

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
DEPARTAMENTO DE FÍSICA

PROPUESTA DE PROYECTO MICROSCOPIA MODERNA
MICROSCÓPIO DE ESCANEO LASER
JUAN BARBOSA

1. Introducción

La microscopía de escaneo laser es una técnica de microscopía en la cual se hace incidir luz sobre una pequeña parte de un objeto, y se cuantifica la reflexión de la misma. En ese sentido hace parte de las técnicas de luz reflejada. Dado que el punto donde se concentra la luz es relativamente pequeño respecto a el tamaño de la muestra, es necesario samplear la reflexión en los ejes x y y .

Experimentalmente la parte óptica se compone de un *beam splitter* y uno o más lentes para enfocar el haz de luz. El microscópio confocal es el mayor exponente de esta técnica de microscopía, el cual además de los elementos observados en la figura cuenta con dos *pinholes* los cuales permiten realizar seccionamiento estructural sobre la muestra.

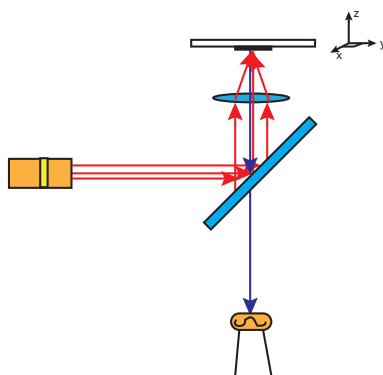


Figura 1: El haz de luz proveniente del laser, se refleja y se enfoca usando un lente. El rayo incide sobre la muestra, y la luz reflejada es captada por un detector.

2. Objetivos

1. Construcción de un microscópio de escaneo laser usando materiales de fácil acceso comercial.
2. Adquirir datos con diferentes muestras.
3. Mantener el presupuesto bajo, la electrónica simple y el código legible. Se espera que el proyecto a futuro sirva de forma pedagógica, para las ciencias computacionales y la electrónica.

3. Metodología

El sistema óptico necesario para la implementación del proyecto se encuentra en su totalidad contenida en los módulos de lectura (y escritura) de medios digitales tales como CD, DVD y Blu-Ray. De estos tres sistemas el de menor longitud de onda es el Blu-Ray, sin embargo el sistema óptico se encuentra minimizado, dificultando el acceso a las partes relevantes. Por esta razón se optó por el sistema óptico de los CD's, los cuales ya se encuentran adquiridos y corresponden con la referencia KSS-213B.

En estos sistemas se realizaron cambios de los láseres infrarrojos por rojos de acceso comercial local. La etapa de detección también se modificó, reemplazando el fotodiodo por un fotoresistor, sin embargo esta etapa aún no se encuentra implementada en su totalidad, dado que es necesaria una etapa de resta al fondo y amplificación. Los sistemas de CD usados cuentan con dos bobinas internas para controlar el enfoque (z) y el movimiento en una dirección x ó y . Estos movimientos son lo suficientemente pequeños para seguir los datos grabados sobre la superficie de un cd ($\approx 1\mu\text{m}$). De los dos sistemas ópticos con los que se cuenta, el primero tiene las funciones de enfoque y movimiento en x , mientras el otro sólo se mueve en y .

El microscópio en su interior cuenta con un microcontrolador Atmega 328, el cual se encarga de realizar los movimientos en x y y , obtener los datos y enviarlos por puerto USB a un computador usando un protocolo UART. Esta etapa ya se encuentra implementada. En el computador los datos son recibidos y graficados, al finalizar el proyecto se espera contar con una librería en Python para simplificar el acceso a los datos, sin perder de vista el hecho que el microscópio será manejado con código y no con una interfaz gráfica, esto con el objetivo de motivar la computación a nivel general.

