



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο
Σχολή Μηχανολόγων Μηχανικών

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΜΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΙΚΗΣ
ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Σχεδιασμός Διάταξης για την Αυτοματοποίηση
Μικροσκοπίου Φθορισμού**

Αντώνιος Ι. Θεοδωρόπουλος

**Επιβλέπων: Επίκουρος Καθηγητής
Λεωνίδας Αλεξόπουλος**

Αθήνα 2015



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Σχολή Μηχανολόγων Μηχανικών

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΜΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΙΚΗΣ
ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Σχεδιασμός Διάταξης για την Αυτοματοποίηση
Μικροσκοπίου Φθορισμού**

Αντώνιος Ι. Θεοδωρόπουλος

**Επιβλέπων: Επίκουρος Καθηγητής
Λεωνίδας Αλεξόπουλος**

Εγκρίθηκε την 15^η Οκτωβρίου 2015 από την τριμελή επιτροπή:

.....
Αλεξόπουλος Λεωνίδας Προβατίδης Χριστόφορος Τσαγγάρης Σωκράτης
Επ. Καθηγητής ΕΜΠ Καθηγητής ΕΜΠ Καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα, Οκτώβριος 2015

.....
Θεοδωρόπουλος Αντώνιος

Διπλωματούχος Μηχανολόγων Μηχανικών ΕΜΠ

Copyright © Θεοδωρόπουλος Αντώνιος

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό εκπαιδευτικής, ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα. Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευτεί, ό,τι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας, της σχολής Μηχανολόγων Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή κ. Λεωνίδα Αλεξόπουλου. Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν με οποιονδήποτε τρόπο στην επιτυχή εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Αλεξόπουλο, που μου έδωσε τη δυνατότητα να γνωρίσω έναν τομέα σύγχρονο και συνεχώς εξελισσόμενο, να εισέλθω σε ένα εργαστήριο πλήρως καταρτισμένο, καθώς και για όλα τα μέσα που μου προσφέρθηκαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής. Ευχαριστώ για την καθοδήγηση και την υποστήριξη που μου έδωσε, καθώς και για την εμπιστοσύνη για την ανάληψη και εκπόνηση της διπλωματικής, που αφορά την αυτοματοποίηση εξαρτημάτων του μικροσκοπίου φθορισμού του εργαστηρίου. Ευχαριστώ που μου έδωσε τη δυνατότητα να γίνω μέλος του εργαστηρίου και να γνωρίσω άτομα, τα οποία συνέβαλαν σημαντικά στην απόκτηση γνώσεων και εμπειριών, πολύτιμων για τη μελλοντική μου σταδιοδρομία.

Θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω τον Δημήτρη Τζεράνη για τις πολύτιμες συμβουλές, την καθοδήγηση και τον προσωπικό χρόνο που μου διέθεσε, καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας. Ευχαριστώ τον προπτυχιακό φοιτητή Αλέξανδρο Πόλεσιουκ για τις συμβουλές του και την συμβολή του στην κατασκευή των εξαρτημάτων. Ευχαριστώ, επίσης, τον υποψήφιο διδάκτορα Γιώργο Κανακάρη για την συμβολή του στην κατασκευή των εξαρτημάτων. Ευχαριστώ τον προπτυχιακό φοιτητή του ΕΜΠ, τμήμα Μηχανολόγων, Νικόλαο Κουκή, για την διαμόρφωση του γραφικού περιβάλλοντος του μικροσκοπίου και τις συμβουλές του στη διαδικασία του προγραμματισμού. Ευχαριστώ ξεχωριστά κάθε ένα από τα μέλη του εργαστηρίου για το υπέροχο καθημερινό κλίμα, την βοήθεια και την συμπαράσταση που μου δόθηκε.

Τέλος ευχαριστώ την οικογένεια μου και τα κοντινά μου πρόσωπα για την υποστήριξη, την κατανόηση και την αγάπη τους.

Περίληψη

Η μικροσκοπία φθορισμού είναι ένα σημαντικό εργαλείο στη σύγχρονη βιολογία και ιατρική. Ο φθορισμός είναι ένα οπτικό φαινόμενο, κατά το οποίο συγκεκριμένα φθορίζοντα μόρια, αφού διεγερθούν από φως συγκεκριμένου μήκους κύματος, εκπέμπουν φως διαφορετικού μήκους κύματος. Στην μικροσκοπία φθορισμού το σήμα από φθορίζοντα μόρια (είτε ενδογενή είτε εξωγενή όπως βαφές, αντισώματα, φθορίζουσες πρωτεΐνες) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την μελέτη μακρομορίων, κυτταρικών δομών και κυτταρικών λειτουργιών σε μονιμοποιημένα ή ζωντανά κύτταρα, σε μονιμοποιημένα κομμάτια ιστών, ακόμα και σε ζωντανά ζώα.

Η συστημική βιολογία είναι η επιστήμη που προσεγγίζει τις κυτταρικές λειτουργίες σαν σύστημα. Γίνεται εκτέλεση πολλών πειραμάτων προκειμένου να μετρηθεί η απόκριση του κυτταρικού συστήματος σε ευρύ φάσμα διεγέρσεων. Μέχρι στιγμής, τα δεδομένα που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας του ΕΜΠ είναι κυρίως πρωτεομικά, τα οποία περιγράφουν την έκφραση και κατάσταση συγκεκριμένων πρωτεϊνών σε μια ομάδα κυττάρων. Από την άλλη, η μικροσκοπία φθορισμού παρέχει την δυνατότητα μέτρησης της έκφρασης πρωτεϊνών και δομών με υψηλή χωρική και χρονική δειγματοληψία, ακόμα και να ποσοτικοποιήσει την έκφραση σε κάθε κύτταρο ξεχωριστά (κυτταρομετρία). Τα δεδομένα αυτά έχουν την δυνατότητα να συμπληρώσουν τα πρωτεομικά δεδομένα σε μελέτες συστημικής βιολογίας. Ένας μελλοντικός συνδυασμός πρωτεομικής με μικροσκοπία θα παρέχει την δυνατότητα μελέτης πολλών δειγμάτων, πολλών πρωτεϊνών, μεγάλης ευαισθησίας, χωρικής δειγματοληψίας, και χρονικής δειγματοληψίας μέσω πειραμάτων σε ζωντανά κύτταρα.

Το κύριο εμπόδιο για την εφαρμογή μικροσκοπίας στην συστημική βιολογία είναι ο μεγάλος αναγκαίος αριθμός πειραμάτων. Αυτό κάνει δύσκολη και κουραστική την διεξαγωγή τους από έναν χρήστη σε ένα μη-αυτοματοποιημένο μικροσκόπιο, αυξάνοντας πιθανότητες σφαλμάτων. Είναι επιτακτική η ανάγκη χρήσης αυτοματοποιημένων μικροσκοπίων φθορισμού, τα οποία μπορούν να απεικονίσουν εκατοντάδες δείγματα με ελάχιστη ανθρώπινη παρουσία. Τα εμπορικά διαθέσιμα αυτόματα μικροσκόπια φθορισμού έχουν μεγάλες δυνατότητες, όμως είναι απαγορευτικά ακριβά. Από την άλλη, το εργαστήριο Εμβιομηχανικής έχει ένα απλό μικροσκόπιο φθορισμού, το οποίο όμως δεν παρέχει λειτουργίες αυτοματοποίησης.

Η παρούσα διπλωματική μελετά τον σχεδιασμό διατάξεων για την αυτοματοποίηση του μικροσκοπίου φθορισμού του εργαστηρίου Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας του ΕΜΠ. Σχεδιάζονται διατάξεις για την αυτοματοποίηση τριών βασικών λειτουργιών: του διαγράμματος της λάμπας υδραργύρου, του φορέα των οπτικών φίλτρων και της αντικειμενοφόρου βάσης. Παρέχεται χαρακτηρισμός της ακρίβειας κίνησης της βάσης, και παρουσιάζεται μια απλή εφαρμογή απεικόνισης ζωντανών κυττάρων λευχαιμίας JJN3. Η αυτοματοποίηση των παραπάνω τριών λειτουργιών επιτρέπει κυρίως την εκτέλεση δεκάδων πειραμάτων απεικόνισης χαμηλής μεγέθυνσης σε μονιμοποιημένα κύτταρα και τομές ιστών. Τέλος, παρουσιάζονται τα επόμενα βήματα, ώστε το μικροσκόπιο να αυτοματοποιηθεί παραπάνω, επιτρέποντας την απεικόνιση σε υψηλή ανάλυση, ή την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων.

Abstract

Fluorescence microscopy is an important tool in modern biology and medicine. Fluorescence is the optical phenomenon where fluorescent molecules, after being excited by light of a particular wavelength, they emit light of a different wavelength. In fluorescence microscopy the signal that is coming from fluorescent molecules (either endogenous or exogenous like dyes, antibodies, fluorescent proteins) can be used in the study of macromolecules, cellular structures and cellular functions in fixed or living cells, in fixed tissues even in living animals.

Systems biology is the science that studies the cell functions as a system. The response of the cellular system is measured via high-throughput and multiplex covering a wide range of signals and stimuli. So far, the biomechanics and systems biology laboratory of NTUA have focused in proteomic experiments studying the expression and the state of individual proteins in a cell group. On the other hand, fluorescence microscopy allows the measurement of protein expression and structures with high spatial and temporal sampling, even to quantify the expression of each cell separately (cytometry). These data can be used to complement the proteomic data in systems biology studies. A prospective combination of proteomic experiments with fluorescent microscopy could allow the study of many samples, many proteins at high sensitivity with spatial and temporal sampling through experiments in living cells.

The main obstacle in the implementation of microscopy in systems biology is the large number of experiments necessary. This makes it difficult and tedious to perform for a single user in a non-automated microscope leading to increased error probability. There is an urgent need for automated fluorescence microscopes, which can screen hundreds of samples with minimal human presence. Commercially available automatically fluorescent microscopes have great potentials, but they are prohibitively expensive. On the other hand, the biomechanics laboratory has a simple fluorescence microscope, which does not provide automated functions.

This thesis is focused in designing a system for the automation of the laboratory's fluorescent microscope. Three key parts of the system have been automated. The shutter of the mercury lamp, the body of the optical filters and the high precision XY stage. Also the precision motion of the base is calibrated. The Design and Manufacture process is described, as well as other features (electronics, connectivity, electrical & mechanical components), that are needed for completing the project. A program to control the three functions has been developed. In order for the user to control the parts and the camera, easily and effectively, a Graphic User Interface is created.

The automation of these three main functions allows the execution of dozens of experiments low magnification imaging in fixed cells and tissue sections. Here, a simple application imaging live cell leukemia JLN3 is being presented. Finally, the future work for automating the imaging in high resolution and also of living cells, are presented.

Περιεχόμενα

1	Εισαγωγή	1
1.1	Φαινόμενο Φθορισμού.....	1
1.2	Φθορίζοντα Σήματα σε Βιολογικά Δείγματα	2
1.2.1	Ενδογενή Σήματα Φθορισμού	2
1.2.2	Βαφές.....	3
1.2.3	Αντισώματα.....	3
1.2.4	Φθορίζουσες Πρωτεΐνες	3
1.3	Μικροσκοπία Φθορισμού.....	4
1.3.1	Αρχή Λειτουργίας.....	4
1.3.2	Είδη Μικροσκοπίων Φθορισμού.....	5
1.3.3	Αυτοματοποίηση Μικροσκοπίων Φθορισμού.....	7
1.4	Εφαρμογές Μικροσκοπίας Φθορισμού στην Βιολογική Έρευνα και την Ιατρική.....	9
1.4.1	Εντοπισμός Έκφρασης και Ενδοκυτταρικής Θέσης Πρωτεϊνών.....	9
1.4.2	Επαναλαμβανόμενη Παρατήρηση Ζωντανών Κυττάρων.....	9
1.4.3	Κυτταρομετρία ροής	10
1.4.4	Μικροσκοπία Ενεργειακού Συντονισμού Foerster (FRET microscopy)	10
1.4.5	Optical Based Screening.....	11
1.5	Σκοπός Διπλωματικής	11
2	Σχεδιασμός και Κατασκευή Διάταξης Αυτοματοποίησης Μικροσκοπίου Φθορισμού	13
2.1	Περιγραφή του Μικροσκοπίου Φθορισμού του Εργαστηρίου	13
2.2	Αναγκαία Αυτοματοποίηση	15
2.2.1	Λειτουργίες του Μικροσκοπίου προς Αυτοματοποίηση	15
2.2.2	Λειτουργίες προς Αυτοματοποίηση Της Παρούσης Εργασίας.....	15
2.2.3	Βασικές Προδιαγραφές.....	15
2.3	Αυτοματοποίηση της Κίνησης του Διαφράγματος της Λάμπας Υδραργύρου	17
2.3.1	Ανάγκη για Αυτοματοποίηση	17
2.3.2	Προδιαγραφές	17
2.3.3	Εννοιολογικός Σχεδιασμός	18
2.3.4	Λεπτομερής Σχεδιασμός	23
2.3.5	Έλεγχος Λειτουργίας	26
2.4	Αυτοματοποίηση της Κίνησης του Φορέα των Οπτικών Φίλτρων.....	28
2.4.1	Ανάγκη για Αυτοματοποίηση	28
2.4.2	Προδιαγραφές	29
2.4.3	Εννοιολογικός Σχεδιασμός	29
2.4.4	Λεπτομερής Σχεδιασμός	34
2.4.5	Προγραμματισμός - Συνδεσμολογία.....	40
2.4.6	Έλεγχος λειτουργίας.....	41
2.4.7	Τελικό Σχέδιο	42

2.5	Σχεδιασμός και Αυτοματοποίηση Αντικειμενοφόρου Βάσης	44
2.5.1	Ανάγκη για αυτοματοποίηση	44
2.5.2	Προδιαγραφές	45
2.5.3	Εννοιολογικός Σχεδιασμός	47
2.5.4	Λεπτομερής Σχεδιασμός	59
2.5.5	Προγραμματισμός - Συνδεσμολογία.....	66
2.5.6	Έλεγχος Λειτουργίας	68
2.5.7	Τελικό Σχέδιο	68
2.6	Σύνθεση Συστήματος.....	71
2.6.1	Προγραμματισμός	71
2.6.2	Συνδεσμολογία	71
2.6.3	Γραφικό Περιβάλλον.....	74
2.6.4	Έλεγχος Λειτουργίας	74
2.7	Κοστολόγηση Αυτοματοποίησης	76
3	Πειραματικά Αποτελέσματα	77
3.1	Επαναληψιμότητα Αρχικοποίησης	78
3.2	Ακρίβεια και Επαναληψιμότητα σε Τυχαία Κίνηση που Επιστρέφει στο Σημείο Εκκίνησης	79
3.3	Ακρίβεια Σάρωσης Πλάκας Δειγμάτων	80
3.4	Απεικόνιση Βαμμένων Κυττάρων σε 96άρα πλάκα	81
3.4.1	Προετοιμασία Δειγμάτων	81
3.4.2	Απεικόνιση.....	82
3.4.3	Αποτελέσματα	82
4	Συμπεράσματα και Μελλοντική Εργασία	84
5	Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	85
5.1	Επιστημονικές Δημοσιεύσεις.....	85
5.2	Βιβλία	85
5.3	Ιστοσελίδες	85
Παράρτημα Α:	Κατασκευαστικά Σχέδια.....	86
	Κατασκευαστικά Σχέδια Διαφράγματος.....	87
	Κατασκευαστικά Σχέδια Συσκευή Κίνησης Φορέα Φιλτρών.....	93
	Κατασκευαστικά σχέδια αυτοματοποιημένης αντικειμενοφόρου βάσης	103
Παράρτημα Β:	Προγραμματισμός	120
	ARDUINO: Πειράματα Ακρίβειας και επαναληψιμότητας.....	121
	Αρχικοποίηση και κίνηση προς μια θέση	121
	Κίνηση με τρία διαφορετικά μοτίβα με αρχή και τέλος το ίδιο σημείο	122
	Σάρωση μέρους 96άρας πλάκας και επιστροφή στο ίδιο σημείο	123
	ARDUINO: Πείραμα απεικόνισης κυττάρων	125
	GUI γραφικό περιβάλλον	126
Παράρτημα Γ:	Πρωτόκολλα Προετοιμασίας Δειγμάτων	127

1 Εισαγωγή

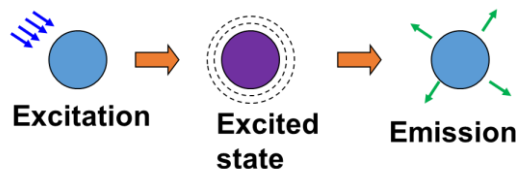
Τα μικροσκόπια φθορισμού αποτελούν σημαντικά εργαλεία για την απεικόνιση βιολογικών και ιατρικών δειγμάτων και τη μελέτη ζωντανών και μη οργανισμών. Υπάρχουν πολλά είδη μικροσκοπίας ανάλογα με την μέθοδο δημιουργίας του οπτικού σήματος, μεταξύ αυτών σήμερα η μικροσκοπία φθορισμού είναι ένα από τα πιο χρήσιμα εργαλεία στα χέρια των επιστημόνων. Η εξέλιξη της τεχνολογίας και η αυτοματοποίηση των διεργασιών προώθησε τη μικροσκοπία και τις μεθόδους απεικόνισης. Πλέον είναι δυνατό να γίνει συνεχή παρακολούθηση δειγμάτων, λήψη αποθήκευση και επεξεργασία μεγάλου όγκου δεδομένων και ομαδοποίηση αποτελεσμάτων. Με αναλυτικές και υπολογιστικές μεθόδους τα δεδομένα που προκύπτουν από τη μικροσκοπία μπορούν να επεξεργαστούν σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα και με μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον.

Το κεφάλαιο 1 παρέχει μια εισαγωγή στην τεχνολογία μικροσκοπίας φθορισμού. Συγκεκριμένα, στα εδάφια 1.1 και 1.2 παρουσιάζονται οι βασικές αρχές του φαινομένου του φθορισμού και οι τρόποι δημιουργίας φθορίζοντων σημάτων σε βιολογικά δείγματα. Στα εδάφια 1.3 και 1.4 παρουσιάζονται τα είδη των μικροσκοπιών φθορισμού και οι βασικές εφαρμογές της μικροσκοπίας φθορισμού. Τέλος στο εδάφιο 1.5 παρουσιάζονται οι στόχοι της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

1.1 Φαινόμενο Φθορισμού

Τα μικροσκόπια φθορισμού βασίζονται σε οπτικά σήματα που εκπέμπονται μέσω του φαινομένου του φθορισμού. Το φαινόμενο αυτό λαμβάνει χώρα σε συγκεκριμένα μόρια (ή νανοδομές) τα οποία ονομάζονται φθορίζοντα μόρια (fluorophores). Ένα φθορίζον μόριο έχει την ιδιότητα να απορροφά φως συγκεκριμένης ενεργειακής στάθμης και στην συνέχεια να εκπέμπει φως μικρότερης ενέργειας [Lakowicz 2006].

Το φαινόμενο του φθορισμού βασίζεται στις αλλαγές της ενεργειακής κατάστασης των μορίων. Τα μόρια μπορούν να βρεθούν σε συγκεκριμένες ενεργειακές καταστάσεις που ονομάζονται ενεργειακά επίπεδα. Αυτά περιγράφουν την κατανομή των ηλεκτρονίων στις στοιβάδες τους και τυχών ταλαντώσεις των ατόμων τους. Για λόγους κατανόησης, θα θεωρηθεί ένα μόριο με μόλις δύο ενεργειακές καταστάσεις, την κατάσταση ηρεμίας (ground state), που είναι χαμηλής ενέργειας και την διεγερμένη, που αντιστοιχεί σε μεγαλύτερο ενεργειακό επίπεδο. Το μόριο όταν δεν υπάρχει εξωτερική διέγερση βρίσκεται σε κατάσταση ηρεμίας. Στο φαινόμενο του φθορισμού, ένα μόριο από την κατάσταση ηρεμίας απορροφά ένα φωτόνιο, με αποτέλεσμα την διέγερσή του. Όταν διεγείρεται μεταβαίνει στην διεγερμένη κατάσταση, καθώς τα ηλεκτρόνια του μετακινούνται σε υψηλότερη ενεργειακή στιβάδα. Μετά από ένα σύντομο χρονικό διάστημα (τάξης 1 nsec) το μόριο επανέρχεται πάλι στην κατάσταση ηρεμίας, εκπέμποντας ένα φωτόνιο χαμηλότερης ενέργειας. Το φωτόνιο με χαμηλότερη ενέργεια έχουν μεγαλύτερο μήκος κύματος απ' ότι τα φωτόνια με μεγαλύτερη ενέργεια. Η διαφορά του μήκους κύματος του φωτονίου που απορροφείται, από αυτό του φωτονίου που εκπέμπεται, ονομάζεται διαφορά Stokes (Stokes shift). Στην Εικόνα 1 φαίνεται ένα φθορίζον μόριο, το οποίο απορροφά ένα μπλε φωτόνιο, ενεργοποιείται και τελικά εκπέμπει ένα πράσινο φωτόνιο, καθώς επιστρέφει στην αρχική του κατάσταση.



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση του φαινομένου φθορισμού. Το φθορίζον μόριο απορροφά ένα φωτόνιο στο μπλε φάσμα του φωτός (αριστερά) και διεγείρεται (κέντρο). Μετά από περίπου 1 nsec επιστρέφει στην αρχική του κατάσταση εκπέμποντας ένα φωτόνιο στο πράσινο φάσμα του φωτός (δεξιά).

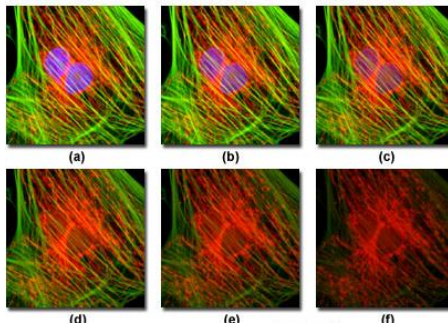
Τα φθορίζοντα μόρια έχουν τεχνολογικές εφαρμογές σε διάφορους τομείς. Οι πιο συνηθισμένες στην βιοιατρική έρευνα είναι ως σηματοδότες (αφού έχουν συνδεθεί σε ένα μακρομόριο ενδιαφέροντος), και ως βαφές κυττάρων και ιστών. Η παρούσα διπλωματική εργασία εστιάζεται στις εφαρμογές των φθορίζοντων ουσιών σε βιολογικά πειράματα και την απεικόνισή τους μέσω μικροσκοπίας.

1.2 Φθορίζοντα Σήματα σε Βιολογικά Δείγματα

Μέσω του φαινομένου του φθορισμού και της μικροσκοπίας είναι δυνατή η παρατήρηση διάφορων μορίων ή δομών μέσα σε κύτταρα ή ιστούς (είτε ζωντανά είτε νεκρά). Για να γίνει η απεικόνιση πρέπει το μόριο ενδιαφέροντος, είτε να είναι (i) φθορίζων από μόνο του (αυτοφθορίζοντα μόρια – autofluorescence), είτε να συνδεθεί με ένα εξωτερικό μόριο που έχει ιδιότητες φθορισμού. Τα μόρια που είναι αυτοφθορίζοντα σπανίζουν και για αυτό επιλέγεται η άλλη μέθοδος. Σε αυτή είναι αναγκαία η προετοιμασία του δείγματος, έτσι ώστε κάποιο φθορίζων μόριο να επισημάνει (staining) το μόριο προς απεικόνιση. Αυτό μπορεί να γίνει μέσω (ii) φθορίζουσων βαφών (fluorescent dyes), (iii) αντισωμάτων (antibodies) και (iv) φθορίζόντων πρωτεϊνών (fluorescent proteins).

Με τη χρήση των φθορίζουσων αυτών μεθόδων μπορεί να γίνει εντοπισμός και ανάλυση βιολογικών μορίων, χωρίς αυτά να καταστραφούν. Το κάθε ένα από τα φθορίζοντα μόρια έχει έναν στόχο (ένα σημείο που προσδένεται πάνω στα κύτταρα). Έτσι μπορεί εύκολα να βρεθεί σε σημείο του κυττάρου έχει προσδεθεί.

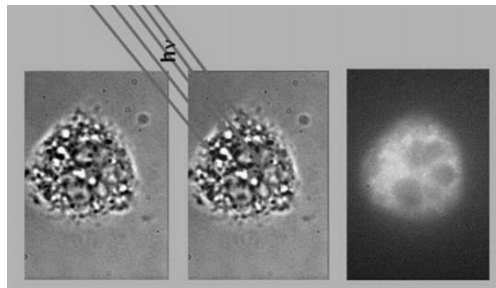
Οι φθορίζουσες ουσίες με το πέρασμα του χρόνου και καθώς διεγείρονται από την ακτινοβολία, χάνουν σταδιακά την δυνατότητα τους να εκπέμπουν φως. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται φωτολεύκανση (photobleaching) και προκαλείται από τις χημικές διαφοροποιήσεις που γίνονται εξαιτίας ηλεκτρονίων που διεγείρονται. Προκειμένου να αποφευχθεί το φαινόμενο αυτό είτε χρησιμοποιείτε περισσότερη χρωστική ουσία, είτε ελέγχεται ο τρόπος φωτισμού του δείγματος.



Εικόνα 2: Φαινόμενο Photobleaching σε κύτταρο Πηγή: olympusmicro.com

1.2.1 Ενδογενή Σήματα Φθορισμού

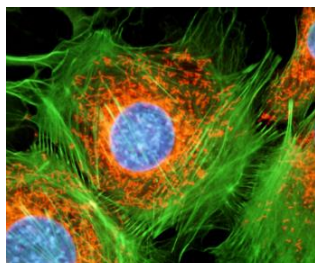
Τα κύτταρα περιέχουν μόρια, τα οποία είναι φθορίζοντα και διεγείρονται από οπτική ακτινοβολία. Η ικανότητα αυτή προκύπτει από κάποια ενδογενή φθοροφόρα. Είναι εγγενής ιδιότητα των κυττάρων και ονομάζεται αυτο-φθορισμός (autofluorescence). Τα περισσότερα ενδογενή σήματα προέρχονται από τα μιτοχόνδρια και τα λυσοσώματα. Οι αλλαγές που γίνονται στο κύτταρο και στην κατάσταση των ιστών κατά τη διάρκεια κάποιων διαδικασιών, οδηγούν στην διαφοροποίηση στην ποσότητα και τη κατανομή των ενδογενών αυτο-φθορίζοντων μορίων. Έτσι οι αναλυτικές τεχνικές που βασίζονται στην παρακολούθηση των μορίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν, για την συγκομιδή πληροφοριών, που αφορούν την μορφολογικές και φυσιολογικές καταστάσεις των κυττάρων και των ιστών. Τέλος αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πραγματικό χρόνο, καθώς δεν χρειάζεται να βαφτούν ή να εμποτιστούν τα κύτταρα με χρωστικές (όπως απαιτούν οι επόμενες μέθοδοι).



Εικόνα 3: Όταν μόρια (κάποιες πρωτεΐνες και ένζυμα) που είναι καταμεμημένα σε κύτταρα και ιστούς ετίθενται σε ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος, τότε συμπεριφέρονται σαν ενδογενή φθοροφόρα. (Monica M. "Cell and tissue autofluorescence research and diagnostic applications")

1.2.2 Βαφές

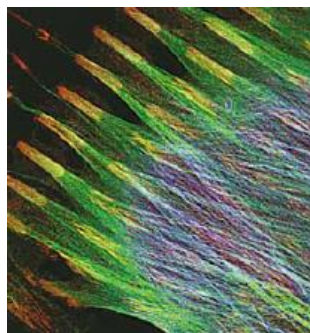
Πολλές φωσφορίζουσες βαφές έχουν σχεδιαστεί για μεγάλη εύρος βιολογικών μορίων. Οι περισσότερες από αυτές είναι μικρά μόρια τα οποία συνδέονται με τα μόρια ενδιαφέροντος. Για παράδειγμα με τη χρήση φθορίζοντων βαφών αναπαριστούνται κυτταρικά στοιχεία, όπως ο πυρήνας και το κυτταρόπλασμα και διάφορες δομές, όπως ο κυτταρικός σκελετός (Εικόνα 4).



Εικόνα 4: Κύτταρα βαμμένα με τρεις βαφές. DAPI (μπλε) για αναγνώριση πυρήνων, φαλοϊδίνη (πράσινο) για αναγνώριση του κυτταρικού σκελετού και MITROTRACKER (κόκκινο) για αναγνώριση μιτοχονδρίων

1.2.3 Αντισώματα

Η μέθοδος που χρησιμοποιεί αντισώματα προκειμένου να βαφθούν τα κύτταρα ονομάζεται ανοσοφθορισμός. Κάθε αντίσωμα έχει ένα συγκεκριμένο αντιγόνο που προσκολλάται προκειμένου να χαρακτηρίσει συγκεκριμένες πρωτεΐνες ή άλλα μόρια μέσα στο κύτταρο. Το δείγμα αναμιγνύεται με το αντίσωμα (το οποίο αναγνωρίζει με το μόριο ενδιαφέροντος) και στη συνέχεια προσκολλάται ένα φθορίζων μόριο πάνω στο αντίσωμα. Ένας δεύτερος τρόπος είναι να δεθεί ένα δευτερογενές αντίσωμα που είναι ήδη ενωμένο με την φθορίζουσα ουσία με το πρωτεύων αντίσωμα. Με τη χρήση φθορίζοντων αντισωμάτων και πρωτεϊνών παρατηρείται η πρωτεϊνική επάρκεια και μπορεί να γίνει ενδοκυτταρικός εντοπισμός (Εικόνα 5).



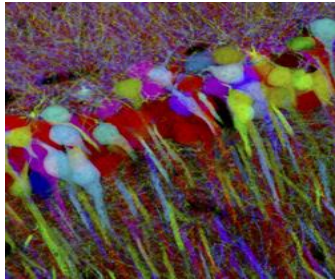
Εικόνα 5: Βαφές με VINCULIN (κόκκινο), β -actin (πράσινο) και α SMA (μπλε) σε συσταλτικά κύτταρα

1.2.4 Φθορίζουσες Πρωτεΐνες

Ως φθορίζουσες πρωτεΐνες ορίζονται πρωτεΐνες που παράγονται από κύτταρα και αφού ωριμάσουν τότε φθορίζουν σε συγκεκριμένα μήκη κύματος. Η ανακάλυψη της πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (Green Fluorescence Protein - GFP) στα τέλη του 1960 στην μέδουσα *A. Victoria* και η κλωνοποίηση της το 1992 έφερε τέτοια επανάσταση στην βιολογία και την ιατρική, ώστε τιμήθηκε με το Nobel χημείας του 2008. Η GFP είναι μια πρωτεΐνη με σχήμα βαρελιού (barrel) από 298 αμινοξέα, η οποία μετά την έκφραση και την ωρίμανση της (χημική αντίδραση μεταξύ συγκεκριμένων αμινοξέων που δημιουργεί μια δομή που φθορίζει) φθορίζει με βέλτιστη διέγερση στα 395 nm και μέγιστη εκπομπή στα 509 nm (πράσινο χρώμα). Μετά την ανακάλυψη της GFP, εντατική έρευνα έδειξε ότι κατάλληλες μεταλλάξεις στην GFP οδηγούν σε νέες φθορίζουσες πρωτεΐνες που φθορίζουν σε διάφορα μήκη κύματος, όπως η μπλε (BFP), κυανό (CFP), κίτρινο (YFP) και κόκκινο (RFP). Αυτή τη στιγμή οι φθορίζουσες πρωτεΐνες (ΦΠ - FP) είναι εμπορικά διαθέσιμες σε διάφορα χρώματα, και βελτιστοποιημένη λαμπρότητα (brightness) και σταθερότητα (stability).

Οι φθορίζουσες πρωτεΐνες (FP) χρησιμοποιούνται στην βιολογική και ιατρική έρευνα σε ευρύ φάσμα εφαρμογών όπως η δημιουργία βιοαισθητήρων, και ο εντοπισμός πρωτεϊνικής έκφρασης και μελέτη της χωρικής κατανομής της σε ιστούς ή ενδοκυτταρικά. Η εφεύρεση των ΦΠ άλλαξε την ροή της μικροσκοπίας φθορισμού. Τα περισσότερα φθορίζουσα μόρια (βαφές, αντισώματα, αναφέρθηκαν

παραπάνω) είναι τοξικά και επιβλαβή στα ζωντανά κύτταρα. Αντίθετα οι ΦΠ εκφράζονται σε ζωντανά κύτταρα και γενικά δεν είναι κυτταροτοξικά. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την μελέτη έκφρασης συγκεκριμένων πρωτεϊνών σε κύτταρα ή ζωντανά ζώα, με αποτέλεσμα να οδηγεί στον εντοπισμό συγκεκριμένων κυττάρων τόσο σε αδρανή κατάσταση, όσο και σε ζωντανούς οργανισμούς. Τέλος χρησιμοποιούνται συχνά για τον εντοπισμό καρκινικών κυττάρων, και τον εντοπισμό μεταστάσεων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα της χρήσης αυτής της πρωτεΐνης είναι η απεικόνιση των νευρώνων του εγκεφάλου ποντικών. Με το τρόπο αυτό υπάρχει δυνατότητα in vivo μελέτης του εγκεφάλου (Εικόνα 6).



Εικόνα 6: Μαρκάρισμα νευρώνων σε εγκέφαλο ποντικού. Η τυχαία χρωμάτωση πραγματοποιήθηκε με την τυχαία έκφραση 3 διαφορετικών φθορίζουσων πρωτεϊνών σε κάθε νευρώνα μέσω γενετικής μηχανικής
Πηγή: Wikipedia

1.3 Μικροσκοπία Φθορισμού

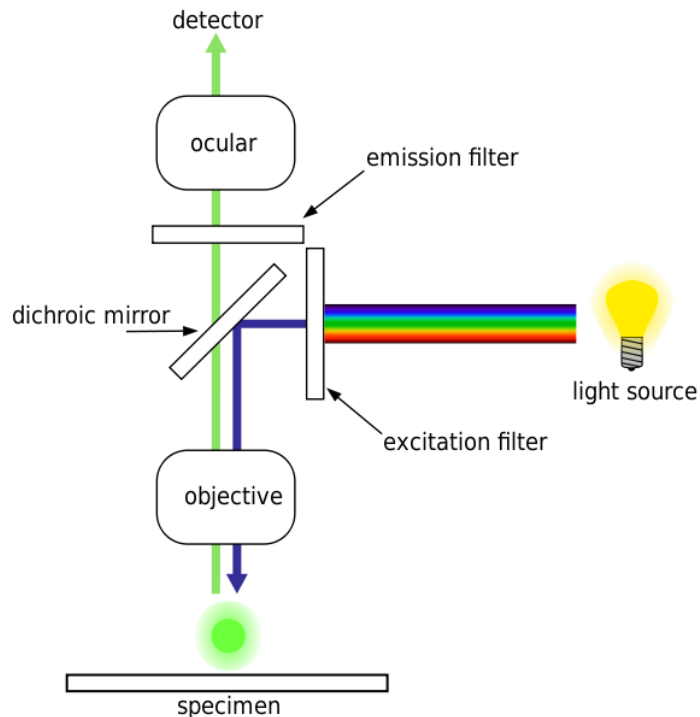
Λόγω των μικρών διαστάσεων των βιολογικών στοιχείων ενδιαφέροντος (κύτταρα), η παρατήρηση βιολογικών συστημάτων συνήθως απαιτεί την χρήση μικροσκοπίων. Στα μικροσκόπια φθορισμού το φαινόμενο του φθορισμού είναι η κύρια αρχή για την δημιουργία του οπτικού σήματος. Η μικροσκοπία φθορισμού είναι ένα πολύ σημαντικό και ευρέως διαδεδομένο εργαλείο απεικόνισης στην βιολογία, καθώς συλλέγει χωρικές και λειτουργικές πληροφορίες για μόρια και δομές ενδιαφέροντος. Τα φθορίζοντα μόρια που παράγουν το σήμα είναι είτε ενδογενή (αυτοφθορισμός) είτε τα εξωγενή μόρια που αναφέρθηκαν παραπάνω (βαφές, αντισώματα, ΦΠ).

1.3.1 Αρχή Λειτουργίας

Τα μικροσκόπια φθορισμού αποτελούνται από διάφορα εξαρτήματα.

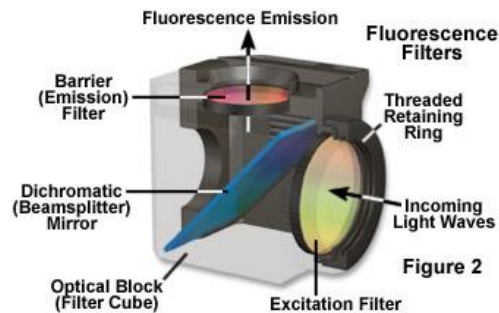
- Η πηγή φωτός (μια λάμπα υδραργύρου, ένα laser ή τελευταία LED) παρέχει την δέσμη φωτός η οποία θα διεγείρει τα φθορίζοντα μόρια στο δείγμα.
- Η δέσμη φωτός διέγερσης περνάει μέσα από διάφορα οπτικά φίλτρα. Αρχικά περνά από το φίλτρο διέγερσης από το οποίο περνά μόνο φως στο επιθυμητό μήκος κύματος για τη διέγερση του δείγματος (Εικόνα 7, μπλε χρώμα). Στη συνέχεια η δέσμη φωτός διέγερσης αντανακλάται από το διχρωμικό φίλτρο, και καταλήγει στον αντικειμενικό φακό.
- Ο αντικειμενικός φακός είναι ο πιο κρίσιμος φακός του συστήματος. Χρησιμοποιείται για την εστίαση της δέσμης φωτός διέγερσης στο δείγμα. Τα φθορίζοντα μόρια στο δείγμα διεγείρονται από το φως της δέσμης διέγερσης και εκπέμπουν μια φως διαφορετικού μήκους κύματος. Ο αντικειμενικός φακός συλλέγει μέρος του εκπεμπόμενου φωτός και δημιουργεί την δέσμη του φωτός εκπομπής (Εικόνα 7 πράσινο χρώμα).
- Το εκπεμπόμενο φως περνάει διαμέσου του διχρωμικού φίλτρου, το οποίο το ξεχωρίζει από την δέσμη φωτός διέγερσης λόγω της ικανότητας του διχρωμικού φίλτρου να αντανακλά φως συγκεκριμένου μήκους κύματος. Η δέσμη του εκπεμπόμενου φωτός περνά από φίλτρο εκπομπής το οποίο μπλοκάρει και τα τελευταία υπολύματα από το φως της διέγερσης, μειώνοντας δραστικά το θόρυβο του σήματος.
- Το εκπεμπόμενο σήμα φθορισμού από το δείγμα καταλήγει σε έναν αισθητήρα (detector) μέσω κάποιων οπτικών φακών. Ο αισθητήρας μπορεί να είναι είτε το μάτι του ερευνητή, είτε κάποιος ηλεκτρονικός αισθητήρας (CCD, CMOS, φωτοδίοδος, φωτοπολλαπλασιαστής) ο

οποίος μετατρέπει το φως σε οπτικό σήμα το οποίο μπορεί να καταγραφεί, αποθηκευτεί και επεξεργαστεί σε έναν Η/Υ..



Εικόνα 7: Μικροσκόπιο Φθορισμού. Πηγή: Wikipedia

Το μικροσκόπιο φθορισμού απαιτούν ισχυρό φωτισμό, που αγγίζει το μονοχρωματικό προκειμένου να διεγείρουν τα φθορίζοντα μόρια. Οι συνηθείς λάμπες αλογόνου δεν μπορούν να παρέχουν τέτοιο φωτισμό, γι' αυτό χρησιμοποιούνται λάμπες xenon, mercury λάμπες, laser και υψηλής έντασης LEDs. Η πιο συνηθισμένη μορφή διέγερσης είναι με λάμπα υδραργύρου (mercury lamp). Τα τρία φίλτρα που χρησιμοποιούνται (διέγερσης, διχρωϊκό, εκπομπής) εξαρτώνται από το φθορίζον μόριο προς διέγερση και τοποθετούνται σε έναν κύβο έδρασης (Εικόνα 8). Αν σε κάποια εικόνα υπάρχουν παραπάνω από ένα φθορίζοντα μόρια, τότε κάθε ένα πρέπει να απεικονιστεί μόνο του χρησιμοποιώντας το κατάλληλο σετ φίλτρων.



Εικόνα 8: Κύβος έδρασης φίλτρων μικροσκοπίου

1.3.2 Είδη Μικροσκοπιών Φθορισμού

Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης της τεχνολογίας έχουν αναπτυχθεί διαφορετικές μέθοδοι μικροσκοπίας. Αυτές διαφέρουν κυρίως στις τεχνικές που χρησιμοποιούν για διέγερση των φθορίζουσων μορίων. Παρακάτω φαίνονται τα πιο συνηθισμένα.

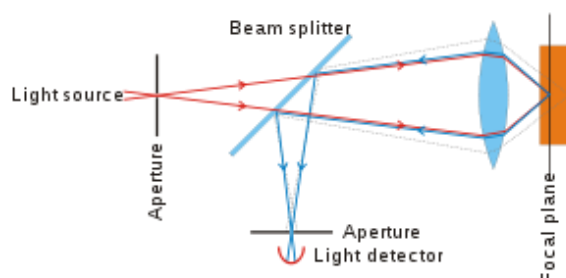
1.3.2.1 Μικροσκοπία Επιφθορισμού (Epifluorescence Microscopy)

Το μεγαλύτερο ποσοστό των μικροσκοπιών φθορισμού που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως είναι τύπου επιφθορισμού. Σε αυτόν τον τύπο η παρατήρηση και η διέγερση των μορίων φθορισμού γίνεται από την ίδια πλευρά του δείγματος (πάνω ή κάτω). Το φως που εκπέμπεται κατευθύνεται στον αισθητήρα χρησιμοποιώντας το ίδιο αντικειμενικό φακό που χρησιμοποιήθηκε και για την διέγερση. Το κύριο πλεονέκτημα της είναι το χαμηλό κόστος και η απλότητα του συστήματος. Το κύριο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι μπορεί να απεικονίσει μόνο λεπτά δείγματα. Στην περίπτωση δειγμάτων με πάχος μεγαλύτερο από το βάθος πεδίου (το οποίο εξαρτάται από την μεγέθυνση του αντικειμενικού φακού) το σήμα φθορισμού που εκπέμπουν τα μόρια εκτός του εύρους πεδίου δημιουργούν σήμα εκτός εστίασης που ελαττώνει σημαντικά τον λόγο σήματος προς θόρυβο (signal to noise ratio - SNR).

1.3.2.2 Ομοεστιακή Μικροσκοπία (Confocal Microscopy)

Σε πολλά μικροσκόπιο, ο φωτισμός δεν μπορεί να ελεγχθεί απόλυτα με αποτέλεσμα τον φωτισμό ολόκληρου του δείγματος. Έτσι περισσότερο από το 90% του εκπεμπόμενου φωτός είναι εκτός εστίασης. Αυτό προκαλεί την απώλεια λεπτομερειών και μείωση της αντίθεσης. Προς την κατεύθυνση αντιμετώπισης του προβλήματος αυτού δημιουργήθηκε το μικροσκόπιο ομοεστίασης.

Το τεράστιο πλεονέκτημα αυτού είναι ότι αφαιρεί το ανεπιθύμητο φως πάνω και κάτω από το επίπεδο εστίασης προσφέροντας πολύ καλύτερη αντίθεση και εικόνα και τη δυνατότητα για 3D κατασκευή του δείγματος. Επίσης δίνει τη δυνατότητα ελέγχου του βάθους πεδίου. Ο τρόπος που το καταφέρνει αυτό είναι με τη χρήση μια σειράς από φίλτρα μείωσης θορύβου. Το μικροσκόπιο αυτό χρησιμοποιείται για φθορίζουσα απεικόνιση.



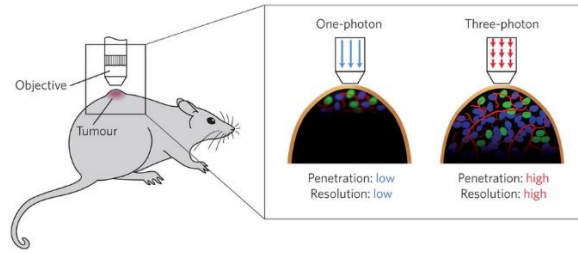
Εικόνα 9: Αρχή λειτουργίας ομοεστιακής μικροσκοπίας Πηγή: Wikipedia

1.3.2.3 Μικροσκόπιο Πολυφωτονικής Διέγερσης Φθορισμού (Multiphoton Fluorescence Excitation Microscopy)

Αυτός ο τύπος μικροσκοπίου κάνει χρήση ειδικών παλμικών laser υψηλής έντασης. Ενώ στην κλασική μικροσκοπία φθορισμού ένα φθορίζον μόριο διεγείρεται από 1 φωτόνιο, πολυφωτονική διέγερση το μόριο διεγείρεται με την ταυτόχρονη απορρόφηση 2 ή περισσότερων φωτονίων. Αυτό απαιτεί πολύ υψηλή πυκνότητα ενέργειας, η οποία πρακτικά λαμβάνει χώρα μόνο κοντά στο σημείο εστίασης ενός παλμικού laser. Στην περιοχή εστίασης γίνεται απορρόφηση της ενέργειας με αποτέλεσμα να περιορίζεται η αλλοίωση των φθορίζουσων ουσιών και η καταστροφή των κυττάρων λόγω της δέσμης. Τα κύρια πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η δυνατότητα τρισδιάστατης απεικόνισης (όπως και η ομοεστιακή μικροσκοπία) και η απεικόνιση οπτικά παχίων δειγμάτων (έως 1 mm σε ιστούς από εγκέφαλο) λόγω της χρήσης υπέρυθρου laser. Το μειονέκτημα αυτής της τεχνικής είναι το μεγάλο κόστος.

Η διέγερση των φθορίζοντων μορίων με δύο φωτόνια χρησιμοποιείται ευρέως για 3D απεικονίσεις, είναι καλύτερο για απεικόνιση ζωντανών κυττάρων και πιο συγκεκριμένα σε χοντρές, πολυκυτταρικές προετοιμασίες, όπως στην εξέλιξη εμβρύων, κομματιών εγκεφάλου κ.α... Η διέγερση με τρία φωτόνια μεγαλώνει το εύρος της απεικόνισης με UV φως.

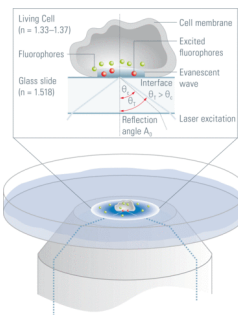
Για παράδειγμα, η Εικόνα 10 συγκρίνει το βάθος στο οποίο μπορεί να γίνει απεικόνιση σε ένα εγκέφαλο ποντικού διεγείροντας τα φθορίζοντα μόρια με την κλασική μονοφωτονική μέθοδο και εναλλακτικά με την διφωτονική μέθοδο. Η δεύτερη προσφέρει πολύ μεγαλύτερη οπτική ανάλυση και απεικόνιση περισσότερων φθοροφόρων ουσιών.



Εικόνα 10: Σύγκριση μονοφωτονικής και διφωτονικής απεικόνισης

1.3.2.4 Μικροσκοπία Ολικής Εσωτερικής Ανάκλασης (TIRF)

Αυτό το μικροσκόπιο κατασκευάστηκε για να ξεπεραστεί το πρόβλημα του φθορισμού εκτός εστίασης. Κατά την μελέτη σταθερών μορίων σε ένα ρευστό περιβάλλον παρατηρήθηκε ό,τι υπάρχουν μεγάλες ποσότητες μη δεσμευμένων μορίων. Τα μόρια αυτά κατά την εστίαση, ενεργοποιούνται, επηρεάζοντας τη λήψη των εικόνων και την ανάλυση τους. Προκειμένου να λυθεί αυτό το πρόβλημα, σχεδιάστηκε ένα μικροσκόπιο, του οποίου το φως ανακλάται πάνω στο γυαλί του δείγματος (Εικόνα 11) και προκαλεί ένα παροδικό κύμα. Για να δημιουργηθεί το παροδικό κύμα πρέπει το φως να ανακληθεί πλήρως πάνω στο γυαλί. Με το τρόπο αυτό η ενεργοποίηση των φθορίζουσων μορίων δεν γίνεται μέσα από το φωτισμό τους, αλλά από το κύμα που προκαλείται από την ανάκλαση. Μόνο τα μόρια που είναι πάνω στο γυαλί διεγείρονται και έτσι μειώνεται σημαντικά ο θόρυβος του φόντου. Η μέθοδος αυτή έχει οδηγήσει στη δημιουργία εικόνων με πολύ καλή αναλογία σήματος/θορύβου. Επίσης προωθείται η παρατήρηση διάφορων λειτουργιών που έχουν σχέση με τις μεμβράνες των κυττάρων.



Εικόνα 11: Αρχή λειτουργίας μικροσκοπίου TIRF Πηγή: www.leica-microsystems.com

Με το μικροσκόπιο ολικής ανάκλασης παρακολουθούνται βιοχημικές αντιδράσεις, δομικές αλλαγές και κινήσεις όμοιων στο επίπεδο μονών μορίων σε πραγματικό χρόνο. Είναι χρήσιμο για την παρακολούθηση φθορίζουσων ουσιών που συνδέονται με βιομετρία και ζωντανά κύτταρα σε υδατικό διάλυμα κοντά σε επιφάνεια γυαλιού. Επίσης μειώνει την ζημιά στα κύτταρα λόγω έκθεσης στο φως.

1.3.3 Αυτοματοποίηση Μικροσκοπίων Φθορισμού

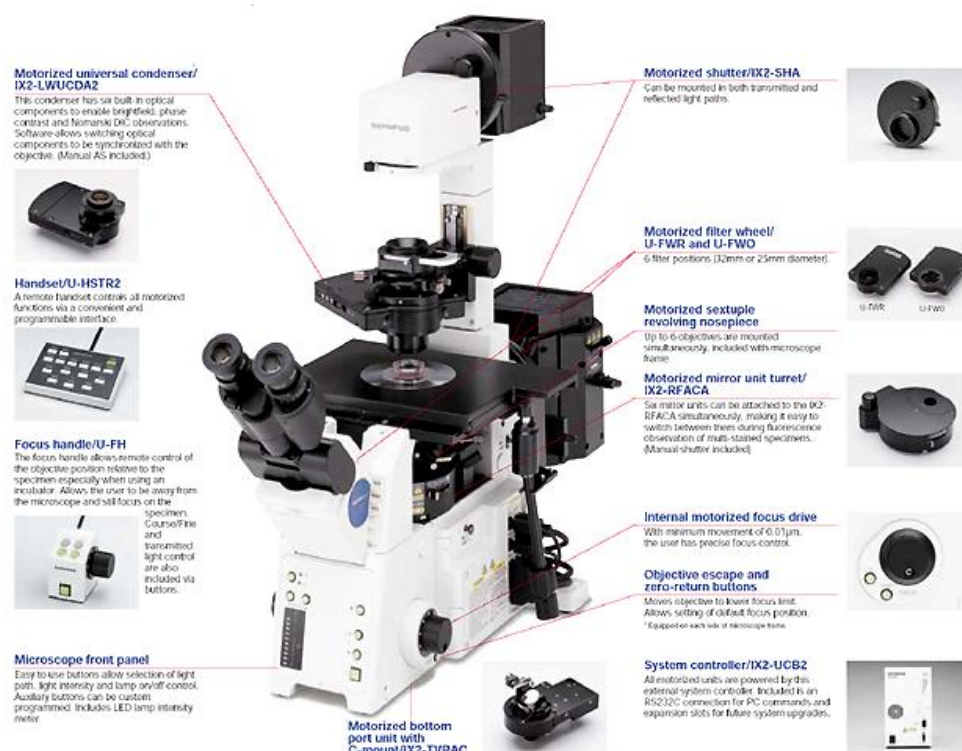
Με την αυτοματοποίηση των μικροσκοπίων φθορισμού μπορούν να γίνουν μεγάλης κλίμακας απεικονίσεις σε μικρό χρονικό διάστημα. Η ανάπτυξη της τεχνολογίας της ανάλυσης των εικόνων ενθάρρυνε τις αυτοματοποιημένες μεθόδους μικροσκοπίας. Με τη χρήση της τεχνολογίας αυτής γίνονται εκτεταμένες αναλύσεις, οι οποίες αποθηκεύονται και μπορούν να αναλυθούν αν πάσα στιγμή. Έχουν δημιουργηθεί προγράμματα, τα οποία συνδέουν γνωστές μορφολογίες και διαδικασίες, ώστε να περιορίσουν το πεδίο αναζήτησης. Με αυτό το τρόπο ομαδοποιούνται τα δεδομένα, γίνεται καλύτερη διαχείρισή τους και στοχευμένη αναζήτηση και επεξεργασία. Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα των αυτοματοποιημένων μικροσκοπίων, είναι ό,τι η διαδικασία της απεικόνισης μπορεί να γίνει σε λίγο χρονικό διάστημα μέσα από τις αυτοματοποιημένες διαδικασίες. Ο ερευνητής δεν χρειάζεται πλέον να αναλώνει πολλές ώρες για να αναλύσει τα δείγματα. Το μόνο που χρειάζεται είναι η δημιουργία ενός πρωτοκόλλου χρήσης και απεικόνισης και σε μερικές ώρες (ανάλογα με το πείραμα) θα έχει τις επεξεργασμένες εικόνες, έτοιμες για περαιτέρω ανάλυση.

Τα τελευταία χρόνια έχουν δημιουργηθεί αρκετές αυτοματοποιημένες διαδικασίες. Κάθε μια έχει διαφορετικά χαρακτηριστικά και διαφορετική πολυπλοκότητα, αλλά όλες έχουν κάποια κοινά χαρακτηριστικά. Η αυτοματοποίηση του μικροσκοπίου προϋποθέτει (1) την ύπαρξη

αυτοματοποιημένων συσκευών που μετακινούνται μέσω υπολογιστή, (2) τη λήψη εικόνων από αισθητήρες, (3) την επεξεργασία τους με κατάλληλα προγράμματα ανάλυσης και (4) την αποθήκευση των αποτελεσμάτων. Επίσης αναπτύσσονται αλγόριθμοι που προσομοιάζουν πρωτόκολλα πειραμάτων και άλλων λειτουργιών και όλο το σύστημα μπορεί να ελεγχθεί από ένα φιλικό προς τον χρήστη γραφικό περιβάλλον. Παρακάτω παρουσιάζονται δύο παράδειγμα από αυτοματοποιημένες διατάξεις, που είναι χαρακτηριστικά παραδείγματα της αυτοματοποιημένης μικροσκοπίας.

Ως παράδειγμα, η Εικόνα 12 παρουσιάζει το μικροσκόπιο Olympus IX81, ένα εμπορικά διαθέσιμο πλήρως αυτοματοποιημένο μικροσκόπιο φθορισμού. Το μικροσκόπιο περιέχει αρκετές αυτοματοποιημένες διατάξεις που του δίνουν την δυνατότητα να εκτελεί διάφορα πρωτόκολλα απεικόνισης σε ένα ή παραπάνω δοκίμια:

- Αυτοματοποιημένο διάφραγμα εμπόδισης του φωτός. Αυτό μπλοκάρει τη δέσμη φωτός που προέρχεται από τη λάμπα αλογόνου,
- Αυτοματοποιημένο μηχανισμό αλλαγής φίλτρων. Η συσκευή περιέχει 6 φίλτρα τα οποία μπορούν να απεικονισούν διαφορετικά κομμάτια του κυττάρου,
- Αυτοματοποιημένο συγκεντρωτικό φακό. Η λειτουργία του είναι να αλλάζει τα οπτικά εξαρτήματα, ώστε αυτά να συγχρονίζονται με τους αντικειμενικούς φακούς,
- Αυτοματοποιημένο σύστημα εναλλαγής αντικειμενικών φακών. Κάθε ένα από τα φίλτρα έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά, όπως για παράδειγμα διαφορετική μεγέθυνση. Έτσι μπορεί να απεικονιστούν με μεγαλύτερη λεπτομέρεια κάποιες περιοχές,
- Σύστημα αυτόματης εστίασης. Καθώς κινείται η βάση πρέπει πριν ληφθούν οι εικόνες, η κάμερα να είναι εστιασμένη στο δείγμα. Για να γίνει αυτό χρησιμοποιείται αυτό το σύστημα με ανάλυση 0.01μm.
- Αυτοματοποιημένη βάση. Η βάση κινείται σε X και Y άξονα προκειμένου να μπορεί να απεικονιστεί οποιαδήποτε σημείο πάνω στο δείγμα. Η κίνηση γίνεται με χρήση κινητήρων και έχει
- Ελεγκτή. Αυτός ελέγχει όλα τα παραπάνω συστήματα και φροντίζει να εκτελούν τις λειτουργίες που ζητούν οι χρήστες,
- Χειριστήριο, το οποίο μπορεί να προγραμματιστεί και ελέγχει τις παραπάνω λειτουργίες,
- Υποδοχή για την κάμερα,



Εικόνα 12: Μικροσκόπιο φθορισμού, Olympus IX81 Πηγή: www.olympus4u.com

Η χρήση του συγκεκριμένου μικροσκοπίου ενεργοποιεί τη δυνατότητα απεικόνισης τεσσάρων μορφών επιφθορισμού, οι οποίες διαχωρίζονται ανάλογα με το μήκος κύματος της εκπομπής του φωτός (UV, μπλε, πράσινης, κόκκινης εκπομπής). Επίσης μπορεί να γίνει απεικόνιση πολλών σημείων και επαναλαμβανόμενη παρατήρηση ζωντανών κυττάρων με τη χρήση Incubator.

Τα παραπάνω μικροσκόπιο αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα για τη δυνατότητα της αυτοματοποίησης των απλών μικροσκοπίων. Πέρα από αυτά υπάρχουν κάποιες μικροσκοπικές διατάξεις, οι οποίες με τη χρήση πολλών αισθητήρων και επενεργητών, καταλήγουν να λειτουργούν σαν ρομπότ. Μια τέτοια διάταξη είναι το ArrayScan VTI HCS Reader (Εικόνα 13).



Εικόνα 13: ArrayScan VTI HCS Reader Πηγή: <http://www.thermofisher.com/>

Η συσκευή αυτή είναι μια ευέλικτη πλατφόρμα απεικόνισης. Είναι σχεδιασμένη για υψηλής χωρητικότητας, αυτοματοποιημένη, ποσοτική, κυτταρική και υπο-κυτταρική ανάλυση σε σταθεροποιημένα (fixed) και ζωντανά κύτταρα. Με αυτό το τρόπο εξελίσσεται η διερευνητική κυτταρική βιολογία σε υψηλής απόδοσης και υψηλής περιεκτικότητας απεικόνιση. Με αυτό το μηχάνημα γίνονται πολλές αναλύσεις για διαφορετικούς ερευνητικούς τομείς, όπως η κατανόηση της παιδικής νόσου του ήπατος, η αναζήτηση θεραπειών για τραυματισμούς στην σπονδυλική στήλη και η κατανόηση των αποτυχιών των φαρμάκων λόγω τοξικότητας. Σε συνδυασμό με το Arrayscan μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάποιος ρομποτικός βραχίονας αυτόματης εναποθέτησης πλακών για την επιτάχυνση της διαδικασίας της ανάλυσης δειγμάτων.

1.4 Εφαρμογές Μικροσκοπίας Φθορισμού στην Βιολογική Έρευνα και την Ιατρική

Η μικροσκοπία φθορισμού έχει πολλές εφαρμογές στην βιολογική έρευνα και την ιατρική. Παρέχει την δυνατότητα εντοπισμού μέσα σε κύτταρα και ιστούς συγκεκριμένων μακρομορίων ενδιαφέροντος όπως πρωτεΐνες και RNA. Καθιστά δυνατή την παρατήρηση κυτταρικών δομών, όπως είναι οι μεμβράνες, ο κυτταροσκελετός, η χρωματίνη τα λυσοσώματα και άλλα ενδοκυττάρια στοιχεία. Μέσω μελέτης της έκφρασης και χωρικής κατανομής των παραπάνω, δίνει πολύτιμα εργαλεία για την μελέτη διάφορων βιολογικών λειτουργιών, όπως π.χ. απόπτωση, η κυτταρική διαίρεση και η ενδοκύτωση.

1.4.1 Εντοπισμός Έκφρασης και Ενδοκυτταρικής Θέσης Πρωτεϊνών

Η βασική εφαρμογή της μικροσκοπίας φθορισμού είναι ο εντοπισμός της έκφρασης και της χωρικής συγκέντρωσης συγκεκριμένων πρωτεϊνών. Τα δεδομένα μπορούν να επεξεργαστούν με διάφορους τρόπους με σκοπό την απόσπαση κρίσιμων βιολογικών πληροφοριών. Οι πρωτεΐνες σημαίνονται με φθορίζουσα μόρια και παρατηρούνται στα μικροσκόπια. Μπορούν να παρατηρηθούν μέχρι και 3 διαφορετικές ουσίες ανάλογα με το είδος του μικροσκοπίου, προκειμένου να δοθούν απαντήσεις για την ποσότητα των πρωτεϊνών, τη θέση τους και τα μοτίβα τους στο υπό μελέτη δείγμα και την κατάσταση τους. Είναι τεράστιας βιολογικής σημασίας να ξέρουμε πόση πρωτεΐνη βρίσκεται στο εκάστοτε κύτταρο και επίσης πώς είναι αυτή διαιρεμένη στο εσωτερικό του.

1.4.2 Επαναλαμβανόμενη Παρατήρηση Ζωντανών Κυττάρων

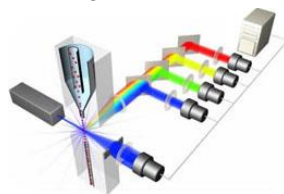
Η συγκεκριμένη μέθοδος αναφέρεται στην απεικόνιση μέσω μικροσκοπίου φθορισμού ζωντανών κυττάρων τοποθετημένων στο μικροσκόπιο για κάποιο κατάλληλο χρονικό διαστήματα με σκοπό την μελέτη βιολογικών φαινομένων που εξαρτώνται από τον χρόνο (π.χ. η μελέτη της κυτταρικής

διαίρεσης, η μελέτη του πολυμερισμού του κυτταροσκελετού). Η μέθοδος αυτή απαιτεί την κατασκευή ενός κελύφους που περικλύει το μικροσκόπιο με σκοπό την παροχή στα κύτταρα κατάλληλων συνθηκών θερμοκρασίας και pH.

Στη βιολογία χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση καλλιεργούμενων κυττάρων. Ανάλογα με την καλλιέργεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές τεχνικές προκειμένου να αναδείξουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των κυττάρων. Παραδοσιακά μια από τις τεχνικές αυτές ήταν η βαφή, όμως αυτή σκοτώνει τα κύτταρα. Η ανάπτυξη λιγότερο καταστροφικών μεθόδων βαφής και μεθόδων για παρατήρηση μη βαμμένων κυττάρων οδήγησε τους βιολόγους στην συνεχή παρακολούθηση ζωντανών κυττάρων. Αυτό είναι γνωστό ως παρατήρηση ζωντανών κυττάρων. Η επαναλαμβανόμενη παρατήρηση αφορά είναι η μέθοδος η οποία εξελίσσεται από μια μονή παρατήρηση σε παρατήρηση των κυττάρων για μεγάλες περιόδους. Χρησιμοποιείται για την έρευνα κυρίως.

1.4.3 Κυτταρομετρία ροής

Η Κυτταρομετρία ροής δεν χρησιμοποιείται σαν μικροσκοπία φθορισμού με τη μορφή απεικόνισης. Είναι μία μέθοδος που χρησιμοποιεί το φθορισμό για να δώσει κάποια σήματα και αναγνωρίζει κάποια από τα χαρακτηριστικά των δειγμάτων. Μπορούν να μετρηθούν και να χαρακτηριστούν μικροσκοπικών σωματιδίων σε ρέον υγρό. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει να γίνεται ταυτόχρονη ανάλυση πολλών παραμέτρων των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών μεμονωμένων κυττάρων ή σωματιδίων. Κατά την ανάλυση τα κύτταρα/σωματίδια ρέουν διαμέσου μιας συσκευής, που κάνει οπτική και ηλεκτρονική ανίχνευσης. Η ανάλυση γίνεται με βάση τον εκπεμπόμενο φθορισμό και τη σκέδαση του φωτός. Με αυτή τη μέθοδο μπορούν να προσδιοριστούν τα αντιγόνα του κυτταροπλάσματος και του πυρήνα σε οποιοδήποτε κυτταρικό πληθυσμό και να εκτιμηθεί η λειτουργική ικανότητα των κυττάρων. Παρακάτω περιγράφεται ο τρόπος λειτουργίας του.



Εικόνα 14: Κυτταρομετρία Ροής Πηγή:kyttarometria.gr

Μια ακτίνα φωτός συγκεκριμένου μήκους κύματος διαπερνά μια συγκλίνουσα ροή υγρού. Γύρω από τη ροή υπάρχουν ανιχνευτές οι οποίοι είναι κάθετα στη ροή, εκτός από έναν που είναι παράλληλα. Επίσης υπάρχει και ένας οι περισσότεροι ανιχνευτές φθορισμού. Η δέσμη φωτός σκεδάζεται πάνω στα αιωρούμενα σωματίδια και παράλληλα τα φθορίζοντα μόρια που ευνή προσκολλημένα στα σωματίδια διεγείρονται και εκπέμπουν φως διαφορετικού μήκους κύματος. Με την βοήθεια των ανιχνευτών γίνεται ανάλυση του εκπεμπόμενου φωτός και προκύπτουν διάφορα φυσικοχημικά στοιχεία.

Οι συσκευές κυτταρομετρίας ροής έχουν δυνατότητα ανάλυσης χιλιάδων σωματιδίων το δευτερόλεπτο. Επίσης μπορεί να παρέχει δεδομένα για μεγάλο αριθμό κυττάρων σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα. Όσο περισσότερους ανιχνευτές φθορισμού έχει τόσο περισσότερες πληροφορίες μπορούν να συλλεχθούν και δίνεται η δυνατότητα ακριβής ταυτοποίησης των πληθυσμών.

1.4.4 Μικροσκοπία Ενεργειακού Συντονισμού Foerster (FRET microscopy)

Με τους αισθητήρες FRET γίνεται ζωντανή παρατήρηση της πρωτεϊνικής ενεργοποίησης. Οι δοκιμές φθορισμού μπορούν να γίνουν είτε σε ζωντανά ή κατάλληλα διαμορφωμένα κύτταρα, είτε σε ζωντανά ζώα ή κομμάτια ιστών. [Volkhard]

Χρησιμοποιείται για την μελέτη πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, την ανίχνευση αλληλουχίας νουκλεϊκών οξέων και χρησιμοποιούνται σαν βίο-αισθητήρες. Είναι ο μηχανισμός που περιγράφει την μεταφορά ενέργειας μεταξύ δύο φωτοευαίσθητων μορίων. Ένας χρωμοφόρος (fluorophore) δότης που είναι αρχικά σε ηλεκτρονικά διεγερμένη κατάσταση μπορεί να μεταφέρει ενέργεια σε έναν άλλο χρωμοφόρο δότη μέσω μη ραδιενεργούς σύζευξης δίπολου-δίπολου Το FRET είναι εξαιρετικά ευαίσθητο σε μικρές αλλαγές στην απόσταση. Οι μετρήσεις αυτές χρησιμοποιούνται για να προσδιοριστούν εάν δυο φθορίζουσα μόρια είναι μέσα σε μια ορισμένη απόσταση το ένα από το άλλο.

