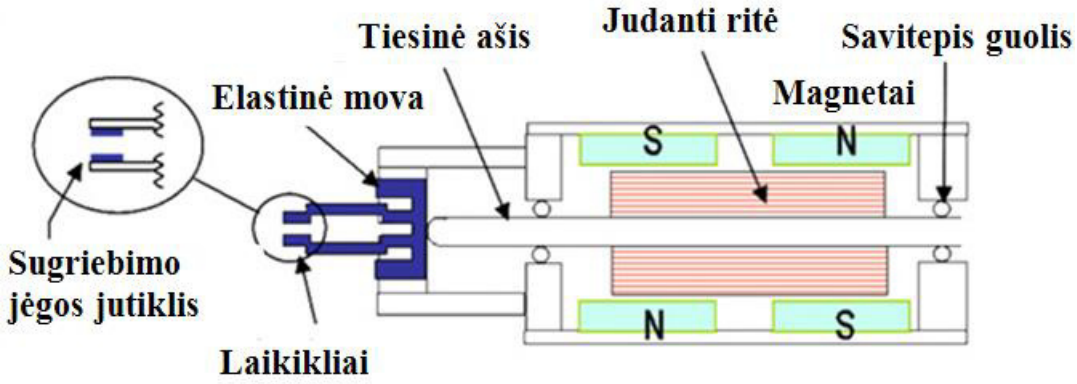
Atmeniųjų lydinių (SMA) pavaros plačiai naudojamos mikrogriebtuvuose (žr. 1.3 pav.) dėl tokių privalumų, kaip didelis galios ir svorio santykis, tylus veikimas, žema darbinė įtampa ir maža kaina, palyginti su kitomis medžiagomis. Tinkamai parinkta griebtuvo pavaros konstrukcija gali užtikrinti didelį pradinį laikiklio sugriebimo greitį ir pagerinti bendrą efektyvumą. Pagrindiniai trūkumai – mažos deformacijos, ribotos kaitinimo ir vėsinimo galimybės, mažas energijos vartojimo efektyvumas. Poslinkio jėgos dydis daro didelę įtaką SMA mikrogriebtuvo laikiklių poslinkiui. Šio tipo įrenginiai nėra itin patikimi, kada yra naudojami aukštu darbiniu dažniu. Papildomų jutiklių montavimas leidžia geriau kontroliuoti sugriebimo lygį, tačiau jis nėra privalomas. Nors ir nebūtini, tačiau papildomai sumontuoti jutiminiai griebtuvo elementai leidžia patikimiau kontroliuoti sugriebimo lygį (Bučinskas et al., 2022).



1.3 pav. Atmeniųjų lydinių mikrogriebtuvas su spyruokliniu silicio elementu (Garcés-Schröder et al., 2017)

1.3. Elektromagnetiniai mikrogriebtuvai

Mikrogriebtuvai su integruota elektromagnetine pavara (žr. 1.4 pav.) gali užtikrinti didelį poslinkį, greitą reakciją, lengvą valdymą ir didelį tikslumą. Remiantis literatūros analize, elektromagnetinis mikrogriebtuvas gali sugriebti ir pozicionuoti mikrodalelę kuri yra 116 μm dydžio, naudodamas maksimalią 5 mN jėgą. Šie griebtuvai yra labai efektyvūs ir tinkami atlikti mikroskopinius eksperimentus bei valdyti MEMS mikromazgus. Tokių prietaisų konstrukcija turi paprastą struktūrą ir didelį energijos vartojimo efektyvumą. Pagrindinė problema yra didelis fizinis šios pavaros dydis (Bučinskas et al., 2022).



1.4 pav. Elektromagnetinis mikrogriebtuvas su tiesine DC pavara (Kim et al., 2005)

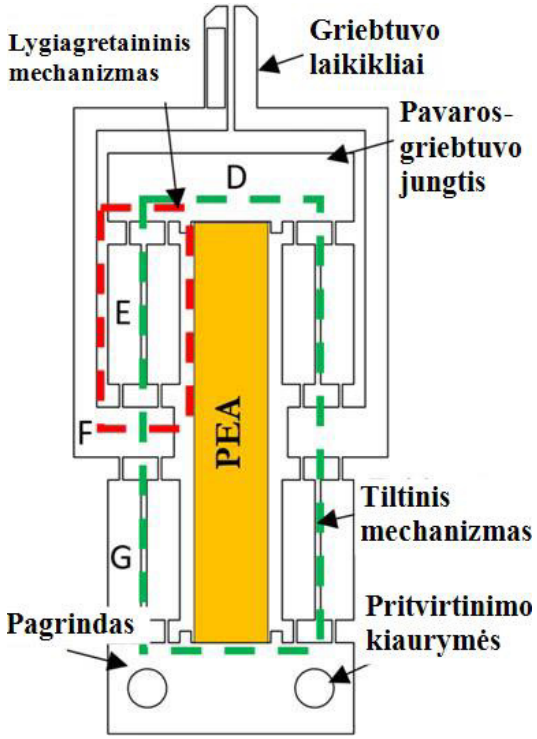
Kim et al. (2005) pristatė superelastingo nikelio ir titano lydinio (Ni-Ti) mikrogriebtuvą su integruota elektromagnetine pavara ir pjezoelektriniais jėgos jutikliais, jo analizę ir charakteristikas. Šis griebtuvas gali išvystyti didelę jėgą ir didelius poslinkius bei manipuliuoti 116 μm dydžio biologiniais audiniais. Moksliniame darbe įvertintas mikrogriebtuvo, integruotų jėgos jutiklių, elektromagnetinės pavaros sistemos veikimas. Lyginamieji tyrimai parodė, kad superelastingo lydinio (Ni-Ti) mikrogriebtuvas gali atlikti didesnį poslinkį nei nerūdijančio plieno mikrogriebtuvas. Šis superelastingo lydinio pagrindu pagamintas mikrogriebtuvas buvo pritaikytas manipuliuoti biologiniais audiniais.

Elektromagnetinių mikrogriebtuvų pavaros veikimo principas pagrįstas Lorenco jėga (elektrinių ir magnetinių jėgų deriniu). Šią jėgą formuoja statinis magnetinis laukas, kuris yra sukuriamas elektra valdomuose solenoiduose. Lyginant su kitomis pavaromis, elektromagnetinės pavaros dėl solenoidų ir magnetinių grandinių yra didesnių matmenų, tačiau jų parametrai yra valdomi daug paprasčiau. Tokių griebtuvų pavaroms, valdymo įgyvendinimas mikrovaldikliu per galios elektrinę grandinę turi specifinių pranašumų. Efektyvus, nesudėtingas mikrogriebtuvo valdymas, galimybė sukurti iki šimtų mikrometrų poslinkį, lengvas elektroninės grandinės valdymas, elektromagnetinius mikrogriebtuvus paverčia vienu geriausių pasirinkimų, visais įmanomais atvejais. Elektromagnetiniai griebtuvai susideda iš elektromagnetinės pavaros, kinematinės perdavimo grandinės, kuri baigiasi laikikliais ir elastinėmis movomis (Bučinskas et al., 2022).

1.4. Pjezoelektriniai mikrogriebtuvai

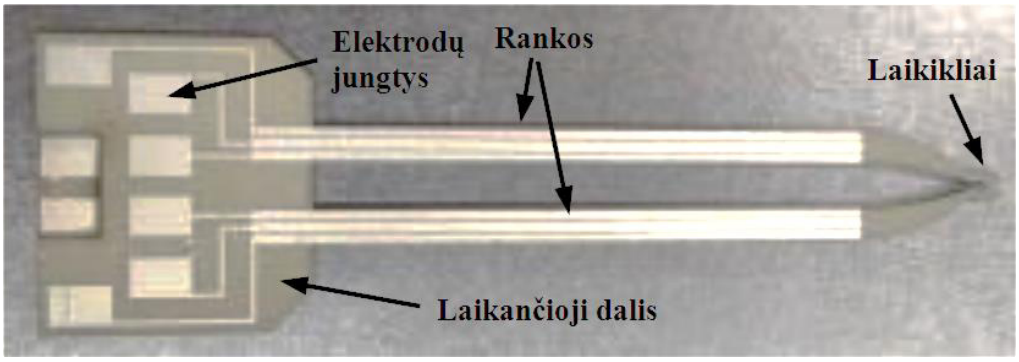
Pjezoelektriniai mikrogriebtuvai yra pagrįsti pjezoelektrinėmis medžiagomis, kurios naudodamos joms suteikiamą išorinę elektros įtampą, gali pakeisti savo formą. Ši technologija yra dažnai naudojama mikrogriebtuvuose dėl tokių privalumų, kaip didelė darbinė jėga, aukštas jėgos ir svorio santykis, mažas reakcijos laikas, iki nanometrinė skiriamoji geba, mažas svoris ir kompaktiškas dizainas. Pjezoelektrinės pavaros pasižymi histerezės efektu ir žema galios išeiga. Pjezoelektrinių mikrogriebtuvų tyrimas yra labai svarbus siekiant sutelkti dėmesį į lygiagretaus sugriebimo mechanizmo su kompaktiška struktūra ir dideliu stiprinimo koeficientu kūrimą. Šie griebtuvai, kuriuose naudojamos kinematinės grandinės su pakankamai dideliu stiprinimo koeficientu, gali išvystyti didelį laikiklių poslinkį lyginant su mažu pradiniu poslinkiu (Bučinskas et al., 2022).

Das et al. (2020) pristatė patobulintą mikrogriebtuvo kinematinę grandinę (žr. 1.5 pav.), kurioje buvo panaudotas kompaktiškas, lenkimo principu veikiantis, dviejų žingsnių, tiltelinio tipo mechanizmas. Tiltelinio tipo mechanizmas padidina poslinkį kinematinės grandinės įvestyje. Eksperimentai parodė, kad mikrogriebtuvas pasiekė 543,8 μm išvesties poslinkį, tai reiškia 19,3 μm poslinkio padidėjimą, o judesio skiriamoji geba tapo iki ±15 μm tikslumo (Das et al., 2020).



1.5 pav. Mikrogriebuvas su pjezoelektrine pavara (Das et al., 2020)

Nie et al. (2023) moksliniame darbe aptariamas keturių laisvės laipsnių pjezoelektrinio mikrogriebtuvo dizainas, gamyba bei eksperimentiniai tyrimai. Bendras griebtuvo dydis yra itin mažas ir telpa į 50 × 14,5 × 0,8 mm tūrį (žr 1.6 pav.). Įrenginys pasižymi keturiais laisvės laipsniais, kadangi griebtuvo rankos gali atlikti poslikį tiek horizontalia sugriebimo kryptimi, tiek vertikalia kryptimi. Baigtinių elementų analizės metu nustatyta, jog griebtuvo rankos gali vykdyti iki 108 µm poslinkius sugriebimo kryptimi ir 106 µm poslinkius statmenai pirminei krypčiai. Atliktuose statinio ir dinaminio poslinkio eksperimentuose nustatyta, kad griebtuvo rankos ištikrųjų gali sukurti maksimalų 102 µm poslinkį tiek horizontalia tiek vertikalia kryptimi. Taip pat eksperimentiniu būdų nustatyti, griebtuvo rezonansiniai dažniai, kurie yra 340 Hz sugriebimo kryptimi ir 2010 Hz statmena sugriebimo krypčiai. Sugriebimo jėgos bandymų metu nustatyta, kad kiekviena griebtuvo ranka gali sukurti iki 28 mN suspaudimo jėgą (Nie et al., 2023).

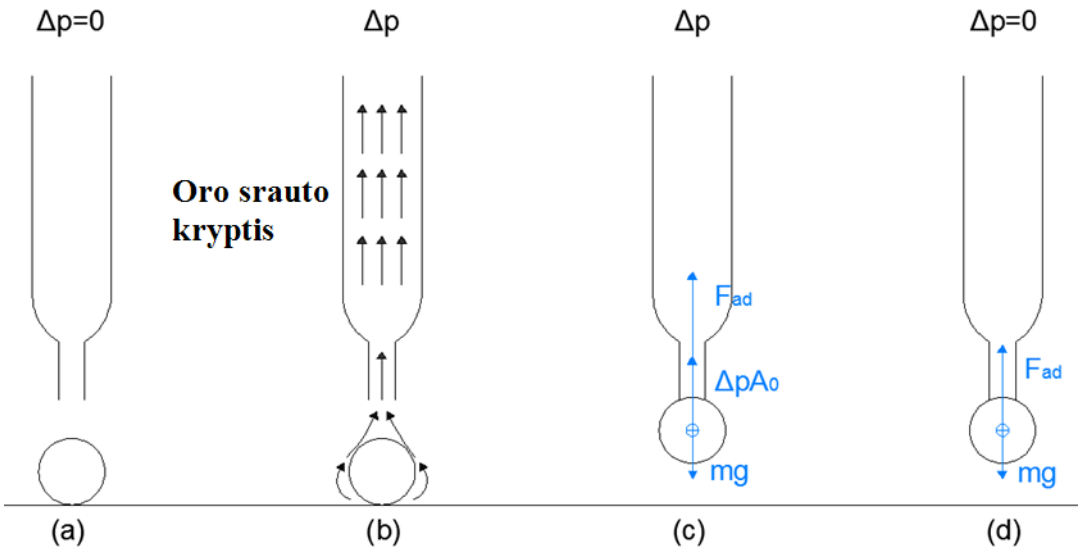


2.6 pav. Keturių laisvės laipsnių pjezoelektrinis mikrogriebtuvas (Nie et al., 2023)

Išsami įrenginio analizė kartu su eksperimentinių bandymų rezultatais, leidžia teigti, kad mikrogriebtuvas yra pritaikytas mikromanipuliacinių darbų atlikime su mikroelektromechaniniais arba biologiniais elementais. Darbe pateikti rezultatai ir įžvalgos yra vertingas indėlis į mikromanipuliavimo technologijos pažangą, pabrėžiant perspektyvias praktinio pritaikymo galimybes ir skatinant tolesnius šios srities tyrimus ir plėtrą (Nie et al., 2023).

1.5. Vakuuminiai ir pneumatiniai mikrogriebtuvai

Vakuuminiai mikrogriebtuvai (žr. 1.7 pav.) yra vieni populiariausių griebtuvų dėl tokių privalumų kaip: maža kaina, paprastas veikimo principas, greitas ir efektyvus veikimas, paprasta konstrukcija. Šie mikrogriebtuvai tinka tiksliai manipuliuoti mikroskopiniais objektais. Jei manipuliuojamo objekto masė yra itin maža, šie griebtuvai pasižymi sukibimo jėgomis, kurios gali įveikti objekto gravitacinę jėgą stipriai paveikdamos mikrodalelės paleidimą arba visiškai užkirsdamos jam kelią. Siūlomi įvairūs šios problemos sprendimo būdai: pasyvaus paleidimo strategija siekiama sumažinti veikiančias jėgas, padengiant griebtuvo paviršių elektriškai laidžiu sluoksniu, kad būtų sumažinta elektrostatinė jėga. Aktyvaus paleidimo funkcijos padeda įveikti sukibimo jėgas, elektrinius laukus, sukuria teigiamo slėgio impulsą, virpesius. Mokslinėje literatūroje aprašomi vakuuminiai mikrogriebtuvai kuriais galima manipuliuoti 10 µm dydžio dalelėmis (Bučinskas et al. 2022).

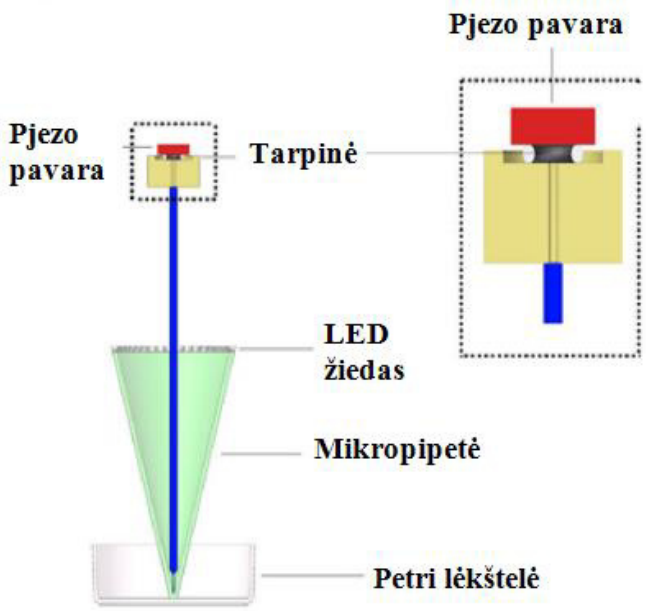


1.7 pav. Klasikinio vakuuminio mikrogriebtuvo veikimo principas. Veikimo žingsniai: a) neveiksnumas, b) sugriebimas, c) manipuliavimas, d) paleidimas (Urbano et al., 2021)

Klasikinį vakuuminį mikrogriebtuvą sudaro: vakuuminė kamera, kuri yra prijungta prie vakuumo šaltinio, ir lanksti membrana, dengianti kamerą. Kai kameroje veikia vakuumas, membrana traukiama į vidų, sukuriant siurbimo jėgą, kuri gali būti naudojama mažiems objektams laikyti ir manipuliuoti (Anis et al., 2011).

Manipuliavimo metodą, naudojant dalelių įsiurbimą, pristatė Anis et al. (2011). Jie sukūrė pikolitro tūrio siurbimo mechanizmą ir integravo jį į robotizuotą manipuliavimo sistemą. Naudojant pikolitro tūrio siurblį, atskiros biologinės dalelės gali būti automatiškai atrenkamos ir perkeliamos į tolimesnes analizės vietas. Autoriai įrodė, kad mechanizmas įsiurbia ir pašalina nuo 500 pikolitrų iki 250 nanolitrų skysčio, kurio srautas siekia iki 250 nl/s. Naudodami šią techniką, jie sėkmingai atliko manipuliavimą su viena Bareto stemplės ląstele. Eksperimentų rezultatuose autoriai nurodė, kad atlikdami ląstelių manipuliavimo eksperimentą 200 kartų, 197 kartai (98.5 %) buvo sėkmingi. Tik trijų nesėkmingų bandymų priežastimi, darbo autoriai, nurodo – manipuliuojamos mikrodalelės prilipimą prie mikropipetės vidinio paviršiaus (Anis et al., 2011).

Francz et al. (2020) pristatė supaprastintą vakuuminio mikrogriebtuvo sistemą, kurią vadina – pjezomikropipete (žr. 1.8 pav.). Šioje sistemoje atsikratoma plastikinių vamzdelių, vožtuvų, švirkštų ir slėginių indų. Pjezoelektrinė pavara prispaudžia O formos tarpinę, kurios storis ir skersmuo yra 1 mm. Stiklinė mikropipetė vertikaliu vamzdeliu sujungta su vidiniu tarpinės žiedo tūriu. Bendras tarpinės vidinis ir vamzdelio tūris užpildytas vandeniu. Fazinio kontrasto apšvietimą užtikrina šviesos diodų žiedas, sumontuotas koncentriškai mikropipetei. Pjezo pavara išsiplėsdama, stumia ir deformuoja O formos žiedą, sumažina jo vidinį tūrį. Dėl to skystis teka mikropipetėje ir galiausiai iš mikropipetės nuteka į Petri lėkštelę. Kai pjezo pavara susitraukia, O formos žiede susidaro vakuumas, dėl kurio mikropipetė ištraukia skystį iš Petri lėkštelės. Skysčio valdymo tikslumą lemia pjezopavara ir pipetės šiluminiai svyravimai. Dalelių manipuliavimo procese, mikropipetė įsiurbia 1.25 ± 0.48 nl skysčio. Autorių teigimu tokios struktūros mikrogriebtuvas leido manipuliuoti pavienėmis ląstelėmis iki 96 % efektyvumu. Griebtuvo erdvinė raiška 29 ± 3.6 µm, tai reiškia, kad ląstelės esančios toliau nei nurodytas atstumas nebuvo paveiktos sugriebimo metu (Francz et al., 2020).

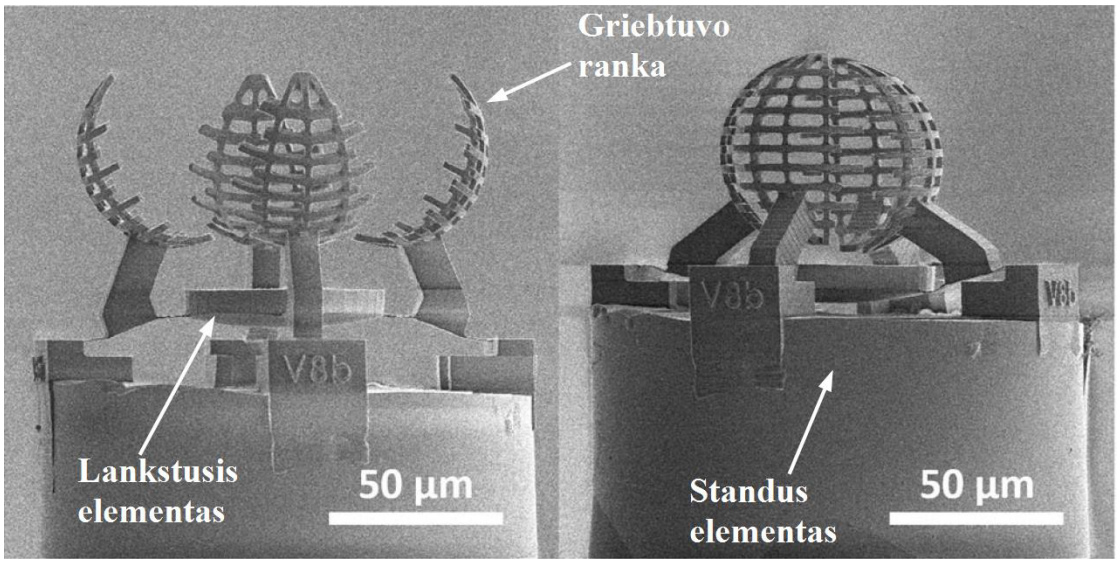


1.8 pav. Mikropipetė su pjezoelektrine pavara (Francz et al., 2020)

Vakuuminiai mikrogriebtuvai lengvai montuojami ant roboto ir integruojami į nuotolinio valdymo sistemą. Šio tipo mikrogriebtuvai yra labai efektyvūs, nebrangūs, lengvi, lengvai naudojami ir paprastai integruojami į manipuliavimo sistemą. Todėl galima patikimai ir saugiai manipuliuoti mikrodalelėmis, be didelių sistemos komplikacijų (Bučinskas et al., 2022).