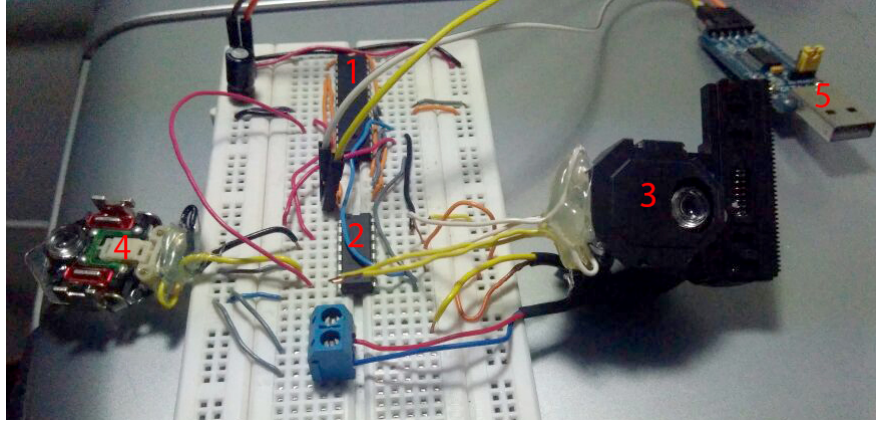


Figura 2: Circuito actual. (1) Microcontrolador. (2) Puente H, etapa de potencia para los motores. (3) Sistema óptico principal con laser y movimiento en x . (4) Sistema óptico con movimiento en y . (5) Comunicación UART.

El enfoque se llevará a cabo sampleando un único punto para distintas alturas. Al graficar las intensidades el máximo corresponderá con la altura donde la muestra se encuentra enfocada (luz incidiendo en una menor área pero con mayor intensidad), para esto se usa derivación numérica.

$$df_i = \frac{f_{i+1} - f_{i-1}}{2\Delta h} \quad f_i \text{ corresponde con el dato } i\text{-ésimo. Estará enfocada si } -\epsilon < df_i < \epsilon. \quad (1)$$

Finalmente se prevee una complicación en el manejo de las muestras, puesto que hasta el momento no se ha considerado un montaje para facilitar su ubicación en el microscópio.

3.1. Resultados preliminares

Los resultados preliminares muestran la forma de escaneo de un blanco (objetivo vacío) con condiciones de luz estables en el cuarto donde se realiza el montaje.

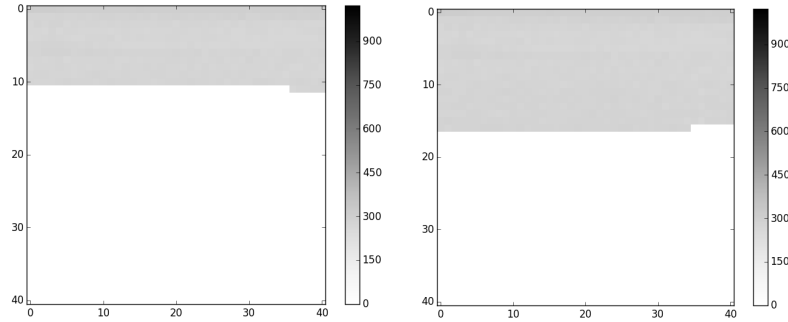


Figura 3: Barrido, observado en el computador. La escala corresponde a 10-bits.

Usando una factura en papel térmico se realiza una la primera prueba con una muestra reflectiva, si bien la imagen se ve ruidosa, se debe en parte a la poca estabilidad en la iluminación ambiente al tomar los datos.

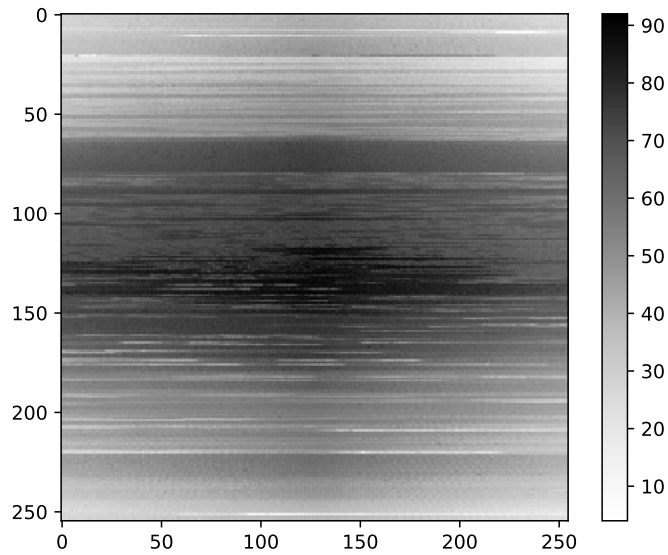


Figura 4: Primera línea horizontal de la letra E en una factura.