Το FRET χρησιμοποιείται για να μετρήσει αποστάσεις και να αναγνωρίσει μοριακές εναλλαγές μεταξύ συστημάτων. Για παράδειγμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να μετρήσει την απόσταση μεταξύ των περιοχών σε μια πρωτεΐνη με σκοπό την παροχή πληροφοριών για την ενδοπρωτεϊνική διαμόρφωση. Ανιχνεύει την αλληλεπίδραση μεταξύ δύο πρωτεϊνών. Αν χρησιμοποιηθεί σε *in vivo* δείγματα μπορεί να ανιχνεύσει τη θέση και τις αλληλεπιδράσεις των γονιδίων και των κυτταρικών δομών, συμπεριλαμβανομένων και των πρωτεϊνών μεμβράνης. Επίσης χρησιμοποιείται για να δώσει πληροφορίες σχετικά με μεταβολικά ή σηματοδοτικά μονοπάτια και για τη μελέτη λιπιδίων σε κυτταρικές μεμβράνες.

Τα τελευταία 20 χρόνια έχουν αναπτυχθεί πάρα πολύ τα FRET με αποτέλεσμα να χρησιμοποιούνται σαν οδηγοί για τη δομική διασαφήνιση των βιολογικών μορίων και των αλληλεπιδράσεων τους σε *in vitro* εφαρμογές, *in vivo* παρακολούθηση στην κυτταρική έρευνα, την ανάλυση νουκλεϊκών οξέων και τη μεταγωγή σημάτων.

1.4.5 Optical Based Screening

Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται στη βιολογική έρευνα και στην ανακάλυψη φαρμάκων προκειμένου να ανακαλυφθεί τι αλλάζει το φαινότυπο ενός κυττάρου. Οι μεταβολές στο φαινότυπο μπορεί να περιέχουν αυξομειώσεις στην παραγωγή κυτταρικών προϊόντων, όπως είναι οι πρωτεΐνες και αλλαγές στη μορφολογία του κυττάρου. Τα κύτταρα επωάζονται μαζί με κάποιες φωσφορίζουσες ουσίες για κάμποσο καιρό και έπειτα αναλύονται οι δομές του κυττάρου. Με αυτό το τρόπο είναι δυνατόν να μελετηθούν διαφορετικά κυτταρικά κομμάτια παράλληλα και μέσω της απεικόνισης μπορούν, να παρατηρηθούν αλλαγές σε μέρη του κυττάρου, όπως το κυτταρόπλασμα, ο πυρήνας και τα οργανίδια.

Μπορεί να εντοπιστεί ο τρόπος λειτουργίας ζωντανών και νεκρών κυττάρων, όπως επίσης και να ανακαλυφθούν, αλλά και να βελτιστοποιηθούν πιθανά φάρμακα. Είναι ένας συνδυασμός την βιολογίας στις μέρες μας, με αυτοματοποιημένα συστήματα μικροσκοπίας και ρομποτικούς χειρισμούς. Αφού αναμιχθούν με τα φθορίζοντα μόρια και σημανθούν, είναι δυνατόν να μπορούν να παρατηρηθούν διαφοροποιήσεις στην παραγωγή πρωτεϊνών και γενικότερες αλλαγές στη κυτταρική μορφολογία. Η τεχνολογία αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να δείξει, εάν ένα φάρμακο μπορεί να γιατρέψει μια αρρώστια. Η αυτοματοποίηση της μας δίνει πληροφορίες για την επιρροή πολύ μικρών ενδοκυτταρικών μεταβολών, στον κυτταρικό φαινότυπο και προσδίδει ενδιαφέρον στη μελέτη νέων βιολογικών κυτταρικών εργαλείων που μπορούν να επηρεάσουν τις κυτταρικές λειτουργίες.

Συνοψίζοντας η τεχνική αυτή αφορά τα αυτοματοποιημένα μικροσκόπια και την κυτταρομετρίας ροής σε συνεργασία με αυτόματη ανάλυση και αποθήκευση. Έχει ως σκοπό να αποκτήσει χωρικά και χρονικά μοτίβα πληροφοριών για ένα γεγονός και να τα ποσοτικοποιήσει. Επιτρέπει να εκτελούνται μεγάλος αριθμός από πειράματα, επιτρέποντας το διαχωρισμό τους αναλόγως τις ομοιότητες και έχει ευρέα εφαρμογή στην ανακάλυψη και βελτιστοποίηση φαρμάκων, στην γνώση του πως και που δουλεύουν κάποια γονίδια και σε ανακάλυψη γονιδίων που μετέχουν σε συγκεκριμένους μηχανισμούς (κυτταρική διαίρεση).

1.5 Σκοπός Διπλωματικής

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής είναι η αυτοματοποίηση του μικροσκοπίου φθορισμού Zeiss Axioskop. Το μικροσκόπιο ανήκει στο εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας του τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Ε.Μ.Π. Αυτό υλοποιείται σχεδιάζοντας, κατασκευάζοντας και ολοκληρώνοντας διατάξεις που ελέγχουν την κίνηση διάφορων εξαρτημάτων του μικροσκοπίου, επιτρέποντας την συλλογή εικόνων μικροσκοπίας φθορισμού με μικρή ανάγκη ελέγχου από ανθρώπινο χρήστη. Η αυτοματοποίηση του μικροσκοπίου θα έχει τα εξής αποτελέσματα: i) δημιουργία ενός οργάνου φιλικού στην χρήση σε ερευνητές μη ειδικούς στην μικροσκοπία, ii) ελαχιστοποίηση του χρόνου διεξαγωγής οπτικών πειραμάτων, αύξηση του όγκου των συλλεγόμενων δεδομένων (data throughput) με αποτέλεσμα την δυνητική εφαρμογή της μικροσκοπίας φθορισμού στις μελέτες συστημικής βιολογίας του εργαστηρίου.

Το μικροσκόπιο αποτελείται από διάφορα εξαρτήματα, το κάθε ένα εκ των οποίων διαδραματίζει έναν ξεχωριστό ρόλο. Παρακάτω θα δούμε ποια κομμάτια θα αυτοματοποιηθούν, για ποιό λόγο και πως αυτό θα επιτευχθεί.

2 Σχεδιασμός και Κατασκευή Διάταξης Αυτοματοποίησης Μικροσκοπίου Φθορισμού

2.1 Περιγραφή του Μικροσκοπίου Φθορισμού του Εργαστηρίου

Το μικροσκόπιο φθορισμού του εργαστηρίου είναι το **AXIOSKOP 50 TRINOCULAR** της εταιρίας Zeiss. Τα βασικά εξαρτήματα του μικροσκοπίου, όπως παρουσιάζονται στην Εικόνα 16, είναι τα εξής:

1. **Λάμπα αλογόνου:** Η λάμπα αυτή είναι ισχύος 50W και τροφοδοσίας 12V, με διάρκεια ζωής 2000 ώρες και εξυπηρετεί τον φωτισμό του δείγματος.
2. **Λάμπα υδραργύρου:** Μοντέλο HBO 50. Είναι η βασική πηγή φωτός για απεικόνιση φθορισμού. Η διάρκεια ζωής της είναι περίπου 100 ώρες λειτουργίας.
3. **Διάφραγμα για λάμπα υδραργύρου:** Μπλοκάρει τη δέσμη φωτός της λάμπας υδραργύρου. Μπορεί να βρεθεί σε 3 διαφορετικές θέσεις. Η πρώτη μπλοκάρει το φως, η δεύτερη φέρει φίλτρο που μπλοκάρει την υπέρυθη ακτινοβολία, και η τρίτη αφήνει το φως να περάσει.
4. **Φορέας οπτικών φίλτρων:** Χρησιμοποιείται για την εναλλαγή των φίλτρων στο μικροσκόπιο. Τα φίλτρα είναι εγκατεστημένα σε κυβικά πλαίσια (3 φίλτρα διαφορετικού μήκους κύματος) και καλύπτονται από δύο εξαρτήματα (αριστερά και δεξιά) που προστατεύουν τα φίλτρα από τη σκόνη. Το συγκεκριμένο έχει θέση για 4 φίλτρα, αλλά η μια έχει μείνει κενή.
5. **Αντικειμενικοί φακοί:** Χρησιμοποιούνται για την εστίαση του φωτός στο δείγμα, καθώς και την απεικόνιση του φθορίζοντος σήματος. Στο συγκεκριμένο μικροσκόπιο είναι εγκατεστημένοι 3 φακοί, οι οποίοι έχουν μεγέθυνση 10x, 20x 40x. Πάνω σε αυτούς αναγράφονται ορισμένα βασικά χαρακτηριστικά τους. Η μεγέθυνση (π.χ. 20x) που αν πολλαπλασιαστεί με την μεγέθυνση του φακού της διόπτρας μας δίνει την μεγέθυνση του μικροσκοπίου. Το numerical aperture NA που περιγράφει την οπτική ανάλυση του φακού. Η τιμή του NA αν πολλαπλασιαστεί με 1000 δίνει μια εκτίμηση για την μεγαλύτερη δυνατή μεγέθυνση του οργάνου. Το working distance που υποδεικνύει ότι, οι αντικειμενικοί αυτοί δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μικροσκόπια που αναγράφεται πάνω στους αντικειμενικούς το 160. Και τέλος το πάχος του cover glass σε mm προκειμένου να μπορεί να ρυθμιστεί σωστά ο φακός.

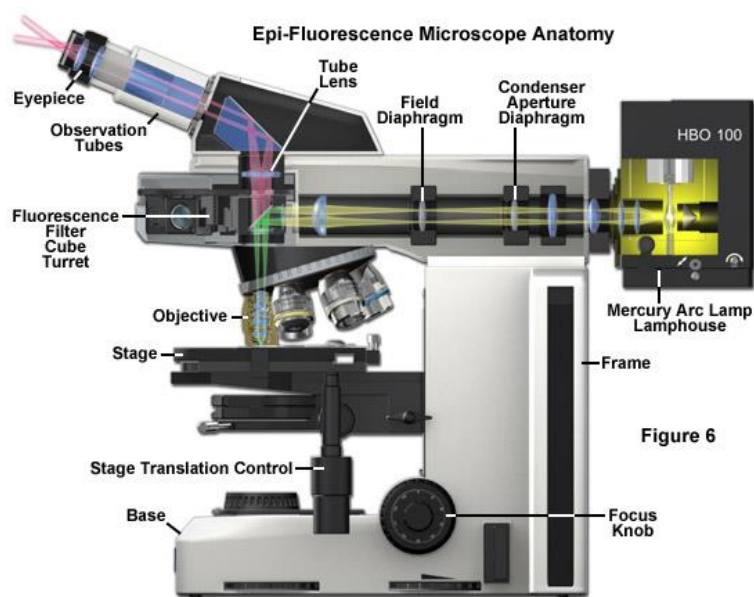
Objectives	Plan- Neofluar Ph2	Plan-Neofluar Ph2	Plan-Neofluar Ph2
	440351 (-9903-000)	440341 (-9904-000)	441031 (-9910-710)
Magnification	40x	20x	10x
Numerical Aperture	0.75	0.5	0.25
Working Distance [mm]	0.5 - 0.7	1.3	4.5
Coverglass Thickness [mm]	0.17	0.17	-
Thread Type	W0.8x1/36"	W0.8x1/36"	W0.8x1/36"
Immersion	Without Immersion	Without Immersion	Without Immersion
Field of View [mm]			
Parfocal Length [mm]	45.06	45.06	45.06
Optical System	(ICS)	(ICS)	(ICS)
Flatness		√√√√	√√
Color Correction		√√√√	√√
Biomedical Applications			
Fluorescence	•	•	•
- Multi channel	√√√√	√√√√	√
- Ultraviolet Transmission	√√√√	√√√√	√
- Infra Red Transmission	√√	√√	√√
BrightField (H)	•	•	•
Differential Interference Contrast (DIC)	√√	√√	
Phase Contrast (PH)	Ph 2	Ph2	Ph 1
Options			
Confocal Microscopy	•	•	•
- Ultra Violet	√√√√	√√√√	√√√√
- VIS (visible light)	√√√√	√√√√	√√√√
NLO-IR / 2 Photon	√√	√√	√√

Εικόνα 15: Αντικειμενικοί φακοί μικροσκοπίου εργαστηρίου Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας

6. Αντικειμενοφόρος βάση δειγμάτων: Με αυτή τη συσκευή γίνεται η τοποθέτηση και μετακίνηση των δειγμάτων. Το μικροσκόπιο αυτό χρησιμοποιείται για την μελέτη πολλών και διαφορετικών δειγμάτων. Προκειμένου να μπορεί να εξεταστεί όλη η επιφάνεια τους πρέπει η βάση να κινείται σε Χ και Υ επίπεδο. Η υπάρχουσα βάση έχει εύρος κίνησης για τον Χ άξονα 75mm και για τον Υ άξονα 30mm. Οι διαστάσεις της είναι 150mmΧ220mm.. Η στερέωση των δειγμάτων γίνεται με τη χρήση ενός ελάσματος και ενός ελατηρίου.
7. Συγκεντρωτικός φακός (condenser): Το εξάρτημα αυτό βρίσκεται πάνω από τη λάμπα αλογόνου και κάτω από την αντικειμενοφόρο βάση και χρησιμεύει για την εστίαση του φωτισμού του δείγματος
8. Κάμερα CCD: Χρησιμοποιείται για την απεικόνιση των δειγμάτων και την αποθήκευση δεδομένων. Ανάλυση 1024x768 pixels.



Εικόνα 16: Axioskop 50 Πηγή: fluorescencemicroscopes.com



Εικόνα 17: Μέρη Μικροσκοπίου Zeiss

2.2 Αναγκαία Αυτοματοποίηση

Σε ένα μικροσκόπιο μπορεί να αυτοματοποιηθεί και να ελεγχθεί η κίνηση σε όλα σχεδόν τα κινούμενα μέρη του. Η παρούσα διπλωματική αναφέρεται στην αυτοματοποίηση των πιο σημαντικών εξ αυτών. Στο κεφάλαιο αυτό αναφέρονται τα μέρη εκείνα των οποίων η κίνηση αυτοματοποιήθηκε, γιατί επιλέχθηκαν τα τμήματα αυτά και ποιες είναι οι βασικές προδιαγραφές.

2.2.1 Λειτουργίες του Μικροσκοπίου προς Αυτοματοποίηση

Στις Εικόνα 16 Εικόνα 17 παρουσιάζονται τα κύρια τμήματα του μικροσκοπίου φθορισμού. Από αυτά προς αυτοματοποίηση είναι:

- Διάφραγμα για τη λάμπα υδραργύρου.
- Εστίαση (CCD camera)
- Αντικειμενοφόρος βάση δειγμάτων (XY stage)
- Αντικειμενικοί φακοί (objective lenses)
- Κατακόρυφη κίνηση δείγματος
- Φορέας οπτικών φίλτρων (Filter set)

Πέρα από τα εξαρτήματα του μικροσκοπίου, υπάρχει και η δυνατότητα αυτοματοποίησης της διαδικασίας τοποθέτησης δειγμάτων. Με τον τρόπο αυτό γίνεται δυνατός ο έλεγχος περισσότερων δειγμάτων σε μικρότερο χρονικό διάστημα.

2.2.2 Λειτουργίες προς Αυτοματοποίηση Της Παρούσης Εργασίας

Από τις παραπάνω λειτουργίες στη παρούσα διπλωματική θα αυτοματοποιηθούν οι εξής:

1. **Το διάφραγμα της λάμπα υδραργύρου:** Μετά την αυτοματοποίηση θα είναι δυνατόν να ελεγχθεί η διέλευση της δέσμης φωτός της λάμπας υδραργύρου- από το διάφραγμα.
2. **Ο φορέας οπτικών φίλτρων:** Για την αυτοματοποίηση θα δημιουργηθεί ένας μηχανισμός, που θα τον μετακινεί στις 4 θέσεις. Οι 4 θέσεις συμπίπτουν με τις θέσεις των φίλτρων που βρίσκονται μέσα στο φορέα.
3. **Αντικειμενοφόρος βάση δειγμάτων:** Η αυτοματοποίηση αυτής της λειτουργίας θα οδηγήσει στην δυνατότητα, να γίνεται έλεγχος θέσης (κατά τους X και Y άξονες) του δείγματος, όπου γίνεται η απεικόνιση. Η βάση θα φέρει διάφορα είδη δειγμάτων (96-wellplate, glass specimen etc).

Βασικός στόχος είναι η δημιουργία ενός απλού και εύχρηστου συστήματος, που θα αποτελέσει βάση για την απεικόνιση και την παρατήρηση δειγμάτων. Για κάθε μια από τις παραπάνω λειτουργίες θα χρειαστούν διάφορα συστήματα κίνησης και ελέγχου. Στα κεφάλαια 2.3, 2.4, 2.5, παρουσιάζεται αναλυτικά η πορεία της αυτοματοποίησης των λειτουργιών αυτών.

Σημαντικό κομμάτι της αυτοματοποίησης ενός μικροσκοπίου, αποτελεί η κίνηση στο κατακόρυφο επίπεδο Z και η εστίαση. Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας δεν είναι δυνατόν να μελετηθούν και να αναπτυχθούν και μέθοδοι αυτόματης εστίασης και αναγνώρισης εικόνων παράλληλα με τα προαναφερθέντα.

2.2.3 Βασικές Προδιαγραφές

Απαραίτητη προϋπόθεση για το σχεδιασμό και την κατασκευή των μηχανισμών αυτοματοποίησης είναι η θέσπιση κάποιων βασικών προδιαγραφών του συστήματος, όπως είναι το κόστος και το βάρος.

Βασικός παράγοντας που επηρεάζει τις αποφάσεις για την αυτοματοποίηση των μερών του μικροσκοπίου, είναι το κόστος των κατεργασιών, των πρώτων υλών και των βοηθητικών εξαρτημάτων, (ηλεκτρονικά, επενεργητές, αισθητήρες). Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί το κόστος της αυτοματοποίησης, επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθούν ήδη υπάρχοντα υλικά και εξαρτήματα που

βρίσκονταν στο εργαστήριο. Επίσης, έγινε προσπάθεια όλες οι κατεργασίες να γίνουν μέσα στο χώρο του εργαστηρίου.

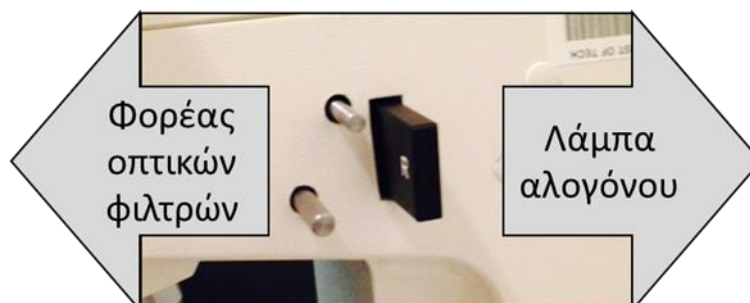
Εν συνεχεία, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας είναι το βάρος των εξαρτημάτων που θα κατασκευαστούν, το οποίο δεν πρέπει να είναι μεγάλο. Αυτό αναφέρεται κυρίως στα εξαρτήματα που θα εδραστούν σε βίδες ή μέρη του μικροσκοπίου που κινούνται. Αυτά πρέπει να είναι όσο τον δυνατόν πιο ελαφριά, ώστε να μην επηρεάσουν την ομαλή λειτουργία του μικροσκοπίου κατά τη πάροδο του χρόνου.

Επίσης σημαντική είναι η ύπαρξη ενός συστήματος, που θα δίνει τη δυνατότητα σε μη ειδικευμένους χρήστες, να διαχειρίζονται το διαχείρισης του αυτοματοποιημένο μικροσκοπίου. Προς αυτή τη κατεύθυνση πρέπει να δημιουργηθεί ένα απλό και εργονομικό γραφικό περιβάλλον, που θα συνδυάζει τις 3 αυτοματοποιημένες λειτουργίες. Το γραφικό περιβάλλον θα εγκατασταθεί σε έναν υπολογιστή πλησίον του μικροσκοπίου, όπου θα είναι εγκατεστημένη και η κάμερα.

Τέλος, πέρα από τις βασικές προδιαγραφές του συστήματος, θα πρέπει να τηρούνται και οι προδιαγραφές του κάθε ενός διαφορετικού εξαρτήματος, οι οποίες παρουσιάζονται στα αντίστοιχα κεφάλαια. Στη συνέχεια αναλύονται η αυτοματοποίηση του διαφράγματος της λάμπας υδραργύρου, του φορέα οπτικών φίλτρων και της αντικειμενοφόρου βάσης.

2.3 Αυτοματοποίηση της Κίνησης του Διαφράγματος της Λάμπας Υδραργύρου

Το διάφραγμα της λάμπας υδραργύρου βρίσκεται ανάμεσα στην λάμπα υδραργύρου και το φορέα οπτικών φίλτρων (Εικόνα 18). Ο ρόλος του είναι ο έλεγχος της διέλευσης της δέσμης της λάμπας αλογόνου.



Εικόνα 18: Το διάφραγμα της λάμπας υδραργύρου βρίσκεται ανάμεσα στη πηγή φωτός και τα οπτικά φίλτρα.

Το υπάρχον διάφραγμα όπως φαίνεται και από την Εικόνα 19 του μικροσκοπίου έχει 3 διακριτά σημεία. Το πρώτο μπλοκάρει τη δέσμη, το δεύτερο περιέχει ένα φίλτρο, που εμποδίζει την υπέρυθη ακτινοβολία (μπλε) και το τρίτο επιτρέπει τη διέλευση της δέσμης φωτός. Στο πάνω μέρος του -το διάφραγμα- φέρει 3 εγκοπές. Αυτές χρησιμεύουν για την σταθεροποίηση του στο επιθυμητό σημείο. Το μικροσκόπιο στο εσωτερικό του έχει ένα ελατήριο, το οποίο είναι συμπιεσμένο κατά την κίνηση του διαφράγματος και όταν φτάσει στην εγκοπή, αναπτύσσεται και το κρατάει σταθερό. Για την μετακίνηση από την πρώτη θέση, προς τα αριστερά και από την τρίτη θέση προς τα δεξιά, χρειάζεται περισσότερη δύναμη, καθώς η κλίση της αριστερής και της δεξιάς εγκοπής είναι πιο μεγάλη. Η δύναμη συγκράτησης μετρήθηκε μέσω ενός βαθμονομημένου ελατηρίου στα 5 N. Το συγκεκριμένο εξάρτημα είναι κατασκευασμένο από ανοδιωμένο αλουμίνιο.



Εικόνα 19: Υπάρχον διάφραγμα μπλοκαρίσματος δέσμης λάμπας υδραργύρου

2.3.1 Ανάγκη για Αυτοματοποίηση

Η δέσμη που προέρχεται από την λάμπα υδραργύρου έχει μεγάλη ισχύ. Όταν έρχεται σε επαφή με τα φθορίζοντα μόρια τα διεγείρει και έχει ως αποτέλεσμα την εκπομπή φωτονίων. Όμως τα φθορίζοντα μόρια μπορούν να εκτεθούν για μικρό χρόνο σε τέτοια ενέργεια. Με το πέρασμα του χρόνου αρχίζουν να εξασθενούν και χάνουν την δυνατότητα να εκπέμπουν φωτόνια διαφορετικού μήκους (photobleaching). Για αυτό το λόγο χρειαζόμαστε ένα σύστημα το οποίο -αυτόματα- θα επιτρέπει τη διέλευση της δέσμης, όταν χρειαζόμαστε απεικόνιση και θα την μπλοκάρει όταν δεν χρειάζεται.

2.3.2 Προδιαγραφές

Προτού ξεκινήσουμε το σχεδιασμό της συσκευής, πρέπει να λάβουμε υπόψη κάποιους περιορισμούς και προδιαγραφές.

- Εύρος κίνησης. Η μία θέση θα επιτρέπει της δέσμη φωτός από τη λάμπα υδραργύρου και η άλλη θέση θα την μπλοκάρει. Οι θέσεις αυτές έχουν απόσταση 20mm μεταξύ τους.

- Έδραση πάνω στο μικροσκόπιο. Ο μηχανισμός πρέπει να είναι ελαφρύς και στιβαρός, για να μπορεί να εδραστεί πάνω στο μικροσκόπιο, χωρίς να εμποδίζει τη λειτουργία του.
- Έλεγχος διέλευσης δέσμης φωτός. Να είναι από τέτοιο υλικό που θα μπορεί να εμποδίσει τη δέσμη φωτός της λάμπας υδραργύρου.
- Ταχύτητα κίνησης. Μελλοντικά θα υπάρχουν εφαρμογές που απαιτούν την απεικόνιση πολλών σημείων του δείγματος σε μικρό χρονικό διάστημα. Η απόσταση που πρέπει να διανύσει το διάφραγμα είναι 20mm. Ικανοποιητικός χρόνος για αυτή την απόσταση είναι περίπου 0.2 sec. Επομένως η ταχύτητα είναι:

$$u = 20\text{mm}/0.2\text{ sec} = 100\text{mm}/\text{sec}$$
- Να έχει συγκεκριμένο μέγεθος. Πρέπει να ληφθεί υπόψη το διαθέσιμο μέγεθος της εσοχής του μικροσκοπίου, μέσα στην οποία κινείται το διάφραγμα.
 - ο Πάχος: 8.5mm
 - ο Ύψος: 24mm
- Έλεγχος θέσης. Πρέπει ανά πάσα στιγμή να γνωρίζει ο χρήστης ή το μηχάνημα σε ποια από τις 2 θέσεις βρίσκεται.

Μετά την εκλογή των προδιαγραφών μπορεί να ξεκινήσει ο εννοιολογικός σχεδιασμός του διαφράγματος.

2.3.3 Εννοιολογικός Σχεδιασμός

Για την υλοποίηση των σχεδιαστικών προδιαγραφών απαιτείται η δημιουργία ενός συστήματος που θα εκτελεί τις βασικές λειτουργίες του διαφράγματος. Το διάφραγμα θα κινείται ανάμεσα σε 2 διακριτές θέσεις και θα εδράζεται πάνω στο μικροσκόπιο. Ο ρόλος της μίας εκ των δύο θέσεων είναι να μπλοκάρει τη δέσμη φωτός από τη λάμπα υδραργύρου.

Το σύστημα αυτό θα αποτελείται από δύο βασικά κομμάτια. Το πρώτο θα λειτουργεί σαν έδραση για τον μηχανισμό κίνησης του διαφράγματος. Το δεύτερο αποτελεί το κινούμενο μέρος, το οποίο θα κινείται σχετικά με το πρώτο κομμάτι μέσω ενός επενεργητή και θα εδράζεται πάνω σε αυτό. Ανάλογα με την θέση του δεύτερου εξαρτήματος, το φως από την λάμπα, είτε θα περνά από μια τρύπα στο εξάρτημα (η διέγερση περνά και τελικά φτάνει στο δείγμα), είτε θα πέφτει πάνω στο εξάρτημα (η διέγερση μπλοκάρεται). Ο μηχανισμός κίνησης θα είναι στερεωμένος στο πρώτο κομμάτι, το οποίο είναι σταθερό.

Η πρώτη λειτουργία που εξετάστηκε είναι η έδραση της συσκευής πάνω στο μικροσκόπιο. Προτάθηκαν δύο πιθανοί τρόποι στήριξης. Αυτοί είναι:

1. Το σύστημα θα εδράζεται στο πάνω μέρος του μικροσκοπίου και θα έχει σχήμα 'Π'.
2. Η αξιοποίηση της εγκοπής που συγκρατεί τον υπάρχοντα οδηγό και η δημιουργία μιας συσκευής, η οποία θα φέρει παρόμοια εγκοπή και θα στηρίζεται στο εσωτερικό ελατήριο του μικροσκοπίου.

Οι δυο αυτές προτάσεις μπορούν να αντιμετωπίσουν το πρόβλημα στήριξης. Η κίνηση του διαφράγματος είναι απλή, η δύναμη που απαιτείται μικρή και η ακρίβεια αδιάφορη. Οπότε η σύγκριση γίνεται με βάση τα μειονεκτήματά τους.

Πίνακας 1: Σύγκριση 2 πιθανών τρόπων στερέωσης του διαφράγματος

Επιλογή	Θετικά	Αρνητικά
1 ^η	<ul style="list-style-type: none"> • Στιβαρότερη κατασκευή 	<ul style="list-style-type: none"> • Ογκώδης λύση • Δύσκολη γεωμετρία • Αμφίβολη δυνατότητα στήριξης
2 ^η	<ul style="list-style-type: none"> • Μικρό μέγεθος • Χρήση ήδη υπάρχουσας έδρασης 	<ul style="list-style-type: none"> • Μέτρια δυσκολία στη κατασκευή

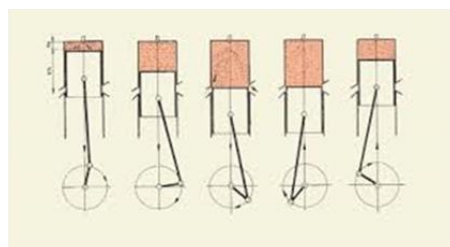
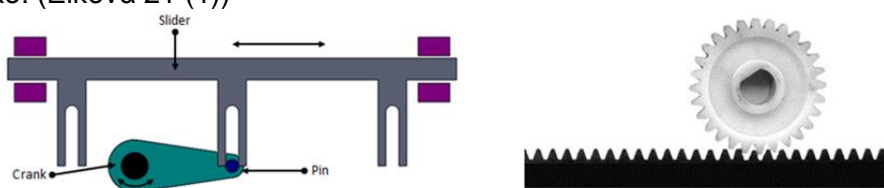
Η πρώτη είναι ογκώδης λύση. Η έδραση της ενδέχεται να δημιουργήσει προβλήματα, γιατί η γεωμετρία του μικροσκοπίου στο πάνω μέρος δεν είναι εύκολα αξιοποιήσιμη. Τα τοιχώματα του έχουν κλίση και δεν υπάρχει κάποιο σημείο που να μπορεί να εδραθεί καλά ο μηχανισμός. Η δεύτερη πρόταση δεν εμφανίζει κάποιο ιδιαίτερο ελάττωμα. Η στήριξη θα γίνει εσωτερικά, δεν θα γίνει χρήση κάποιου διαφορετικού εξαρτήματος του μικροσκοπίου και δεν θα επιβαρυνθεί περαιτέρω. Η μόνη δυσκολία έγκειται στην διαμόρφωση της εγκοπής στήριξης, η οποία θα σταθεροποιεί το διάφραγμα. Από τις παραπάνω πιθανές προτάσεις, επιλέχθηκε να δοκιμαστεί η δεύτερη ως πιο άμεση και αποτελεσματική

Αναλυτικότερα, σε ότι αφορά την έδραση στο μικροσκόπιο, ο μηχανισμός θα φέρει μια εγκοπή στο πάνω μέρος του σταθερού τμήματος. Όταν το διάφραγμα καταλήγει στην επιθυμητή θέση, το ελατήριο θα εισχωρεί στην εγκοπή και θα το εγκλωβίζει. Η οριζόντια δύναμη που απαιτείται για την μετακίνηση του υπάρχοντα μηχανισμού (δύναμη μετατόπισης), είναι 5 N. Αυτή η δύναμη θα είναι και η δύναμη συγκράτησης. Πάνω σε αυτό το κομμάτι θα εγκατασταθεί ένας κινητήρας, ο οποίος με κατάλληλο μηχανισμό θα μετακινεί ένα κινούμενο κομμάτι, το οποίο θα ελέγχει τη διέλευση του φωτός. Δηλαδή η κίνηση γίνεται ανάμεσα σε 2 διακριτά σημεία, στο ένα επιτρέπεται ο φωτισμός και στο άλλο όχι.

Η δεύτερη κρίσιμη λειτουργία της συσκευής είναι το μπλοκάρισμα της δέσμης φωτός από το κινούμενο κομμάτι. Επειδή οι περισσότεροι κινητήρες είναι περιστροφικοί, απαιτείται ένα σύστημα που να μετατρέπει την περιστροφική κίνηση του κινητήρα σε γραμμική κίνηση του οπτικού διαφράγματος. Προτάθηκαν 4 πιθανές μέθοδοι υλοποίησης αυτής της μετατροπής, οι οποίοι παραθέτονται παρακάτω.

1. Μηχανισμός Geneva drive.

Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται για να αποδώσει διακριτά σημεία ελέγχου. Ο κινητήρας φέρει ένα κυκλικό δίσκο στην άκρη του, ο οποίος έχει συμμετρικά τοποθετημένες βίδες στην περιφέρεια του. Δίπλα σε αυτό υπάρχει είτε ένα κυκλικό κομμάτι το οποίο έχει στην περιφέρεια του εγκοπές, είτε ένας οριζόντιος άξονας που ανά κάποια σταθερά διαστήματα έχει εγκοπές. Ο κινητήρας όταν κινείται, περιστρέφει το κυκλικό δίσκο και μαζί και τις βίδες. Έχουν τοποθετηθεί σε τέτοιο τρόπο, ώστε όταν μια βίδα βγαίνει από την μια εγκοπή, τότε μια άλλη να μπαίνει στην επόμενη, ώστε να συνεχίζει την κίνηση. Για να γίνει αυτό γραμμικά χρησιμοποιείται οριζόντιος άξονας με τις εγκοπές (Έτσι κάνοντας μια περιστροφή, έχει μετακινηθεί ο οριζόντιος άξονας, όσο είναι η θεωρητική περίμετρος που ορίζουν οι βίδες πάνω στο δίσκο. (Εικόνα 21 (1))



Εικόνα 20: Πάνω δεξιά: Κανόνας και πηνιόν Πηγή: chooseindia.com Κάτω: Μηχανισμός εμβόλου-διωστήρα (Πηγή: blogs.sch.gr)

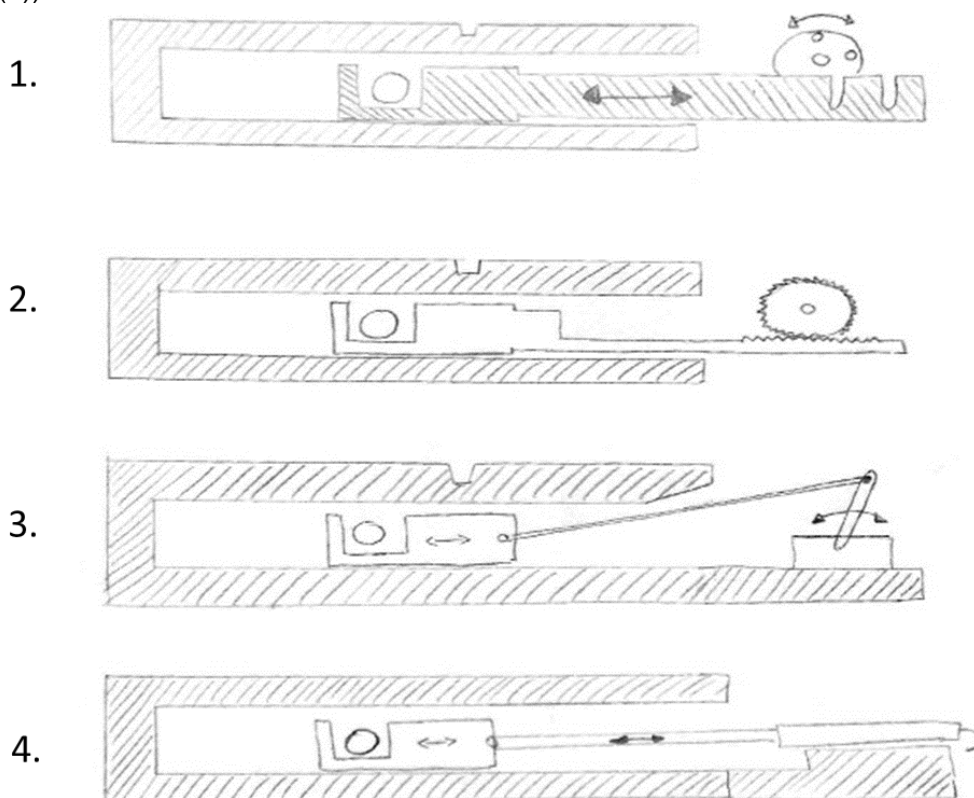
2. Σύστημα κανόνα-οδοντωτού τροχού (rack and pinion).

Η λειτουργία αυτού του μηχανισμού είναι απλούστερη. Ο κινητήρας φέρει πάνω του έναν οδοντωτό τροχό τον οποίο περιστρέφει. Υπάρχει και ένας κανόνας με οδοντώσεις στο πάνω μέρος του και με ίδιο module με τον οδηγό τροχό. Όταν περιστρέφεται ο κινητήρας, τα δόντια του τροχού σπρώχνουν τα δόντια του κανόνα και μεταφέρουν την κίνηση στον οριζόντιο άξονα. Έτσι μπορούν να σπρώξουν ή να τραβήξουν μικρά και μεγάλα βάρη, ανάλογα με την εφαρμογή, το μέγεθος και υλικό των δοντιών. (Εικόνα 21 (2))

3. Σύστημα εμβόλου-διωστήρα

Ο κινητήρας φέρει ένα βραχίονα και στην άκρη του τοποθετούμε έναν διωστήρα. Στην άλλη άκρη ο άξονας συνδέεται με το κινούμενο μέρος του διαφράγματος. Ο μηχανισμός αυτός λειτουργεί με τον ίδιο τρόπο που λειτουργεί και το πιστόνι, μόνο που στη θέση του πιστονιού έχουμε τον κινούμενο μέρος του διαφράγματος. Η απόσταση που διανύει το κινούμενο μέρος εξαρτάται από το μήκος του βραχίονα. Όσο πιο μακρύς είναι τόσο πιο μεγάλο εύρος κίνησης έχει. (Εικόνα 21(3))

4. Χρήση ενός γραμμικού επενεργητή (ηχείο φωνής). Αυτός έχει ένα έμβολο το οποίο κινείται προς τα έξω και πάλι πίσω. Στην άκρη του μπορεί να προσδεθεί ένας άξονας, ώστε να τον κινεί σε οριζόντιο επίπεδο και στις δύο κατευθύνσεις. Συνήθως η κίνηση των επενεργητών αυτών είναι περιορισμένη και το κόστος τους μεγάλο. (Εικόνα 21: Πιθανές μέθοδοι μετατροπής κίνησης (4))



Εικόνα 21: Πιθανές μέθοδοι μετατροπής κίνησης

Κάθε ένα από τα παραπάνω συστήματα που περιεγράφηκαν, παρουσιάζουν θετικά και αρνητικά χαρακτηριστικά. Στον παρακάτω πίνακα βαθμονομήθηκαν με βάση την κατασκευασιμότητα, την ευκολία λειτουργίας, την τιμή και το μέγεθος με βαθμούς από το 1-5. Οι βαθμοί αυτοί προκύπτουν βάσει προσωπικής αντίληψης για την λειτουργία μηχανήματος. Το 1 είναι το χειρότερο και το 5 το καλύτερο.

Πίνακας 2: Βαθμολόγηση μηχανισμού κίνησης διακόπτη

	Εύκολη κατασκευή	Πιθανό να δουλέψει	Μέγεθος	Τιμή	Μέσος όρος
Geneva	4	5	5	5	4.75
Rack & Pinion	4	5	5	5	4.75
Piston	4	4	5	5	4.5
Linear Motion	5	5	4	2	4

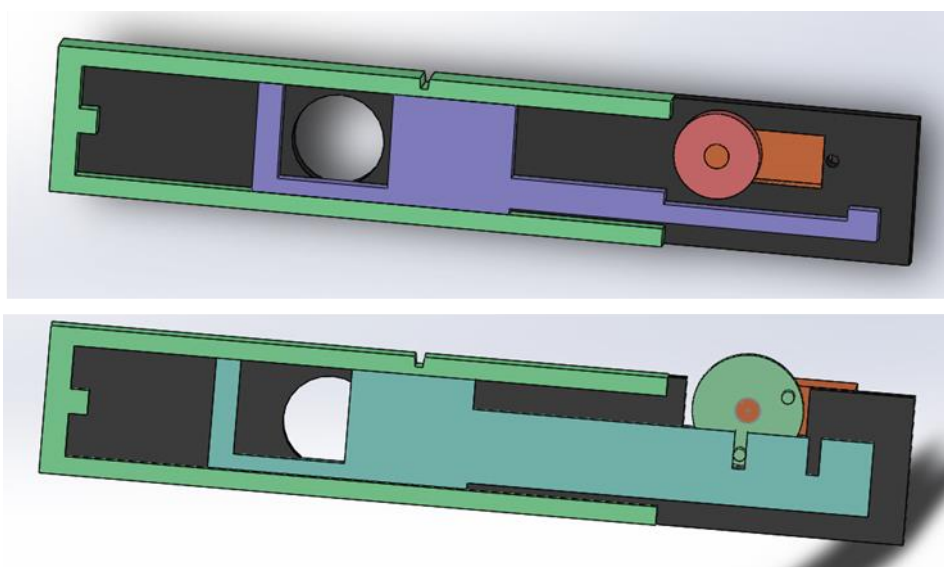
Από την παραπάνω σύγκριση αποφασίστηκε, να ληφθούν υπόψη στην συνέχεια, μόνο οι μηχανισμοί Geneva και κανόνα-οδοντωτού τροχού.

Προτού αναλυθούν οι 2 μέθοδοι, πρέπει να επιλεγθεί ο κινητήρας που θα χρησιμοποιηθεί. Όπως διατυπώθηκε στις προδιαγραφές, η κίνηση είναι περιορισμένη ανάμεσα σε 2 σημεία. Το φορτίο μετακίνησης εξαρτάται μόνο από τις τριβές στα τοιχώματα και το βάρος του κινούμενου κομματιού.

Υπάρχουν διάφοροι κινητήρες στην αγορά, οι οποίοι αφορούν διαφορετικές εφαρμογές. Βασικά κριτήρια επιλογής κινητήρα είναι:

- το μέγεθος της εφαρμογής, δηλαδή πόσο φορτίο πρέπει να μετακινηθεί,
- η ταχύτητα, δηλαδή πόσο γρήγορα πρέπει να μετακινηθεί ανάμεσα σε 2 σημεία,
- το εύρος κίνησης, δηλαδή πόσο απέχει το ένα σημείο από το άλλο.

Για την συγκεκριμένη εφαρμογή θα χρησιμοποιηθεί σερβοκινητήρας. Οι σερβοκινητήρες αποτελούν ελαφριούς επενεργητές, οι οποίοι είναι αρκετά οικονομικοί, έχουν μικρό εύρος κίνησης, συνήθως 60° με 180° και χρησιμοποιούνται ευρέως σε εφαρμογές μοντελισμού και πρωτοτύπων. Σε ορισμένες περιπτώσεις, εάν τροποποιηθεί ο σέρβο, μπορεί να κάνει πλήρη και συνεχή περιστροφή, αλλά αποφεύγεται. Επίσης, ένα μεγάλο πλεονέκτημα τους είναι ότι έχουν ενσωματωμένο έλεγχο θέσης. Αυτό σημαίνει ότι, εάν για κάποιο λόγο μεταβληθεί η θέση του χειροκίνητα, αυτός έχει στην μνήμη του την αρχική, και ξεκινάει πάντα από εκεί τη κίνηση. Όπως λοιπόν καταλαβαίνουμε ο σερβοκινητήρας ικανοποιεί όλες τις προδιαγραφές.



Εικόνα 22: Πάνω: Σχεδιασμός συσκευής με μηχανισμό κανόνα-πινιόν. Κάτω: Συσκευή με μηχανισμό Geneva Drive

Στις παραπάνω εικόνες παρουσιάζεται ένας αρχικός σχεδιασμός των παραπάνω δυο λύσεων.

Στην Εικόνα 22 παρουσιάζεται το σύστημα με μηχανισμό κανόνα πινιόν. Με μαύρο χρώμα είναι το σταθερό κομμάτι, πάνω στο οποίο στηρίζεται και ο κινητήρας. Με πράσινο χρώμα (σχήμα «Π») είναι το κομμάτι, πάνω στο οποίο θα ολισθαίνει το κινούμενο κομμάτι. Το κινούμενο κομμάτι φαίνεται με χρώμα μωβ και φέρει στην δεξιά μεριά οδόντωση (δεν φαίνεται στο σχήμα), ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν κανόνας. Πάνω στον κινητήρα (πορτοκαλί) συνδέεται το πηνιόν (κόκκινο), το οποίο είναι ένα γρανάτζι (δεν φαίνεται η οδόντωση), με ίδιο module με τον κανόνα. Όταν κινείται ο κινητήρας, περιστρέφεται το γρανάτζι και κινείται ο κανόνας (κινούμενο κομμάτι → μωβ).

Στην Εικόνα 22 παρουσιάζεται το σύστημα με μηχανισμό Geneva drive. Με μαύρο χρώμα είναι το σταθερό κομμάτι, πάνω στο οποίο στηρίζεται και ο κινητήρας. Με πράσινο χρώμα (σχήμα «Π») είναι το κομμάτι, πάνω στο οποίο θα ολισθαίνει το κινούμενο κομμάτι. Το κινούμενο κομμάτι φαίνεται με χρώμα (κυανό) και φέρει στην δεξιά μεριά δύο εγκοπές. Πάνω στον κινητήρα (πορτοκαλί) συνδέεται ένας δίσκος (πράσινο), ο οποίος φέρει 2 πύρους. Όταν κινείται ο κινητήρας, περιστρέφεται ο δίσκος, οι πύροι εισέρχονται στις εγκοπές και κινούν το κομμάτι που μπλοκάρει τη δέσμη φωτός. Για να δουλεύει ο μηχανισμός αυτός, δεν πρέπει να είναι ταυτόχρονα πάνω από ένας πύρος στις εγκοπές. Επίσης πρέπει να υπάρχει ένα ακόμα κομμάτι το οποίο θα συγκρατεί το μηχανισμό, ώστε να μην φεύγει από τον οδηγό. Το κομμάτι αυτό δεν φαίνεται στις παραπάνω εικόνες, αλλά παρουσιάζεται στο κεφάλαιο του λεπτομερούς σχεδιασμού.

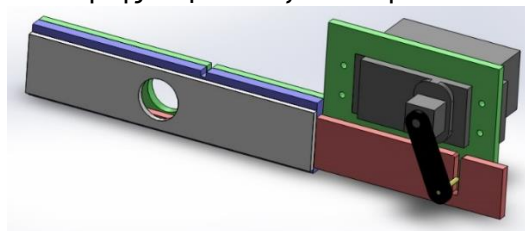
Όσον αφορά στο σύστημα οδοντωτού κανόνα και πινιόν, ενώ είναι αρκετά χρηστικό και μπορεί να λειτουργήσει με επιτυχία, είναι δύσκολο στην κατασκευή, καθώς πρέπει να φτιάξουμε δικιά μας οδόντωση στον κανόνα και το πινιόν. Επίσης χρησιμοποιείται συνήθως σε εφαρμογές, με μεγάλο εύρος κίνησης. Μια άλλη λύση θα ήταν να γίνει παραγγελία του, αλλά σε τέτοιο μέγεθος είναι και δυσεύρετα και ασύμφορο οικονομικά. Αντίθετα το σύστημα Geneva είναι απλούστερο κατασκευαστικά και μπορεί να γίνει με υλικά και κατεργασίες του εργαστηρίου. Έτσι λοιπόν απορρίφθηκε η ιδέα για το μηχανισμό Rack and Pinion και απέμεινε η ιδέα του Geneva drive και σερβοκινητήρα.

Αφού επιλέχθηκε ο μηχανισμός κίνησης, έγιναν κάποιες απλοποιήσεις πάνω σε αυτόν. Παρατηρήθηκε ότι δεν χρειάζεται να υπάρχουν δύο πύροι στον δίσκο. Η απόσταση που πρέπει να διανυθεί (20mm) είναι αρκετά μικρή. Για αυτόν το λόγο επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί ένας πύρος, ο οποίος θα είναι συνέχεια μέσα στην εγκοπή και θα μπορεί να κινήσει το κινούμενο μέρος για το απαιτούμενο εύρος κίνησης. Έτσι ο δίσκος αντικαταστάθηκε με ένα βραχίονα που στην άκρη του φέρει έναν πύρο.

Ανακεφαλαιώνοντας, για την ικανοποίηση των παραπάνω προδιαγραφών αποφασίστηκε να κατασκευαστεί μια συσκευή με τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

- θα φέρει εγκοπή στο βασικό της κομμάτι, ώστε να στερεοποιείται από το ελατήριο του μικροσκοπίου,
- το κινούμενο μέρος θα κινείται με έναν σερβοκινητήρα, ο οποίος έχει και ενσωματωμένο έλεγχο αρχικής θέσης,
- το κινούμενο μέρος θα κινείται σύμφωνα με την αρχή του μηχανισμού Geneva Drive, με ορισμένες τροποποιήσεις.

Η τελική μορφή του μηχανισμού κίνησης παρουσιάζεται στην Εικόνα 23.



Εικόνα 23: Συσκευή έλεγχου κίνησης διαφράγματος

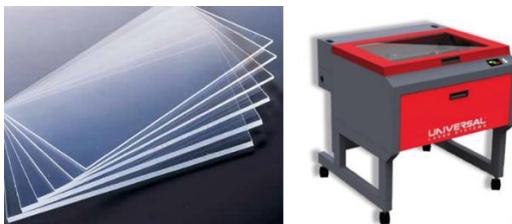
Σε αυτή την εικόνα με πράσινο μωβ και άσπρο χρώμα είναι το βασικό κομμάτι του μηχανισμού το οποίο στερεώνεται στο μικροσκόπιο και πάνω στο οποίο στερεώνεται ο κινητήρας. Με κόκκινο χρώμα φαίνεται το κινούμενο κομμάτι. Με μαύρο είναι ο βραχίονας και πάνω του με κίτρινο φαίνεται ο πύρος. Ο κινητήρας περιστρέφει το βραχίονα και αυτός με τη βοήθεια του πύρου παρασέρνει το κινούμενο μέρος.

Το επόμενο βήμα είναι η υλοποίηση του εννοιολογικού σχεδιασμού.

2.3.4 Λεπτομερής Σχεδιασμός

Αφού διατυπώθηκε ο τρόπος επίτευξης των απαιτούμενων λειτουργιών, σε αυτήν την ενότητα παρουσιάζεται ο λεπτομερής σχεδιασμός των λύσεων που προτάθηκαν.

Για αρχή πρέπει να επιλεγεί το υλικό της συσκευής. Δεδομένου ότι απαιτείται ένα ελαφρύ και φθηνό υλικό, και επειδή η κατασκευή αυτή δεν έχει μεγάλες απαιτήσεις σε στιβαρότητα και μεγάλες καταπονήσεις, αποφασίστηκε να χρησιμοποιήσουμε plexiglass. Το plexiglass είναι ένα ακρυλικό πλαστικό, το οποίο διατίθεται σε αρκετά πάχη και στην συγκεκριμένη εφαρμογή, μπορεί να χρησιμοποιηθεί εύκολα και είναι άμεσα διαθέσιμο στο εργαστήριο. Καθώς το plexiglass διατίθεται σε φύλλα (Εικόνα 24), πρέπει ο σχεδιασμός να γίνει σε δισδιάστατη μορφή. Έτσι κατά το σχεδιασμό των επιμέρους εξαρτημάτων τα κομμάτια που θα σχεδιαστούν, πρέπει να κατασκευαστούν με δισδιάστατες κατεργασίες. Η επεξεργασία και κοπή του plexiglass θα γίνει με το μηχάνημα LaserCutter VLS (Εικόνα 24) του εργαστηρίου. Το μηχάνημα αυτό μπορεί να κόψει plexiglass υλικού μέχρι και 10mm και τα φύλλα πρέπει να είναι διαστάσεων 300mmX600mm.



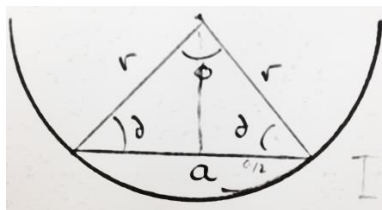
Εικόνα 24: Αριστερά: Plexiglass Πηγή: karantonis.gr. Δεξιά: LaserCutter VLS Πηγή: Universal Laser Systems

Προτού διαμορφωθούν οι διαστάσεις του μηχανισμού πρέπει να επιλέξουμε το ακριβές μοντέλο του κινητήρα. Οι κινητήρες επιλέγονται με κριτήρια το μέγεθος του φορτίου, την ταχύτητα που πρέπει να κινήσουν και την απόσταση που πρέπει να διανύσουν. Στη συγκεκριμένη εφαρμογή έχουμε ως δεδομένο την απόσταση (20mm). Η απόσταση που πρέπει να διανυθεί επηρεάζει άμεσα το μήκος του βραχίονα. Αφού είναι γνωστό το εύρος κίνησης, ο κινητήρας θα επιλεγεί με βάση τα άλλα δυο στοιχεία. Το βάρος του plexiglass που κινείται είναι 100gr και ο συντελεστής τριβής για ολίσθηση μεταξύ δύο φύλλων plexiglass είναι 0.15. Επομένως η δύναμη που απαιτείται για να κινηθεί είναι 0.015N. Τέλος, η ταχύτητα που θα κινηθεί εξαρτάται από τις προδιαγραφές που έχουν τεθεί. Στη συγκεκριμένη περίπτωση απαιτείται κίνηση, από τη μια θέση στην άλλη, σε χρόνο μικρότερο από 1 second. Η ταχύτητα που θα κινηθεί ανάμεσα σε 2 θέσεις, επηρεάζεται και αυτή από το μήκος του βραχίονα. Έτσι έγιναν κάποιες δοκιμές για διαφορετικά μήκη, ώστε να βρεθεί η καλύτερη λύση.

Πίνακας 3: Δοκιμές για επιλογή ακτίνας βραχίονα

α (mm)	r (mm)	θ (°)	φ (°)
20	15	48.2	83.6
20	18	56.3	68
20	20	60	60
20	23	64.3	51

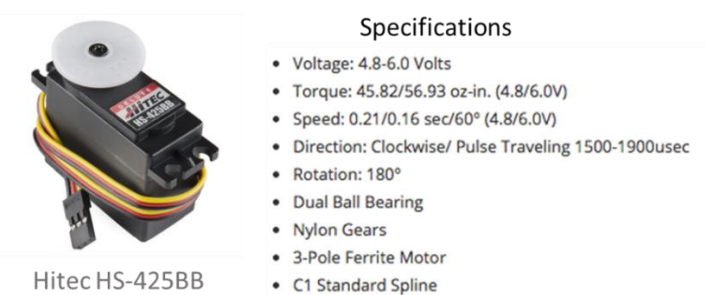
Όπου:



Εικόνα 25 a, r, θ , φ

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρείται πως, όσο μεγαλώνει το μήκος του βραχίωνα, τόσο μειώνεται η κίνηση που πρέπει να κάνει ο κινητήρας. Οι περισσότεροι σερβοκινητήρες έχουν συγκεκριμένη περιστροφή, η οποία τις περισσότερες φορές είναι 60° και 180° . Υπάρχουν και τροποποιημένοι σερβοκινητήρες, οι οποίοι κινούνται σε πλήρη ή συνεχή περιστροφή, αλλά δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη συγκεκριμένη εφαρμογή. Επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί μήκος βραχίωνα μεγαλύτερο από 20mm. Επομένως απαιτείται περιστροφή μέχρι 60° (βλέπε Πίνακας 3).

Με βάση τα παραπάνω ξεκίνησε η αναζήτηση του κινητήρα που θα χρησιμοποιηθεί για την κίνηση του κινούμενου μέρους του διαφράγματος. Κατά την αναζήτηση παρατηρήθηκε, ότι οι σερβοκινητήρες που έχουν περιστροφή 60° και 180° , έχουν παρόμοια τιμή (10-12E) και μέγεθος. Επομένως αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί κινητήρας με περιστροφή 180° . Ο κινητήρας που επιλέχθηκε είναι ο Hitec HS-425BB. Παρακάτω φαίνονται τα χαρακτηριστικά του.

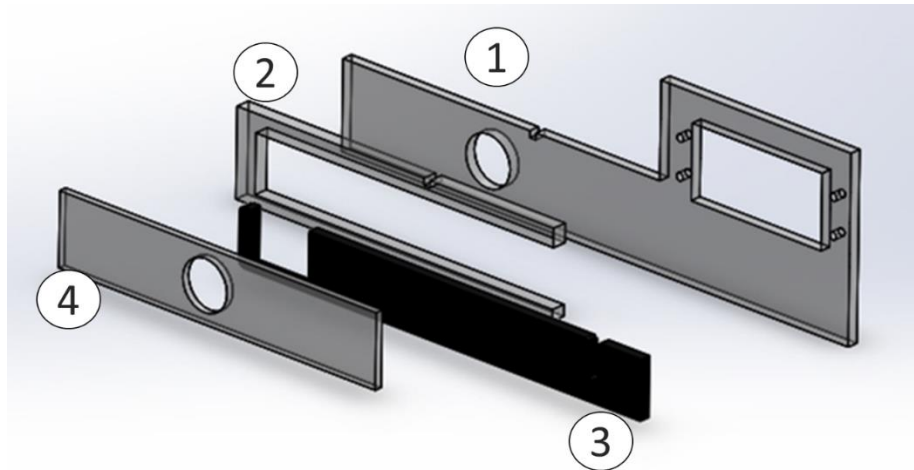


Εικόνα 26: Σερβοκινητήρας και Χαρακτηριστικά

Η ταχύτητα περιστροφής για 60° είναι 0.21 δευτερόλεπτα, το οποίο είναι μέσα στις προδιαγραφές και η ροπή που έχει ο κινητήρας είναι αρκετά μεγάλη για να κινήσει το κινούμενο μέρος.

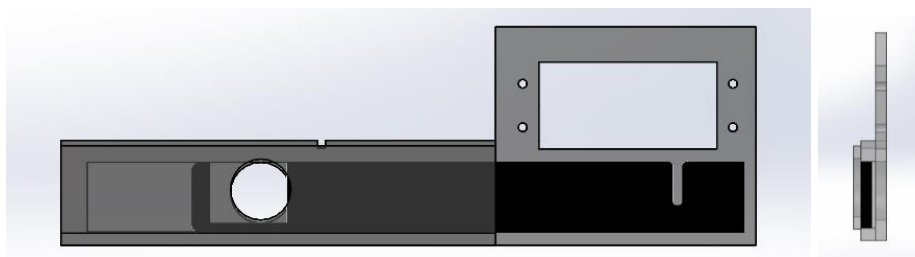
Μετά την επιλογή του κινητήρα έγινε ο σχεδιασμός της συσκευής. Το σταθερό κομμάτι επιμερίστηκε σε 3 μικρότερα κομμάτια. Αυτά τα κομμάτια μπορούν να κατασκευαστούν εύκολα με 2D κατεργασίες. Το κινούμενο μπορεί να κατεργαστεί ως έχει.

Το πρώτο κομμάτι (Εικόνα 27 «1») είναι από plexiglass πάχους 3mm και στην δεξιά μεριά έχει διαμόρφωση για να μπει ο κινητήρας. Το δεύτερο κομμάτι (Εικόνα 27 «2») έχει πάχος 4mm και είναι σε σχήμα «Π». Πάνω σε αυτό κινείται το κινούμενο μέρος. Το τρίτο κομμάτι (Εικόνα 27 «4») είναι φτιαγμένο επίσης από plexiglass πάχους 1,5mm και χρησιμεύει για να μην φεύγει το κινούμενο μέρος από τον οδηγό. Ο λόγος που επιλέχθηκαν αυτά τα πάχη, είναι για να ικανοποιούν τις προδιαγραφές του συστήματος (Προδιαγραφές). Τέλος, το κινούμενο μέρος (Εικόνα 27 «3») είναι πάχους 3mm και φέρει την εγκοπή που αναφέρθηκε προηγουμένως. Προκειμένου να περνάει η δέσμη μέσα από το plexiglass δημιουργήθηκαν τρύπες διαμέτρου 20mm στο πρώτο (πράσινο) και τρίτο (άσπρο) κομμάτι.



Εικόνα 27: 1. Στήριγμα συσκευής, 2. Οδηγός Κινούμενου κομματιού, 3. Κινούμενο κομμάτι, 4. Κάλυμμα.

Μετά την κατασκευή τους, συναρμολογήθηκαν με τη χρήση κόλλας (Logo στιγμής) και ο κινητήρας βιδώθηκε πάνω στο πρώτο κομμάτι. Οι βίδες που χρησιμοποιήθηκαν είναι διαμέτρου 3mm. Το μεσαίο κομμάτι για να εμποδίσει τη δέσμη βάφθηκε με μαύρο matt χρώμα (ART.NR. 28528 RAL9005 MATT DEEP BLACK). Η τελική μορφή τους παρουσιάζεται παρακάτω. Τα χρώματα είναι διαφορετικά από τα παραπάνω σχέδια.

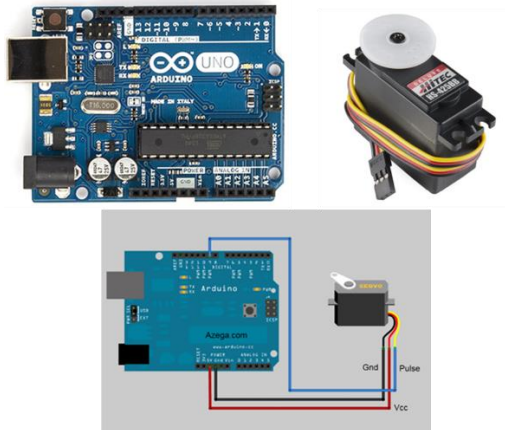


Εικόνα 28: Διάφραγμα Χωρίς κινητήρα (Solidworks)



Εικόνα 29: Διάφραγμα (πριν βαφτεί το κινούμενο με μαύρο χρώμα)

Ο έλεγχος του κινητήρα γίνεται με τη χρήση του περιβάλλοντος του Arduino και έναν αλγόριθμο που παρουσιάζεται στο παράρτημα.. Για τη δημιουργία του προγράμματος χρειάζεται ένας μικροελεγκτής, μερικά καλώδια που θα συνδέουν τον μικροελεγκτή στο κινητήρα και ένας αλγόριθμος, που γράφεται στον υπολογιστή και φορτώνεται στον μικροελεγκτή. Ο αλγόριθμος αυτός θα κινεί τον κινητήρα ανάμεσα σε 2 θέσεις. Ο μικροελεγκτής είναι Arduino micro. Ο Arduino είναι ένας single-board μικροελεγκτής, ο οποίος έχει μητρική πλακέτα ανοικτού κώδικα, εισόδους/εξόδους και ενσωματωμένο μικροελεγκτή. Για την γραφή του κώδικα χρησιμοποιείται το λογισμικό Arduino και η γλώσσα Wiring (ο κώδικας παρατίθεται στο παράρτημα). Παρακάτω φαίνεται η συνδεσμολογία και τα εξαρτήματα που χρειάζονται.



Εικόνα 30: Πάνω αριστερά: Μικροελεγκτής Arduino micro (Πηγή: store.arduino.cc). Πάνω δεξιά: Σερβοκινητήρας HS 425-B (Πηγή: Hitex). Κάτω: Συνδεσμολογία Arduino με Σερβοκινητήρα (Πηγή: thunderwiring.wordpress.com)

2.3.5 Έλεγχος Λειτουργίας

Αφού κατασκευάστηκε το πρωτότυπο, δοκιμάστηκε η λειτουργία του πάνω στο μικροσκόπιο. Όταν τέθηκε σε λειτουργία η λάμπα και πριν ακόμα μπει σε λειτουργία ο κινούμενος μηχανισμός, παρατηρήθηκε ένα πρόβλημα. Η δέσμη φωτός από τη λάμπα υδραργύρου έχει μεγάλη ισχύ, με αποτέλεσμα, όταν αυτή πέφτει πάνω στο πλαστικό, αυτό να θερμαίνεται και να προκαλείται παραμόρφωση, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 31.



Εικόνα 31:Κινούμενο μέρος. Παραμόρφωση από δέσμη φωτός.

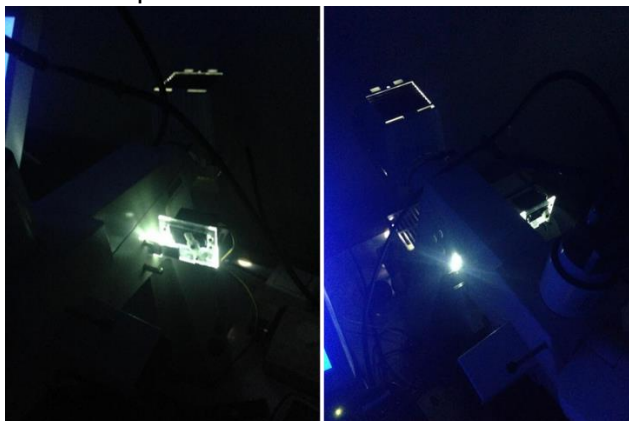
Προκειμένου να αντιμετωπισθεί αυτό το πρόβλημα, πρέπει να βρεθεί ένας τρόπος να μην συσσωρεύεται όλη η ενέργεια σε ένα σημείο, αλλά να κατανέμεται σε μεγαλύτερη επιφάνεια. Για να γίνει αυτό θα χρησιμοποιηθεί στη θέση του πλαστικού ένα υλικό το οποίο θα έχει μεγαλύτερη θερμική αγωγιμότητα. Ένα υλικό που ικανοποιεί τις παραπάνω προδιαγραφές αλλά παράλληλα διαθέτει τα χαρακτηριστικά που αναφέρθηκαν σε προηγούμενο κεφάλαιο, όπως χαμηλό κόστος, βάρος κ.α., είναι το αλουμίνιο. Προς αυτή τη κατεύθυνση υπάρχουν δύο επιλογές. Η πρώτη επιλογή είναι να κατασκευαστεί το κινούμενο μέρος από αλουμίνιο και η δεύτερη να καλυφθεί ένα κομμάτι του πλαστικού από μια ταινία αλουμινίου. Πρώτα δοκιμάστηκε η δεύτερη επιλογή (Εικόνα 32), γιατί ήταν πιο γρήγορη, δεν χρειαζόταν κατεργασίες, και παρουσιάζεται ως η πιο οικονομική λύση.



Εικόνα 32: Κινούμενο μέρος καλυμμένο με ταινία αλουμινίου

Μόλις ολοκληρώθηκε η επικάλυψη με το αλουμίνιο, δοκιμάστηκε εκ νέου η λειτουργία του. Το εξάρτημα αφέθηκε σε ακίνητη θέση για 20 λεπτά. Μετά το πέρας του χρόνου παρατηρήθηκε πως το αλουμίνιο δεν είχε ζεσταθεί καθόλου και δεν υπήρχε κάποια ορατά διακριτή παραμόρφωση. Παρ' όλα αυτά, η χρήση της ταινίας αλουμινίου προκαλεί ένα άλλο πρόβλημα. Η δέσμη φωτός πέφτοντας πάνω στην αλουμινένια ταινία διαθλάται και σκεδάζεται σε όλο το χώρο (Εικόνα 33). Καθώς το plexiglass είναι διαφανές, το ως που σκεδάζεται βγαίνει από το μικροσκόπιο και

εξαπλώνεται στον υπόλοιπο χώρο. Αυτό είναι αρκετά επιβλαβές για την υγεία του χρήστη, καθώς η δέσμη φωτός είναι υπεριώδης. Επιπλέον, το φως αυτό μπορεί να δημιουργήσει σημαντικό θόρυβο (background noise) στην απεικόνιση.