Pneumatiniai mikrogriebtuvai nepriklauso nuo elektrinių ar magnetinių laukų (skirtingai nei elektrostatiniai, pjezoelektriniai ir elektromagnetiniai griebtuvai), ar aukštos temperatūros (skirtingai nei atmeniųjų lydinių ir elektroterminiai mikrogriebtuvųai). Pneumatinis mikrogriebtuvo valdymo būdas nėra destruktyvus, nekenkiantis biologinei aplinkai. Pneumatiniai mikrogriebtuvai gali atlikti įvairias mikromanipuliacijas tiek dujinėje, tiek skystoje terpėje. Didžioji dalis pneumatinių mikrogriebtuvų pasižymi sudėtingu dizainu ir pagaminimu bei juos kuriant susiduriama su miniatiūrizavimo iššūkiais. Šiuolaikinius pneumatinius mikrogriebtuvus galima suskirstyti į integruotus ir surenkamus. Integruoti pneumatiniai mikrogriebtuvai pasižymi mikrotalpinėmis struktūromis, kurios leidžia realizuoti sugriebiamos dalelės apglėbimą, tačiau dauguma jų yra pagaminti naudojant MEMS procesą ir turi sudėtingas ir trapias struktūras, todėl sudėtinga užtikrinti didelę suspaudimo jėgą biologiniam manipuliavimui. Surenkamų pneumatinių mikrogriebtuvų komponentus yra paprasta gaminti, tačiau dėl surinkimo procesų šie griebtuvai pasižymi dideliais gabaritais (Zhao et al., 2024).

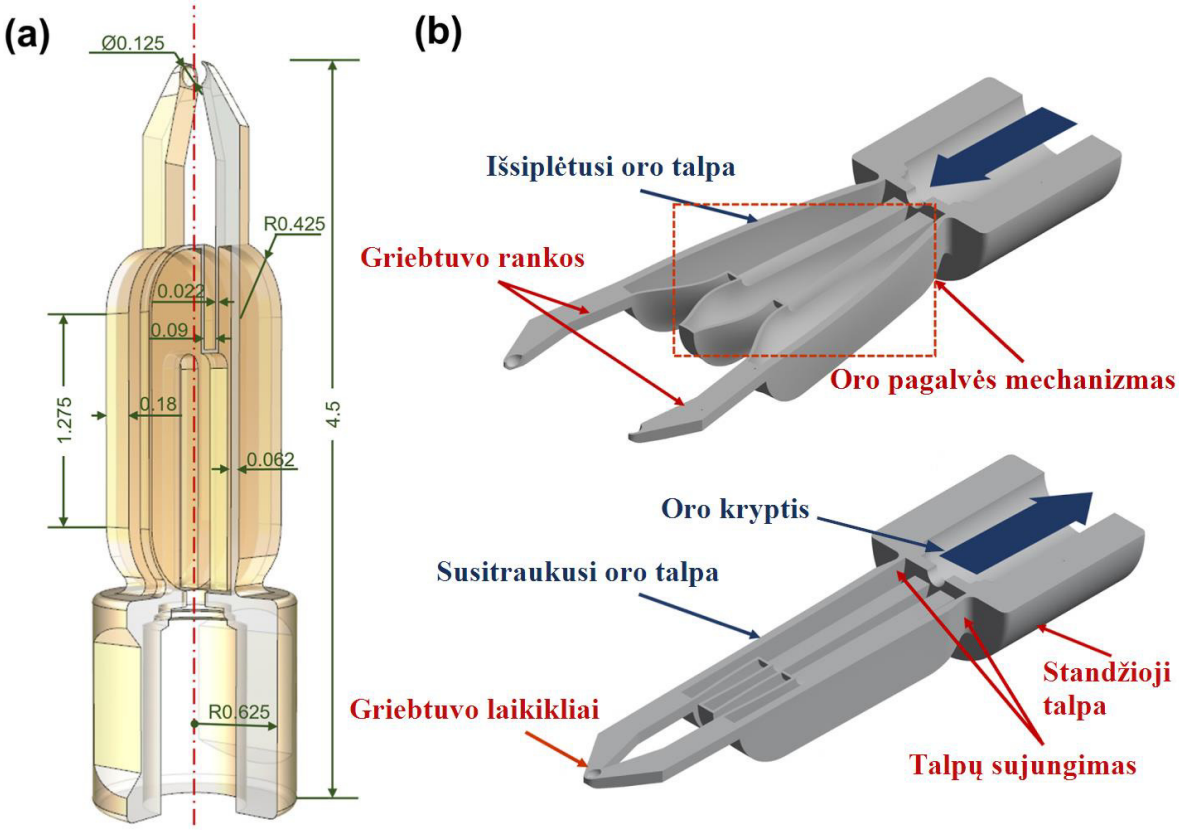
Power et al. (2023) moksliniame darbe pristatytas bistabilus pneumatiniu būdu valdomas mikrogriebtuvas (žr 1.9 pav.). Šiam įrenginiui nereikalingas išorinis žadinimo šaltinis tam, kad išlaikytų uždarą arba atvirą padėtį, todėl jis vadinamas bistabiliu. Darbe detaliai aprašomas neįprastas mikrogriebtuvo gamybos procesas. Mikromechanizmas gaminamas naudojant dviejų fotonų polimerizacijos procesą, o galutinis jo paviršiaus paruošiamas deguonies plazmos ėsdinimo procesu. Šis procesas leidžia pagaminti kelių šimtų nanometrų dydžio griebtuvo elementus.



1.9 pav. Bistabilus pneumatinis mikrogriebtuvas (Power et al., 2023)

Moksliniame straipsnyje aprašomi mikrogriebtuvo charakteristikų nustatytmo tyrimai. Bandymų metu nustatyta, kad mikrogriebtuvo rankos atsiveria kada lanksčiajai mechanizmo daliai yra suteikiamas 100 mbar slėgis, o rankų užsivėrimą sužadina neigiamas 200 mbar slėgis. Eksperimentinių bandymų metu nustatytas didelis griebtuvo efektyvumas ir pakartojamumas, kadangi griebtuvas stabiliai atlaikė 100 sugriebimo ir paleidimo ciklų. Galiausiai eksperimentų metu buvo sėkmingai sugriebtas ir perkeltas 50 µm dydžio sferinis objektas. Siekiant įrodyti padėčių išlaikymo stabilumą, eksperimento vykdytojai nuėmė mikrogriebtuvą nuo pneumatinio kapiliaro, ir stebėjo jį per mikroskopą. Bandymų metu įrodytas mikrogriebtuvo patikimumas ir mechanizmo veiksnumas (Power et al., 2023).

Zhao et al. (2024) pristatė naujovišką pneumatinį mikrogriebtuvą (žr. 1.10 pav.), kuris pasižymi kelių lygių, plonasienių oro pagalvių struktūra. Pneumatinis mikrogriebtuvas yra pagamintas iš biologiškai suderinamos plastiko dervos, naudojant didelio tikslumo 3D spausdinimo technologiją. Mikrogriebtuvo mechanizmas nėra kenksmingas ar taršus, yra lengvai valdomas ir leidžia tiksliai vykdyti biologinių mikrodalelių manipuliavimą tiek oro tiek skysčio aplinkoje (Zhao et al., 2024).



1.10 pav. Pneumatinis mikrogriebtuvas: a) mikrogriebtuvo matmenys, b) mikrogriebtuvo komponentai ir veikimo padėtys (Zhao et al., 2024)

Moksliniame darbe aprašoma mikrogriebtuvo konstrukcija bei parametrų nustatymo bandymai. Taip pat aprašomi mikrogriebtuvu atliekami pelių oocitų perkėlimo ir injekcijų bandymai, kiaulių

oocitų perpjovimo bandymai ir mikroskopinio siuvimo bandymai. Bandymų metu nustatyta, kad griebtuvas gali sukurti 25,83 mN sugriebimo jėgą ir pakelti daiktus, kurie sveria 300 kartų daugiau už mikrogriebtuvą. Straipsnio autoriai teigia, kad griebtuvo poslinkių skiriamoji geba siekia 1 µm. Gyvų pelių oocitų, kurių dydis yra 60-80 µm perkėlimo procesas darbe aprašomas skaldžiai ir tikinama, kad perkėlimo procesas šiuo mikrogriebtuvu truko vos 7 sekundes. Mikroinjekcijų bandymų metu, buvo pademonstruotas sėkmingas 5 µm objekto įleidimas į pelės oocitą. Darbe aprašomas sėkmingai įgyvendintas kiaulės oocito sugriebimas, kuris siekia 200 µm dydį. Ši moteriškoji lytinė ląstelė buvo sėkmingai perpjauta mikrodalelių peiliu (Zhao et al., 2024).

1.6. Mokslinės literatūros apibendrinimas

Iš apžvelgtos literatūros matoma, kad mikrogriebtuvų kūrimas ir tyrimai yra aktyvi studijų sritis, kurioje pastaraisiais metais padaryta didelė pažanga. Pastebėti iššūkiai, kuriuos reikia įveikti norint toliau tobulinti mikrogriebtuvų kūrimą ir tyrimus. Tai apima tokias problemas kaip energijos suvartojimas, ilgaamžiškumas ir galimybė dirbti su skirtingomis medžiagomis ir skirtingose terpėse. Viena iš sudėtingiausių problemų kurioje galima panaudoti mikrogriebtuvą yra netaisyklingų formų biologinių mikrodalelių manipuliavimas. Jas sunku sugriebti klasikinio tipo mikrogriebtuvu, turinčiu pavara valdomas rankas ir laikiklius. Mokslinėje literatūroje aprašomas biologinių mikrodalelių manipuliavimas skirtingų tipų mikrogriebtuvais, tačiau akivaizdų šios problemos sprendimo pranašumą turi vakuuminiai mikrogriebtuvai. Nelygus dalelės paviršius netrukdo prisispaudimui prie vakuuminiuose mikrogriebtuvuose naudojamų talpų paviršiaus. Kai kuriais atvejais prispaudimo jėga gali būti netgi per didelė, todėl gali prireikti papildomų priemonių prispaudimo jėgos mažinimui. Taip pat vakuuminio mikrogriebtuvo naudojimas užtikrina, kad manipuliuojama dalelė nebus pažeista temperatūrinio poveikio, kurį gali sukurti elektroterminiai arba atmeniųjų lydinių mikrogriebtuvai, bei elektrinio poveiki, kurį gali sukurti elektrostatiniai, pjezoelektriniai ir elektromagnetiniai mikrogriebtuvai. Didžiausias vakuuminių mikrogriebtuvų trūkumas – ribotas sugriebimo jėgos valdymas. Apibendrindamas galiu teigti, kad vakuuminiai mikrogriebtuvai yra optimaliausias sprendimas norint manipuliuoti biologinės kilmės gyvomis mikrodalelėmis. Toliau atliekami tyrimai su realiu vakuuminio tipo mikrogriebtuvu, naudojamu mikropozicionavimo įrenginyje.

2. EKSPERIMENTINIAI TYRIMAI

Remiantis mokslinės literatūros apžvalga, galima teigti jog vakuuminių mikrogriebtuvų veikimo principas yra palankiausias siekiant manipuliuoti biologiniais mikroorganizmais. Dėl šios priežasties, universiteto laboratorijoje buvo sukurtas mikropozicionavimo įrenginio stendas, su vakuuminiu mikrogriebtuvu ir mikroskopu.

Mikropozicionavimo įrenginys yra sudarytas iš ypatingai didelio tikslumo žingsninių variklių, kurie leidžia atlikti tikslius mikrogriebtuvo tiesinius poslinkius. Išoriniai bei vidiniai sistemos virpesiai turi didelę įtaką sistemos tikslumui. Tokie virpesiai gali susidaryti dėl įvairių priežasčių: vaikščiojimas patalpoje kurioje yra talpinamas įrenginys, ar pačio mikropozicionavimo įrenginio variklių darbas. Virpesiai gali pakenkti bendrai sistemos veiklai, tikslumui ar eksperimentų atlikimui. Dėl šios priežasties visas mikropozicionavimo įrenginys yra patalpintas ant specialaus, antivibracinio stalo, kurio pagrindinė paskirtis yra kuo labiau sumažinti, visas galimus virpesius. Sistemoje naudojamas mikrogriebtuvas yra suprojektuotas remiantis medicininio švirkšto principu, o švirkšto talpoje vakuumą sukuria stūmoklio judėjimas. Norint atlikti mikroorganizmų, kurie bus manipuliuojami mikrogriebtuvu, stebėjimą, mikropozicionavimo įrenginyje sumontuotas mikroskopas bei kamera, kuri leidžia stebėti mikrodaleles kompiuterio ekrane. Šis sprendimas užtikrina patogų bei paprastą darbą su mikrometrinio dydžio objektais.

Siekiant išanalizuoti mikropozicionavimo įrenginio veikimą, svarbu atlikti eksperimentinius tyrimus, kuriais galima nustatyti įrenginio technines galimybes, bandymų atlikimo galimybių ribas bei technines problemas, su kuriomis galima susidurti eksperimentų metu. Teorinių tyrimų tikslas:

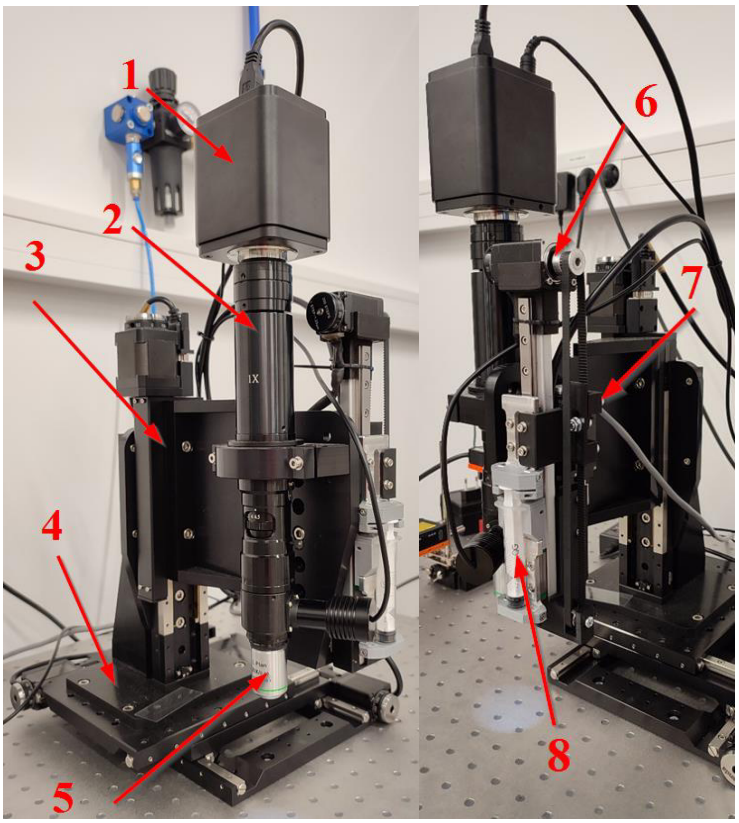
1. Išnagrinėti antivibracinę sistemą ant kurios yra sumontuotas mikropozicionavimo įrenginys.
2. Detaliai ištirti mikropozicionavimo įrenginio komponentus bei jų veikimo principus.
3. Aptarti mikroskopą, kartu su juo naudojamus komponentus bei jų technines charakteristikas.
4. Ištirti mikrogriebtuvo komponentus, jų parametrus bei savybes.
5. Išsiaiškinti bendrą įrenginio valdymo sistemą bei jos veikimo principus.
6. Nustatyti mikropozicionavimo įrenginio ribines charakteristikas bei sistemos trūkumus.
7. Aprašyti sistemos trūkumų šalinimo bei optimizavimo pasiūlymus.

2.1. Mikropozicionavimo įrenginio techninių savybių analizė

Mikropozicionavimo įrenginio stendą sudaro keturi esminiai mazgai:

- Pneumatinis, antivibracinis stalas.
- Žingsninėmis pavaromis valdomas, penkių laisvės laipsnių mikropozicionavimo įrenginys (žr. 2.1 pav.).
- Mikroskopo mazgas.
- Mikrogriebtuvo mazgas.

Antivibracinės sistemos pagrindas - 1VIS10W-075-09-77 antivibracinis, pneumatinis stalas. Antivibracinio stalo horizontalųjį paviršių sudaro kompozitinė plieno ir kartono plokštė bei medinė rankų atrama. Stalo darbinis paviršius nuo grindų atskirtas efektyvia pneumatinių atramų sistema (pneumatinėmis spyruoklėmis su hidrauliniais amortizatoriais), leidžiančia maksimaliai sumažinti išorinius trikdžius ar virpesius. Virpesiai gali trukdyti eksperimentams, kuriems reikalingas ypač didelis tikslumas. Gamintojas nurodo, kad šios sistemos horizontalaus paviršiaus lygumo išlaikymo tikslumas yra ±0,3 mm (1VIS10W user manual, 2018).



2.1 pav. Mikropozicionavimo įrenginys: 1 – XCAMLITE4K mikroskopo kamera; 2 – LS-DV1105 mikroskopas; 3 – 8MT175-100 Z ašies pavara; 4 – 8MTF-102LS05 X ir Y ašių valdymo platforma; 5 – L PLAN 20x mikroskopo objektyvas; 6 – žingsninis variklis su diržine pavara; 7 – 8MT30-50 A ašies pavara; 8 – mikrogriebtuvas

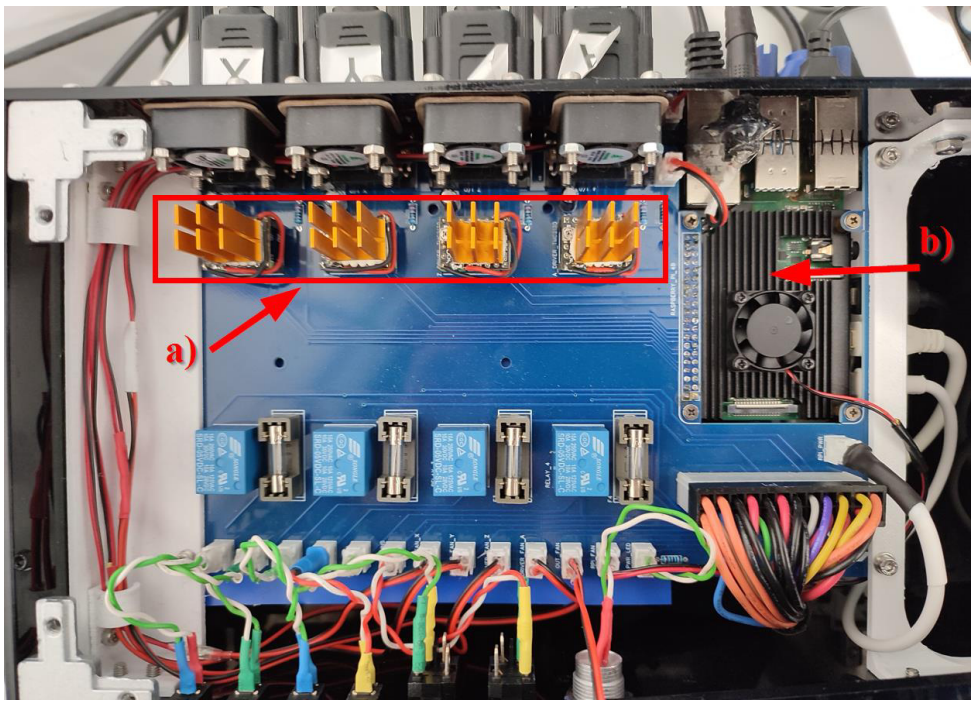
X ir Y ašių valdymo platformos pagrindą sudaro du žingsniniai varikliai, prie kurių pritvirtintos dvi sraigtinės pavaros. Ant sraigtinių pavarų sumontuotos kvadratinės formos plokščios karietėles. Šios dvi karietėlės yra sumontuojamos viena ant kitos, o susidaręs mazgas sujungiamas su nejudančiu pagrindu. Tokiu būdu sukuriama tiesinį judesį atliekanti platforma, ant kurios sumontuota kita, tiesinį judesį atliekanti platforma. Platformų ašių kuriami poslinkiai yra statmeni vienas kito atžvilgiu. Gamintojo techniniuose parametruose nurodyta, kad platforma sukuria 102x102 mm judėjimo lauką, o remiantis žingsninių pavarų parametrais bei sraigtinės pavaros sriegio žingsniu, platformos judėjimo skiriamoji geba siekia 2,5 µm varikliams veikiant viso žingsnio režimu ir 0,31 µm, kada varikliai veikia aštuntadalio žingsnio režimu. Ašis valdanti platforma gali pasiekti 10 mm/s judėjimo greitį (8MTF motorized scanning stage, 2020).

