



Progetto di un microscopio ottico a scansione

Risultati finali

L'attività ha riguardato lo studio, la prototipazione e l'analisi dei risultati ottenuti su un apparato di nuova concezione per microscopia ottica a scansione.

Le fasi del lavoro si sono distinte in:

- studio del precedente apparato presente nel Laboratorio sorgenti laser

Durante questa fase si sono svolte analisi sul preesistente apparato al fine di valutare le modifiche da apportare atte a introdurre miglioramenti nel sistema.

Il punto di intervento principale è stato identificato nella ricerca di nuove traiettorie di scansione del campione da parte del fascio laser illuminante.

Nel sistema attualmente in funzione si ha una scansione per righe, con asse X esplorato ad una frequenza più alta rispetto all'asse Y. Questa modalità di scansione comporta una sollecitazione meccanica maggiore per il motore che governa l'asse X rispetto a quello che pilota l'asse Y. Un limite alla velocità di esecuzione dell'operazione è la massima frequenza di sollecitazione del galvomotore relativo all'asse X. Una miglioria che può essere apportata al sistema comporta una modifica della modalità di pilotaggio, che può avvenire non più per righe, ma secondo traiettorie che prevedano di modificare sia le ascisse sia le ordinate dei punti che vengono successivamente acquisiti, in modo da poter ridistribuire in modo più equilibrato il carico di lavoro su entrambi i motori. Si prevede che questo cambiamento possa portare vantaggi sia in termini di diminuita sollecitazione meccanica al sistema (e quindi diminuita vibrazione) sia in termini di velocità di acquisizione.

- studio di nuove traiettorie di scansione

Si prevede di utilizzare per pilotaggio dei galvomotori in un primo momento un microcontrollore in grado di generare le forme d'onda per delle prove di acquisizione a bassa frequenza (in modo da verificare la correttezza dell'algoritmo scelto per la scansione, basato sulle curve di Lissajous).

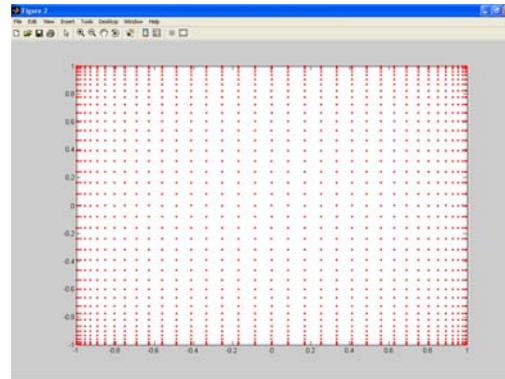
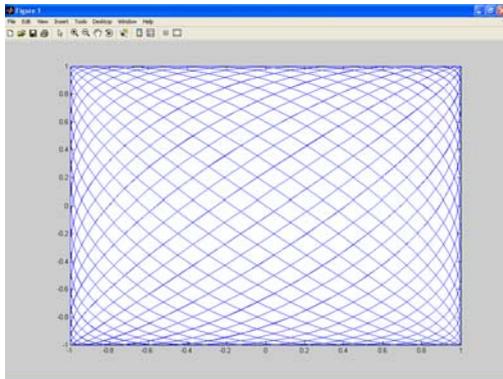
In matematica e in fisica per figura di Lissajous si intende il grafico di una curva data dal sistema di equazioni parametriche

$$k_x(t) = k_{\max} \cdot \cos(\omega_x t + \phi_x) \quad k_y(t) = k_{\max} \cdot \cos(\omega_y t + \phi_y)$$

dove le $k_{x\max}$ e $k_{y\max}$ sono le ampiezze, le ω_i le pulsazioni e le ϕ_i le fasi di due moti oscillatori ortogonali.

E' necessario associare alle traiettorie opportuni istanti di campionamento, in modo da avere la migliore copertura possibile del campione. Per effettuare la scansione pilotando i galvomotori in modo da disegnare traiettorie di Lissajous, la prima cosa da fare è scegliere gli istanti nei quali effettuare il campionamento dell'immagine, che sono corrispondenti ai punti sulla superficie da acquisire.

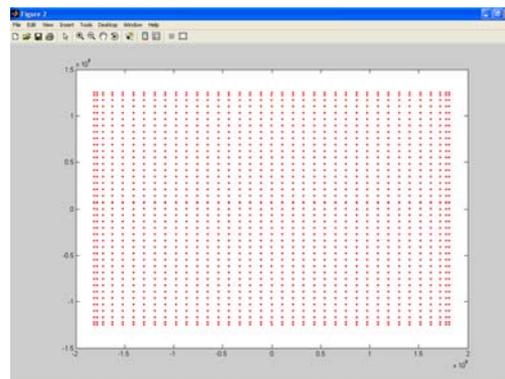
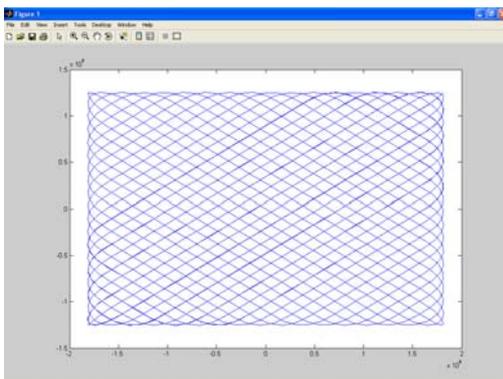
Adottando direttamente la curva classica, la matrice dei punti campionati subisce una distorsione presentando un maggior campionamento nei bordi, a discapito del centro dell'immagine.