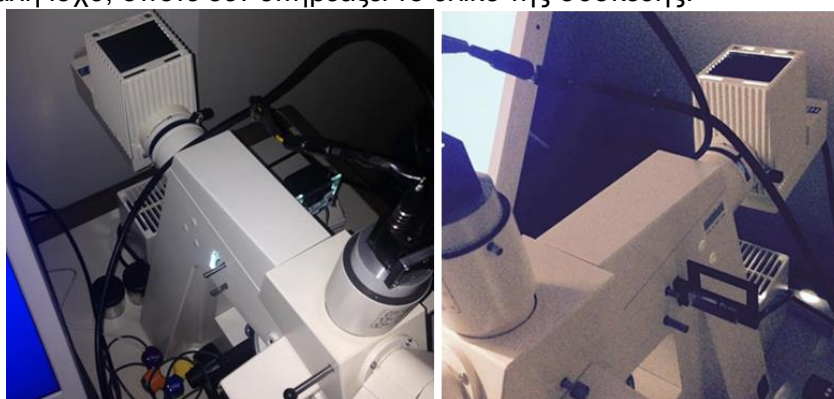
Εικόνα 33: Σκέδαση της δέσμης του φωτός στο χώρο

Για την καταπολέμηση του προβλήματος αυτού, υπάρχουν δύο πιθανές λύσεις. Η πρώτη είναι να κατασκευαστεί όλη η συσκευή με κάποιο υλικό, το οποίο δεν είναι διάφανο. Η δεύτερη λύση είναι να χρησιμοποιηθεί το σπρέι χρώματος μαύρου matt (ART.NR. 28528 RAL9005 MATT DEEP BLACK) που είχε χρησιμοποιηθεί προηγουμένως, ώστε να βαφτεί όλη η συσκευή (εκτός του κινούμενου μέρους που έχει καλυφθεί με ταινία αλουμινίου).



Εικόνα 34: Διάφραγμα. Μετά τη βαφή και με το κινούμενο καλυμμένο με ταινία αλουμινίου

Ως πιο άμεση λύση επιλέχθηκε το βάψιμο της συσκευής(Εικόνα 34).Μετά τη βαφή δοκιμάστηκε εκ νέου η λειτουργία του και αυτή τη φορά το φως δεν εξερχόταν του μικροσκοπίου. Το σκεδαζόμενο φως δεν έχει μεγάλη ισχύ, οπότε δεν επηρεάζει το υλικό της συσκευής.



Εικόνα 35: Διάφραγμα πάνω στο μικροσκόπιο. Πριν το φως που σκεδάζεται (αριστερά) βγαίνει έξω από το μικροσκόπιο. Μετά το φως που σκεδάζεται εμποδίζεται και δεν εξέρχεται.

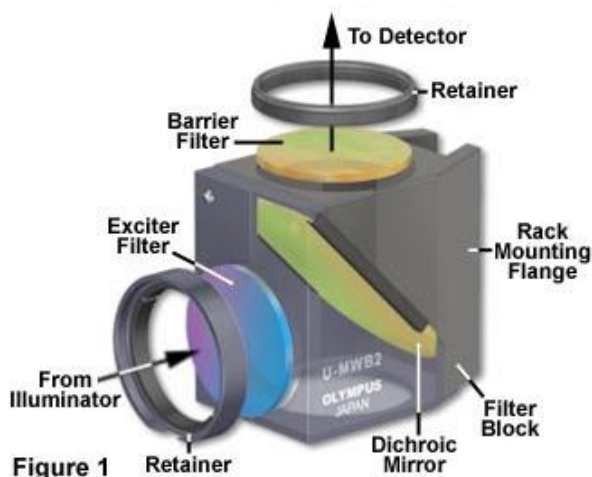
Με τις τελευταίες αλλαγές η συσκευή δουλεύει κανονικά χωρίς διαταραχές στη λειτουργία της. Στην επόμενη ενότητα παρατίθενται φωτογραφίες και επεξηγήσεις για τα σχέδια της συσκευής διαφράγματος. Τα κατασκευαστικά σχέδια παρατίθενται στο παράρτημα.

2.4 Αυτοματοποίηση της Κίνησης του Φορέα των Οπτικών Φίλτρων

Στη συγκεκριμένη ενότητα περιγράφεται ο σχεδιασμός της συσκευής, η οποία μετακινεί τον φορέα με τα οπτικά φίλτρα (Εικόνα 36). Τα φίλτρα (emission, dichroic, excitation) στεγάζονται σε έναν κύβο (filter cube)(Εικόνα 37). Στη συγκεκριμένη εφαρμογή έχουμε 4 filter cubes. Αυτά εδράζονται σε ένα φορέα. Ο φορέας είναι τοποθετημένος πάνω στο μικροσκόπιο. Η κίνηση του γίνεται χειροκίνητα. Σε κάθε θέση φίλτρου υπάρχει μια εγκοπή πάνω στο φορέα. Όταν φτάσει στην επιθυμητή θέση τότε ένα ελατήριο, το οποίο βρίσκεται στο εσωτερικό του μικροσκοπίου, εγκλωβίζει το φορέα. Με αυτό το τρόπο σταθεροποιείται στην επιθυμητή θέση.



Εικόνα 36: Φορέας οπτικών φίλτρων



Εικόνα 37: Κύβος με τα οπτικά φίλτρα. (φίλτρο εκπομπής, διχρωμικό, φίλτρο διέγερσης) Πηγή: www.olympusmicro.com

Στην εισαγωγή έχει αναφερθεί η ανάγκη χρήσης φθορίζουσων ουσιών στις μικροσκοπικές απεικονίσεις και ο τρόπος λειτουργίας τους. Οι φθορίζουσες ουσίες που χρησιμοποιούνται, εκπέμπουν σε διάφορα μήκη κύματος. Το μήκος κύματος πρέπει να ανήκει μέσα στο φάσμα των φίλτρων που το απεικονίζουν. Κάθε φίλτρο έχει διαφορετικό μήκος φάσματος. Σε μερικές περιπτώσεις μπορούν να απεικονιστούν 2 φθορίζουσες ουσίες μέσα από ένα φίλτρο.

Στόχος είναι η δημιουργία ενός ελαφρού και απλού συστήματος, που θα εδραθεί πάνω στο μικροσκόπιο και θα ελέγχεται αυτόματα από τον χρήστη.

2.4.1 Ανάγκη για Αυτοματοποίηση

Στόχος του αυτοματοποιημένου μικροσκοπίου είναι η απεικόνιση πολλών δειγμάτων σε σύντομο χρονικό διάστημα. Σε μικροσκοπία φθορισμού χρησιμοποιούνται εκτεταμένα τα αυτοματοποιημένα μικροσκόπια και είναι πολύ σημαντικό να μπορεί ο φορέας των οπτικών φίλτρων να ελέγχεται ηλεκτρονικά. Τα δείγματα, τις περισσότερες φορές, αναμιγνύονται με παραπάνω από μια φθορίζουσα

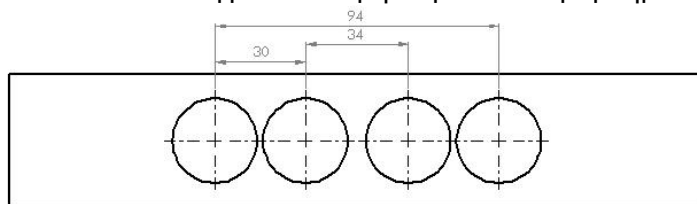
ουσία. Κάθε ουσία προσκολλάται σε διαφορετικά σημεία του δείγματος και δίνει διαφορετική πληροφορία. Προκειμένου να ληφθούν όσο το δυνατόν περισσότερες πληροφορίες από το δείγμα μας, πρέπει να απεικονιστούν όλες οι φθορίζουσες ουσίες. Έτσι, όταν απεικονίζεται ένα σημείο ενός δείγματος, ο χρήστης αλλάζει χειροκίνητα τα φίλτρα, ώστε να συλλέγονται όλες οι διαθέσιμες πληροφορίες. Αυτή η διαδικασία είναι χρονοβόρα, ειδικά σε περιπτώσεις, όπου τα δείγματα είναι σε πλάκες με πολλά πηγάδια. Σε αυτές τις περιπτώσεις πρέπει να ληφθούν πάρα πολλές εικόνες πράγμα το οποίο είναι αδύνατο να γίνει χειροκίνητα. Γεννάται λοιπόν η ανάγκη της αυτοματοποίησης του φορέα των φίλτρων.

Με ένα αυτοματοποιημένο σύστημα θα γινόταν αρκετά πιο γρήγορα η λήψη των δεδομένων και παράλληλα, δεν θα χρειαζόταν ο χρήστης να είναι παρών. Η αυτοματοποίηση πρέπει να γίνει όμως με βάση κάποιες προδιαγραφές, η οποίες αναλύονται στην παρακάτω ενότητα.

2.4.2 Προδιαγραφές

Για τις προδιαγραφές του συστήματος ελέγχθηκε η κίνηση του υπάρχοντος φορέα και προέκυψαν τα εξής:

- 4 διακριτές θέσεις (4 filter cubes). Οι αποστάσεις μεταξύ του κάθε φίλτρου φαίνονται στην Εικόνα 38.
- Ταχύτητα. Η ταχύτητα μετάβασης από το ένα φίλτρο στο άλλο, μεταξύ των γειτονικών φίλτρων θα πρέπει να είναι μικρότερη από 0.6 δευτερόλεπτα.
- Η συνολική απόσταση από το πρώτο στο τελευταίο φίλτρο είναι 94mm. Επομένως ο μηχανισμός πρέπει να έχει δυνατότητα κίνησης 94mm.
- Ευθύγραμμη κίνηση αριστερά και δεξιά. Πρέπει να υπάρχει δυνατότητα να πηγαίνει σε όλες τις θέσεις ανά πάσα στιγμή.
- Δύναμη που απαιτείται για μετακίνηση του φορέα των φίλτρων: 5 N
- Έδραση πάνω στο μικροσκόπιο. Καθώς ο φορέας βρίσκεται πάνω στο μικροσκόπιο, είναι απαραίτητο η συσκευή να στερεώνεται πάνω σε αυτό.
- Ταχύτητα. Η ταχύτητα μετάβασης από το ένα φίλτρο στο άλλο, μεταξύ των γειτονικών φίλτρων θα πρέπει να είναι μικρότερη από 0.6 δευτερόλεπτα.
- Ελαφριά κατασκευή. Οποιαδήποτε επιπλέον μέρος που προστίθεται πάνω στο μικροσκόπιο πρέπει να είναι ελαφρύ και να μην προκαλεί προβλήματα στο χειρισμό του.



Εικόνα 38: Φορέας φίλτρων. Αποστάσεις μεταξύ των φίλτρων

2.4.3 Εννοιολογικός Σχεδιασμός

Για την ικανοποίηση των προδιαγραφών απαιτείται η δημιουργία ενός συστήματος που θα ελέγχει την θέση του φορέα των φίλτρων. Ένα τέτοιο σύστημα πρέπει να έχει τις ακόλουθες λειτουργίες:

1. Εδράζεται στέρεα στο μικροσκόπιο.
2. Κινεί ευθύγραμμα τον φορέα των οπτικών φίλτρων σε καθορισμένες θέσεις.
3. Παρέχει πληροφορίες σχετικά με την θέση του φορέα κάθε χρονική στιγμή και αρχικοποιεί την θέση του φορέα.

Με βάση τις απαιτούμενες βασικές λειτουργίες του συστήματος και τη διαθεσιμότητα των εξαρτημάτων και υλικών, πάρθηκαν αποφάσεις για την έδραση της συσκευής, τον επενεργητή, το

υλικό κατασκευής, το μηχανισμό κίνησης και τον έλεγχο λειτουργίας, οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά παρακάτω.

2.4.3.1 Έδραση συσκευής

Ο υπάρχων φορέας κινείται μέσα στο μικροσκόπιο σε έναν οδηγό (Εικόνα 39) και ακινητοποιείται στις 4 θέσεις με ένα ελατήριο. Για να μπορεί να γίνει αυτή η διαδικασία αυτόματα πρέπει να στερεωθεί μια συσκευή πάνω στο μικροσκόπιο, η οποία με κάποιο τρόπο θα προσδένεται στο φορέα και θα τον κινεί. Όπως είναι φανερό, η συσκευή θα αποτελείται από ένα σταθερό κομμάτι, το οποίο θα εδράζεται πάνω στο μικροσκόπιο και ένα κινούμενο κομμάτι, το οποίο μπορεί να είναι ένας μηχανισμός που θα κινεί το φορέα. Σε αυτό το σημείο θα μελετηθεί η έδραση της συσκευής.

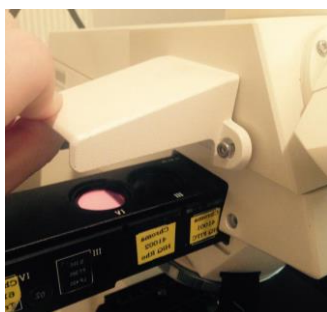


Εικόνα 39: Πλάγια όψη του Μικροσκοπίου που παρουσιάζει τον οδηγό της κίνησης του φορέα των οπτικών φίλτρων, το κάλυμμα για τη σκόνη και οι δύο βίδες που συγκρατούν το κάλυμμα

Σχετικά με την έδραση του σταθερού κομματιού της συσκευής στο μικροσκόπιο, προτάθηκαν δύο λύσεις:

1. Στερέωση σε υπάρχουσες βίδες. Παρατηρήθηκε ότι στην αριστερή και τη δεξιά μεριά του μικροσκοπίου υπάρχουν καλύμματα, τα οποία προστατεύουν τα φίλτρα από τη σκόνη (Εικόνα 39, Εικόνα 40). Αυτά τα καλύμματα στερεώνονται σε 2 βίδες πάνω στο μικροσκόπιο. Για την έδραση την νέας συσκευής πάνω στο μικροσκόπιο μπορούν χρησιμοποιηθούν αυτές οι δύο βίδες της μίας μεριάς.
2. Μια δεύτερη επιλογή είναι να κατασκευαστεί μια συσκευή που θα στερεώνεται επίσης εξωτερικά του μικροσκοπίου από τα αριστερά και τα δεξιά και θα έχει σχήμα 'Π'. Η συσκευή αυτή θα στερεώνεται στο κορμό του μικροσκοπίου.

Η δεύτερη επιλογή θα είχε νόημα, εάν η δύναμη που θα έπρεπε να ασκηθεί ήταν μεγάλη. Στη συγκεκριμένη εφαρμογή η δύναμη που απαιτείται για την μετακίνηση του φορέα είναι μικρή (5N). Επίσης η δεύτερη είναι πολύ ογκώδης λύση και δύσκολη στη τοποθέτηση. Το μικροσκόπιο έχει δύσκολη γεωμετρία στο πάνω μέρος και τα πλαϊνά και ίσως η στερέωση αποδειχθεί αδύνατη. Αντίθετα, η πρώτη λύση χρησιμοποιεί βίδες, που προσδίδουν στην εγκατάσταση μια καλή σταθερότητα και είναι πολύ πιο ελαφριά κατασκευή. Έτσι λοιπόν επιλέχθηκε η συσκευή να εγκατασταθεί στις δύο βίδες που χρησιμοποιούνται για τα καλύμματα του φορέα από την αριστερή πλευρά του μικροσκοπίου Εικόνα 40.



Εικόνα 40: Κάλυμμα φορέα οπτικών φίλτρων

Σε ότι αφορά το κινούμενο μέρος, πρέπει να βρεθεί ένας τρόπος, αυτό να συνδέεται με το φορέα, ώστε να μπορεί να τον κινεί. Ο φορέας κινείται προς δύο κατευθύνσεις, οπότε πρέπει το κινούμενο μέρος να είναι καλά στερεωμένο πάνω στο φορέα. Για να επιτευχθεί αυτή η λειτουργία, η αρχική ιδέα

ήταν η δημιουργία ενός σφιγκτήρα που συνδέεται με το κινούμενο μέρος και θα σφίγγει το φορέα. Κατά τη μελέτη αυτής της λύσης διαπιστώθηκε ότι στο κάτω μέρος του φορέα υπάρχει ένα κάλυμμα το οποίο συγκρατεί τα φίλτρα στη θέση τους. Το κάλυμμα αυτό στερεώνεται με δύο βίδες, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την έδραση του μηχανισμού κίνησης. Έτσι αποφασίστηκε τελικά να χρησιμοποιηθεί μια εκ των δύο αυτών βιδών (M3) για την στερέωση του κινούμενου μέρους. Με αυτό το τρόπο δεν θα «τραυματιστεί» ο φορέας και δεν θα υπάρχει κίνδυνος να γλιστρήσει ο σφιγκτήρας.

2.4.3.2 Ευθύγραμμη κίνηση φορέα

Η βασική λειτουργία που πρέπει να ικανοποιεί η παραπάνω συσκευή, είναι η κίνηση του φορέα στις διάφορες θέσεις. Για να γίνει αυτό πρέπει να οριστεί ένας μηχανισμός, ο οποίος θα κινείται από έναν κινητήρα. Το κόστος ενός γραμμικού επενεργητή με το εύρος κίνησης που απαιτεί η συγκεκριμένη εφαρμογή είναι αρκετά μεγάλο (περίπου 60€). Επομένως πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένας περιστροφικός κινητήρας, ο οποίος θα κινεί το μηχανισμό και μαζί το φορέα. Για την επιλογή του μηχανισμού κίνησης και του επενεργητή, γίνεται αναφορά στις επόμενες υποενοότητες.

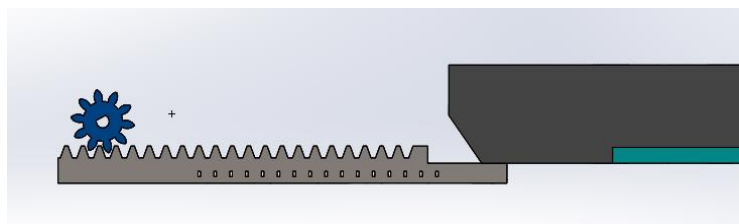
2.4.3.2.1 Επιλογή μηχανισμού κίνησης

Υπάρχουν πολλά συστήματα μετατροπής της περιστροφικής κίνησης σε γραμμική (κανόνας-πινιόν, Geneva Drive, σύστημα με ιμάντες, κοχλία περικόχλιο, κλπ.). Στη συγκεκριμένη εφαρμογή η γεωμετρία του μικροσκοπίου και του φορέα των φίλτρων περιορίζει αρκετά τις επιλογές κίνησης. Για την εφαρμογή αυτή μελετήθηκαν δύο διαφορετικά συστήματα.

Το πρώτο χρησιμοποιεί την μέθοδο κανόνα-πινιόν και το δεύτερο τη μέθοδο Geneva drive με τέσσερις διακριτές θέσεις. Και οι δύο αυτές μέθοδοι αναλύθηκαν στο εδάφιο 2.3.3.. Ο μηχανισμός Geneva Drive θα ήταν πολύ χρηστικός για αυτή την εφαρμογή, καθώς μπορεί εύκολα να δουλέψει σε 4 διακριτές θέσεις και θα έχει μεγάλη επαναληψιμότητα. Ένας τέτοιος μηχανισμός όμως δεν μπορεί να βρεθεί στην αγορά εύκολα και το κόστος του θα ήταν αρκετά υψηλό. Το ίδιο ισχύει και για τον μηχανισμό κανόνα-πινιόν. Ο μηχανισμός αυτός, επειδή χρησιμοποιείται συνήθως για μεγαλύτερο εύρος κίνησης, είναι δύσκολο να βρεθεί στις διαστάσεις, που χρειάζεται. Έτσι αποφασίστηκε, ο μηχανισμός που θα χρησιμοποιηθεί, να κατασκευαστεί στο εργαστήριο.

Επομένως το κριτήριο επιλογής πλέον είναι η ευκολία της κατασκευής του. Ο μηχανισμός κανόνα πινιόν είναι εύκολο να σχεδιαστεί με το πρόγραμμα SolidWorks, καθώς υπάρχουν έτοιμες βιβλιοθήκες. Αντίθετα ο μηχανισμός Geneva Drive είναι πιο δύσκολος στη κατασκευή. Χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή στην κατασκευή του δίσκου με του πύρους που θα συνδέονται πάνω στο κινητήρα και μεγάλη ακρίβεια στην κατασκευή του κανόνα με της εγκοπές. Έτσι αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί ο μηχανισμός κανόνα πινιόν.

Ο κανόνας πρέπει να ολισθαίνει στο σταθερό κομμάτι και να συνδέεται με το φορέα οπτικών φίλτρων (Εικόνα 41). Όταν το πινιόν κινεί το κανόνα, θα κινείται μαζί και ο φορέας. Το πινιόν είναι συνδεδεμένο με τον κινητήρα.



Εικόνα 41: Μηχανισμός κανόνα πηνιόν συνδεδεμένος με το φορέα οπτικών φίλτρων

2.4.3.2.2 Επιλογή επενεργητή

Προκειμένου να μπορεί να κινηθεί ο μηχανισμός, είναι αναγκαίος ένας επενεργητής. Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι επενεργητών. Επειδή μελετάμε μια εφαρμογή με σχετικά μικρό φορτίο, αποκλείονται οι DC κινητήρες, οι οποίοι χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές με μεγάλα φορτία και είναι αρκετά ακριβοί. Οι δύο τύποι κινητήρων που θα ελεγχθούν είναι οι σερβοκινητήρες και οι βηματικοί κινητήρες. Για την επιλογή ανάμεσα σε αυτούς πρέπει να λάβουμε υπόψη 3 κριτήρια: i) τη δύναμη που απαιτείται, ii) το εύρος κίνησης και iii) την ταχύτητα.

Η δύναμη που απαιτείται για να μετακινηθεί ο φορέας των φίλτρων από τη συγκράτηση του ελατηρίου, είναι 5N. Προκειμένου να μην υπάρξουν καθυστερήσεις που θα οδηγήσουν σε κόλλημα του κινητήρα, πολλαπλασιάζεται η δύναμη αυτή με ένα συντελεστή 1,4. Οπότε η δύναμη που θα πρέπει να μπορεί να ασκήσει ο κινητήρας είναι 7N. Για την επιλογή του κινητήρα πρέπει να υπολογιστεί η ροπή της δύναμης. Η ροπή υπολογίζεται ως η δύναμη που πρέπει να ασκηθεί επί την κάθετη απόσταση από το κέντρο του πινιόν (ακτίνα). Για πινιόν διαμέτρου 25 mm η αναγκαία ροπή είναι:

$$\tau = 7N \times 0.0125m = 0.0875 \text{ N} \cdot m$$

Επομένως, πρέπει ο κινητήρας να μπορεί να διαθέσει τουλάχιστον 0.0875 Nm. Δεύτερο κριτήριο είναι το εύρος κίνησης. Αυτό είναι δεδομένο από τις απαιτήσεις του συστήματος και είναι 94mm. Το τελευταίο κριτήριο είναι η ταχύτητα με την οποία πρέπει να αλλάζει τις θέσεις των φίλτρων. Δεδομένου ότι θα παίρνονται πολλές μετρήσεις για τα φίλτρα, ο κινητήρας πρέπει να επιταχύνει γρήγορα, ώστε να αποκτά την επιθυμητή ταχύτητα, σε μικρό χρονικό διάστημα. Για να το καταφέρει αυτό, θα πρέπει να έχει διαθέσιμη ισχύ αρκετά μεγαλύτερη από αυτή που απαιτείται. Το ακριβές μέγεθος της ταχύτητας θα μας απασχολήσει παρακάτω στον λεπτομερή σχεδιασμό.

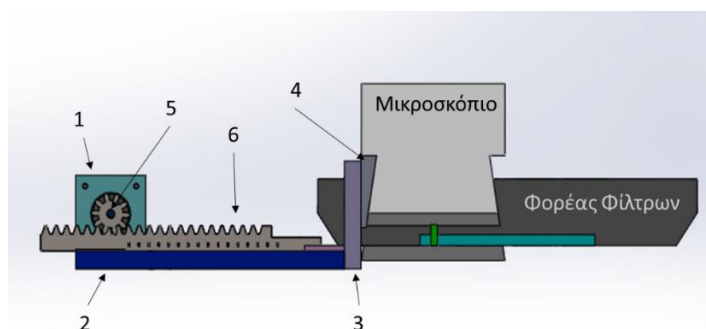
Με βάση τα παραπάνω στοιχεία πρέπει να επιλεχθεί ο τύπος του κινητήρα. Σε ότι αφορά τους σερβοκινητήρες, δεν μπορούν όλα τα μοντέλα να ικανοποιήσουν τις παραπάνω απαιτήσεις. Οι περισσότεροι σερβοκινητήρες έχουν περιορισμένο εύρος κίνησης. Ένας σέρβο με διάμετρο πινιόν, για παράδειγμα, 25 mm μπορεί να διανύσει 78.5 mm με μία περιστροφή, όπως προκύπτει από τη σχέση $S = 2 * \pi * R$. Για να μπορέσει ο κινητήρας να διανύσει 94 mm σε μία περιστροφή χρειάζεται πινιόν διαμέτρου περίπου 30mm. Όμως οι σερβοκινητήρες είναι κατασκευασμένοι με τέτοιο τρόπο, ώστε να μην μπορούν να εκτελέσουν πλήρη η συνεχή περιστροφή. Επομένως για να μπορέσουν να ικανοποιήσουν τις απαιτήσεις κίνησης θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί μεγάλο πινιόν. Για παράδειγμα ένας σερβοκινητήρας με γωνία κίνησης 180°, προκειμένου να μπορέσει με μια περιστροφή να κινήσει το φορέα 94mm, πρέπει να έχει διάμετρο πινιόν 60mm (από σχέση: $S = \pi * D/2$). Το μέγεθος αυτό είναι αρκετά μεγάλο. Το πιο σημαντικό προτέρημα των σερβοκινητήρων είναι ότι έχουν ενσωματωμένο έλεγχο θέσης. Κάθε φορά που μπαίνουν σε λειτουργία ξεκινάνε πάντα από το ίδιο σημείο. Επομένως δεν χρειάζεται αρχικοποίηση. Αντίθετα έχουν ένα πολύ σημαντικό μειονέκτημα. Όταν βρίσκονται σε λειτουργία, εάν για κάποιο λόγο μετακινηθεί ο σέρβο χειροκίνητα, δεν μπορεί να το αντιληφθεί και χάνει τη θέση του.

Οι βηματικοί κινητήρες διατίθενται σε πολλά μεγέθη, δεν έχουν περιορισμό κίνησης και βγάζουν συγκριτικά μεγαλύτερη ροπή από τους σερβοκινητήρες. Μεγάλο πλεονέκτημά τους είναι ότι μπορούν να κρατήσουν την θέση τους όσο είναι σε λειτουργία, αν δεν τους ασκηθεί μεγαλύτερη ροπή από τη ροπή συγκράτησης. Τα μειονεκτήματα των βηματικών είναι ότι δεν έχουν έλεγχο θέσης και ότι σε περιπτώσεις που επιταχύνεται γρήγορα ο κινητήρας ή η ροπή που πρέπει να ασκηθεί είναι μεγαλύτερη από αυτή που μπορεί, ενδέχεται να χαθούν βήματα. Σε ότι αφορά τα χαμένα βήματα, μπορούν εύκολα να αποφευχθούν εάν γίνει σωστός

προγραμματισμός και επιλογή κινητήρα. Για τον έλεγχο θέσης πρέπει να χρησιμοποιηθούν εξωτερικά συστήματα ελέγχου (encoders, sensors). Αντίθετα με τους σερβοκινητήρες, οι βηματικοί όταν ενεργοποιούνται ξεκινάνε από την τελευταία θέση που μετακινήθηκαν. Δηλαδή αν κάποιος το μετακινήσει όσο δεν είναι εν λειτουργία, τότε κατά την εκκίνηση του κινητήρα δεν θα πάει στην αρχική θέση, αλλά στη θέση που μετακινήθηκε. Για αυτό το λόγο πρέπει με κάποιο διακόπτη να αρχικοποιείται η θέση του κινητήρα κάθε φορά που αυτός τίθεται σε λειτουργία.

Τελικά αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί βηματικός κινητήρας με έλεγχο θέσης. Με αυτό το τρόπο όσο είναι σε λειτουργία ο κινητήρας δεν θα μπορεί να κινηθεί από εξωτερική δύναμη ο φορέας. Επίσης θα περιοριστεί το μέγεθος της συσκευής.

Αφού διατυπώθηκαν τα βασικά χαρακτηριστικά της συσκευής μετακίνησης των οπτικών φίλτρων, μπορεί να γίνει ένας αρχικός σχεδιασμός της. Όπως ήδη έχει αναφερθεί, αυτή χωρίζεται από δυο μέρη. Το σταθερό μέρος αποτελείται από το στήριγμα κινητήρα (Εικόνα 42 - 1), το στήριγμα κανόνα (Εικόνα 42 - 2), το στήριγμα συσκευής πάνω στο μικροσκόπιο (Εικόνα 42 - 3) και το κομμάτι για ευθυγράμμιση της συσκευής (Εικόνα 42 - 4-γκρι). Το κινούμενο μέρος, δηλαδή ο μηχανισμός κίνησης, αποτελείται από το πινιόν (Εικόνα 42 - 5) και τον κανόνα (Εικόνα 42 - 6). Τα επιμέρους κομμάτια της συσκευής (αδιαστατοποιημένα) φαίνονται στην Εικόνα 42.



Εικόνα 42: Αναπαράσταση Συσκευής Μετακίνησης Φορέα Οπτικών Φίλτρων

2.4.3.3 Έλεγχος θέσης

Αφού έχει επιλεγθεί η βασική πορεία κατασκευής της συσκευής, πρέπει σε αυτό το σημείο να μελετηθεί ο τρόπος, με τον οποίο θα γίνει ο έλεγχος θέσης της. Το σύστημα ελέγχου αποτελείται από δυο μέρη. Το πρώτο είναι η αρχικοποίηση, δηλαδή η δυνατότητα κάθε φορά που ξεκινάει το πρόγραμμα, να βρίσκει την αρχική θέση. Ο κινητήρας, ανάλογα με τον έλεγχο ταχύτητας και θέσης, και την ακρίβεια που απαιτείται, πρέπει να είναι συνδεδεμένος με κάποιο σύστημα ανάδρασης. Το δεύτερο μέρος είναι ο έλεγχος της τρέχουσας θέσης, δηλαδή η δυνατότητα να γνωρίζει το πρόγραμμα σε ποιά θέση βρίσκεται, ώστε να υπολογίζει που πρέπει να πάει.

Με τη χρήση του βηματικού κινητήρα δεν χρειάζεται να γίνει έλεγχος της τρέχουσας θέσης. Όπως ειπώθηκε και προηγουμένως, οι βηματικοί κινητήρες έχουν το θετικό, ότι όταν βρίσκονται σε λειτουργία δεν μπορούν να κινηθούν, παρά μόνο εάν ασκηθεί μεγαλύτερη ροπή από τη ροπή συγκράτησης. Με κατάλληλο προγραμματισμό κινητήρα μπορεί να ξέρει ανά πάσα στιγμή τη θέση του και πόσο απέχει από τη θέση στόχο.

Στη συγκεκριμένη εφαρμογή, η συσκευή θα στερεωθεί πάνω στο μικροσκόπιο και θα προεξέχει από τη μια πλευρά. Με αυτόν τον τρόπο είναι πιθανό, κάποιος κατά λάθος να ασκήσει δύναμη στο μηχανισμό και να του αλλάξει θέση. Για αυτό το λόγο προτιμήθηκε να χρησιμοποιηθεί κάποια μορφή ελέγχου. Πρωτού επιλεγεί ποια μέθοδος ελέγχου θα χρησιμοποιηθεί πρέπει να γίνει μια μικρή εισαγωγή για τα συστήματα ελέγχου.

Στις περισσότερες εφαρμογές ο έλεγχος γίνεται με τη χρήση κωδικοποιητών. Οι κωδικοποιητές είναι εξωτερικά εξαρτήματα τα οποία ενώ κινείται κινητήρας, μπορούν να μετρούν πόση απόσταση διανύει ή πόσες περιστροφές κάνει. Χωρίζονται σε αθροιστικούς (incremental) και απόλυτους (absolute). Οι μεν έχουν απλή κατασκευή και μπορούν να εντοπίσουν ταχύτητα και φορά περιστροφής και οι δε έχουν πιο περίπλοκη κατασκευή και μπορούν να εντοπίσουν την ακριβή θέση του κινητήρα ανά πάσα στιγμή. Για τη λειτουργία τους παράγουν ηλεκτρικά σήματα, τα οποία επεξεργάζονται από έναν μικροελεγκτή. Τα σήματα αυτά μπορεί να είναι μηχανικά, οπτικά, μαγνητικά και χωρικά.

Η αρχικοποίηση γίνεται συνήθως με τη χρήση αναλογικών κουμπιών. Κάθε φορά που μπαίνει σε λειτουργία ο κινητήρας, θα περιστρέφεται προς μια κατεύθυνση (πχ αριστερά) μέχρι κάποιο σημείο του μηχανισμού να πατήσει το κουμπί. Αυτή θα είναι και η αρχική θέση. Με κατάλληλο προγραμματισμό, μπορεί να γίνει αρχικοποίηση και με άλλες μεθόδους. Για παράδειγμα μπορεί να γίνει με την αξιοποίηση της αρχής λειτουργίας ενός οπτικού κωδικοποιητή. Ο οπτικός κωδικοποιητής είναι ακίνητος, ενώ κινείται ο κινητήρας και παράγει ηλεκτρικά σήματα. Σε κάποιο σημείο του κινούμενου μέρους υπάρχει μια διαμόρφωση με τρύπες. Στο σημείο του άξονα που υπάρχουν τρύπες ο κωδικοποιητής μπορεί να πάρει σήμα και τις αναγνωρίζει. Εάν αυτές οι εγκοπές ισαπέχουν, τότε ξέρει το πρόγραμμα πόση απόσταση έχει διανύσει ο κινητήρας. Αν αλλαχθούν οι αποστάσεις των τελευταίων εγκοπών, τότε μπορεί να καταλάβει ο κωδικοποιητής που είναι η πρώτη θέση. Ενώ δουλεύει ο κινητήρας και πλησιάζει το τελευταίο σημείο, ο κωδικοποιητής θα αναγνωρίσει ότι, οι τελευταίες δυο θέσεις έχουν μεγαλύτερη ή μικρότερη απόσταση μεταξύ τους και θα αρχικοποιήσει το σύστημα εκεί. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται και σε πιο εξελιγμένα συστήματα κωδικοποιητών, τα οποία διατίθενται με διάφορα χαρακτηριστικά, που αφορούν τις δυνατότητες ελέγχου ταχύτητας και θέσης.

Στην αυτοματοποίηση του μικροσκοπίου θα χρησιμοποιηθούν διάφοροι κινητήρες και αισθητήρες. Προκειμένου να μπορεί ένας μικροελεγκτής να διαχειριστεί όλα αυτά τα εξαρτήματα και να υπάρχει χώρος και για άλλα αν χρειαστεί, αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί μόνο ένας αισθητήρας. Αυτός θα κάνει και την αρχικοποίηση και τον έλεγχο θέσης.

2.4.4 Λεπτομερής Σχεδιασμός

Στην προηγούμενη ενότητα παρουσιάστηκε ο εννοιολογικός σχεδιασμός της συσκευής μετακίνησης οπτικών φίλτρων. Σε αυτή την ενότητα θα αναλυθούν τα σχέδια και οι κατεργασίες που έγιναν, προκειμένου να υλοποιηθούν οι παραπάνω λειτουργίες.

Βασικό κριτήριο για τον σχεδιασμό και την κατασκευή είναι η επιλογή του υλικού. Σε ότι αφορά το σταθερό κομμάτι επιλέχθηκε να κατασκευαστεί από plexiglass. Είναι ένα υλικό ελαφρύ, σχετικά άκαμπτο και μπορεί εύκολα να κατεργαστεί. Για τη συγκεκριμένη εφαρμογή χρησιμοποιήθηκε το LaserCutter του εργαστηρίου. Στο μηχάνημα αυτό, όπως διατυπώθηκε και στην ενότητα 2.3.4, μπαίνουν φύλλα με διαστάσεις 300mmX600mm και πάχος από 1 μέχρι 10 mm. Η κοπή γίνεται με δέσμη laser και είναι δισδιάστατη κατεργασία. Επομένως τα σχέδια πρέπει να φτιαχτούν με τέτοιο τρόπο, ώστε να μπορούν να κοπούν σε αυτό. Το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για το σχεδιασμό της συσκευής μετακίνηση του φορέα είναι το Solidworks 2014.

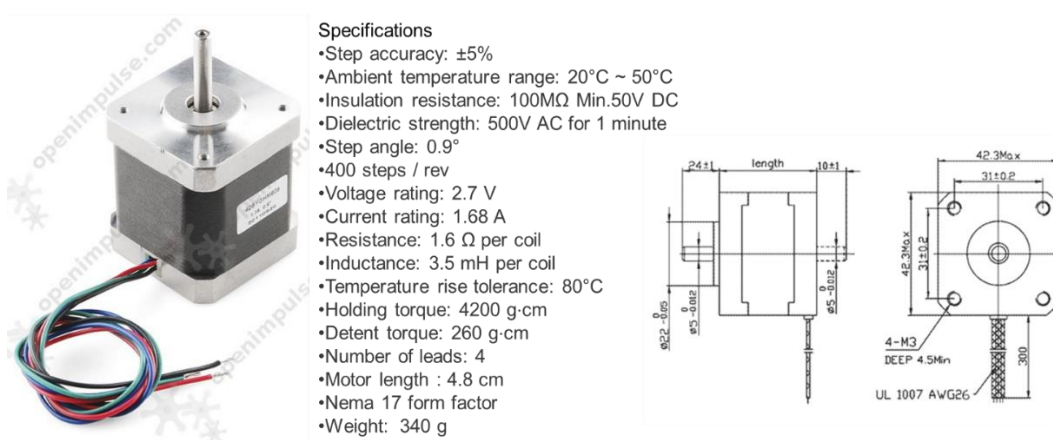
Προτού ξεκινήσει ο τελικός σχεδιασμός των επιμέρους κομματιών, πρέπει να αποφασιστούν: i) τι κινητήρας θα χρησιμοποιηθεί και ii) πως θα γίνει ο έλεγχος θέσης.

2.4.4.1 Επιλογή κινητήρα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί θα χρησιμοποιηθεί βηματικός κινητήρας. Ανάλογα με το μέγεθος του πηνιόν διακουμάινεται και η ροπή που πρέπει να ασκήσει ο κινητήρας για να μετακινήσει το φορέα.

Ροπή= Δύναμη * Ακτίνα (N*m)	Δύναμη (N)	Ακτίνα (m)
0.035	7	0.005
0.0455	7	0.0065
0.056	7	0.008
0.0665	7	0.0095
0.077	7	0.011
0.0875	7	0.0125

Με βάση τους διαθέσιμους κινητήρες στο εργαστήριο, και την απαιτούμενη ροπή, επιλέχθηκε ο 42BYGHM809, σχήμα 39.



Εικόνα 43: Βηματικός κινητήρας 42BYGHM809 και χαρακτηριστικά του Πηγή: openimpulse.com

Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι τα $4.2\text{kg} \cdot \text{cm} = 0.42 \text{ N}\cdot\text{m}$. Επίσης η ροπή συγκράτησης αντιστοιχεί περίπου στο 70 % της πραγματικής ροπής που μπορεί να βγάλει ο κινητήρας. Η πραγματική ισχύς του συγκεκριμένου κινητήρα είναι περίπου $0.28 \text{ N} \cdot \text{m}$, η οποία είναι υπερδιπλάσια από την απαιτούμενη.

2.4.4.2 Έλεγχος θέσης

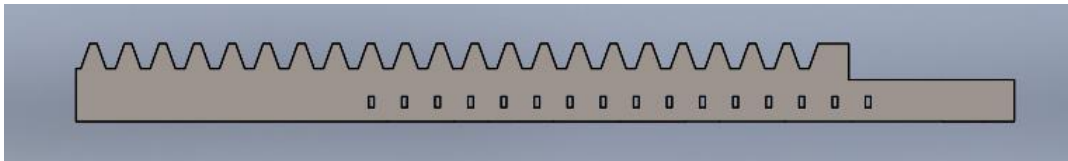
Για τον έλεγχο της τρέχουσας θέσης και την αρχικοποίηση του φορέα επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί ένας αισθητήρας OptoSwitch, Εικόνα 44.



Εικόνα 44: OptoSwitch αισθητήρας

Ο αισθητήρας εκπέμπει από το ένα σκέλος (πομπός) μια δέσμη φωτός, η οποία αναγνωρίζεται από έναν αισθητήρα (δέκτης) στο άλλο σκέλος όσο δεν μεσολαβεί μεταξύ τους κάποιο αντικείμενο, οπότε ο αισθητήρας δίνει σήμα. Όταν μεσολαβεί κάποιο αντικείμενο δίνει σήμα ότι κάτι παρεμβλήθηκε.

Προκειμένου να χρησιμοποιηθεί αυτή η μέθοδος για τον έλεγχο θέσης, γίνεται μια διαμόρφωση με οπές πάνω στον κανόνα. Οι οπές αυτές πρέπει να είναι ίδιου μεγέθους και να ισαπέχουν. Το μέγεθός τους πρέπει να είναι τόσο, ώστε να μπορεί να αναγνωρίζει ο δέκτης τη δέσμη που έρχεται από τον πομπό. Αρχικά δοκιμάστηκαν οπές με διάμετρο 1 mm και ελέγχθηκε η ανταπόκριση του αισθητήρα. Κατά την κίνηση του κανόνα αναγνωρίζονταν οι τρύπες επομένως αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί αυτή η διάμετρος. Με τη μέθοδο αυτή και κατάλληλο προγραμματισμό ελέγχεται η σωστή κίνηση του κανόνα.



Εικόνα 45: Κανόνας με διαμόρφωση με οπές

2.4.4.3 Κώδικας αρχικοποίησης και ελέγχου θέσης

Το πρόγραμμα αποτελείται από διάφορους αλγορίθμους. Ο πρώτος αφορά τον εντοπισμό των οπών. Ο αισθητήρας κατά τη διάρκεια της κίνησης δίνει σήμα ότι κάτι παρεμβάλλεται -ο κανόνας ενδιάμεσα στον πομπό και το δέκτη- εκτός από τις στιγμές που οι οπές αφήνουν τη δέσμη να φτάσουν στο δέκτη. Ο κινητήρας κινείται με σταθερά βήματα (steps). Όταν ανάμεσα στο πομπό και στο δέκτη παρεμβάλλεται οπή, ο αισθητήρας μένει ανοιχτός για συγκεκριμένα βήματα. Για να υπολογιστεί η απόσταση σε βήματα, για την οποία μένει ανοιχτός ο αισθητήρας, χρειάζεται να διατυπωθεί μια σχέση που θα τα σχετίζει με την απόσταση (mm). Αρχικά αυτή η συσχέτιση έγινε με εμπειρικούς τύπους. Ο κινητήρας είναι βηματικός με ευχέρεια 400 βήματα ανά περιστροφή. Ο ελεγκτής χρησιμοποιεί microstepping 1/8, το οποίο σημαίνει, ότι κάθε βήμα χωρίζεται σε 8 μικρότερα βήματα. (η θεωρία microstepping παρουσιάζεται πιο αναλυτικά στο εδάφιο «Επιλογή επενεργητή»). Επομένως χρειάζεται 3200 βήματα για την ολοκλήρωση μιας πλήρους περιστροφής. Στον κινητήρα πάνω είναι στερεωμένο και το πηνιόν με διάμετρο 22mm (Pitch Diameter). Σε μία περιστροφή το πηνιόν μπορεί να διανύσει απόσταση $2 * \pi * r$, που ισούται με την περίμετρο του κύκλου. Με τη μέθοδο των τριών υπολογίζεται, πόσα βήματα χρειάζεται να γίνουν για να διανύσει το σύστημα πηνιόν-κανόνας 1.3 mm.

$$2 * \pi * 11mm \rightarrow 400steps/rev$$

$$1mm \rightarrow x steps/rev$$

Πλέον είναι γνωστά τα βήματα που αντιστοιχούν στις οπές, οπότε με έναν λογικό έλεγχο μπορεί το πρόγραμμα να καταλάβει, εάν υπάρχει οπή και τότε, παίρνοντας δεδομένα από τον αισθητήρα.

Από τις παραπάνω σχέσεις προκύπτει ότι ο κινητήρας χρειάζεται 67 steps για την μετακίνηση 1mm. Επομένως ο αλγόριθμος πρέπει να υπολογίζει, αν η τρύπα είναι τόσα steps. Το OptoSwitch όταν η δέσμη περνάει από μέσα του δίνει σήμα High και όταν κάτι την μπλοκάρει δίνει σήμα Low. Επομένως για την αναγνώριση της τρύπας ο αλγόριθμος υπολογίζει, όσο είναι High ο αισθητήρας, πόσα βήματα γίνονται. Αν αυτά τα βήματα είναι τόσα, όσα έχουμε υπολογίσει παραπάνω τότε αυτή είναι όντως τρύπα. Εάν όχι, βγάζει ένα μήνυμα και επανεκκινεί την λειτουργία του. Προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν σφάλματα για την αναγνώριση της τρύπας δίνεται ένα μεγαλύτερο εύρος μέσα στο οποίο αποδεχόμαστε την μέτρηση. Οπότε $50 < X < 70$ είναι ο κανονικός έλεγχος.

Ο δεύτερος αλγόριθμος αναγνωρίζει την απόσταση των τρυπών. Ξέροντας την απόσταση μεταξύ αυτών (5 mm), υπολογίζεται πόσα βήματα χρειάζονται για να μετακινήσει ο κινητήρας τον κανόνα από την μια τρύπα στην άλλη. Τα 5mm σύμφωνα με την παραπάνω σχέση αντιστοιχούν σε 258 steps.

Επομένως ο αλγόριθμος αυτός χρησιμοποιεί για τον έλεγχο την ανισότητα $240 < X < 270$. Εάν κολλήσει ο κινητήρας ή συμβεί κάτι αναπάντεχο και δεν φτάσει στην οπή στα υπολογισμένα βήματα, ενεργοποιείται ο αλγόριθμος και σταματάει το πρόγραμμα.

Οι δύο παραπάνω αλγόριθμοι σωστά αποτελούν μια απλουστευμένη μέθοδο για έλεγχο θέσης και ομαλής λειτουργίας του συστήματος.

Ο τρίτος αλγόριθμος αφορά την αρχικοποίηση. Η αρχικοποίηση αποτελεί το σημαντικότερο κομμάτι του ελέγχου θέσης. Όταν ξεκινάει η χρήση του μικροσκοπίου, πρέπει να βρει το πρόγραμμα αυτόματα την αρχική θέση. Για να γίνει αυτό χρησιμοποιούνται οι παραπάνω δύο αλγόριθμοι. Όταν το μικροσκόπιο μπαίνει σε λειτουργία, ο κινητήρας ξεκινάει πάντα αριστερόστροφα και ο φορέας πηγαίνει προς τα δεξιά. Όσο αναγνωρίζει ό,τι οι οπές και οι αποστάσεις είναι σωστές, συνεχίζει να κινείται. Περνώντας την τελευταία οπή ο κινητήρας συνεχίζει να δίνει παλμούς. Με τη χρήση του αλγορίθμου που αναγνωρίζει τις αποστάσεις μεταξύ των οπών, καταλαβαίνει ότι έχει ξεπεράσει το επιτρεπτό όριο, οπότε ό,τι δεν υπάρχει άλλη οπή και σταματάει τη λειτουργία του. Στη συνέχεια αλλάζει κατεύθυνση και κινείται μέχρι να βρει την πρώτη οπή, από όπου και αρχικοποιείται στην επιθυμητή θέση. Πάντα η αρχικοποίηση γίνεται στο πρώτο φίλτρο. Μετά την αρχικοποίηση είναι γνωστή η θέση του φορέα και μπορούν να δοθούν εντολές για την μετακίνησή του στις επιθυμητές θέσεις.

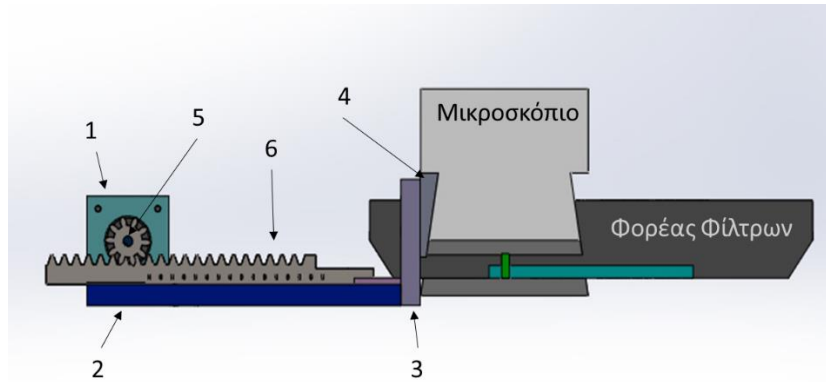
Το τελευταίο κομμάτι του προγραμματισμού αφορά την μετακίνηση του φορέα ανάλογα με το φίλτρο που πρέπει να χρησιμοποιηθεί. Ο αλγόριθμος δέχεται εντολές, είτε από το χρήστη, είτε από κάποιο έτοιμο πρόγραμμα για την αλλαγή των θέσεων και πρέπει να τις μεταφράσει σε κίνηση φίλτρων. Οι αποστάσεις όλων των φίλτρων μεταξύ τους φαίνονται στην Εικόνα 38. Κάθε φορά που ο φορέας βρίσκεται σε μια θέση μπορεί να πάρει 4 εντολές μετακίνησης, που συνδέονται στα 4 φίλτρα. Οι εντολές αυτές εάν δοθούν από το χρήστη, είναι σε μορφή αριθμού (1,2,3,4). Αν δοθεί λανθασμένος αριθμός βγαίνει μήνυμα. Κάθε αριθμός είναι συνδεδεμένος με τις απόλυτες συντεταγμένες μιας θέσης (**Error! Reference source not found.**). Οι συντεταγμένες είναι τα βήματα και οι τρύπες που απέχουν από την πρώτη θέση. Όταν η εντολή μετακίνησης συμπίπτει με το φίλτρο που βρίσκεται εκείνη τη στιγμή, τότε βγαίνει ένα αντίστοιχο μήνυμα. Όταν δίνεται εντολή να πάει σε μια θέση τότε το πρόγραμμα ελέγχει την τωρινή του κατάσταση και αποφασίζει με βάση της εντολής προς τα που θα κινηθεί και για πόσα βήματα. Με αυτό το τρόπο κάθε φορά που κινείται το φίλτρο, το πρόγραμμα ξέρει σε ποιες συντεταγμένες πρέπει να πάει.

Πίνακας 4: Συντεταγμένες θέσης φίλτρων

Θέση φίλτρου	1	2	3	4
Βήματα	0	1496	3355	4851
# οπών	0	5	12	19

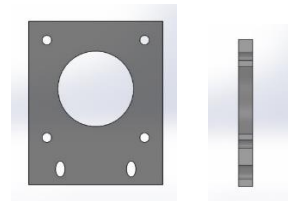
Με τον συνδυασμό αυτών των αλγορίθμων δημιουργείται ένα πρόγραμμα το οποίο ελέγχει τη θέση του φορέα οπτικών φίλτρων.

Στο σημείο αυτό, και αφού πρώτα έχει γίνει οι επιλογές για: (i) το κινητήρα που θα χρησιμοποιηθεί, (ii) το τρόπο που θα γίνει ο έλεγχος θέσης και (iii) τους αλγόριθμους που θα χρησιμοποιηθούν, μπορεί να ξεκινήσει ο τελικός σχεδιασμός της συσκευής. Όπως διατυπώθηκε στον εννοιολογικό σχεδιασμό, η συσκευή που θα κατασκευαστεί θα έχει τη μορφή της Εικόνας 46. Το σταθερό μέρος αποτελείται από 4 κομμάτια και ο κινούμενος μηχανισμός από 2.



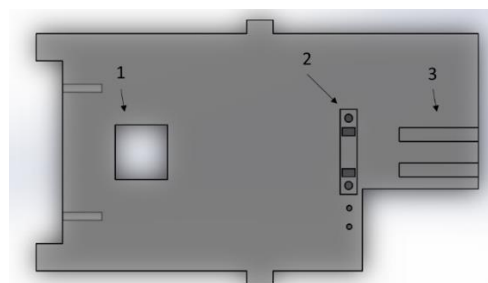
Εικόνα 46: Αναπαράσταση Συσσκευής Μετακίνησης Φορέα Οπτικών Φίλτρων. Στήριγμα κινητήρα (1), στήριγμα κανόνα (2), στήριγμα συσκευής πάνω στο μικροσκόπιο (3) κομμάτι για ευθυγράμμιση της συσκευής (4-γκρι), πινιόν (5), κανόνας (6).

Το πρώτο κομμάτι είναι το στήριγμα του κινητήρα. Οι διαστάσεις του κομματιού αυτού εξαρτώνται από τις διαστάσεις του κινητήρα (Εικόνα 43). Το κομμάτι αυτό σχεδιάστηκε στο Solidworks και κόπηκε από plexiglass πάχους 3mm. Οι 4 τρύπες είναι για την έδραση του κινητήρα. Για την έδραση θα χρησιμοποιηθούν βίδες M3. Η κεντρική τρύπα είναι για να περνάει ο άξονας του κινητήρα. Στον άξονα του κινητήρα είναι στερεωμένο το πινιόν. Η κεντρική τρύπα κατασκευάστηκε μεγαλύτερη από τη διάμετρο του πινιόν, ώστε να μπορεί να συναρμολογείται εύκολα. Οι δύο τρύπες, που βρίσκονται στο κάτω μέρος του τεμαχίου, χρησιμεύουν στην στερέωση του κομματιού πάνω στο δεύτερο κομμάτι. Κατασκευάστηκαν σε οβάλ σχήμα, για να μπορεί να ρυθμιστεί το ύψος του κινητήρα και το πινιόν να μπορεί να συνεργαστεί καλύτερα με τον κανόνα.



Εικόνα 47: Στήριγμα κινητήρα (πρόσοψη & πλάγια όψη)

Το δεύτερο κομμάτι είναι το στήριγμα του κανόνα. Οι διαστάσεις του κομματιού αυτού εξαρτώνται από τις διαστάσεις του κανόνα και την στήριξη στο μικροσκόπιο. Στο κομμάτι αυτό συνδέεται το στήριγμα του κινητήρα, ο αισθητήρας OptoSwitch και το στήριγμα του μικροσκοπίου. Πάνω σε αυτό θα ολισθαίνει ο κανόνας. Επίσης πρέπει να κατασκευαστεί ένας οδηγός για τον κανόνα, ώστε να κρατάει σταθερή πορεία. Το πάχος του κομματιού αυτού είναι 10 mm. Είναι αρκετά παχύ προκειμένου να μπορεί να στηρίξει τον κινητήρα χωρίς να καμφθεί.

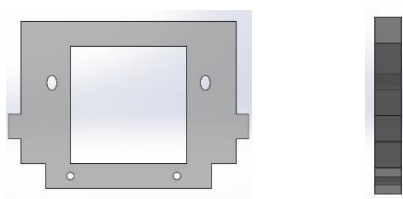


Εικόνα 48: Στήριγμα κανόνα. (1) τρύπα για βίδωμα, (2) διαμόρφωση για OptoSwitch, (3) οδηγός κανόνα

Η τρύπα στην αριστερή μεριά (1) είναι για να βιδωθεί ο κανόνας πάνω στο φορέα οπτικών φίλτρων. Η διαμόρφωση που φαίνεται με το νούμερο 2 είναι για να τοποθετηθεί ο αισθητήρας. Έχει γίνει ποκέτα 6mm, μέσα στην οποία μπαίνει ένα ελαστικό υλικό και από πάνω ο αισθητήρας. Η ποκέτα έγινε με τη

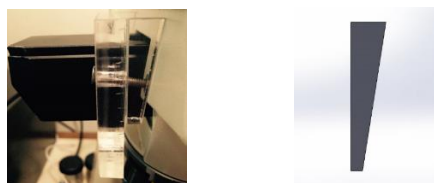
χρήση της φρέζας και κοπτικού εργαλείου διαμέτρου 6 mm. Ο λόγος που χρησιμοποιείται το ελαστικό υλικό, είναι για να ρυθμίζεται το ύψος του αισθητήρα και της δέσμης (του πομπού). Η ρύθμιση του ύψους γίνεται με 2 βίδες οι οποίες στην άκρη τους έχουν παξιμάδια. Οι δύο τρύπες είναι για τις βίδες και τα 2 ορθογώνια για να περάσουν τα καλώδια προς το κάτω μέρος του κομματιού. Με το τρίτο βέλος φαίνεται ο οδηγός του κανόνα. Είναι δύο κομμάτια plexiglass, τα οποία κολλούνται με κόλλα πάνω στο κομμάτι. Στην Εικόνα 48 φαίνεται μια διαμόρφωση στο αριστερό μέρος. Με τη διαμόρφωση αυτή γίνεται καλύτερη στερέωση των δύο κομματιών. Οι διαμορφώσεις πάνω και κάτω θα εξηγηθούν στη συνέχεια.

Το τρίτο κομμάτι είναι το στήριγμα της συσκευής. Οι διαστάσεις του εξαρτώνται από το μέγεθος του φορέα οπτικών φίλτρων και από τις βίδες στήριξης. Πάνω σε αυτό στηρίζεται το δεύτερο, άρα και το πρώτο κομμάτι και ο ρόλος του είναι να στερεώνει τη συσκευή πάνω στο μικροσκόπιο.



Εικόνα 49: Στήριγμα συσκευής πάνω στο μικροσκόπιο

Οι τρύπες στο πάνω μέρος χρησιμεύουν στην στήριξη του κομματιού στο μικροσκόπιο. Οι βίδες είναι M4. Επειδή η επιφάνεια του μικροσκοπίου έχει κλίση στο σημείο αυτό (Εικόνα 50), πρέπει οι βίδες να είναι πλάγια. Στο κάτω μέρος βρίσκονται δύο ακόμα τρύπες, οι οποίες χρησιμεύουν για την στερέωση του δεύτερου κομματιού, στο κομμάτι αυτό. Τελικά πέρα από τις βίδες χρησιμοποιήθηκε και logo στιγμής για καλύτερη έδραση. Όπως βλέπουμε στην Εικόνα 49 υπάρχει μια διαμόρφωση στο κάτω μέρος του τεμαχίου. Όπως περιεγράφηκε και παραπάνω, η διαμόρφωση αυτή χρησιμεύει για την πιο αποτελεσματική κόλληση με το δεύτερο κομμάτι. Οι διαμορφώσεις στο αριστερά και δεξιά μέρος θα εξηγηθούν στη συνέχεια.



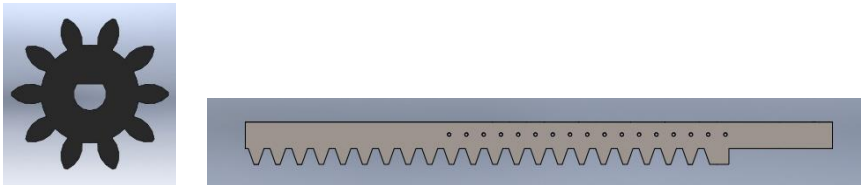
Εικόνα 50: Τρίτο και τέταρτο κομμάτι βιδωμένα στο μικροσκόπιο. Δεξιά: Κομμάτι ευθυγράμμισης

Το τέταρτο κομμάτι είναι το κομμάτι της ευθυγράμμισης. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το μικροσκόπιο έχει κλίση από το αριστερό και δεξί μέρος (Εικόνα 50). Για αυτό το λόγο πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα πρόσθετο κομμάτι, του οποίου η μία πλευρά έχει τη κλίση του μικροσκοπίου και η άλλη του πλευρά είναι κάθετη στο οριζόντιο επίπεδο. Οι διαστάσεις του εξαρτώνται από τη κλίση του μικροσκοπίου. Η δεξιά πλευρά όπως φαίνεται και στην Εικόνα 50 έχει κλίση που είναι ίδια με την κλίση του μικροσκοπίου.

Το πέμπτο κομμάτι είναι πινιόν. Ο μηχανισμός πινιόν-κανόνας πρέπει να έχει το ίδιο module για να μπορέσει να λειτουργήσει. Το μέγεθος του πινιόν επιλέχθηκε να είναι 22 mm. Το module είναι 2 και έχει 10 δόντια. Το πάχος του 8 mm.

Στο κέντρο του πινιόν φτιάχτηκε μια τρύπα για να περνάει ο άξονας του κινητήρα. Το πινιόν σφηνώνει πάνω στον άξονα με παξιμάδι. Το έκτο κομμάτι είναι ο κανόνας. Οι διαστάσεις εξαρτώνται από το πινιόν και από το εύρος κίνησης. Το module όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι 2. Η απόσταση

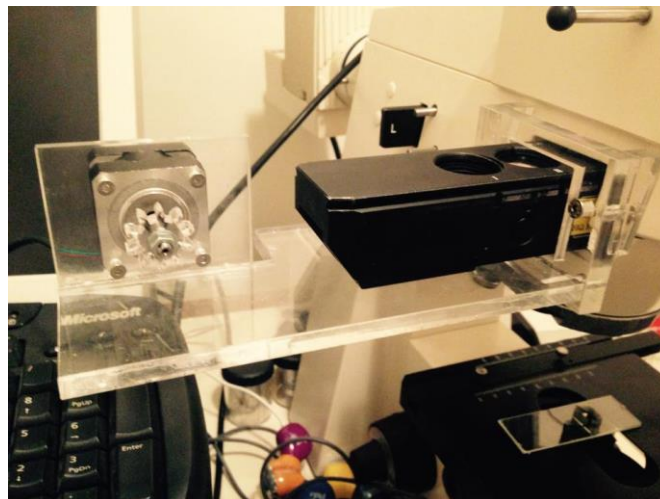
του πρώτου με το τελευταίο φίλτρο είναι 94 mm. Όμως προκειμένου να γίνει έλεγχος θέσης το εύρος κίνησης υπολογίζεται στα 110 mm.



Εικόνα 51: Αριστερά: Πινιόν. Δεξιά: Κανόνας

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 51, έχουν δημιουργηθεί τρύπες για τον έλεγχο θέσης. Οι τρύπες αυτές έχουν διάμετρο 1 mm και απέχουν μεταξύ τους 10 mm. Στην δεξιά μεριά του κανόνα γίνεται μια κάθετη τρύπα για τη σύνδεση με το φορέα. Ο κανόνας, όπως και όλα τα άλλα κομμάτια, κατασκευάστηκαν από plexiglass. Προκειμένου ο αισθητήρας να αναγνωρίζει τον κανόνα, πρέπει να βαφτεί (το plexiglass είναι διάφανο). Μετά από την κατασκευή ο κανόνας βάφτηκε με σπρέι, σε μαύρο χρώμα matt (ART.NR. 28528 RAL9005 MATT DEEP BLACK).

Αφού κατασκευάστηκαν τα παραπάνω κομμάτια, συναρμολογήθηκαν και η τελική συσκευή στερεώθηκε στο μικροσκόπιο (Εικόνα 52) .



Εικόνα 52: Πρωτότυπη Συσκευή πάνω στο μικροσκόπιο χωρίς τον κανόνα

2.4.5 Προγραμματισμός - Συνδεσμολογία

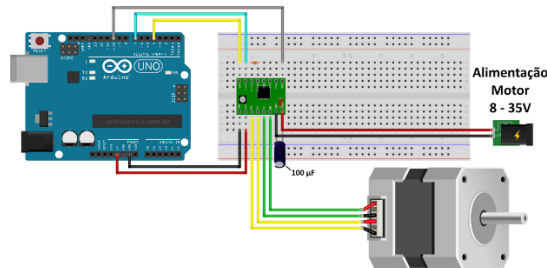
Για τον προγραμματισμό της λειτουργίας της αυτοματοποίησης του φορέα οπτικών φίλτρων χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί ένας βηματικός οδηγός (stepper driver). Στην συγκεκριμένη εφαρμογή χρησιμοποιήθηκε ο οδηγός A4988 της Pololu, που φαίνεται στην Εικόνα 53.



Εικόνα 53: A4988 βηματικός οδηγός (stepper driver) Πηγή: www.pololu.com

Με τη χρήση του γίνεται δυνατός ο έλεγχος του ρεύματος και της τάσης που θα δέχεται ο κινητήρας. Μπορεί να γίνει μικροβηματισμός, όμως σε αυτή την εφαρμογή δεν απαιτείται. Ο οδηγός συνδέεται στον μικροελεγκτή (arduino) και στην κινητήρα.

Για την απεικόνιση της συνδεσμολογίας αυτής της λειτουργίας, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Fritzing. Στην Εικόνα 54 παρουσιάζεται η συνδεσμολογία μεταξύ των εξαρτημάτων της συγκεκριμένης εφαρμογής.



Εικόνα 54: Συνδεσμολογία συστήματος κίνησης φορέα οπτικών φίλτρων Πηγή www.arduinoocia.com

Αριστερά απεικονίζεται ο μικροεπεξεργαστής (Arduino UNO). Όπως παρατηρείται στο σχήμα, υπάρχουν κάποια καλώδια που τον ενώνουν με τον βηματικό οδηγό. Το κίτρινο και μπλε καλώδιο αντιστοιχεί στην λογική πύλη και με αυτά ελέγχονται η κατεύθυνση και τα βήματα αντίστοιχα. Με το γκρι είναι δυνατός ο έλεγχος της ενεργοποίησης του οδηγού. Το κόκκινο και το μαύρο είναι τάση 5V και γείωση και χρησιμοποιούνται για τη λήψη των ψηφιακών σημάτων. Ο βηματικός οδηγός συνδέεται με τάση τροφοδοσίας 12V και με τον βηματικό κινητήρα. Επίσης υπάρχει και ο διακόπτης (OptoSwitch), ο οποίος δεν φαίνεται στο σχήμα και συνδέεται με τον επεξεργαστή. Ο βηματικός οδηγός χρησιμοποιείται, επειδή η τάση του επεξεργαστή δεν αρκεί για την κίνηση του κινητήρα.