Z ašis, kuria valdomas vertikalus mikroskopo judėjimas, yra pagrįsta pavaros 8MT175-100 darbu. Ši pavara turi nejudantį pagrindą, prie kurio pritvirtintas žingsninis variklis. Žingsninis variklis valdo sraigtinės jungties judėjimą, tokiu būdu variklio sukamąjį judesį paversdamas tiesiniu judesiu pavaroje. Prie sraigtinės pavaros pritvirtinta karietėlė, ant kurios sumontuotas mikroskopo mazgo tvirtinimas. Šios pavaros žingsninis variklis pasižymi tokiomis pat skiriamosios gebos bei greičio savybėmis kaip ir X ir Y platformą valdantys varikliai. Z ašies pavara leidžia sukurti maksimalų 100 mm tiesinį poslinkį. Svarbi šios pavaros techninė charakteristika yra keliamoji galia, kuomet pavara yra vertikalioje padėtyje. Gamintojas nurodo, kad pavaros vertikali keliamoji galia yra 3 kg, tai reiškia, kad mikroskopo ir mikrogriebtuvo mazgai kartu negali viršyti šios ribos (8MT175 motorized linear stage, 2020).

Mikropozicionavimo įrenginio žingsninių pavarų valdymas atliekamas *Raspberry Pi 4 Model B* vienaplokščiu, mini kompiuteriu (žr 2.2 pav.). *Raspberry Pi 4* esminės techninės savybės:

- Keturių branduolių *Cortex-A72* 64-bitų procesorius.
- Priklausomai nuo modelio 1, 2, 4 ir 8 GB pastovioji atmintis.
- *Wi-Fi*, *Bluetooth, Ethernet* ir USB duomenų perdavimo sąsajos.
- 5 V nuolatinės įtampos maitinimas (Raspberry Pi 4 Tech Specs, n. d.).

Žingsninių variklių valdymas realizuojamas per variklių valdiklius TMC2130 (žr. 2.2 pav.), kurie yra skirti valdyti dviejų polių žingsninius variklius. Variklių valdikliai pasižymi integruota mikrožingsnių indeksavimo technologija, variklio strigimo nustatymo be papildomų jutiklių technologija, maitinimo srovės valdymo technologija kuri priklauso nuo variklio apkrovos, bei itin tyliu veikimu. TMC2130 variklių valdiklis leidžia realizuoti variklio viso žingsnio padalijimą į 256 mikrožingsnių (TMC2130 Stepper Motor Driver, n. d.).



2.2 pav. Mikropozicionavimo įrenginio valdymo sistema: a) TMC2130 žingsninių variklių valdikliai; b) mikrovaldiklis *Raspberry Pi 4 Model B*

Kadangi *Raspberry Pi* mini kompiuteris valdomas specifine sistema, kuri veikia *Linux* operacinės sistemos pagrindu, todėl mikropozicionavimo įrenginio variklių valdymui naudojama *LinuxCNC* programinė įranga. *LinuxCNC* yra atviro kodo, nemokama programinė įranga, skirta vykdyti skaitmeninį, įvairių žingsninių ar servo pavarų pagrindu veikiančių įrenginių valdymą. Šia programine įranga galima valdyti iki 9 ašių ar jungčių, naudojant G kodą jų valdymui. *LinuxCNC* galima valdyti žingsninius variklius, servo variklius, solenoidus bei kitas pavaras (LinuxCNC documentation, 2024).

Mikropozicionavimo įrenginio valdymui per *LinuxCNC* programinę sistemą, naudojama *AXIS* vaizdinė vartotojo sąsaja. *AXIS* yra intuityvus įrankis, leidžiantis tiksliai ir lengvai valdyti CNC stakles. Nuo ašių konfigūravimo iki paleidimo rutinos nustatymo, vartotojai gali efektyviai, aiškiai ir paprastai vykdyti įvairias įrenginio funkcijas. *AXIS* sąsajoje naudojama realaus laiko vizualizacijos funkcija, kuri leidžia operatoriui stebėti įrenginio judėjimo parametrus bei trajektorijas. Naudojant tinkamas parinktis, *AXIS* sistema suteikia galimybę optimaliai manipuliuoti CNC įrenginiais, tiek pradedantiesiems vartotojams, tiek patyrusiems profesionalams. Vaizdinė vartotojo sąsaja leidžia įrenginį valdyti skirtingais būdais:

- Atskiras kiekvienos pavaros valdymas nurodant poslinkį, pradinio taško atžvilgiu, kurį turi vykdyti atskira pozicionieriaus ašis. Šis būdas yra paprastas, tačiau juo galima valdyti tik po vieną pavarą atskirai.

- Tiesioginis pavarų valdymas rašant G kodą. Šis valdymo būdas yra sudėtingesnis, kadangi reikia žinoti G kodo rašymo sintaksę, tačiau yra universalesnis, nes leidžia manipuliuoti visomis mikropozicinieriaus pavaromis tuo pačiu metu (AXIS GUI, 2024).

Nors žinome kokius maksimalius poslinkius gali atlikti pavaros, tačiau galinės padėties jutikliais poslinkių diapazonai yra šiek tiek sumažinami tam, kad nebūtų pasiekiamos kraštinės judėjimo ribos bei tam, kad įrenginys galėtų tiksliai susikalibruoti namų padėties koordinates net ir tuo atveju jeigu būtų neužfiksuotas variklio žingsnis ar jeigu pavaros būtų perstumtos fiziškai. Namų padėtyje X, Y, Z ir A ašys yra nustatomos ties 0,5 mm reikšme, o galinės X ir Y ašių reikšmės ties 101 mm, Z – 99 mm, A ašies galinė padėtis ties 49 mm.

Toliau aprašomas mikroskopo mazgas. Šį mechanizmų junginį sudaro trys esminiai komponentai: mikroskopas, mikroskopo kamera ir objektyvas.

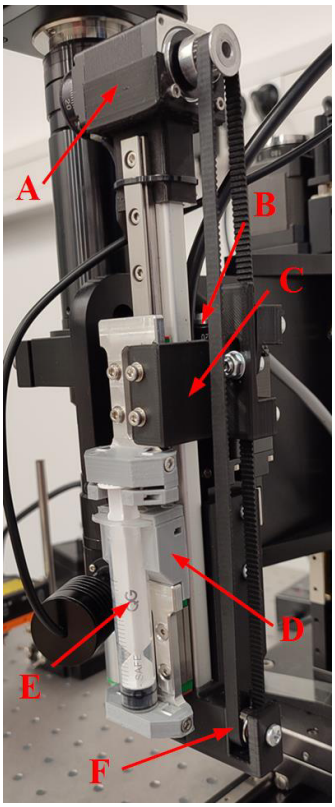
Įrenginyje naudojamas LS-DV1105D mikroskopas. Pagal gamintojo pateiktus duomenis, mikroskopas, su naudojamu objektyvu, gali atlikti nuo 7 iki 45 kartų optinį priartinimą. Techniniuose parametruose, nurodyta, kad dėl optinio priartinimo dydžio, mikroskopo matymo laukas gali kisti tarp 0,7 ir 0,1 mm. Kuomet prie mikroskopo yra prijungiama kamera su 6 mm įstrižainės dydžio jutikliu, o kameros vaizdas transliuojamas į 533,4 mm įstrižainės monitorių, ekrane matomas realaus objekto vaizdas gali būti padidėjęs iki 4000 kartų (LS-DV1105D microscope, n.d.).

Prie mikroskopo pritvirtinta speciali kamera, per USB sąsają leidžianti stebėti bei fiksuoti mikroskopo vaizdą kompiuteryje. Mikroskopui naudojama XCAMLITE4K kamera veikia naudojant SONY IMX334 vaizdinį jutiklį. Ši kamera pasižymi 4K vaizdine raiška, 8 MP (3840x2160) skiriamąja geba bei 30 kadrų per sekundę veikimo dažniu (XCAMLITE4K, 2023*)*.

Mikroskopu matomų vaizdų fiksavimas vykdomas kameros gamintojo nurodyta programine sistema – *RisingView*. Ši programinė įranga leidžia įvairiai manipuliuoti fiksuojamu kameros vaizdu: keisti vaizdo išlaikymo parametrus, keisti baltos spalvos balansą, vaizdo ryškumą ar pašalinti trikdžius. Taip pat *RisingView* programoje galima įsikelti vaizdinius tinklelius ar naudoti matavimo sistemas itin tiksliam mikroskopo pozicionavimui atilikti.

Galiausiai, prie mikroskopo pritvirtintas didelio darbinio atstumo L PLAN objektyvas. Šis objektyvas pasižymi tokiomis esminėmis charakteristikomis: 20 kartų vaizdo didinimas, darbinis atstumas – 10,4 mm, židinio nuotolis – 9 mm ir 0,8 μm skiriamoji geba (MT02513431 metallurgical objective, n.d.)

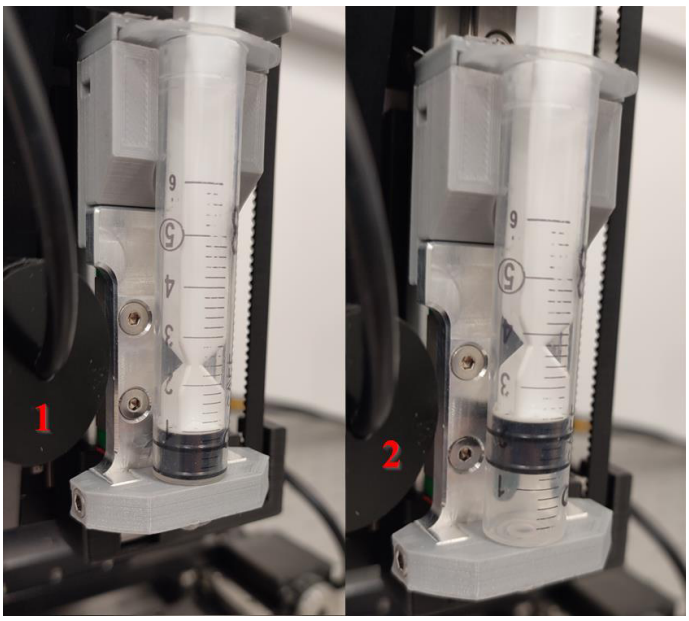
Toliau aprašomas mikrogriebtuvo (žr. 2.3 pav.) mazgas. Įrenginio pagrindas yra pagamintas iš termoplastiko ir pritvirtintas prie A ašį valdančiosios pavaros karietėlės. A ašies pagrindą sudaro 8MT30-50 pavara, kuria valdomas vertikalus mikrogriebtuvo judėjimas. Ši pavara turi nejudantį pagrindą prie kurio pritvirtintas žingsninis variklis. Žingsninis variklis valdo sraigtinės pavaros judėjimą, tokiu būdų variklio sukamąjį judesį paversdamas tiesiniu judesiu pavaroje. Prie sraigtinės pavaros pritvirtinta karietėle, ant kurios sumontuotas mikrogriebtuvo tvirtinimas. Šios pavaros žingsninis variklis pasižymi kitokiomis techninėmis savybėmis nei anksčiau minėti varikliai: pavaros maksimalus tiesinis judesys – 50 mm; sraigtinės pavaros sriegio žingsnis – 0,25 mm; pavaros skiriamoji geba – 1,25 µm varikliui dirbant viso žingsnio režimu ir 0,156 µm, kada variklis dirba aštuntadalio žingsnio režimu. Galiausiai gamintojas nurodo, kad šios pavaros vertikali keliamoji galia yra 3 kg, tai reiškia, kad mikrogriebtuvo mazgas negali viršyti šios ribos (8MT30-50 motorized translation stage, 2020).



2.3 pav. Mikrogriebtuvas: A – žingsninis variklis; B – 8MT30-50 A ašies valdymo pavara; C – karietėle švirkšto stūmokliui valdyti; D – švirkšto laikiklis; E – Q JECT 6 ml švirkštas; F – diržinės pavaros skriemulio laikiklis

Į pagrindo laikiklį įstatytas švirkštas. Ant karietėlės, judama jungtimi, sumontuotas švirkšto stūmoklio laikiklis. Švirkšto stūmoklio laikiklis pritvirtintas prie diržinės pavaros. Veikiant penktai žingsninei pavarai sukamasis judesys perduodamas į diržinę pavarą. Diržinė pavara atlikdama tiesinį judesį, formuoja švirkšto stūmoklio judėjimą. Diržinės pavaros žingsninio variklio valdymas

vykdomas Arduino Nano mikrovaldikliu. Prie mikrovaldiklio prijungtas mechaninis mygtukas. Mikrovaldiklis užprogramuotas taip, kad paspaudus mygtuką švirkšto stūmoklis pasikeltų, o dar kartą paspaudus mygtuką – nusileistų. Mikrovaldiklio programa yra sukurta taip, kad švirkšto stūmoklio pakėlimo metu (žr. 2.4 pav.), į švirkšto talpą maksimaliai gali patekti 1,4 ml skysčio, o švirkšto stūmoklio nuleidimo metu iš švirkšto talpos pašalinamas anksčiau įsiurbtas skystis.



2.4 pav. Mikrogriebtuvo veikimo pozicijos: 1 – išstumto skysčio padėtis, 2 – įtraukto skysčio padėtis

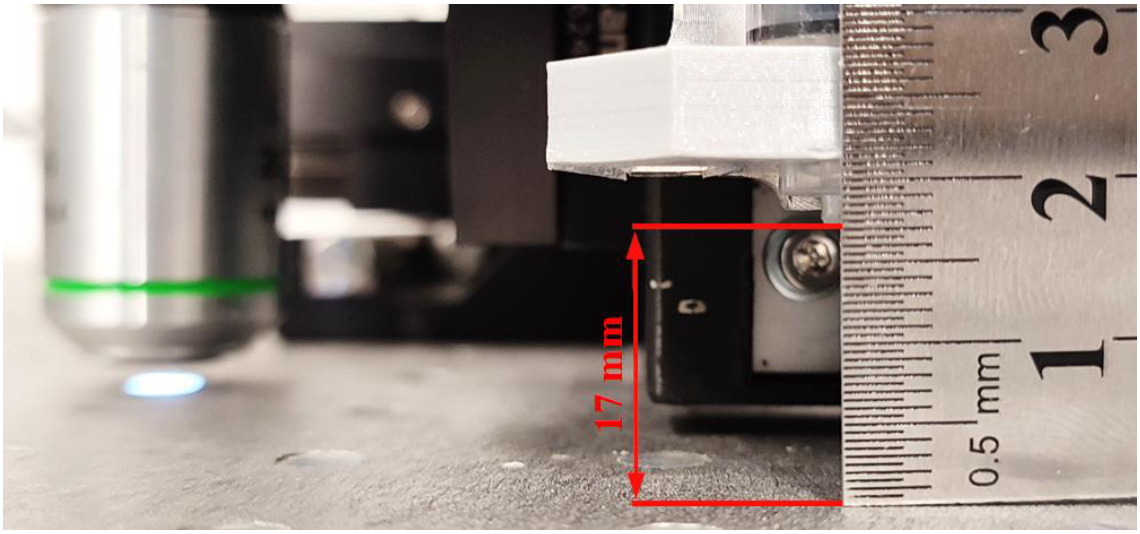
Apibendrinamas įrenginio analizę, galiu teigti, kad mikromanipuliatoriaus pavaromis galima atlikti ypač tikslias pozicionavimo užduotis. Mikroskopo parametrai leidžia patikimai vykdyti stebėjimus su itin mažomis mikrodalelėmis. Toliau apibendrinamos esminės įrenginio charakteristikos:

- Didžiausi galimi įrenginio ašių tiesiniai poslinkiai – X, Y = 102 mm, Z = 100 mm, A = 50 mm.
- Maksimalūs pavarų greičiai - X, Y, Z = 10 mm/s, A = 5 mm/s.
- Pavarų skiriamoji geba – X, Y, Z = 0,31 µm, A = 0,156 µm.
- Mikroskopo 14 - 90 kartų optinis didinimas.
- Kameros jutiklis – IMX334, 4K skiriamoji geba - 8,42 MP.
- Valdiklis – Raspberry Pi 4.

Atlikus mikropozicionavimo įrenginio tyrimus atkreiptas dėmesys į kelis esminius dizaino sprendimus, kurie kels iššūkius sprendžiant eksperimento užduotį.

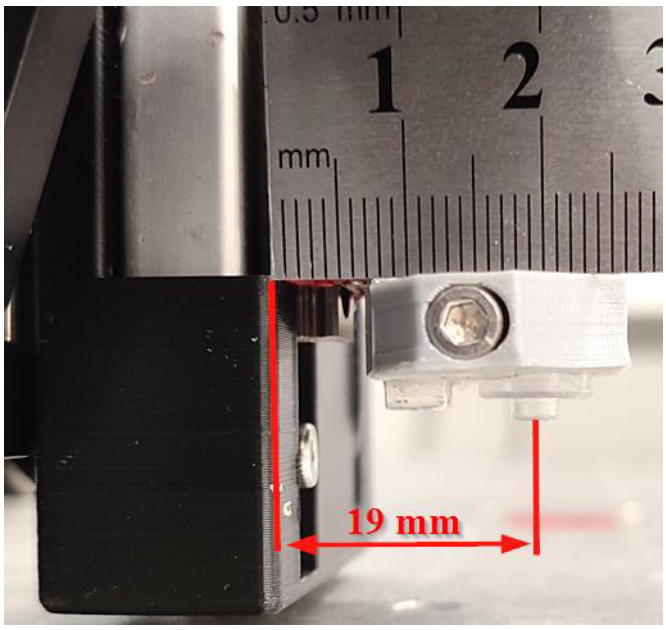
Atlikus preliminarius matavimus nustatyta, kad mikrogriebtuvo švirkšto įtraukimo anga yra nutolusi nuo mikroskopo stebėjimo objektyvo centro per 54 mm X ašies kryptimi, ir per 61,5 mm Y ašies kryptimi (X ir Y ašys pažymėtos pagal mikropozicionavimo įrenginio valdymo sistemoje nurodytas ašis). Iš eksperimento metodikos žinoma, kad mikroskopu reikės stebėti mikrogriebtuvu perkeltas mielių ląsteles, tai reiškia, kad mikroskopas ir mikrogriebtuvas, turi judėti tame pačiame darbiniame lauke. Dėl didelio atstumo tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo, susikertantis darbinis laukas, kuriame gali veikti abu įrenginiai, sumažėja iki 46 mm X kryptimi ir 38,5 mm Y kryptimi. Šis įrenginio dizaino sprendimas, lemia tai, kad eksperimento atlikimo zona sudarys tik penktadalį viso įrenginio darbinės aplinkos. Tikslus atstumas tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo bus nustatomas eksperimentiškai. Atstumo matmuo yra itin svarbus pagrindinės užduoties atlikimui.

Pastebėta, kada Z ir A ašys yra galinėje padėtyje (mikrogriebtuvo maksimalus nuleidimas iki stalo) tarp mikrogriebtuve esančio švirkšto įsiurbimo angos ir stalo horizontalaus paviršiaus susidaro apytikslis 17 mm tarpas (žr. 2.5 pav.), o švirkšto stūmoklio valdymo diržinės pavaros skriemulio laikiklis beveik liečia stalo horizontalųjį paviršių. Dėl tokio sprendimo, siekiant sugriebti, ant stalo padėtoje lėkštelėje esantį skystį, reikalingas papildomas švirkšto prailginimas arba lėkštelę iš kurios bus griebiamas skystis, reikia pakelti nuo stalo atitinkamu dydžiu siekiant užpildyti susidariusį tarpą.



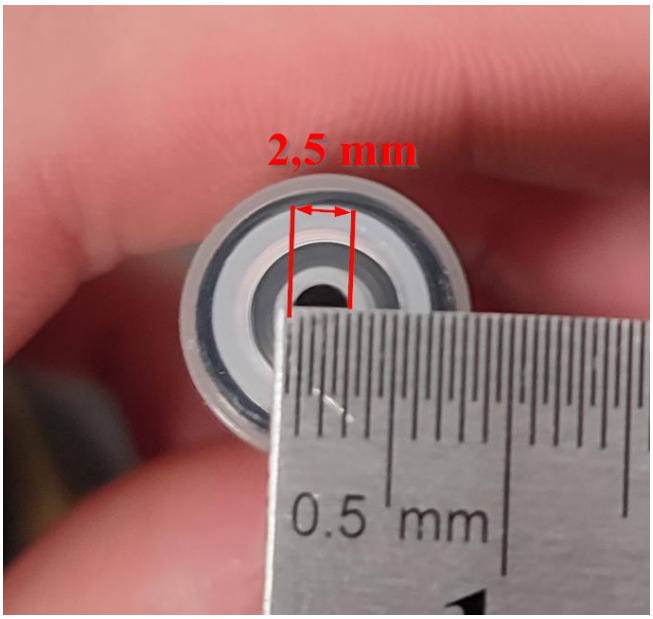
2.5 pav. Atstumas tarp švirkšto angos ir stalo paviršiaus, Z ir A ašiai esant galinėje padėtyje

Taip pat pastebėta, kad Z ir A ašims esant galinėje padėtyje, tarp švirkšto angos ir diržinės pavaros skriemulio laikiklio susidaro 19 mm tarpas (žr. 2.6 pav.). Šis sprendimas kelia kliūtį, kada lėkštelė į kurią bus išstumtas sugriebtas tirpalas bus pastatyta X ašies kryptimi nuo lėkštelės iš kurios bus griebiamas tirpalas. Esant šiai situacijai, reikalingi papildomi mikrogriebtuvo pozicionavimo veiksmai Z ašies atžvilgiu, siekiant skriemulio laikikliu nepriliesti ar kitaip neužkabinti petri lėkštelės sienelių. Šis mikrogriebtuvo dizaino sprendimas iššaukia papildomus pozicionavimo veiksmus keliomis ašimis, pailgindamas eksperimento atlikimo procesą.