Traiettorie di scansione e punti di campionamento per curve di Lissajous classiche (emulazione Matlab)

Si ha un effetto di sovracampionamento lungo il bordo.

È possibile modificare le parametriche per generare i percorsi di Lissajous, per correggere queste deformazioni, come mostrato di seguito:



Traiettorie di scansione e punti di campionamento per curve di Lissajous modificate

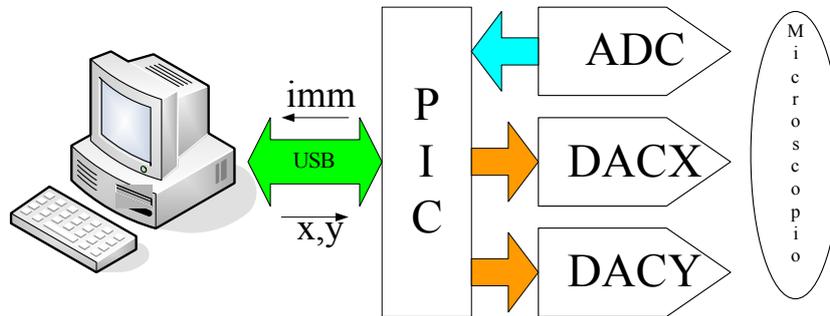
Prima di costruire un sistema hardware in grado di eseguire le traiettorie e acquisire l'immagine è stata effettuata una simulazione Matlab in grado di evidenziare le possibilità del nuovo approccio.

L'immagine di partenza è una figura acquisita dal microscopio con dimensioni in punti 512x512 punti al fine di velocizzare le operazioni di calcolo. Tale immagine è stata ricampionata via software mediante le figure di Lissajous modificate e ricostruita, con risultati incoraggianti:

- **realizzazione del primo prototipo a microprocessore**

per verificare i risultati di simulazione è stato realizzato un prototipo basato su microprocessore PIC in grado di pilotare i galvomotori secondo traiettorie fornite direttamente dal PC.

Per pilotare il prototipo è stato implementato un software in linguaggio Visual Basic in grado di fornire all'utente le funzionalità base attese per un normale apparato di microscopia.



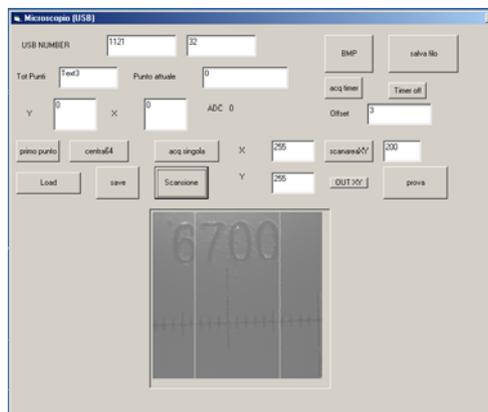
Il sistema funziona utilizzando le traiettorie definite dal file di simulazione Matlab, i punti delle traiettorie vengono inviati al prototipo mediante interfaccia USB, utilizzata anche dal prototipo stesso per restituire il valore in gradazione di grigio del punto immagine illuminato.

Il file delle traiettorie viene accettato in formato testo (TXT) e viene inviato punto per punto al prototipo. Ad ogni ricezione delle coordinate del punto, il microprocessore genera un codice a 8bit per i due convertitori D/A per i due canali dei galvomotori, x e y.

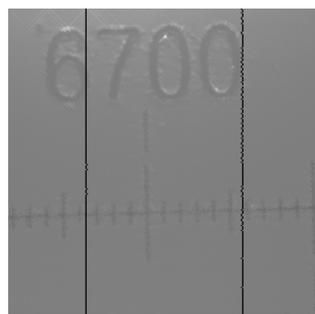
Una volta posizionato il fascio laser alle corrette coordinate il microprocessore prosegue con la conversione del segnale, fornito dal fotomoltiplicatore, in formato digitale anch'esso a 8bit corrispondente al valore di illuminazione che il campione restituisce una volta illuminato.

Il dato viene quindi trasferito tramite USB al PC che provvede a collocarlo nella matrice immagine per ricostruire la figura acquisita dal microscopio.

Per facilitare l'analisi l'immagine viene direttamente mostrata a schermo ed è offerta la possibilità all'operatore di salvare l'immagine in formato BMP oppure salvare i dati relativi in formato testo.



Per caratterizzare l'intero sistema si sono effettuate scansioni su un vetrino calibrato, ottenendo immagini di 256x256 pixel su un campo di scansione di 250x250 micrometri.



Tale risoluzione può essere aumentata fino a 5 volte riducendo il campo della scansione (ad esempio, è possibile coprire un'area di 50µm x 50µm ottenendo una risoluzione di 200nm).