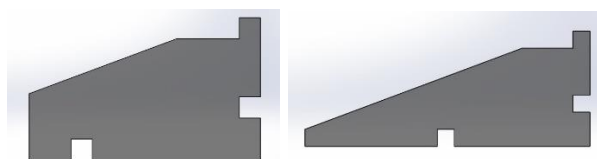
Το τελικό σχέδιο βρίσκεται στο παράρτημα, μαζί με τις συνδέσεις για τις λειτουργίες του διαφράγματος και της αντικειμενοφόρου βάσης

2.4.6 Έλεγχος λειτουργίας

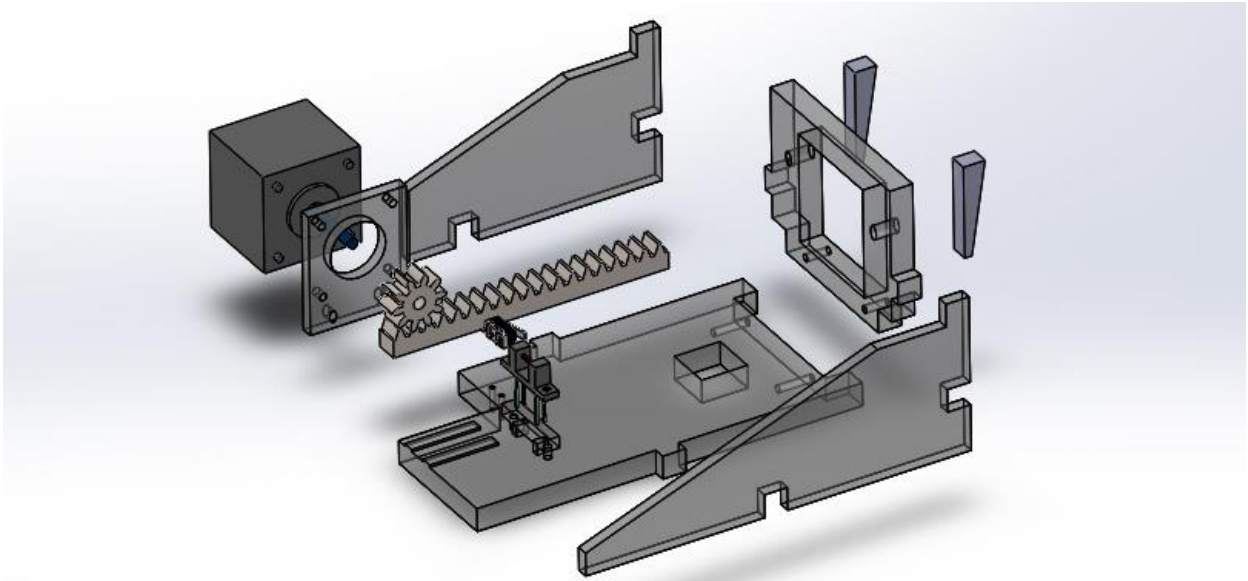
Στον έλεγχο λειτουργίας παρατηρείται η σωστή λειτουργία της συσκευής. Ο σκοπός της συσκευής αυτής είναι η συνεχής λειτουργία της και η συνεχής εναλλαγή θέσεων με σκοπό την απεικόνιση δειγμάτων με χρήση διαφορετικών φίλτρων. Επομένως είναι σημαντικό να μπορεί να λειτουργεί με τον ίδιο τρόπο σε κάθε εναλλαγή φίλτρου και να μην χάνονται οι θέσεις.

Για την αξιολόγηση επιλέχθηκε να γίνει δοκιμή σε 16 τυχαίες μετακινήσεις. Τα κριτήρια αξιολόγησης δεν είναι αυστηρά καθώς δεν απαιτείται μεγάλη ακρίβεια στη θέση. Στο υπάρχον σύστημα υπάρχει ένα ελατήριο το οποίο ασφαλίσει το φορέα στο σωστό σημείο και τον κρατάει ακίνητο. Για την αξιολόγηση του συστήματος απαιτείται κάθε φορά που ο κινητήρας μετακινεί το φορέα, αυτός να ασφαρίζεται με το ελατήριο όταν φτάνει στην επιθυμητή θέση. Παρατηρείται ότι και στις 16 εντολές που δόθηκαν ο φορέας σταμάτησε στη θέση του ελατηρίου. Οπότε ο έλεγχος ήταν επιτυχής.

Αυτό που παρατηρήθηκε κατά τον έλεγχο λειτουργίας είναι ότι η συσκευή που κατασκευάστηκε δεν είναι απόλυτα σταθερή. Για αυτό το λόγο αποφασίστηκε να κατασκευαστούν 2 νεύρα (Εικόνα 55). Τα νεύρα αυτά χρησιμοποιούνται στο αριστερό και δεξιό μέρος της συσκευής και ενώνονται με αυτή με τη χρήση ακρυλικής κόλλας.



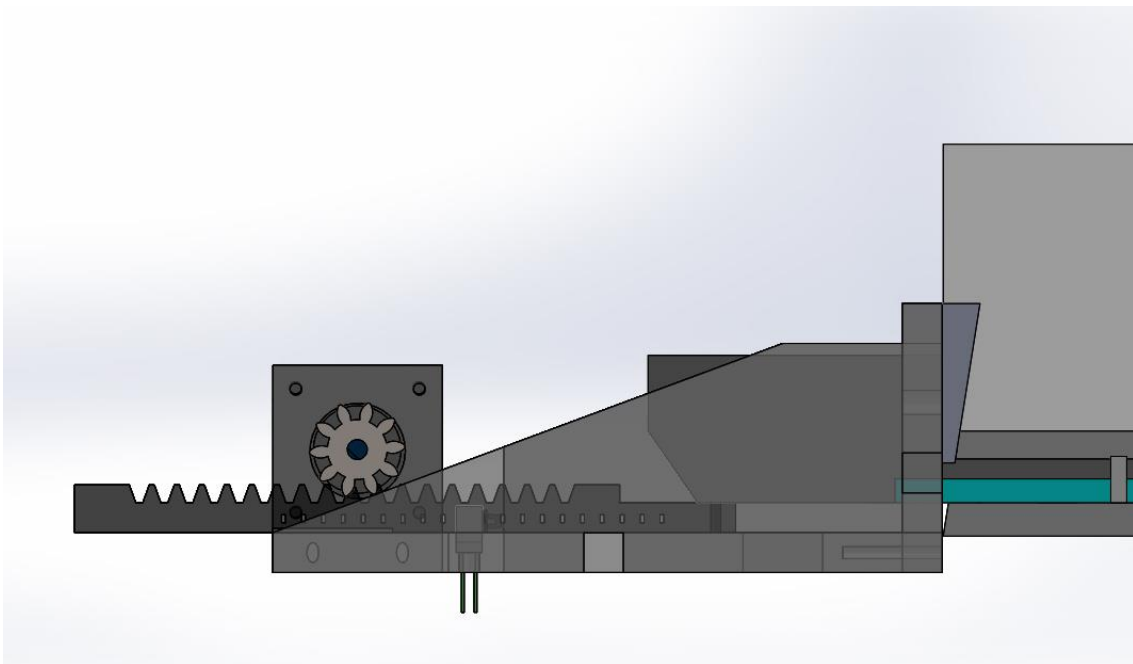
Εικόνα 55: Αριστερό (αριστερά) και δεξί (δεξιά) νεύρο συσκευής



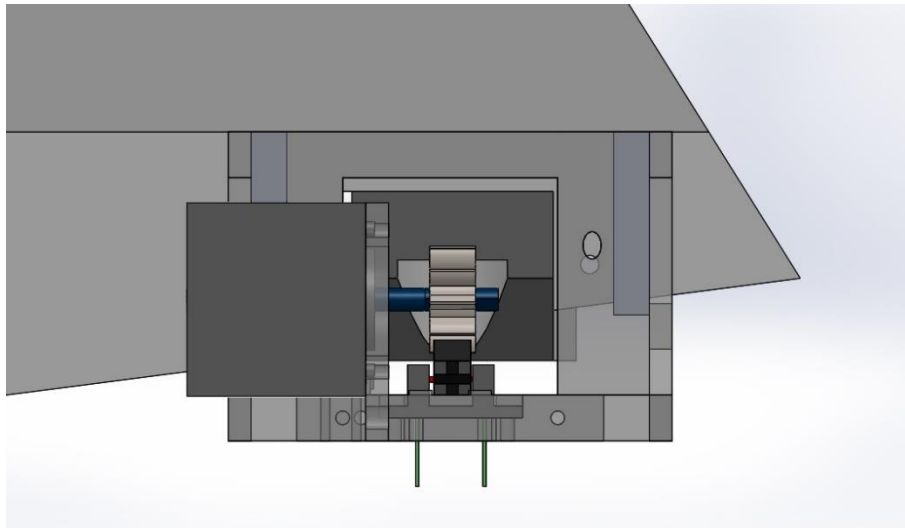
Εικόνα 56: Σχέδιο συσκευής μετακίνησης φορέα φίλτρων σε Exploded View. Σε αυτό το σχέδιο φαίνονται όλα τα εξαρτήματα που παρουσιάστηκαν παραπάνω.

2.4.7 Τελικό Σχέδιο

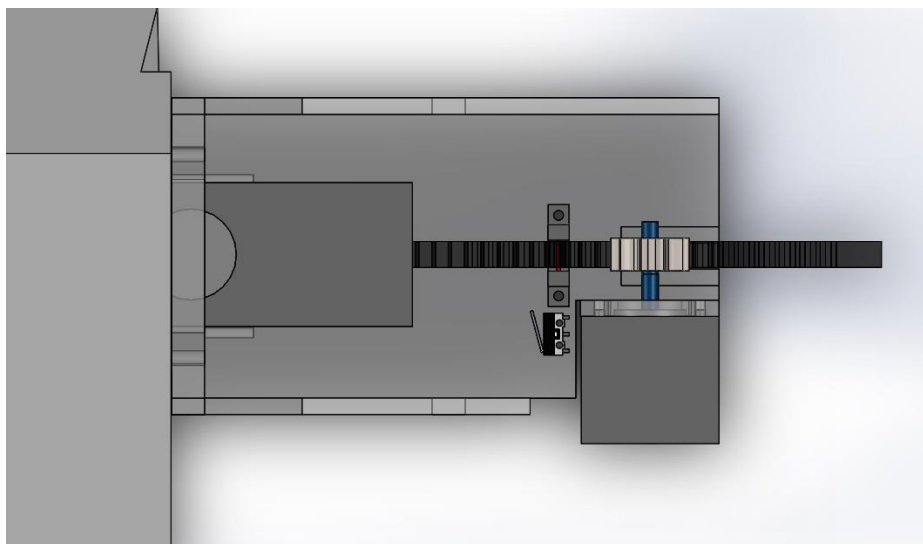
Μετά την προσαρμογή των νεύρων πάνω στη συσκευή, η διάταξη παίρνει την τελική της μορφή, όπως αυτή παρουσιάζεται στις παρακάτω εικόνες.



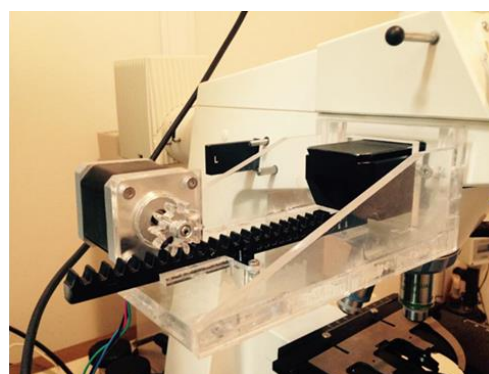
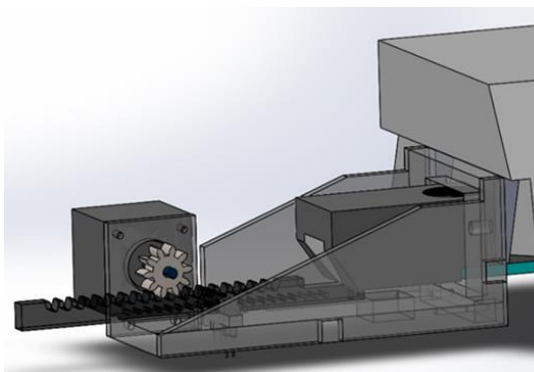
Εικόνα 57: Μπροστά όψη συσκευής



Εικόνα 58: Αριστερά όψη συσκευής



Εικόνα 59: Κάτοψη συσκευής



Εικόνα 60: Συσκευή. Τελική συσκευή πάνω στο μικροσκόπιο

Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα παραπάνω σχέδια έγιναν στο πρόγραμμα Solidworks 2014. Σε κάθε σχέδιο υπάρχουν δύο εξαρτήματα πέρα από τη βασική συσκευή. Αυτά είναι ο φορέας των οπτικών φίλτρων και το πάνω μέρος του μικροσκοπίου, τα οποία κατασκευάστηκαν για βοηθητικούς λόγους.

Μετά την κατασκευή της συσκευής (όπως περιεγράφηκε στην ενότητα «Λεπτομερής Σχεδιασμός»), αυτή τοποθετήθηκε πάνω στο μικροσκόπιο. Η τελική της μορφή παρουσιάζεται στην Εικόνα 60.

2.5 Σχεδιασμός και Αυτοματοποίηση Αντικειμενοφόρου Βάσης

Στη συγκεκριμένη ενότητα περιγράφεται ο σχεδιασμός μια αντικειμενοφόρου βάσης, πάνω στην οποία τοποθετούνται τα δείγματα. Η συσκευή παρέχει την ικανότητα τα δείγματα να κινούνται στο επίπεδο X-Y.

Η Εικόνα 61 παρουσιάζει την αρχική βάση του μικροσκοπίου. Η υπάρχουσα συσκευή κινείται χειροκίνητα προς δύο κατευθύνσεις με δύο μοχλούς που βρίσκονται πάνω της. Τα δείγματα τοποθετούνται στο πάνω μέρος της βάσης και στερεώνεται με 4 βίδες. Σε κάθε άξονα υπάρχει διαβάθμιση ώστε ο χρήστης να μπορεί να παρακολουθήσει το εύρος της κίνησης. Η συσκευή είναι κατασκευασμένη από αλουμίνιο.



Εικόνα 61: Βάση πάνω στο μικροσκόπιο. 1: διαβάθμιση αξόνων, 2: οι 4 τρύπες πάνω στις οποίες στηρίζεται η βάση, 3: διπλός μοχλός, ένας για κίνηση στον X άξονα και ένας για τον Y άξονα, 4: διπλός μοχλός, ένας για γρήγορη κίνηση και ένας για αργή

Σε ότι αφορά τη ρύθμιση του ύψους του δείγματος και της βάσης, υπάρχει ένας περιστροφικός μοχλός στο αριστερό μέρος του μικροσκοπίου. Ο μοχλός χωρίζεται σε δυο μέρη, ένα για γρήγορη ανύψωση και ένα για ελεγχόμενη (Εικόνα 61(4)).

2.5.1 Ανάγκη για αυτοματοποίηση

Όπως έχει αναφερθεί στην εισαγωγή, τα φθορίζοντα μικροσκόπια χρησιμοποιούν το φθορισμό ως μέσο απεικόνισης. Οι απεικονίσεις αυτές παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για τη μορφολογία των κυττάρων και τις ιδιότητές τους. Είναι σημαντικό να γίνεται λήψη φωτογραφιών από πολλά και διαφορετικά σημεία του δείγματος (αν πρόκειται για ένα μεγάλο δείγμα) ή από όσο περισσότερα δείγματα έτσι ώστε να μελετηθεί η απόκριση του ίδιου συστήματος σε πολλές βιολογικές διεγέρσεις.

Ένα εξίσου σημαντικό προτέρημα της αυτοματοποιημένης διάταξης έγκειται στην απεικόνιση ζωντανών οργανισμών. Εάν το μικροσκόπιο μπορεί να εντοπίσει το ίδιο σημείο του δείγματος ξανά και ξανά, τότε θα είναι δυνατή η παρακολούθηση της προόδου της απόκρισης του βιολογικού συστήματος. Έτσι θα γίνεται σύγκριση των συνεχόμενων εικόνων και θα παρατηρούνται οι διαφορές τους, ώστε να βγουν συμπεράσματα. Με την αυτοματοποίηση μπορεί να γίνει πραγματικότητα για παράδειγμα, η τεχνική της επαναλαμβανόμενης παρατήρησης ζωντανών κυττάρων. Η τεχνική αυτή

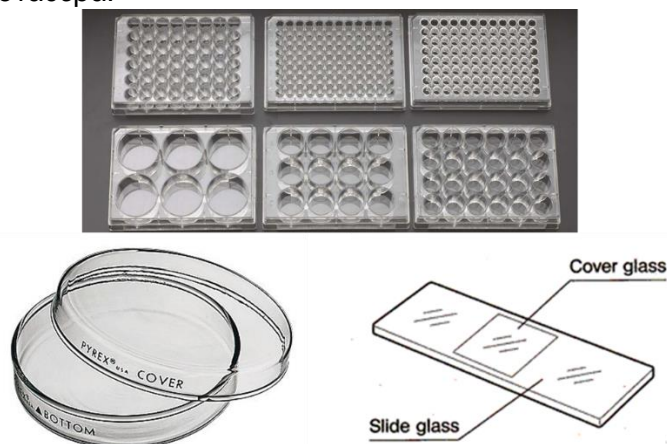
αναπαριστά σε γρήγορα πλαίσια την εξέλιξη των κυττάρων και την αλληλεπίδραση με διαφορετικά μόρια ή πρωτεΐνες, κ.α. Έτσι γίνεται πολύ ακριβής αναπαράσταση διάφορων λειτουργιών των κυττάρων.

2.5.2 Προδιαγραφές

Η αυτοματοποίηση της αντικειμενοφόρου πλατφόρμας είναι μια περίπλοκη διαδικασία. Για να πετύχει, πρέπει να κατασκευαστεί μια καινούργια συσκευή, η οποία θα αντικαταστήσει την ήδη υπάρχουσα και θα έχει κάποιες συγκεκριμένες προδιαγραφές. Οι προδιαγραφές αυτές αποτελούν την βασική πορεία που πρέπει να ακολουθηθεί, ώστε να γίνει σωστός εννοιολογικός και λειτουργικός σχεδιασμός. Χωρίς αυτές δεν είναι δυνατόν να εκπληρωθούν οι απαιτήσεις του συστήματος.

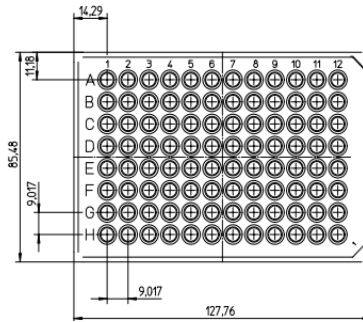
Οι προδιαγραφές είναι:

- **Έδραση:** Η έδραση θα γίνει στις 4 βίδες του μικροσκοπίου, δηλαδή εκεί που εδράζεται η ήδη υπάρχουσα πλατφόρμα.
- **Δείγματα:** Τα βιολογικά δείγματα απεικονίζονται μέσα σε διάφορων ειδών πλάκες και τριβλία. Μπορεί είναι πλάκες (Εικόνα 62), petridish (Εικόνα 62), φλάσκες και δείγματα σε γυαλί (Εικόνα 62). Η βάση πρέπει να έχει υποδοχή για αυτά τα δείγματα και να μπορεί να τα κρατάει σταθερά.



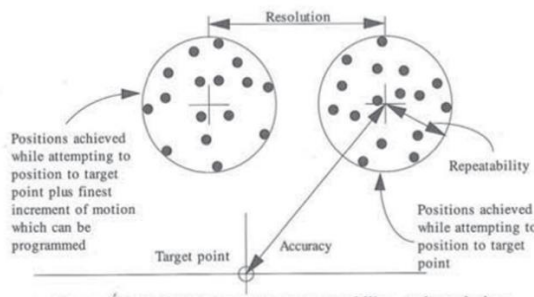
Εικόνα 62: Διαφορετικά είδη συστημάτων μέσα στα οποία γίνεται η απεικόνιση σε ένα μικροσκόπιο φθορισμού. Πάνω: Πλάκες πολλών βοθρίων (πλακών Πηγή: www.medsupplypartners.com). Κάτω αριστερά: Τριβλίο (petridish - Πηγή: www.coleparmer.com). Κάτω δεξιά: Δείγμα μεταξύ καλιπτρίδας (cover glass) και γυαλί μικροσκοπίου (slide glass) - Πηγή: sites.google.com

- **Εύρος κίνησης δείγματος:** Η κίνηση του δείγματος γίνεται σε 2 άξονες, τον X και τον Y. Το εύρος κίνησης εξαρτάται από τα δείγματα, τα οποία μετακινεί η αντικειμενοφόρος βάση. Το δείγμα εισέρχεται οριζόντια στην συσκευή μας και κινείται με τρόπο τέτοιο, ώστε να απεικονίζεται όλη η επιφάνεια του. Το μικροσκόπιο αριστερά και δεξιά έχει περισσότερο χώρο από ότι μπρος και πίσω. Γι' αυτό, το δείγμα μπαίνει με την μεγάλη πλευρά παράλληλη στον X άξονα. Το εύρος κίνησης υπολογίζεται με βάση το μεγαλύτερο δείγμα που μελετάται. Αυτό είναι στις διαστάσεις των πλακών με τα πηγάδια (Εικόνα 62). Όλες αυτές οι πλάκες έχουν τις ίδιες διαστάσεις (Εικόνα 63). Στον X άξονα το ελάχιστο εύρος είναι 128 mm και στον Y άξονα είναι 86 mm. Για να μπορούν να μπουν τα δείγματα στη συσκευή και να εφαρμόζουν καλά, ίσως χρειαστεί παραπάνω εύρος κίνησης στον X άξονα, αλλά αυτό θα διαπιστωθεί στην συνέχεια, ανάλογα με τα διαθέσιμα εξαρτήματα.



Εικόνα 63: Διαστάσεις 96άρας πλάκας Πηγή: www.labsupplyguys.com

- **Ακρίβεια:** Η ακρίβεια μπορεί να παρομοιαστεί με την ικανότητα να λείι κάποιος την αλήθεια. [A. Slocum]. Η απεικόνιση σε επίπεδο μικροσκοπίας απαιτεί μεγάλη ακρίβεια, προκειμένου να μην χάνονται δεδομένα. Αυτή είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τη μεγέθυνση των αντικειμενικών φακών. Η μεγέθυνση επηρεάζει το εύρος απεικόνισης. Όσο μεγαλύτερη μεγέθυνση έχουν οι φακοί τόσο μικρότερη επιφάνεια δείγματος μπορεί να απεικονιστεί. Για τη συγκεκριμένη εφαρμογή η ακρίβεια που πρέπει να επιτευχθεί είναι 10-25 μm.
- **Επαναληψιμότητα:** Εκτός από την ακρίβεια πολύ σημαντική προδιαγραφή είναι και αυτή της επαναληψιμότητας. Η επαναληψιμότητα είναι η ικανότητα να λείι κάποιος την αλήθεια ξανά και ξανά. [A. Slocum]. Για τη συγκεκριμένη εφαρμογή η απαραίτητη επαναληψιμότητα είναι 10-25 μm.
- **Ανάλυση:** Μαζί με τις δύο παραπάνω έννοιες, πρέπει να οριστεί και η ανάλυση. Η ανάλυση είναι το μικρότερο δυνατό βήμα που μπορεί να κάνει η βάση [A. Slocum]. Εξαρτάται από τις δυνατότητες του κινητήρα και τον ελεγκτή (driver) που θα χρησιμοποιηθεί. Η απαιτούμενη ανάλυση είναι μέχρι 5 μm.



Εικόνα 64: Ακρίβεια, επαναληψιμότητα και ανάλυση, Πηγή: A.Slocum "Design and Manufacture"

- **Ταχύτητα:** Η ταχύτητα της αντικειμενοφόρου βάσης εξαρτάται από το χρόνο που απαιτείται για να διανύσει την απόσταση από το ένα πηγάδι στο επόμενο σε μια 96άρα πλάκα. Ο χρόνος είναι 1 δευτερόλεπτο και η απόσταση είναι 1 mm. Το προφίλ της ταχύτητας είναι επιτραπέζιο και υπολογίζετε με τους εξής τύπους:

$$V = 1.5 \times \frac{X}{T}$$

$$A = 4.5 \times \frac{X}{T^2}$$

όπου X:απόσταση, T: χρόνος

Με αποτέλεσμα:

$$V = 15 \frac{mm}{sec}$$

$$A = 45 \frac{mm}{sec}$$

- **Μέγεθος:** Το μήκος και το πλάτος της βάσης εξαρτάται από το μέγεθος του μικροσκοπίου και το ύψος από την απόσταση από τους οπτικούς φακούς.
 - ο **Μήκος:** από την δεξιά και την αριστερή μεριά του μικροσκοπίου δεν υπάρχουν εξαρτήματα ή μηχανήματα που εμποδίζουν. Επομένως το μήκος του δεν έχει κάποιο περιορισμό.
 - ο **Πλάτος:** Η βάση στηρίζεται σε 4 βίδες στο μπροστά μέρος του μικροσκοπίου. Πίσω από τις 4 βίδες βρίσκεται σε απόσταση 120 mm το τοίχωμα του μικροσκοπίου. Για το μπροστά μέρος δεν υπάρχει κάποιος περιορισμός.
 - ο **Ύψος:** Το ύψος της βάσης επηρεάζεται από την “απόσταση λειτουργίας” (working distance) των αντικειμενικών φακών. Όπως αναφέρθηκε στις προδιαγραφές τους, η μεγαλύτερη “απόσταση λειτουργίας” (working distance) είναι του φακού και είναι 5 mm. Το διαθέσιμο ύψος είναι 45 mm, όταν η βάση του μικροσκοπίου είναι στο κατώτερο σημείο του Z άξονα. Η απαιτούμενη απόσταση του φακού πολλαπλασιάζεται με συντελεστή ασφαλείας 2 και αφαιρείται από την διαθέσιμη απόσταση. Τελικά το ύψος που είναι διαθέσιμο για την συσκευή που θα κατασκευαστεί είναι 35 mm. Μέσα σε αυτή την απόσταση πρέπει να συνυπολογιστεί και το ύψος των δειγμάτων.
- **Βάρος:** Το ύψος της βάσης ελέγχεται από έναν μοχλό. μελλοντικά σε αυτό το μοχλό θα προσαρμοστεί ένας κινητήρας. Τα εξαρτήματα που θα χρησιμοποιηθούν και τα μέρη που θα κατασκευαστούν πρέπει να έχουν όσο τον δυνατόν μικρότερο συνολικό βάρος, προκειμένου να μειωθεί το μέγεθος του κινητήρα που θα εφαρμοστεί για τη ρύθμιση του ύψους. Μελλοντικά θα χρησιμοποιηθεί κινητήρας στο Z επίπεδο, επομένως το βάρος που θα μπορεί να δεχτεί θα είναι μεγαλύτερο.

Εξαιτίας του υψηλού κόστους κάποιων εξαρτημάτων και του μειωμένου προϋπολογισμού της συγκεκριμένης εργασίας, αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθούν εξαρτήματα από τα αποθέματα του εργαστηρίου. Με αυτόν το τρόπο μειώνεται σημαντικά το κόστος κατασκευής. Παράλληλα όμως γίνεται δυσκολότερος ο σχεδιασμός και υπάρχει περίπτωση να μην ικανοποιηθούν πλήρως οι αναγκαίες προδιαγραφές.

2.5.3 Εννοιολογικός Σχεδιασμός

Η συσκευή πρέπει να σχεδιαστεί με βάση τις προδιαγραφές που διατυπώθηκαν παραπάνω. Οι προδιαγραφές πρέπει να τηρούνται, προκειμένου οι λειτουργίες του μηχανήματος να είναι πετυχημένες. Στην ενότητα αυτή θα παρουσιαστεί ο εννοιολογικός σχεδιασμός της συσκευής και θα αναπτυχθούν οι διάφοροι δυνατοί τρόποι ικανοποίησης των προδιαγραφών. Πιο συγκεκριμένα θα μελετηθούν ποιες αποφάσεις πάρθηκαν για το σχεδιασμό της αντικειμενοφόρου βάσης, ανάλογα με τα διαθέσιμα είδη κίνησης, έδρασης και του αισθητήρες ελέγχου. Οι αποφάσεις αυτές έχουν σαν βασικό κριτήριο την ικανοποίηση συγκεκριμένων λειτουργιών της συσκευής.

2.5.3.1 Απαιτούμενες λειτουργίες

Μετά την ολοκλήρωση των σχεδιαστικών και κατασκευαστικών λεπτομερειών η συσκευή πρέπει να εκτελεί κάποιες λειτουργίες. Οι λειτουργίες αυτές εξαρτώνται από τις ανάγκες της απεικόνισης και τις προδιαγραφές και πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά το σχεδιασμό. Οι απαιτούμενες λειτουργίες της βάσης περιγράφονται παρακάτω.

- ο **Κάλυψη όλης της επιφάνειας του δείγματος.** Η βάση πρέπει να κινείται σε δύο επίπεδα, το X και το Y. Η κίνηση θα γίνεται αυτόματα μέσα από 2 κινητήρες.
- ο **Ευθύγραμμη και ομαλή κίνηση.** Για να γίνει καλή απεικόνιση του δείγματος πρέπει η βάση να κινείται ευθύγραμμα. Αυτό επιτυγχάνεται με την καλή έδραση της συσκευής, την ακριβή κατασκευή των επιμέρους εξαρτημάτων και την χρήση εδράνων. Προκειμένου να εκληφθούν πιθανές αποκλίσεις, πρέπει η βάση που θα φέρει τα δείγματα να μπορεί να ρυθμιστεί ως προς την κλίση της.

- Στήριξη δειγμάτων. Πρέπει τα δείγματα να μένουν σταθερά κατά την κίνηση της βάσης, έτσι ώστε όταν επιστρέφει στο ίδιο σημείο, μετά από έναν κύκλο μετρήσεων, να απεικονίζει το επιθυμητό κομμάτι και όχι κάποιο άλλο.
- Αρχικοποίηση θέσης. Κάθε φορά που ξεκινάει την κίνηση του πρέπει να γνωρίζει που βρίσκεται. Για να γίνει αυτό πρέπει να χρησιμοποιηθεί μια μέθοδος ελέγχου θέσης.

Το μικροσκόπιο το χρησιμοποιεί συνήθως τεχνολογικά ανειδίκευτο προσωπικό. Για αυτό το λόγο πρέπει να δημιουργηθεί ένα εύκολο γραφικό περιβάλλον, το οποίο θα ελέγχει το πρόγραμμα κίνησης της βάσης. Με αυτό τον τρόπο δίνεται η δυνατότητα στον οποιοδήποτε, να χρησιμοποιεί το μικροσκόπιο χωρίς την απαραίτητη παρουσία κάποιου ειδικού.

Η πρώτη απόφαση προς την ικανοποίηση των λειτουργιών, αφορά την επιλογή του κινητήρα. Υπάρχουν διάφορα διαθέσιμα είδη κίνησης, τα οποία ικανοποιούν διαφορετικές ανάγκες.

2.5.3.2 Επενεργητές

Στα αντίστοιχα κεφάλαια των δύο προηγούμενων συσκευών που κατασκευάστηκαν, έγινε σύντομη αναφορά στα είδη κίνησης. Επειδή η αντικειμενοφόρος βάση απαιτεί μεγάλη ακρίβεια και είναι η κατασκευή είναι περίπλοκη, σε αυτό το κεφάλαιο θα γίνει πιο εκτενής ανάλυση των ειδών αυτών.

Τα συστήματα κίνησης που χρησιμοποιούνται σε τέτοιες εφαρμογές είναι οι σερβοκινητήρες (Servos), οι βηματικοί κινητήρες (Steppers) και οι κινητήρες συνεχούς ρεύματος (DC motors). Κάθε ένα από αυτά τα είδη κινητήρα, παρουσιάζει τόσο πλεονεκτήματα όσο και μειονεκτήματα σε ότι αφορά τον τρόπο λειτουργίας του. Επιλέγοντας έναν κινητήρα πρέπει να είναι γνωστό για ποια εφαρμογή είναι κατάλληλος και ποια λειτουργία πρέπει να πετύχει. Παρακάτω γίνεται ανάλυση των 3 αυτών ειδών.

2.5.3.2.1 Κινητήρες συνεχούς ρεύματος (DC motors)

Οι κινητήρες συνεχούς ρεύματος, όπως προδιαγράφει και το όνομά τους, είναι ηλεκτρικοί κινητήρες που λειτουργούν με συνεχές ρεύμα. Βρίσκονται συνήθως σε εφαρμογές, όπως οι βιομηχανικοί ανεμιστήρες, οι αντλίες, εργαλειομηχανές, οικιακές συσκευές, ηλεκτρικά εργαλεία, σκληροί δίσκοι, και πολλά άλλα. Γενικότερα χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές με μεγάλες απαιτήσεις σε ροπή και είναι αρκετά ακριβοί. Πριν κάποιος επιλέξει κινητήρα συνεχούς ρεύματος πρέπει να έχει υπόψη του τρία χαρακτηριστικά. (i) Την καταπόνηση ρεύματος. Ο ελεγκτής θα πρέπει να παρέχει αρκετό ρεύμα για να οδηγήσει τον κινητήρα σε πλήρες ονομαστικό ρεύμα. (ii) Την ροπή. Εάν η ροπή του κινητήρα δεν επαρκεί για την μετακίνηση των εξαρτημάτων, τότε μπορεί είτε να καθυστερεί, είτε να μην δουλεύει καθόλου. (iii) Την ταχύτητα. Στην περίπτωση των ανεμιστήρων ή RC (απομακρυσμένου ελέγχου) αυτοκινήτων, για παράδειγμα, πρέπει να μπορεί να περιστρέφεται αρκετά γρήγορα.

Κατηγορίες κινητήρων συνεχούς ρεύματος

- Κινητήρες συνεχούς ρεύματος με ψήκτες (Brushed DC motors). Αυτού του είδους οι κινητήρες περιστρέφονται όσον το δυνατόν γρηγορότερα με βάση την κατασκευή τους, την τάση που τους ασκείται και το φορτίο που μεταφέρουν. Επίσης, οι ψήκτες παράγουν σπινθήρες και ηλεκτρονικές παρεμβολές, με αποτέλεσμα να μειώνεται σημαντικά ο χρόνος ζωής. Είναι δύσκολο να ελεγχθούν με ακρίβεια. Ο μόνος τρόπος να ελέγξεις την ταχύτητα περιστροφής είναι αλλάζοντας την τάση που τροφοδοτείται.
- Κινητήρας συνεχούς ρεύματος χωρίς ψήκτες (Brushless DC motors). Αυτός ο τύπος απαιτεί τροφοδοσία εναλλασσόμενου ρεύματος. Έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και είναι πιο αποτελεσματικοί, αλλά είναι παράλληλα πιο ακριβοί και απαιτούν περίπλοκότερους ελεγκτές για να λειτουργήσουν.
- Άλλοι κινητήρες συνεχούς ρεύματος:
 - Homopolar motors. Έχουν ένα πηνίο μιας στροφής, άρα περιορίζονται σε πολύ χαμηλές στροφές.
 - Ball bearing motors. Η κατεύθυνση της περιστροφής καθορίζεται από την αρχική περιστροφή που απαιτείται για την αρχική κίνηση.

Linear Actuators. Ένας γραμμικός επενεργητής είναι ένας κινητήρας συνεχούς ρεύματος, ο οποίος εξοπλίζεται με τέτοιο τρόπο, ώστε να εκτείνεται ένας βραχίονας αντί να περιστρέφεται ένας άξονας. Η ταχύτητα των συγκεκριμένων επενεργητών διαφέρει από 0.2mm/sec - 4 mm / sec και χρησιμοποιούνται συνήθως σε συγκεκριμένα φορτία. Τέλος κάποιοι φέρουν ενσωματωμένο ποτενσιόμετρο ή ροοστάτη, ώστε να μπορεί το σύστημα να ελέγχει την θέση του βραχίονα. Το κόστος τους είναι υψηλό.

Έλεγχος DC κινητήρα. Ανάλογα με την εφαρμογή, μπορεί να χρειαστεί έλεγχος του κινητήρα. Αν η τάση παροχής ηλεκτρικού ρεύματος και το φορτίο είναι σχετικά σταθερά και μπορούμε να ανεχθούμε μια μικρή διακύμανση στη ταχύτητα, τότε χρειάζεται μόνο αλλαγή της ταχύτητας στο λογισμικό (πχ ανεμιστήρας). Παρ' όλα αυτά χωρίς τη χρήση encoder ή κάποιου είδους μηχανισμού ανάδρασης, είναι αδύνατο ελέγξεις τον κινητήρα. Ο κωδικοποιητής (encoder) ελέγχει την επιτάχυνση, ταχύτητα και τον αριθμό στροφών ενός κινητήρα. Ένας κωδικοποιητής με υψηλή ανάλυση μπορεί να υπολογίσει η ταχύτητα και η περιστροφή του κινητήρα. Συνήθως τοποθετούνται στην εκτεθειμένη, πίσω πλευρά του άξονα. Με αυτό τον τρόπο γίνεται έλεγχος κλειστού βρόγχου.

Στον έλεγχο κλειστού βρόγχου (Control loop control), ένας βρόγχος ανάδρασης λαμβάνει δεδομένα από έναν αισθητήρα θέσης και μέσω ενός νόμου ελέγχου για να υπολογίσει την διέγερση που πρέπει να ασκηθεί στον κινητήρα. Ο πιο κλασικός νόμος ελέγχου είναι ο ελεγκτής PID. Ο αναλογικός όρος P ορίζει πόσο έντονα ανταποκρίνεται το σύστημα μεταξύ του στόχου επίτευξης και της εκάστοτε μετρημένης θέσης. Ο παράγωγος όρος D προσθέτει απόσβεση, κάνει το σύστημα πιο ευσταθές και περιορίζει την υπερακόντηση της απόκρισης. Ο ολοκληρωτικός όρος I μειώνει την επίδραση εξωτερικών σφαλμάτων, αλλά ενδέχεται να κάνει το σύστημα πιο ασταθές.

2.5.3.2.2 Σερβοκινητήρες (Servo Motors)

Οι σερβοκινητήρες είναι το δεύτερο είδος επενεργητών, το οποίο θα αναλυθεί. Οι συγκεκριμένοι κινητήρες έχουν μηχανισμό εντοπισμού της αρχικής θέσης, με αποτέλεσμα να διορθώνουν την απόδοσή τους. Έχουν χαμηλό κόστος και υψηλή ροπή, γι' αυτό είναι ευρέως διαδεδομένη η χρήση τους σε εφαρμογές πρωτοτύπων.

Όταν δοθεί εντολή να κινηθούν, ανεξάρτητα σε ποια θέση βρίσκονται, ξεκινούν πάντα από το ίδιο σημείο και κινούν το κινητήρα, όσο πιο γρήγορα μπορούν μέχρι την επιθυμητή θέση. Διατηρούν την ροπή στις υψηλές ταχύτητες και δεν προκαλούν δονήσεις. Αντιθέτως, κατά τη διάρκεια της κίνησης ο ελεγκτής δεν έχει ανάδραση, με αποτέλεσμα να μην μπορεί ανά πάσα στιγμή να γνωρίζει τη θέση και την ταχύτητα του κινητήρα.. Οι εφαρμογές που θέλουν ομαλή κίνηση υποφέρουν από την γρήγορη επιτάχυνση. Προκειμένου να ανταπεξέλθουν σε εφαρμογές που απαιτείται υψηλή ακρίβεια, χρησιμοποιούνται ελεγκτές. Αυτοί κάνουν το σύστημα πολύπλοκο και ακριβότερο.

Ένας κλασικός σερβοκινητήρας αποτελείται από κινητήρα συνεχούς ρεύματος και κιβώτιο ταχυτήτων. Ένα ποτενσιόμετρο συνδέεται με τον άξονα εξόδου και με την χρήση ενός συστήματος κλειστού βρόγχου μπορεί να παρακολουθεί και να δίνει εντολές στον κινητήρα. Οι σερβοκινητήρες λειτουργούν με ένα σήμα διαμόρφωσης πλάτους παλμού (PWM), το οποίο είναι μια σειρά τετραγωνικών κυμάτων, όπου το πλάτος τους μεταβάλλεται από παλμό σε παλμό. Το πλάτος του κάθε παλμού αντιστοιχεί σε μια συγκεκριμένη θέση περιστροφής και οι διαφορετικοί σερβοκινητήρες χαρτογραφούνται ανάλογα με το φάσμα των κινήσεων και την ανάλυση.

Για την επιλογή ενός σερβοκινητήρα σε μια εφαρμογή, πρέπει να ληφθούν υπόψιν τρία χαρακτηριστικά:

1. Το εύρος κίνησης. Οι πιο συνηθισμένοι σερβοκινητήρες έχουν εύρος κίνησης 180°. Το εύρος κίνησης μπορεί να μειωθεί μέσω προγραμματισμού. Υπάρχουν σε ορισμένες περιπτώσεις

τροποποιημένοι σερβοκινητήρες, οι οποίοι μπορούν να εκτελέσουν μεγαλύτερο εύρος κίνησης.

2. Την ακρίβεια στον έλεγχο θέσης. Όσο μεγαλύτερο εύρος κίνησης έχει, τόσο μικρότερη ακρίβεια θέσης αποδίδει.
3. Την ροπή. Υπάρχουν διαφόρων ειδών σερβοκινητήρες, με διαφορετική ποικιλία ροπών.

Κατηγορίες σερβοκινητήρων. Οι αναλογικοί σερβοκινητήρες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με το εύρος κίνησης τους.

- Κανονικοί Σερβοκινητήρες: Λειτουργούν έτσι όπως περιεγράφηκε παραπάνω και έχουν εύρος κίνησης 180° & 360°.
- Συνεχούς περιστροφής: Είναι ένα υποσύνολο των σερβοκινητήρων, οι οποίοι έχουν τροποποιηθεί, ώστε να μπορούν να περιστρέφονται συνεχόμενα. Αυτή η μορφή έχει περιορισμένη ακρίβεια. Απαιτείται έλεγχος θέσης για εφαρμογές, που απαιτούν υψηλή ακρίβεια.
- Γραμμικοί επενεργητές: Οι συγκεκριμένοι συμπεριφέρονται όπως τα έμβολα. Αυτό επιτυγχάνεται με την χρήση ενός κοχλία στην άκρη του κιβωτίου ταχυτήτων, με αποτέλεσμα η περιστροφική κίνηση να μετατρέπεται σε γραμμική. Η αρχή λειτουργίας του είναι η ίδια με τον κλασσικό σερβοκινητήρα.
- Ψηφιακοί σέρβο. Αυτοί έχουν, αντί για αναλογικό κύκλωμα, έναν μικροεπεξεργαστή, ο οποίος δρα ως ελεγκτής. Αυτοί έχουν ταχύτερους χρόνους απόκρισης, πιο ακριβή έλεγχο θέσης και περισσότερη ροπή. Βέβαια χρησιμοποιούν και περισσότερη ενέργεια από τους αναλογικούς. Ανάλογα με το μέγεθός τους υπάρχει περίπτωση να χρειαστούν εξωτερική πηγή ρεύματος. Μερικοί από αυτούς μπορούν να αποθηκεύσουν την τελευταία τιμή, ώστε ακόμα και αν απεμπλακεί ο ελεγκτής να μην μπορεί να κινηθεί ο κινητήρας.

2.5.3.2.3 Βηματικοί κινητήρες (Stepper Motors)

Οι βηματικοί κινητήρες χρησιμοποιούνται συνήθως για έλεγχο θέσης με ανοιχτό βρόγχο. Ο ρότορας περιστρέφεται σε μια σειρά από διακριτά βήματα. Ο αριθμός των περιστροφών, η κατεύθυνση και η ακριβής θέση του άξονα ρυθμίζονται εύκολα από το πρόγραμμα του ελεγκτή. Ελέγχοντας το χρονικό διάστημα μεταξύ των βημάτων μπορούμε να ελέγξουμε και την ταχύτητα και επιτάχυνση. Το κάθε βήμα αντιστοιχεί συνήθως σε 0,9° και 1.8°. Η γωνία του βήματος μπορεί να μειωθεί με την χρήση κιβωτίου ταχυτήτων. Οι περισσότεροι βηματικοί κινητήρες έχουν μικρή ροπή, όταν λειτουργούν σε χαμηλές ταχύτητες και μπορούν για πολύ ώρα να κρατάνε την ίδια θέση, χωρίς να υπάρξει πρόβλημα στο μηχανισμό τους.

Όσο αφορά στα μειονεκτήματά τους, καταρχάς η μέθοδος του βηματισμού παράγει δονήσεις. Αν η συχνότητα των δονήσεων συντονιστεί με τη μηχανική συχνότητα συντονισμού του κινητήρα, μπορεί να προκληθεί αναπήδηση του ρότορα και απώλεια ροπής. Για να αποφευχθεί το φαινόμενο αυτό πρέπει ο κινητήρας να δοκιμαστεί σε διάφορες ταχύτητες πριν εγκατασταθεί στην εφαρμογή. Εν συνεχεία, αν υπερφορτωθεί ο κινητήρας τότε θα οδηγήσει στην αστάθεια του συστήματος και στην απώλεια βημάτων. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται ένας συντελεστής ασφαλείας, ο οποίος ανάλογα με την ακρίβεια που απαιτείται και το φορτίο που μεταφέρεται, κυμαίνεται από 30%-50%. Απώλεια βημάτων πέρα από την υπερφόρτωση μπορεί να προκαλέσει και η γρήγορη επιτάχυνση. Τέλος στις μεγάλες ταχύτητες και σε εφαρμογές μικροβηματισμού (microstepping) οι βηματικοί κινητήρες χάνουν μεγάλο μέρος της ροπής τους.

Κατηγορίες βηματικών κινητήρων. Οι βηματικοί κινητήρες μπορούν να χωριστούν σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με: (i) τα πηνία, (ii) τους εσωτερικούς μαγνήτες και (iii) τη ρύθμιση του ρεύματος.

- (i) **Με βάση τα πηνία**

Διπολικός (Bipolar): Οι συγκεκριμένοι κατασκευάζονται με 2 πηνία και έχουν μια περιέλιξη ανά φάση. Η τάση που απαιτείται είναι από -2.5V μέχρι 2.5V. Ο ελεγκτής (driver) για το συγκεκριμένο τύπο βηματικού κινητήρα είναι ακριβότερος, καθώς πρέπει να παράγει και θετικό και αρνητικό ηλεκτρικό ρεύμα. Πλεονέκτημα αυτού του τύπου κινητήρα είναι ό,τι παράγει περισσότερη ροπή σε όλες της ταχύτητες.

Μονοπολικός (Unipolar): Σε ένα μονοπολικό βηματικό κινητήρα, οι περιελίξεις του κινητήρα αποτελούνται από δύο πανομοιότυπα πηνία ανά φάση, τυλιγμένα σε αντίθετες κατευθύνσεις (το καθένα κατακλύζει το μισό χώρο απ' όσο σε ένα διπολικό βηματικό κινητήρα). Ο ελεγκτής επιλέγει να περάσει ρεύμα σε μια από τις δύο σπείρες και απαιτείται μόνο θετικό ρεύμα. Η ροπή είναι χαμηλότερη, αλλά το συνολικό κόστος του συστήματος είναι μικρότερο.

(ii) Με βάση την εσωτερική μαγνητική κατασκευή

Μόνιμου μαγνήτη: Οι κινητήρες με μόνιμους μαγνήτες είναι μικροί, με χαμηλή ροπή, και με χαμηλό κόστος. Χρησιμοποιούν ένα μόνιμο μαγνήτη στο ρότορα, που ελκύεται ή απωθείται από το μαγνητικό πεδίο που παράγεται από τα πηνία του στάτη. Οι γωνίες ανά βήμα είναι συνήθως 7,5° ή 15°, και οι κινητήρες είναι συνήθως μονοπολικοί.

Μεταβλητή Αντίσταση (Variable Reluctance): Ο ρότορας αυτού του τύπου βηματικού κινητήρα είναι κατασκευασμένος από σίδηρο και ως εκ τούτου ευθυγραμμίζεται με το μαγνητικό πεδίο που παράγεται από τα πηνία του στάτη. Δεδομένου ότι δεν χρησιμοποιεί ένα μόνιμο μαγνήτη, δεν έχει σημασία σε ποια κατεύθυνση ρέει το ρεύμα. Αρκεί μόνο κάθε πηνίο να είναι τυλιγμένο στην αντίθετη κατεύθυνση από το πηνίο απέναντι σε αυτό. Είναι μονοπολικός κινητήρας και συνήθως έχει γωνία βήματος από 15° και πάνω.

Υβριδικός: Οι υβριδικοί κινητήρες χρησιμοποιούν ένα συνδυασμό των χαρακτηριστικών των παραπάνω τύπων, έχουν καλύτερη ροπή και ταχύτητα, αλλά παράλληλα έχουν και υψηλότερο κόστος. Οι γωνίες βήματος είναι συνήθως 0,9° - 3,75°, προσδίδοντας στην κίνηση καλύτερη βηματική ανάλυση.

(iii) Με βάση τη ρύθμιση του ρεύματος

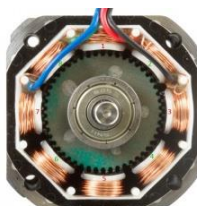
Chopper Drive: Είναι ηλεκτρονική τεχνική που επιτρέπει σε συγκεκριμένους κινητήρες να παράγουν περισσότερη ισχύ, ροπή, ταχύτητα και να είναι και πιο αποτελεσματικοί.

Περιορισμένης αντίστασης (Resistive Limited): Μικροί και χαμηλού κόστους βηματικοί κινητήρες που έχουν κατασκευαστεί και ελέγχονται όσο τον δυνατόν φθηνότερα. Αφορά συγκεκριμένη τάση και επιτρέπει στο πηνίο να ρυθμίζει μόνο του την ισχύ του κινητήρα.

Οι δύο βασικότερες και περισσότερο χρησιμοποιούμενες κατηγορίες βηματικών κινητήρων είναι οι Υβριδικός διπολικός και οι Υβριδικός μονοπολικός.

Υβριδικός διπολικός βηματικός κινητήρας

Οι κινητήρες αυτοί αποτελούνται από οκτώ πόλους με έξι δόντια ο καθένας και διαθέτουν δύο τυλίγματα, ένα για τους μονούς πόλους και ένα για τους ζυγούς. Ο χάλυβας στο κέντρο καλύπτει ένα κυλινδρικό μόνιμο μαγνήτη που περιβάλλει τον άξονα.



Εικόνα 65: Τομή υβριδικού διπολικού βηματικού κινητήρα

Αν το θετικό ρεύμα διαρρέει το μονό αριθμό σπειρών, οι πόλοι 1 και 5 μαγνητίζονται ως νότιοι, και οι πόλοι 3 και 7 ως βόρειοι. Υποθέτοντας ότι ο μόνιμος μαγνήτης στο κέντρο του κινητήρα έχει τον βόρειο πόλο του στραμμένο προς τα έξω, αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την στροφή του ρότορα με τρόπο τέτοιο, που τα δόντια θα ευθυγραμμιστούν με τους πόλους του στάτη 1 και 5. Ταυτόχρονα, οι πόλοι 3 και 7 θα ευθυγραμμιστούν στο αντίθετο άκρο του κινητήρα. Η περιστροφή του κινητήρα συνεχίζεται εναλλάσσοντας αρνητικό ρεύμα μεταξύ άρτιων και μονών πόλων. Ο βηματικός ελεγκτής μπορεί να αντιστρέψει την κατεύθυνση της περιστροφής με την αντιστροφή αυτής της ακολουθίας.

Υβριδικοί μονοπολικοί βηματικοί κινητήρες

Η διαφορά της λειτουργίας αυτών των κινητήρων με των διπολικών είναι στους μονοπολικούς ο κάθε πόλος διαθέτει δύο ξεχωριστά πηνία που τυλίγονται σε αντίθετες κατευθύνσεις. Με αυτό το τρόπο αντί να εναλλάσσει την κατεύθυνση του ρεύματος, ο ελεγκτής στέλνει απλά θετικό ρεύμα στο κατάλληλο μισό του πηνίου.

Επιλογή ρεύματος. Δεδομένου ότι πολλοί βηματικοί κινητήρες έχουν χαμηλή αντίσταση πηνίου, το ρεύμα δεν μπορεί να ρυθμιστεί από μόνο του. Το ρεύμα επηρεάζεται από την επιτάχυνση και την ταχύτητα του βηματικού, την τάση τροφοδοσίας, την εφαρμοζόμενη ροπή στρέψης, την αυτεπαγωγή του κινητήρα και την αντίσταση του πηνίου.

Όταν η ποσότητα ρεύματος είναι χαμηλή και η επιτάχυνση υψηλή, ο κινητήρας δεν είναι ικανός να κινηθεί, καθώς πρέπει να ξεπεράσει και την τριβή του συστήματος και το φορτίο που μεταφέρει. Με την αύξηση του ορίου ρεύματος μπορεί να επιτευχθεί η επιτάχυνση και η διατήρηση της μέγιστης ταχύτητας. Όταν ο κινητήρας περιστρέφεται με χαμηλές στροφές ή είναι σταματημένος, καταναλώνεται περισσότερη ισχύς.

Επιλογή τάσης τροφοδότησης. Η ονομαστική τάση που αναγράφεται πάνω στον κινητήρα, είναι το ονομαστικό ρεύμα πολλαπλασιασμένο με την αντίσταση των πηνίων. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, με την αύξηση της τάσης πετυχαίνουμε υψηλότερες ταχύτητες σε συνδυασμό με χαμηλότερο ρεύμα. Αποτέλεσμα της υψηλής τάσης είναι ο κινητήρας να παράγει πολύ θερμότητα.

Επιλογή ορίου ταχύτητας. Η ταχύτητα δεν μπορεί να επιλεγεί απευθείας με χρήση των ελεγκτών, αλλά μπορεί να τεθεί ένα άνω όριο το οποίο δεν πρέπει να περαστεί. Όπως ειπώθηκε προηγουμένως υπάρχει κίνδυνος συντονισμού και με αυτό το τρόπο τον αποφεύγουμε.

Επιλογή επιτάχυνσης. Μεγάλη επιτάχυνση μπορεί να οδηγήσει σε αδυναμία του κινητήρα να ξεκινήσει, ειδικά εάν έχει να μεταφέρει μεγάλο φορτίο. Το ιδανικό είναι η χρήση χαμηλής επιτάχυνσης σε εφαρμογές με μεγάλες ροπές.

Μέθοδοι βηματισμού. Στον έλεγχο και την κίνηση των βηματικών κινητήρων σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η επιλογή της μεθόδου βηματισμού. Οι συγκεκριμένοι κινητήρες μπορούν να κινηθούν με: (i) πλήρη βηματισμό, (ii) μισό βηματισμό και (iii) μικρο-βηματισμό.

(i) Πλήρης βηματισμός (Full Stepping)

Αυτή είναι η προεπιλεγμένη λειτουργία κίνησης για διπολικούς κινητήρες, στην οποία οι φάσεις του κινητήρα ελέγχονται από δύο τετραγωνικά κύματα ρεύματος. Ένα κύμα υστερεί του άλλου κατά 90 μοίρες και η κίνηση του κινητήρα εξαρτάται από αυτά τα κύματα. Ένα πλήρες βήμα ολοκληρώνεται όταν τα τετραγωνικά κύματα προχωρήσουν κατά 90 μοίρες. Δεδομένου ότι και οι δύο φάσεις είναι πάντα πλήρως ενεργοποιημένες, ο πλήρης βηματισμός παρέχει την καλύτερη ροπή. Με αυτή τη μέθοδο οι βηματικοί κινητήρες κινούνται με το ονομαστικά βήματα ανά περιστροφή.

(ii) Μισός βηματισμός (Half Stepping)

Σε αυτό τον τύπο ο ελεγκτής εναλλάσσεται μεταξύ δύο καταστάσεων, να έχει μία φάση ενεργοποιημένη και δύο φάσεις ενεργοποιημένες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ο ρότορας να σταματάει στο μισά - βήματα μεταξύ των πόλων μειώνοντας έτσι και την γωνία του βήματος. Ωστόσο, δεδομένου

ότι το ρεύμα σε κάθε πηνίο δεν μπορεί να είναι ακριβώς ισορροπημένο, η γωνία του ρότορα μεταξύ των πόλων μπορεί να μην είναι ακριβώς το μισό της γωνίας βήματος. Το μειονέκτημα αυτού του τύπου βηματισμού είναι ότι ο κινητήρας θα έχει λιγότερη ροπή για τα βήματα, όταν ενεργοποιείται μόνο μία φάση. Με αυτό το τρόπο υπάρχει μείωση 1/8, δηλαδή μια περιστροφή χωρίζεται σε 8πλάσια βήματα από τα ονομαστικά.

(iii) Μικρο-βηματισμός (Micro Stepping)

Με τον έλεγχο του σχετικού ρεύματος των δύο φάσεων, η θέση του ρότορα μπορεί να σταματήσει σε διάφορα ισαπέχοντα μικρότερα βήματα μεταξύ των δύο φάσεων. Αυτό επιτυγχάνεται με την ίδια λογική του πλήρη βηματισμού, με την διαφορά ότι το ρεύμα μοιάζει με ένα ημιτονοειδές κύμα και όχι ένα τετραγωνικό κύμα. Μερικοί διπολικόι ελεγκτές έχουν σχεδιαστεί για να κάνουν μικρο-βηματισμό σε χαμηλές ταχύτητες προκειμένου να έχουν ομαλή περιστροφή. Με αυτό το τρόπο υπάρχει μείωση 1/16, δηλαδή μια περιστροφή χωρίζεται σε 16πλάσια βήματα από τα ονομαστικά.

Με βάση την παραπάνω ανάλυση επιλέγεται καταρχάς να μην χρησιμοποιηθεί κινητήρας συνεχούς ρεύματος. Αυτό γιατί, όπως έχει ήδη διατυπωθεί, αυτοί οι κινητήρες προορίζονται για εφαρμογές με μεγάλη ροπή και είναι αρκετά ακριβοί. Επομένως πρέπει να αποφασιστεί ανάμεσα στους σερβοκινητήρες και τους βηματικούς κινητήρες, ποιος θα χρησιμοποιηθεί.

Προκειμένου γίνει διαλογή ανάμεσα σε αυτά τα δύο είδη πρέπει να δοθεί απάντηση στις ακόλουθες ερωτήσεις.

1. Είναι το φορτίο μεταβαλλόμενο ή σταθερό; Εάν το φορτίο είναι προβλέψιμο και δεν μεταβάλλεται τότε γίνεται χρήση βηματικών κινητήρων (όπως για παράδειγμα τα φωτοτυπικά και εκτυπωτές). Αντίθετα, υπάρχουν εφαρμογές αυτοματισμού που μπορεί να απαιτούν τη λειτουργία ανάδρασης. Οι σερβοκινητήρες, λόγω του κλειστού βρόχου μπορούν να απορροφήσουν φορτία μεταβλητής ροπής και να καταφέρουν να φτάσουν στην επιθυμητή θέση. Οι βηματικοί κινητήρες δεν αντέχουν την υπερφόρτωση. Για να μην χάσει βήματα ένας βηματικός κινητήρας πρέπει να επιλεγεί με μεγαλύτερη ροπή συγκράτησης σε σχέση με την απαιτούμενη.
2. Μπορεί η εφαρμογή να έχει απώλεια θέσης; Καθώς οι βηματικοί κινητήρες λειτουργούν σε έλεγχο με ανοικτό βρόγχο, δεν υπάρχει ανάδραση για την αληθινή θέση του κινητήρα. Αντίθετα οι σερβοκινητήρες λειτουργούν με έλεγχο κλειστού βρόγχου, οπότε μπορούν να αρχικοποιήσουν το σύστημα ανά πάσα στιγμή.
3. Χρειαζόμαστε διακριτότητα στη θέση μεγαλύτερη του 1.8°; Οι βηματικοί κινητήρες έχουν την δυνατότητα του μικροβηματισμού (micro-stepping), η οποία έχει παρόμοια ανάλυση (μικρότερο βήμα που μπορεί να γίνει) με τον σερβοκινητήρα με κωδικοποιητή.
4. Πόσο φορτίο αδράνειας μπορούμε να ανεχτούμε; Με τους βηματικούς κινητήρες σε περίπτωση υπερφόρτωσης μπορεί να χάσουμε βήματα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Ένας σερβοκινητήρας μπορεί να ελέγξει αδράνεις φορτίου 50 φορές μεγαλύτερες από την αδράνεια του κινητήρα.

2.5.3.2.4 Επιλογή Επενεργητή

Η επιλογή ανάμεσα στα παραπάνω είδη κινητήρα είναι δύσκολη καθώς και οι δύο έχουν σημαντικά πλεονεκτήματα. Από τη μία οι σερβοκινητήρες έχουν έλεγχο θέσης και από την άλλη οι βηματικοί μπορούν να πετύχουν μεγάλη ακρίβεια. Η συγκεκριμένη εφαρμογή όμως απαιτεί μεγάλη ακρίβεια που μπορεί να επιτευχθεί με τον βηματικό κινητήρα χωρίς ελεγκτή και για αυτό το λόγο επιλέχθηκε αυτός. Με αυτό τον κινητήρα μπορεί να επιτευχθεί μεγάλη ακρίβεια χωρίς τη χρήση κάποιου κωδικοποιητή. Επίσης μπορεί να αποφευχθεί η μετακίνηση του άξονα από κάποια εξωτερική δύναμη καθώς ο ελεγκτής (driver) δίνει συνεχώς ρεύμα και δεν περιστρέφεται παρά μόνο αν δοθεί εντολή. Τέλος τα αποθέματα του εργαστηρίου σε τέτοιου είδους κινητήρες είναι μεγάλα.

Για να γίνει όμως σωστός σχεδιασμός, πρέπει να βρεθεί τρόπος να αντιμετωπιστούν τα αρνητικά του σημεία. Το βασικότερο είναι η αρχικοποίηση του συστήματος. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι βηματικοί σε αντίθεση με τους σερβοκινητήρες, δεν ξέρουν την αρχική τους θέση. Για αυτό το λόγο, όταν τίθεται σε λειτουργία το σύστημα θα γίνεται αρχικοποίηση. Επίσης οι βηματικοί κινητήρες πάσχουν από απώλεια βημάτων σε δυσμενείς περιπτώσεις. Για αυτό το λόγο πρέπει να γίνει προσεχτικός υπολογισμός των δυνάμεων, των βαρών των εξαρτημάτων και της ταχύτητας που θα χρησιμοποιηθεί. Η συσκευή πρέπει να γίνει όσο το δυνατόν πιο ελαφριά γίνεται και οι επιταχύνσεις πρέπει να είναι μικρές.

Ο καλύτερος τρόπος για την επιλογή κινητήρα είναι να υπολογιστεί πρώτα η μέγιστη ροπή και η ταχύτητα που χρειάζεται.

Υπάρχουν διαφόρων ειδών βηματικοί κινητήρες. Στη συγκεκριμένη εφαρμογή θα χρησιμοποιηθεί κινητήρας με περαστό κοχλία κίνησης (Εικόνα 66). Οι κινητήρες αυτοί αποτελούνται από το βασικό σώμα και έναν κοχλία.



Εικόνα 66: Βηματικός κινητήρας με κοχλία κίνησης Πηγή. en.nanotec.com

Η κίνηση μπορεί να γίνει με τρεις τρόπους:

- Πάκτωση του κινητήρα και ευθύγραμμη κίνηση του κοχλία κίνησης.
- Πάκτωση του κοχλία κίνησης στις άκρες του και ευθύγραμμη κίνηση του κινητήρα. Ο κινητήρας στερεώνεται έτσι, ώστε να του αποτρέπεται να περιστραφεί.
- Πάκτωση του κινητήρα και κύλιση του κοχλία κίνησης. Με αυτό το τρόπο γίνεται περιστροφή του κοχλία και χρησιμοποιείται ένα περικόχλιο για ευθύγραμμη κίνηση.

Η συσκευή θα χρησιμοποιεί τον πρώτο τρόπο κίνησης. Οι κινητήρες θα πακτωθούν σε κάποιο σταθερό σημείο, ώστε να εμποδίζεται η σχετική κίνηση τους και θα κινούν τους κοχλίες ευθύγραμμα. Στην μια άκρη των κοχλιών θα δεθούν οι πλάκες που θα κινεί ο κάθε κινητήρας.

Αφού έχει επιλεγθεί ο τρόπος που θα κινείται η βάση, πρέπει να γίνει μελέτη για την έδραση του συστήματος. Η κίνηση θα γίνεται σε 2 κατευθύνσεις, οπότε χρειάζονται 2 εδράσεις, μια για κάθε κατεύθυνση.

2.5.3.3 Έδράσεις

2.5.3.3.1 Είδη εδράσεων

Τα έδρανα (ρουλεμάν) είναι μηχανικά στοιχεία, τα οποία περιορίζουν τη σχετική κίνηση στην μια κατεύθυνση και μειώνουν την τριβή ανάμεσα σε κινούμενα μέρη. Για παράδειγμα ανάλογα με το σχεδιασμό του εδράνου μπορεί να γίνει ελεύθερη ευθύγραμμη κίνηση ενός κινούμενου κομματιού ή ελεύθερη περιστροφική κίνηση γύρω από ένα σταθερό άξονα και να αποτρέπεται η κίνηση προς άλλη κατεύθυνση. Συνοπτικά διευκολύνουν την επιθυμητή κίνηση και ελαχιστοποιούν την τριβή. Χρησιμοποιούνται ειδικά σε εφαρμογές με μετακίνηση μεγάλων φορτίων και εφαρμογές με μεγάλη ακρίβεια. Τα ρουλεμάν διαχωρίζονται με βάση (i) τις εφαρμογές που χρησιμοποιούνται, (π.χ βιομηχανία, ελαφρά φορτία, μικροσκοπία κ.α.), (ii) τις κινήσεις που επιτρέπονται (πχ ευθύγραμμη, περιστροφική) και (iii) την κατεύθυνση των φορτίων που δέχονται.

Κατηγορίες ρουλεμάν. Τα ρουλεμάν διαφέρουν ανάλογα με τη μορφή, το μέγεθος, τη σκληρότητα και την τοποθεσία της επιφανείας. Τα πιο εξελιγμένα χρησιμοποιούνται για τις πιο απαιτητικές

εφαρμογές και είναι συσκευές μεγάλης ακρίβειας. Όσο μεγαλώνει η ακρίβεια μεγαλώνει και το κόστος τους.

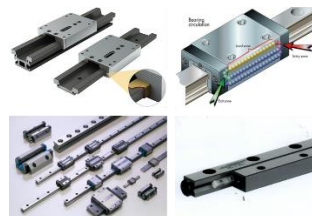
Γενικότερα υπάρχουν διάφορα είδη ρουλεμάν, τα οποία αναφέρονται παρακάτω.

1. Ρουλεμάν επιφανείας (Plain Bearings). Αυτά αναφέρονται σε οποιαδήποτε σύστημα έχει δυο επιφάνειες που έρχονται σε επαφή. Η μια επιφάνεια ολισθαίνει πάνω στην άλλη, χωρίς να υπάρχει κάποιο στοιχείο κύλισης. Είναι φτηνά, αντέχουν μεγάλα φορτία και έχουν μικρό μέγεθος.
2. Ρουλεμάν με στοιχεία κύλισης (Roller Bearings). Αυτού του είδους τα συστήματα φέρουν κάποιο είδος κύλισης, όπως για παράδειγμα σφαίρα ή κύλινδρο, τα οποία τοποθετούνται ανάμεσα σε δύο επιφάνειες. Η σχετική κίνηση των δύο επιφανειών προκαλεί την κύλιση της σφαίρας ή κυλίνδρου και ως αποτέλεσμα κινούνται με πολύ χαμηλή αντίσταση και μηδενική ολίσθηση.
3. Ρουλεμάν με τη χρήση ρευστού (Fluid Bearings). Το φορτίο μεταφέρεται με τη χρήση ενός λεπτού στρώματος υγρού ή αερίου. Χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές που απαιτούν μεταφορά μεγάλων φορτίων, υψηλή ταχύτητα ή μεγάλη ακρίβεια. Τέλος είναι πιο φτηνά και πιο αθόρυβα από τα ρουλεμάν με στοιχεία κύλισης και δεν φθείρονται.
4. Μαγνητικά ρουλεμάν (Magnetic Bearings). Είναι έδρανα τα οποία αντισταθμίζουν τη δύναμη που τους ασκείται με τη χρήση μαγνητών και της μαγνητικής απώθησης. Στηρίζουν τα κινούμενα μέρη χωρίς να έρχονται σε επαφή, είναι ικανά να απωθήσουν κινούμενους άξονες, έχουν πολύ χαμηλό συντελεστή τριβής και δεν υφίστανται μηχανικές αλλοιώσεις. Μπορούν να υποστηρίξουν εξαρτήματα που κινούνται με ψηλές ταχύτητες και δεν επηρεάζονται από τις σχετικές ταχύτητες. Χρησιμοποιούνται σε βιομηχανικές εφαρμογές (παραγωγή ηλεκτρικού ρεύματος, ανεύρεση πετρελαίου, στη λειτουργία εξαρτημάτων μηχανής).