2.6 pav. Atstumas tarp švirkšto angos ir diržinės pavaros skriemulio laikiklio

Dar pastebėta, kad švirkšto angos skersmuo yra 2,5 mm dydžio (žr. 2.7 pav). Iš anksto numatoma, kad eksperimentus reikės atlikti su gyvomis alaus mieliagrybių ląstelėmis (lot. Saccharomyces cerevisiae), kurių dydis, priklausomai nuo aplinkos sąlygų, gali svyruoti tarp 5 ir 10 µm (Zakhartsev & Reuss, 2018). Tai reiškia, kad įsiurbimo angos dydis yra 250 – 500 kartų didesnis už mielės dydį. Siekiant išspręsti šia problemą, prie švirkšto galima būtų primontuoti stiklinį mikropipetės antgalį arba švirkšto adatą, kurių įsiurbimo angos skersmuo būtų vos kelis kartus didesnis už mielę. Tuo pat metu būtų išspręsta ir skriemulio laikiklio kliūties problema. Angos dydžio problemą spręsti galima mielių tirpalo sudarymo procese, kuomet mielių tirpalas yra skiedžiamas iki tokio lygio, kad mielių koncentracija tirpale taptų itin maža. Šis sprendimas padidina tikimybę, jog sugriebimo metu, įsiurbtame tirpale bus tik viena mielė.



2.7 pav. Įsiurbimo angos skersmuo (Ø2,5 mm)

Pastebėta, kad visos sistemos valdymas yra vykdomas per tris skirtingus valdiklius: X, Y, Z ir A ašių valdymas realizuojamas per Raspberry Pi mikrokompiuterį, švirkšto stūmoklio pakėlimo ir nuleidimo mechanizmas valdomas per Arduino Nano mikrovaldiklį, o dalelių stebėjimas mikroskopu – per stacionarųjį kompiuterį. Toks sistemos valdymas yra gana sudėtingas ir iš pirmo žvilgsnio painus. Siūloma švirkšto stūmoklio valdymą perkelti į Raspberry Pi mikrokopiuterį, kadangi techninės įrenginio savybės netrukdo tą atlikti. Įgyvendinus šį pasiūlymą, visos įrenginio pavaros būtų valdomos mikrokompiuteriu, o valdymo komandos būtų siunčiamos iš stacionariojo kompiuterio.

Taip pat ištirta, kad mikropozicionavimo įrenginio techninės galimybės neleidžia stebėti mikrodalelių, sugriebimo metu. Tai yra esminis trūkumas, kuris ypatingai sumažina įrenginio veikimo tikslumą, kuomet bandoma sugriebti gyvas biologines mikrodaleles. Pavyzdžiui, aktyvios mielių ląstelės tirpale nuolat juda, o tai reiškia kad jų pozicija nuolat keičiasi visų trijų dimensijų atžvilgiu. Vykdant bandymus, ląstelės yra stebimos mikroskopu, o vėliau, siekiant jas sugriebti, mikrogriebtuvas yra pozicionuojamas į tą pačia padėtį kurioje buvo mikroskopas. Pozicionavimo metu mielės ląstelė gali pasislinkti iš numatytos pozicijos ir sugriebimas taps nesėkmingu. Siekiant išvengti šios problemos, po lėkštele reikėtų sumontuoti didelės raiškos kameros jutiklį, kuris leistų stebėti ir tiksliau valdyti sugriebimo procesą. Toliau, siekiant automatizuoti šį procesą, būtų galima pritaikyti kompiuterinio mokymo ir vaizdų atpažinimo algoritmus bei kameros jutiklio duomenis tam, kad dalelių sugriebimo procesas taptų ypač tikslus.

Toliau aprašoma eksperimentų atlikimo metodika ir bandymų rezultatai. Eksperimentiniai tyrimai atliekami su mikropozicionavimo įrenginiu, kuriame įtvirtintas mikroskopas ir vakuuminis mikrogriebtuvas. Pagrindinio eksperimento tikslas – mikrogriebtuvu sėkmingai perkelti mieles iš vienos talpos į kitą. Perkėlimo faktą įrodyti patikrinant perkeltą tirpalą su mikroskopu. Prieš atliekant šį eksperimentą, būtina nustatyti realų darbinį lauką, kuriame galima atlikti užsibrėžtą eksperimentą. Siekiant sužinoti koks yra realus darbinis eksperimento laukas, reikia nustatyti kokiu atstumu vienas nuo kito, stalo plokštumos atžvilgiu, yra sumontuotas mikroskopas ir mikrogriebtuvas. Eksperimentinių tyrimų tikslai:

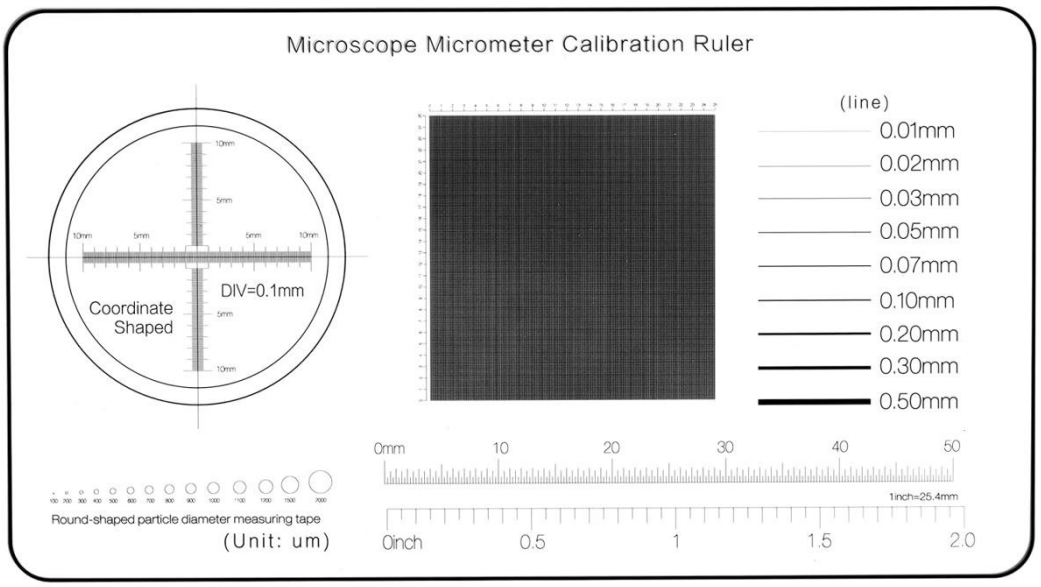
- Praktiškai nustatyti atstumą tarp mikroskopo objektyvo centro ir mikrogriebtuvo švirkšto angos centro, stalo plokštumos (X ir Y ašių) atžvilgiu.
- Paruošti tirpalą su tinkama mielių koncentracija.
- Fiziškai pažymėti sugriebiamą ląstelę.
- Įvykdyti ląstelės sugriebimo ir perkėlimo procesą.
- Mikroskopu nustatyti ir įrodyti, kad mielių perkėlimo procesas yra sėkmingas.
- Sukurti eksperimento atlikimo programą LabView programinės įrangos aplinkoje.

2.2. Atstumo tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo nustatymas

Mielės sugriebimo procese numatyta naudoti nuokrypio metodą. Šis metodas realizuojamas valdant mikrogriebtuvo ir mikroskopo pozicionavimą, kai naudojamas minėtųjų įrenginių, centrinių ašių nuokrypio atstumas, pagal horizontalę plokštumą. Tai reiškia, kad mikroskopas į mikrogriebtuvo poziciją (ir atvirkščiai) bus pozicionuojamas pagal atstumą, kuris skiria šiuos du įrenginius.

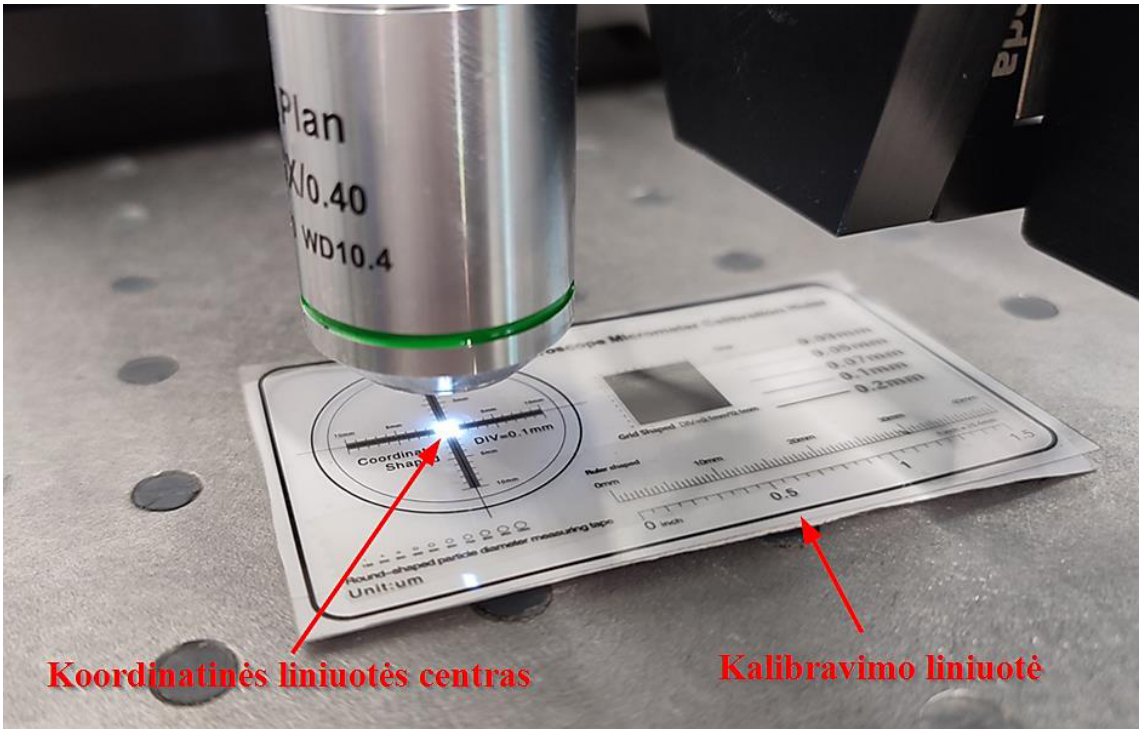
Tam, kad nuokrypio metodas būtų sėkmingai įvykdytas, reikia nustatyti atstumą tarp mikrogriebtuvo ir mikroskopo centrinių ašių. Atstumui tarp įrenginių nustatyti bus naudojami du papildomi komponentai: mikroskopo mikrometrinė kalibravimo liniuotė (žr. 2.8 pav.) ir 23 kalibro švirkšto adata. Toliau aprašoma atstumo nustatymo metodika:

1. Prie stalo pritvirtinama mikrometrinė kalibravimo liniuotė.
2. Mikroskopas pozicionuojamas į koordinatinį liniuotės ploto centrą.
3. Stebint vaizdą mikroskopo kamera, įsitikinama, kad mikroskopas yra pozicionuotas virš liniuotės centro.
4. Užfiksuojamos X ir Y ašių koordinatės esamoje mikroskopo pozicijoje.
5. Mikrogriebtuvas pozicionuojamas į koordinatinį liniuotės ploto centrą.
6. Stebint vaizdą, su mikrogriebtuvo adata pataikoma į koordinatinės liniuotės ploto centrą.
7. Užfiksuojamos X ir Y ašių koordinatės esamoje mikroskopo pozicijoje.
8. Iš pirmiau užfiksuotų X ir Y koordinačių atimamos esamų X ir Y koordinačių reikšmės.
9. Apskaičiuojamas nuokrypis tarp mikroskopo objektyvo centro ir mikrogriebtuvo centro.

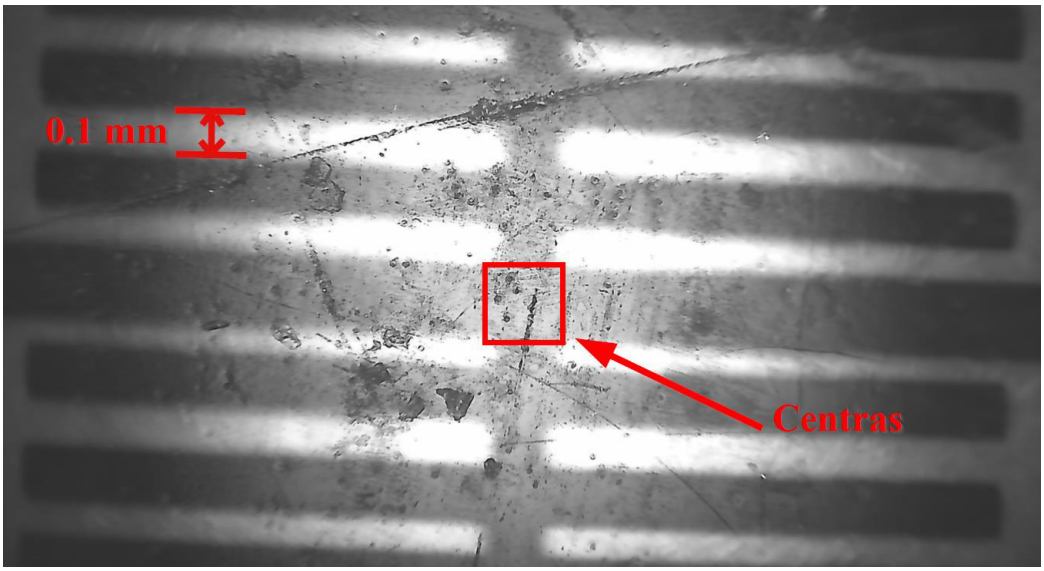


2.8 pav. Mikroskopo mikrometrinė kalibravimo liniuotė

Toliau aprašomas nuokrypio nustatymo procesas. Pirminiame proceso žingsnyje mikroskopas pozicionuojamas į mikroskopo ir mikrogriebtuvo darbinių laukų persidengimo erdvę. Iš teorinių tyrimų žinoma, kad šis laukas preliminariai prasideda nuo mikropozicionavimo įrenginio X ašies 54 mm poslinkio ir Y ašies 61,5 mm poslinkio. Atstumo nustatymo metu X ir Y ašys pozicionuojamos šiek tiek toliau į darbinių laukų persidengimo plotą: 69 mm poslinkiu X ašies kryptimi ir 77 mm poslinkiu Y ašies kryptimi. Ant stalo pritvirtinama mikrometrinė kalibravimo liniuotė taip, kad mikroskopo generuojamas šviesos spindulys susidarytų preliminariai koordinatinės liniuotės centre (žr. 2.9 pav.). Toliau, stebint vaizdą mikroskopu, vykdomi itin maži poslinkiai X ir Y ašių kryptimi tam, kad mikrometrinės koordinatinės liniuotės centras atsidurtų objektyvo centre (žr. 2.10 pav.).

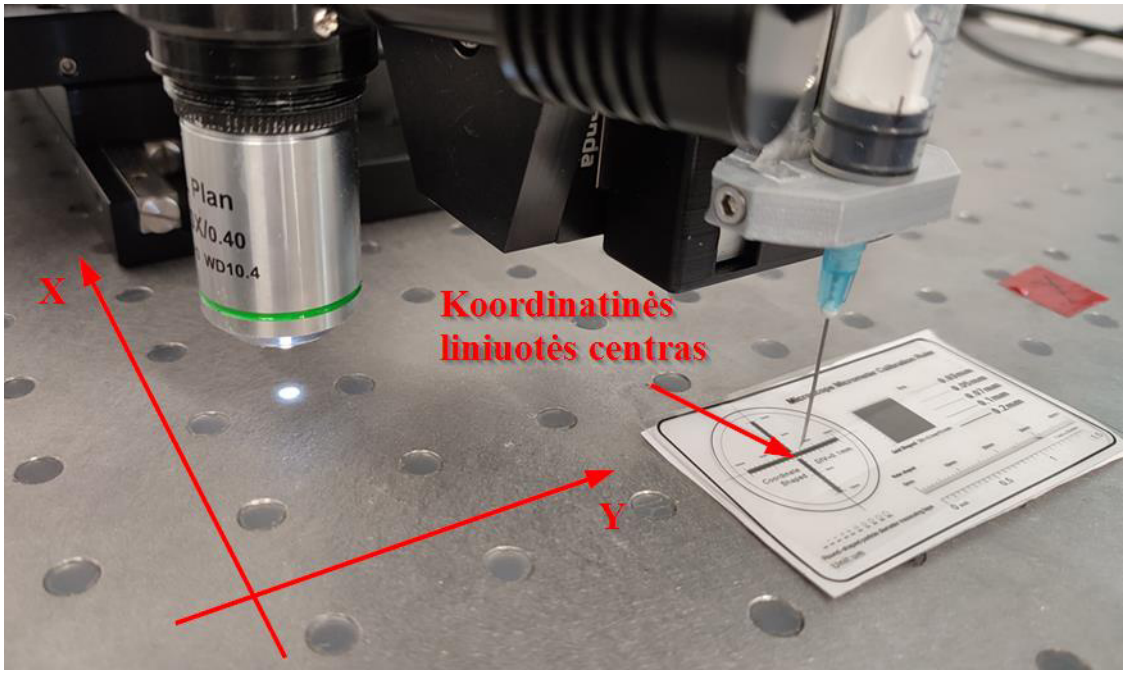


2.9 pav. Mikroskopo pozicionavimas virš mikrometrinės liniuotės



2.10 pav. Mikroskopu matomas mikrometrinės liniuotės vaizdas

Atlikus tikslų mikroskopo pozicionavimą į koordinatinės liniuotės centrą, užfiksuojamos X ir Y koordinačių reikšmės. Šiuo atveju gaunamos reikšmės yra: 69,887 mm X kryptimi ir 77,687 Y kryptimi. Toliau atliekamas įrenginio X ir Y ašių manipuliavimas iki mikrogriebtuvo adata atsidurs virš koordinatinės liniuotės centro (žr. 2.11 pav.).



2.11 pav. Mikrogriebtuvo adatos pozicionavimas

Iš adatos gamintojo pateikiamos informacijos žinoma, kad tai yra 23 kalibro švirkšto adata pasižymi 0.642 mm išoriniu skersmeniu, o tai reiškia, kad preliminariai pozicionavimas bus pakankamai tikslus (Needle Gauge Chart, n. d.). Siekiant atlikti tikslesnį nuokrypio matavimą, šioje vietoje būtų reikalinga papildoma kamera, kuria būtų galima stebėti adatos pozicionavimą mikrometrinėje skalėje. Atlikus adatos pozicionavimą, užfiksuojamos mikropozicionavimo įrenginio X ir Y ašių reikšmės. Po šio žingsnio X ašies poslinkis lygus 14,680 mm, o Y ašies poslinkis atitinkamai 15,200 mm. Po aktualiųjų reikšmių nustatymo, pereinama prie nuokrypio skaičiavimo:

$$\Delta X = X_M - X_G \tag{2.1}$$

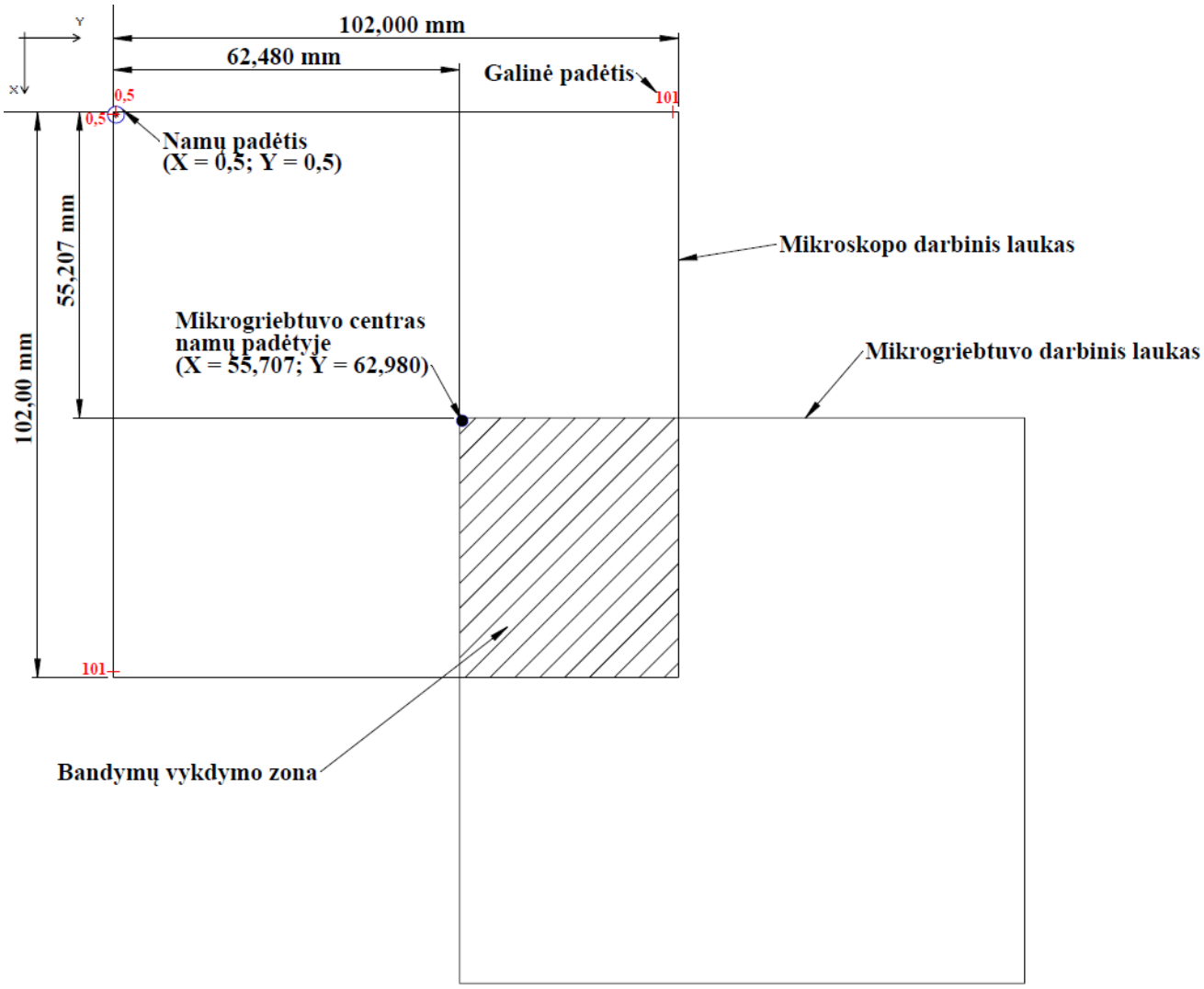
$$\Delta Y = Y_M - Y_G \tag{2.2}$$

Čia - ΔX – atstumas tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo centro X ašies kryptimi, - ΔY – atstumas tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo centro Y ašies kryptimi, X_M – mikroskopo pozicionavimo padėtis X ašyje, X_G – mikrogriebtuvo pozicionavimo padėtis X ašyje, Y_M – mikroskopo pozicionavimo padėtis Y ašyje, Y_G – mikrogriebtuvo pozicionavimo padėtis Y ašyje.