Es importante mencionar que la imagen anterior corresponde con resultados obtenidos sin amplificación y eliminación del fondo, por lo cual se usan menos de 7 bits de 10 disponibles.

4. Plan B (Colaboración)

Otra opción para realizar el movimiento en las tres dimensiones es el uso de 2 motores de paso y un stepper. Los primeros usados en los ejes x y y , y el último en z . Estos ya se encuentran adquiridos (Neocene 2T3542232 y TowerPro SG90). El número de pasos requeridos para dar una vuelta es de $n_0 = 96$ (Neocene 2T3542232).

$$\theta_0 = \frac{2\pi}{n_0} = 0,06545 \text{ rad} \quad \text{ángulo por paso} \quad (2)$$

$$s_0 = r\theta_0 = 654,5\mu\text{m} \quad \text{movimiento longitudinal por paso, suponiendo } r = 1 \text{ cm} \quad (3)$$

Se propone entonces la construcción de un moto reductor con una relación $\alpha:1$, con $\alpha = 71$. El movimiento longitudinal de busca realizar usando una correa de distribución (ya adquirida) con un montaje análogo al mostrado en la siguiente figura.

$$s = \frac{r\theta_0}{\alpha} \approx 9,2\mu\text{m} \quad (4)$$



Figura 5: Propuesta para movimientos longitudinales.

Este se encuentra en etapa de diseño y actualmente se realizan calibraciones.

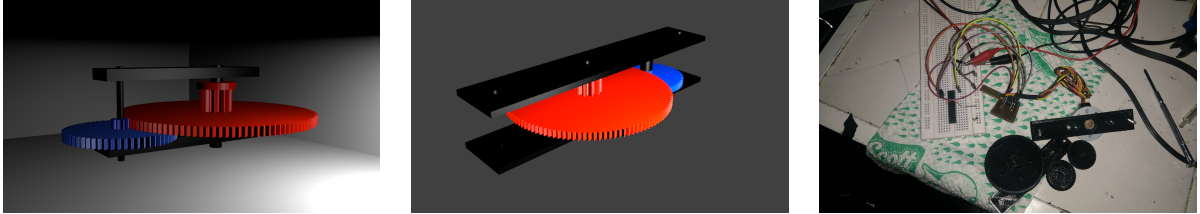


Figura 6: Prototipo 1, Prototipo 2, impresión 3D prototipo 2.

Referencias

Laser Scanning Microscope. \url{http://www.instructables.com/id/Laser-Scanning-Microscope/}, 2017.

Scanning Laser Microscope with Arduino. \url{http://www.instructables.com/id/Scanning-Laser-Microscope-With-Arduino/}, 2017.

Gábor Steinbach and Radek Kaňa. Automated Microscopy: Macro Language Controlling a Confocal Microscope and its External Illumination: Adaptation for Photosynthetic Organisms. *Microscopy and Microanalysis*, 22(02):258–263, apr 2016. ISSN 1431-9276. doi: 10.1017/S1431927616000556. URL http://www.journals.cambridge.org/abstract/{_}S1431927616000556.

Peng Xi, Bartlomiej Rajwa, James T. Jones, and J. Paul Robinson. The design and construction of a cost-efficient confocal laser scanning microscope. *American Journal of Physics*, 75(3):203–207, mar 2007. ISSN 0002-9505. doi: 10.1119/1.2388973. URL <http://aapt.scitation.org/doi/10.1119/1.2388973>.

La totalidad de los archivos de soporte del proyecto, incluyendo este documento y los códigos para el funcionamiento del escaner láser como el movimiento longitudinal se encuentran en <https://github.com/jsbarbosa/miniscope>, y hacen parte del proyecto Miniscope.