2.5.3.3.2 Επιλογή έδρασης

Για τη συγκεκριμένη εφαρμογή απαιτούνται γραμμικά ρουλεμάν καθώς η κίνηση της βάσης γίνεται στο ίδιο επίπεδο. Το φορτίο που μετακινούν είναι μικρό (βάρος συσκευής + το βάρος των δειγμάτων) και το μέγεθος τους πρέπει να είναι μικρό. Καθώς τα ρουλεμάν με μικρό μέγεθος και μεγάλη ακρίβεια έχουν υψηλό κόστος, αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθούν ρουλεμάν από τα αποθέματα του εργαστηρίου. Με αυτό το τρόπο επηρεάζεται το μέγεθος και το βάρος της συσκευής. Τα διαθέσιμα ρουλεμάν είναι γραμμικά ρουλεμάν με χρήση σφαιρικών στοιχείων κύλισης (Εικόνα 67 «κάτω αριστερά») και κυλινδρικών στοιχείων κύλισης (Εικόνα 67 «κάτω δεξιά»).

Τα πρώτα αποτελούνται από δυο κομμάτια. Μια ράγα και ένα μπλοκ (Εικόνα 67 «πάνω δεξιά»). Μέσα στο μπλοκ υπάρχουν μικρές σφαίρες, οι οποίες κυλούνται πάνω στη ράγα. Όταν ένα φορτίο ασκείται στο μπλοκ, το φορτίο μεταφέρεται και ισομοιράζεται στις σφαίρες.

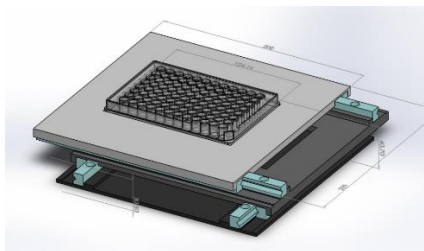


Εικόνα 67: Πάνω Αριστερά: Ρουλεμάν επιφανείας (Πηγή: www.designworldonline.com.) Πάνω Δεξιά: Αρχή λειτουργίας σε γραμμικά ρουλεμάν με σφαιρικά στοιχεία κύλισης (Πηγή: machinedesign.com). Κάτω Αριστερά: Γραμμικά ρουλεμάν με κυλινδρικά στοιχεία κύλισης. Τα ρουλεμάν αποτελούνται από μια βάση και μια ράγα. Κάτω δεξιά: Γραμμικά ρουλεμάν με κυλινδρικά στοιχεία κύλισης (Πηγή: www.designworldonline.com)

Τα ρουλεμάν με κυλινδρικά στοιχεία κύλισης αποτελούνται από τρία μέρη. Υπάρχουν δύο ράγες και ανάμεσα σε αυτές υπάρχει μια ταινία, η οποία φέρει πάνω της κάποια κυλινδρικά στοιχεία. Όταν

κινείται το ένα μέρος, οι κύλινδροι κυλούνται πάνω στη ράγα του δεύτερου μέρους. Με αυτό το τρόπο το φορτίο μεταφέρεται στους κυλίνδρους.

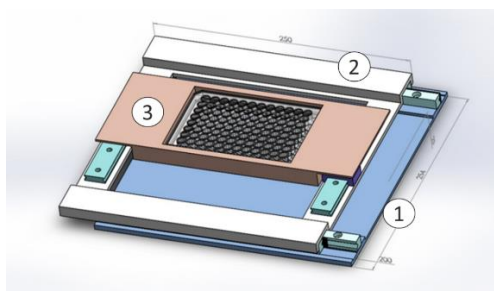
Τα κυλινδρικά έδρανα είναι ήδη εγκατεστημένα σε μια βάση του εργαστηρίου. Στην περίπτωση που χρησιμοποιηθούν αυτά πρέπει να δημιουργηθεί προένταση μεταξύ των ραγών, ώστε να καταπολεμηθεί ο τζόγος. Τζόγος είναι η κατάσταση κατά την οποία, δύο εξαρτήματα δεν έχουν σφικτή συναρμογή, με αποτέλεσμα να υπάρχει περιθώριο κίνησης μεταξύ αυτών. Αν δεν υπάρχει προένταση η κύλιση δεν είναι απόλυτα λειτουργική και το σύστημα μπορεί να χάσει ακρίβεια. Όμως το να κατασκευαστεί ένα τέτοιο σύστημα, που θα προκαλεί προένταση στα έδρανα, μέσα στο εργαστήριο, είναι δύσκολο και χρονοβόρο. Επομένως ή θα χρησιμοποιηθεί (1)η βάση ως έχει, ή (2) σε συνδυασμό με τα υπόλοιπα διαθέσιμα έδρανα, ή (3) μόνο τα έδρανα με τα σφαιρικά στοιχεία κύλισης.



Εικόνα 68: Αντικειμενοφόρος βάση με χρήση εξ ολοκλήρου κυλινδρικών στοιχείων κύλισης (γαλάζιο χρώμα)

Η βάση ως έχει (Εικόνα 68) δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί, διότι παραβιάζει τις προδιαγραφές σε ότι αφορά το ύψος. Το διαθέσιμο ύψος είναι 35mm, ενώ η υπάρχουσα βάση είναι >45mm. Επομένως πρέπει να ελεγχθεί η δεύτερη επιλογή, που είναι ο συνδυασμός των δύο εδράσεων.

Προς αυτή τη κατεύθυνση κατασκευάστηκε στο Solidworks ένα πρωτότυπο (Εικόνα 69). Από την υπάρχουσα βάση χρησιμοποιήθηκε το κάτω μέρος («1» Εικόνα 69) μαζί με τα δύο γραμμικά έδρανα κύλισης, που χρησιμοποιούν τα κυλινδρικά στοιχεία («1»). Με αυτό το τρόπο το δείγμα μας (πλάκα με τα πηγάδια) θα κινείται στον Χ άξονα. Πάνω από αυτό θα πρέπει να εγκατασταθεί ένα σύστημα το οποίο θα κινεί τη πλάκα στον Υ άξονα. Το σύστημα αυτό αποτελείται από μία πλάκα («2» Εικόνα 69) και από τα δεύτερα γραμμικά, που χρησιμοποιούν τα σφαιρικά στοιχεία κύλισης. Πάνω σε αυτά στερεώνεται μια τρίτη πλάκα («3» Εικόνα 69), η οποία φέρει το δείγμα. Κατά τη μελέτη αυτού του συστήματος διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχει διαθέσιμος χώρος για το εύρος κίνησης που απαιτείται. Πιο συγκεκριμένα, ο Χ άξονα πληρεί τις προδιαγραφές, ενώ η κίνηση στον Υ άξονα όχι. Το εύρος κίνησης περιορίζεται από την ήδη υπάρχουσα πλάκα («1»), τις οποίες τα γραμμικά έχουν σταθερή απόσταση.

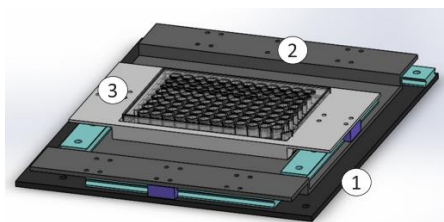


Εικόνα 69: Συνδυασμός σφαιρικών και κυλινδρικών εδράνων κύλισης

Αποφασίστηκε τελικά να κατασκευαστεί ένα σχέδιο από την αρχή. Το σύστημα αυτό θα χρησιμοποιήσει τα ευθύγραμμα σφαιρικά έδρανα κύλισης. Στο εργαστήριο υπάρχουν δύο διαθέσιμα, με μήκη: 1) 310mm (X3) και 2) 174mm (X2).

Το πρώτο σχέδιο φαίνεται στην Εικόνα 70. Αποτελείται από τρεις πλάκες και 4 γραμμικά έδρανα, τα οποία είναι ανά δύο ίδια. Η πρώτη πλάκα («1») στερεώνεται πάνω στο μικροσκόπιο και φέρει τα δυο

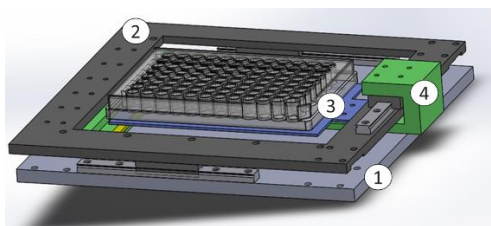
γραμμικά έδρανα, τα οποία συγκρατούν όλη τη συσκευή και την κινούν στον Χ άξονα. Ο άξονας αυτός έχει και το μεγαλύτερο εύρος κίνησης. Πάνω στα γραμμικά στερεώνεται η δεύτερη πλάκα («2»). Τα γραμμικά που βρίσκονται σε αυτήν χρησιμεύουν στην μετακίνηση των δειγμάτων κατά τον Υ άξονα. Πάνω στα γραμμικά αυτά στερεώνεται η τρίτη πλάκα («3»). Ο ρόλος της είναι να φέρει τα δείγματα.



Εικόνα 70 Σχεδιασμός αντικειμενοφόρου βάσης: Πρώτη έκδοση. Αποτελείται από τέσσερα γραμμικά ρουλεμάν με σφαιρικά έδρανα κύλησης. Η δεύτερη πλάκα έχει αυτή τη γεωμετρία προκειμένου να αξιοποιείται το διαθέσιμο ύψος κατά το βέλτιστο. Η τρίτη πλάκα κινείται κατά τον Υ άξονα και φέρει τα δείγματα.

Ο λόγος που κατασκευάστηκε αρχικά κατά αυτό το τρόπο είναι, ώστε τα δύο παράλληλα επίπεδα που ορίζουν τα 4 γραμμικά έδρανα να είναι όσο τον δυνατόν πιο κοντά μεταξύ τους, για να μειωθεί όσο το δυνατόν περισσότερο το ύψος της συσκευής. Όμως τα εξαρτήματα που αποτελούν το συγκεκριμένο σχέδιο είναι δύσκολα κατεργάσιμα, καθώς περιέχουν πολλές γωνίες. Πιο συγκεκριμένα η δεύτερη και η τρίτη πλάκα έχουν περίεργη διαμόρφωση, η οποία δυσκολεύει τη κατεργασία τους και ίσως να επηρεάσει τη ακρίβεια της κατασκευής.

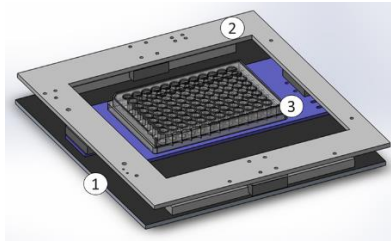
Στην κατεύθυνση της απλούστευσης των σχεδίων προτάθηκε μια δεύτερη λύση. Αυτή αποτελείται από τρεις πλάκες, οι οποίες είναι ευθύγραμμες και μπορούν να κατασκευαστούν εύκολα. Πιο συγκεκριμένα, η πρώτη πλάκα (γκρι) στερεώνεται πάνω στο μικροσκόπιο και φέρει 2 γραμμικούς οδηγούς, οι οποίοι βοηθάνε στη κίνηση στον Χ άξονα. Η δεύτερη πλάκα (μαύρη) φέρει και αυτή ένα γραμμικό οδηγό, ο οποίος συνδέεται με ένα εξάρτημα (πράσινο) στη τρίτη πλάκα. Το εξάρτημα αυτό είναι σχήματος «Π» και χρησιμεύει, ώστε να μπορεί να κινηθεί η τρίτη πλάκα στον Υ άξονα. Η τρίτη πλάκα (μπλε) φέρει τα δείγματα. Προκειμένου να μπορεί να στερεωθεί πρέπει και από την αριστερή μεριά να μπει ένας γραμμικός οδηγός. Σε αυτή τη περίπτωση επιλέγει να μπει ένας γραμμικός οδηγός ολίσθησης προκειμένου να μειωθεί ο όγκος της συσκευής.



Εικόνα 71: Σχεδιασμός αντικειμενοφόρου βάσης: Δεύτερη έκδοση. Σε αυτή την έκδοση χρησιμοποιούνται πάλι τα 3 γραμμικά έδρανα και στην κίνηση του Υ άξονα ένα έδρανο ολίσθησης (πράσινο αριστερά). Έχουν χρησιμοποιηθεί εύκολες γεωμετρίες για απλές κατεργασίες.

Οι πλάκες πλέον μπορούν να κατασκευαστούν με δισδιάστατες κατεργασίες και μειώνονται οι πιθανότητες να γίνουν κατασκευαστικές αστοχίες. Το σχέδιο αυτό όμως παρουσιάζει κάποια άλλα προβλήματα. Καταρχάς το πράσινο κομμάτι είναι αρκετά ογκώδες και έχει δύσκολη γεωμετρία, οπότε είναι δύσκολο στη κατασκευή. Το δεύτερο πρόβλημα είναι ότι, η τριβή ολίσθησης με αυτό το σύστημα είναι μεγαλύτερη απ' ότι αν χρησιμοποιούνταν ένας ακόμα γραμμικός οδηγός με σφαιρικά στοιχεία. Το μέγεθος της τριβής μπορεί να επηρεάσει την ευθύτητα της κατασκευής.

Για να αντιμετωπισθούν τα παραπάνω προβλήματα δημιουργήθηκε ένα σχέδιο, το οποίο θα περιέχει μόνο ευθύγραμμες πλάκες και όλες οι κατεργασίες για τα επιμέρους εξαρτήματα θα γίνονται σε δύο διαστάσεις. Για να γίνει αυτό οι γλίστρες προσαρμόστηκαν στο κάτω μέρος της δεύτερης πλάκας και προέκυψε το σχέδιο που παρουσιάζεται στην Εικόνα 72.



Εικόνα 72: Σχεδιασμός αντικειμενοφόρου βάσης: Τρίτη έκδοση. Σε αυτή την έκδοση χρησιμοποιήθηκαν γεωμετρικές, ώστε οι κατεργασίες που θα γίνουν να είναι 2 διαστάσεων. Έγινε χρήση τεσσάρων γραμμικών εδράνων. Τα δείγματα τοποθετούνται στην πλάκα «3».

Η κάτω πλάκα (μαύρη) φέρει τα δύο γραμμικά έδρανα, που συγκρατούν την υπόλοιπη συσκευή και την κινούν σε Χ άξονα. Οι πάνω πλάκα (άσπρη) φέρει δύο γραμμικά έδρανα, στην κάτω της πλευρά (ανεστραμμένα), τα οποία κινούν σε Υ άξονα το φορέα των δειγμάτων. Η μεσαία πλάκα (μπλε) φέρει τα δείγματα, δηλαδή στη συγκεκριμένη περίπτωση την πλάκα με τα 96 πηγάδια.

Πάνω σε αυτό το σχέδιο θα βασιστεί η υπόλοιπη κατασκευή. Θα προσαρμοστούν οι κινητήρες, οι αισθητήρες, τα γραμμικά έδρανα και ότι άλλο χρειαστεί για την μετακίνηση των δειγμάτων.

Αφού ορίστηκε ο τρόπος έδρασης και κίνησης της αντικειμενοφόρου βάσης και το βασικό σχέδιο της συσκευής, πρέπει να μελετηθούν και οι εναλλακτικές επιλογές για τον έλεγχο της θέσης.

2.5.3.4 Έλεγχος θέσης

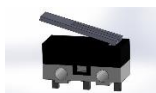
Ο έλεγχος της θέσης χωρίζεται σε 2 λειτουργίες.

- αρχικοποίηση της θέσης της βάσης, δηλαδή η δυνατότητα να ξέρει κάποιος σε ποιό σημείο βρίσκεται η βάση, όταν ξεκινάει το πρόγραμμα.
- Κίνησης βάσης σε κάποια επιθυμητή θέση.

Με τη χρήση βηματικού δεν χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί έλεγχος θέσης για την δεύτερη λειτουργία, παρά μόνο εάν υπάρχουν γρήγορες επιταχύνσεις ή μεγάλες αυξομειώσεις του βάρους. Στη συγκεκριμένη εφαρμογή το βάρος είναι σταθερό και μικρό και η επιτάχυνση του συστήματος θα ελέγχεται από το πρόγραμμα.

Ο βηματικός κινητήρας κινείται με συγκεκριμένα βήματα. Το πρόγραμμα επικοινωνεί με τον κινητήρα και του μεταφέρει πόσα βήματα πρέπει να κάνει και προς ποιά κατεύθυνση. Επομένως μπορεί να ξέρει ανά πάσα στιγμή σε ποιό σημείο βρίσκεται, αποθηκεύοντας τις απόλυτες συντεταγμένες του σημείου. Οι απόλυτες συντεταγμένες είναι τα βήματα στον Χ και τα βήματα στον Υ που θα έχει κάνει σε σχέση με ένα αρχικό σημείο. Το αρχικό σημείο αυτό πρέπει να ορίζεται στην αρχή του προγράμματος με την λειτουργία της αρχικοποίησης.

Επομένως κάθε φορά που το πρόγραμμα θα ξεκινάει, θα πρέπει το πρόγραμμα να δίνει εντολή στους κινητήρες να κινούνται προς ένα σημείο. Το σημείο αυτό πρέπει να είναι το ίδιο κάθε φορά και θα αποτελεί το «σημείο 0» του συστήματος. Ο πιο απλός και γρήγορος τρόπος για να γίνει αρχικοποίηση είναι με τη χρήση 2 κουμπιών. Το κάθε ένα από τα κουμπιά αφορά την αρχικοποίηση του κάθε άξονα. Ο ελεγκτής δίνει εντολή στους κινητήρες να κινηθούν προς μια κατεύθυνση μέχρι να πατηθεί το κουμπί. Όταν πατηθούν και τα δύο κουμπιά τότε θα έχει γίνει η αρχικοποίηση. Μετά την αρχικοποίηση μπορούν να τρέξουν και άλλοι αλγόριθμοι που θα αφορούν διαφορετικές λειτουργίες, ανάλογα με τις επιθυμίες του χρήστη.



Εικόνα 73: Κουμπί τερματισμού

Αφού ορίστηκαν οι μέθοδοι που θα χρησιμοποιηθούν για την κίνηση, την έδραση και τον έλεγχο της αντικειμενοφόρου βάσης, μπορεί να ξεκινήσει η διαδικασία σχεδιασμού του πρωτοτύπου.

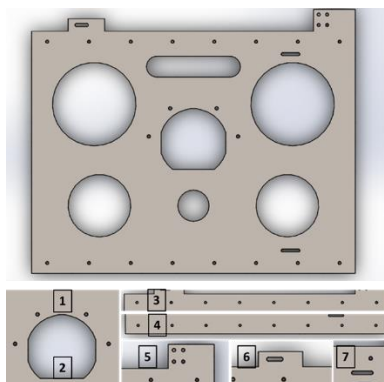
2.5.4 Λεπτομερής Σχεδιασμός

Ο σχεδιασμός θα γίνει με βασικό κριτήριο τις προδιαγραφές που θεσπίστηκαν στην αρχή της ενότητας αυτής και τις αποφάσεις που πάρθηκαν στα ξεχωριστά στάδια του εννοιολογικού σχεδιασμού.

2.5.4.1 Κατασκευαστικές λεπτομέρειες

Συνοπτικά η συσκευή που θα σχεδιαστεί θα πρέπει να έχει ύψος μέχρι 35mm, εύρος κίνησης στον Χ άξονα τουλάχιστον 128 mm και στον Υ άξονα τουλάχιστον 86 mm και να είναι όσο το δυνατόν πιο ελαφριά γίνεται, ώστε να αντέχει η βάση του μικροσκοπίου το βάρος. Ο κινητήρας που θα χρησιμοποιηθεί θα είναι βηματικός, οι γλίστρες γραμμικές με σφαιρικά στοιχεία κύλισης, μήκους 310 mm και 174 mm και η αρχικοποίηση θα γίνει με τη χρήση 2 κουμπιών

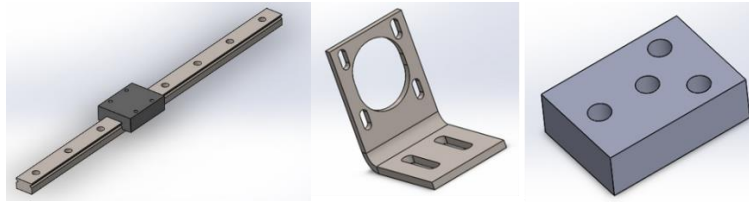
Η πρώτη φάση του σχεδιασμού αφορά την έδραση πάνω στο μικροσκόπιο. Η κάτω πλάκα θα φέρει 4 τρύπες (Εικόνα 74 [1]) και με τη χρήση βιδών θα στερεώνεται πάνω στο μικροσκόπιο. Ανάμεσα και κάτω από αυτές πρέπει να δημιουργηθεί μια διαμόρφωση ([2]), ώστε να περνάει η δέσμη φωτός που θα φωτίζει τα δείγματα και ένα σύστημα φακών, το οποίο προεξέχει από το μικροσκόπιο. Πάνω στη πλάκα αυτή θα μπουν τα δύο μεγάλα γραμμικά έδρανα (310 mm), τα οποία θα μετακινούν τη συσκευή κατά τον Χ άξονα. Τα έδρανα αυτά στηρίζονται με 8 βίδες (Εικόνα 74[3],[4]) το κάθε ένα πάνω στη πλάκα. Ο Χ άξονας έχει μεγαλύτερο εύρος κίνησης και γι' αυτό χρησιμοποιούνται τα μεγάλα σε μήκος έδρανα. Επίσης είναι πιο βαριά, οπότε πρέπει να μένουν ακίνητα, για να μην υπάρχει μετατόπιση του βάρους κατά την κίνηση. Στη συνέχεια η πλάκα πρέπει να έχει υποδοχή για τον κινητήρα που θα κινεί τη βάση στο Χ άξονα ([5]). Η κίνηση των γλιστρών πρέπει να τερματίζεται σε δύο σημεία. Ένα αριστερά και ένα δεξιά, προκειμένου να μην χαλάσει η συσκευή από λάθος χειρισμό. Για τον τερματισμό χρησιμοποιείται από την μια μεριά ένας διακόπτης ([6]) και από την άλλη μεριά μια βίδα ([7]). Και τα δύο αυτά εξαρτήματα πρέπει να είναι κυμαινόμενα για να ρυθμίζονται ανάλογα με τις απαιτήσεις του συστήματος. Γι' αυτό το λόγο δημιουργήθηκαν αυλάκια στα οποία μπορούν να προσαρμοστούν. Τέλος καθώς η επιφάνεια της πλάκας είναι αρκετά μεγάλη το καθιστά και αρκετά βαρύ. Γι' αυτό το λόγο δημιουργήθηκαν τρύπες, οι οποίες το ελαφρύνουν. Όλες οι παραπάνω λειτουργίες φαίνονται στην Εικόνα 74.



Εικόνα 74: Διαμόρφωση τρυπών στη κάτω πλάκα. Πάνω: κάτοψη του εξαρτήματος. Κάτω: Λεπτομέρειες σε διάφορα σημεία της πλάκας

Το πάχος της συγκεκριμένης πλάκας είναι 2 mm και το υλικό επιλέχθηκε να είναι ανοξειδωτο ασάλι που είναι αρκετά ανθεκτικό σε κάμψη. Τα επιμέρους εξαρτήματα παρουσιάζονται στη συνέχεια:

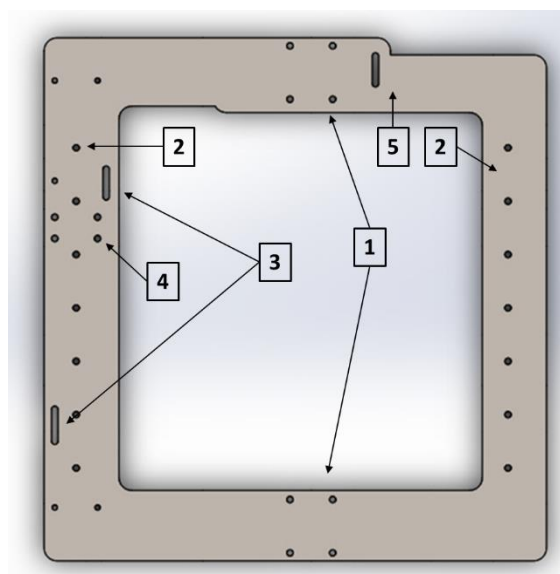
- Έδρανα: Τα έδρανα αποτελούνται όπως φαίνεται και στην Εικόνα 75 από μια ράγα (μήκους 310 mm) και από ένα μπλοκ (γκρι) το οποίο κυλιέται πάνω στη ράγα. Η ράγα βιδώνεται στο κάτω μέρος και το μπλοκ στο εξάρτημα, που κινείται από πάνω.



Εικόνα 75: Αριστερά: Γραμμικά έδρανα 310mm Κέντρο:: Βάση κινητήρα του Χ άξονα. Δεξιά: Βάση κουμπιού τερματισμού

- Βάση κινητήρα: Η βάση του κινητήρα (Εικόνα 75) κατασκευάζεται από ανοξείδωτο ασάλι. Και δίνεται η δυνατότητα προσαρμογής του ύψους του κινητήρα. Η κατεργασία του γίνεται σε laser και έπειτα με στραντζάρισμα δημιουργείται η γωνία.
- Βάση κουμπιού τερματισμού: Η βάση κουμπιού (Εικόνα 75) είναι ένα απλό κομμάτι το οποίο ανυψώνει τη θέση του διακόπτη και ρυθμίζει, σε ποιό σημείο θα εγκατασταθεί. Το υλικό κατασκευής του μπορεί να είναι είτε plexiglass, είτε αλουμίνιο.

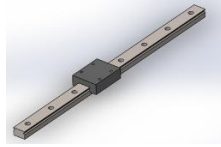
Τα μπλοκ των γραμμικών εδράνων στον Χ άξονα στερεώνουν την δεύτερη πλάκα με 4 βίδες το καθένα (Εικόνα 76 [1]). Πάνω σε αυτήν στερεώνονται τα άλλα δύο γραμμικά έδρανα (174 mm) μέσα από δύο σειρές από 7 βίδες ([2]). Τα έδρανα αυτά μεταφέρουν το φορέα της πλάκας των δειγμάτων. Έχει δύο τερματικές θέσεις ([3]), μία που ορίζεται από ένα κουμπί, το οποίο έχει ρυθμιζόμενη θέση και μια που ορίζεται με ένα μηχανικό στοπ. Ο κινητήρας που κινεί το φορέα των δειγμάτων στον Υ άξονα στερεώνεται σε μια ειδικά διαμορφωμένη βάση και αυτή πάνω στη πλάκα. Η στερέωση γίνεται με 4 τρύπες ([4]). Στο πάνω σημείο βρίσκεται ένα αυλάκι ([5]), το οποίο χρησιμεύει για την στερέωση του άξονα του κινητήρα. Το εξάρτημα αυτό έχει τη δυνατότητα προσαρμογής στον Υ άξονα και στην άκρη του σφηνώνεται ο άξονας του κινητήρα. Τέλος για την κίνηση των δειγμάτων μέσα στο χώρο της πλάκας γίνεται μια τρύπα. Αναλυτικά παρακάτω φαίνεται το κάθε επιμέρους εξάρτημα.



Εικόνα 76: Δεύτερη πλάκα. Εξήγηση κάθε διαμόρφωσης

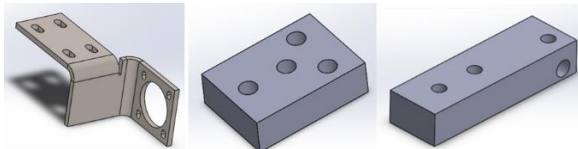
Η πλάκα έχει πάχος 2 mm, είναι κατασκευασμένη από ανοξείδωτο ασάλι, και κατασκευάστηκε με κοπή σε laser από την εταιρεία Steelmaxenergy, όπως και τα υπόλοιπα εξαρτήματα του ίδιου υλικού. Τα επιμέρους εξαρτήματα που προσαρμόζονται στην δεύτερη πλάκα παρουσιάζονται στη συνέχεια:

- Έδρανα: Τα έδρανα αποτελούνται (Εικόνα 77) από μια ράγα μήκους 174 mm και από ένα μπλοκ το οποίο κυλιέται πάνω στη ράγα. Η ράγα βιδώνεται στη πλάκα (Εικόνα 76) και το μπλοκ στον φορέα των δειγμάτων, ο οποίος κινείται στο Υ επίπεδο μέσω ενός κινητήρα.



Εικόνα 77: Γραμμικά έδρανα (174mm)

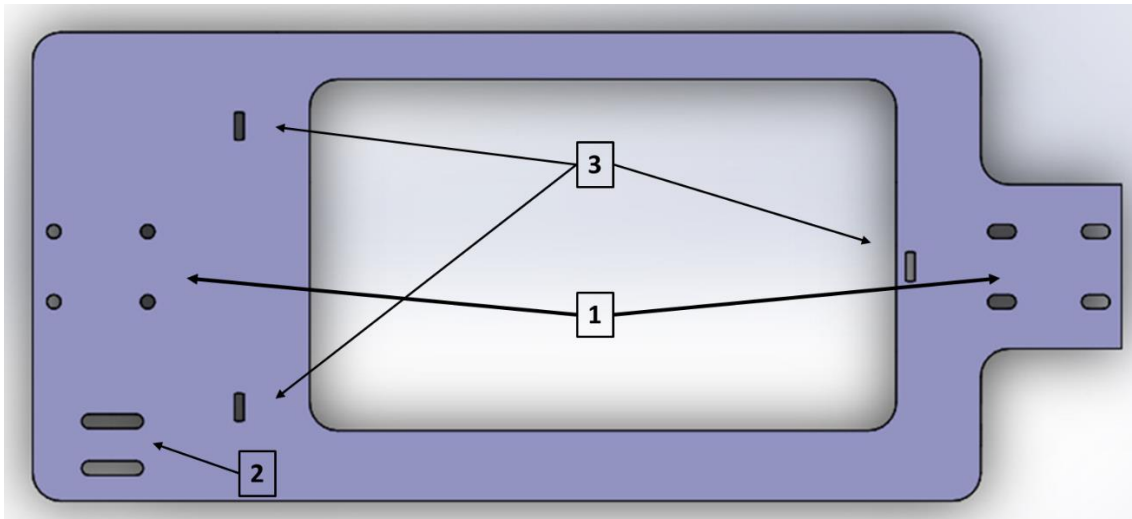
- Βάση κινητήρα: Η βάση του κινητήρα (Εικόνα 78) δίνει τη δυνατότητα προσαρμογής του ύψους (δεξί μέρος) και της θέσης (πάνω μέρος) του κινητήρα στο χώρο. Κατασκευάζεται κόβοντας πρώτα φύλο ανοξείδωτου ατσαλιού σε laser, και έπειτα δημιουργείται η γωνία με στραντζάρισμα.
- Βάση κουμπιού τερματισμού: Η βάση κουμπιού (Εικόνα 78) ανυψώνει τη θέση του διακόπτη και ρυθμίζει, σε ποιο σημείο θα εγκατασταθεί. Το υλικό κατασκευής του μπορεί να είναι είτε plexiglass, είτε αλουμίνιο.
- Στήριγμα άξονα κινητήρα για κίνηση στο X επίπεδο (Εικόνα 78): στερεώνει τον άξονα του κινητήρα. Με αυτό το τρόπο όταν ο κινητήρας κινεί τον άξονα, κινείται και η πλάκα μαζί. Οι δυο βίδες αριστερά υπάρχουν για την στήριξη πάνω στην πλάκα, η δεξιά τρύπα στην πάνω επιφάνεια για την σκουλικόβιδα που θα πιέσει τον άξονα και η τρύπα από κάτω για να μπει ο άξονας. Το υλικό κατασκευής είναι αλουμίνιο.



Εικόνα 78: Αριστερά: Βάση κινητήρα του Y άξονα. Κέντρο: Βάση κουμπιού τερματισμού. Δεξιά: Στήριγμα άξονα κινητήρα X.

Σε αυτό το σημείο θα γίνει αναφορά στην υποσυσκευή που θα φέρει τα δείγματα. Οι λειτουργίες που πετυχαίνει αυτή η συσκευή είναι, (1) η μεταφορά των δειγμάτων, (2) η ρύθμιση του ύψους και (3) η σταθερή στερέωση της. Επομένως πρέπει να δημιουργηθούν μηχανισμοί και εξαρτήματα που θα ικανοποιούν αυτές τις απαιτήσεις. Τα βασικότερα εξαρτήματα αυτής της συσκευής είναι η πλάκα που κινείται στον Y άξονα και η πλάκα που φέρει τα δείγματα.

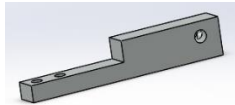
Η πρώτη εκ των δύο πλακών (Εικόνα 79) στερεώνεται με 4 βίδες [1] στα γραμμικά έδρανα της δεύτερης πλάκας, ώστε να κινείται ελεύθερα σε Y επίπεδο. Για να είναι δυνατή η κίνηση, πρέπει ο άξονας του κινητήρα να συνδέεται με την πλάκα αυτή. Δημιουργήθηκε έτσι ένα εξάρτημα, το οποίο βιδώνεται στην πλάκα [2] και σφηνώνει τον άξονα. Το εξάρτημα αυτό μπορεί να ρυθμιστεί σε X επίπεδο ανάλογα με την απόσταση από τον άξονα. Οι διαστάσεις της επηρεάζονται από το εύρος κίνησης του συστήματος. Στο κέντρο έχει μια τρύπα, ώστε να είναι δυνατός ο φωτισμός του δείγματος. Στην παρακάτω εικόνα φαίνονται 3 ορθογώνιες τρύπες [3]. Αυτές εξηγούνται παρακάτω.



Εικόνα 79: 1^η πλάκα φορέα δειγμάτων

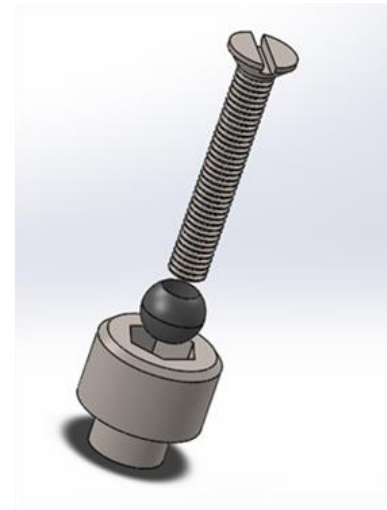
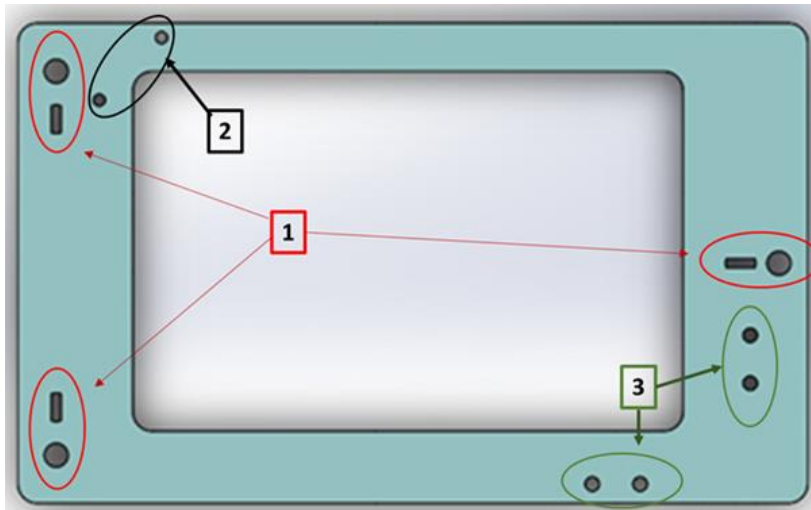
Το πάχος της συγκεκριμένης πλάκας είναι 2 mm, το υλικό είναι ανοξειδωτο αστάλι και κατασκευάζεται με κοπή σε laser, εκτός εργαστηρίου. Τα επιμέρους εξαρτήματα που συνδέονται με αυτή τη πλάκα είναι:

- Στήριγμα άξονα κινητήρα κίνησης στο Y επίπεδο (Εικόνα 80). Το εξάρτημα αυτό χρησιμεύει για να σφηνώνει τον άξονα του κινητήρα. Με αυτό το τρόπο όταν ο κινητήρας κινεί τον άξονα, κινείται και η πλάκα μαζί. Οι δυο βίδες αριστερά υπάρχουν για την στήριξη πάνω στην πλάκα. Η τρύπα στο δεξί μέρος χρησιμεύει για την είσοδο του άξονα. Ο άξονας σφηνώνεται με σκουλικόβιδα από την δεξιά μεριά. Το υλικό κατασκευής είναι αλουμίνιο.



Εικόνα 80: Στήριγμα άξονα κινητήρα (Y)

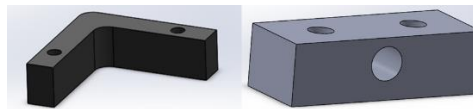
Στη πλάκα που φέρει τα δείγματα (Εικόνα 82), πρέπει να ρυθμίζεται το ύψος. Για το λόγο αυτό δημιουργήθηκε ένα σύστημα βίδες, σφαίρες ρουλεμάν και ένα ελαστομερές. Έγιναν τρύπες στις σφαίρες προκειμένου να περάσουν οι βίδες από μέσα και στερεώθηκαν στις τρύπες της πλάκας (Εικόνα 82). Επειδή οι τρύπες τις πλάκας είναι μεγαλύτερες από τις σφαίρες, χρησιμοποιήθηκαν κάποιες μεγαλύτερες βίδες στις οποίες έγιναν τρύπες κατά μήκος τους. Το εξάρτημα αυτό αναπαρίσταται στην Εικόνα 81. Ο λόγος που διαμορφώθηκε με αυτό το τρόπο η ρύθμιση του ύψους, είναι ώστε να υπάρχει καλύτερη έδραση μεταξύ των διαφορετικών πλακών. Οι σφαίρες έχουν απόλυτη συναρμογή και με την βίδα και με την πλάκα. Με το τρόπο αυτό ορίζονται τρία σημεία τα οποία ρυθμίζουν την κλίση και το ύψος του δείγματος. Η πλάκα στο κέντρο της έχει μια ορθογώνια τρύπα για τον φωτισμό των δειγμάτων. Προκειμένου τα δείγματα να είναι στερεωμένα και να μην μετακινούνται με την μετακίνηση όλης της συσκευής, δημιουργήθηκε ένα σύστημα συγκράτησης. Το σύστημα αυτό αποτελείται από 3 εξαρτήματα. Μια γωνία, που στερεώνεται με δυο βίδες [2] και δύο ελατήρια, που επίσης στερεώνονται με δυο βίδες το καθένα [3].



Εικόνα 82: Αριστερά: Πλάκα που φέρει τα δείγματα. Δεξιά: Σύστημα ρύθμισης ύψους

Το πάχος της συγκεκριμένης πλάκας είναι 2 mm, το υλικό είναι ανοξείδωτο ασάλι και κατασκευάζεται με κοπή σε laser, εκτός εργαστηρίου. Τα επιμέρους εξαρτήματα που συνδέονται με αυτή τη πλάκα είναι:

- Γωνία στήριξης δείγματος (Εικόνα 83). Όταν ο χρήστης βάζει το δείγμα πρώτα το στερεώνει στη γωνία αυτή.



Εικόνα 83: Αριστερά: Γωνία στήριξης δειγμάτων. Δεξιά: Βάση ελατηρίου

- Ελατήρια. Με τη χρήση ελατηρίων γίνεται η σταθεροποίηση της βάσης. Το συγκεκριμένο ελατήριο είναι ένας κορμός με σπείρωμα, που στην άκρη του φέρει ένα μικρό ελατήριο συνδεδεμένο με μπίλια. Όταν βρίσκει αντίσταση η μπίλια σπρώχνει το ελατήριο και αυτό συρρικνώνεται.
- Βάση ελατηρίων (Εικόνα 83). Τα ελατήρια βιδώνονται πάνω σε μια βάση. Όστε να ρυθμίζεται η απόσταση από το τεμάχιο. Με αυτό το τρόπο γίνεται καλύτερη συνεργασία του ελατηρίου με το δείγμα. Στη μονή τρύπα μπαίνει το ελατήριο και με τις κάθετες στερεώνεται η βάση στη πλάκα.

2.5.4.2 Επιλογή κινητήρα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στον εννοιολογικό σχεδιασμό θα χρησιμοποιηθεί βηματικός κινητήρας με περαστό κοχλία κίνησης. Προκειμένου να επιλεγεί ο κατάλληλος για την εφαρμογή κινητήρας, πρέπει να υπολογισθεί η ροπή που απαιτείται και η ταχύτητα με την οποία θέλουμε να κινείται η βάση. Η ροπή που χρειάζεται για να κινηθούν τα επιμέρους μέρη της συσκευής εξαρτάται άμεσα από το βάρος της. Με τη χρήση του SolidWorks υπολογίστηκαν τα βάρη του κάθε εξαρτήματος, τα οποία παρουσιάζονται στο παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 5: Χαρακτηριστικά κατασκευάσιμων εξαρτημάτων

		material	height (mm)	weight (gram)	posothta
1	Βάση συσκευής στο μικροσκόπιο	Stainless Steel	2	808	1
2	Βάση 2ου επιπέδου	Stainless Steel	2	413	1
3	Βάση στήριξης φορέα 96αρας	Stainless Steel	2	183	1
4	Φορέας 96αρας	Stainless Steel	2	121	1
5	Βάση κινητήρα Χ άξονα στραντζα	Stainless Steel	2	15	1
6	Βάση κινητήρα Υ άξονα στραντζα	Stainless Steel	2	25	1
7	Ανυψωτικό για μεσαία βάση	Ημίσκληρο Αλουμινιο	5	18	2
8	Στηριγμα Υ άξονα	Ημίσκληρο Αλουμινιο	4	5	1
9	Στήριγμα Χ άξονα	Ημίσκληρο Αλουμινιο	6	6	1
10	Βάση για κουμπί Χ άξονα	Ημίσκληρο Αλουμινιο	5	4	1
11	Βάση για κουμπί Υ άξονα	Ημίσκληρο Αλουμινιο	5	4	1
12	Στοπ κίνησης στο Χ επίπεδο	Ημίσκληρο Αλουμινιο	6	4	1
13	Στοπ κίνησης στο Υ επίπεδο	Ημίσκληρο Αλουμινιο	6	4	1
14	Βάση ελατηρίου 96άρας	Ημίσκληρο Αλουμινιο	6	2	2
15	Γωνιακό κομμάτι για στήριγμα 96αρας	Ημίσκληρο Αλουμινιο	6	2	1
			total:	1634	

Συνολικά τα κατασκευαστικά κομμάτια της συσκευής ζυγίζουν περίπου 1.600 γραμμάρια. Σε αυτό το μέγεθος δεν έχουν προστεθεί οι βίδες, οι κινητήρες, γραμμικά έδρανα, οι αισθητήρες και τα ηλεκτρονικά. Το βάρος υπολογίζεται να φτάσει στα 2kg περίπου, που είναι ανεκτή τιμή. Κάθε κινητήρας όμως δεν θα μεταφέρει όλο το βάρος της συσκευής.

Ο κινητήρας που κινεί τη βάση κατά τον Χ άξονα πρέπει να είναι ικανός να μεταφέρει το βάρος όλων των εξαρτημάτων που βρίσκεται πάνω στη δεύτερη πλάκα (ήσει τα δείγματα στον Χ άξονα.

Πίνακας 6). Το κέντρο βάρους των εξαρτημάτων αυτών είναι μεταβαλλόμενο, καθώς υπάρχει η κίνηση στον Υ άξονα. Κατά αυτό το τρόπο, άλλοτε στη μια γλίστρα θα ασκείται περισσότερη δύναμη και άλλοτε στην άλλη. Για τους υπολογισμούς θεωρείται ότι σε κάθε γλίστρα ασκείται όλο το βάρος των εξαρτημάτων που θα μεταφέρουν, δηλαδή ότι κάθε γλίστρα δέχεται 1.1 kg δύναμη. Με αυτό το τρόπο θα υπολογιστεί με ένα ποσοστό ασφαλείας η ροπή που χρειάζεται ο κινητήρας για να τα κινήσει τα δείγματα στον Χ άξονα.

Πίνακας 6: Βάρος εξαρτημάτων που στηρίζονται στους γραμμικούς οδηγούς της βάσης της συσκευής

#	Όνομα εξαρτήματος	Βάρος	Ποσότητα
1	Βάση 2ου επιπέδου	413	1
2	Βάση στήριξης φορέα 96αρας	183	1
3	Φορέας 96αρας	121	1
4	Βάση κινητήρα Υ άξονα στραντζα	25	1
5	Στηριγμα Υ άξονα	5	1
6	Βάση για κουμπί Υ άξονα	4	1
7	Στοπ κίνησης στο Υ επίπεδο	4	1
8	Βάση ελατηρίου 96άρας	2	2
9	Γωνιακό κομμάτι για στήριγμα 96αρας	2	1
10	Γλίστρες 174mm	65	2
11	Μπλόκ για γλίστρα 174mm	35	2
12	Κινητήρας (στο περίπου)	60	1
	total:	1021	

Οι γλίστρες που χρησιμοποιήθηκαν έχουν συντελεστή τριβής 0.001 και το βάρος που τους ασκείται είναι 11N. Επομένως η τριβή που αναπτύσσεται κατά την κίνηση είναι:

$$T = N \times \mu = 11 \times 0.001 = 0.011 N$$

Όπου τ είναι η ροπή τριβής, μ είναι ο συντελεστής τριβής, και N είναι η κάθετη δύναμη στην επιφάνεια. Η δύναμη αυτή είναι αρκετά μικρή και η ροπή που χρειάζεται ο κινητήρας για να μετακινήσει τα κομμάτια αυτά είναι εξίσου μικρή. Αντίστοιχα ο κινητήρας που κινεί τη συσκευή κατά τον Y άξονα πρέπει να μεταφέρει το βάρος του φορέα των δειγμάτων. Το βάρος αυτών των εξαρτημάτων παρουσιάζεται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7: Βάρος εξαρτημάτων που στηρίζονται στους γραμμικούς οδηγούς της δεύτερης πλάκας

#	Όνομα εξαρτήματος	Βάρος	Ποσότητα
1	Βάση στήριξης φορέα 96αρας	183	1
2	Φορέας 96αρας	121	1
3	Στηριγμα Y άξονα	5	1
4	Βάση για κουμπί Y άξονα	4	1
5	Βάση ελατηρίου 96άρας	2	2
6	Γωνιακό κομμάτι για στήριγμα 96αρας	2	1
total:		319	

Το βάρος των εξαρτημάτων είναι 319 γραμμάρια, λιγότερα από τα προηγούμενα. Επομένως η ροπή του κινητήρα που απαιτείται για την κίνηση στον Y άξονα θα είναι ακόμα μικρότερη από αυτή που απαιτείται για τη κίνηση στον X άξονα.

Οι κινητήρες που επιλέχθηκαν είναι γραμμικοί επενεργητές της εταιρίας Nanotec, μοντέλο L2018S0604-T3,5X1. Η ροπή συγκράτησης είναι 30N, επομένως στη κανονική λειτουργία μπορούν να λειτουργήσουν εύκολα στο 60% αυτής της ροπής, άρα στο 18N. Όπως γίνεται κατανοητό η ροπή αυτή αρκεί για τις λειτουργίες μας.

2.5.4.3 Έλεγχος θέσης

Σε ότι αφορά τον έλεγχο θέσης η αρχικοποίηση έγινε με δύο αναλογικά κουμπιά. Κάθε ένα από αυτά βρίσκονται στους άξονες κίνησης και όταν ενεργοποιηθούν και τα δύο ολοκληρώνεται η αρχικοποίηση. Για τον έλεγχο της θέσης ανά πάσα στιγμή δεν χρειάζεται να χρησιμοποιηθεί κάποιο επιπλέον εξάρτημα ή μηχανισμός. Ο έλεγχος θα γίνει μόνο μέσω του προγράμματος. Θα χρησιμοποιηθούν απόλυτες συντεταγμένες, οπότε το πρόγραμμα θα ξέρει ανά πάσα στιγμή σε ποιες συντεταγμένες βρίσκεται η βάση. Με αυτό το τρόπο δεν προστατεύεται το σύστημα από τις απώλειες βημάτων.

Σε αυτό το σημείο αξίζει να αναφέρουμε ό,τι ο κινητήρας που χρησιμοποιήθηκε έχει ανάλυση κίνησης 5 μm . Αυτό σημαίνει ό,τι κάθε βήμα αντιστοιχεί σε ευθύγραμμη μετατόπιση του άξονα (άρα και των δειγμάτων) κατά 0.005mm. Επομένως κάθε χαμένο βήμα αντιστοιχεί σε απώλεια ακρίβειας 5 μm . Όμως ο κινητήρας αυτός θα χρησιμοποιηθεί με μικροβηματισμό, είτε 1/8, είτε 1/16. Δηλαδή πλέον η ανάλυση θα είναι 0.625 μm ή 0.3125 μm αντίστοιχα. Όπως λοιπόν γίνεται κατανοητό είναι μικρή η επίδραση μερικών χαμένων βημάτων. Η ακρίβεια που έχει οριστεί από τις προδιαγραφές είναι 25 μm , που αντιστοιχεί σε 40 ή 80 χαμένα βήματα. Όμως πρέπει να ληφθεί υπόψη, ό,τι η κίνηση δεν θα είναι προς μια μόνο κατεύθυνση. Θα γίνονται συνεχείς εναλλαγές, το οποίο ευνοεί την ακρίβεια του συστήματος. Για παράδειγμα αν κινούμενο το σύστημα προς τη μια κατεύθυνση χάσει 20 βήματα και μετά αλλάξει κατεύθυνση και χάσει άλλα 20 βήματα, τότε θα γυρίσει ακριβώς στο ίδιο σημείο. Οπότε αλληλοκαλύπτεται η απώλεια βημάτων σε κάθε κατεύθυνση και στο τέλος μένει ένα αρκετά ακριβές σύστημα. Η τελική μορφή μικροβηματισμού που θα χρησιμοποιηθεί, θα εξαρτηθεί από τον έλεγχο λειτουργίας της συσκευής. Ανάλογα με την ανάλυση που απαιτείται και τις δυνατότητες και απαιτήσεις του συστήματος, θα αποφασιστεί η μέθοδος διαίρεσης βημάτων.

2.5.5 Προγραμματισμός - Συνδεσμολογία

Για την αυτοματοποίηση της κίνησης της αντικειμενοφόρου βάσης απαιτείται (όπως περιεγράφηκε στην ενότητα 2.4.5) ο έλεγχος της κίνησης των δύο βηματικών κινητήρων της μέσω δύο οδηγών βηματικού κινητήρα (stepper driver). Οι οδηγοί που επιλέχθηκαν είναι ίδιοι με αυτόν που χρησιμοποιήθηκε στην προηγούμενη λειτουργία, και παρέχουν την ικανότητα κίνησης τόσο σε ολόκληρα βήματα όσο και μικροβηματισμού. Υπάρχουν 5 τύποι διαίρεσης βημάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ελέγχονται με του διακόπτες MS1, MS2, MS3 (Εικόνα 84).



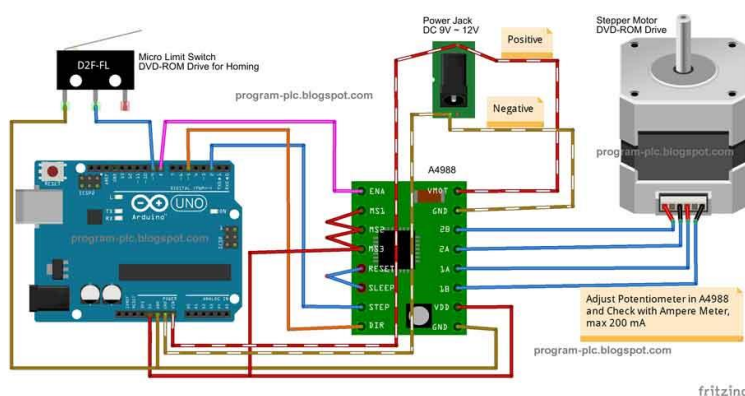
Εικόνα 84: Χαρακτηριστικά A4988 Pololu Πηγή: www.pololu.com

Με το κατάλληλο συνδυασμό ανοιχτών και κλειστών σημάτων μπορεί να γίνει βηματική κίνηση με διαίρεση 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16. Προσοχή πρέπει να δοθεί, όταν αλλάζει η μέθοδος βηματισμού, καθώς πρέπει να αλλάξει το ρεύμα που θα δοθεί στο σύστημα.

Πίνακας 8: Σήματα ελέγχου για διαίρεση βήματος

MS1	MS2	MS3	Διαίρεση Βήματος
Low	Low	Low	1
High	Low	Low	1/2
Low	High	Low	1/4
High	High	Low	1/8
High	High	High	1/16

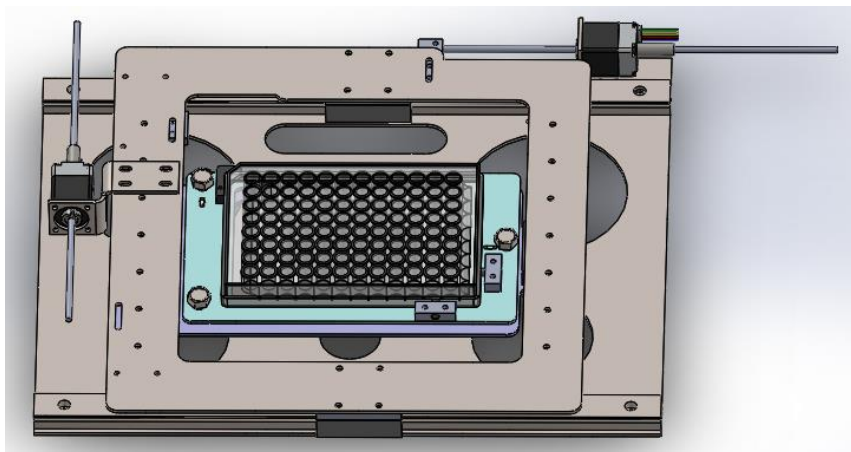
Η συνδεσμολογία είναι παρόμοια με αυτή της λειτουργίας της μετακίνησης του φορέα οπτικών φίλτρων, με τη διαφορά ότι στη παρούσα θα χρησιμοποιηθούν κουμπιά για την αρχικοποίηση. Επίσης για τον έλεγχο της μορφής βηματισμού πρέπει να συνδεθούν όλα τα MS# με τις ψηφιακές πύλες του μικροεπεξεργαστή. Με αυτό το τρόπο θα είναι δυνατός ο έλεγχος του βηματισμού του κινητήρα μέσα από το πρόγραμμα.



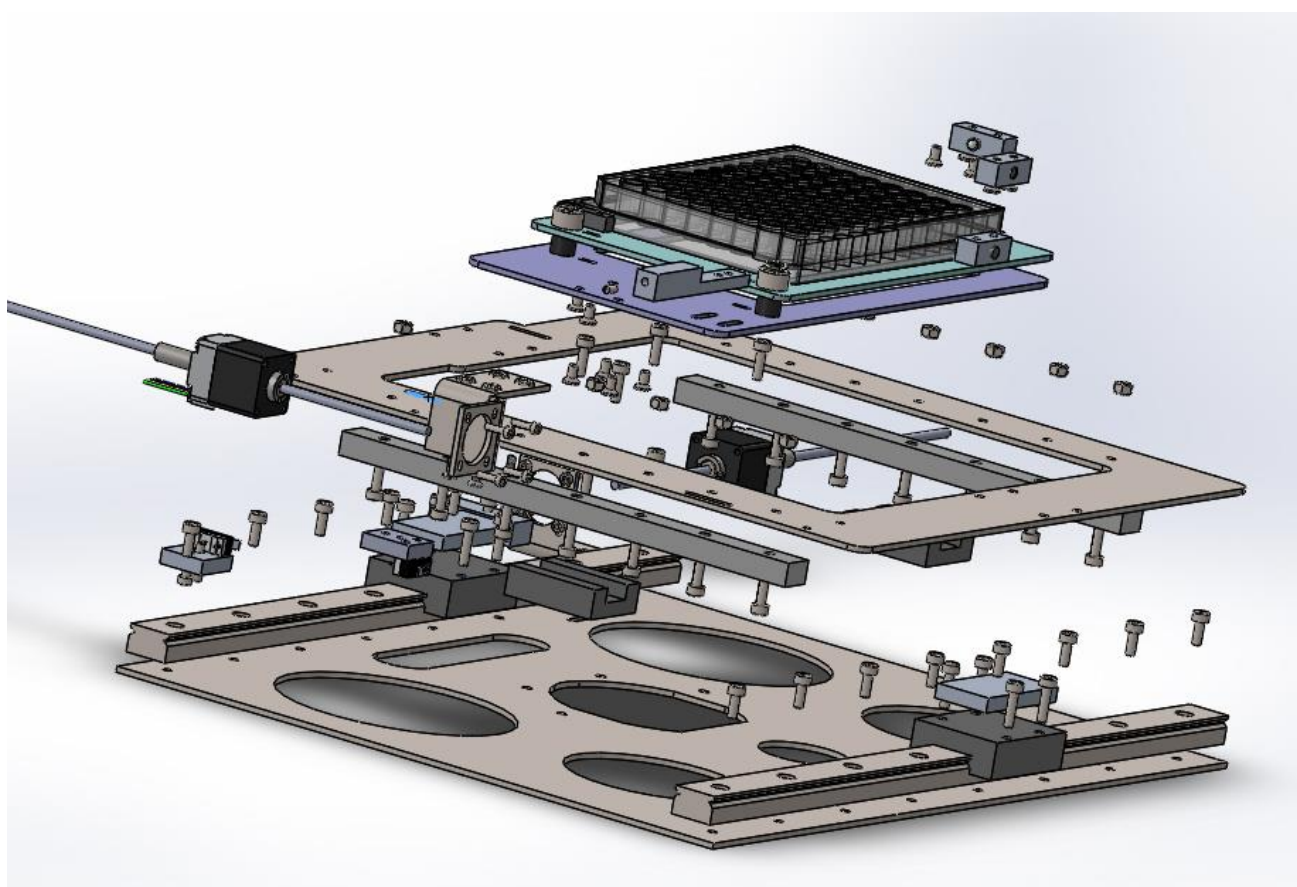
Εικόνα 85: Συνδεσμολογία συστήματος κίνησης φορέα οπτικών φίλτρων.

Στην Εικόνα 85 παρουσιάζεται η συνδεσμολογία για έναν από τους δυο κινητήρες. Στο αριστερό μέρος της εικόνας υπάρχει ένας μικροεπεξεργαστής, ο οποίος συνδέεται με το διακόπτη της αρχικοποίησης και τον βηματικό οδηγό. Για τον μικροβηματισμό πρέπει τα MS1, MS2, MS3 να συνδεθούν στις λογικές πύλες του επεξεργαστή. Στο σχήμα έχουν συνδεθεί σε σειρά και ελέγχονται όλα μαζί. Στη πραγματικότητα η σύνδεσή τους έγινε ξεχωριστά, ώστε να μπορεί να ελεγχθεί η διαίρεση του βήματος ανά πάσα στιγμή. Ο οδηγός συνδέεται με την τροφοδοσία 12V και κινεί το βηματικό κινητήρα. Στο παράρτημα παρουσιάζεται η τελική συνδεσμολογία.

Μετά από τη συναρμολόγηση των παραπάνω εξαρτημάτων προκύπτει η τελική συσκευή. Για την συναρμολόγηση γίνεται χρήση βιδών και παξιμαδιών και τελικά προκύπτει το παρακάτω σχέδιο.



Εικόνα 86: Τελικό σχέδιο Αντικειμενοφόρου βάσης



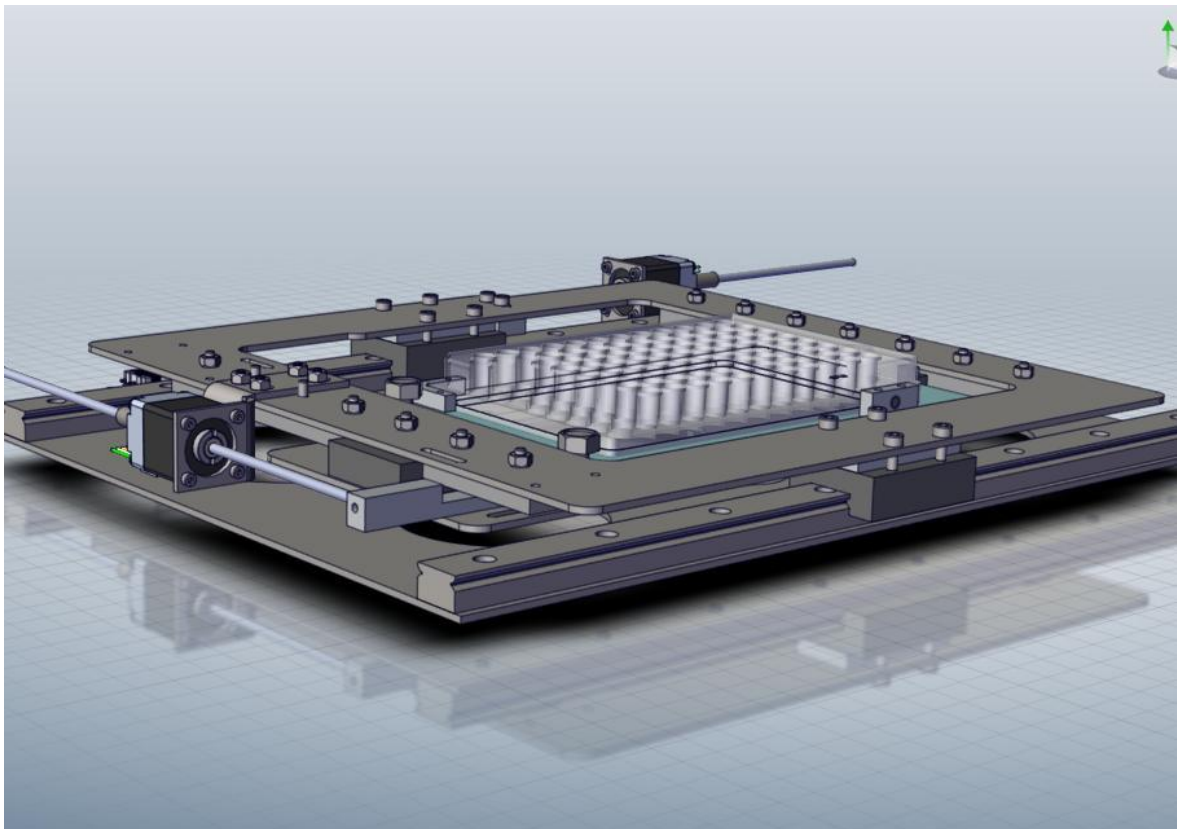
Εικόνα 87: Αντικειμενοφόρος βάση σε Exploded View. Σε αυτή τη φωτογραφία φαίνονται όλα τα εξαρτήματα που περιγράφηκαν παραπάνω, καθώς και ο τρόπος που συναρμολογείτε

2.5.6 Έλεγχος Λειτουργίας

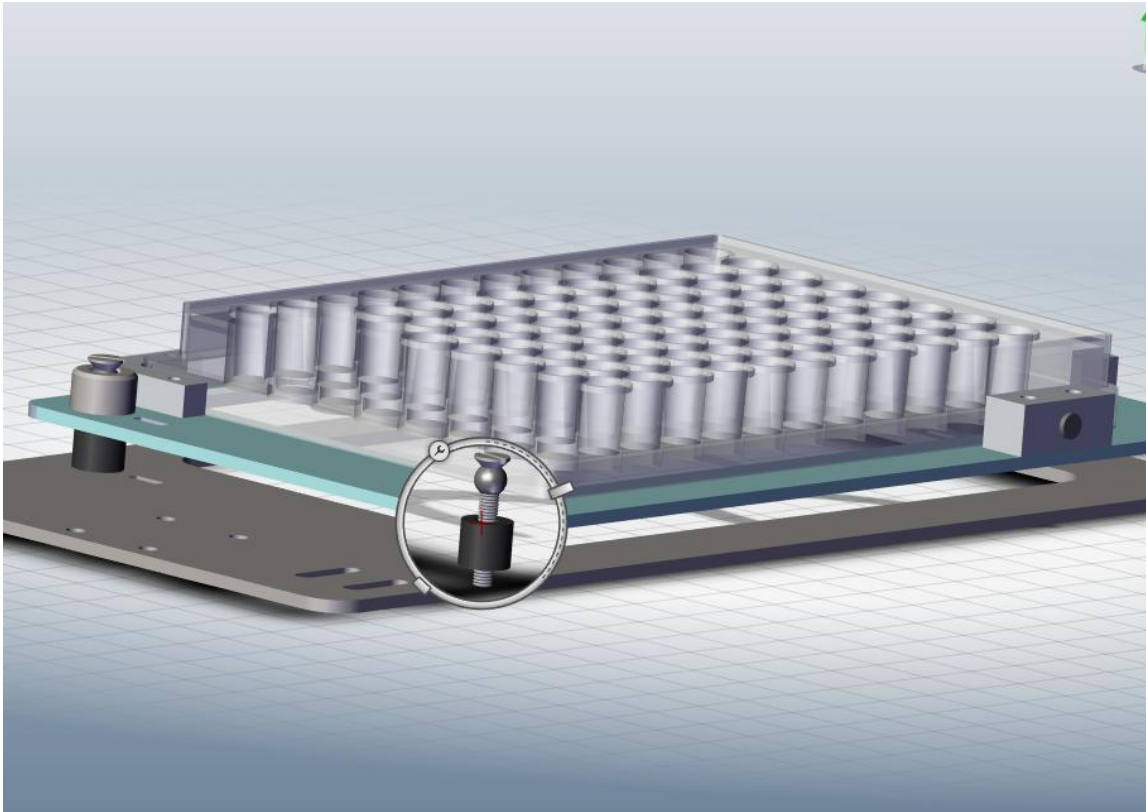
Αφού έχει σχεδιαστεί και κατασκευαστεί η πρωτότυπη αντικειμενοφόρος βάση, πρέπει να γίνει ο έλεγχος λειτουργίας της. Καταρχάς δημιουργήθηκε ένα πρόγραμμα, το οποίο κινεί τη βάση στο μονοπάτι σάρωσης μιας 96άρας πλάκας. Παρατηρήθηκε πως η κίνηση της βάσης με μικροβηματισμό 1/16 είναι αρκετά αργή. Για να σαρωθεί όλη η επιφάνεια χωρίς στάση για λήψη φωτογραφιών και έλεγχο του διαφράγματος απαιτούνται 10 λεπτά. Αν γίνει χρήση και των φίλτρων τότε αυτός ο χρόνος θα μεγαλώσει ακόμα περισσότερο. Προκειμένου να αντιμετωπισθεί αυτό το πρόβλημα, αρχικά έγινε προσπάθεια αλλαγής της ταχύτητας κίνησης των βηματικών κινητήρων. Παρατηρήθηκε όμως ό,τι η κίνηση χάνει με αυτό το τρόπο την ακρίβειά της. Οι αποστάσεις των 2 πηγαδιών μεταξύ τους είναι 9 mm με αποτέλεσμα το τραπέζι προφίλ ταχύτητας σε μεγάλη ταχύτητα να απαιτεί μεγάλη επιτάχυνση. Όμως η μεγάλη επιτάχυνση έχει το κίνδυνο απώλειας βημάτων. Έτσι τελικά αποφασίστηκε να μην χρησιμοποιηθεί μικροβηματισμός 1/16. Αντ' αυτού θα χρησιμοποιηθεί πλήρης βηματισμός ο οποίος έχει ανάλυση 5 μm . Αν στο μέλλον παρατηρηθεί ό,τι η ακρίβεια δεν είναι η επιθυμητή, τότε θα δοκιμασθούν και οι υπόλοιπες μορφές βηματισμού.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να διαπιστωθεί εάν η βάση τηρεί τις προδιαγραφές που τέθηκαν στην αρχή του σχεδιασμού και κυριότερα αυτές της ακρίβειας και επαναληψιμότητας. Ο προσδιορισμός αυτών των προδιαγραφών θα γίνει μέσω κάποιων πειραμάτων που περιγράφονται στην ενότητα «3.Πειραματικά».