$$\Delta X = 69{,}887 - 14{,}680 = 55{,}207 \text{ mm}$$

$$\Delta Y = 77{,}687 - 15{,}200 = 62{,}480 \text{ mm}$$

Parengtoje mikroskopo ir mikrogriebtuvo darbinių laukų schemoje (žr. 2.12 pav.) vizualiai pateiktos darbinių laukų tarpusavio padėtys bei jų susikirtimo laukas. Pažymėtos mikroskopo ir mikrogriebtuvo centrinių ašių padėtys namų padėtyje. Schema parengta pagal realias proporcijas tam, kad būtų atspausdinta 1:1 masteliu ir naudojama, kaip vaizdinė priemonė mikropozicionavimo įrenginio naudotojams. Gautos nuokrypio reikšmės yra beveik lygios įrenginio tyrime nustatytoms reikšmėms. Iš pozicionieriaus X ir Y ašių platformos techninių duomenų bei realaus judėjimo lauko žinoma, kad maksimalus galimas nuokrypis nuo namų padėties abiejose ašyse yra – 100,5 mm, šis faktas pažymėtas darbinių laukų schemoje. Nustatyta, kad mikrogriebtuvo centro pradinė padėtis yra daugiau nei puse visos X ir Y pavarų galimos eigos, nutolusi nuo mikroskopo centro padėties, tai reiškia, kad abiejų įrenginių persidengiantis darbinis plotas yra itin mažas, o tai stipriai apriboja tolimesnę darbo eigą. Galiausiai nustatytos reikšmės bus naudojamos mielių sugriebimo eksperimente bei kuriant eksperimento atlikimo valdymo programinę įrangą.



2.12 pav. Mikroskopo ir mikrogriebtuvo darbinių laukų schema

2.3. Mielių tirpalo paruošimo metodika ir tyrimas

Siekiant paruošti tinkamą tirpalą mielių perkėlimo eksperimentui atlikti, naudojamos šios priemonės: tirpios mielės, distiliuotas vanduo bei tirpalo maišymo talpos. Šiame procese siekiama paruošti kuo mažesnės koncentracijos mielių tirpalą tam, kad būtų įmanoma sukurti didesnę tikimybę sugriebti tik vieną mielės ląstelę. Šiai tikimybei padidinti naudojama 23 kalibro medicininė adata, kurios vidinis skersmuo siekia 0,337 mm. Tirpalo sugriebimo procesui numatoma naudoti 0,25 ml tūrio tirpalą.

Remiantis Van Den Berg and Van Landschoot (2003) publikacija, nustatyta, kad skirtingų gamintojų tirpių mielių pakuotėse mielių ląstelių kiekis gali skirtis. Tirpalui paruošti naudojamos Dr. Oetker tirpiosios mielės. Gamintojas nenurodo, koks galimas mielių ląstelių kiekis vienoje pakuotėje. Tirpalo paruošimo skaičiavimams parenkamas vidutinis mielių ląstelių kiekis viename grame tirpių mielių iš Van Den Berg and Van Landschoot (2003) publikacijos. Moksliniame darbe nurodytas skirtingų gamintojų mielių ląstelių kiekis viename tirpių mielių grame. Skaičiavimams parenkamas mielių ląstelių grame skaičius – $1{,}6 \cdot 10^{10}$. Numatoma, kad skaičiavimų rezultatai bus preliminarūs nes:

- Mielių ląstelės yra nevienodai pasiskirsčiusios tirpių mielių granulėse.
- Distiliuotame vandenyje ištirpusios mielės bus netolygiai pasiskirsčiusios visame tirpalo tūryje.
- Mielių ląstelių kiekis tirpių mielių grame yra preliminarus.
- Mielių ląstelės gali prikibti prie talpų sienelių, kuriose bus talpinamas tirpalas.

Dėl šių priežasčių kiekvienas tirpalas turi būti stebimas mikroskopu ir praktiškai nustatomas mielių kiekis tirpale.

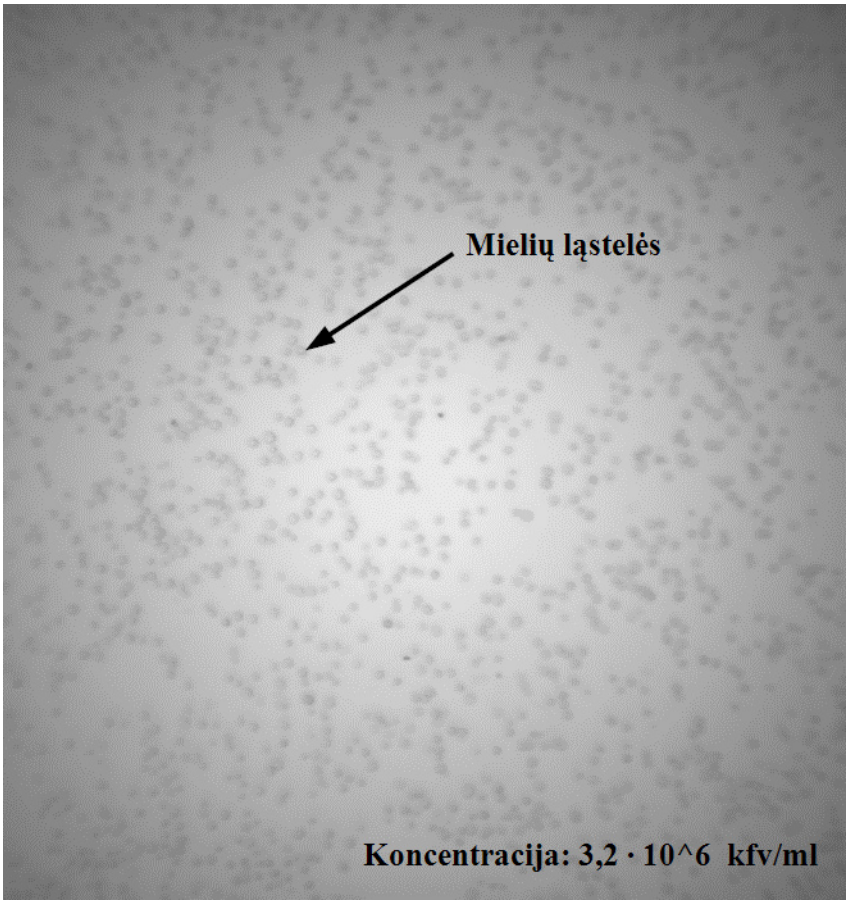
Toliau aprašomi skaičiavimai. Pirminiam mielių tirpalui paruošti 10^{-3} g tirpių mielių ištirpinama 5 ml distiliuotame vandenyje. Apskaičiuojamas teorinis šio tirpalo mielių ląstelių kiekis viename mililitre:

$$N_1 = \frac{n_m \cdot \mathrm{m}_1}{V_1} \tag{2.3}$$

Čia: N_1 – pirmojo tirpalo mielių ląstelių kiekis viename mililitre tirpalo (kfv/ml), n_m – mielių ląstelių kiekis viename grame tirpių mielių, m_1 – tirpių mielių kiekis pirmajam tirpalui paruošti (g), V_1 – pirmojo tirpalo tūris (ml).

$$N_1 = \frac{1{,}6 \cdot 10^{10} \cdot 10^{-3}}{5} = 3{,}2 \cdot 10^6\ kfv/ml$$

Pirminio mielių tirpalo stebėjimui per mikroskopą (žr. 2.13 pav.), ant objektinio stiklelio užlašinamas 0,25 ml tirpalo tūris ir pastebima, kad mielių ląstelių tankis yra per didelis, todėl būtina mažinti tirpalo koncentraciją. Toliau atliekami skaičiavimai antriniam tirpalui.



2.13 pav. Pirminio mielių tirpalo vaizdas per mikroskopą

Antriniam tirpalui paruošti, iš pirmojo tirpalo, pastero pipete, imamas 0,25 ml tūris ir išmaišomas talpoje su 100 ml distiliuotu vandeniu. Atliekamas skaičiavimas vidutiniam mielių ląstelių kiekiui viename mililitre antrojo tirpalo nustatyti:

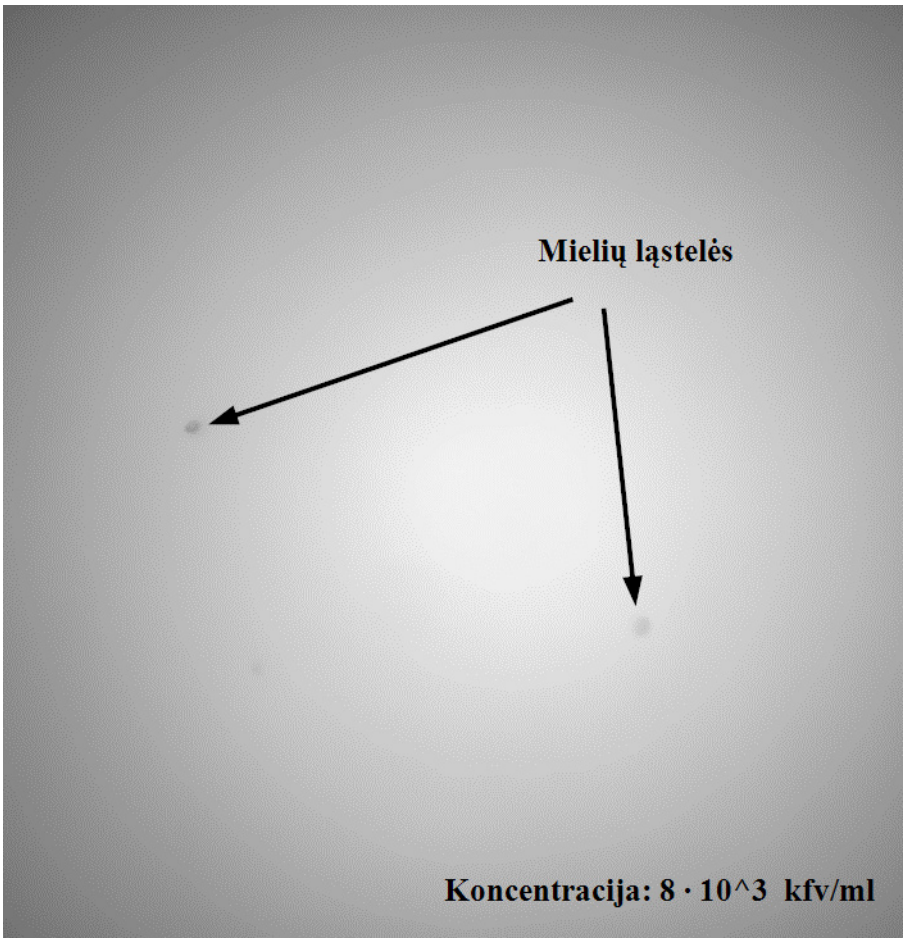
$$N_2 = \frac{N_1 \cdot \mathrm{V}_p}{V_2} \tag{2.4}$$

Čia: N_2 – antrojo tirpalo mielių ląstelių kiekis viename mililitre tirpalo (kfv/ml), V_p – pirmojo tirpalo tūrio dalis (ml), V_2 – pirmojo tirpalo tūris (ml).

$$N_2 = \frac{3{,}2 \cdot 10^6 \cdot 0{,}25}{10^2} = 8 \cdot 10^3\ kfv/ml$$

Antrinio mielių tirpalo stebėjimui per mikroskopą (žr. 2.14 pav.), ant objektinio stiklelio užlašinama 0,25 ml naujai paruošto tirpalo. Teoriškai šiame laše tirpalo, tūrėtų būti 2000 mielių ląstelių. Stebint mikroskopu galima pastebėti vos kelias mielių ląsteles. Kadangi paklaidos dėl netolygaus mielių ląstelių kiekio pasiskirstymo tirpiose mielėse bei sudarytuose tirpaluose gali

svyruoti plačiame spektre, todėl priimamas sprendimas, kad antrinio tirpalo koncentracija yra tenkinanti tolesniam eksperimentų atlikimui.



2.14 pav. Antrinio mielių tirpalo vaizdas per mikroskopą

Taigi iš apskaičiuotų teorinių reikšmių bei atlikto tiesioginio tirpalo tyrimo, stebint tirpalą mikroskopu nustatyta, kad gautos teorinės reikšmės menkai atitinka tikrąsias reikšmes, dėl šios priežasties pasiliekama pakankamai daug vietos galimai mielių ląstelių kiekio tirpale paklaidai. Tirpalas su kuriuo bus atliekamas eksperimentas, skaičiavimų metu nustatyta, kad turės 8000 mielių ląstelių viename tirpalo mililitre. Tirpalo perkėlimo bandymas bus atliekamas su 0,25 mililitru tirpalo tūriu, o tai reiškia, kad preliminariai eksperimento tirpale turėtų būti 2000 mielių ląstelių.

2.4. Mielių tirpalo sugriebimo ir perkėlimo metodika bei bandymas

Viena iš esminių baigiamojo darbo užduočių yra sukurti mikropozicionavimo įrenginio valdymo programą, kuria naudojantis būtų galima paprastai atlikti biologinės mikrodalelės sugriebimo ir perkėlimo užduotį. Prieš sukuriant šią valdymo programą, būtina atlikti numatytą eksperimentą rankiniu būdu, pavieniais ašių pozicionavimais, nustatant kliūtis, su kuriomis yra susiduriama mikrodalelės sugriebimo metu.

Bandymo atlikimui naudojamos priemonės:

- Mielių ir distiliuoto vandens tirpalas.
- Pastero pipetė.
- Objektiniai stikleliai.
- Medicininio švirkšto, 23 kalibro adata su bukintu galu (dozavimo adata).
- Papildomos paviršiaus paaukštinimo priemonės.

Prieš pradedant atlikti eksperimentą, susidaroma bandymo atlikimo metodika:

1. Ant pirmojo objektinio stiklelio užlašinamas mielių tirpalas.
2. Objektinis stiklelis padedamas nustatytoje darbinėje erdvėje.
3. Šalia objektinio stiklelio su mielėmis, padedamas švarus objektinis stiklelis.
4. Manipuliuojant mikropozicionavimo įrenginiu, mikroskopas pozicionuojamas virš objektinio stiklelio su mielių tirpalu.
5. Mikroskopu identifikuojamos individualios mielės.
6. Manipuliuojant mikropozicionavimo įrenginiu, mikrogriebtuvas pozicionuojamas virš objektinio stikelio su mielių tirpalu.
7. Mikrogriebtuvu įsiurbiamas tirpalas su ląstelėmis.
8. Manipuliuojant mikropozicionavimo įrenginiu, mikrogriebtuvas pozicionuojamas virš švaraus objektino stiklelio.
9. Išstumiamas mielių tirpalas iš mikrogriebtuvo tūrinės angos.
10. Manipuliuojant mikropozicionavimo įrenginiu, mikroskopas pozicionuojamas virš mielių tirpalo esančio naujoje padėtyje.
11. Mikroskopu identifikuojamas sėkmingas mielių perkėlimas.

Sėkmingai įvykdžius iš anksto numatytus žingsnius tikimasi identifikuoti sėkminga mielės ląstelės perkėlimą iš vienos pozicijos į kitą.

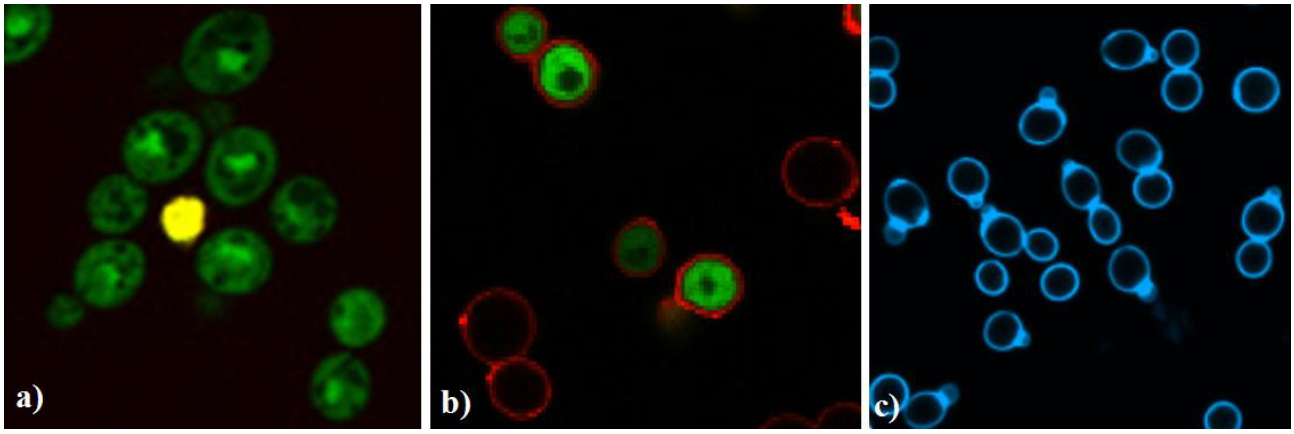
Pirmiausia pasiruošiamas mielių tirpalas. Mielių tirpalas paruošiamas pagal 2.3 poskyryje ištirtą tinkamą tirpalo koncentraciją. Bandymų atlikimo metodikoje buvo numatomas fizinis mielių ląstelių pažymėjimas tam, kad būtų įmanoma atskirti, ar tikrai ta pati mielės ląstelė perkelta, kuri buvo matoma prieš sugriebimą. Mokslinėje literatūroje aprašomi skirtingi mielių ląstelių pažymėjimo procesai, tačiau Kwolek-Mirek and Zadrag-Tecza (2014) moksliniame darbe išskiriami šie metodai:

- Ląstelės dažymas fluorescenciniais dažais.
- Ląstelės dažymas lipofiliniais dažais.
- Ląstelės padengimas nanodalelėmis
- Genetinis ląstelės modifikavimas.

- Ląstelės ženklinimas antikūniais.
- Ląstelės mikroinjekcija.

Visi šie metodai yra labai sudėtingi ir reikalaujantys papildomų įrankių. Dėl šios priežasties pasirenkamas mažiausiai papildomų priemonių reikalaujantis procesas - ląstelės dažymas fluorescenciniais dažais. Šio proceso metu mielių tirpalas sumaišomas su dažų reagentu. Mokslinėje literatūroje aprašomi skirtingi fluorescencinių dažų reagentai skirti mielių ląstelių dažymui.

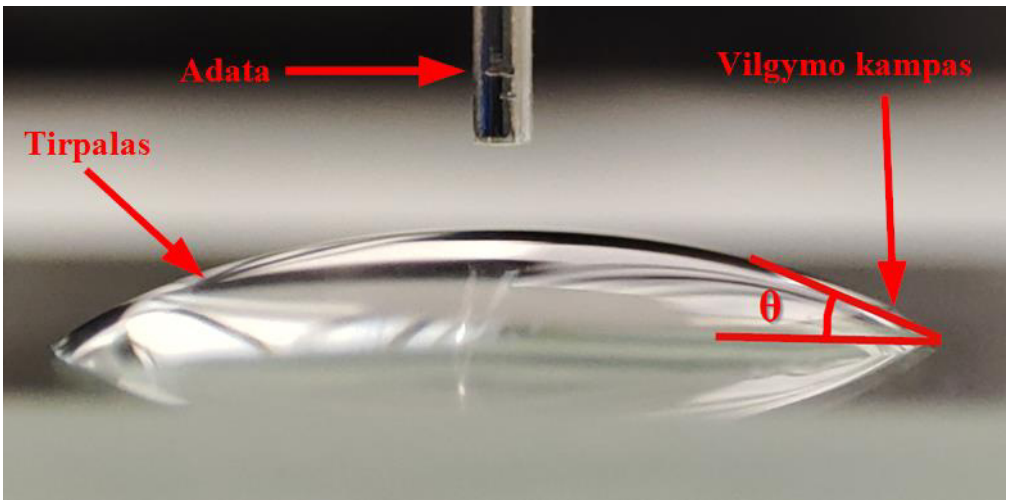
Komerciškai prieinami fluorescencinių dažų reagentai (žr. 2.15 pav.), išskiriami pagal paskirtį: atskirti gyvas ląsteles nuo negyvų; nudažyti ląstelių paviršių; skirtingomis spalvomis atskirti ląstelės membraną ir branduolį (Yeast Stains, 2024).