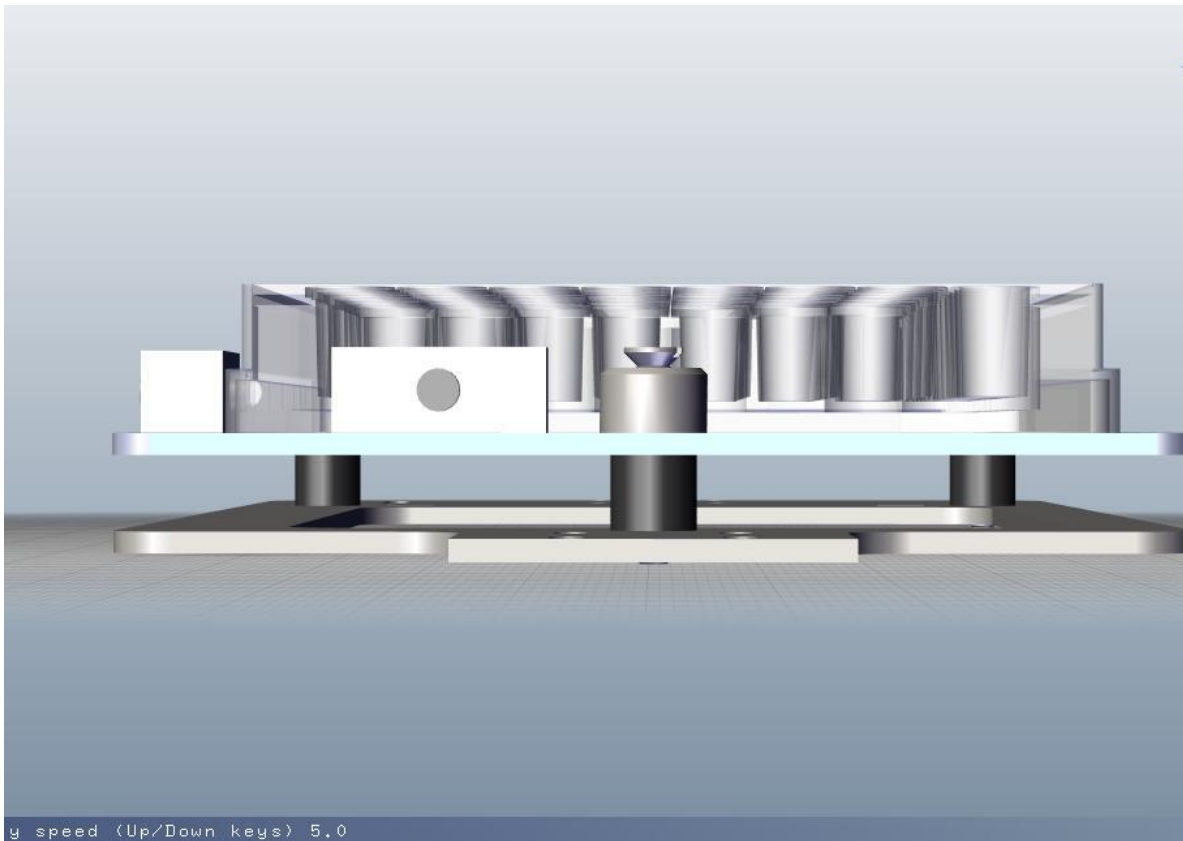
2.5.7 Τελικό Σχέδιο



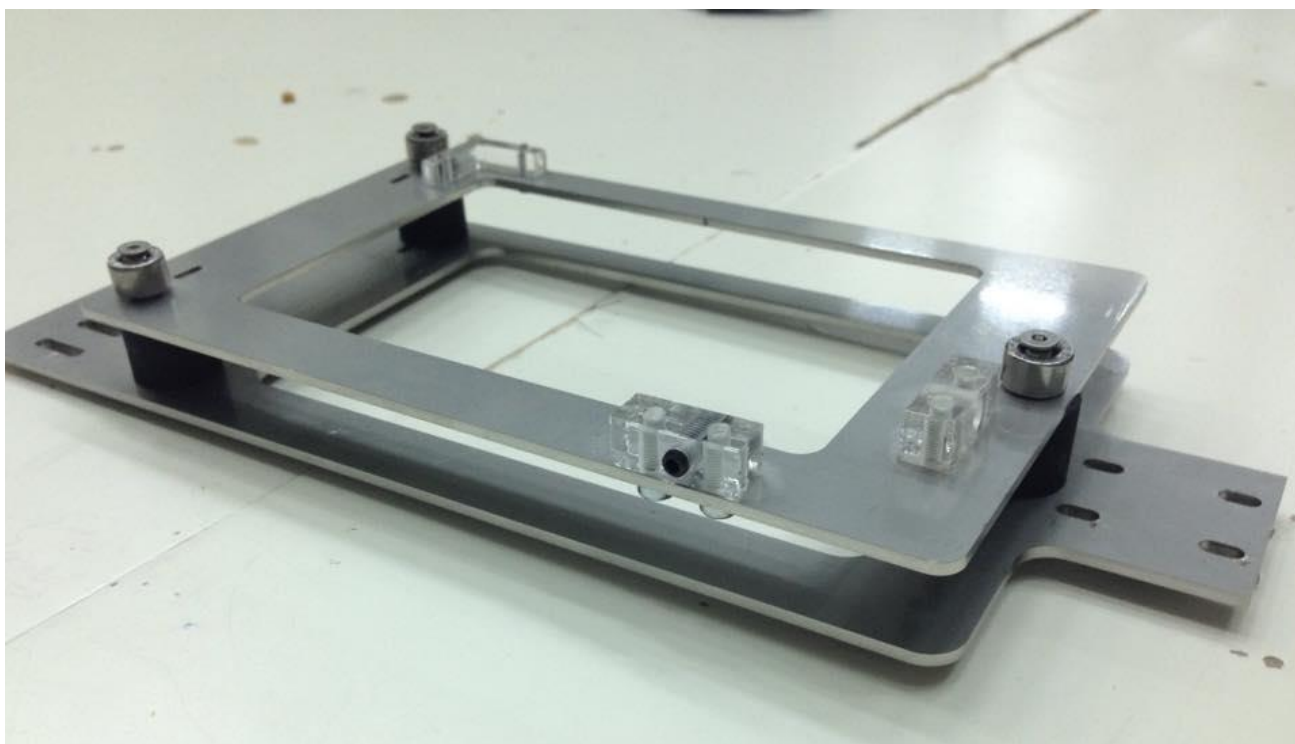
Εικόνα 88: Τελικό σχέδιο αντικειμενοφόρου βάσης, συναρμολογημένο.



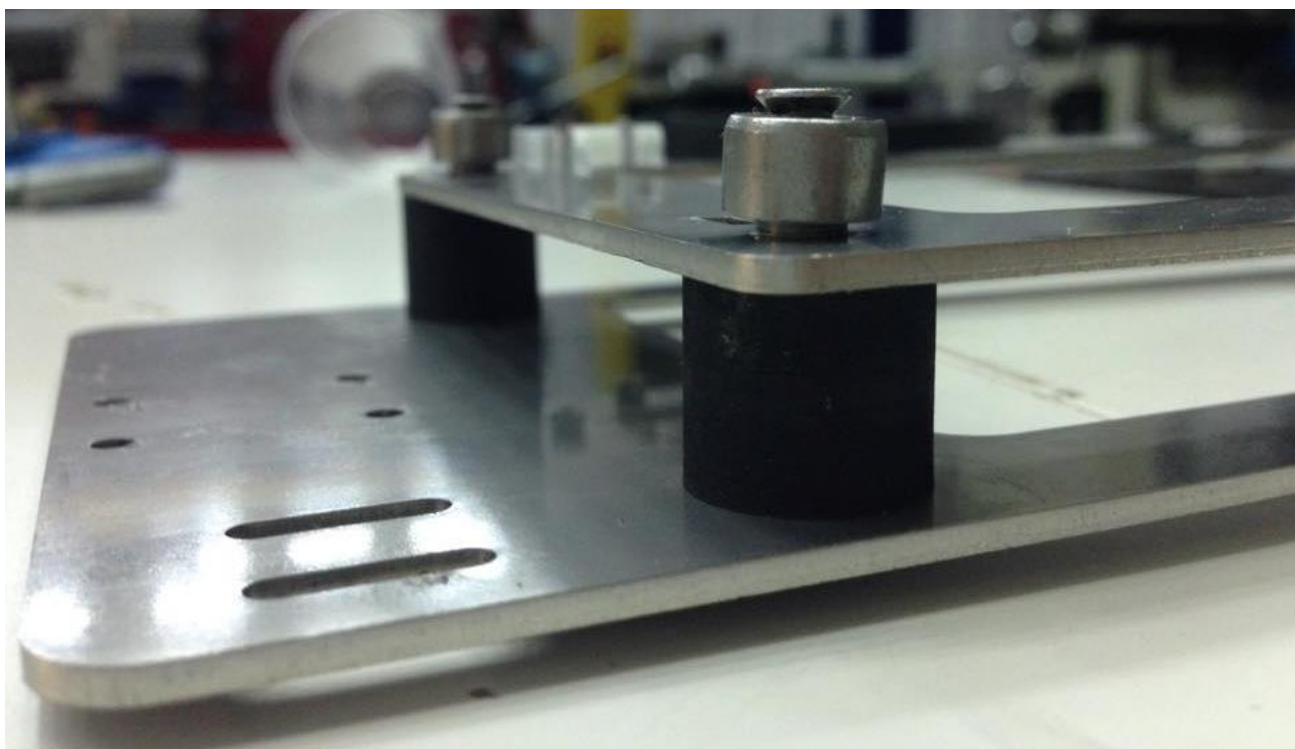
Εικόνα 89: Υποεξάρτημα αντικειμενοφόρου βάσης για στερέωση δειγμάτων και ρύθμιση παραλληλότητας. Αποτελείται από μια τρυπημένη σφαίρα ρουλεμάν, μια βίδα με τρύπα στη μέση, ένα ελαστικό κομμάτι και μια βίδα. Η στερέωση των δειγμάτων γίνεται με δυο ελατήρια και μια γωνία.



Εικόνα 90: Υποεξάρτημα αντικειμενοφόρου βάσης. Πλάγια όψη υποεξαρθήματος.



Εικόνα 91: Υποεξάρτημα αντικειμενοφόρου βάσης για στερέωση δειγμάτων και ρύθμιση παραλληλότητας τους. Πραγματική κατασκευή



Εικόνα 92: Μηχανισμός ρύθμισης παραλληλότητας. Αποτελείται από μια βίδα τρυπημένη, μια σφαίρα ρουλεμάν τρυπημένη και ένα ελαστικό υλικό. Κατακόρυφα περνάει μια βίδα μικρότερης διαμέτρου η οποία βιδώνεται στην κάτω πλάκα και ρυθμίζει το ύψος των τριών σημείων επαφής

2.6 Σύνθεση Συστήματος

Στα κεφάλαια **2.3 Αυτοματοποίηση Διάφραγματος Λάμπας Υδραργύρου**, **2.4 Αυτοματοποίηση Φορέα Οπτικών Φίλτρων** και **2.5 Αυτοματοποίηση Αντικειμενοφόρου Βάσης** αναπτύχθηκε η πορεία κατασκευής των εξαρτημάτων που συμβάλλουν στην αυτοματοποίηση του μικροσκοπίου. Για κάθε ένα από αυτά έγινε λεπτομερής ανάλυση του τρόπου σχεδιασμού και κατασκευής του, καθώς και των αλγορίθμων που χρησιμοποιήθηκαν για την κίνηση τους. Τα επιμέρους αυτά εξαρτήματα όμως αλληλοεπιδρούν και συνεργάζονται μεταξύ τους, διαμορφώνοντας κατά αυτό το τρόπο ένα αυτοματοποιημένο σύστημα. Η ομαλή λειτουργία του συστήματος καθορίζεται από τον προγραμματισμό των επιμέρους λειτουργιών, την συνδεσμολογία των ηλεκτρονικών που απαιτούνται για την κίνηση και τέλος την διαμόρφωση ενός περιβάλλοντος φιλικό προς το χρήστη μέσα από το οποίο θα δίνονται εντολές για την μετακίνηση των συσκευών.

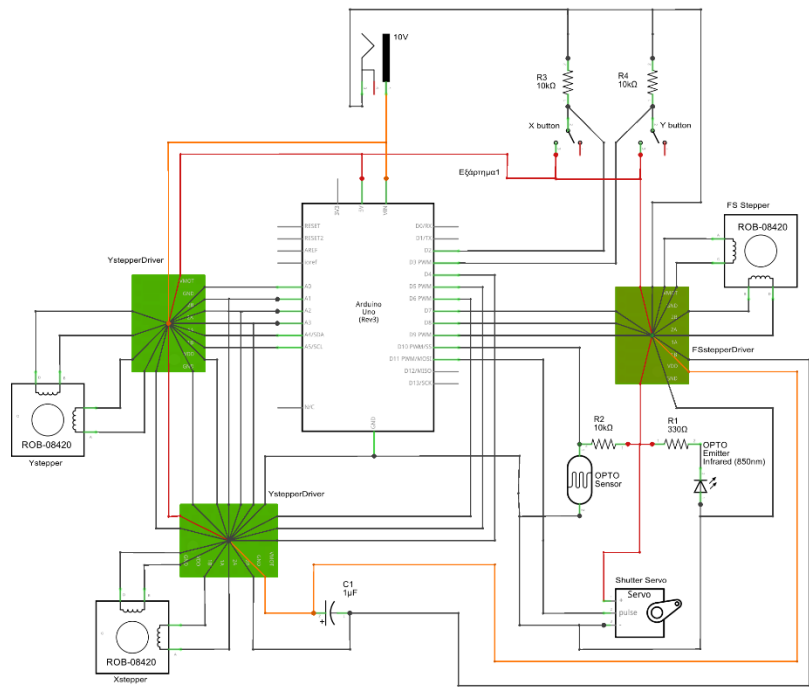
2.6.1 Προγραμματισμός

Ο προγραμματισμός του συστήματος αφορά την σύνδεση των τριών επιμέρους προγραμμάτων. Πρέπει τα προγράμματα να συνεργάζονται, να παίρνουν πληροφορίες το ένα από το άλλο και να τις χρησιμοποιούν, ώστε να βελτιώνουν την λειτουργία του συστήματος. Για παράδειγμα όταν ο φορέας οπτικών φίλτρων κινείται, πρέπει το διάφραγμα να είναι κλειστό, ώστε να εμποδίζεται η αλλοίωση των φθορίζουσων ουσιών. Επίσης το ίδιο πρέπει να συμβαίνει κατά την κίνηση της αντικειμενοφόρου βάσης. Ένα άλλο χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η λειτουργία της κάμερας. Η κάμερα προκειμένου να πάρει δεδομένα, πρέπει να έχουν προηγηθεί κάποιες ενέργειες. Δηλαδή πρέπει η αντικειμενοφόρος βάση να έχει φτάσει στο σημείο προορισμού και να είναι ακίνητη, ο φορέας των φίλτρων πρέπει να είναι στο σωστό σημείο και το διάφραγμα να είναι ανοιχτό.

Όπως είναι κατανοητό είναι μεγάλης σημασίας η σωστή διαχείριση των λειτουργιών για να ληφθούν σωστά δεδομένα και να αξιοποιηθούν οι δυνατότητες του συστήματος στο μέγιστο. Το πάντρεμα των προγραμμάτων έγινε και το συνολικό πρόγραμμα παρατίθεται στο παράρτημα.

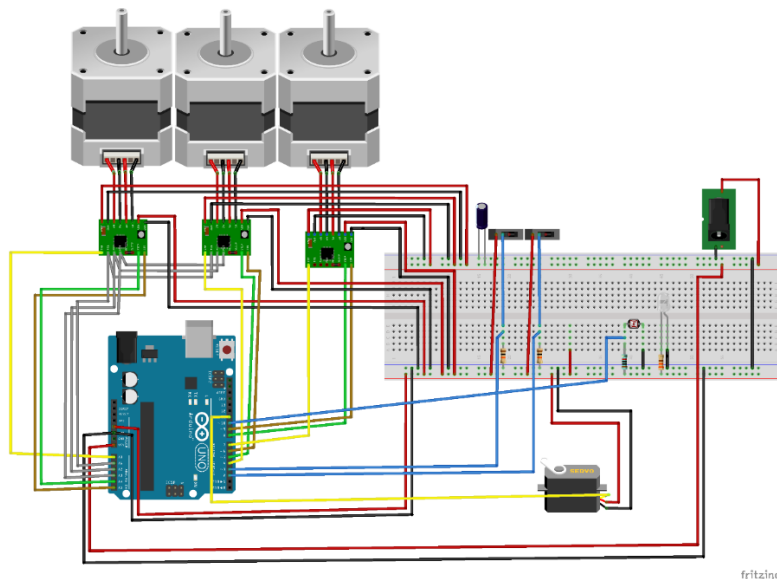
2.6.2 Συνδεσμολογία

Για να μπορεί να κινηθεί το σύστημα πρέπει να υπάρχει η απαραίτητη συνδεσμολογία. Στα κεφάλαια που αναφέρθηκαν προηγουμένως έχει γίνει για κάθε ένα σύστημα ξεχωριστά η διαμόρφωση των καλωδίων και των ηλεκτρονικών εξαρτημάτων. Καθώς όμως οι επιμέρους λειτουργίες συνεργάζονται μεταξύ τους πρέπει να δημιουργηθεί μια κοινή διαμόρφωση για την τοποθέτηση των κυκλωμάτων και των συνδέσεων. Δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν τρεις διαφορετικές πηγές ρεύματος. Πρέπει να δημιουργηθεί ένα κοινό κύκλωμα το οποίο θα εξυπηρετεί όλες τις ανάγκες του συστήματος. Τα σχέδια του κυκλώματος των επιμέρους λειτουργιών αναπτύχθηκαν μεμονωμένα στα προηγούμενα κεφάλαια. Στην Εικόνα 93 συνδυάζονται τα μεμονωμένα συστήματα και προκύπτει το ολοκληρωμένο κύκλωμα..



Εικόνα 93: Σχηματικό κύκλωμα ολοκληρωμένου συστήματος Πηγή Πρόγραμμα Fritzing

Για τη συνδεσμολογία του συστήματος ακολουθήθηκαν οι κανόνες του κυκλώματος και με αυτό το τρόπο διαμορφώθηκε σε μια breadboard, όπως φαίνεται στην Εικόνα 94. Χρησιμοποιήθηκαν καλώδια, αντιστάσεις, πυκνωτές, αισθητήρες, κουμπιά, ένας μικροελεγκτής, επενεργητές και οδηγοί κινητήρων.

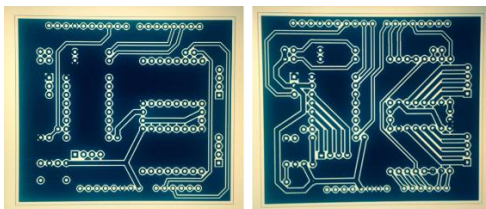


Εικόνα 94: Αναπαράσταση κυκλώματος σε Breadboard Πηγή: Πρόγραμμα Fritzing

Σε αυτό το σημείο πρέπει να αναφερθεί ό,τι η χρήση breadboard και καλωδίων ενδείκνυται μόνο σε μικρά και απλουστευμένα κυκλώματα για την κατασκευή και έλεγχο του πρωτοτύπου. Καθώς το κύκλωμα είναι πολύπλοκο και απαιτούνται πολλά καλώδια για να γίνουν οι συνδέσεις, είναι επικίνδυνο να υπάρξει είτε κάποιο βραχυκύκλωμα, είτε μετακίνηση καλωδίων. Αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα την παύση λειτουργίας της συσκευής και πρέπει να αποφευχθεί. Στο συγκεκριμένο σύστημα πρέπει να βρεθεί διαφορετικός τρόπος αναπαράστασης του κυκλώματος.

Για την αντιμετώπιση του παραπάνω προβλήματος αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί η τεχνική της εκτύπωσης κυκλωμάτων σε πλακέτα. Η τεχνική αυτή έχει δημιουργηθεί προκειμένου να γίνεται περιορισμένη χρήση καλωδίων και άλλων εξαρτημάτων, τα οποία ενδέχεται να μετακινηθούν από την θέση τους και να προκαλέσουν προβλήματα. Για την τεχνική αυτή χρησιμοποιούνται πλάκες, οι οποίες στη μια ή και στις δύο πλευρές είναι επικαλυμμένες με λεπτό στρώμα χαλκού. Σχεδιάζεται το κύκλωμα σε κατάλληλο πρόγραμμα και μέσω ενός μηχανήματος και το σχέδιο, δημιουργούνται κανάλια χαλκού που ενώνουν διαφορετικές τρύπες. Έπειτα πάνω στη πλάκα συνδέονται τα εξαρτήματα και οι ενώσεις μεταξύ των συνεργαζόμενων εξαρτημάτων είναι έτοιμες. Τα εξαρτήματα τοποθετούνται με την χρήση κολλητηρίου. Έτσι διαμορφώνεται ένα κύκλωμα αρκετά πιο συμπακνωμένο από το προηγούμενο και πιο στιβαρό. Η πλάκα που έχει διαμορφωθεί χρησιμοποιείται πολλές φορές για να συνδεθεί απευθείας με τον μικροεπεξεργαστή (σαν ασπίδα (shield)) και το συνολικό μέγεθος εξαρτάται με το μέγεθος του κυκλώματος.

Στην συγκεκριμένη εφαρμογή διαμορφώθηκε το κύκλωμα απαιτεί πλάκα με επίστρωση χαλκού και τις δύο πλευρές, προκειμένου να καλύψει τις απαιτήσεις της πολυπλοκότητας του κυκλώματος. Η πλακέτα σχεδιάστηκε στο πρόγραμμα Fritzing στην και τυπώθηκε με την μηχανή LPKF. Το μηχάνημα αυτό χρησιμοποιεί τη λογική της φρέζας, έχει μεγάλη ακρίβεια και μπορεί να αφαιρέσει το χαλκό στα σημεία που πρέπει, ώστε να σχηματιστεί η πλακέτα. Η πάνω και κάτω πλευρά της πλακέτας παρουσιάζονται στην Εικόνα 95.

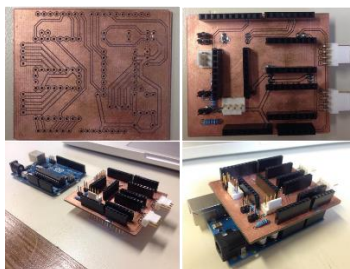


Εικόνα 95: Πάνω και κάτω πλευρά πλακέτας Πηγή: Σχεδιασμός σε πρόγραμμα Fritzing

Με μαύρο χρώμα φαίνονται οι περιοχές του χαλκού που δεν θα κοπούν και με άσπρο αυτές που θα κοπούν. Στα σημεία που βρίσκονται οι κύκλοι θα γίνουν τρύπες, μέσα από τις οποίες θα περάσουν τα εξαρτήματα. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται κανάλια τα οποία ενώνουν τα εξαρτήματα μεταξύ τους.

Ο σχεδιασμός της πλακέτας που φέρει το ηλεκτρικό κύκλωμα του συστήματος, έγινε με τέτοιο τρόπο ώστε να μπορεί να εφαρμόζει απόλυτα σε έναν μικροεπεξεργαστή ARDUINO UNO (στρογγυλές υποδοχές στο πάνω και κάτω μέρος της Εικόνα 95). Με αυτό το τρόπο μειώνεται ο χώρος που απαιτείται για την έδραση του κυκλώματος.

Η κατασκευή της πλακέτας έγινε με το μηχάνημα LPKF Protomat. Χρησιμοποιήθηκε πλάκα διπλής όψης, η οποία έχει και στις δύο πλευρές επικάλυψη χαλκού. Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρικό κολλητήρι για να στερεωθούν οι βάσεις των εξαρτημάτων, οι αντιστάσεις και οι γειώσεις. Τέλος η πλακέτα συνδέθηκε με τον μικροεπεξεργαστή.

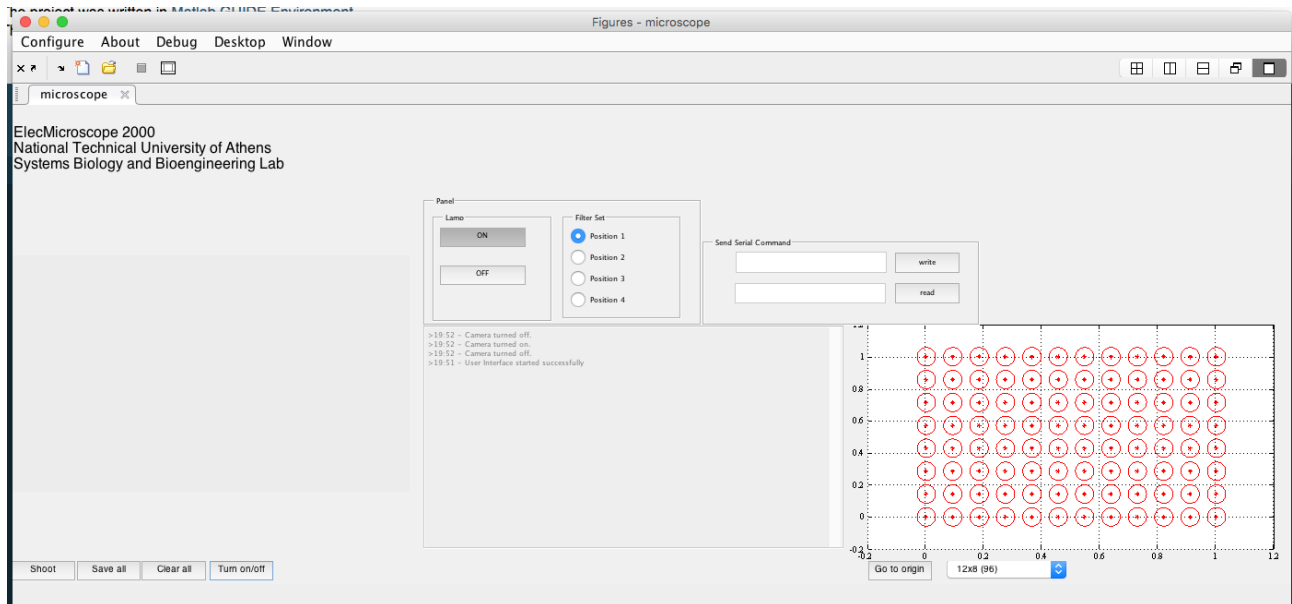


Εικόνα 96: Πάνω αριστερά: πλακέτα μετά την επεξεργασία στο LPKF. Πάνω δεξιά: πλακέτα μετά την κόλληση των βάσεων των εξαρτημάτων. Κάτω αριστερά: πλακέτα και μικροεπεξεργαστής. Κάτω δεξιά: πλακέτα πάνω στον μικροεπεξεργαστή

2.6.3 Γραφικό Περιβάλλον

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, πρέπει να δημιουργηθεί ένα γραφικό περιβάλλον, με το οποίο οποιοσδήποτε χρήστης θα μπορεί να χειριστεί το αυτοματοποιημένο μικροσκόπιο. Για τη διαμόρφωσή του χρησιμοποιήθηκε το περιβάλλον της Matlab GUIDE Environment σε συνεργασία με το λογισμικό του ARDUINO. Η επικοινωνία των δυο αυτών συστημάτων γίνεται μέσω σειριακής. Επιλέχτηκε αυτή η τεχνική προκειμένου να μπορούν να δημιουργηθούν όλοι οι κώδικες στο περιβάλλον του ARDUINO και να μπορούν να χρησιμοποιηθούν άμεσα από τη Matlab GUIDE Environment. Ο κώδικας που χρησιμοποιείται μπορεί να βρεθεί στο Παράρτημα Β: Προγραμματισμός.

Το γραφικό περιβάλλον παίρνει τη μορφή που φαίνεται στην Εικόνα 97.



Εικόνα 97: Γραφικό περιβάλλον αυτοματοποιημένου μικροσκοπίου

Στο κενό που υπάρχει στο αριστερό μέρος της φωτογραφίας εμφανίζεται η κάμερα, που απεικονίζει τα δείγματα. Υπάρχει δυνατότητα άμεσης λήψης ή πολλαπλής λήψης. Στο κέντρο της εικόνας στο πάνω δεξιά μέρος βρίσκονται 2 κουμπιά που ελέγχουν την κατάσταση του διαφράγματος. Δίπλα τους μέσω των εντολών Position 1,2,3,4 ελέγχεται η θέση του φορέα των οπτικών φίλτρων. Κάτω δεξιά υπάρχει μια διαμόρφωση με την οποία μπορούν να ελέγχουν κάποιες τυποποιημένες θέσεις της αντικειμενοφόρου βάσης. Η αντικειμενοφόρος βάση μπορεί να ελεγχθεί και με τα βελάκια του πληκτρολογίου. Κάτω από τις εντολές για το διάφραγμα και το φίλτρο υπάρχει ένας πίνακας που παρουσιάζει τις εντολές που τρέχουν με τη σειρά που δίνονται. Τέλος δίνεται η δυνατότητα στο χρήστη να γράψει εντολές στο χώρο που βρίσκεται πάνω δεξιά.

2.6.4 Έλεγχος Λειτουργίας

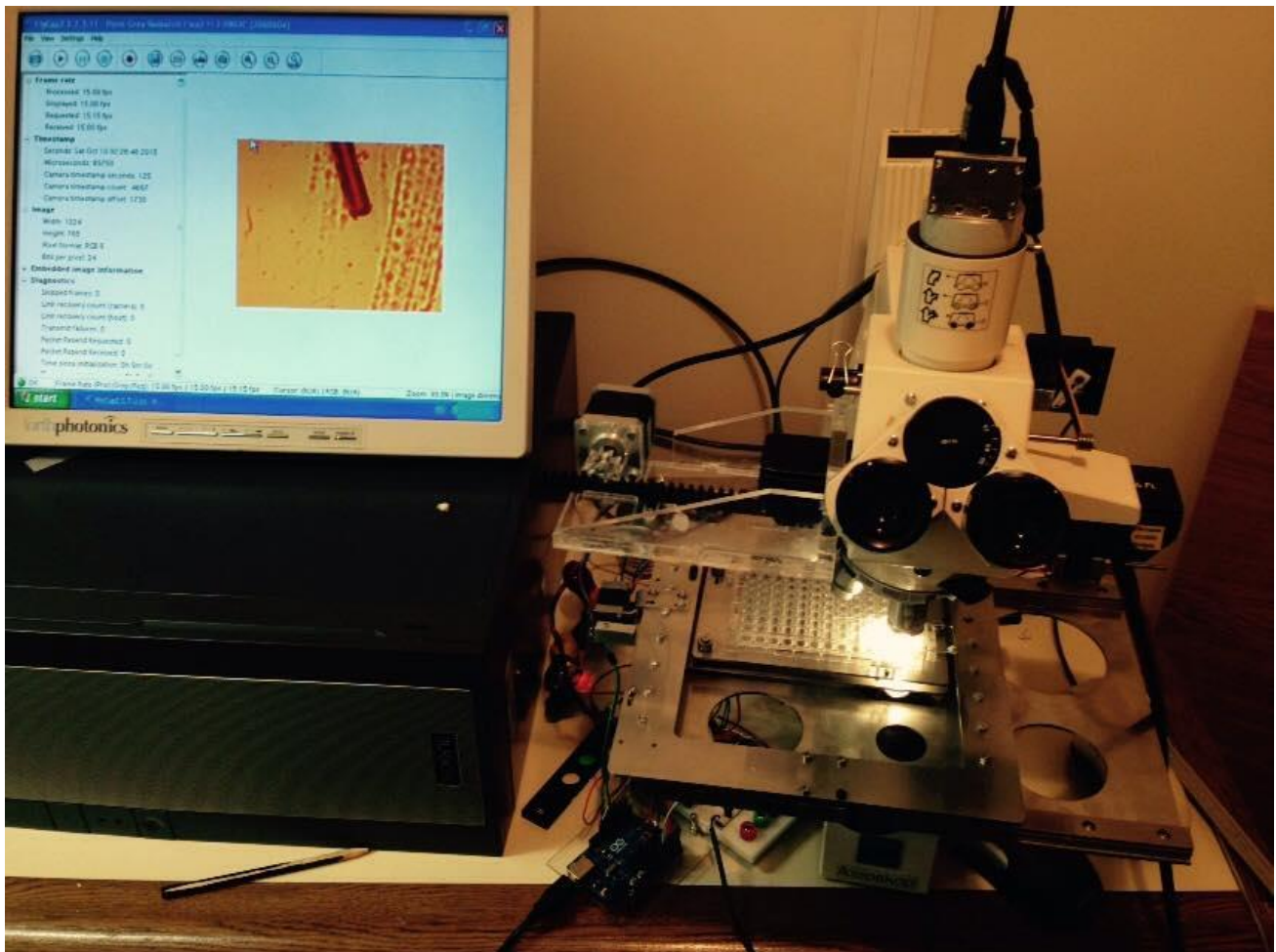
Για να ελεγχθεί η συνολική λειτουργία των υποσυστημάτων πρέπει να δημιουργηθεί ένα τεστ το οποίο θα προσομοιάζει κάποιο πείραμα απεικόνισης κυττάρων. Για το τεστ αυτό απαιτείται η συνεργασία όλων των επιμέρους συστημάτων και ο προγραμματισμός τους με βάση το πείραμα που θα διεξαχθεί στη συνέχεια. Πιο συγκεκριμένα οφείλει να κάνει συγκεκριμένες κινήσεις, οι οποίες περιγράφονται από τα παρακάτω βήματα:

- Αρχικοποίηση αντικειμενοφόρου βάσης, φορέα φίλτρων και κλείσιμο διαφράγματος
- Κίνηση αντικειμενοφόρου βάσης στη θέση εναπόθεσης δειγμάτων, ώστε ο χρήστης να βάλει το δείγμα στη θέση του.
- Αρχικοποίηση της αντικειμενοφόρου βάσης
- Μετακίνηση προς το πρώτο πηγάδι

- Άνοιγμα διαφράγματος για λήψη φωτογραφίας και πάλι κλείσιμο
- Αλλαγή φίλτρου για απεικόνιση δεύτερης φθορίζουσας ουσίας
- Άνοιγμα διαφράγματος για λήψη φωτογραφίας και πάλι κλείσιμο
- Μετακίνηση στο επόμενο πηγάδι
- Επανάληψη διαδικασίας

Το διάφραγμα θα ανοίγει μόνο όταν πρέπει να γίνει λήψη φωτογραφίας, ώστε να μην υπάρχει αλλοίωση των ουσιών. Ο προγραμματισμός των βημάτων του πειράματος έγινε σε περιβάλλον ARDUINO. Το πρόγραμμα βρίσκεται στο Παράρτημα Β: Προγραμματισμός.

Αφού λοιπόν δημιουργήθηκε ο κώδικας, έγινε το τεστ και τα αποτελέσματα ήταν θετικά. Τα επιμέρους συστήματα εκτελούν, όπως θα έπρεπε, όλες τις κινήσεις και το συνολικό σύστημα λειτουργεί σωστά. Το διάφραγμα ανοιγοκλείνει μόνο όταν πρέπει να γίνει απεικόνιση, τα φίλτρα αλλάζουν γρήγορα, ώστε να μην υπάρχει καθυστέρηση και η βάση εκτελεί ομαλή και ακριβή κίνηση. Τέλος να αναφερθεί ό,τι η ταχύτητα σάρωσης μιας 9θάρας πλάκας μετρήθηκε στα 12 λεπτά μαζί με την εναλλαγή φίλτρων και λήψη φωτογραφιών. Ο χρόνος αυτός θα μπορούσε να μικρύνει εάν οι κινητήρες κινηθούν πιο γρήγορα, λάλα ενδέχεται να προκληθεί απώλεια βημάτων. Επομένως αποφασίστηκε να μην γίνει κάποια αλλαγή. Η διάταξη του μικροσκοπίου με τις αυτοματοποιημένες λειτουργίες παρουσιάζεται στην Εικόνα 98.



Εικόνα 98: Διάταξη Μικροσκοπίου με αυτοματοποιημένα συστήματα.

Αφού λοιπόν δοκιμάστηκαν όλα τα συστήματα και λειτουργούν ανάλογα με τις προδιαγραφές που είχαν τεθεί, μπορεί πλέον να γίνει ένα κανονικό βιολογικό πείραμα. Αυτό παρουσιάζεται στην ενότητα 3 «Πειραματικά Αποτελέσματα».

2.7 Κοστολόγηση Αυτοματοποίησης

Σε ό,τι αφορά την κοστολόγηση των παραπάνω συσκευών αυτή εξαρτάται από τα εξαρτήματα και τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν, τις κατεργασίες και το κόστος των ανθρωποωρών εργασίας. Στη συγκεκριμένη εργασία θα γίνει αναφορά για το κόστος που προκύπτει καθαρά από τα εξαρτήματα και τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν καθώς και, όπου είναι δυνατόν, τις κατεργασίες που έγιναν.

Αναλυτικότερα στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα κόστη ανά συσκευή.

	#	Εξαρτήματα	Κόστος
Διάφραγμα Λάμπας Υδραργύρου	1	Σερβοκινητήρας HS 425-B	14,00 €
	2	Πρώτες Ύλες (plexiglass)	2,00 €
Συσκευή Μετακίνησης Φορέα Οπτικών Φιλτρών	3	Βηματικός Κινητήρας 42BYGHM809	17,00 €
	4	Πρώτες Ύλες (plexiglass)	5,00 €
	5	Αισθητήρας OPTO Switch	1,00 €
Αντικειμενοφόρος Βάση	6	Βηματικός Κινητήρας L2018S0604-T3,5X1 (x2)	140,00 €
	7	Πρώτες Ύλες (Ανοξείδωτο Ατσάλι)	45,00 €
	8	Έδρανα κύλησης Χ άξονα (SEBZ16) (x2)	110,00 €
	9	Έδρανα κύλησης Υ άξονα (LWL12 BCS-HS2) (x2)	100,00 €
	10	Αισθητήρες Αρχικοποίησης (κουμπιά) (x2)	3,00 €
Λοιπά	11	Βηματικοί Οδηγοί (Stepper Drivers) (x3)	15,00 €
	12	Μικροεπεξεργαστής (Arduino Uno)	25,00 €
	13	Πλακέτα Ηλεκτρονικών	30,00 €
Σύνολο:			507,00 €

3 Πειραματικά Αποτελέσματα

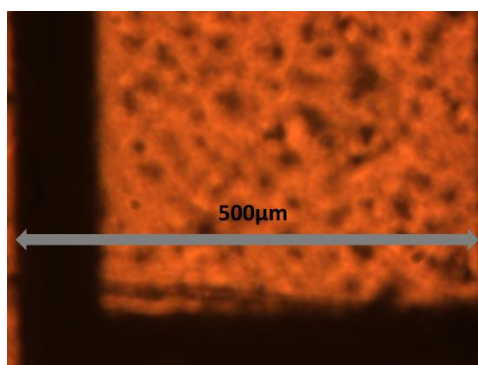
Προκειμένου να διαπιστωθεί η λειτουργία της συνολικής διάταξης διαμορφώθηκαν τρία πειράματα για την εκλογή της ακρίβειας και της επαναληψιμότητας και ένα πείραμα το οποίο ελέγχει τη λειτουργία όλων των συσκευών παράλληλα. Στο πρώτο πείραμα δημιουργήθηκε ένα πρόγραμμα, το οποίο αρχικοποιεί τη βάση και έπειτα κινεί τους κινητήρες για συγκεκριμένα βήματα. Στο δεύτερο πείραμα δημιουργήθηκε ένα πρόγραμμα, το οποίο δίνει εντολή στη βάση, αφού αρχικοποιηθεί και κατευθυνθεί προς μια συγκεκριμένη θέση. Από εκεί δίνονται εντολές να κάνει κάποιες κινήσεις και να επιστρέψει πάλι στην αρχική θέση. Το τρίτο πείραμα αφορά τη σάρωση μιας 9θάρης πλάκας. Στο πείραμα αυτό η βάση προγραμματίζεται, ώστε να γίνεται αρχικοποίηση, να πηγαίνει στο πρώτο πηγάδι και έπειτα να σαρώνει όλα τα πηγάδια και να επιστρέφει στην αρχή.

Για τα παραπάνω πειράματα χρησιμοποιήθηκε ένα φύλλο βαθμονόμησης μικροσκοπίου (Εικόνα 99), το οποίο προσαρμόστηκε στη βάση του μικροσκοπίου. Το φίλτρο αυτό περιέχει γραμμές με διαφορετικό πάχος. Στα συγκεκριμένα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν αυτές, που έχουν πάχος 30 μm και βρίσκονται στο τετραγωνικό πλαίσιο στο κέντρο του βαθμονομητή.



Εικόνα 99: (Αριστερά) Φίλτρο βαθμονόμησης μικροσκοπίου με ακρίβεια μικρομέτρου, (Δεξιά) Απεικόνιση φίλτρου βαθμονόμησης στο μικροσκόπιο.

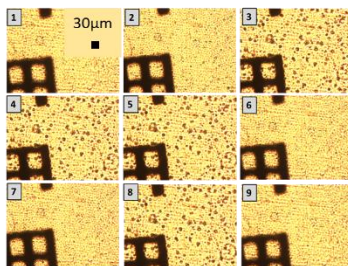
Πρωτού ξεκινήσουν τα πειράματα πρέπει να βαθμονομηθεί το σύστημα και να υπολογιστεί το εύρος της εικόνας και το μέγεθος των pixels. Πάνω στο φύλλο βαθμονόμησης υπάρχει μια κλίμακα με γραμμές που απέχουν 500 μm . Για να προσδιοριστεί το μέγεθος της εικόνας απεικονίστηκε η κλίμακα αυτή (Εικόνα 100) χρησιμοποιώντας αντικειμενικό φάκο μεγέθυνσης 10x. Η κάμερα λαμβάνει εικόνες 1024x768 pixels. Με τη χρήση της Matlab υπολογίζεται ο,τι η απόσταση 500 μm αντιστοιχεί σε 990 pixels, οπότε κάθε εικονοστοιχείο (pixel) της εικόνας για αντικειμενικό φάκο 10x έχει μέγεθος 0,505x0,505 μm .



Εικόνα 100: Απεικόνιση κλίμακας βαθμονόμησης για προσδιορισμό μεγέθους εικονοστοιχείου.

3.1 Επαναληψιμότητα Αρχικοποίησης

Το πείραμα αυτό έχει ως σκοπό τον καθορισμό της επαναληψιμότητας της κίνησης αρχικοποίησης της αντικειμενοφόρου βάσης. Στο σημείο που αρχικοποιείται το σύστημα δεν μπορεί να απεικονιστεί το δείγμα, για αυτό το λόγο μετά την αρχικοποίηση κινείται η βάση στο πιο κοντινό σημείο απεικόνισης. Σε αυτό το σημείο στερεώνεται το φίλτρο βαθμονόμησης, ώστε να απεικονίζεται η πάνω δεξιά γωνία του πυκνού τετραγωνικού πλαισίου (Εικόνα 99), και στη συνέχεια γίνεται λήψη φωτογραφίας. Το πρόγραμμα κινεί του κινητήρες με συγκεκριμένα βήματα, ώστε να πετύχει το συγκεκριμένο σημείο. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται 9 φορές, και το αποτέλεσμα φαίνεται στην Εικόνα 101.



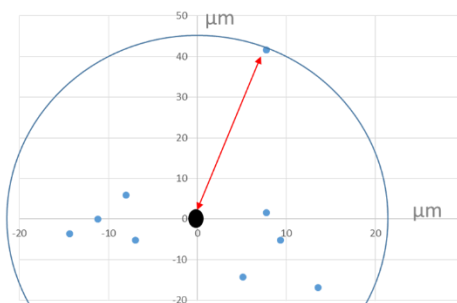
Εικόνα 101: Αποτελέσματα πειράματος αρχικοποίησης θέσης . 9 μετρήσεις. Μεγέθυνση 10x (517x367 μm εύρος πεδίου)

Στις παραπάνω εικόνες παρατηρούνται μικρές αποκλίσεις στην θέση που γίνεται η αρχικοποίηση της βάσης. Αρχικά υπολογίζονται οι αποστάσεις μεταξύ των τιμών σε pixels μετρώντας την απόσταση ενός σημείου που είναι κοινό στις δύο εικόνες. Έπειτα, με βάση το μέγεθος του εικονοστοιχείου μπορεί να υπολογισθεί η απόκλιση κάθε αρχικοποίησης από την πρώτη κίνηση, και στην συνέχεια η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα της αρχικοποίησης. Τα πειραματικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στο πίνακα 9.

Πίνακας 9: Αποκλίσεις τιμών από αρχή των αξόνων

#	1	2	3	4	5	6	7	8	9
X	13,577	7,78	9,361	7,78	-6,976	-8,03	-11,192	-14,354	5,145
Y	-16,841	1,604	-5,247	41,656	-5,247	5,82	0,023	-3,666	-14,206

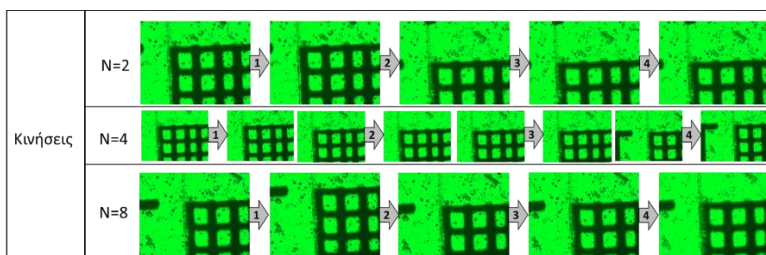
Με αυτό το τρόπο αναπαρίσταται η διασπορά των μετρήσεων.



Υπολογίστηκαν η τυπική απόκλιση και η μέση τιμή της θέσης για τον οριζόντιο (X) και τον κατακόρυφο άξονα (Y). Για τον άξονα X υπολογίστηκαν μέση τιμή $\bar{x}=0,34 \mu\text{m}$ και τυπική απόκλιση $\sigma_x = 10,38 \mu\text{m}$ και η τιμή t είναι 0,0935. Για τον άξονα Y υπολογίστηκαν μέση τιμή $\bar{y}=0,43 \mu\text{m}$ και τυπική απόκλιση $\sigma_y = 17,03 \mu\text{m}$. Με βάση την κατανομή student για $N=8$ και 95% πιθανότητα, το διάστημα εμπιστοσύνης έχει εύρος στον άξονα X 16,0 μm και στον άξονα Y 26,2 μm . Τα αποτελέσματα αυτά κρίνονται ικανοποιητικά ως προς τις αρχικές προδιαγραφές.

3.2 Ακρίβεια και Επαναληψιμότητα σε Τυχαία Κίνηση που Επιστρέφει στο Σημείο Εκκίνησης

Αυτό το πείραμα πραγματοποιείται προκειμένου να παρατηρηθεί η ακρίβεια κίνησης του μηχανήματος, όταν η βάση εκτελεί συγκεκριμένες κινήσεις. Το φύλλο βαθμονόμησης στερεώνεται σε ένα σημείο στο κέντρο της βάσης. Μετά εκτελούνται τρία είδη κυκλικών κινήσεων (η βάση ζητείται να καταλήγει στο ίδιο σημείο) που διαφέρουν στον αριθμό βημάτων (2, 4 ή 8). Κάθε βήμα αντιστοιχεί στην κίνηση μεταξύ δύο βοθρίων μιας 96-αρης πλάκας. Για να γίνει αυτό δημιουργήθηκε πρόγραμμα στο οποίο ο χρήστης δίνει εντολές κίνησης προς τις 4 κατευθύνσεις για συγκεκριμένη απόσταση (200 βήματα κινητήρα, που αντιστοιχούν σε απόσταση μεταξύ 2 βοθρίων). Έτσι δημιουργήθηκαν 4 μοτίβα κίνησης για κάθε ένα από τα 3 υποπειράματα. Πριν την εκκίνηση και μετά το πέρας της κάθε κίνησης λαμβάνεται εικόνα του σημείου που βρίσκεται και στο τέλος συγκρίνονται τα αποτελέσματα. Κάθε πείραμα επαναλαμβάνεται 4 φορές.



Εικόνα 102: Πειραματικά αποτελέσματα για το σφάλμα κίνησης κίνηση της βάσης σε κλειστή τροχιά για διάφορους αριθμούς βημάτων (2, 4, ή 8). Οι τροχιές επιστρέφουν στην αρχική θέση. Κάθε βήμα αντιστοιχεί σε 200 βήματα του βηματικού κινητήρα.

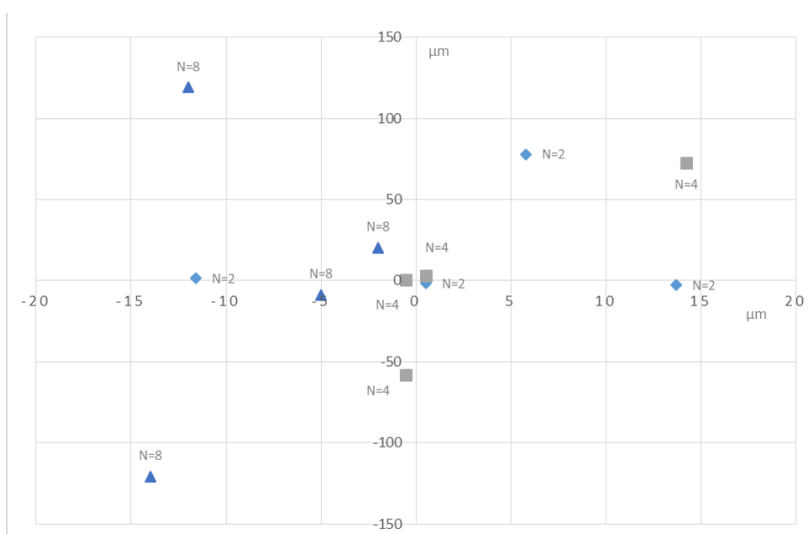
Από τις εικόνες που αποθηκεύτηκαν κατά την απεικόνιση υπολογίστηκε ο μέσος όρος σφάλματος μετά από κυκλική τροχιά για κάθε μια από τις κινήσεις (Πίνακας 10), και υπολογίστηκε το διάστημα εμπιστοσύνης για την μέση τιμή του σφάλματος σε κάθε έναν από τους δύο άξονες..

Πίνακας 10: Υπολογισμός μέσης τιμής, τυπικής απόκλισης, Διαστήματος εμπιστοσύνης και εύρος τιμών

N	\bar{x}	σ_x	95% Δ. Εμπιστοσύνης	Εύρος για 95% ΔΕ	\bar{y}	σ_y	95% Δ. Εμπιστοσύνης	Εύρος για 95% ΔΕ
2	2,11	10,62	[-14,789 : 19,005]	33,79	18,84	39,48	[-43,978 : 81,658]	125,64
4	3,43	7,22	[-8,062 : 14,913]	22,98	4,61	53,46	[-80,460 : 89,658]	170,14
8	-8,25	5,68	[-17,286 : 0,786]	18,07	2,25	98,76	[-154,905 : 159,405]	314,31

Επιπρόσθετα αποτυπώθηκαν οι διαφορές σε ένα διάγραμμα, προκειμένου να παρατηρηθεί, εάν το μέγεθος των κινήσεων (N), επηρεάζει την ακρίβεια τοποθέτησης. Το διάγραμμα παρουσιάζεται παρακάτω.

Μετρήσεις 2^{ου} πειράματος:



Παρατηρείται ότι υπάρχει πρόβλημα στον άξονα Y, καθώς οι αποκλίσεις μεγαλώνουν αρκετά γρήγορα και φτάνουν την τάξη των 100-120 μm. Πρέπει όμως να γίνουν παραπάνω πειράματα για να διαπιστωθεί η απόλυτη ακρίβεια του συστήματος και παράλληλα να γίνουν καλύτερη ρύθμιση των εξαρτημάτων.

Σε ότι αφορά τις μέσες τιμές που υπολογίστηκαν είναι μέσα στα όρια που έχουν τεθεί, αλλά το εύρος των τιμών είναι μεγάλο και κυρίως στον Y άξονα. Για παράδειγμα για N=8 το εύρος είναι (-121 μm-119μm). Παρόλα το εύρος είναι μικρότερο από το μέγεθος της εικόνας, οπότε μπορεί και να εντοπιστεί.

Επίσης παρατηρείται ότι το εύρος του διαστήματος εμπιστοσύνης, περιέχει το σημείο μηδέν, οπότε η ακρίβεια του συστήματος στατιστικά δεν μπορεί να χαρακτηριστεί λανθασμένη. Στη συνέχεια γίνεται το t-test (τ-ΤΕΣΤ).

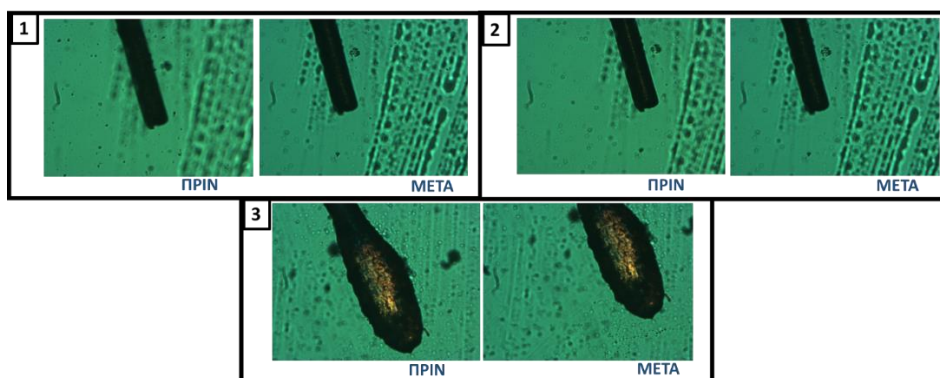
Το επιτρεπτό όριο της τ- τιμής με 3 βαθμούς ελευθερίας είναι 2,353. Για τον υπολογισμό της τ-τιμής χρησιμοποιείται η σχέση: $\tau = \frac{\bar{x}}{\sigma}$.

- Για N=2: προκύπτει μέση τιμή του X: 2,108 μm και του Y: 18,84 μm, τυπική απόκλιση για X: 10,619 μm και για Y: 39.47 μm και τ-τιμή για X: 0,39 μm, ενώ για Y: 0,95 μm.
- Για N=4: προκύπτει μέση τιμή του X: 3,4255 μm και του Y: 4,61 μm, τυπική απόκλιση για X: 7,22 μm και για Y: 53,49 μm και τ-τιμή για X: 0,949 μm, ενώ για Y: 0,173 μm.
- Για N=8: προκύπτει μέση τιμή του X: -8,25 μm και του Y: 2,25 μm, τυπική απόκλιση για X: 5,67 μm και για Y: 98,7 μm και τ-τιμή για X: -2,9 μm, ενώ για Y: 0,046 μm.

Παρατηρείται ό,τι για όλα τα πειράματα το οι τιμές είναι μέσα στα όριο (οπότε είναι στατιστικά διαφορετικές από το μηδέν), εκτός από την τ-τιμή του X για N=4, όπου είναι ανάμεσα στο 10% και 2% και επομένως δεν μπορεί να σχολιαστεί.

3.3 Ακρίβεια Σάρωσης Πλάκας Δειγμάτων

Το τρίτο και πιο σημαντικό πείραμα πραγματοποιείται, προκειμένου να καθοριστεί η ακρίβεια της σάρωσης της 96άρας πλάκας. Το πρόγραμμα προσομοιώνει τη σάρωση μιας 96άρας πλάκας και την επιστροφή στο αρχικό σημείο. Για την διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε μια ανθρώπινη τρίχα, η οποία έχει πάχος κατά μέσο όρο 40μm (δεν επηρεάζει το πείραμα) και ένα πρόγραμμα το οποίο κινεί τη βάση στις κατάλληλες θέσεις. Η τρίχα τοποθετήθηκε στο σημείο αναφοράς, το οποίο είναι το πρώτο πηγάδι. Μια εικόνα λήφθηκε στην αρχή του πειράματος και μια εικόνα μετά την σάρωση. Το πείραμα αυτό έγινε 3 φορές και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην Εικόνα 103.



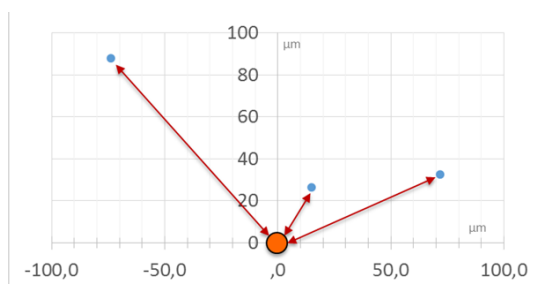
Εικόνα 103: Αποτελέσματα πειράματος σάρωσης 16 από τα 96 πηγάδια μιας 96άρας πλάκας. (Πάνω: κορμός τρίχας Κάτω: ρίζα τρίχας)

Με βάση τις παραπάνω απεικονίσεις υπολογίστηκε πως η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, το διάστημα εμπιστοσύνης και το εύρος του διαστήματος εμπιστοσύνης.

Πίνακας 11: Μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, το διάστημα εμπιστοσύνης και το εύρος του διαστήματος εμπιστοσύνης τρίτου πειράματος (σε μm)

\bar{x}	σ_x	95% Δ.Εμπιστοσύνης	Εύρος για 95% ΔΕ	\bar{y}	σ_y	95% Δ.Εμπιστοσύνης	Εύρος για 95% ΔΕ
3,162	73,297	[-179 ; 185]	182,08	36,758	136,000	[-47,5 ; 121,02]	84,264

Παρατηρείται ότι το σημείο (0.0) βρίσκεται μέσα στο εύρος των τιμών, επομένως το πείραμα στατιστικά είναι ακριβές και οι τιμές του είναι στατιστικά διαφορετικές από αυτό.



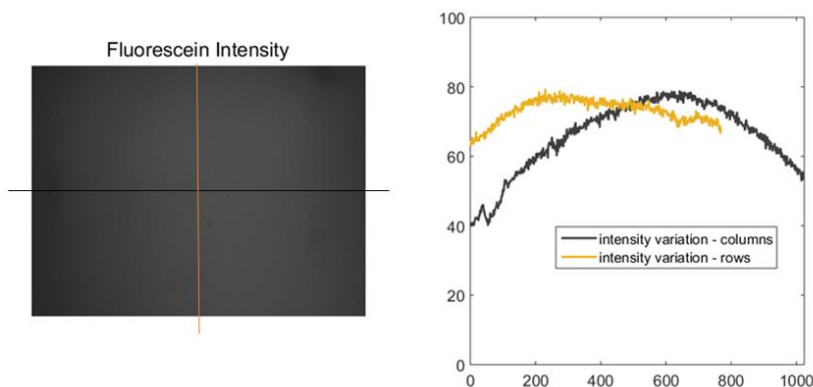
Η ακρίβεια του συστήματος δεν μπορεί να καθοριστεί μέσα από αυτά τα πειράματα. Πρέπει να γίνουν πειράματα πιο εκτεταμένα και μεγαλύτερης κλίμακας, ώστε να διαπιστωθεί με σιγουριά η ακρίβεια. Από το παραπάνω πείραμα το μόνο συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι δεν υπάρχει κάποιο μεγάλο σφάλμα στην κίνηση. Το πείραμα θα επαναληφθεί στο μέλλον με περισσότερες επαναλήψεις και για όλο το εύρος της 96άρας πλάκας.

3.4 Απεικόνιση Βαμμένων Κυττάρων σε 96άρα πλάκα

3.4.1 Προετοιμασία Δειγμάτων

Σε αυτό το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν οι διατάξεις που περιγράφονται σε αυτήν την εργασία για να απεικονίσουμε ζωντανά κύττρα τύπου JJN3 (κύτταρα λεθχαιμίας). Τα κύτταρα έχουν βαφεί με δύο βαφές και σκοπός του πειράματος είναι να παρουσιαστούν οι δυνατότητες του οργάνου και να διαχωριστούν τα ζωντανά από τα νεκρά κύτταρα. Η προετοιμασία των δειγμάτων καθώς και το πρωτόκολλο βαφής παρατίθεται στο παράρτημα. Μετά την βαφή, τα κύτταρα τοποθετούνται σε μια 96άρα πλάκα. Επιλέχθηκε να μην χρησιμοποιηθούν και τα 96 πηγάδια, αλλά να γίνει χρήση των πρώτων 16 (4X4).

Αφού ολοκληρωθεί η βαφή των κυττάρων και προτού ξεκινήσουν τα βιολογικά πειράματα πρέπει να βαθμονομηθεί το μικροσκόπιο φθορισμού. Για να γίνει αυτό απεικονίστηκε ένα δείγμα φθορίζουσας ουσίας χωρίς κύτταρα. Στη συνέχεια με τη χρήση της Matlab επεξεργάστηκε και σε ένα διάγραμμα αποτυπώθηκε το σήμα (Εικόνα 104).



Εικόνα 104: Σήμα φθορίζουσας ουσίας για βαθμονόμηση μικροσκοπίου. Το σήμα στο κέντρο είναι μέγιστο.

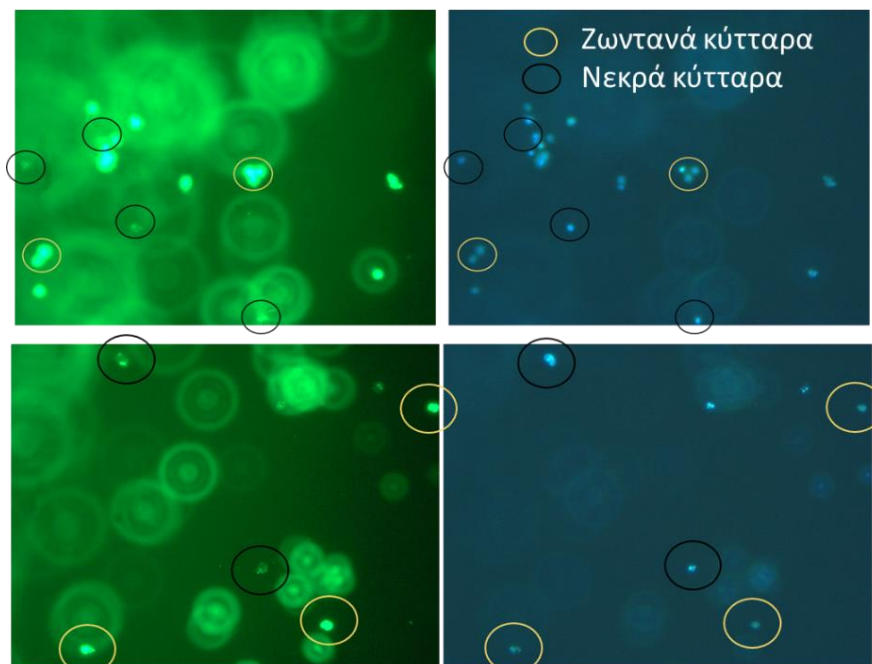
3.4.2 Απεικόνιση

Η απεικόνιση των κυττάρων χωρίστηκε σε 2 πειράματα. Το **πρώτο πείραμα** αφορά την σάρωση των 16 πηγαδιών και την απεικόνιση του δείγματος. Σκοπός αυτού του πειράματος είναι ο εντοπισμός διαφορών ανάμεσα σε φωτογραφίες που λήφθηκαν στο ίδιο μέρος του δείγματος, με διαφορετικά φίλτρα. Για παράδειγμα με τη χρήση των δύο χρωστικών ουσιών, μπορούν να εντοπισθούν ποιά κύτταρα είναι νεκρά και ποιά όχι. Το HOECHST που συνδέεται με τα νουκλεϊκά κύτταρα, σηματοδοτεί το DNA, είτε είναι νεκρό το κύτταρο είτε όχι. Αντιθέτως το CALCEIN AM το οποίο σηματοδοτεί το κυτταρικό σκελετό είναι πιο ευαίσθητο, συνδέεται μόνο με ζωντανά κύτταρα.

Το **δεύτερο πείραμα** αφορά την δυνατότητα της ένωσης διάφορων φωτογραφιών, προκειμένου να απεικονιστεί μεγαλύτερη περιοχή του δείγματος. Για να είναι δυνατή αυτή η λειτουργία, πρέπει οι εικόνες να αλληλοκαλύπτονται κατά 10% τουλάχιστον. Στη συνέχεια με προγράμματα ανάλυσης εικόνων μπορούν να ενωθούν. Για τη παρούσα διπλωματική η ένωση των εικόνων έγινε με το χέρι.

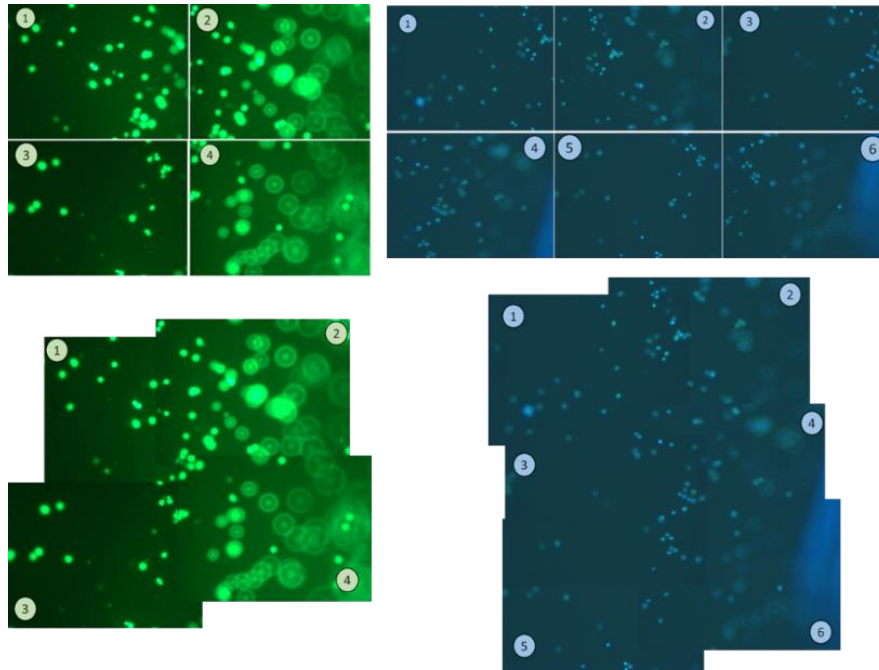
3.4.3 Αποτελέσματα

Στο πρώτο πείραμα συλλέχτηκαν διάφορες φωτογραφίες, εκ των οποίων παρατίθενται μερικές που περιέχουν την περισσότερη πληροφορία.