2.15 pav. Mielių ląstelių fluorescenciniai dažai: a) atskiriantys gyvas ir negyvas ląsteles, b) atskiriantys ląstelės membraną ir branduolį, c) dažantys ląstelės paviršių (Yeast Stains, 2024)

Pagal eksperimento metodiką, bandymų atlikimui labiausiai tinka ląstelės paviršiaus dažai, tačiau reagentą sumaišius su mielių tirpalu, bus nudažytos visos tirpale esančios ląstelės. Tai reiškia, kad komerciškai prieinamo ir lengvai įgyvendinamo fizinio vienos mielės ląstelės pažymėjimo proceso tirpale nėra, todėl ši užduotis darbe nebus įgyvendinta. Ląstelių pažymėjimą siūloma įgyvendinti dirbtinio intelekto ir vaizdų atpažinimo algoritmais. Toliau aprašoma eksperimento atlikimo eiga:

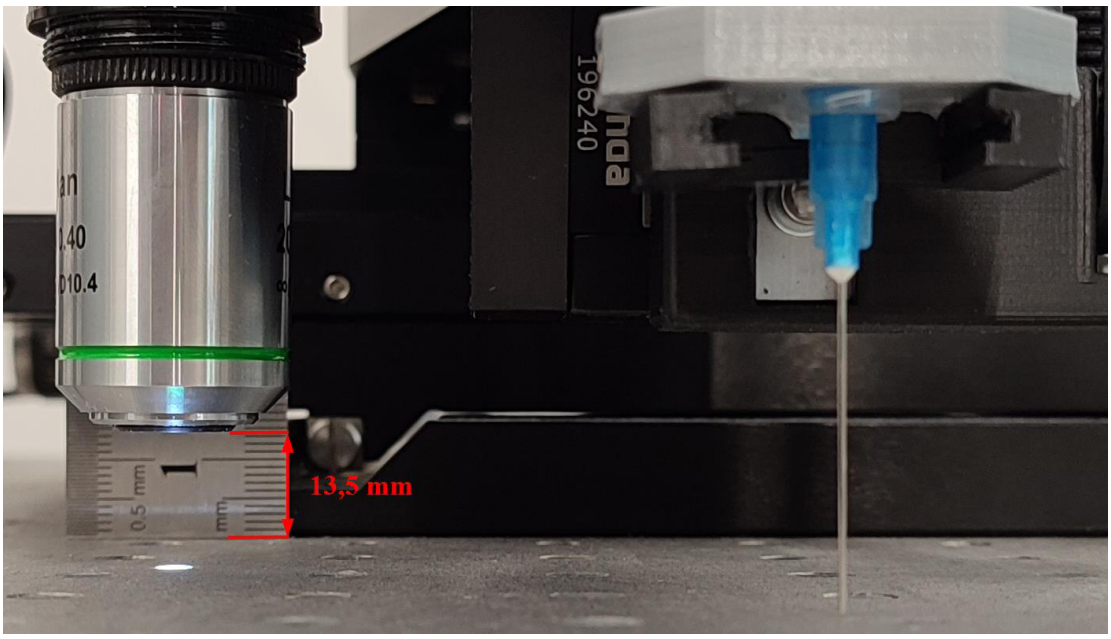
Naudojant pipete, įsiurbiamas 0,25 ml mielių tirpalo tūris. Susiurbtas tūris užlašinamas ant objektinio stiklelio. Mielių tirpalo lašui pasiekus objektinio stiklelio paviršių, pastebimas vilgymo reiškinys (žr. 2.16 pav.). Tai yra paviršinis reiškinys, atsirandantis kietajam kūnui liečiantis su skysčių ar garais. Vilgymas yra matuojamas kontakto kampu. Šis kampas matuojamas tarp skystį ir garus skiriančio paviršiaus liestinės bei skystį ir kietą medžiagą skiriančio paviršiaus liestinės (Huhtamäki et al., 2018).



2.16 pav. Mielių tirpalo ir objektinio stiklelio vilgymo reiškinys

Vilgymo kampui turi įtakos tokie reiškiniai: paviršiaus hidrofobiškumas, paviršiaus hidrofiliškumas, paviršiaus šiurkštumas, tarpmolekulinės jėgos, aplinkos temperatūra ir slėgis. Pastebima, kad užlašinus tirpalą ant objektinio stiklelio, vilgymo kampas nėra pastovus, o tai reiškia, kad kiekvieno bandymo metu skystis bus pakilęs skirtingu, mikrometriniu atstumu nuo objektinio stiklelio paviršiaus. Dėl šio reiškinio numatoma, kad visiškai automatizuoti bandymo atlikimą su turimais įrankiais yra neįmanoma, o norint stebėti ar sugriebti tirpalą, visuomet reikės atlikti itin smulkius pozicionavimo veiksmus vertikalios mikropozicionavimo įrenginio ašies atžvilgiu. Dar pastebima, kad horizontalus adatos galas puikiai tinka mažo vilgymo kampo skysčiui susiurbti. Naudojant standartinę adatą, su gale esančia nuožulna, šį bandymą pavyktų atlikti tik tuo metu, jeigu tirpalas būtų užlašintas ant hidrofobinio paviršiaus ir susidarytų itin didelis vilgymo kampas.

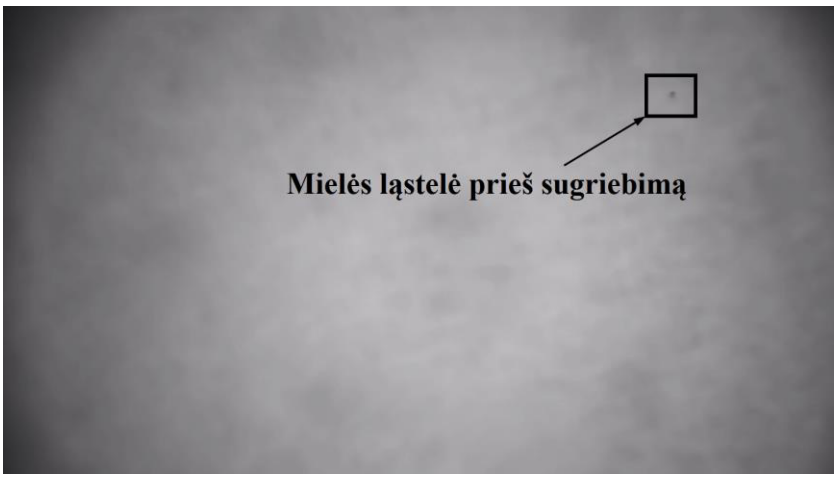
Atliekant pasiruošimą bandymui, pastebima, kad užmovus adatą ant mikrogriebtuvo švirkšto, o mikropozicionavimo įrenginio vertikaliosios ašies koordinatėms pasiekus tokią reikšmę, kada adata beveik liečia darbinį paviršių, tarp objektyvo ir darbinio paviršiaus susidaro reikšmingas tarpas (žr. 2.17 pav.). Išmatuojama, kad šis tarpas siekia 13,5 milimetrus. Iš ankstesnio įrenginio tyrimo žinoma, kad mikroskopo objektyvo darbinis atstumas yra 10,4 milimetrai, tai reiškia, kad adatos ilgis trukdys atlikti stebėjimus mikroskopu. Dėl šios kliūties numatoma, kad objektinis stiklelis, ant kurio bus užlašinamas mielių tirpalas, turi būti pakeltas nuo darbinio stalo paviršiaus mažiausiai per 3,1 milimetrą, naudojant papildomas paviršiaus paaukštinimo priemones.



2.17 pav. Atstumas tarp objektyvo ir paviršiaus galinėje Z ašies padėtyje

Toliau objektinis stiklelis su tirpalo lašu padedamas į mikroskopo ir mikrogriebtuvo darbinių laukų susikirtimo zoną, kuri buvo nustatyta 2.2 poskyryje. Prieš pradedant manipuliuoti mikropozicionavimo įrenginiu, pasirenkamas taškas X ir Y ašių plokštumoje, kuris būtų minėtoje susikirtimo zonoje. Šiuo atveju pasirenkamas taškas, kurio koordinatės yra X = 69,58 mm ir Y = 76 mm. Toliau manipuliuojamos mikropozicionavimo įrenginio ašys į nurodytas koordinates. Atlikus įrenginio manipuliavimą XY plokštumoje, vizualiai įsitikinama ar mielių tirpalo lašo padėtis yra tiesiogiai po mikroskopo objektyvu. Jeigu mielių tirpalo padėtis netenkina, tuomet objektinis stiklelis su mielių tirpalo lašu atsargiai pastumiamas į reikiamą poziciją.

Kitu žingsniu atliekamas Z ašies manipuliavimas tam, kad mielių tirpalas patektų į mikroskopo objektyvo darbinį lauką. 2.1 poskyryje nustatyta, kad objektyvo darbinis atstumas yra 10,4 mm, tai reiškia, kad siekiant per mikroskopo kamerą pamatyti sufokusuotas mielių ląsteles, tarp objektyvo lęšio paviršiaus ir tirpalo lašelio paviršiaus turi būti 10,4 mm atstumas. Anksčiau nustatyta, kad objektinis stiklelis turi būti pakeltas nuo darbinio paviršiaus mažiausiai per 3,1 mm. Atsižvelgiant į šį atstumą atsargai pasirenkamas didesnis, 14,6 mm atstumas ir Z ašies pozicija yra manipuliuojama į 76 mm poslinkio reikšmę (Z = 76 mm). Toliau rankiniu būdu, itin mažais poslinkiais manipuliuojama Z ašis tam, kad mielių tirpalo lašelio paviršius tiksliai atsidurtų mikroskopo darbiniame atstume ir per kamera būtų matomas ryškus mikrodalelių vaizdas. Mielių ląstelių vaizdas ekrane pradedamas matyti (žr. 2.18 pav.), kada Z ašies poslinkis tampa lygus 76,798 mm.



2.18 pav. Matoma mielės ląstelė prieš sugriebimą

Remiantis tolimesne eksperimento veiksmų seka, atliekamas manipuliavimas mikropozicionavimo įrenginiu, siekiant, kad esamoje mikroskopo padėtyje atsidurtų mikrogriebtuvas. Šiam veiksmui atlikti, reikia apskaičiuoti kokį poslinkį turi būti įvykdžiusios įrenginio X ir Y ašys, kad mikrogriebtuvas atsidurtų mikroskopo padėtyje. Šiuo metu žinomi X ir Y ašių poslinkiai bei 2.2 skyriuje nustatyta kokiu atstumu X ir Y ašyje yra nutolės mikroskopas nuo mikrogriebtuvo. Toliau atliekami skaičiavimai siekiant nustatyti reikiamą ašių poslinkį:

$$X_{sug} = X_{steb1} - \Delta X \tag{2.5}$$

$$Y_{sug} = Y_{steb}1 - \Delta Y \tag{2.6}$$

Čia - ΔX – atstumas tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo centro X ašies kryptimi, - ΔY – atstumas tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo centro Y ašies kryptimi, X_{sug} – X ašies poslinkis kai mikrogriebtuvas yra sugriebimo padėtyje, Y_{sug} – Y ašies poslinkis kai mikrogriebtuvas yra sugriebimo padėtyje, $X_{steb}1$ – X ašies poslinkis kai mikrogriebtuvas yra stebėjimo padėtyje, Y_{steb1} – Y ašies poslinkis kai mikrogriebtuvas yra stebėjimo padėtyje.

$$X_{sug} = 69{,}580 - 55{,}207 = 14{,}373\ mm$$

$$Y_{sug} = 76{,}000 - 62{,}480 = \ 13{,}520\ mm$$

Apskaičiavus reikiamas X ir Y ašių poslinkio reikšmes, toliau apskaičiuojama Z ašies padėtis. Z padėčiai nustatyti atliekami skaičiavimai pagal žinomus duomenis: objektyvo darbinį atstumą, bei atstumą tarp švirkšto adatos ir mikroskopo objektyvo lęšio.

$$Z_{sug} = Z_{steb} - (l_{AM} - l_{WD}) \tag{2.7}$$

Čia: Z_{sug} – Z ašies poslinkis mielių tirpalo sugriebimo metu, Z_{steb} – Z ašies poslinkis kai mikrogriebtuvas yra stebėjimo padėtyje, l_{AM} – atstumas tarp objektyvo lęšio ir griebtuvo adatos Z ašies kryptimi, l_{WD} – objektyvo darbinis atstumas.

$$Z_{sug} = 76{,}798 - (16{,}890 - 10{,}400) = 70{,}308\,mm$$

Apskaičiavus reikiamas mikropozicionavimo įrenginio ašių poslinkių reikšmes, mielių tirpalo sugriebimui, atliekamas atitinkamas ašių pozicionavimas. Vykdant visų ašių pozicionavimą vienu metu, pastebima, kad mikrogriebtuvo adata atsitrenkia į paviršiaus paaukštinimo plokšteles. Dėl šios priežasties pirma atliekamas Z ašies pozicionavimas į reikiamą reikšmę, o vėliau – X ir Y ašių pozicionavimas atliekamas kartu.

Atlikus pozicionieriaus manipuliavimo veiksmus, pastebima, kad mikrogriebtuvo adatos anga neliečia mielių tirpalo lašelio, dėl mažo kontakto kampo tarp lašelio ir objektinio stiklelio. Dėl šios priežasties Z ašies galutinis pozicionavimas atliekamas rankiniu būdų, itin mažais poslinkiais, iki adata bus įmirkusi į tirpalo lašą. Atlikus rankinį Z ašies pozicionavimą, Z ašies padėtis lygi 70,308 mm.

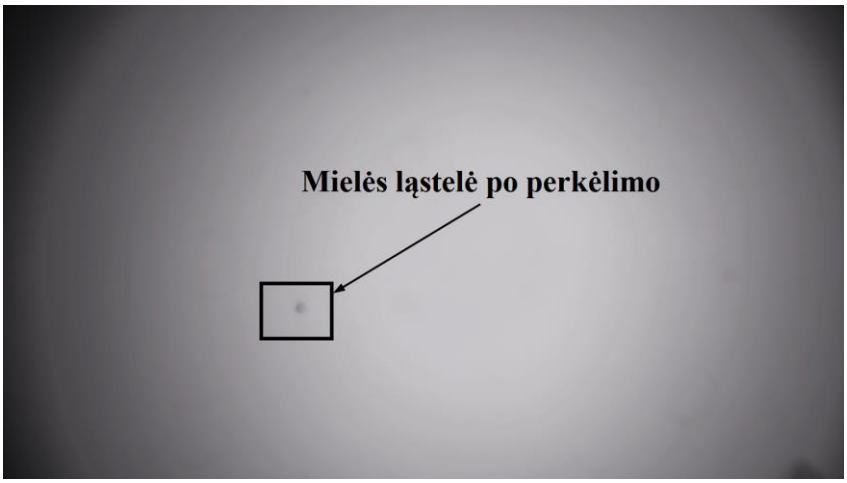
Užbaigus pozicionavimą į sugriebimo padėtį, atliekamas tirpalo įsiurbimo procesas. Šis procesas vykdomas vienu fizinio mygtuko paspaudimu. Mygtuku perduodamas signalas į mikrovaldiklį, o mikrovaldiklis į mikrogriebtuvo stūmoklį valdančią pavarą. Tuo metu mikrogriebtuvo stūmoklis pakyla. Į mikrogriebtuve įtvirtinto švirkšto talpą patenka tirpalas, kadangi švirkšto talpos tūris padidėja, o remiantis Boilio ir Marioto dėsniu žinoma, kad padidėjus talpos tūriui sumažėja slėgis. Švirkšto talpoje susidariusi vakuuminio slėgio jėga įtraukia tirpalo lašelį.

Kitame žingsnyje prie objektinio stiklelio, nuo kurio buvo išsiurbtas mielių tirpalas, padedamas švarus objektinis stiklelis, ant kurio bus perkeliamas mielų tirpalas. Švarus objektinis stiklelis padedamas mikroskopo ir mikrogriebtuvo darbinių laukų persidengimo zonoje. Naujo objektinio stiklelio padėtis yra nutolusi nuo senojo X ašies kryptimi, todėl tolesnis mikropozicionavimo įrenginio manipuliavimas bus atliekamas tik vienos ašies kryptimi. Kadangi abu objektiniai stikleliai yra lygiagrečioje padėtyje, o ant pirmojo stiklelio tirpalas buvo užlašintas per centrą (stiklelio pločio kryptimi), todėl priimamas sprendimas, kad ant antrojo stiklelio tirpalo lašas turi atsidurti taip pat centre. Žinoma, kad objektinio stiklelio plotis yra 26 mm (Objektiniai stikleliai mikroskopams, n. d.), todėl tokio dydžio poslinkis yra įvykdomas X ašies kryptimi. Tai reiškia, kad bendra X ašies poslinkio reikšmė lygi 40,373 mm.

Atlikus mikropozicionavimo įrenginio manipuliavimą į tirpalo perkėlimo padėtį, dar kartą paspaudžiamas fizinis mygtukas, kuriuo valdomas mikrogriebtuvo stūmoklis, ir švirkšto tūris yra pašalinamas per adatos angą ant švaraus objektinio stiklelio. Toliau reikalingas mikroskopo

pozicionavimas virš perkelto mielių tirpalo, siekiant patikrinti ar mielių ląstelių perkėlimas įvykdytas sėkmingai. Šiuo metu žinoma, kad poslinkis tarp mielių tirpalo sugriebimo padėties ir perkėlimo padėties, įvyko tik per X ašį, todėl galima teigti, kad Y ašies poslinkis perkelto tirpalo stebėjimui, nesiskirs nuo sugriebto skysčio padėties ir bus lygus 76 mm. X ašies poslinkio reikšmė bus didesnė per 26 mm nuo pirminės stebėjimo reikšmės ir bus lygi 96,58 mm. Z ašies poslinkis naudojamas toks pat kaip ir pirminio stebėjimo metu, kadangi abu objektiniai stikleliai padėti ant to pačio aukščio pakėlimo plokštelių. Pagal nustatytas reikšmes vykdomas mikropozicionavimo įrenginio manipuliavimas iki mikroskopo objektyvas atsidurs virš naujai perkelto mielių tirpalo.

Stebint perkelto tirpalo vaizdą mikroskopu (žr. 2.19 pav.), matoma, kad tirpale esanti mielės ląstelė yra sėkmingai perkelta. Tai įrodo, kad eksperimentas yra atliktas sėkmingai, o mikropozicionavimo įrenginio manipuliavimo reikšmės yra tinkamos ir naudotinos kuriant šio proceso valdymo programinę įrangą. Toliau aprašomas programinės įrangos kūrimo procesas.



2.19 pav. Matoma mielės ląstelė po sugriebimo

Siekiant palengvinti mikropozicionavimo įrenginio valdymą bei pagreitinti mielių tirpalo perkėlimo bandymą, kuriama sistemos valdymo programinė įranga LabVIEW aplinkoje. Ši programinė įranga leis valdyti įrenginį bei stebėti mikroskopo vaizdą viename valdymo lange, šitaip optimizuojant vartotojo – mikropozicionavimo įrenginio sąsają. Programa siekiama bandymą padalinti į keturis esminius žingsnius, o kiekvienas žingsnis bus vykdomas tik vienu mygtuku paspaudimu. Numatomi valdymo programos žingsniai:

1. Mikroskopo pozicionavimas virš objektinio stiklelio su mielių tirpalu.
2. Mikrogriebtuvo pozicionavimas virš mielių tirpalo.
3. Mikrogriebtuvo pozicionavimas virš švaraus objektinio stiklelio.
4. Mikroskopo pozicionavimas virš perkelto mielių tirpalo.

Papildomi žingsniai, pagal poreikius, įgyvendinami programos kūrimo procese. Toliau aprašomas valdymo programos kūrimo ir veikimo procesas.

Kuriama valdymo programa susideda iš dviejų programavimo kalbų: grafinės programavimo kalbos LabVIEW aplinkoje ir G kodo programavimo kalbos LinuxCNC aplinkoje. Toliau aprašomos detalesnės šių programavimo kalbų ypatybės.

LabVIEW yra žinomas ir dažnai naudojamas įrankis inžinerijos, tyrimų bei švietimo srityse. Šios programos darbinė aplinka yra intuityvi ir lengvai naudojama net ir neturint ankstesnių programavimo žinių. Programoje naudojamas grafinio programavimo metodas, kuomet vartotojas gali kurti programas, sujungdamas funkcinius mazgus per virtualius laidus, kad nustatytų duomenų srauto perdavimą. Dėl plačios, iš anksto sukurtų funkcijų ir modulių, bibliotekos, LabVIEW leidžia sparčiai kurti sudėtingas sistemas – nuo duomenų apdorojimo ir analizės iki valdymo ir automatizavimo. Programavimo sistemos universalumas leidžią ją pritaikyti įvairiose srityse, įskaitant robotiką, pramoninę automatiką bei kituose įrenginiuose. Dėl galimybės sklandžiai susieti įvairius įrenginius bei padidinti jų naudingumą, didelė dalis profesionalių savo sričių ekspertų bei tyrėjų, renkasi šią programą (LabVIEW overview, 2024).

Toliau aprašoma kita valdymo programos dalis – G kodas, jo veikimas bei įtaka programai. G kodas yra programavimo kalba, plačiai naudojama kompiuterinėje gamyboje – CAM. Ši programavimo kalba yra automatinių staklių ir 3D spausdintuvų valdymo pagrindas. G kodas yra instrukcijų rinkinys, diktuojantis tikslius įrenginio pavarų judesius, greitį ar kitus veiksmus. G kodo komandos yra raidinės ir skaitmeninės. Kiekviena komanda reiškia konkretų veiksmą, pavyzdžiui: įrankio judėjimą tam tikru keliu arba įrankio greičio, ar krypties pokytį. Programuojant šia kalba, dažniausiai naudojama papildoma specializuota kompiuterinio projektavimo CAD sistema, kurioje sudaromas skaitmeninis modelis. Sistema modelį paverčia G kodo instrukcijomis, pritaikytomis pagal įrenginio naudojimo galimybes. Siekiant įsisavinti G kodo programavimo žinias, reikia skirti daug dėmesio detalėms, valdomo įrenginio laisvės laipsniams bei jų ribojimams. Reikia išmanyti apdirbimo bei gamybos principus. Dėl programavimo kalbos universalumo ir paplitimo, G kodo programavimas yra vienas iš esminių įgūdžių dalyvaujantiems šiuolaikiniuose gamybiniuose procesuose.

Įjungus eksperimento atlikimo programą, matomas valdymo langas (žr. 2.20 pav.). Eksperimento atlikimo programos kūrimo metu, siekiama sukurti kuo paprastesnę ir intuityvesnę vartotojo – įrenginio sąsają. Toliau aprašoma vaizdinė vartotojo sąsajos dalis.



2.20 pav. Eksperimento programos valdymo langas

Pagrindinį programos langą sudaro 6 mygtukai:

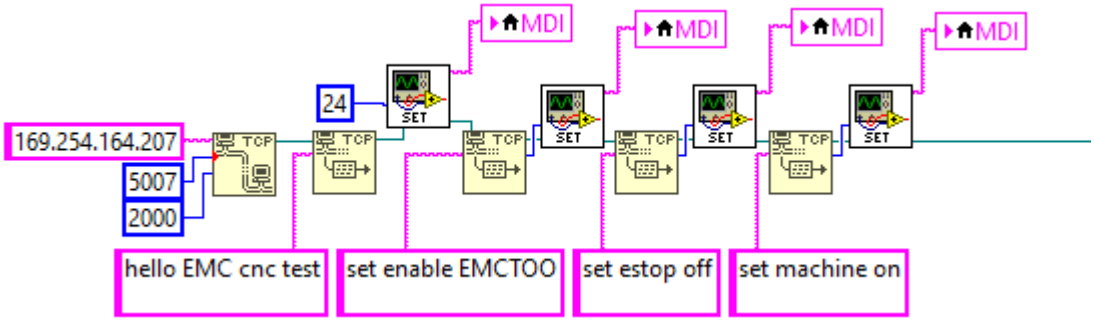
- Namų pozicija – paspaudus šį mygtuką, vykdomas mikropozicionavimo įrenginio manipuliavimas, kuomet visos įrenginio ašys pasiekia savo "namų padėtį". Tai yra atskaitos padėtis visiems absoliutaus pozicionavimo judesiams atlikti. Šis mygtukas turi būti paspaudžiamas prieš pradedant įrenginio manipuliavimo žingsnius. Namų pozicijos koordinatės: X, Y, Z, ir A = 0,5 mm.
- Stebėti mieles – mygtuko paspaudimas inicijuoja įrenginio pozicionavimą į mielių tirpalo stebėjimo padėtį. Tai reiškia, kad mikroskopo objektyvas atsiduria tiesiai virš objektinio stiklelio su mielių tirpalu. Paspaudus šį mygtuką, pradedamas mikropozicionavimo įrenginio ašių manipuliavimas į koordinates: X = 69,580 mm, Y = 76 mm, Z = 76,798 mm.
- Sugriebti mieles - mygtukas spaudžiamas įsitikinus, kad mikroskopu yra matomos mielių ląstelės. Mygtuko paspaudimas reiškia, kad virš mielių tirpalo pozicionuojamas mikrogriebtuvas. Sugriebimo žingsniui atlikti – naudojamas fizinis mygtukas. Įrenginio ašių poslinkiai atlikus šį veiksmą: X = 14,373 mm, Y = 13,520 mm, Z = 70,508 mm.
- Išstumti mieles – paspaudus mygtuką mikrogriebtuvas yra pozicionuojamas virš švaraus objektinio stiklelio. Mygtuko paspaudimas pradeda vykdyti poslinkį X ašies kryptimi. Mikropozicionavimo įrenginio poslinkių reikšmės po šios funkcijos atlikimo: X = 41,373 mm, Y = 13,520 mm, Z = 70,508 mm.
- Stebėti išstumtas mieles – kada mikrogriebtuvas sustoja virš švaraus objektinio stiklelio, o fizinio mygtuko paspaudimu iš griebtuvo talpos pašalinamas mielių tirpalas, tada spaudžiamas šis mygtukas. Mygtuko paspaudimu, mikropozicionavimo įrenginio ašys pasiekia:

X = 96,58 mm, Y = 76 mm, Z = 82,458 mm reikšmes. Įsitikinama ar bandymas atliktas sėkmingai.

- STOP – atsarginis stabdymo mygtukas. Mygtuko paspaudimas nutraukia visų užduotų komandų veikimą.

Žinoma, kad vartotojui yra svarbus lengvas programinės įrangos valdymas, tačiau daug svarbesnis tinkamas jos veikimas. Toliau aprašoma kaip šiais virtualių mygtukų paspaudimais realizuojamos mikropozicionavimo įrenginio manipuliavimo užduotys.

Pirminėje valdymo programos įjungimo stadijoje (žr. 2.21 pav.) pradedama skaitmeninė komunikacija tarp stacionariojo kompiuterio, kuriame realizuojama *LabView* programos dalis, ir *Raspberry Pi* mini kompiuterio. Įrenginių skaitmeninė sąsaja yra vykdoma TCP protokolu, o fizinė sąsaja – *Ethernet* tipo jungtimi. Verta paminėti, kad tiesioginis instrukcijų siuntimas iš *LabVIEW* aplinkos į mikropozicionavimo įrenginį valdančią *LinuxCNC* aplinką yra negalimas, o šiam veiksmui atlikti reikalinga papildoma tekstinių komandų sąsaja – *LinuxCNCrsh.*



2.21 pav. Komunikacijos tarp įrenginių pradžia

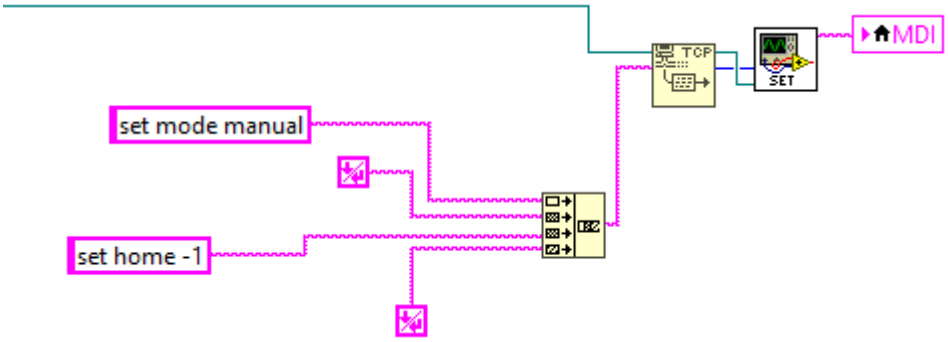
Pirmame įrenginių komunikacijos žingsnyje reikalingas susijungimas. Šis žingsnis yra realizuojamas per *LabVIEW* sistemos TCP komunikacijos atvėrimo bloką. Funkciniam blokui yra suteikiamos kelios duomenų reikšmės: įrenginio, prie kurio norima prisijungti, IP adresas, papildomas IP adreso prievadas ir laikas milisekundėmis, per kurį turi būti įvykęs susijungimas. Jeigu per nurodytą laiką – 2000 ms, sąjunga tarp stacionariojo kompiuterio ir *Raspberry Pi* neįvyksta, programinės įrangos veikimas nutraukiamas. Esant sėkmingam įrenginių susijungimui, programinė įranga sudaro specialų vidinį ryšio adresą, kuris leidžia siųsti duomenis per sudarytą vietinį tinklą į mini kompiuterį. Šis ryšio adresas siunčiamas į kitą *LabView* programos bloką, kuris atlieka tekstinių duomenų perdavimą TCP ryšiu. Sukuriami keturi tokie blokai, kurių paskirtis į *LinuxCNC* programinę įrangą išsiųsti keturias tekstines eilutes su jose užšifruota esmine įrenginių susijungimo informacija. Šių blokų paskirtis – susijungti su *LinuxCNCrsh* skaitmenine sąsaja. Pirmajam blokui priskiriamas įvadas su tekstine informacija: „hello EMC cnc test“. Tekstinė informacija yra pasisveikinimo tarp įrenginių įrašas, kuriame užkoduota simbolių kombinacija, kada sistemoje

nenaudojamas slaptažodis – „EMC“, skaitmeninio serverio pavadinimas – „cnc“ ir serverio versija – „test“. Pirmojo bloko išvadą sudaro anksčiau sukurtas vidinis ryšio adresas kartu su užkoduota persiunčiama tekstine informacija.

Programinės įrangos veikimo metu yra naudinga matyti, kokią tekstinę informaciją išsiuntė mygtuko paspaudimas, todėl prie pagrindinio sistemos valdymo lango, sukuriamas laukas, kuriame atsispindi išsiųsta tekstinė informacija. Siekiant šia informaciją stebėti pagrindiniame sistemos lange – pirmojo tekstinės informacijos perdavimo bloko išvado informacija siunčiama į paprogramę, kurioje vykdomas persiųstos tekstinės informacijos atskyrimas nuo vidinio ryšio adreso. Atskirta tekstinė informacija tiesiogiai siunčiama į pagrindiniame sistemos lange esantį numatytą lauką. Šis paprogramės vykdymas kartojamas po kiekvieno informacijos išsiuntimo žingsnio.

Antruoju tekstinės informacijos perdavimo bloku siunčiama eilutė – „set enable EMCTOO“. Pakomandis „enable“, LinuxCNCrsh sistemoje su papildomu žodžiu „set“ bei simbolių kombinacija kuomet nenaudojamas slaptažodis – „EMCTOO“, nustato, kad dabartinis sistemų ryšys yra tinkamas valdymo funkcijų perdavimui iš vieno įrenginio į kitą. Trečiuoju informacijos perdavimo bloku, siunčiama eilutė „set estop off“. LinuxCNCrsh sistemoje „estop“ pakomandis su papildomais žodžiais „set“ ir „off“ išjungia skaitmeninį įrenginio stabdymo mechanizmą, kuris visuomet būna aktyvus įrenginiui įsijungus. Paskutiniuoju įrenginių komunikacijos inicijavimo bloku siunčiama eilutė „set machine on“. Ši pakomandžio „machine“ kombinacija nėra konkrečiai aprašyta LinuxCNCrsh sintaksėje, tačiau yra būtina sistemos veikimo užtikrinimui. Jeigu visi nurodyti pakomandžiai įvykdyti sėkmingai, reiškia *LabVIEW* ir *LinuxCNC* sistemos yra sujungtos ir yra galima komunikacija tarp įrenginių. Toliau aprašoma kaip veikia kiekvienas paspaudžiamas mygtukas pagrindiniame valdymo lange.

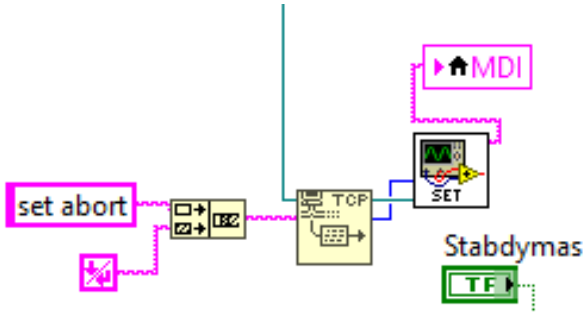
Namų pozicijos mygtuko paspaudimas aktvuoja dviejų tekstinių komandų (žr. 2.22 pav.) išsiuntimą į *LinuxCNC* sistemą. Kada vienu veiksmu siunčiamos kelios tekstinės eilutės, jas būtina atskirti eilutės pabaigos bloku, kitaip visas siunčiamas tekstas bus sujungtas į vieną tekstinę eilutę. Pirmasis išsiųstas pakomandis „set mode manual“ nustato įrenginio valdymo režimą.



2.22 pav. „Namų pozicija“ mygtuko valdymo kodas

Kada veikia *LinuxCNC* sistema, komandoms įvesti naudojami trys skirtingi režimai. Režimai vadinami: rankinis (angl. *manual*), automatinis (angl. *auto*) ir rankinis duomenų įvedimas (angl. *Manual Data Input* (MDI)). Vieno režimo keitimas į kitą kardinaliai keičia *LinuxCNC* programos veikimą. Kai kurios funkcijos ar pakomandžiai gali veikti vienu režimu, o kitais režimais tapti neveiksniais. Pakomandis, kuriuo atliekamas ašių manipuliavimas į „namų padėtį“, yra veiksnus tik esant rankiniam režimui (LinuxCNC Modes of Operation, n. d.)

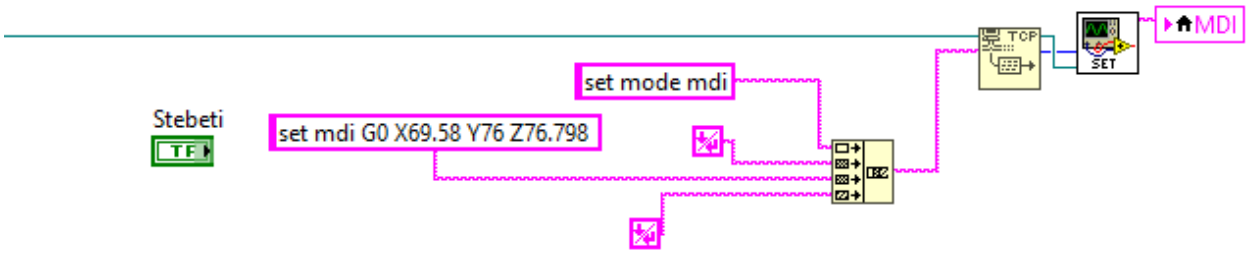
Įrenginį nustačius į rankinį režimą, siunčiamas pakomandis „set home -1“. Ši *LinuxCNCrsh* funkcija sukuria vidinę sistemos komandą, kurios pagrindu visos mikropozicionavimo įrenginio ašys yra manipuliuojamos į pradinę jų padėtį. Toliau aprašomas stabdymo mygtuko veikimas.



2.23 pav. STOP mygtuko veikimas

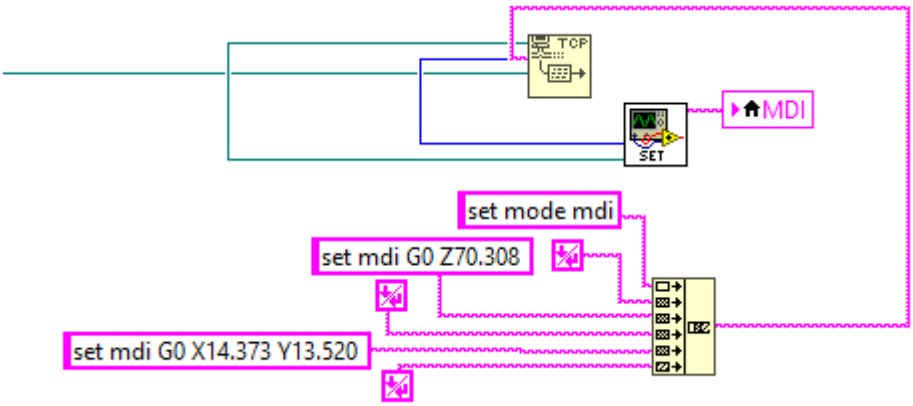
Stabdymo mygtukas realizuoja tik vieną tekstinės eilutės išsiuntimą į *LinuxCNC* sistemą (žr. 2.23 pav.). Pakomandžių kombinacija „set abort“ tiesiogiai sustabdo bet kokį, tuo metu vykdomą, įrenginio pavarų judėjimą. Pavarų stabdymo laikas priklauso nuo nustatytos pavarų pagreičio ribos. Pakomandis neturi jokių įvykdymo reikalavimų ir gali būti atliktas visada ir visais įrenginio veikimo režimais. Toliau aprašomas esminių, bandymuose naudojamų mygtukų veikimas.

Mygtukas, kurio paspaudimu atliekamas mikroskopo pozicionavimas virš mielių tirpalo, vadinamas – „Stebėti mieles“. Šio mygtuko paspaudimas išsiunčia dvi tekstines informacijos eilutes (žr. 2.24 pav.) į *LinuxCNC* sistemą. Pirmoji išsiųsta komandos eilutė – „set mode mdi“. Ši tekstinė komanda nustato mikropozicionavimo įrenginį valdančią programą į rankinio duomenų įvedimo – MDI režimą. Minėtasis režimas leidžia formuoti G kodo instrukcijas įrenginio manipuliavimui atlikti. Antrojoje tekstinėje eilutėje užkoduotos dvi esminės dalys: „set mdi“ – simbolių kombinacija, kuri pradeda G kodo siuntimą. Ši kombinacija naudojama prieš kiekvieną G kodo instrukciją. Antrojoje dalyje – „G0 X69.58 Y76 Z76.798“ naudojama G0 komanda. G0 komanda atlieka absoliutaus pozicionavimo funkciją ir vykdo koordinuotą judėjimą į paskirties tašką maksimaliu greičiu. Po G0 komandos figūruoja įrenginio trijų ašių reikšmės. Kada pasibaigs mikropozicionavimo įrenginio manipuliavimo veiksmas, ašių poslinkio reikšmės bus lygios nurodytoms po G0 reikšmės.



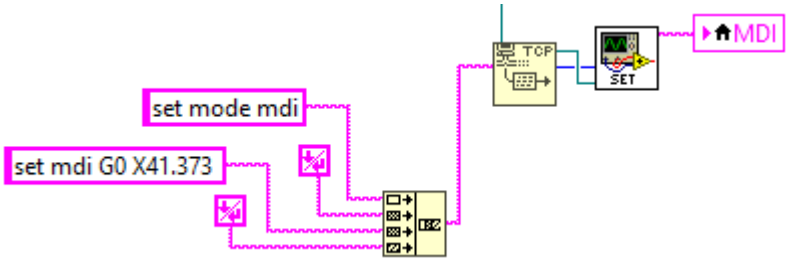
2.24 pav. „Stebėti mieles“ mygtuko valdymo kodas

Mielių sugriebimo mygtuko paspaudimu išsiunčiamos 3 tekstinės eilutės (žr. 2.25 pav.). Pirmąja eilute nustatomas MDI režimas. Ši eilutė figūruoja prieš visas G kodo instrukcijas, kaip apsauga, kad įrenginys tikrai veiktų tinkamu režimu prieš gaudamas G kodą. Antrąja eilute siunčiama informacija apie Z ašies pozicionavimą, o paskutinioji eilutė informuoja įrenginį apie X ir Y ašių pozicionavimą. Toks komandų padalijimas reiškia, kad pirmiausia bus atliekamas Z ašies pozicionavimas. Kada Z ašis pasieks 70,308 reikšmę, tuomet prasidės X ir Y ašių pozicionavimas į atitinkamas įrenginio poslinkio reikšmes. Matoma, kad naudojant G0 komandą, nereikia rašyti visų ašių koordinačių reikšmių, užtenka tik tų reikšmių, kurios keisis pozicionavimo metu.



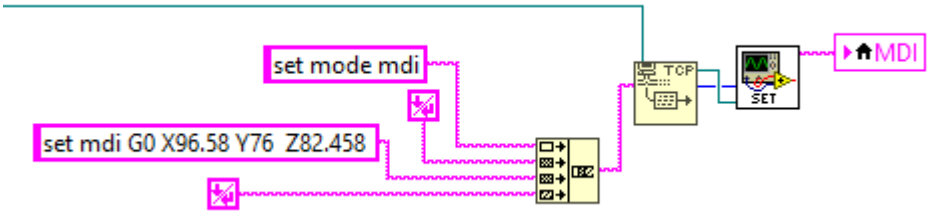
2.25 pav. „Sugriebti mieles“ mygtuko valdymo kodas

Mikrogriebtuvo pozicionavimui virš švaraus objektinio stiklelio, ant kurio bus perkeltas mielių tirpalas, naudojama tik vienos ašies koordinatė su G0 komanda (žr. 2.26 pav.). Kadangi judėjimo komanda užduota vienai ašiai, tai mikropozicionavimo įrenginys bus manipuliuojamas tiesiniu judesiu X ašies kryptimi.



2.26 pav. „Išstumti mieles“ mygtuko valdymo kodas

Paskutiniuoju mygtuko paspaudimu atliekamas mikroskopo pozicionavimas virš perkelto mielių tirpalo. Šiuo mygtuko paspaudimu realizuojamas trijų ašių manipuliavimas vienu metu (žr. 2.27 pav.). Paspaudus mygtuką, pradedamas mikropozicionavimo įrenginio ašių manipuliavimas į X = 96,58 Y = 76 ir Z = 82,458 reikšmes.