Εικόνα 105: Απεικόνιση κυττάρων JJN3 βαμμένων με τις φθορίζουσες βαφές calcein AM και hoechst33342 χρησιμοποιώντας το μικροσκόπιο και τις διατάξεις που αναπτύχθηκαν. Αριστερή στήλη: Πράσινο filter set (σήμα calcein AM). Δεξιά στήλη: Μπλε filter set (σήμα hoechst). Κάθε στήλη αντιστοιχεί σε ένα διαφορετικό σημείο του δείγματος. Ο συγκεκριμένος συνδυασμός χρωμάτων επιτρέπει τον διαχωρισμό των νεκρών κυττάρων (βάφονται μόνο σε Hoechst, μαύροι κύκλοι) από τα ζωντανά κύτταρα (βάφονται και με τις δύο βαφές, πορτοκαλί κύκλοι). Οι μεγάλες ομόκεντρες κηλίδες είναι κύτταρα εκτός εστίασης.

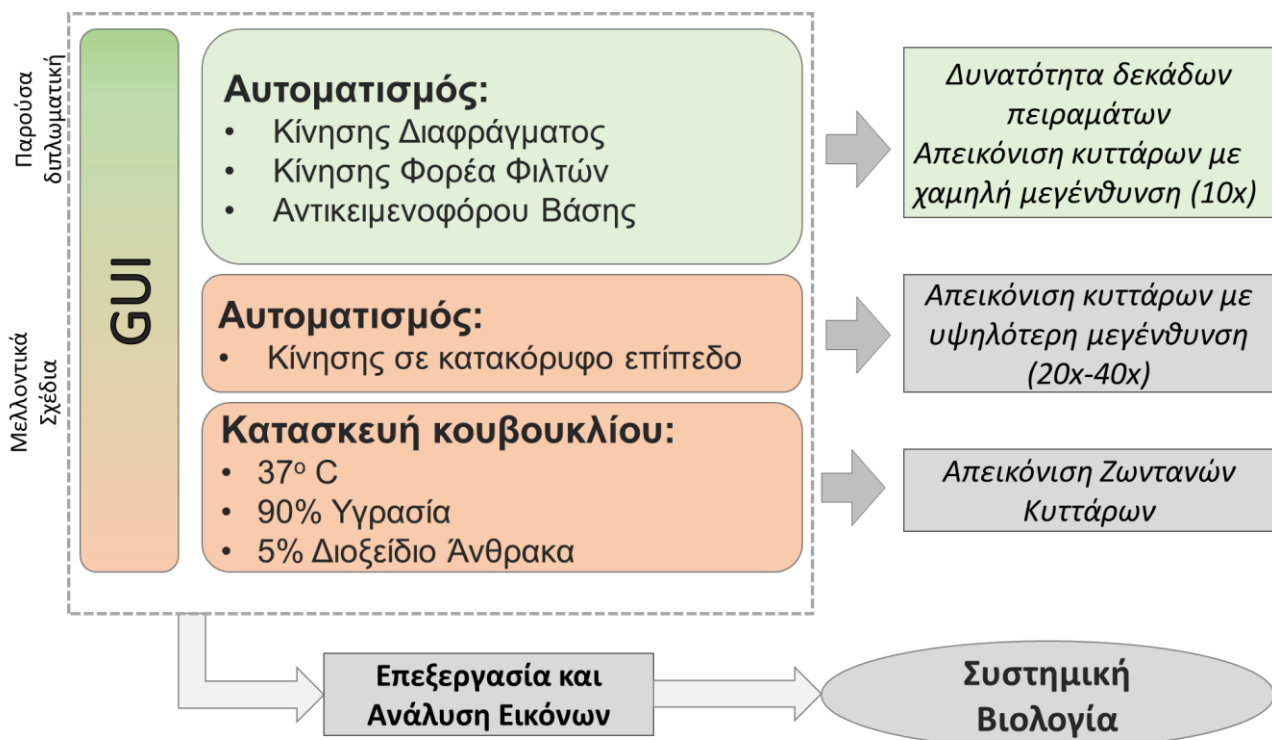
Όπως παρατηρείται από τις εικόνες, μερικά κύτταρα που εμφανίζονται με το HOECHST δεν εμφανίζονται με το Calcein. Πιο συγκεκριμένα, με μαύρο κύκλο φαίνονται τα κύτταρα, τα οποία είτε δεν εντοπίζονται, είτε είναι αλλοιωμένα και με κίτρινο αυτά τα οποία υπάρχουν και στις δύο φωτογραφίες. Τα κύτταρα που δεν φαίνονται στην αριστερή φωτογραφία είναι αυτά που είναι νεκρά. Στο δεύτερο πείραμα συλλέχτηκαν οι ακόλουθες φωτογραφίες, οι οποίες αλληλοκαλύπτονται προκειμένου να μπορούν να ενωθούν στην συνέχεια:



Εικόνα 106: Δημιουργία μωσαϊκού από εικόνες παρόμοιες με αυτές της εικόνας 105. Πάνω στήλη: μεμονομένες εικόνες στο πράσινο (αριστερά) και μπλε (δεξιά) filter set.o. Κάτω στήλη: το αποτέλεσμα του μωσαϊκού στο πράσινο (σήμα calcein AM) και μπλε (σήμα Hoechst) κανάλι.

4 Συμπεράσματα και Μελλοντική Εργασία

Στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε αυτοματισμός της κίνησης του διαφράγματος και του φορέα φίλτρων καθώς και της αντικειμενοφόρου βάσης. Με αυτό το τρόπο δίνεται η δυνατότητα παρακολούθησης και απεικόνισης κυττάρων σε χαμηλή μεγέθυνση (10x), Εικόνα 107. Η απεικόνιση σε υψηλή μεγέθυνση είναι πολύ ευαίσθητη σε λάθη εστίασης. Επομένως, προκειμένου να αυξηθεί η ακρίβεια της παρατήρησης πρέπει να αυτοματοποιηθεί η κίνηση στον κατακόρυφο άξονα Z, Εικόνα 107.



Εικόνα 107: Διαδικασία Ολοκλήρωσης Αυτοματισμού Μικροσκοπίου Φθορισμού

Στη συνέχεια της αυτοματοποίησης του μικροσκοπίου πρέπει να δημιουργηθεί ένα κουβούκλιο, το οποίο θα έχει συνθήκες περιβάλλοντος που θα ευνοούν την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων. Προς αυτή την κατεύθυνση πρέπει να δημιουργηθεί ένα σύστημα το οποίο θα κρατάει τη θερμοκρασία του κουβουκλίου σταθερή στους 37° C, την υγρασία στο 95% και θα παρέχει και 5% διοξείδιο του άνθρακα. Αφού δημιουργηθεί αυτή η κατασκευή θα είναι δυνατή η παρακολούθηση ζωντανών κυττάρων.

Παράλληλα με τα νέα αυτά συστήματα πρέπει να αναπτυχθεί το ήδη υπάρχον γραφικό περιβάλλον, ώστε να υποστηρίζει και τις υπόλοιπες λειτουργίες. Στη συνέχεια πρέπει να αναπτυχθούν αλγόριθμοι, που θα επεξεργάζονται και θα αναλύουν τις εικόνες ώστε να συλλεχτούν βιολογικές πληροφορίες. Μόλις ολοκληρωθούν τα παραπάνω βήματα, θα είναι δυνατή η μελέτη και εκτέλεση πολλών πειραμάτων και η ανάλυση των δεδομένων.

5 Βιβλιογραφικές Αναφορές

5.1 Επιστημονικές Δημοσιεύσεις

Spring KR, Davidson MW. "Introduction to Fluorescence Microscopy". Nikon MicroscopyU. Retrieved, 2008

Davidson MW, Abramowitz M. 1999. "Optical microscopy"

Jensen E.C. "Types of Imaging, Part 2: An Overview of Fluorescence Microscopy", *Ar Rnsights, the anatomical reord* 295:1621-1627 (2012)

Monici M. "Cell and tissue autofluorescence research and diagnostic applications", *Biotechnol Annu Rev.* 2005;11:227-56. PMID: 16216779 [PubMed - indexed for MEDLINE].

Carpenter A. "Image-based chemical screening", *Nature Chemical Biology* 3(8) doi:10.1038/nchembio.2007.15.

Ljosa V., Carpenter A. "Introductoin to the quantitative analysis of two dimensional fluorescence microscopy images for cell-based screening". *PLoS Comput Biol* 5(12); e1000603, doi:10.1371/journal.pcbi.1000603.

Wollman R., Stuurman N. "High throughput microscopy: from raw images to discoveries", *Journal of Cell Science* 120,3715-3722, doi:10.1242/jcs/013623.

D. W. Jones, "Control of Stepper Motors", sections 5.2.10, 10.8, 10.9 and 10.10 of the *Handbook of Small Electric Motors* edited by W. H. Yeadon and A. W. Yeadon, McGraw-Hill, 2001.

D. Austin, "Generate stepper-motor speed profiles in real time", article in *Embedded Systems Programming* January 2005.

Beams, J., "Magnetic Bearings", Paper 810A, *Automotive Engineering Conference*, Detroit, Michigan, USA, SAE (Jan. 1964)

5.2 Βιβλία

Lakowicz J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd Edition, Springer, 2006.

Volkhard H. *Principles of Computational Cell Biology*. Weinheim: Wiley-VCH, 2008

Cremer, C; Cremer, T. *Considerations on a laser-scanning-microscope with high resolution and depth of field*, 1978.

Slocum, A.H., "FUNdaMENTALS of Design," 2009

5.3 Ιστοσελίδες

<http://www.nobelprize.org/educational/physics/microscopes/fluorescence/>

<http://www.microscopyu.com/articles/fluorescence/fluorescenceintro.html>

<http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/confocal/fluorophoresintro.html>

<http://www.microscopemaster.com/fluorescence-microscope.html>

<http://www.leica-microsystems.com/science-lab/total-internal-reflection-fluorescence-tirf-microscopy/>

<http://www.phidgets.com/docs/>

<http://bsmeicte2012.iutoic-dhaka.edu/proceedings/13th-acfm-2010/contributed/fluidmechinery/1017.pdf>

<http://machinedesign.com/motorsdrives/motor-selection-guidelines-precision-motion-control>

<http://components.about.com/od/Components/a/Stepper-Motors-Vs-Servo-Motors-Selecting-A-Motor.htm>

<http://www.intechopen.com/>

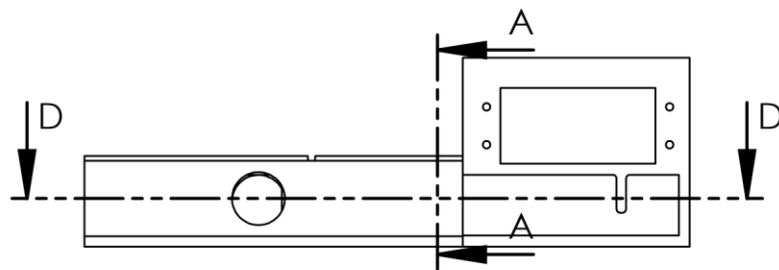
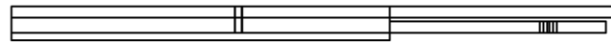
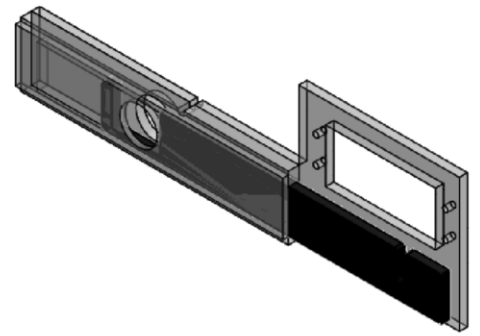
fluorophores.org

en.wikipedia.org

Παράρτημα Α: Κατασκευαστικά Σχέδια

Στο παράρτημα Α παρατίθενται τα κατασκευαστικά σχέδια των τριών συσκευών που σχεδιάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα παρακάτω βρίσκονται τα σχέδια των επιμέρους εξαρτημάτων του διαφράγματος της λάμπας υδραργύρου (4 επιμέρους κομμάτια), της συσκευής μετακίνησης του φορέα των φίλτρων και της αυτοματοποιημένης αντικειμενοφόρου βάσης.

Κατασκευαστικά Σχέδια Διαφράγματος



SECTION D-D

UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
 DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
 SURFACE FINISH:
 TOLERANCES:
 LINEAR:
 ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
 και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
 BREAK SHARP
 EDGES

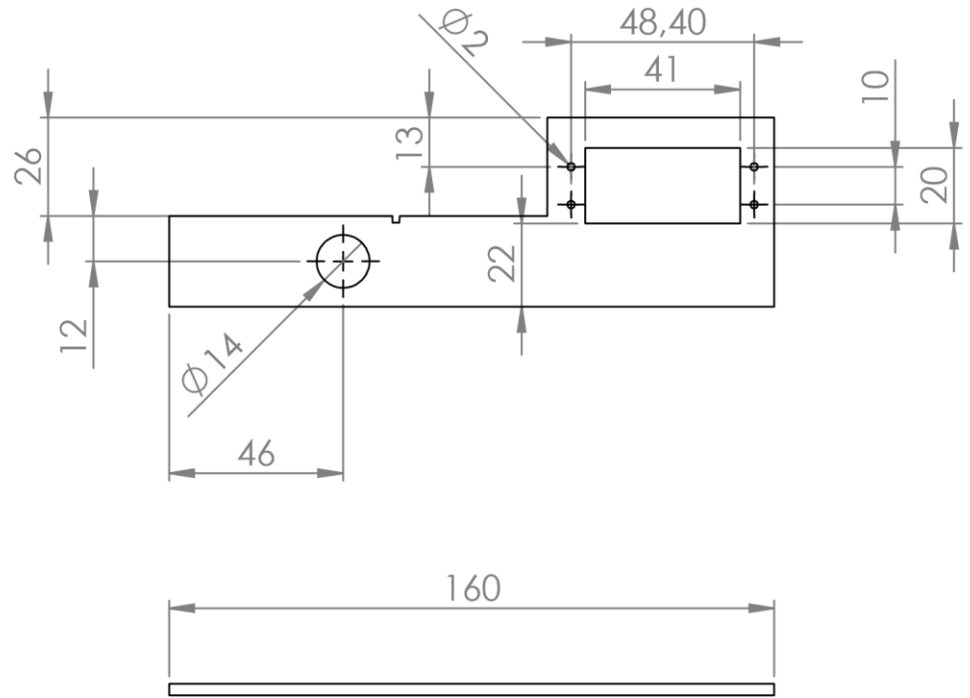
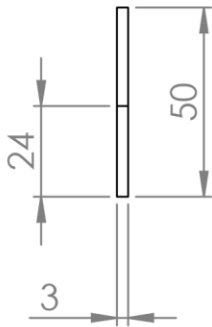
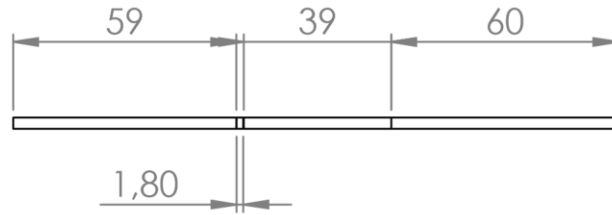
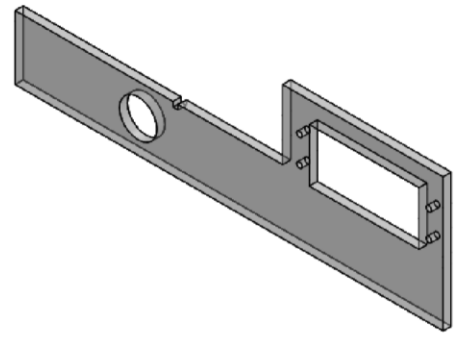
DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					

TITLE:		<h1>LampShutter</h1>	
MATERIAL:		88	
DWG NO.		Assem1_LampShutter	
WEIGHT:		SCALE:1:2	
		SHEET 1 OF 1	

A4



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:
Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

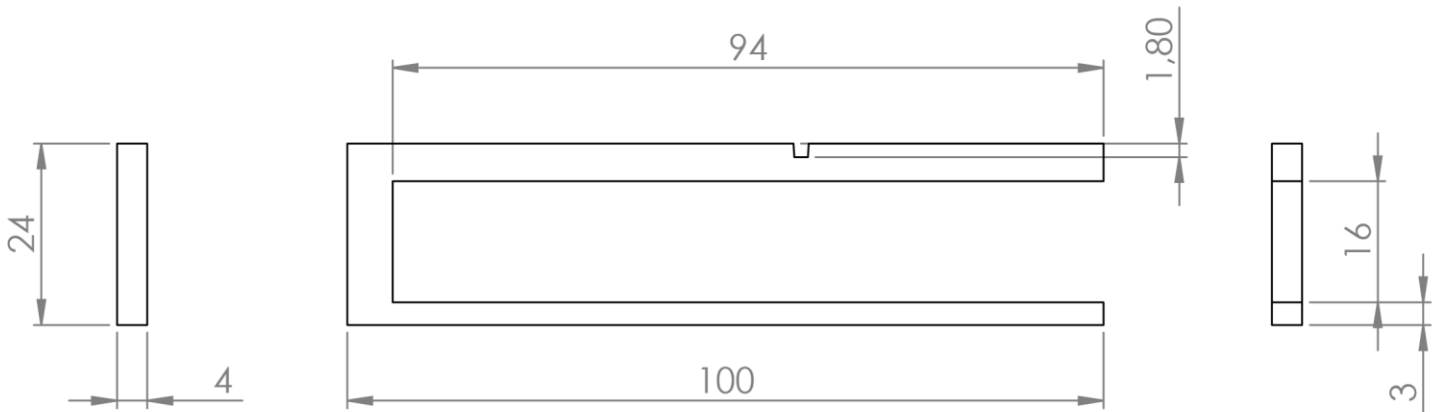
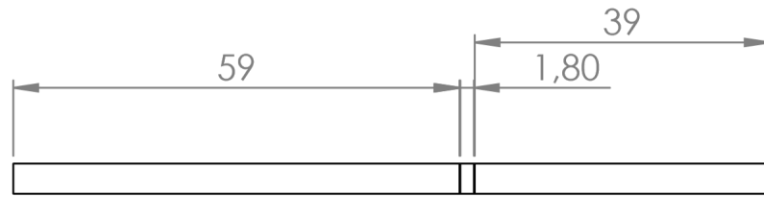
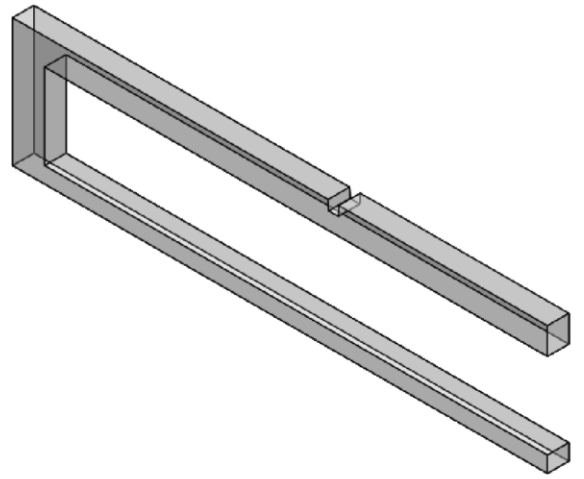
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
MATERIAL:			89		
			Plexiglass		
WEIGHT:					

TITLE:	LampShutter	
DWG NO.	T1_LampShutter	A4
SCALE:1:2	SHEET 1 OF 1	



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
 DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
 SURFACE FINISH:
 TOLERANCES:
 LINEAR:
 ANGULAR:

FINISH:
 Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
 και Συστημικής Βιολογίας

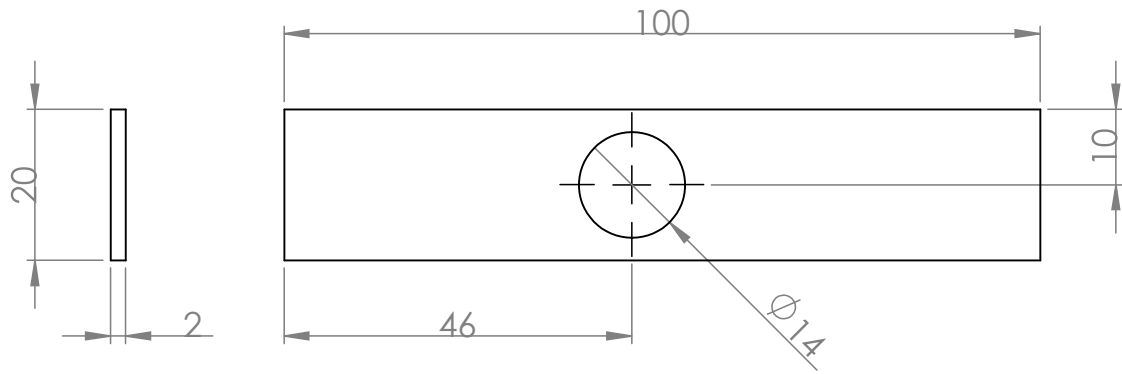
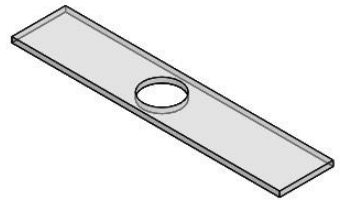
DEBUR AND
 BREAK SHARP
 EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	90	
				Plexiglass	
			WEIGHT:		

TITLE:	LampShutter	
DWG NO.	T2_LampShutter	A4
SCALE:1:1	SHEET 1 OF 1	



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE		
DRAWN A. Theodoropoulos				
CHK'D				
APPV'D				
MFG				91
Q.A				
			MATERIAL:	
			Plexiglass	

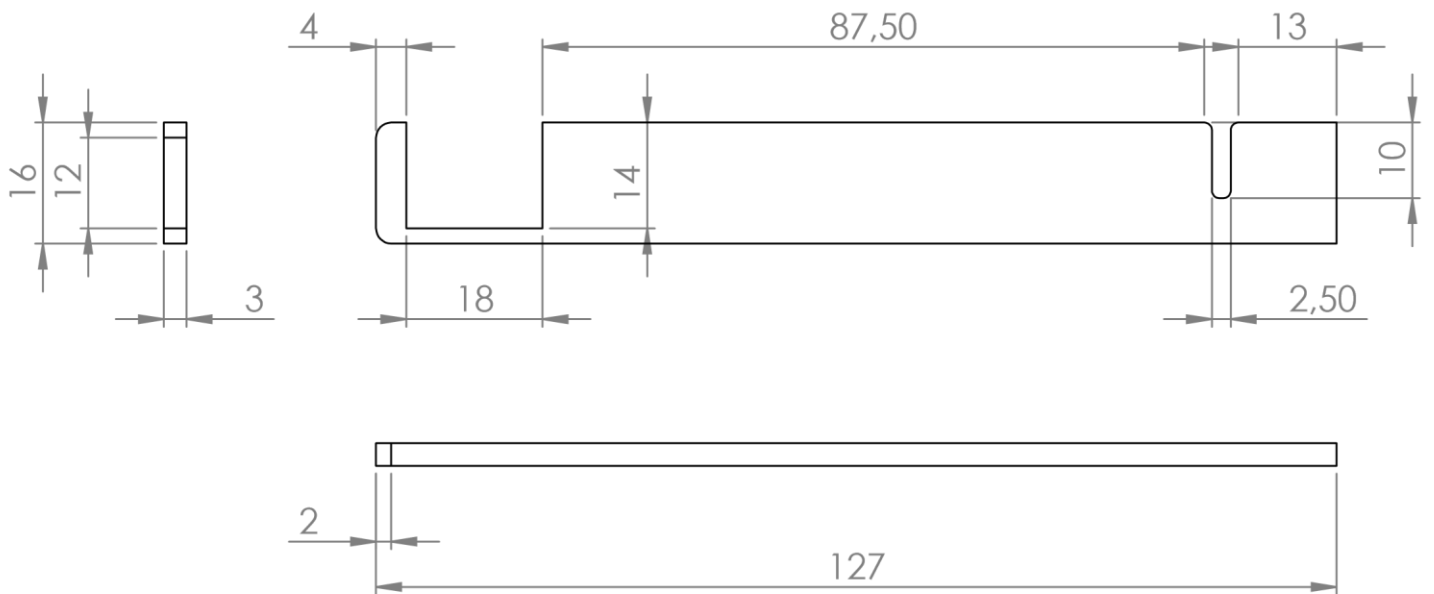
TITLE:

LampShutter

DWG NO.

T3_LampShutter

A4



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
 DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
 SURFACE FINISH:
 TOLERANCES:
 LINEAR:
 ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
 και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
 BREAK SHARP
 EDGES

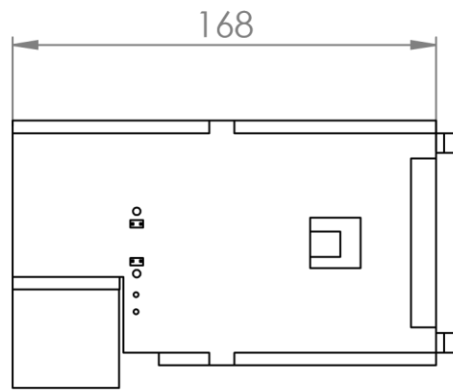
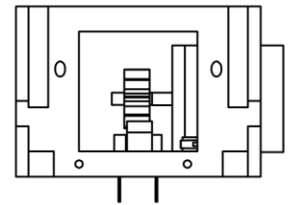
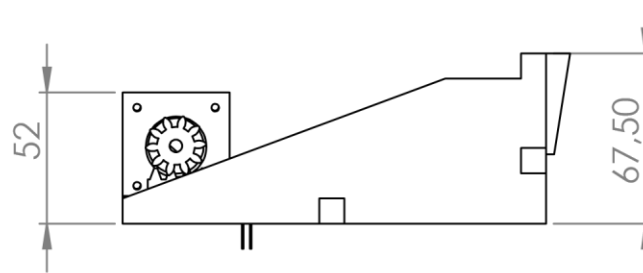
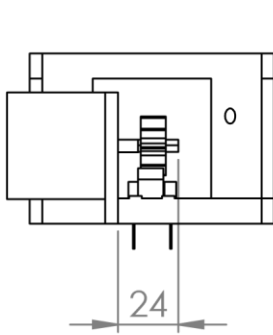
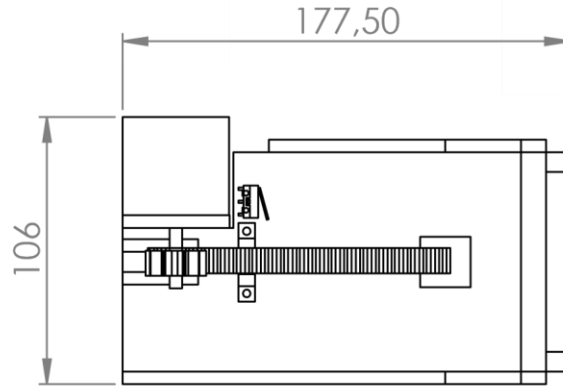
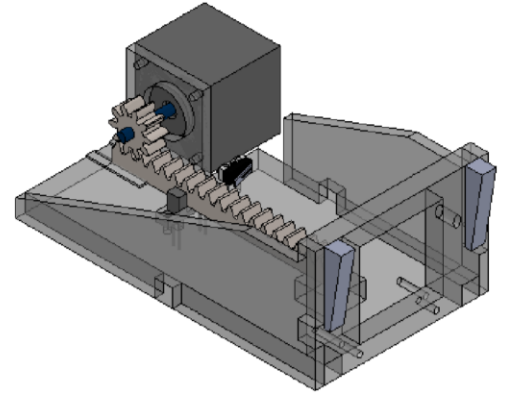
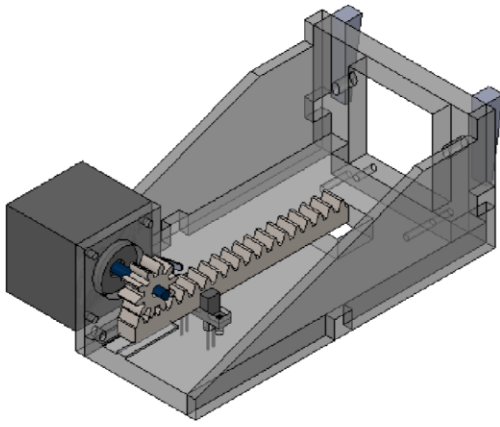
DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APPV'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	92	
				Plexiglass	
			WEIGHT:		

TITLE:	LampShutter	
DWG NO.	T4_LampShutter	A4
SCALE:1:2	SHEET 1 OF 1	

Κατασκευαστικά Σχέδια Συσκευή Κίνησης Φορέα Φιλτρών



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

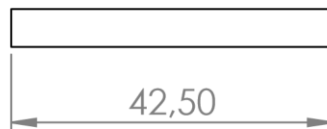
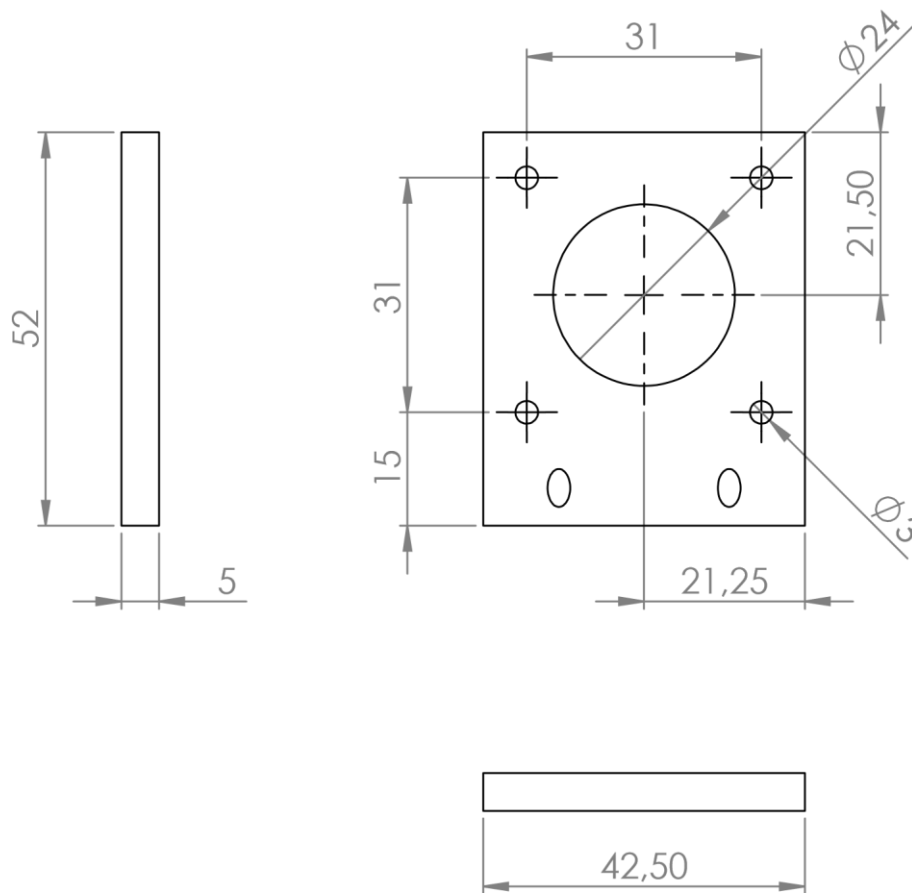
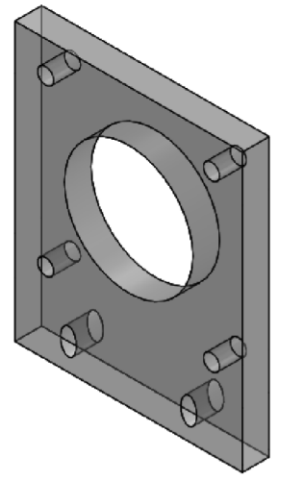
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN: A.Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	94	
			WEIGHT:		

TITLE:	<h1>FilterSet</h1>		
DWG NO.			Assem_FilterSet
SCALE:1:5			SHEET 1 OF 1



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής βιολογίας

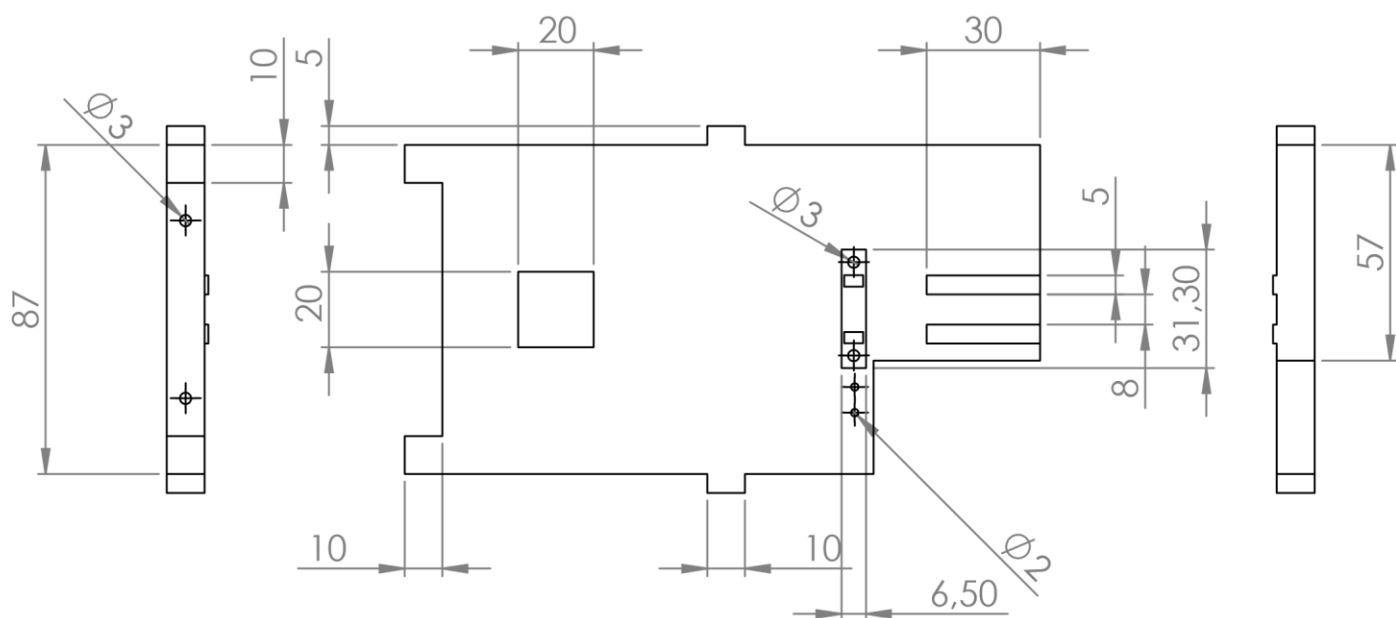
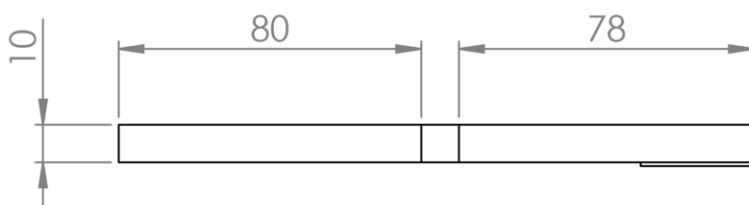
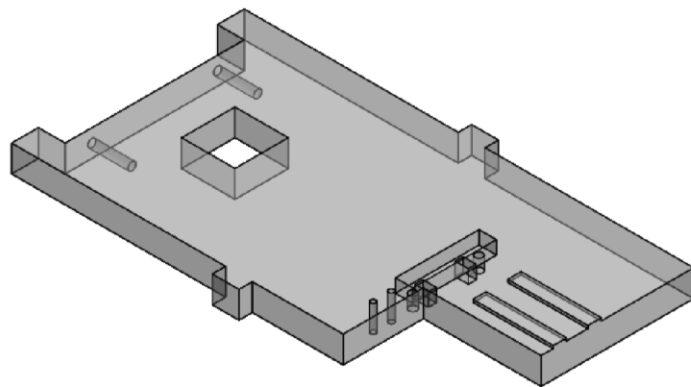
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	95	
			Plexiglass		
			WEIGHT:		

TITLE:		FilterSet	
DWG NO.			
SCALE:2:1		SHEET 1 OF 1	
		A4	



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

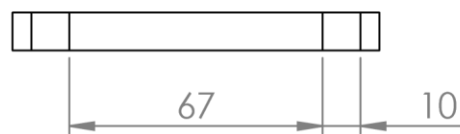
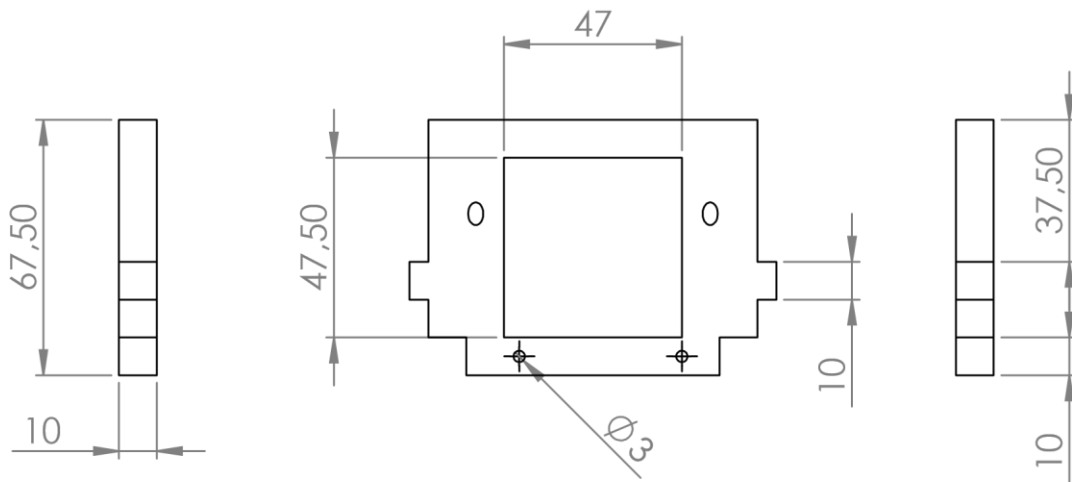
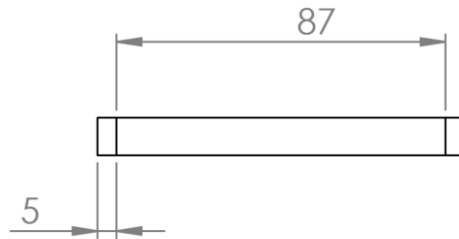
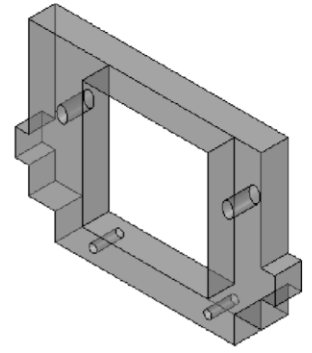
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	96	
				Plexiglass	
			WEIGHT:		

TITLE:	DWG NO.	SCALE:	SHEET
FilterSet		1:5	1 OF 1
T2_FilterSet			
			A4



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APPV'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	97	
			Plexiglass		
			WEIGHT:		

TITLE:

FilterSet

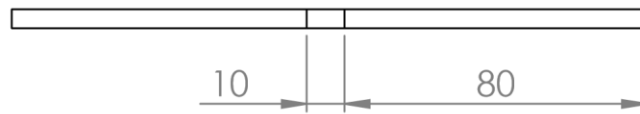
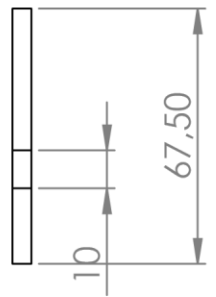
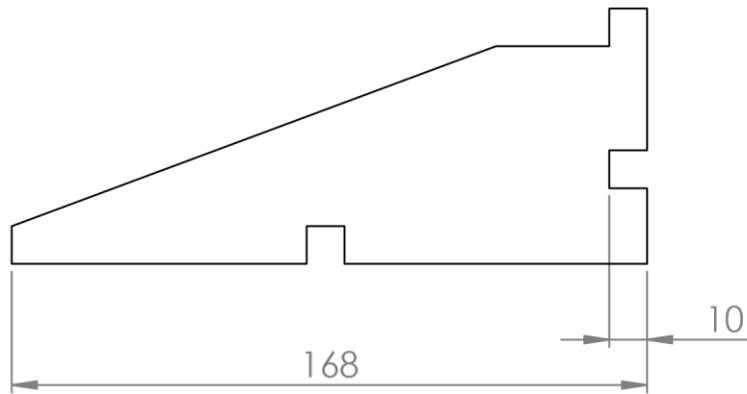
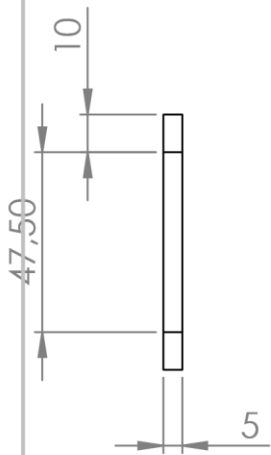
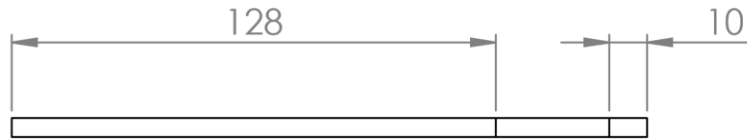
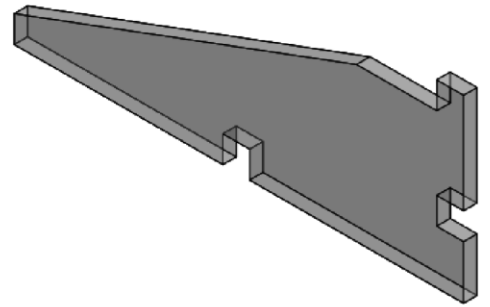
DWG NO.

T3_FilterSet

A4

SCALE:1:2

SHEET 1 OF 1



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικών Βιολογίας

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APPV'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	98	
				Plexiglass	
			WEIGHT:		

TITLE:

FilterSet

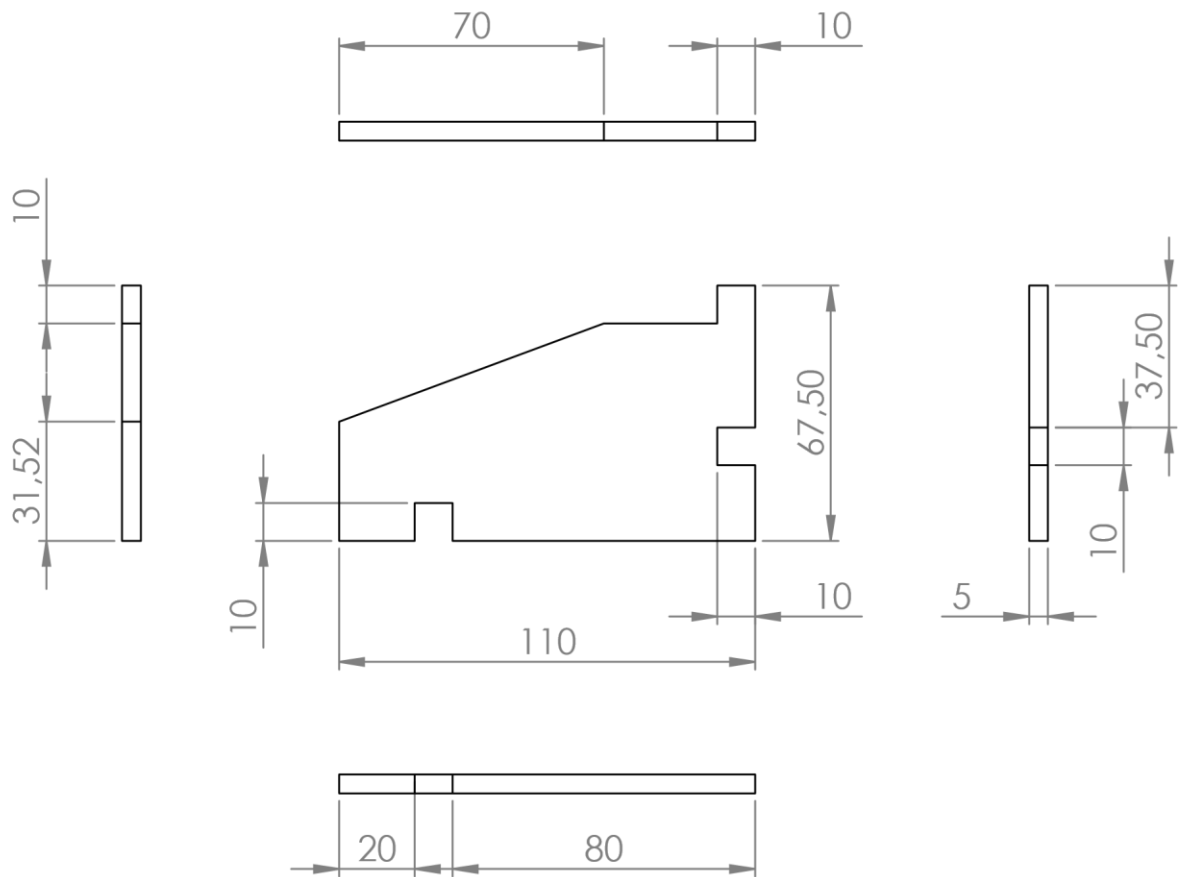
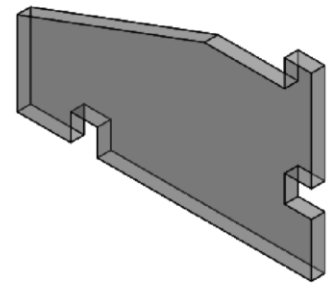
DWG NO.

T4_FilterSet

A4

SCALE:1:2

SHEET 1 OF 1



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

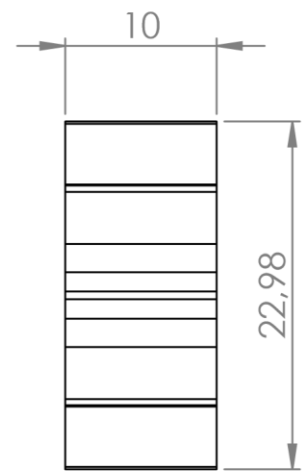
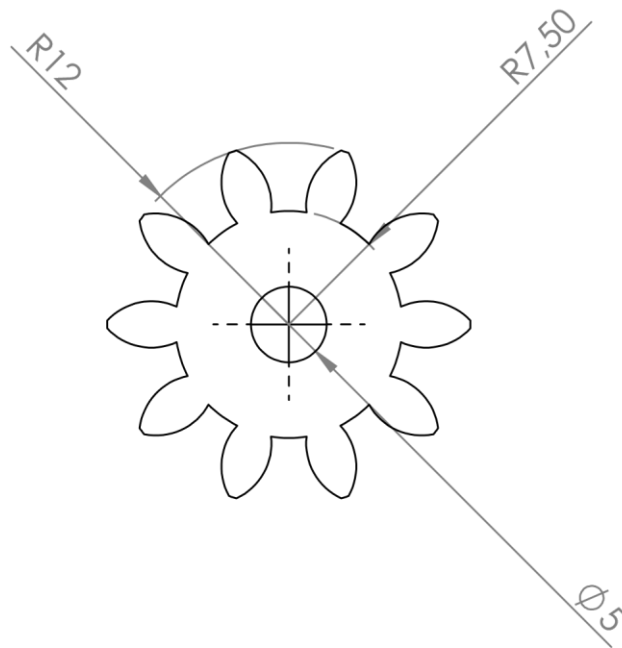
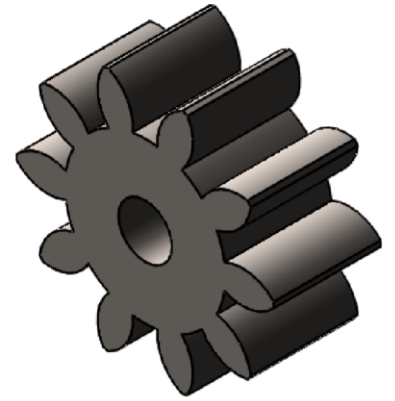
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'V'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	99	
			Plexiglass		
			WEIGHT:		

TITLE:	DWG NO.	SCALE:	SHEET
FilterSet	T5_FilterSet	1:1	1 OF 1
			A4



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

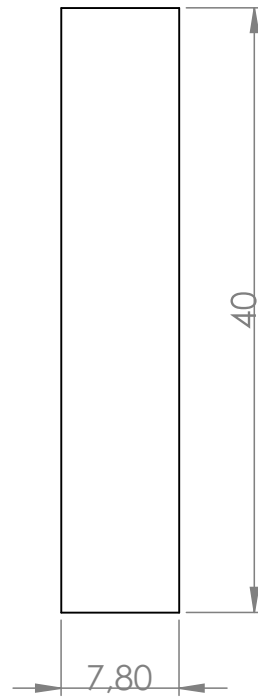
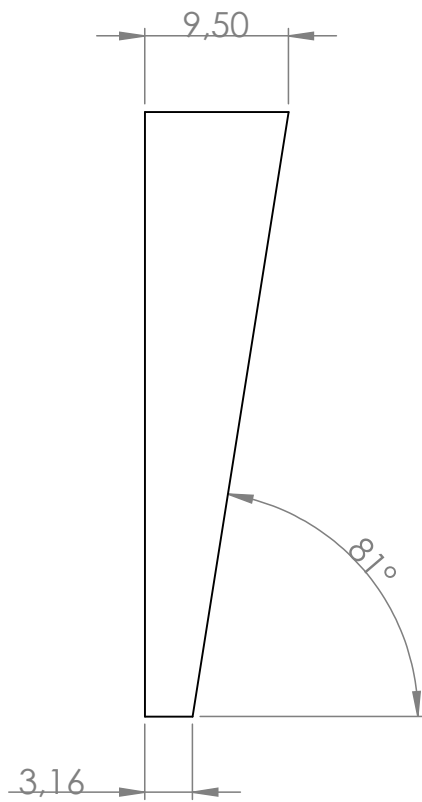
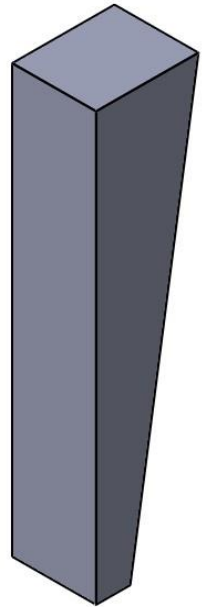
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

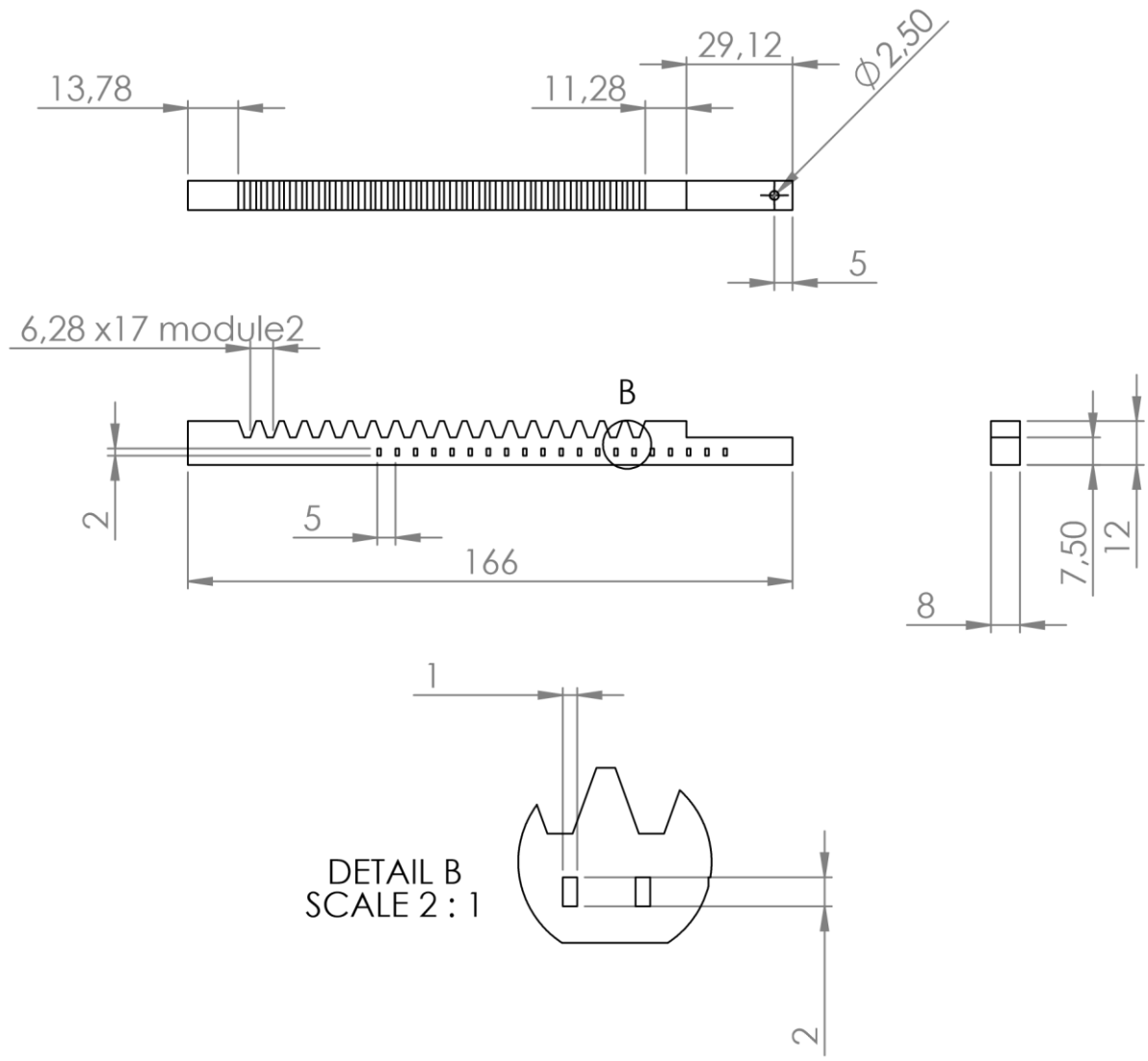
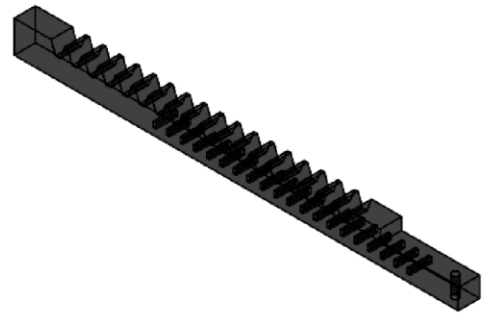
REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APPV'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	100	
				plexiglass	
			WEIGHT:		

TITLE:		FilterSet	
DWG NO.			
SCALE:2:1		SHEET 1 OF 1	



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED: DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS SURFACE FINISH: TOLERANCES: LINEAR: ANGULAR:			FINISH: Εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας		DEBUR AND BREAK SHARP EDGES		DO NOT SCALE DRAWING		REVISION		
NAME		SIGNATURE		DATE		TITLE:					
DRAWN A. Theodoropoulos						FilterSet					
CHK'D											
APPV'D											
MFG											
Q.A						MATERIAL:		101		DWG NO.	
						Plexiglass		T7_FilterSet		A4	
						WEIGHT:		SCALE:2:1		SHEET 1 OF 1	



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
 DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
 SURFACE FINISH:
 TOLERANCES:
 LINEAR:
 ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
 και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
 BREAK SHARP
 EDGES

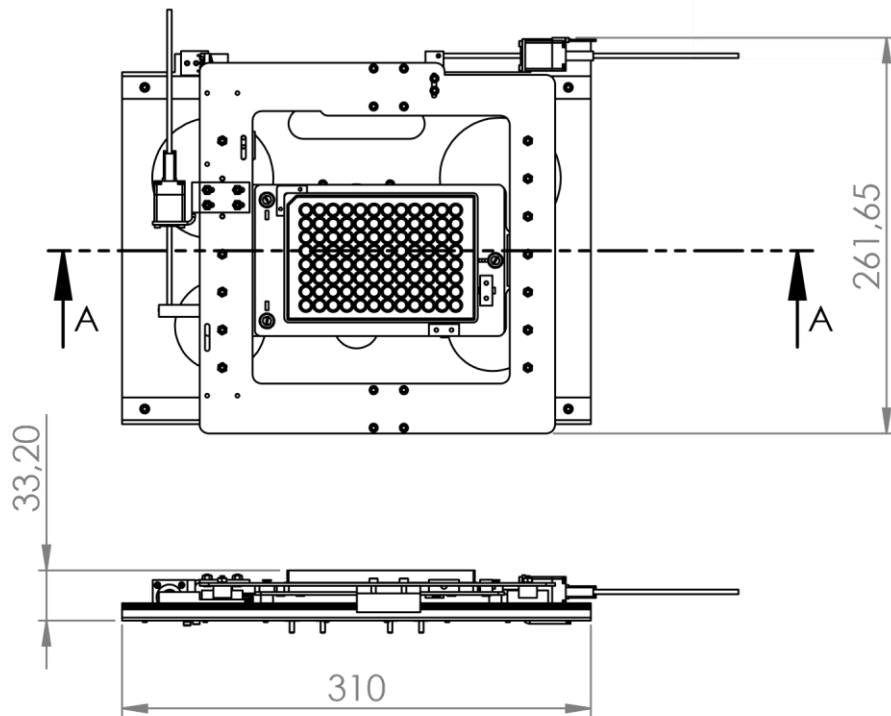
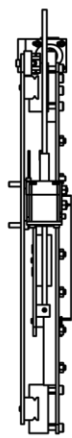
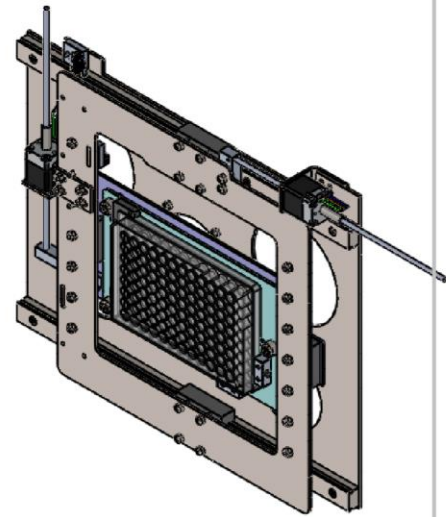
DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'V'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	102	
				Plexiglass	
			WEIGHT:		

TITLE:	FilterSet	
DWG NO.	T8_FilterSet	A4
SCALE:1:2	SHEET 1 OF 1	

Κατασκευαστικά σχέδια αυτοματοποιημένης αντικειμενοφόρου βάσης



SECTION A-A
SCALE 1 : 5

UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:
Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

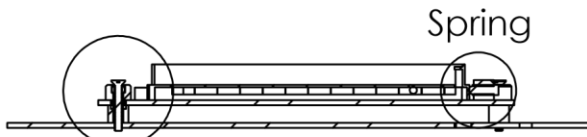
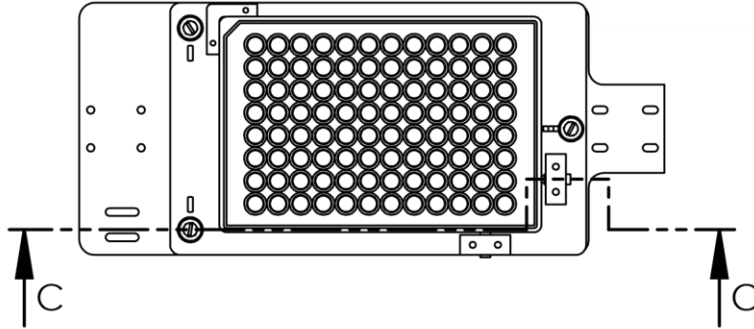
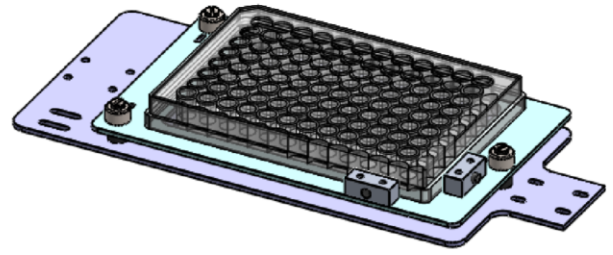
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

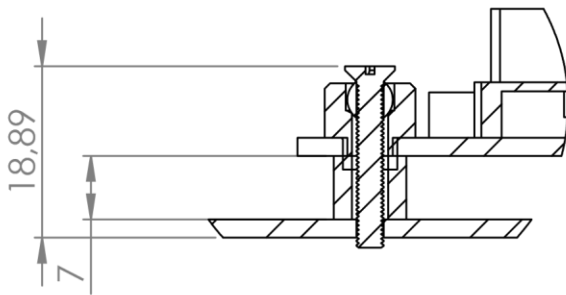
	NAME	SIGNATURE	DATE		
DRAWN	A. Theodoropoulos				
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
				MATERIAL:	
				Stainless Steel	104
				WEIGHT:	

TITLE:	XY stage	
DWG NO.	Assem1_XY stage	A4
SCALE:1:10		SHEET 1 OF 1

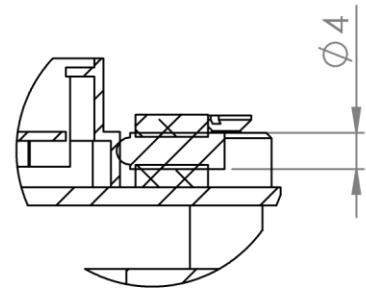


SECTION C-C
SCALE 1 : 3

Assem3_XY stage



DETAIL Assem3_XY stage
SCALE 6 : 5



DETAIL Spring
SCALE 6 : 5

UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'V'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	105	
			WEIGHT:		

TITLE:

XY stage

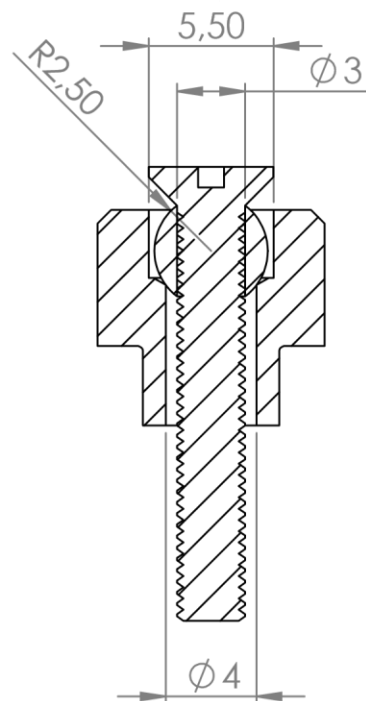
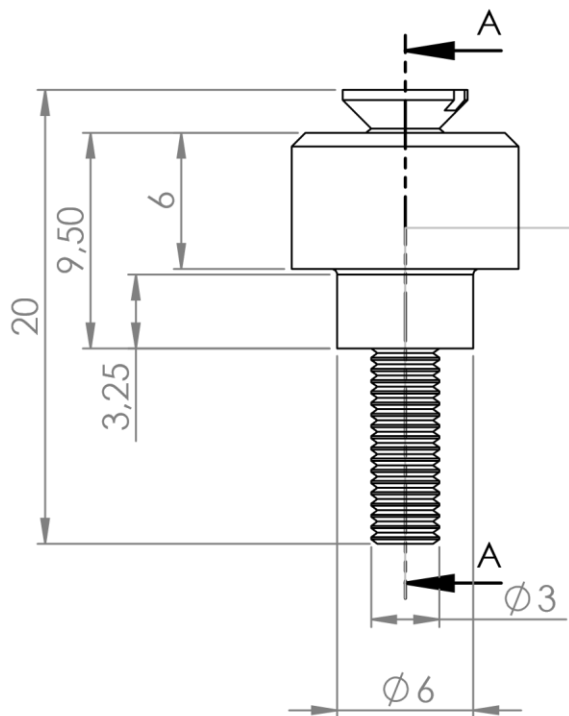
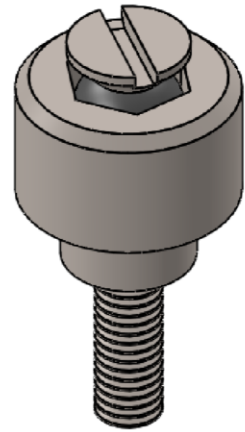
DWG NO.