2.27 pav. „Stebėti išstumtas mieles“ mygtuko valdymo kodas

Stebint mielių tirpalą vis vien reikalingi smulkūs Z ašies pozicionavimo žingsniai tam, kad mielės būtų visiškai sufokusuotos mikroskopo kameros. Prie pagrindinio lango sukurtas papildomas langas su mygtukais, ant kurių parašyta ašis bei teigiamas ir neigiamas simboliai prie jų. Papildomame lange yra laukas, kuriame galima įrašyti žingsnio dydį milimetrais ir paspausti ašies su simbolio mygtuku, kad būtų vykdomas tam tikro dydžio žingsnis norimos ašies kryptimi.

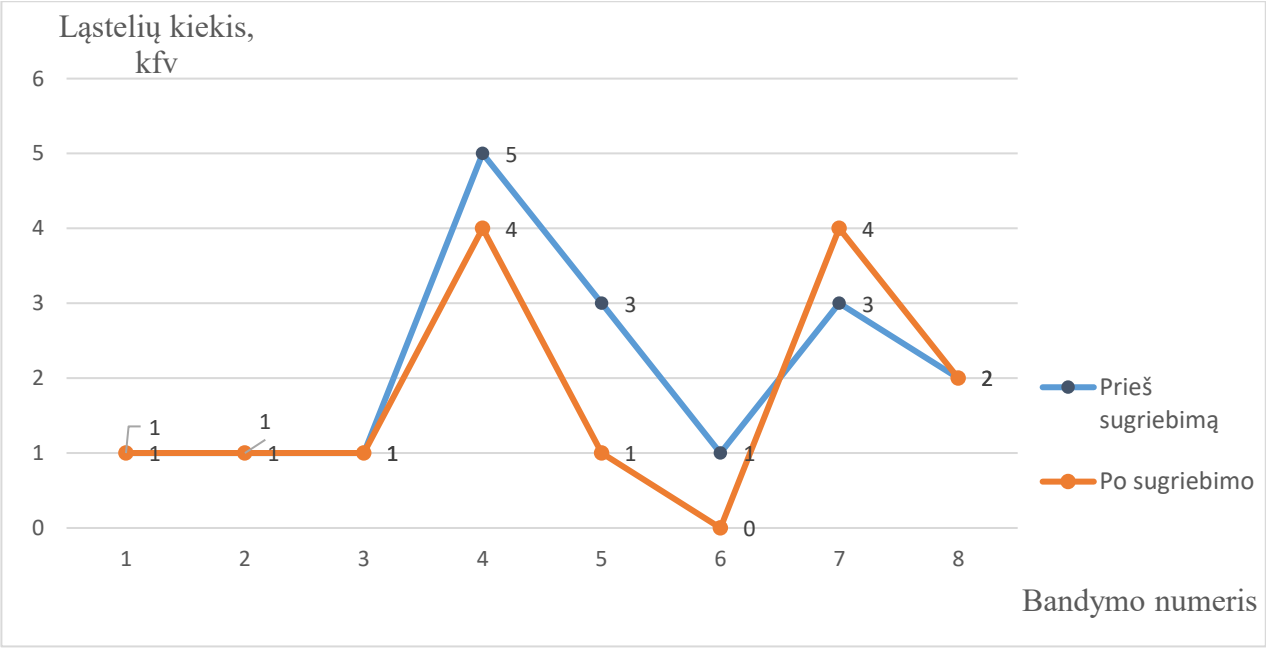
Mikroskopo kameros vaizdas, pagrindiniame sistemos valdymo lange realizuojamas naudojant *LabVIEW* sistemos papildinį – *Vision Acquisition Software*. Papildinio valdymo lange pasirenkama prie stacionariojo kompiuterio prijungta kamera. Toliau nustatomas kameros duomenų gavimo tipas. Šiuo atveju pasirinktas pastovaus duomenų gavimo režimas, kadangi siekiama tiesiogiai gauti mikroskopu matomą vaizdą. Galiausiai pasirenkama vaizdo raiška pagal didžiausią galimą kameros fiksavimo raišką – 3840x2160 pikselių. Kamera gaunamo vaizdo langas pozicionuojamas šalia įrenginio valdymo lango.

Apibendrinant valdymo programos sudarymo aprašą, galima teigti, kad sudaryta programa leidžia gerokai sumažinti mikrodalelių sugriebimo ir perkėlimo bandymų atlikimo laiką, kadangi visas bandymas yra optimizuojamas į keturių esminių mygtukų paspaudimus. Mikroskopo kameros vaizdo matymas tame pačiame lange, kuriame atliekamas įrenginio valdymas dar labiau palengvina bandymų atlikimą bei sukuria intuityvesnę darbo aplinką vartotojui, kuris nėra susipažinęs su programavimo ar įrenginio valdymo užduotimis. Sudaryta valdymo programa yra naudinga, kuomet bandymai yra vykdomi fiksuotoje padėtyje, stalo horizontaliojo paviršiaus atžvilgiu. Valdymo programai patobulinti galima sukurti kintamos padėties bandymo valdymą. Toks valdymo režimas nebuvo sukurtas dėl per mažos mikrogriebtuvo ir mikroskopo darbinių laukų susikirtimo zonos, todėl čia yra labai mažai vietos keisti bandymo atlikimo vietą ant stalo paviršiaus. Kintamo valdymo režimo naudingumas būtų per mažas atsižvelgiant į laiko kaštus, kurie būtų sunaudoti šiam valdymo režimui sukurti.

Sukūrus valdymo programinę įrangą, eksperimentas kartojamas dar 7 kartus tam, kad gauti rezultatai būtų pakankamai reikšmingi. Sudaroma gautų rezultatų lentelė (žr. 2.1 lentelę) bei grafikas (žr. 2.28 pav.).

2.1 lentelė. Tirpalo sugriebimo ir perkėlimo rezultatai

Bandymo Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Matomų ląstelių kiekis prieš sugriebimą	1	1	1	5	3	1	3	2
Matomų ląstelių kiekis po sugriebimo	1	1	1	4	1	1	4	2



2.28 pav. Mielių ląstelių sugriebimo ir perkėlimo rezultatų grafikas

Pagal gautus rezultatus skaičiuojamas ląstelių sugriebimo vidurkis ir dispersija. Ląstelių vidurkis prieš sugriebimą ir po, skaičiuojamas taip:

$$\bar{x} = \frac{1}{n}\left(\sum_{i=1}^{n} x_i\right) \tag{2.8}$$

$$\bar{y} = \frac{1}{n}\left(\sum_{j=1}^{n} y_i\right) \quad (2.9)$$

Čia: $\bar{x}$ – matomų ląstelių aritmetinis vidurkis prieš sugriebimą, $\bar{y}$ – matomų ląstelių aritmetinis vidurkis po perkėlimo, n – bandymų kiekis, x_i – bandymo metu matomas ląstelių kiekis prieš sugriebimą (kfv), y_i – bandymo metu matomas ląstelių kiekis po perkėlimo (kfv).

Gautų rezultatų dispersija skaičiuojama pagal:

$$s_{\square}^2 = \frac{1}{n-1}\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2 \quad (2.11)$$

$s_{\square}^2$ – matomų ląstelių dispersija po perkėlimo.

Galiausiai apskaičiuojamas standartinis nuokrypis, išraukus kvadratinę šaknį iš dispersijos. Gauti rezultatai pateikiami lentelėje (žr. 2.2 lentelę).

2.2 lentelė. Eksperimentinio bandymo statistiniai rezultatai

	Vidurkis $\bar{x}, \bar{y}$	**Dispersija $s_{\square}^2$**	**Standartinis nuokrypis $\sigma_{\square}$**
Prieš sugriebimą	2,125	-	-
Po perkėlimo	1,750	1,938	1,392

Gautuose eksperimentų rezultatuose matoma, kad didžioji dalis bandymų buvo sėkmingi. Pirmi trys bandymai pavyko nepriekaištingai – prieš sugriebimą ir po perkėlimo tirpalo tūryje buvo matoma viena mielės ląstelė. Ketvirtojo ir penktojo bandymo metu po perkėlimo buvo galima matyti mažiau ląstelių, negu prieš sugriebimą. Šeštojo bandymo metu perkelti ląstelių nepavyko. Septintojo bandymo metu po perkėlimo buvo galima pastebėti daugiau mielių ląstelių negu prieš sugriebimą. Toks reiškinys galėjo pasitaikyti dėl indų, kuriuose buvo talpinami tirpalų tūriai, valymo metodų ir priemonių bei dėl mikrodalelių savybės tvirtai sukibti su makroelementais. Paskutiniojo bandymo rezultatai taip pat yra tenkinantys, kadangi prieš sugriebimą ir po perkėlimo buvo matomas vienodas ląstelių kiekis.

Atlikus bandymų rezultatų statistinį vertinimą pastebimą, kad vidutiniškai po mielių ląstelių perkėlimo buvo matoma 17,65 % mažiau mielių ląstelių, negu buvo pastebėta prieš sugriebimą. Apskaičiavus bandymų rezultatų dispersiją nustatyta, kad ši reikšmė yra didesnė už aritmetinio vidurkio reikšmę. Toks dispersijos rezultatas nusako platų rezultatų rinkinio išsibarstymą aplink

vidurkio reikšmę. Atlikus standartinio nuokrypio skaičiavimą, nustatyta kiek eilinio bandymo reikšmė skiriasi nuo aritmetinio vidurkio.

Apibendrindamas galiu teigti, kad bandymų metu gauti rezultatai yra tenkinantys ir yra tikėtini pagal eksperimentų atlikimo sąlygas. Siekiant gauti labiau tenkinančius bandymų rezultatus rekomenduojama:

- Prieš eksperimentų atlikimą, paviršius kurie bandymo metu liesis su mielių tirpalu, padengti silikonizuojančiu reagentu tam, kad būtų sumažintos ląstelių sukibimo su paviršiumi galimybės.
- Bandymų metu, pradiniam mielių tirpalo užlašinimui ant objektinio stiklelio, naudoti laboratorinę mikropipetę. Šis įrenginys užtikrins, kad eksperimentų metu naudojamas tirpalo tūris bus vienodas.
- Įrengti papildomą tirpalo stebėjimo kamerą. Ja būtų galima stebėti ląstelių sugriebimo procesą. Tai leistu tiksliau pozicionuoti mikrogriebtuvą į reikiamą sugriebimo padėtį.
- Įdiegti sugriebiamo tūrio reguliavimo mechanizmą tam, kad eksperimentą atliekantis asmuo, įvertinęs matomų ląstelių pasiskirstymo tankumą, galėtų pasirinkti tinkama tūrį įsiurbimui.

IŠVADOS

1. Atlikus įvairių tipų mikrogriebtuvų analizę, nustatyta, kad nėra mikrogriebtuvo, kuris būtų universaliai pritaikomas sugriebiant skirtingos kilmės objektus ar skirtingomis darbo sąlygomis. Pastebima, kad vakuuminio tipo mikrogriebtuvai yra palankiausi atliekant gyvų biologinių mikrodalelių manipuliavimo užduotis, nes: yra lengvai pritaikomi darbui su objektais skystoje terpėje, manipuliuojamo objekto forma nedaro įtakos sugriebimo tikslumui, manipuliavimo metu nepažeidžia ląstelės struktūros.

2. Išanalizavus mikropozicionavimo įrenginio savybes nustatyta, kad sistema yra pritaikyta mielių tirpalo sugriebimo bandymams atlikti, tačiau turi trūkumų ir yra tobulintina. Esminis sistemos trūkumas – nėra galimybės stebėti mielių tirpalą sugriebimo metu. Šis trūkumas gerokai sumažina užduoties atlikimo tikslumą dėl galimų įrenginio pozicionavimo netikslumų bei gyvų ląstelių judėjimo tirpale. Siūloma įrengti papildomą didelės raiškos kamerą, kuria būtų galima stebėti mikrodalelių sugriebimo procesą.

3. Vykdant nuokrypių nustatymą ištirta, kad atstumas tarp mikroskopo ir mikrogriebtuvo centrinės ašiės, darbinio paviršiaus plokštumos atžvilgiu, yra lygus 55,207 mm X ašies kryptimi, ir 62,480 mm Y ašies kryptimi. Pagal nustatytą atstumą bei žinomus įrenginio parametrus, paruošta mikroskopo ir mikrogriebtuvo darbinių laukų schema. Sudaryta schema yra pagalbinė priemonė, kuri padės atlikti tolesnius įrenginio tyrimus ir bandymus.

4. Atlikus mielių tirpalo paruošimo skaičiavimus bei įvykdžius paruošto tirpalo apžiūrą mikroskopu, nustatyta, kad apskaičiuotos mielių ląstelių reikšmės tirpale labai skiriasi nuo tikrojo jų kiekio. Apskaičiuota, kad eksperimentui naudojamame tirpalo tūryje turėtų būti 2000 mielių ląstelių, tačiau stebint paruoštą tirpalą mikroskopu, buvo matomos vos kelios mielių ląstelės.

5. Mikroskopu atlikus perkelto mielių tirpalo apžiūrą, nustatyta, kad mielių ląstelių perkėlimas įvykdytas sėkmingai, o mikropozicionavimo įrenginio manipuliavimo reikšmės yra naudotinos kuriant proceso valdymo programinę įrangą. Atlikus 8 bandymus nustatyta, kad didžioji dalis ląstelių buvo perkeltos sėkmingai. Pastebima, kad didesnis matomų ląstelių kiekis prieš sugriebimą indikuoja mažesnę tikimybę, kad ląstelės bus matomos po perkėlimo procedūros. Vieno bandymo metu pastebimas didesnis ląstelių kiekis po sugriebimo, nei buvo matomas prieš sugriebimą. Šis reiškinys gali pasitaikyti dėl mikrodalelių savybės sukibti su kitais makroelementais. Siekiant išvengti tokių rezultatų, rekomenduojama paviršius kurie liečiasi su tirpalu padengti silikonizuojančiu reagentu.

6. Sudaryta mielių tirpalo sugriebimo ir perkėlimo bandymą optimizuojanti programinė įranga. Valdymo sistema leidžia atlikti perkėlimo eksperimentą mažiausiai keturiais mygtukų paspaudimais. Sudarytoje programinėje įrangoje realizuota įrenginio valdymo ir vaizdo stebėjimo per mikroskopą funkcija viename valdymo lange. Papildomai įgyvendintas pavienis įrenginio ašių valdymas.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1VIS10W user manual. (2018). STANDA LTD. https://www.standa.lt/files/vibration-isolation/1VIS10W-user-manual-en-pneumatic-vibration-isolation-workstation-20180927.pdf

8MT175 motorized linear stage. (2020). STANDA LTD. https://www.standa.lt/products/catalog/motorised_positioners?item=60&prod=motorized_linear_stages&print=1

8MT30-50 motorized translation stage. (2020). STANDA LTD. https://www.standa.lt/products/catalog/motorised_positioners?item=348&prod=narrow_motorized_translation_stages&print=1

8MTF motorized scanning stage. (2020). STANDA LTD. https://www.standa.lt/products/catalog/motorised_positioners?item=311&prod=motrized_xy_scanning_stage&print=1

Akbari, M., Barazandeh, F., & Barati, H. (2022). A Novel Approach to Design and Fabricate an Electrothermal Microgripper for Cell Manipulation. *Sensors and Actuators A: Physical*, *346*(7), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.sna.2022.113877

Anis, Y., Houkal, J., Holl, M., Johnson, R., & Meldrum, D. (2011). Diaphragm pico-liter pump for single-cell manipulation. *Biomedical microdevices*, 13(4), 651–659. https://doi.org/10.1007/s10544-011-9535-5

AXIS GUI. (2024, April 21). LinuxCNC. https://linuxcnc.org/docs/html/gui/axis.html

Boudaoud, M., Haddab, Y., & Le Gorrec, Y. (2010). Modeling of a MEMS-based microgripper: applications to dexterous micromanipulation. In *International Conference on Intelligent Robots and Systems* (pp. 5631–5639). IEEE/RSJ.

Bučinskas, V., Subačiūtė-Žemaitienė, J., Dzedzickis, A., Šutinys, E., & Morkvėnaitė-Vilkončienė, I. (2022). Robotic micromanipulation: b) grippers for biological objects. *Robotic Systems and Applications*, 2(1), 1–14. https://doi.org/10.21595/rsa.2022.22324

Das, T. K., Shirinzadeh, B., Ghafarian, M., Al-Jodah, A., & Pinskier, J. (2020). Characterization of a compact piezoelectric actuated microgripper based on double-stair bridge-type mechanism. *Journal of Micro-Bio Robotics,* 16(1), 79–92. https://doi.org/10.1007/s12213-020-00132-5

Francz, B., Ungai-Salánki, R., Sautner, É., Horvath, R., & Szabo, B. (2020). Subnanoliter precision piezo pipette for single-cell isolation and droplet printing. *Microfluidics and Nanofluidics*, 24(12), 1–10. https://doi.org/10.1007/s10404-019-2317-8

Garcés-Schröder, M., Hecht, L., Vierheller, A., Leester-Schädel, M., Böl, M., & Dietzel, A. (2017). Micro-Grippers with Femtosecond-Laser Machined In-Plane Agonist-Antagonist SMA Actuators Integrated on Wafer-Level by Galvanic Riveting. *Proceedings*, 1(4), 385–390. https://doi.org/10.3390/proceedings1040385

Huhtamäki, T., Tian, X., Korhonen, J. T., & Ras, R. H. A. (2018). Surface-wetting characterization using contact-angle measurements. *Nature Protocols*, 13(7), 1521–1538. https://doi.org/10.1038/s41596-018-0003-z

Kim, D., Lee, M., Kim, B., & Sun, Y. (2005). A superelastic alloy microgripper with embedded electromagnetic actuators and piezoelectric force sensors: a numerical and experimental study. *Smart Materials and Structures*, 14(6), 1265–1272. https://doi.org/10.1088/0964-1726/14/6/019

Kwolek-Mirek, M., & Zadrag-Tecza, R. (2014). Comparison of methods used for assessing the viability and vitality of yeast cells. *FEMS yeast research*, 14(7), 1068–1079. https://doi.org/10.1111/1567-1364.12202

LabVIEW overview. (2024, January 8). National Instruments CORP. https://www.ni.com/docs/en-US/bundle/labview/page/labview-overview.html

LinuxCNC documentation. (2024, April 30). LinuxCNCKnowledgeBase. http://wiki.linuxcnc.org/cgi-bin/wiki.pl?LinuxCNCKnowledgeBase

LinuxCNC Modes of Operation. (n.d.). LinuxCNC. https://linuxcnc.org/docs/devel/html/nb/user/user-intro.html#sec:modes-of-operations

LS-DV1105D microscope. (n.d.). Lapsun. https://www.lapsun.com/400x4000x-inspection-zoom-monocular-cmount-coaxial-light-lens-for-industrial-microscope-camera-p-1545.html

MT02513431 metallurgical objective. (n.d.). BoliOptics. https://bolioptics.com/objective-working-distance-10-4mm-20x-infinity-plan-long-working-distance-achromatic-metallurgical-objective-mt02513431/

Needle Gauge Chart. (n.d.). Hamilton Company. https://www.hamiltoncompany.com/laboratory-products/needles-knowledge/needle-gauge-chart

Nie, Z.-g., Cui, Y.-g., Yang, Y.-l., Lou, J.-q., Ma, J.-q., & Li, G.-p. (2023). Design, manufacture and clamping operation of a 4-DOF piezoelectric micro-gripper. *Mechatronics*, 93, 1–16. https://doi.org/10.1016/j.mechatronics.2023.103002

Objektiniai stikleliai mikroskopams. (n.d.). UAB „Mokslo technologijos“. https://www.mokslotechnologijos.lt/stikliniai-objektiniai-stikleliai-mikroskopams-50-vnt

Power, M., Barbot, A., Seichepine, F., & Yang, G. (2023). Bistable, Pneumatically Actuated Microgripper Fabricated Using Two-Photon Polymerization and Oxygen Plasma Etching. *Advanced Intelligent Systems*, 5(4), 1–10. https://doi.org/10.1002/aisy.202200121

Raspberry Pi 4 Tech Specs. (n.d.). Raspberry Pi. https://www.raspberrypi.com/products/raspberry-pi-4-model-b/specifications/

TMC2130 Stepper Motor Driver. (n.d.). Analog Devices. https://www.analog.com/en/products/tmc2130.html

Urbano, DG., Noventa, G., Ghidoni, A., & Lezzi, AM. (2021). A Semi-Empirical Fluid Dynamic Model of a Vacuum Microgripper Based on CFD Analysis. *Applied Sciences,* 11(16), 7482. https://doi.org/10.3390/app11167482

Van Den Berg, S., & Van Landschoot, A. (2003). Practical use of dried yeasts in the brewing industry. *CEREVISA*, 28(3), 25–30.

XCAMLITE4K. (2023, February 18). ToupTEK Photonics. http://www.touptek.com/product/showproduct.php?lang=en&id=347

Yeast Stains. (n.d.). Biotium. https://biotium.com/products/microbiology/microbiology-yeast-staining-kits/

Zakhartsev, M., & Reuss, M., (2018). Cell size and morphological properties of yeast Saccharomyces cerevisiae in relation to growth temperature. *FEMS Yeast Research*, 18(6), 1–16. https://doi.org/10.1093/femsyr/foy052

Zhao, Y., Hao, W., Zheng, L., Wang, Y., Zhu, Y., & Chen, L. (2024). Advanced pneumatic microgripper for versatile biomedical micromanipulation. *Precision Engineering*, 88, 223–234. https://doi.org/10.1016/j.precisioneng.2024.02.005