Assem2_XY stage

A4

SCALE:1:5

SHEET 1 OF 1



SECTION A-A
SCALE 3 : 1

UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	106	
			WEIGHT:		

TITLE:

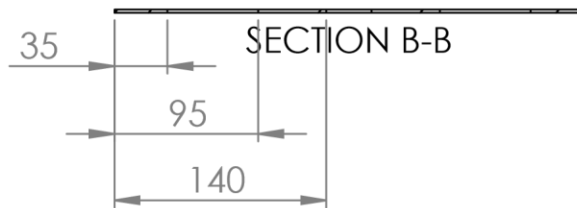
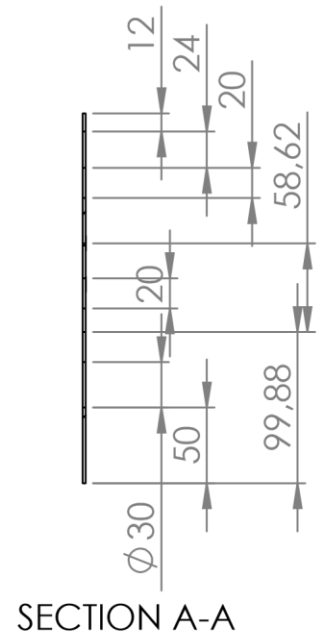
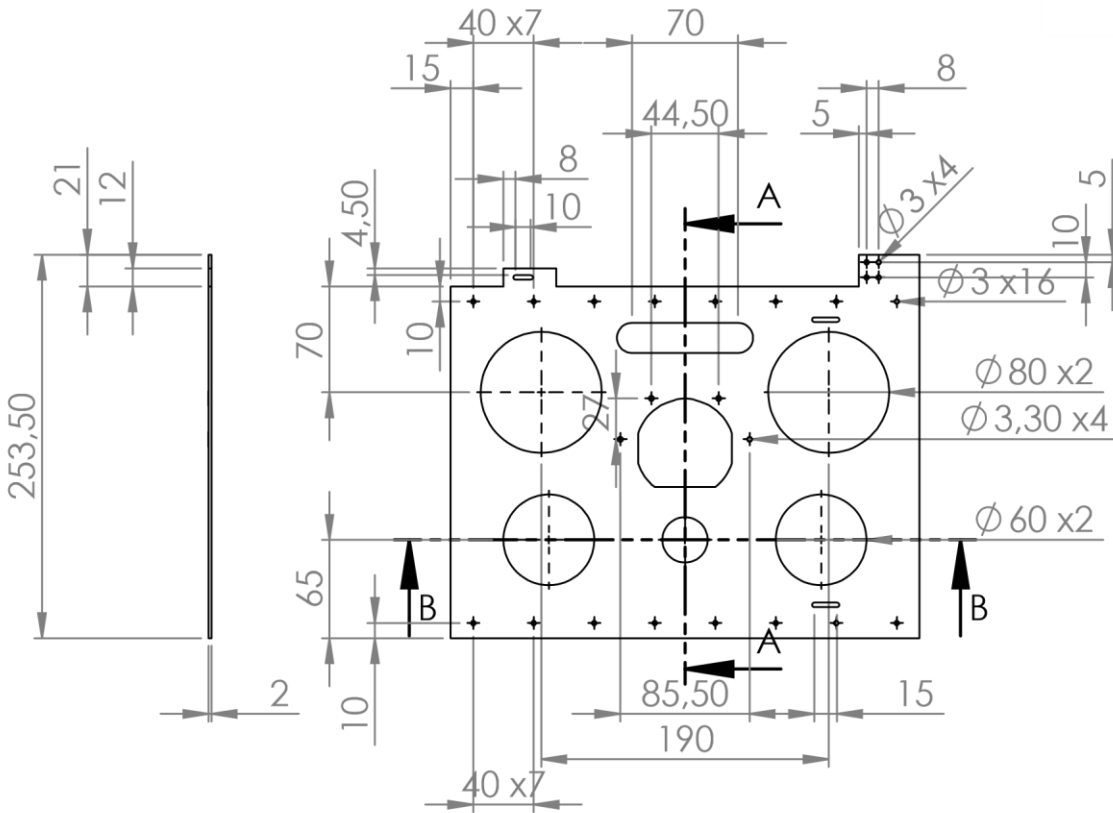
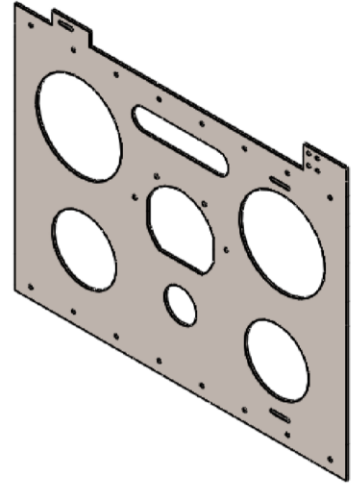
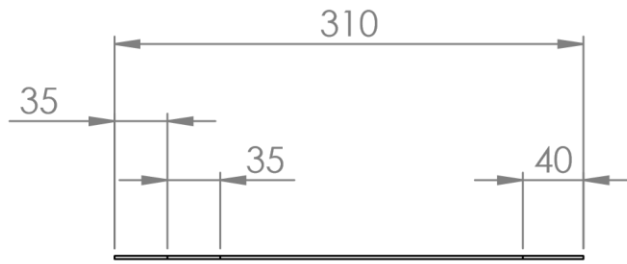
XY stage

Assem3_XY stage

A4

SCALE:2:1

SHEET 1 OF 1



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN: A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A.					
MATERIAL: 107			Stainless Steel		
WEIGHT:					

TITLE:

XY stage

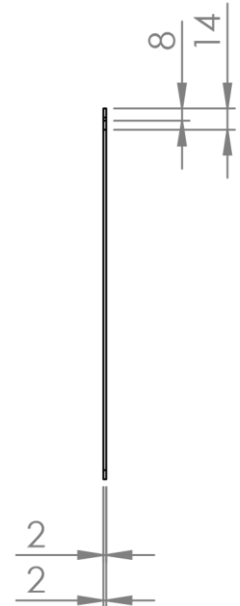
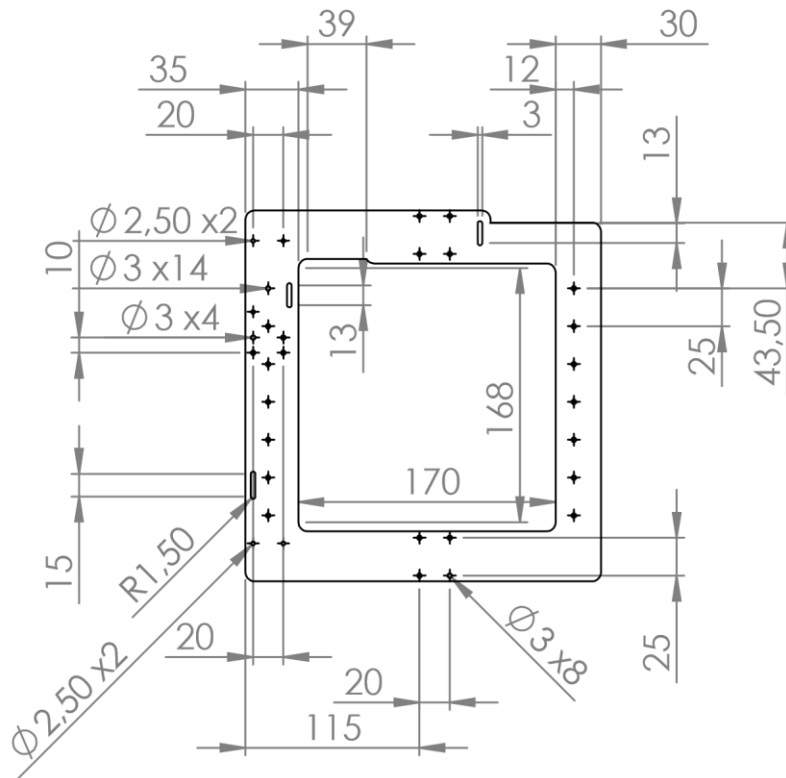
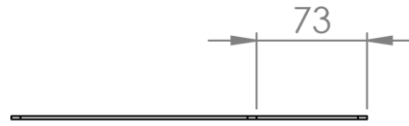
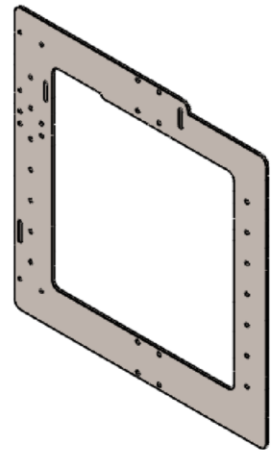
DWG NO.

T1_XY stage

A4

SCALE:1:5

SHEET 1 OF 1



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

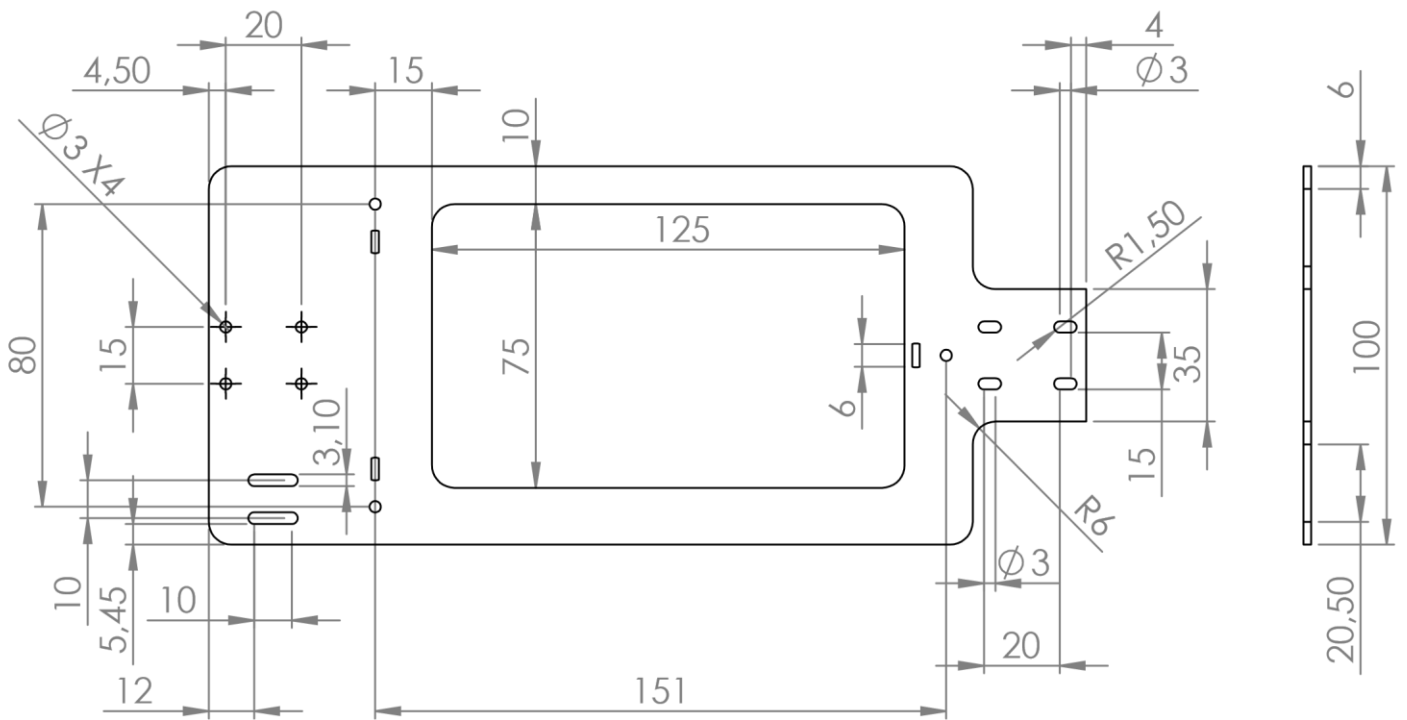
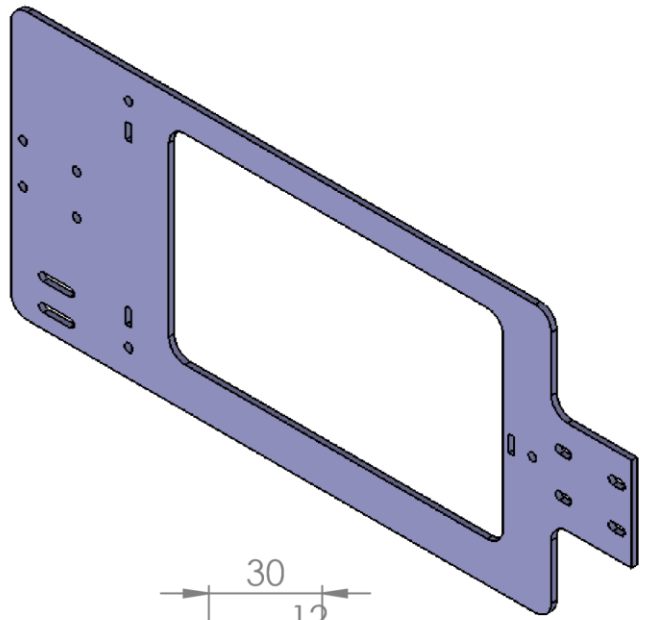
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APPV'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	108	
			Stainless Steel		
			WEIGHT:		

TITLE:	XY stage	
DWG NO.	T2_XY stage	A4
SCALE:1:5	SHEET 1 OF 1	



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:
Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

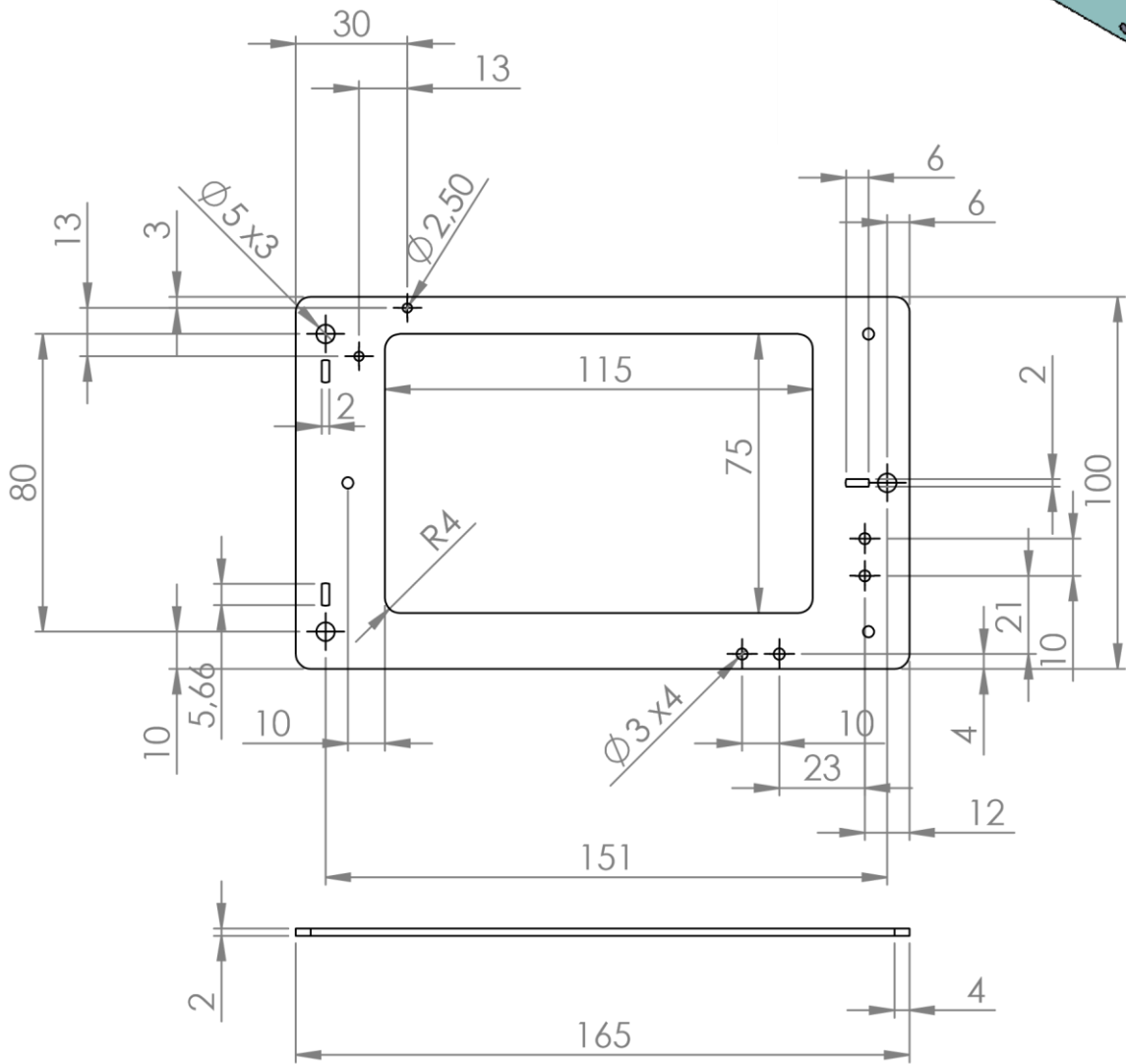
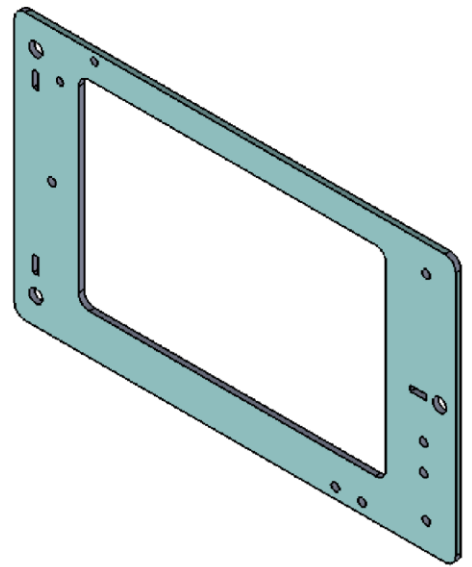
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APPV'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	109	
				Stainless Steel	
			WEIGHT:		

TITLE:	DWG NO.	SHEET 1 OF 1
XY stage		
T3_XY stage		
A4		



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE		
DRAWN A. Theodoropoulos				
CHK'D				
APPV'D				
MFG				
Q.A				
MATERIAL:			110	
Stainless Steel				
WEIGHT:				

TITLE:

XY stage

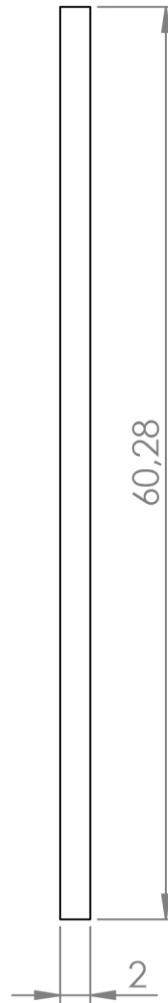
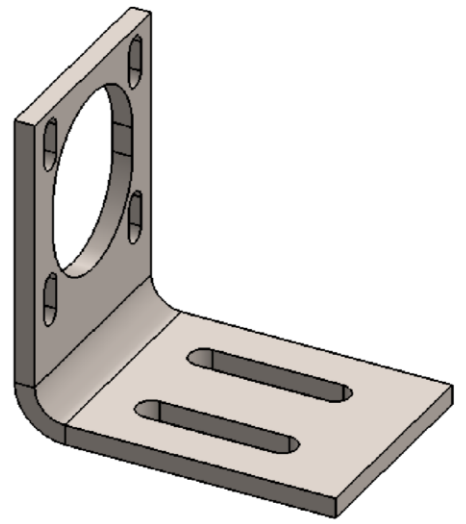
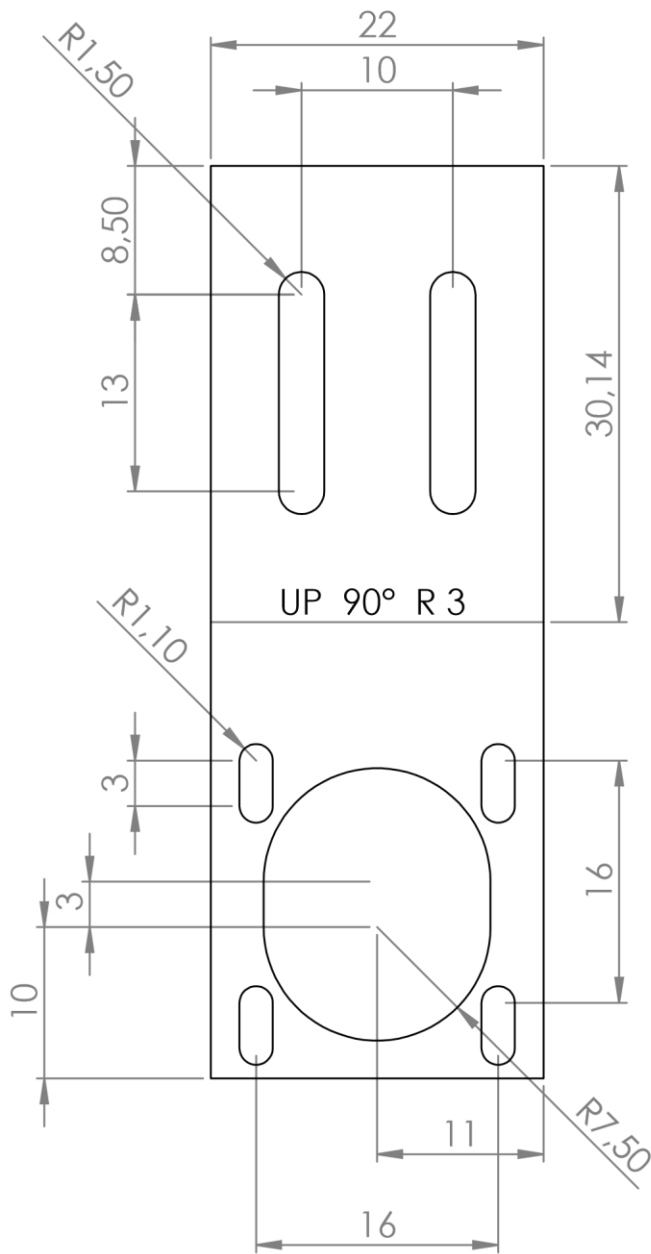
DWG NO.

T4_XY stage

A4

SCALE:1:5

SHEET 1 OF 1



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:
Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

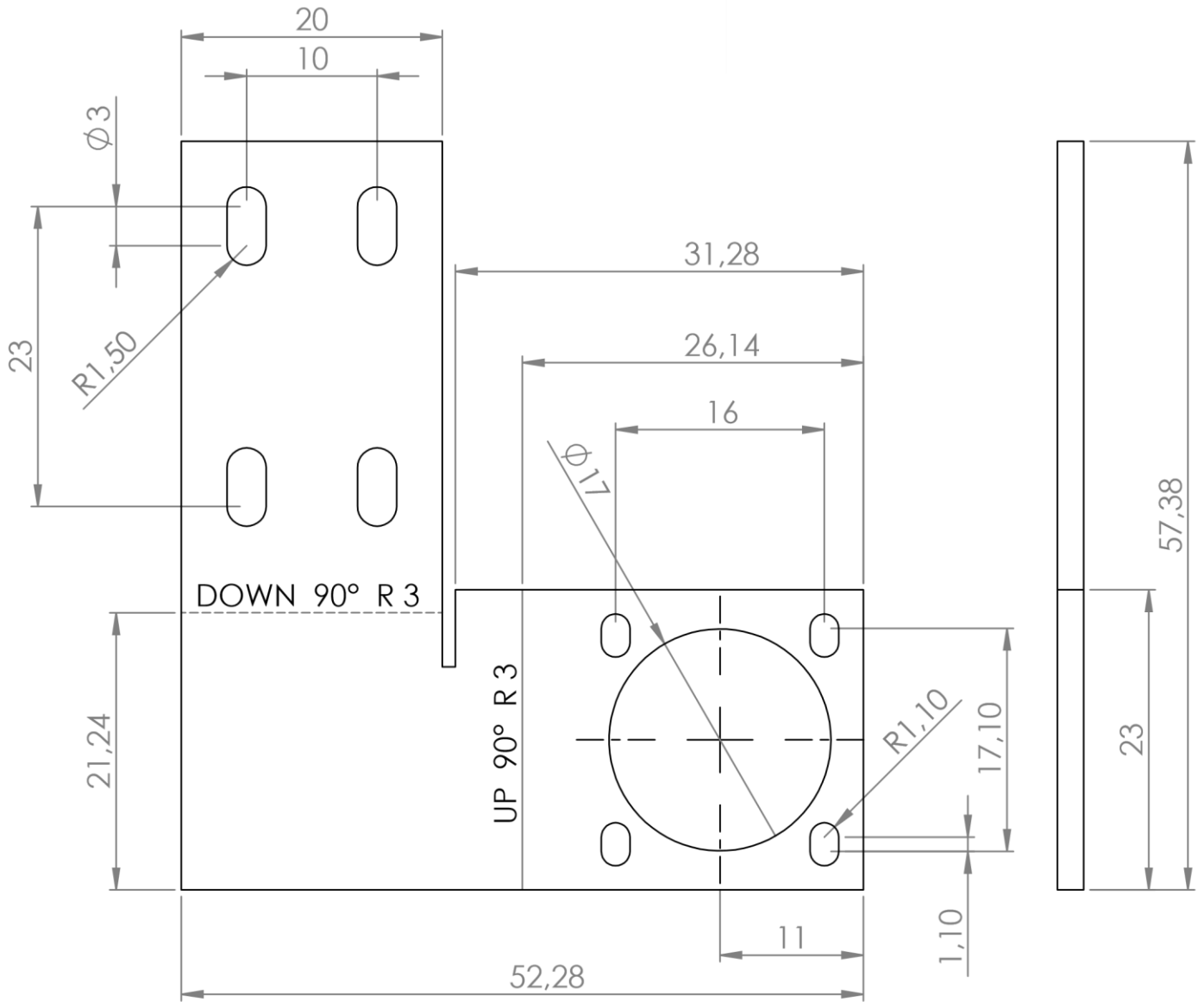
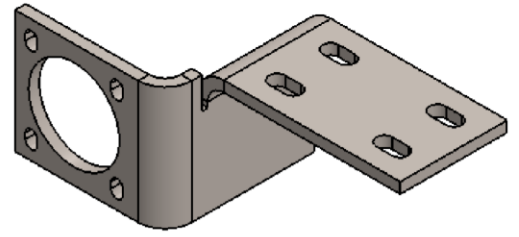
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APPV'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	111	
				Stainless Steel	
			WEIGHT:		

TITLE:	XY stage		A4
DWG NO.			
SCALE:2:1	SHEET 1 OF 1		



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:
Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

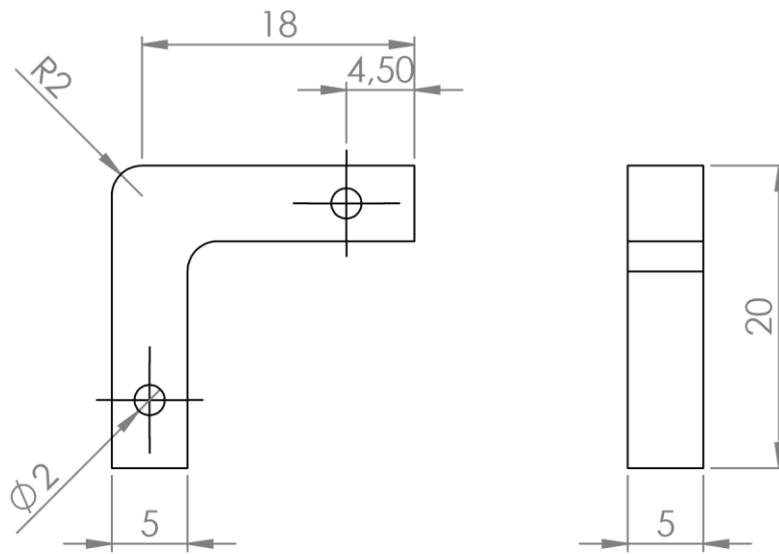
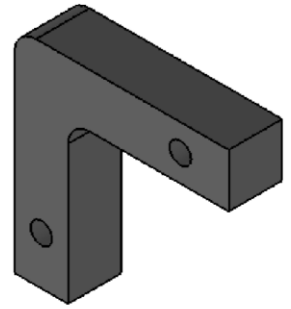
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	112	
				Stainless Steel	
			WEIGHT:		

TITLE:	DWG NO.	SHEET 1 OF 1
XY stage		
T6_XY stage		
A4		



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:
Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

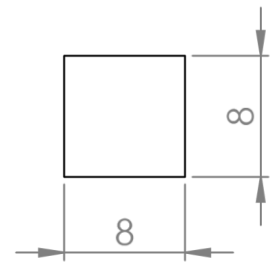
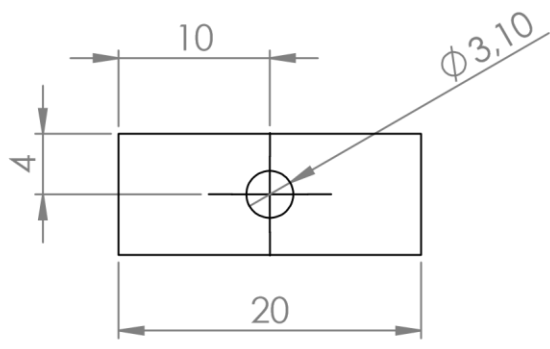
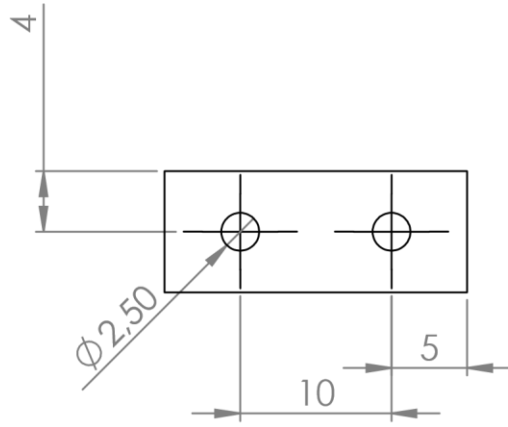
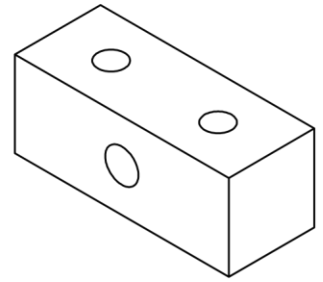
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	113	
				Stainless Steel	
			WEIGHT:		

TITLE:		XY stage	
DWG NO.			
SCALE:2:1		SHEET 1 OF 1	
		A4	



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
 DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
 SURFACE FINISH:
 TOLERANCES:
 LINEAR:
 ANGULAR:

FINISH:
 Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
 και Συστημικής Βιολογίας

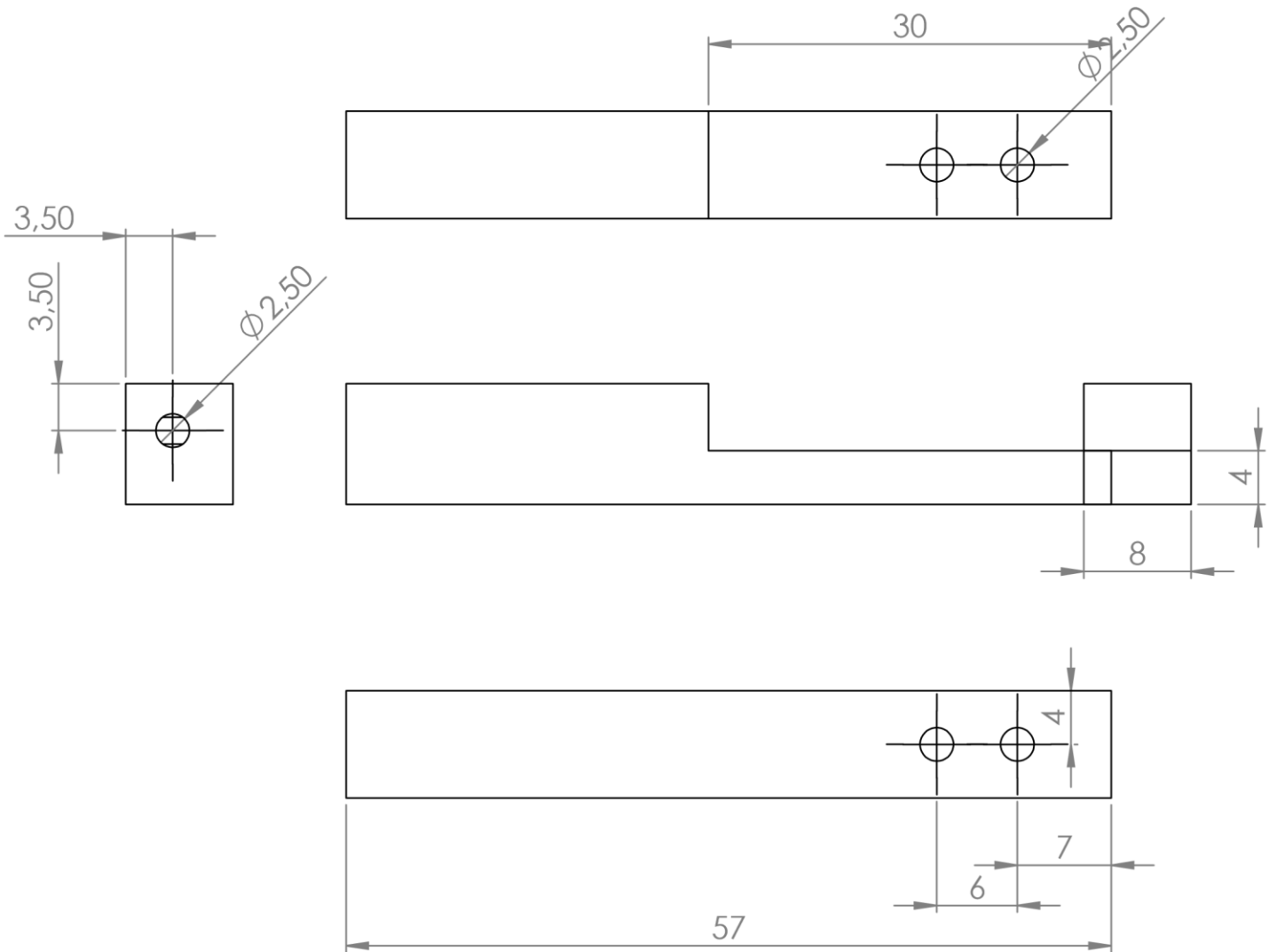
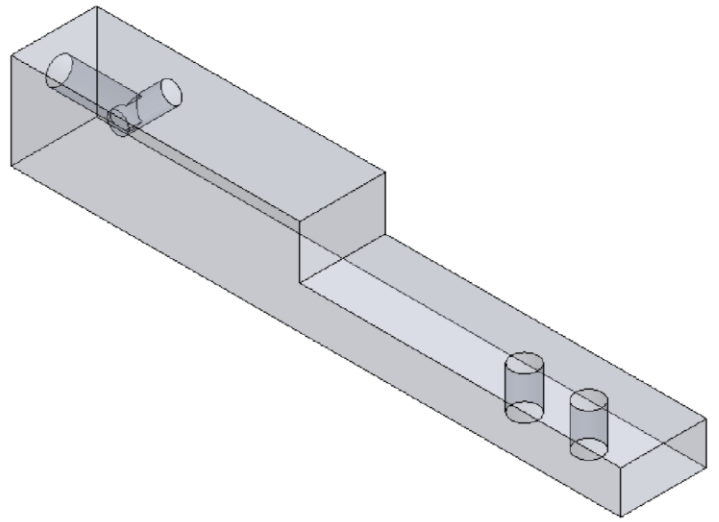
DEBUR AND
 BREAK SHARP
 EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN: Theodoropoulos					
CHK'D					
APPV'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	114	
				Stainless Steel	
			WEIGHT:		

TITLE:	<h1>XY stage</h1> <h2>T8_XY stage</h2>		A4
DWG NO.			
SCALE: 2:1	SHEET 1 OF 1		



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

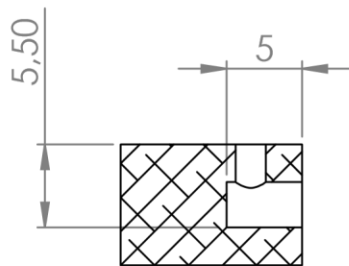
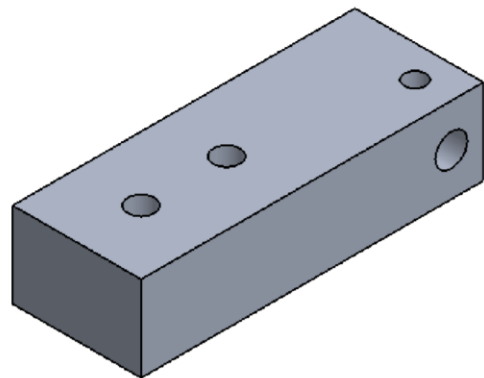
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

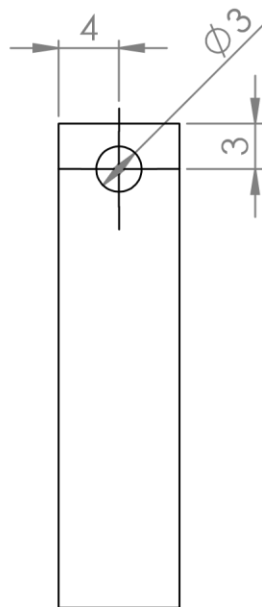
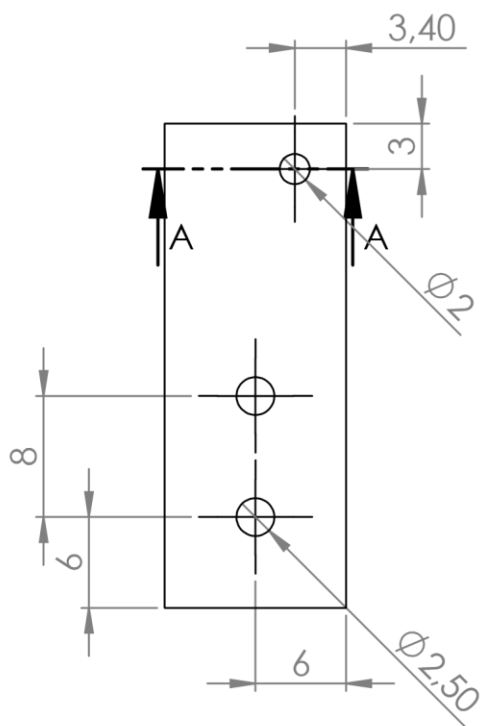
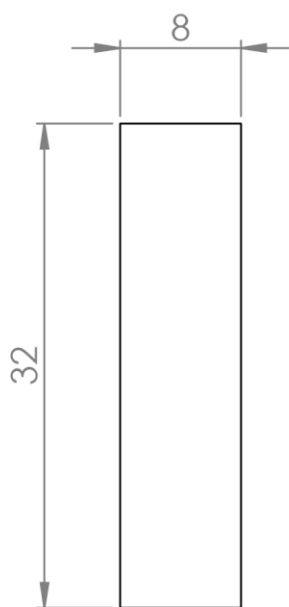
REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'V'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	115	
				Stainless Steel	
			WEIGHT:		

TITLE:	XY stage	
DWG NO.	T9_XY stage	A4
SCALE:2:1	SHEET 1 OF 1	



SECTION A-A



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:
Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN: A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'V'D					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	116	
				Stainless Steel	
			WEIGHT:		

TITLE:

XY stage

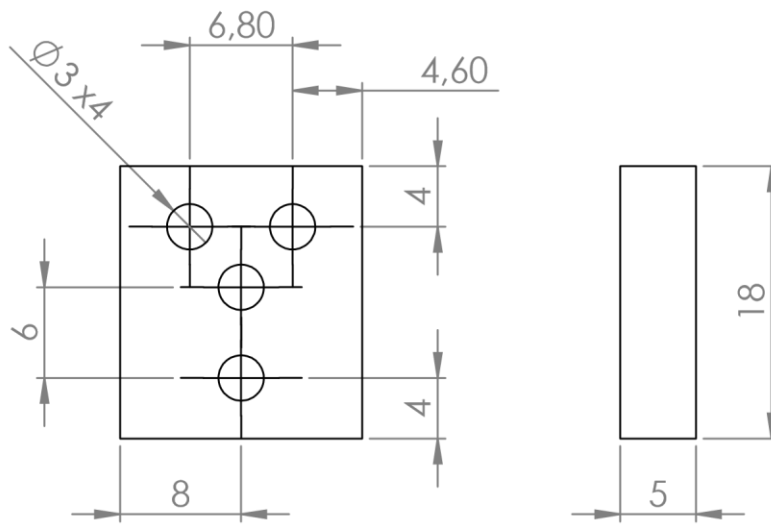
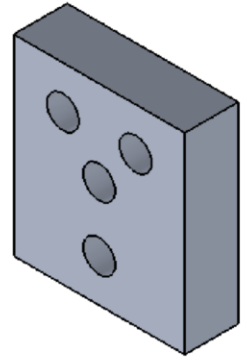
T10_XY stage

A4

DWG NO.

SCALE:2:1

SHEET 1 OF 1



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:
Εργαστήριο Εμβιομηχανικής
και Συστημικής Βιολογίας

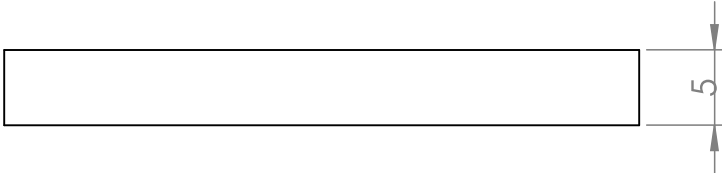
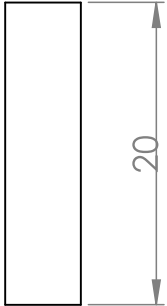
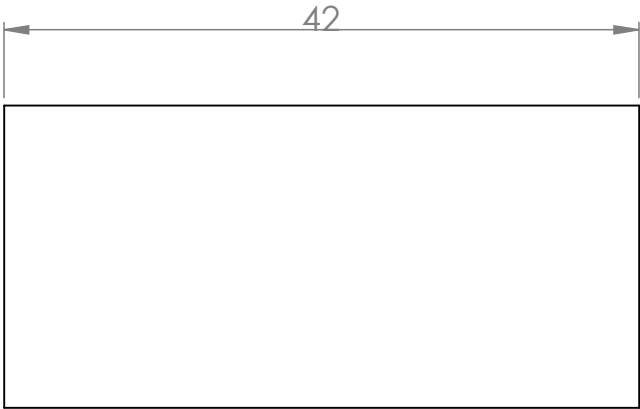
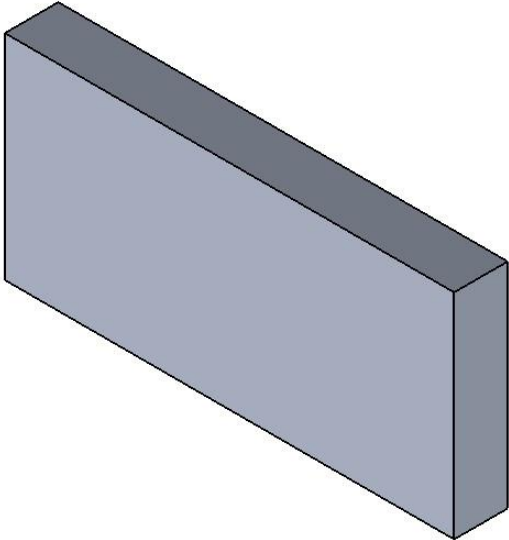
DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

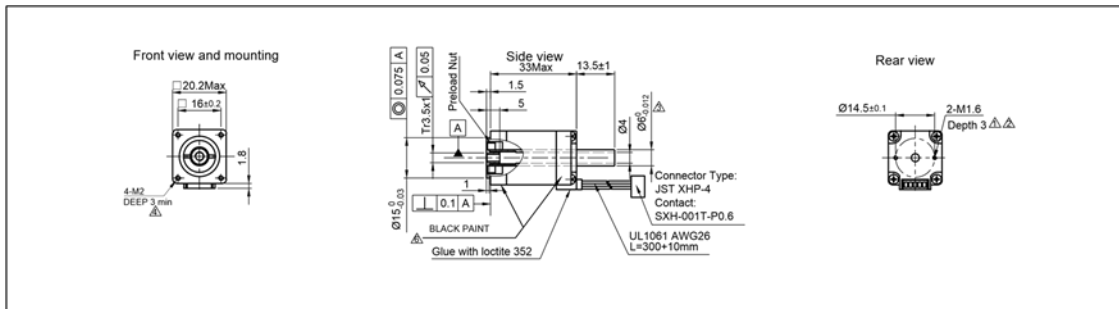
NAME	SIGNATURE	DATE			
DRAWN: A. Theodoropoulos					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A					
			MATERIAL:	117	
				Stainless Steel	
			WEIGHT:		

TITLE:	<h1>XY stage</h1> <h2>T11_XY stage</h2>		A4
DWG NO.			
SCALE:2:1	SHEET 1 OF 1		



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED: DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS		FINISH: Εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας		DEBUR AND BREAK SHARP EDGES		DO NOT SCALE DRAWING		REVISION	
SURFACE FINISH: TOLERANCES: LINEAR: ANGULAR:									
NAME		SIGNATURE		DATE		TITLE:			
DRAWN A. Theodoropoulos						<h1>XY stage</h1> <h2>T12_XY stage</h2>			
CHK'D									
APPV'D									
MFG									
Q.A				MATERIAL: 118		DWG NO.		A4	
				Stainless Steel					
				WEIGHT:		SCALE:1:1		SHEET 1 OF 1	

Κινητήρας L2018S0604



SPECIFICATION	
AMPS/PHASE	0.6
RESISTANCE/PHASE (Ohms)@25°C	6.5±15%
INDUCTANCE/PHASE (mH) @1KHz	2±20% Δ
SPINDLE PITCH (mm) [in]	1 [0.039]
THRUST (N) (lb)	30 [6.74] Δ
PEAK THRUST (N) (lb)	40[8.99] Δ
PEAK CURRENT (A)	0.8 Δ
RESOLUTION (mm/STEP)	0.005
STATIC THRUST (NO CURRENT)	>30[6.74] Δ
MAX. SPEED (mm/sec.) at 48V	40 Δ
MAX. SPEED WITH MAX. THRUST (mm/sec.)	1 Δ
WEIGHT (Kg) (lb)	0.06 [0.13]
TEMPERATURE RISE: MAX.80°C (MOTOR STANDSTILL; FOR 2 PHASE ENERGIZED)	
AMBIENT TEMPERATURE -10°~ 50°C [14°~ 122°F]	
INSULATION RESISTANCE 100 MOhm (UNDER NORMAL TEMPERATURE AND HUMIDITY)	
INSULATION CLASS B 130° [266°F]	
DIELECTRIC STRENGTH 500VAC FOR 1 MIN. (BETWEEN THE MOTOR COILS AND THE MOTOR CASE)	
AMBIENT HUMIDITY MAX. 85% (NO CONDENSATION)	

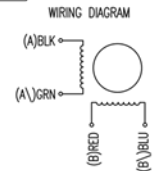
Please regard the application note at www.nanotec.com for further informations.

Shaft play is adjustable at the motor.

PIN NO	TYPE OF CONNECTION (EXTERN)		MOTOR	
	BIPOLAR	LEADS	WINDING	
1	A	BLK	A	
2	A	GRN	A	
3	B	RED	B	
4	B	BLU	B	

FULL STEP 2 PHASE-Ex., WHEN FACING MOUNTING END (X)

STEP	A	B	A'	B'	CCW
1	+	+	-	-	
2	-	+	+	-	
3	-	-	+	+	
4	+	-	-	+	



07	Change the data	30.07.14	B.L.
06	BLACK PAINT	25.07.14	B.L.
05	Change the data	12.03.14	B.L.
REV	DESCRIPTION	DATE	APVD



L2018S0604-T3,5x1

SCALE	FREE	APVD	SIGNATURE	DATE
X	±0.5	CHKD	ZYL	08.07.10
1PL	±0.2	DRN	CYQ	08.07.10
2PL	±0.1			
ANGLE	±30°			

LINEAR AKTUATOR

DWG.NO	DATE

L2018S0604-T3,5x1

Παράρτημα Β: Προγραμματισμός

Στο παράρτημα 2 παρατίθενται οι κώδικες κίνησης των τριών συσκευών, καθώς και οι κώδικες που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή των τεσσάρων πειραμάτων. Πιο συγκεκριμένα παρακάτω βρίσκονται:

- ο κώδικας σε πρόγραμμα ARDUINO, σύμφωνα με τον οποίο κινείται το διάφραγμα, ο φορέας των οπτικών φίλτρων και η αντικειμενοφόρος βάση,
- ο κώδικας σε πρόγραμμα MATLAB, σύμφωνα με τον οποίο λειτουργεί το γραφικό περιβάλλον,
- οι τρεις κώδικες με τους οποίους έγιναν τα πειράματα για τον προσδιορισμό της ακρίβειας και της επαναληψιμότητας,
- ο κώδικας με τον οποίο έγινε το πείραμα απεικόνισης κυττάρων.

ARDUINO: Πειράματα Ακρίβειας και επαναληψιμότητας

Αρχικοποίηση και κίνηση προς μια θέση

```
// NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY OF ATHENS //
// SYSTEMS BIOENGINEERING GROUP //
// Nations Theodosopoulos //
// Control of Electrically-driven microscope using Arduino Board //
// September 2015, //
////////////////////////////////////////////////////////////////////
#include <AccelStepper.h>
// INITIALIZATION BUTTONS
int buttonX = 2; int buttonY = 3; int X_FirstPosition; int Y_FirstPosition; int totalXsteps; int totalYsteps;
int Xsteps; int Ysteps; int i; int j; AccelStepper stepperX(1, A4, A5); AccelStepper stepperY(1, 5, 6);
int enableXstepper = A0; int enableYstepper = 4; int MS1pin = A1; int MS2pin = A2; int MS3pin = A3;
void setup() {
  digitalWrite(enableXstepper, HIGH); digitalWrite(enableYstepper, HIGH);
  pinMode(MS1pin, OUTPUT); pinMode(MS2pin, OUTPUT); pinMode(MS3pin, OUTPUT); pinMode(enableXstepper,
  OUTPUT); pinMode(A4, OUTPUT); pinMode(A5, OUTPUT);
  //When enable%stepper is HIGH, drivers are OFF. In that way the system remains Cool. Not necessary
  stepperX.setMaxSpeed(1000.0); stepperX.setAcceleration(500.0); stepperY.setMaxSpeed(500.0);
  stepperY.setAcceleration(1000.0);
  // Initialization of X, Y axis. Set Coordinates (0,0)
  X_Initialization(); Y_Initialization();
  // Go to the First Position and stay there until Command //
  X_FirstPosition = -2000; digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(X_FirstPosition);
  stepperX.runToPosition(); stepperX.move(X_FirstPosition); stepperX.runToPosition(); delay (10000); Y_FirstPosition
  = 0; digitalWrite(enableYstepper, LOW ); stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition();
  // After first position start scanning a 96wellplate in FULLSTEP (otherwise set MS switches //HIGH() //
  totalXsteps = 0; // total step counter in X direction
  Xsteps = -2000; totalYsteps = 0; // total step counter in Y direction
  Ysteps = 0;
  for (j = 0; j < 3; (j ++)) {
    for (i = 0; i < 3; i++) {
      digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(Xsteps); stepperX.runToPosition()
      digitalWrite(enableXstepper, HIGH); totalXsteps = totalXsteps + Xsteps;
    } // Every time the algorithm passes this command (Xsteps = -Xsteps), it changes the //direction
    Xsteps = -Xsteps; // Xsteps is the distance between two wells in //depends on stepping mode)
    Ysteps = -2000;
    digitalWrite(enableYstepper, LOW ); stepperY.move(Ysteps); stepperY.runToPosition();
    digitalWrite(enableYstepper, HIGH); }
  for (i = 0; i < 3; i++) {
    digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(Xsteps); stepperX.runToPosition();
    digitalWrite(enableXstepper, HIGH); totalXsteps = totalXsteps + Xsteps; }
  // after scan is complete go back to the first position and w8 //
  for (i = 0; i < 3; i++) {
    digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.move(2000); stepperY.runToPosition();
    digitalWrite(enableYstepper, HIGH); }
  // Set micro stepping to 1/16 //
  digitalWrite(A1, HIGH); digitalWrite(A2, HIGH); digitalWrite(A3, HIGH); }
void loop() { }
// INITIALIZATION OF X STEPPERMOTOR
void X_Initialization() { digitalWrite(A1, LOW); digitalWrite(A2, LOW); digitalWrite(A3, LOW);
  while (digitalRead(buttonX) == LOW) { digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.setSpeed(1000);
  stepperX.runSpeed(); } digitalWrite(enableXstepper, HIGH);}
// INITIALIZATION OF Y STEPPERMOTOR
void Y_Initialization() { digitalWrite(A1, LOW); digitalWrite(A2, LOW); digitalWrite(A3, LOW);
  while (digitalRead(buttonY) == LOW) { digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.setSpeed(1000);
  stepperY.runSpeed(); }
  digitalWrite(enableYstepper, HIGH);}
void scan() { digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.move(100); stepperY.runToPosition();
  digitalWrite(enableYstepper, HIGH); }
```

Κίνηση με τρία διαφορετικά μοτίβα με αρχή και τέλος το ίδιο σημείο

```
// NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY OF ATHENS //
// SYSTEMS BIOENGINEERING GROUP //
// Antonis Theodosopoulos //
// Control of Electrically-driven microscope using Arduino Board //
// Septempber 2015, //
#include <AccelStepper.h>
// INITIALIZATION BUTTONS
int buttonX = 2; int buttonY = 3; int i; int j; int Xsteps; int Ysteps; int X_FirstPosition; int Y_FirstPosition;
// STEPPERS VARS
AccelStepper stepperX(1, A4, A5); AccelStepper stepperY(1, 5, 6);
int enableXstepper = A0; int enableYstepper = 4; int MS1pin = A1; int MS2pin = A2; int MS3pin = A3;
// GLBL VARS
String inputString = ""; // a string to hold incoming data
boolean stringComplete = false; // whether the string is complete
void setup() { pinMode(MS1pin, OUTPUT); pinMode(MS2pin, OUTPUT); pinMode(MS3pin, OUTPUT);
pinMode(enableXstepper, OUTPUT); pinMode(A4, OUTPUT); pinMode(A5, OUTPUT);
//When enable%stepper is HIGH, drivers are OFF. In that way the system remains Cool.
digitalWrite(enableXstepper, HIGH); digitalWrite(enableYstepper, HIGH); stepperX.setMaxSpeed(10000.0);
stepperX.setAcceleration(5000.0); stepperY.setMaxSpeed(10000.0); stepperY.setAcceleration(5000.0);
// Initialization of X, Y axis. Set Coordinates (0,0) //
X_Initialization(); Y_Initialization(); digitalWrite(A1, HIGH); digitalWrite(A2, HIGH); digitalWrite(A3, HIGH);
stepperX.setCurrentPosition(0.0); stepperY.setCurrentPosition(0.0);
X_FirstPosition = -16000; digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(X_FirstPosition);
stepperX.runToPosition(); digitalWrite(enableYstepper, HIGH); Y_FirstPosition = -32000;
digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition();
stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition(); stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition();
stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition(); digitalWrite(enableXstepper, HIGH); Xsteps = 32000;
Ysteps = 32000;
Serial.begin(9600);
inputString.reserve(200); // reserve 200 bytes for the inputString;
void loop() { digitalWrite(A1, HIGH); digitalWrite(A2, HIGH); digitalWrite(A3, HIGH);
serialEvent(); //call the function // print the string when a newline arrives:
if (stringComplete) {
if (inputString == "UP\n") { Serial.println("i am going UP"); digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.move(Ysteps);
stepperY.runToPosition(); digitalWrite(enableYstepper, HIGH); stringComplete = false; inputString = ""; } else if
(inputString == "DOWN\n") { Serial.println("i am going DOWN"); digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.move(-
Ysteps); stepperY.runToPosition(); digitalWrite(enableYstepper, HIGH); stringComplete = false; inputString = ""; }
else if (inputString == "RIGHT\n") { Serial.println("i am going RIGHT"); digitalWrite(enableXstepper, LOW);
stepperX.move(-Xsteps); stepperX.runToPosition(); digitalWrite(enableXstepper, HIGH); stringComplete = false;
inputString = ""; }
else if (inputString == "LEFT\n") { Serial.println("i am going LEFT"); digitalWrite(enableXstepper, LOW);
stepperX.move(Xsteps); stepperX.runToPosition(); digitalWrite(enableXstepper, HIGH); stringComplete = false;
inputString = ""; }
else if (inputString == "initial\n") { X_Initialization(); Y_Initialization(); stringComplete = false; inputString = ""; }
else { Serial.println("String not recognised"); Serial.println(inputString); stringComplete = false; inputString = ""; } }
// INITIALIZATION OF X STEPPER MOTOR //
void X_Initialization() {
while (digitalRead(buttonX) == LOW) { digitalWrite(A1, LOW); digitalWrite(A2, LOW); digitalWrite(A3, LOW);
digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.setSpeed(1000); stepperX.runSpeed(); } digitalWrite(enableXstepper,
HIGH);}
// INITIALIZATION OF Y STEPPER MOTOR //
void Y_Initialization() { digitalWrite(A1, LOW); digitalWrite(A2, LOW); digitalWrite(A3, LOW);
while (digitalRead(buttonY) == LOW) { digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.setSpeed(1000);
stepperY.runSpeed(); } digitalWrite(enableYstepper, HIGH);}
void serialEvent() { // When smtg is written on the serial screen this function recognize it and the written
while (Serial.available()) { // characters are inserted in a variable. this function returns the written string.
char inChar = (char)Serial.read(); // get the new byte:
inputString += inChar; // add it to the inputString:
// if the incoming character is a newline, set a flag // so the main loop can do something about it:
if (inChar == '\n') { stringComplete = true; Serial.println(inputString); } } }
```

Σάρωση μέρους 96άρας πλάκας και επιστροφή στο ίδιο σημείο

```
// NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY OF ATHENS //
// SYSTEMS BIOENGINEERING GROUP //
// Antonis Theodosopoulos //
// Control of Electrically-driven microscope using Arduino Board //
// Septempber 2015, //
////////////////////////////////////
#include <AccelStepper.h>
// INITIALIZATION BUTTONS
int buttonX = 2;int buttonY = 3;int X_FirstPosition;int Y_FirstPosition;int totalXsteps;int totalYsteps;int Xsteps;int Ysteps;int
i;int j;
AccelStepper stepperX(1, A4, A5); AccelStepper stepperY(1, 5, 6);
int enableXstepper = A0;int enableYstepper = 4;int MS1pin = A1;int MS2pin = A2;int MS3pin = A3;
void setup() {
  digitalWrite(enableXstepper, HIGH); digitalWrite(enableYstepper, HIGH); pinMode(MS1pin, OUTPUT);
  pinMode(MS2pin, OUTPUT); pinMode(MS3pin, OUTPUT); pinMode(enableXstepper, OUTPUT); pinMode(A4,
  OUTPUT); pinMode(A5, OUTPUT);
  //When enable%stepper is HIGH, drivers are OFF. In that way the system remains Cool. Not necessary
  stepperX.setMaxSpeed(1000.0); stepperX.setAcceleration(1500.0); stepperY.setMaxSpeed(1000.0);
  stepperY.setAcceleration(1500.0);
  X_Initialization(); // Initialization of X axis
  Y_Initialization(); //Initialization of Y axis
  //////////////////////////////////////
  // RUN TO FIRST POSITION
  //////////////////////////////////////
  X_FirstPosition = -5750;
  digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(X_FirstPosition); stepperX.runToPosition();
  digitalWrite(enableYstepper, HIGH );
  Y_FirstPosition = 50;
  digitalWrite(enableYstepper, LOW ); stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition();
  digitalWrite(enableYstepper, HIGH );
  void loop() {
  } // INITIALIZATION OF X STEPERMOTOR
  void X_Initialization() {
    digitalWrite(A1, LOW); digitalWrite(A2, LOW); digitalWrite(A3, LOW);
    while (digitalRead(buttonX) == LOW) { digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.setSpeed(1500);
    stepperX.runSpeed();
    } digitalWrite(enableXstepper, HIGH);
  } // INITIALIZATION OF Y STEPERMOTOR
  void Y_Initialization() {
    digitalWrite(A1, LOW); digitalWrite(A2, LOW); digitalWrite(A3, LOW);
    while (digitalRead(buttonY) == LOW) { digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.setSpeed(1500);
    stepperY.runSpeed();
    } digitalWrite(enableYstepper, HIGH);
  }
  void platePosition() {
    X_FirstPosition = 0;
    digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(X_FirstPosition); stepperX.runToPosition();
    digitalWrite(enableXstepper, HIGH );
    Y_FirstPosition = -15000;
    digitalWrite(enableYstepper, LOW ); stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition();
    digitalWrite(enableYstepper, HIGH ); delay (5000);
  } // After first position start scanning a 96wellplate in FULLSTEP (otherwise set MS switches //HIGH
  Xsteps = -1800; FSsteps = -1700;
  for (j = 0; j < 3; (j ++)) {
    for (i = 0; i < 3; i++) { digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(Xsteps); stepperX.runToPosition();
    digitalWrite(enableXstepper, HIGH);
    } // Every time the algorithm passes this command (Xsteps = -Xsteps), it changes the direction
    Xsteps = -Xsteps; Ysteps = -1800; digitalWrite(enableYstepper, LOW ); stepperY.move(Ysteps);
    stepperY.runToPosition(); digitalWrite(enableYstepper, HIGH);
    } for (i = 0; i < 3; i++) { digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(Xsteps); stepperX.runToPosition();
    digitalWrite(enableXstepper, HIGH);
    } digitalWrite(enableYstepper, LOW);stepperY.move(5400); stepperY.runToPosition(); digitalWrite(enableYstepper,
    HIGH);
```

}

ARDUINO: Πείραμα απεικόνισης κυττάρων

```
// NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY OF ATHENS //
// SYSTEMS BIOENGINEERING GROUP //
// Antonis Theodosopoulos //
// Control of Electrically-driven microscope using Arduino Board //
// September 2015, //
#include <AccelStepper.h>#include <Servo.h>
int buttonX = 2;int buttonY = 3;int X_FirstPosition;int Y_FirstPosition;int totalXsteps;int totalYsteps;int Xsteps;int Ysteps;int
FSsteps;int lamppos = 0; // variable to store the servo positionin
lamppos_OFF = 55;int lamppos_ON = 0;int i;int j;boolean stringComplete;
String inputString = "";Servo lamp_servo;AccelStepper stepperX(1, A4, A5);AccelStepper stepperY(1, 5, 6);AccelStepper
stepperFS(1, 8, 9);int enableXstepper = A0;int enableYstepper = 4;
int enableFSstepper=7;int MS1pin = A1;int MS2pin = A2;int MS3pin = A3;
void setup() { inputString.reserve(200); lamp_servo.attach(11); lampoff(); digitalWrite(enableXstepper, HIGH);
digitalWrite(enableYstepper, HIGH); digitalWrite(enableFSstepper, HIGH );pinMode(MS1pin, OUTPUT);
pinMode(MS2pin, OUTPUT); pinMode(MS3pin, OUTPUT);
pinMode(enableXstepper, OUTPUT); pinMode(A4, OUTPUT); pinMode(A5, OUTPUT);
//When enable%stepper is HIGH, drivers are OFF. In that way the system remains Cool stepperX.setMaxSpeed(1000.0);
stepperX.setAcceleration(1500.0); stepperY.setMaxSpeed(1000.0);
stepperY.setAcceleration(1500.0); stepperFS.setMaxSpeed(3000.0);stepperFS.setAcceleration(5000.0);
X_Initialization();Y_Initialization(); platePosition(); // PLATE TOPOTHETISI POSITION
X_Initialization(); Y_Initialization(); X_FirstPosition = -5750; // RUN TO FIRST POSITION
digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(X_FirstPosition); stepperX.runToPosition();
digitalWrite(enableYstepper, HIGH );Y_FirstPosition = 50; digitalWrite(enableYstepper, LOW );
stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition(); digitalWrite(enableYstepper, HIGH ); FSsteps =
1700;snap2f(); scan();}
void loop() {}// INITIALIZATION OF X STEPPERMOTOR
void X_Initialization() {digitalWrite(A1, LOW); digitalWrite(A2, LOW); digitalWrite(A3, LOW);while (digitalRead(buttonX)
== LOW) {digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.setSpeed(1500); stepperX.runSpeed();
}digitalWrite(enableXstepper, HIGH);}
// INITIALIZATION OF Y STEPPERMOTOR
void Y_Initialization() {digitalWrite(A1, LOW); digitalWrite(A2, LOW); digitalWrite(A3, LOW);
while (digitalRead(buttonY) == LOW) {digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.setSpeed(1500);
stepperY.runSpeed(); } digitalWrite(enableYstepper, HIGH);}
void platePosition() {X_FirstPosition = 0;
digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(X_FirstPosition); stepperX.runToPosition();
digitalWrite(enableXstepper, HIGH ); Y_FirstPosition = -15000;
digitalWrite(enableYstepper, LOW ); stepperY.move(Y_FirstPosition); stepperY.runToPosition();
digitalWrite(enableYstepper, HIGH ); delay (5000); // initialization delay }
void scan() { // After first position start scanning a 96wellplate in FULLSTEP (otherwise set MS HIGH) //
Xsteps = -1800; FSsteps = -1700;
for (j = 0; j < 3; (j ++)) { for (i = 0; i < 3; i++) { digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(Xsteps);
stepperX.runToPosition(); digitalWrite(enableXstepper, HIGH); snap2f(); FSsteps = -FSsteps; }
// Every time the algorithm passes this command (Xsteps = -Xsteps), it changes the direction
// Xsteps is the distance between two wells in vertical level
Ysteps = -1800; digitalWrite(enableYstepper, LOW ); stepperY.move(Ysteps); stepperY.runToPosition();
digitalWrite(enableYstepper, HIGH); snap2f(); FSsteps = -FSsteps; }
for (i = 0; i < 3; i++) { digitalWrite(enableXstepper, LOW); stepperX.move(Xsteps); stepperX.runToPosition();
digitalWrite(enableXstepper, HIGH); snap2f(); FSsteps = -FSsteps; }
// after scan is complete go back to the first position and w8 //
digitalWrite(enableYstepper, LOW); stepperY.move(5400); stepperY.runToPosition(); digitalWrite(enableYstepper,
HIGH);}
void FSmove() {digitalWrite(enableFSstepper, LOW); stepperFS.move(FSsteps);
stepperFS.runToPosition();digitalWrite(enableFSstepper, HIGH );}
void lampon() {
for (lamppos = lamppos_OFF; lamppos >= lamppos_ON; lamppos -= 1) { // goes from 180 degrees to 0
lamp_servo.write(lamppos); // tell servo to go to position in variable 'pos'
delay(15); // waits 15ms for the servo to reach the position
} lamppos += 1;}
void lampoff() { for (lamppos = lamppos_ON; lamppos <= lamppos_OFF; lamppos += 1) {
// goes from 0 degrees to
lamp_servo.write(lamppos); // tell servo to go to position in variable 'pos'
delay(15); } lamppos -= 1;} // waits 15ms for the servo to reach the position
void snap2f(){ lampon();delay(1000); lampoff(); FSmove(); lampon(); delay(1000); lampoff();}
```

GUI γραφικό περιβάλλον

Ο κώδικας που χρησιμοποιεί το γραφικό περιβάλλον για να τρέξει χωρίζεται σε κώδικα ARDUINO και κώδικα MATLAB. Τα δύο αυτά προγράμματα επικοινωνούν μέσω σειριακής. Οι κώδικες, επειδή είναι ιδιαίτερα μεγάλοι για να μπουν στη διπλωματική, βρίσκονται στην ιστοσελίδα:

<http://bergercookie.github.io/Projects/ElecMicroscope2000/index.html> μαζί με τις επεξηγήσεις.

Παράρτημα Γ: Πρωτόκολλα Προετοιμασίας Δειγμάτων

- Ελαφρύ χτύπημα φλάσκας.
- Με πιπέτα 10ml γίνεται συλλογή των κυττάρων σε falcon 15ml και φυγοκέντριση στις 1500 στροφές ανά λεπτό για 5 λεπτά.
- Με την πιπέτα των 5ml γίνεται ανάδευση του μίγματος για να ξεκολλήσουν τα κύτταρα και να ανακατευτούν με το θρεπτικό
- Για την μέτρηση των κυττάρων ετοιμάζεται ένα Erpendorf 40ml trypan blue και προστίθενται 10ml από τα κύτταρα. Η διαδικασία λήψης των 10 μl πρέπει να γίνει γρήγορα για να μην προλάβουν τα κύτταρα να καθίσουν. Πάντα η συλλογή γίνεται από το μέσο του όγκου του υγρού.
- Γίνεται μέτρηση 4 οπτικών πεδίων της Neubauer πλάκας και υπολογίζεται Μ.Ο. Στη συνέχεια βάση του τύπου $MO^*(\text{αραίωση})^*1000$ υπολογίζονται τα κύτταρα ανά ml. Η αραίωση είναι 5.

Αφού ετοιμαστούν τα δείγματα γίνεται η βαφή τους με τις χρωστικές ουσίες HOECHST και CALCEIN, σύμφωνα με το παρακάτω πρωτόκολλο.

- Υπάρχει απόθεμα σε HOECHST 200μg/ml και CALCEIN 400μM.
- Θα χρησιμοποιηθούν 640 μl διαλύματος:
 - 584 μl PBS,
 - 3.2 μl HOECHST,
 - 3.2 μl CALCEIN,
 - 50 μl κυττάρων
- Αφού παρασκευαστεί το διάλυμα τοποθετείται στον σε κατάλληλες συνθήκες (37° C, 100% υγρασία και 5% διοξείδιο του άνθρακα) για μισή ώρα προκειμένου να βαφτούν τα κύτταρα με τις χρωστικές.
- Μετά το πέρας του χρόνου χωρίζεται το διάλυμα σε 16 πηγάδια.
- Καθ' όλη τη διάρκεια της προετοιμασίας της βαφής πρέπει να υπάρχει περιορισμένο φως στο δωμάτιο.